

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLEB -BLIDA 1-
Faculté de Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire «BPC»

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de
Master en biologie

Option : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire

**CONTROLE DE LA QUALITE
MICROBIOLOGIQUE ET PHYSICOCHIMIQUE
DU FROMAGE FONDU « O'kids » PRODUIT A
BLIDA**

Présenté par : KHELLOUFI Mohamed

Soutenu le : 17 septembre 2015.

Devant les jurys d'examen :

Mme KANANE A.
Mme KHETTAR S.
M^{lle} KADRI F.

Présidente
Examinatrice
Promotrice

MAA
MAA
MAA

Année Universitaire : 2014 – 2015

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

*Louange à Dieu, le tout puissant, qui m'a
donné la force et le courage d'avoir accompli
ce travail.*

Résumé

L'objectif de la présente étude est de contrôler la qualité microbiologique et physico-chimique du fromage fondu stérilisé « O'kids » fabriqué par le groupe industriel **Goumidi** « **GIG** » à Blida. D'une part, nous avons vérifié la présence ou l'absence de certains germes indicateurs des conditions d'hygiène (les germes totaux, les coliformes, les spores du *Clostridium* et *S.aureus*) qui peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires, compte tenu des règlements sanitaires; et d'autre part nous avons étudié les paramètres physico-chimiques (l'extrait sec, matière grasse, l'humidité..) des matières premières (poudre de lait, cheddar , beurre); outre que ceux de l'eau (TA, TAC, TH, Cl⁻, Cl₂, conductivité et pH). Tous les paramètres étudiés ont été conformes aux normes.

De surcroît, les résultats des analyses microbiologiques du produit fini ont révélé une absence totale des germes recherchés ; les résultats des analyses physico-chimiques révèlent un pH du 5,67; un taux d'extrait sec de 39,52% et 16% de matière grasse, ce qui donne au fromage une texture tartinable avec une douce saveur. D'après ces résultats, qui s'avèrent conformes aux normes du JORA n° 35, on conclut que le fromage fondu « O'kids » est de très bonne qualité.

Mots clés : fromage fondu, matières premières, qualité microbiologique, qualité physico-chimique.

Abstract

In the present study we set a goal of controlling the microbiological and the physicochemical quality of sterilized processed cheese "O'kids" manufactured by the industrial group **Goumidi "GIG"** in Blida. First, we have verified the presence or the absence of some germs hygiene indicator's (total bacteria, coliform bacteria, *Clostridium*'s spores and *S.aureus*) which may be the cause of food-borne infections, given health regulations; secondly, we have studied the physicochemical parameters (dry extract, fat, moisture ..) of raw materials (milk powder, cheddar, butter); farther than those of water (TA, TAC, TH, Cl, Cl₂, conductivity and pH), and

In addition, the results of the microbiological analyzes of the finished product revealed a total absence of germs sought; the result of the physicochemical analyzes reveal a pH in order to 5.67, a dry extract in order to 39.52% and 16% of fat, which gives the cheese a spreadable texture with a sweet flavor. Based on these results, which prove comply with the standards of JORA n° 35, it is concluded that melted cheese "O'kids" is very good.

Keywords: processed cheese, raw materials, microbiological quality, physicochemical quality.

الملخص

في هذه الدراسة، يتمثل هدفنا في مراقبة النوعية الميكروبيولوجية وكذا الفيزيوكيميائية للجبن الطري المصنع من قبل المجموعة الصناعية "قوميدي" "GIG" في البلدية. من جهة، قمنا بالتحقق من وجود أو عدم وجود بعض الجراثيم التي تعتبر كمؤشرات للنظافة (مجموع البكتيريا، القولونيات، جراثيم كلوستريديوم و المكورات العنقودية الذهبية) والتي قد تكون سببا في التسمم الغذائي، حسب اللوائح الصحية؛ ومن جهة أخرى، قمنا بدراسة العوامل الفيزيوكيميائية (المادة الجافة، الدهون والرطوبة ..) للمواد الأولية (مسحوق الحليب، جبن شيدار، والزبدة) وكذلك تلك المتعلقة بالمياه (TA، TAC، TH، الكلور، Cl₂، الناقلية ودرجة الحموضة)؛ والتي تطابقت مع المعايير المنصوص عليها.

وبالإضافة إلى ذلك، أظهرت نتائج التحاليل الميكروبيولوجية للمنتج النهائي غيابا تاما للجراثيم المبحوث عنها، كما أظهرت نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية درجة حموضة تقدر ب 5.67 و 39.52% من المواد الصلبة ونسبة دهون تصل إلى 16%، مما يجعل الجبن قابلا للدهن و يعطيه نكهة مميزة بالنسبة لهذه النتائج التي تتوافق مع المعايير المنصوص عليها في الجريدة الرسمية رقم 35، نستنتج أن الجبن "O'kids" ذو نوعية جيدة جدا.

الكلمات المفتاحية : الجبن الطري، المواد الأولية، الجودة الميكروبيولوجية، الجودة الفيزيوكيميائية.

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier Allah, le Tout Puissant et le Miséricordieux, de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme ma formation de master.

J'ai l'honneur et le plaisir, par ailleurs, de présenter ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à mon encadreur M^{lle} KADRI F., pour son aide, ses orientations et le temps qu'elle m'a accordé pour mon encadrement.

Je remercie, également, tous les enseignants qui m'ont encouragé et soutenu durant mon cursus.

Mes vifs remerciements vont aux membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail :

- Madame KANANE A. Maitre assistante A, d'avoir accepté la présidence de jury, par ses conseils éclairés qui ne feront qu'enrichir cette étude.
- Madame KHETTAR S. Maitre assistante A, pour avoir accepté de faire partie du jury, par ses conseils et remarques elle contribuera ainsi à améliorer la qualité de ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Madame AMAROUCHE N., chef de spécialité Microbiologie et Toxicologie Alimentaire.

Mes remerciements les plus sincères et les plus profonds sont adressés également à :

Mr le Gérant de l'entreprise GOUMIDI "GIG" pour m'avoir ouvert les portes de son entreprise et d'avoir mis à ma disposition les moyens nécessaires pour la réalisation de cette étude.

Un très grand remerciement à l'ensemble du personnel du laboratoire ainsi que tous les employés de la SARL "GIG", en particulier le chef du service de laboratoire, le technicien de laboratoire chargé de la partie physico-chimique et la technicienne de laboratoire chargée de la partie microbiologique pour leurs aides et leurs conseils.

Enfin, je voudrais remercier toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

« « Merci » »

Dédicaces

Je dédie ce travail de fin d'études à ma famille,

Ma mère et mon père, pour le soutien, la patience, les conseils, aide et encouragement à la réalisation de ce modeste travail et aussi pour les sacrifices dont ils ont fait toujours preuve.

Mon frère Mérouane.

Ma sœur Amina et son mari Nizar et Mes nièces Hadil & Hind.

Ma petite sœur Amel.

Ma Grand-Mère maternelle que j'estime beaucoup.

Mes amis et collègues notamment les étudiants qui m'ont encouragé, je cite à l'occasion, Zakaria, Walid, Moatassem et Houssame pour les bons moments que nous avons passé ensemble et qui ont contribué à rendre ces années inoubliables.

A tous mes amis sans exception.

Sans oublier les étudiants de ma promotion de Licence et de Master, Bonne chance à tous.

Mohamed

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Dénomination de la pâte des fromages selon le TEFD	10
Tableau II: Dénomination des fromages d'après la MGES	10
Tableau III: Dénomination des fromages d'après la principale caractéristique d'affinage	10
Tableau IV: Valeurs typiques de la composition des principaux groupes des fromages (par 100 g du fromage)	14
Tableau V: Acides aminés essentiels en protéines du lait et en caséines (%)	15
Tableau VI: Analyses microbiologiques effectuées sur les différents prélèvements	25
Tableau VII: Germes à rechercher, milieux utilisés et conditions d'incubation pour le contrôle microbiologique de l'environnement (personnel, air ambiant et surfaces)	45
Tableau VIII: Analyses physico-chimiques effectuées sur les différentes matières premières selon le JORA n° 35.....	48
Tableau IX: physico-chimiques effectuées sur l'eau de process selon le JORA n° 35.....	48
Tableau X: Relation entre le titre hydrotimétrique d'une eau et sa dureté	55
Tableau XI: Résultats des analyses microbiologiques du beurre	60
Tableau XII: Résultats des analyses microbiologiques du cheddar	61
Tableau XIII: Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait	61
Tableau XIV: Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process	62
Tableau XV: Résultats des analyses microbiologiques du fromage fondu en cours de fabrication (bec de lancement)	63
Tableau XVI: Résultats des analyses microbiologiques du fromage fondu en cours de fabrication (après stérilisation)	63
Tableau XVII: Résultats des analyses microbiologiques du fromage fondu (produit fini)	64
Tableau XVIII: Résultats des analyses microbiologiques de l'air ambiant	65
Tableau XIX: Résultats des analyses microbiologiques du personnel	65
Tableau XX: Résultats des analyses microbiologiques des surfaces	66
Tableau XXI: Résultats des analyses physico-chimiques du beurre	67
Tableau XXII: Résultats des analyses physico-chimiques du cheddar	67
Tableau XXIII: Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre du lait	68
Tableau XXIV: Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process	69
Tableau XXV: Résultats des analyses physico-chimiques du fromage fondu (bec de lancement)	69

Tableau XXVI: Résultats des analyses physico-chimiques du fromage fondu (après stérilisation)	70
Tableau XXVII: Résultats des analyses physico-chimiques du fromage fondu (produit fini).	70

LISTE DES TABLEAUX EN ANNEXES

Tableau I: Composition du Bouillon BCPL (Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol)..	
Tableau II: Composition du Bouillon VBL (bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant)	
Tableau III: Composition d'EPEI (Eau Peptonée Exempte d'Indole)	
Tableau IV: Composition de gélose PCA (Plate Count Agar)	
Tableau V: Composition du milieu Sabouraud	
Tableau VI: Composition du milieu Baird Parker pré-coulée	
Tableau VII: Composition de gélose VF (Viande-Foie)	
Tableau VIII: Composition de VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre).....	
Tableau IX: Composition du milieu de Rothe	
Tableau X: Composition du milieu Eva Lytski	
Tableau XI: Composition du milieu Schubert	

LISTES DES FIGURES

Figure 1: Préparation des dilutions décimales pour les produits liquides	26
Figure 2: Préparation des dilutions décimales pour les produits solides	26
Figure 3: Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) dans les matières premières et le produit fini	28
Figure 4: Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) dans l'eau de process	29
Figure 5: Recherche et dénombrement des coliformes par comptage des colonies sur milieu VRBL	31
Figure 6: Recherche et dénombrement des coliformes dans les matières premières et le produit fini par la méthode du nombre le plus probable (NPP)	34
Figure 7: Recherche et dénombrement des coliformes dans l'eau du process par la méthode du NPP	35

Figure 8: Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs dans les matières premières et le produit fini	37
Figure 9: Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> Sulfito-Réducteurs dans l'eau de process.....	38
Figure 10: Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau de process	41
Figure 11: Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	43
Figure 12: Recherche et dénombrement des levures et des moisissures	45

LISTES DES FIGURES EN ANNEXES

Figure 1: Méthode générale de fabrication des fromages	83
Figure 2: Classification de KELLING 1947	84
Figure 3: Etapes de fabrication du fromage fondu selon "Goumidi"	85
Figure 4: Principales étapes du traitement de l'eau au niveau de l'entreprise Goumidi	86
Figure 5: Table de Mac Grady	93

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR: Association française de normalisation	PHE: Phénylalanine
AOC: Appellation d'Origine Contrôlée.	PNUD: Programme des Nations Unies pour le Développement
A _w : activité de l'eau	S/C: Simple Concentration
BCPL : bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol	SAG: Spores Anaérobies Gazogènes
Cf.: Confer	SM: Suspension Mère
CMP: Caséino-Macro-Peptide	TA: Titre Alcalimétrique
CSR: Clostridium Sulfito-Réducteur	TAC: Titre Alcalimétrique Complet
D/C: Double Concentration	TEFD: Teneur en Eau dans le Fromage Dégraissé
DM: Dilution Mère	TH: Titre Hydrotimétrique
EDTA: Ethylène-Diamine Tétra Acétique	TSE: Tryptone Sel Eau
EPEI: Eau Peptonée Exempte d'Indole	UHT: Ultra-High Temperature
EST: Extrait Sec Total	VBL: Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant
GAMT: Germes Aérobie Mésophiles Totaux	VF: Viande-Foie
H: Humidité	VPP: Valyl-Prolyl-Proline
INRA: Institut National de la Recherche Agronomique	VRBL: Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge Neutre
IPP: Isoleucyl-Prolyl-Proline	κ: Caséine
ISO: International Standards Organization	
JORA: Journal Officiel de la République Algérienne	
MET: Méthionine	
MG: Matière Grasse	
MGES: Matière Grasse dans l'Extrait Sec	
NF EN: Norme Européenne et Française	
NF: Norme Française	
NPP: Nombre Plus Probable	
OMS: Organisation Mondiale de la Santé	
PCA: Plate Count Agar	

Sommaire

Introduction	01
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Généralités sur les fromages	
I.1. Définition du fromage	04
I.2. Méthode générale de fabrication des fromages	04
I.3. Flore microbienne du fromage	06
I.3.1. Les micro-organismes utiles	06
I.3.2. Les micro-organismes responsables d'altération	07
I.3.3 Les micro-organismes potentiellement pathogènes	08
I.4. Classification des fromages	08
I.4.1. La notion de fromage à appellation contrôlée (AOC)	08
I.4.2. Principales classifications des fromages	09
I.5. Composition, intérêt nutritionnel et thérapeutique des fromages	12
I.5.1. Composition et intérêt nutritionnel	12
I.5.2. Intérêts thérapeutiques	15
Chapitre II : Fromage fondu	
II.1. Historique et origine des fromages fondus	16
II.2. Définition du fromage fondu	16
II.3. Différents types de fromage fondu	16
II.4. Procédé de fabrication du fromage fondu	17
II.4.1 Le processus de fonte	17
II.4.2. L'homogénéisation	20
II.4.3. Le conditionnement	20
II.5. Les étapes de fabrication du fromage fondu selon Goumidi	20
<u>MATERIEL ET METHODES</u>	
I. Lieu de stage	22
II. Matériel	22
II.1. Matières premières	22
II.2. Matériels nécessaires	22
III. Méthodes	23
III.1. Prélèvement	23
III.2. Analyses microbiologiques	24
III.2.1. Analyses microbiologiques des matières premières et du produit fini	24
III.2.1.1. Préparation des dilutions	25
III.2.1.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) ...	27
III.2.1.3. Recherche et dénombrement des coliformes	30
III.2.1.4. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	36
III.2.1.5. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau de process	39
III.2.1.6. Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	42
III.2.1.7. Recherche et dénombrement des levures et moisissures	44
III.2.2. Analyse microbiologique de l'environnement	45

III.2.2.1. Contrôles microbiologique de l'air ambiant	46
III.2.2.2. Contrôle microbiologique du personnel	46
III.2.2.3. Contrôle microbiologique des surfaces	47
III.3. Analyses physico-chimiques	48
III.3.1. Détermination de l'extrait sec total (EST)	49
III.3.2. Détermination de l'humidité (H)	50
III.3.3. Détermination de la matière grasse (MG)	50
III.3.4. Le rapport G/S (matière grasse dans la matière sèche)	52
III.3.5. Analyses physico-chimiques de l'eau	53
III.3.5.1. Détermination du titre alcalimétrique(TA) et titre alcalimétrique complet(TAC).	53
III.3.5.2. Détermination du titre hydrotimétrique (TH)	55
III.3.5.3. Détermination du Chlorures (Cl ⁻)	56
III.3.5.4. Détermination du chlore libre (Cl ₂)	56
III.3.6. Détermination du pH	57
III.3.7. Détermination de la conductivité	58

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Résultats des analyses microbiologiques	60
II. Résultats des analyses physico-chimiques	67
III. Discussion générale	71
Conclusion	74
Références bibliographiques	76

INTRODUCTION

Le fromage a de tout temps été une valeur sûre de l'alimentation humaine. C'est le résultat d'une transformation très ancienne du lait, en ce sens que des écrits témoignent de sa fabrication quelque trois mille ans avant notre ère. Il a été l'un des premiers moyens de conservation du lait, matière première rapidement périssable. Cependant, plusieurs procédés ont été développés afin de **prolonger la durée de vie du fromage**. C'est ainsi que le fromage fondu est une préparation beaucoup plus récente, qui permet une stabilisation plus poussée des protéines lactiques, tout en conservant plus ou moins au produit fini l'aspect d'un fromage. C'est encore aujourd'hui un type de fromage parfaitement adapté aux habitudes de consommation, c'est un aliment énergétique riche en protéines et en minéraux ; il est digeste, d'une grande sécurité microbiologique et de surcroît, il se conserve à température ambiante tout en offrant une grande pratique pour son utilisation (**Boutonnier, 2000**).

Les fromages fondus sont des aliments complexes habituellement obtenus en mélangeant une ou plusieurs variétés de fromages avec des agents émulsifiants (les sels de fonte), de nombreux ingrédients optionnels incluant des ingrédients laitiers et de l'eau. Le produit final caractérisé par une teneur en eau, un pH légèrement acide et une activité de l'eau (a_w) élevés et conditionné dans des emballages fermés hermétiquement, présente des risques d'activité microbienne et spécialement celle des *Clostridium* et d'autres microorganismes anaérobies.

Selon les estimations, l'Algérie est le premier consommateur laitier du Maghreb : 1,7 milliards de litres en 2004, avec un taux de croissance de 8% et une consommation moyenne de l'ordre de 100 à 110 litres/habitant/an (**Benelkadi, 2005**). Cette consommation augmente régulièrement et a atteint les 115 litres/habitant/an en 2010. Cette forte consommation augmente les risques de toxico-infections liées aux activités microbiennes spécifiques.

A l'effet d'apporter notre modeste contribution au contrôle de la qualité de ces produits, nous avons effectué un stage durant trois mois au niveau de la laiterie fromagère "GIG" (Groupe Industriel GOUMIDI) qui se situe dans la zone industrielle d'Ouled-Yaich, wilaya de Blida. Nous avons procédé, durant cette phase, à une étude qui porte sur la qualité microbiologique et physico-chimique du fromage fondu UHT (Ultra-High Temperature) « O'kids », en effectuant un contrôle de qualité tout au long de la chaîne de fabrication, qui s'étend de l'acquisition des matières premières (poudre de lait, cheddar, beurre...) jusqu'au produit fini (fromage en portion), ainsi que la qualité hygiénique de l'environnement par un contrôle complémentaire du personnel, des surfaces et de l'air ambiant.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Définition du fromage

Le fromage selon la norme *codex* est le produit affiné ou non affiné de consistance molle ou semi dure, dure ou extra dure, qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéine de lactosérum (caséine) ne dépasse pas celui du lait. On obtient le fromage par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action du présure ou d'autres agents coagulants appropriées et par égouttage partielle de lactosérum résultant de cette coagulation; on peut aussi faire appelle à des techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait de manière à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et sensorielles similaires à celle de la définition précédente (Gelais *et al.*, 2002).

I.2. Méthode générale de fabrication des fromages (cf. Annexe I)

La transformation du lait en fromage se fait, généralement, en quatre étapes principales : la **coagulation**, l'**égouttage**, le **salage** et l'**affinage**. Selon le lait initial et les paramètres technologiques mis en œuvre au niveau de ces étapes, une grande variété de fromages peut être obtenue (Agioux, 2003).

I.2.1. Préparation du lait

La première phase essentielle de fabrication des fromages dépend du produit à obtenir et des variétés désirées. La préparation du lait passe par de multiples actions qui s'enchaînent d'une manière continue (Roux, 1994) :

- Réglage de la matière grasse.
- Standardisation en matières protéiques.
- Assainissement microbienne.

I.2.2. Coagulation

La coagulation du lait constitue une forme ancestrale de conservation des protéines, de la matière grasse ainsi que d'une partie du calcium et du phosphore, dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans presque toutes les régions du globe (Abi Azar, 2007). En industrie fromagère, le procédé choisie pour la coagulation a un large effet sur la texture du produit fini (Herbert *et al.*, 1999).

I.2.3. Egouttage

L'égouttage se traduit macroscopiquement par une élimination du lactosérum qui s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement du gel. Il ne s'agit pas d'une simple déshydratation. Il résulte, à la fois, d'un processus actif, appelé synérèse : un mécanisme complexe résultant d'un pouvoir de contraction de la trame protéique ; et de l'aptitude du gel à évacuer le lactosérum occlus, selon sa porosité et sa perméabilité, la plus grande partie des éléments solubles du lait (lactose, sels minéraux) et quelques fractions insolubles mineures (protéines solubles) sont expulsées du gel avec l'eau (**Gelais et al., 2002**).

I.2.4. Salage

Le salage représente une étape importante, non seulement pour la formation de la croûte et le goût salé des fromages affinés, mais aussi parce qu'il conditionne la phase d'affinage en intervenant sur l'activité de l'eau des fromages qui régit les développements microbiens et enzymatiques, principaux agents de l'affinage (**Riahi, 2006**). Il est réalisé, essentiellement avec du chlorure de sodium, selon deux méthodes (**Mahaut et al., 2000**) :

- salage à sec par saupoudrage superficiel, frottage ou incorporation dans la masse du caillé,
- salage en saumure par immersion dans une solution de chlorure de sodium saturée.

I.2.5. Affinage

L'affinage résulte de l'action des enzymes provenant du développement des quatre groupes des microorganismes suivants (**Amiot et al., 2002**) :

- les moisissures de genre *Penicillium* (croûte fleurie et pâte persillée),
- les bactéries aérobies de genre *Brevibacterium* associées à des levures ou à des moisissures (croûte lavée),
- les bactéries productrices de gaz du genre *Propionibacterium* (affinage dans la masse avec ouvertures),
- les bactéries lactiques.

Sa durée peut aller de quelque jours pour les fromages affinés à pâte molle jusqu'à quelques années pour les autres fromages tels que le «Wheel of Parmigiano-Reggiano» (**Katz et Weaver, 2003**).

Les **enzymes** responsables de la transformation ont trois origines : celles présentes naturellement dans le lait, les agents coagulants ajoutés et celles des différents micro-organismes bactériens, levures et moisissures (**Goudédranche et al., 1999**).

I.3. Flore microbienne du fromage

I.3.1. Les micro-organismes utiles

Dans le domaine de l'industrie fromagère, de multiples microorganismes utiles sont impliqués:

I.3.1.1. La flore bactérienne

- **les bactéries lactiques** : Ce sont des bactéries Gram⁺ (coques ou bacilles) produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides simples ou oses (fermentation lactique), tolérant des pH acides, de niches écologiques anaérobies ou anaérobies facultatives et se montrant catalase négative. On distingue principalement : les **lactocoques**, les **leuconostocs**, les **pédiocoques**, les **streptocoques thermophiles**, les **lactobacilles mésophiles et thermophiles** et les **entérocoques**. Elles ont pour rôle essentiel d'acidifier le lait et le caillé, de participer à la formation du goût (protéolyse, production d'arômes), de la texture et de l'ouverture des produits laitiers (fromage, beurre, yaourt, lait fermenté). Ces bactéries sont maintenant largement utilisées sous formes de levains sélectionnés (**Hermier et al., 1992**).
- **les bactéries propioniques** : Ce sont des bactéries Gram⁺, fermentant les lactates pour donner de l'acide acétique et propionique, ainsi que du CO₂ (fermentation propionique). Elles participent à la formation du goût et de l'ouverture des fromages à pâte pressée cuite (Emmental, Comté, Gruyère) (**Hermier et al., 1992**).
- **Les microcoques, les staphylocoques non pathogènes** (*Staphylococcus equorum*, *S.xylosum*, *S. lentus*), les bactéries corynéformes (*Brevibacterium*, *Arthrobacter*, etc.). Ce sont des bactéries Gram⁺, constituants de la flore de surface des fromages affinés. Elles jouent un rôle essentiel dans la formation du goût des fromages, notamment des fromages à croûte lavée, fleurie ou croûte mixte (Munster, Camembert, Pont l'Evêque, etc....) (**Hermier et al., 1992**).

I.3.1.2. La flore fongique

- **Les levures** (*Kluyveromyces*, *Geotrichum candidum*, *Debaryomyces*, *Candida*, *Yarrowia*) :

Les levures se retrouvent de manière plus importante (en moyenne 100 fois plus) à la surface des fromages (à pâte molle notamment) qu'à l'intérieur. Elles interviennent dans la désacidification de la pâte en début d'affinage, permettant ainsi l'implantation ultérieure d'une flore acido-sensible comme les bactéries corynéformes, et interviennent également dans la formation du goût (**Hermier et al., 1992**).

- **Les moisissures** : genre *Penicillium* et *Mucor*
 - *P. camemberti* est présent à la surface des fromages à pâte molle à croûte fleurie comme le Camembert ou les fromages de chèvre.
 - *P. roqueforti* est la moisissure interne des bleus comme le Bleu d’auvergne (lait de vache) ou le Roquefort (lait de brebis).
 - *Mucor* est la moisissure dominante à la surface de la Tomme de Savoie et est présente également à la surface du Saint Nectaire fermier.

Par leurs aptitudes biochimiques, les moisissures jouent un rôle déterminant dans la formation des caractéristiques sensorielles des fromages (**Hermier et al., 1992**).

I.3.2. Les micro-organismes responsables 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 milieu, provoquent des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et/ou libération en leur sein de composés indésirables. Ces dégradations peuvent être dues à des bactéries, levures et moisissures et se traduisent par des défauts de goût, d’odeur, d’aspect et de texture (**Hermier et al., 1992**).

I.3.2.1. La flore bactérienne

- **Les coliformes** peuvent être responsables de gonflements précoces dans les fromages, conduisant notamment en pâte molle, à des accidents spectaculaires (fromage à aspect spongieux). Ce gonflement est dû principalement à la formation d’hydrogène très peu soluble dans le fromage. Lors de leur développement dans le lait et les produits laitiers, les bactéries psychrotrophes (genre *Pseudomonas* principalement, mais également *Bacillus*) peuvent produire des lipases et protéases extracellulaires, généralement thermostables. Ces enzymes peuvent provoquer des défauts de goût dans les fromages (goût de rance, amertume) ou être responsables (protéases) de la déstabilisation des laits UHT (**Hermier et al., 1992**).
- **Les bactéries butyriques** (*Clostridium tyrobutyricum*) peuvent se développer dans les fromages (à pâte pressée cuite et non cuite) et donner des défauts de goût et d’ouverture « gonflement tardif » par fermentation butyrique (production d’acide butyrique et d’hydrogène) (**Hermier et al., 1992**).

I.3.2.2. Levures et moisissures

- Elles se manifestent dans le fromage mais très peu dans le lait. Ainsi, *Mucor* est responsable de l'accident dit « poil de chat » principalement en fromage à pâte molle, se caractérisant par un défaut d'aspect des fromages, et par l'apparition de mauvais goût. De même, *Geotrichum candidum* peut devenir un agent d'altération (défaut de texture et de goût) en technologie pâte molle s'il est amené à trop se développer (accident de la « graisse » ou de la « peau de crapaud ») (Hermier et al., 1992).

Il est à noter, toutefois, que le regroupement des microorganismes en flore utile ou flore d'altération est à nuancer en fonction des technologies considérées. Par exemple, le *Mucor* est utile en Tomme de Savoie, mais nuisible en Camembert (accident du « poil de chat ») (Hermier et al., 1992)

I.3.3 Les micro-organismes potentiellement pathogènes

La contamination du lait et des produits laitiers peut être aussi l'œuvre de germes dangereux pour la santé du consommateur. C'est ainsi que le *Staphylococcus aureus* peut produire des entérotoxines dont l'ingestion provoque des vomissements, souvent accompagnés de diarrhée. *Salmonella* peut provoquer les mêmes symptômes, caractéristiques d'une toxi-infection alimentaire, ainsi qu'*Escherichia coli*. *Listeria monocytogenes* peut provoquer la listériose qui atteint préférentiellement la femme enceinte (avortement), le nouveau-né et l'adulte immunodéprimé (septicémies, méningites) (Hermier et al., 1992).

Outre ces quatre bactéries pathogènes classiquement recherchées en contrôle qualité, le lait et les produits laitiers sont susceptibles de contenir d'autres micro-organismes potentiellement pathogènes tels que *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus cereus* ou *Aspergillus* (production de mycotoxines). (Hermier et al., 1992)

I.4. Classification des fromages

I.4.1. La notion de fromage à appellation contrôlée (AOC)

L'Appellation d'Origine Contrôlée (AOC) indique que la désignation fromagère est conforme à la réglementation, notamment le type et la race de l'animal dont provient le lait, l'emplacement de production de lait et le fromage, les techniques de production (y compris la pasteurisation), la composition finale du fromage (sa teneur en matières grasses et la teneur en eau, par exemple), ainsi que les attributs physiques et sensoriels des fromages, dont la forme, la taille et, bien sûr, la saveur (Katz et Weaver, 2003).

I.4.2. Principales classifications des fromages

Il existe plusieurs fromages mais il n'existe pas une méthode unique et standard pour leur groupage (**Katz et Weaver, 2003**). Parmi ces classifications nous avons choisi trois classifications, la première étant la plus répandue et la plus ancienne, c'est la classification du **Kelling (1947)**, la deuxième est la classification du **codex alimentaire (1978)**, la troisième est la plus récente c'est la classification de **Steven Jenkins (1996)**.

I.4.2.1. La classification de **KELLING** (cf. Annexe II)

Kelling cité par **Vessyre (1979)** a établi en 1947 une première classification des fromages, basée sur des critères d'ordre technologiques. Il a fait ressortir trois groupes de fromage :

- **Fromages frais** : caractérisés par une fermentation lactique suivie d'un léger égouttage, mais sans maturation ultérieure. Ce sont les fromages blancs, fromage frais mis en forme (petit suisse et demi dur)
- **Fromages affinés** : constituent le groupe le plus important auquel appartiennent les variétés à appellation d'origine. Ils comprennent les catégories suivantes :
 - **Fromages à pâtes molles** : à égouttage naturel ou à égouttage accéléré par découpage et brassage du caillé. On distingue dans cette catégorie :
 - Ceux à moisissure externe : carré de l'est
 - Ceux à moisissures interne : les bleus, roquefort
 - Ceux à croûte lavée : Livarot.
 - **Fromages à pâte dure** :
 - Pressés et cuits : Gruyère, Emmental, Comté
 - Pressés non cuits : Saint Paulin, Cheddar
- **Fromages fondus** : obtenus par fusion des fromages avec l'ajout de crème fraîche, de beurre, de la poudre du lait et d'émulsifiants.

I.4.2.2. Classification du **codex alimentarius**

Elle est en fonction de la consistance, de la teneur en matière grasse, et des principales caractéristiques de l'affinage. La classification d'un fromage, selon les normes du codex alimentaire est obtenue après application des trois formules suivantes (**Codex alimentarius, 1978**) :

▪ **Formule 1:**

Calcul de la Teneur en Eau en pourcentage dans le Fromage Dégraissé « TEFD ». Ce pourcentage correspond au premier élément de la dénomination.

$$TEFD = \frac{\text{Poids du l'eau du fromage}}{\text{Poids total du fromage} - \text{matière grasse}} \times 100$$

Tableau I: Dénomination de la pâte des fromages selon le TEFD.

TEFD	TEFD < 41	49 ≤ TEFD ≤ 56	53 ≤ TEFD ≤ 63	61 ≤ TEFD ≤ 69	TEFD > 67
Pâte	Extra dur	Dure	Demi-dure	Demi molle	Molle

▪ **Formule 2:**

Calcul du pourcentage de la Matière Grasse dans l'Extrait Sec « MGES ». Ce pourcentage correspond au second élément de la dénomination.

$$MGES = \frac{\text{Teneur en matière grasse du fromage}}{\text{Poids total du fromage} - \text{eau du fromage}} \times 100$$

Tableau II: Dénomination des fromages d'après la MGES.

MGES	MGES > 60	60 ≤ MGES ≤ 45	45 ≤ MGES ≤ 25	25 ≤ MGES ≤ 10
Fromage	Extra gras	Tout gras	Mi gras	Quart gras

▪ **Formule 3:**

Tableau III: Dénomination des fromages d'après la principale caractéristique d'affinage.

Fromage	Affiné	Affiné aux moisissures	Frais non affiné
Caractéristiques	Principalement en surface	Principalement en surface	//
	Principalement dans la masse	Principalement dans la masse	//

I.4.2.3. La classification de Steven Jenkins (1996)

Steven Jenkins décrit huit familles de fromage (y compris les fromages fondus), cette classification est basée sur les caractéristiques généraux du fromage (apparence, mode de production...) (Katz et Weaver, 2003) :

- **Fromage frais**

Après la formation du caillé à partir du lait (et aussi, parfois, le petit-lait), le fromage est habituellement emballé. Les fromages sont consommés frais, non affinés, et n'ont pas de croûte. La Mozzarella fraîche est incluse dans cette catégorie car il ne forme pas une croûte.

- **Fromages à croûte fleurée.**

Appelée simplement "fromages molle affinés, cette catégorie comprend les fromages comme le français Camembert et Brie, qui sont recouverts de velours moisissures blanches qui affine le fromage d'après l'extérieur.

- **Fromage à croûte lavée.**

Ces fromages oranges, collants, sont frottés avec de l'eau, de la saumure, de l'alcool ou de solution pour activer la croissance des bactéries et des moisissures sur leurs croûtes. A titre d'exemple le fromage français "Livarot" surnommé " Le Colonel " qui est entouré de raphia bandes et d'alsace munster.

- **Fromage à croûte naturelle.**

La formation de la croûte est naturelle, en ce sens qu'elle est due à leur contact avec l'air. Les fromages de chèvre à moisissures externes et Stilton britannique sont de bons exemples.

- **Fromage bleu veiné**

Afin de permettre la croissance de leurs intérieurs bleuâtres ou verdâtres, ces fromages ne sont jamais pressés. Ils sont généralement injectés avec la souche de la moisissure, puis percé pour exposer les entrailles à l'air. Ils sont enveloppés dans du papier aluminium, comme l'italien Gorgonzola ou vendu sous forme de rondes naturelles comme le Stilton britannique

- **Fromage non cuit, à pâte pressée.**

Il s'agit d'une catégorie définie par type de traitement. Ces fromages sont pressés pour retirer le lactosérum, mais ne sont pas cuits, tels que les fromages Emmental suisse (parfois l'emmental) et le Gruyère.

- **Fromage cuit et pressé**

Il s'agit de fromages tels que l'Emmental suisse et le Gruyère cuit.

- **Fromage fondu**

Ce fromage est créé par le mélange et le chauffage d'un mélange de fromages naturels et des émulsifiants. Les éléments nutritifs contenus dans ce fromage restent très proches de celui du fromage naturel, bien que la teneur en sodium soit plus élevée. Toutes ces caractéristiques les rendent populaires.

I.5. Composition, intérêt nutritionnel et thérapeutique des fromages

I.5.1. Composition et intérêt nutritionnel

Le fromage a une longue tradition dans l'alimentation humaine. Autrefois, il s'agissait principalement d'une forme concentrée de lait qui avait l'avantage d'avoir une durée de conservation prolongée. Des recherches récentes en nutrition ont mis en évidence la contribution du fromage dans l'alimentation et la santé (**Walther et al., 2008**). Le tableau IV présente la composition nutritionnelle de quelques fromages.

I.5.1.1 La matière grasse

Les lipides sont l'un des composants principaux du fromage, ils présentent 20 à 35% de l'extrait sec total avec une teneur d'environ 60g/kg d'acides gras mono-insaturés, et 46g/kg d'acides gras polyinsaturés (la composition varie selon la saison). La matière grasse contribue à la saveur du fromage frais et affiné (**Walther et al., 2008**), cependant, la plupart des acides gras se présentent sous forme de triglycérides, mais parfois plus de 5g/kg en fromage peut être présenté sous forme d'acides gras libres, qui sont issus de l'hydrolyse des lipides du lait par les lipases d'origine microbienne, et à moindre mesure par la présure ajoutée pendant la fabrication. Leur présence est essentielle pour la saveur de plusieurs fromages qui sont ainsi absorbés rapidement lors de la digestion (**Renner, 1993**).

I.5.1.2. Les protéines

Les constituants protéiques de l'alimentation doivent couvrir les besoins en acides aminés essentiels à la nutrition, et les protéines animales sont plus indiquées que les protéines d'origine végétale (**Scott et al., 1998**). Les besoins protéiques pour l'adulte sont approximativement de 1g/kg du poids corporel ; le fromage étant une source convenable de protéines; puisque normalement il apporte tous les acides aminés essentiels (cf. Tableau V) (**Renner, 1993**).

Il est évident que la valeur biologique des protéines du fromage est légèrement faible à celle des protéines du lait entier, en ce sens que cette dernière n'est nullement affectée par les opérations normales de fabrication. En revanche, dans certains fromages frais où le lait est concentré par ultrafiltration (standardisation), toutes les protéines du lactosérum sont retenues et par conséquent la valeur nutritionnelle du produit augmente (**Walther et al., 2008**). Parmi les avantages recensés des composants issus de la protéolyse, nous pouvons citer la diminution de la pression artérielle (**Walther et al., 2008**), ainsi que les effets antimicrobien, anti-carcinogène, anti-carie dentaire, anti-inflammatoire, et abaissement de la cholestérolémie (**Sipola, 2002**).

I.5.1.3. Le lactose

Bien que le lait contient du lactose, les fromages et surtout les affinés ne contiennent pas une quantité appréciable de ce dernier (**Scott et al., 1998**), du fait qu'il est perdu en lactosérum pendant la fabrication ou converti en acide lactique, lactate, et ultérieurement en diacétyl, acétaldéhyde, acide acétique, éthanol et CO₂ pendant le procédé d'affinage (**Walther et al., 2008**). Ces fromages peuvent être consommés sans risques pour les gens qui souffrent de l'intolérance au lactose, puisque la teneur en acide lactique varie de 0,2% (camembert) à 1,3 (cheddar) (**Scott et al., 1998**).

I.5.1.4. Minéraux et vitamines

Comme il a été représenté dans le tableau IV, le fromage contient des quantités appréciables de minéraux, où le fer, le calcium et le phosphore sont les plus abondants, en effet 100 g de fromage dur peut approvisionner les besoins journaliers d'un adulte moyen par 50% des besoins en phosphore (**Tsuchita et al., 2001**). Cependant, plusieurs traces d'éléments tels que le zinc, l'iode, le sélénium et le cuivre ont été trouvés dans le fromage.

La teneur en vitamines liposolubles de fromage dépend de sa richesse en matière grasse. Pour les fromages gras, environ 80% de vitamine "A" passe du lait au fromage. La teneur en vitamine "B" est aussi importante et sa concentration dépend de plusieurs facteurs tels que le type d'inoculum, la durée de la période d'affinage et la quantité synthétisée par la flore bactérienne (**Dillon, 1997**).

Tableau IV: Valeurs typiques de la composition des principaux groupes des fromages (par 100 g du fromage) (Scott *et al.*, 1998)

Fromage		Parmesan	Cheddar	Edam	Feta	Fromage fondu
Composants						
Eau(g)		18.4	36	43.8	58	42.31
Protéines(g)		39.4	25.2	6.0	20	24.73
Lipides(g)		32.7	34.4	25.4	21	25.01
Cholestérol (µg)		100	100	80	70	85
Energie(Kcal)		452	412	33	250	334
Vitamines (µg)	Vitamine A/Beta-Carotène	345	325	175	-	198
	Vitamine D/Cholécalciférol	0.25	0.26	0.19	0.5	0.5
	Vitamine E/Tocophérol	700	530	480	370	340
	Vitamine B1/Thiamine	30	30	30	40	14
	Vitamine B2/Riboflavine	440	400	350	210	276
	Vitamine B3/Niacine	120	70	70	200	38
	Vitamine B6/Pyridoxine	130	100	90	70	36
	Vitamine B12/Cobalamine	1.9	1.1	2.1	1.1	1.23
	Vitamine B9/Folate	12	33	40	23	6
	Vitamine B5/Pantothénate	430	360	380	360	260
	Biotine (Vitamine B8)	3.3	3.0	1.8	2.4	-
Minéraux (mg)	Sodium	1090	670	1020	1440	1370
	Potassium	110	77	97	95	216
	Calcium	1200	720	770	360	772
	Magnésium	45	25	39	20	29
	Phosphore	810	490	530	280	762
	Fer	1.1	0.3	0.4	0.2	0.61
	Cuivre	0.3	0.03	0.04	0.07	0.027
	zinc	5.3	2.3	2.2	0.9	3.61
	Sulfure	250	230	-	-	-
	Chlorides	1820	1030	1570	2350	-

Tableau V: Acides aminés essentiels en protéines du lait et en caséines (%) (**Scott et al., 1998**)

	Lait	Caséines
Arginine	3.7	3.9
Histidine	2.2	3.0
Thréonine	4.6	4.5
Valine	7.1	7.4
Leucine	12.1	10.0
Isoleucine	6.7	6.4
Lysine	7.4	8.1
Méthionine	2.8	3.3
phénylalanine	5.5	5.4
Tryptophane	2.4	9.6

I.5.2. Intérêts thérapeutiques

I.5.2.1. La défense contre la carie dentaire

Il existe de nombreuses études qui suggèrent que les fromages peuvent protéger l'homme contre la carie dentaire pour des raisons diverses, parmi lesquelles sa richesse en calcium et en phosphore qui affecte la déposition et l'extraction des minéraux des dents (**Walther et al., 2008**).

I.5.2.2. L'effet anti carcinogène

Plusieurs investigations ont démontré l'effet antimutagène des produits laitiers fermentés contenant des bactéries lactiques (**Goldin et al., 1980**). Les métabolites produits par les bactéries lactiques tels que l'acide butyrique (parfois appelé le butyrate) possèdent une activité anti-tumeur (**Soomro, 2002**). Le mécanisme intervenant est largement inconnu, mais dans le cas du cancer du colon, il a été suggéré que les acides biliaires peuvent être un facteur important, l'action de la microflore est de décomposer ces acides avant qu'ils n'aient un effet négatif lors de la neutralisation de leurs phosphates (**Scott et al., 1998**).

I.5.2.3. Effet sur la pression artérielle

Deux tri-peptides bioactifs synthétisés par *Lactobacillus helveticus* : les VPP (Valyl-Prolyl-Proline) et IPP (Isoleucyl-Prolyl-Proline), détectés dans le lait fermenté, abaissent la pression artérielle. Ces peptides ont également été détectés en quantités significatives dans divers types de fromage (**Walther et al., 2008**).

II.1. Historique et origine des fromages fondus

A la fin du XIX siècle, des progrès considérables réalisés en technologie laitière ont largement contribué à l'expansion de la fromagerie en Europe, aux Etats Unis et en Australie. A cette même époque, la solution au problème de conservation des fromages affinés était partiellement trouvée: un procédé de pasteurisation du fromage à pâte molle, le Camembert, a été développé par trois firmes allemandes, après mise en boîte.

En 1899, le Hollandais J.Hendrickzoon Eyssen traita thermiquement le fromage de Hollande. Mais ces techniques se sont avérées inutilisables pour les fromages à pâte pressée cuite, tel que l'Emmental, au désespoir des exportateurs suisses.

En 1911 la Société GERBER à Thun (Suisse) réussit la première fabrication du fromage fondu. Elle a utilisé du citrate de sodium comme sel de fonte, qu'elle produit elle-même, en mélangeant de l'acide citrique avec du carbonate de sodium ou du bicarbonate. L'acide citrique ainsi que l'alcali étaient et sont encore aujourd'hui partiellement mis en solution, puis portés à ébullition, afin de permettre à l'acide carbonique de s'échapper. Ce procédé n'est plus utilisé aujourd'hui dans les pays fabriquant du fromage fondu à base d'Emmental (**Berger, 1988**).

II.2. Définition du fromage fondu

Les fromages fondus sont des produits obtenus par la fonte d'un fromage ou d'un mélange de fromages, et d'autres produits laitiers, comme le lait en poudre, crème, beurre, et lactosérum y sont, éventuellement, additionnés. L'addition d'eau a pour objectif l'ajustement de l'extrait sec ainsi que l'obtention d'une dispersion homogène des matières premières à froid et d'une émulsion à chaud. Le fromage fondu est un système complexe composé de protéines, matière grasse, sels minéraux et d'autres ingrédients. Ses propriétés sont affectées par des variables comme la composition et la nature de la matière première, le type et la quantité des agents émulsifiants, le procédé de fabrication et d'autres facteurs supplémentaires (**Carie et al., 1985**).

II.3. Différents types de fromage fondu

En effet, il existe une grande variété de fromages fondus : les pâtes dures, les fromages à tartiner, les fromages aux herbes, aux arômes, aux condiments, aux noix, au jambon, fromage fumé, etc. D'ailleurs, d'après **Berger (1988)**, on ne doit retenir que cinq variétés qui se distinguent fondamentalement par leurs types de structure :

- Fromage fondu du type "bloc"
- Fromage fondu en tranche :
 - avec un haut pouvoir de fonte
 - tranche traditionnelle
- Fromage fondu à la coupe
- Fromage fondu à tartiner
 - avec crème : triangle ...
 - sans crème : verre, tube, barquette ...
- Fromage fondu stable à la chaleur.

Le fromage fondu en bloc doit avoir une concentration en matière sèche d'au moins 50% et le taux de matière grasse sur sec d'au moins 40%. Par ailleurs, la matière sèche pour le fromage à tartiner doit être comprise entre 44% et 50%, celui de la matière grasse rapportée à la matière sèche d'au moins 40%. Toutefois, la législation française permet la fabrication de fromages fondus pour tartine contenant de 20% à 30% de matière grasse sur sec et 31% de matière sèche (**Cogitore, 1981**).

La matière grasse végétale peut, également, être substituée à la matière grasse butyrique (**Meyer, 1973**). Aux Etats Unis, ce type de produit est plus utilisé pour l'alimentation scolaire à cause de son bas prix.

Dantas et ses collaborateurs ont utilisé une matière grasse végétale hydrogénée dans la fabrication du fromage "Requeijao tradicional", en substitution partiel à la matière grasse laitière. D'après ces auteurs, la substitution de la matière grasse laitière en taux inférieur à 40% pour la matière grasse végétale ne provoque pas de changement de couleur, de goût ni de flaveur, perçue en analyse sensorielle (**Dantas et al., 1992**).

II.4. Procédé de fabrication du fromage fondu

II.4.1 Le processus de fonte

Sur le plan physicochimique, la fabrication du fromage fondu comporte trois phases fondamentales : la phase de dispersion, la phase de structuration et la phase de crème ou cuisson (**Scharpf, 1971**).

II.4.1.1. Phase de dispersion

C'est la phase qui correspond à l'homogénéisation de l'ensemble (fromage, eau, sel de fonte) à température ambiante sous l'effet de l'agitation mécanique (**Scharpf, 1971**).

II.4.1.2. Phase de structuration

Cette phase correspond à l'organisation moléculaire des différents composants sous l'action conjuguée de la température (65°-70°C), de l'agitation mécanique et du réemploi; ce dernier concerne le fromage fondu issu d'une fabrication antérieure, dont la présence permet d'obtenir la gélification de la pâte fondue (**Scharpf, 1971**).

II.4.1.2.1. Les sels de fonte

L'une des manières les plus efficaces de maîtriser les propriétés du fromage fondu est d'utiliser des sels émulsifiants. Ces derniers sont des agents chélatants du calcium qui possèdent, en plus du pouvoir peptisant, un pouvoir émulsifiant de la matière grasse et favorisent la rétention de l'eau ; de ce fait ils affectent les propriétés chimiques, physiques et microbiologiques du fromage fondu. Les poly-phosphates et les citrates forment la base des formules actuellement utilisées, sous forme de mélanges, dans des proportions qui dépendent de la nature des matières premières à fondre ainsi que des types de fromage (tartine, bloc) à fabriquer. L'ortho-phosphate de sodium est employé surtout sous la forme tri-substitué, en mélange avec d'autres émulsifiants, pour élever le pH. Par ailleurs, les poly-phosphates ont une forte réaction de crémage tandis que le citrate et l'ortho-phosphate n'ont aucun effet (**Scharpf, 1971**).

II.4.1.2.1.1. Interaction avec le calcium

Tous les sels ont une certaine tendance à se lier au calcium y compris le calcium contenu dans les fragments de protéine. Le calcium lié aux fragments de caséine diminue leur solubilité dans l'eau, lequel à son tour, réduit leur pouvoir émulsifiant (**Shimp, 1985**).

Dans la fabrication du fromage fondu, les sels émulsifiants de sodium sont utilisés pour ajuster le pH, pour faire la chélation du calcium et enlever les ions calcium des constituants de la protéine. Comme conséquence, ils dispersent, hydratent et solubilisent les constituants de la protéine, qui à son tour, augmentent l'émulsification et la stabilité de la matière grasse. Une structure adéquate est, ainsi, obtenue après refroidissement (**Carie et al., 1985**).

II.4.1.2.1.2. Les protéines émulsifiantes

Les protéines émulsifiantes et structurales du fromage sont des caséines ou des fragments de caséines. Pour la plupart des fractions de caséines, l'une des régions terminales contient des groupes de phosphates de calcium et porte essentiellement toute la charge de la protéine, et est soluble l'eau; tandis que l'autre région est de nature organique, non polaire et est soluble dans la matière grasse; c'est ce phénomène qui donne à ces protéines leur propriété émulsifiante (**Ellinger, 1972**).

D'après **Shimp (1985)**, les protéines émulsifiantes peuvent être modifiées par plusieurs facteurs :

- La quantité de calcium dans la région terminale du phosphate de calcium.
- Le pH du fromage
- L'âge du fromage
- La température à laquelle le fromage est sujet au cours du procédé.

Le calcium affecte la solubilité : plus le calcium est présent, moins soluble est la région terminale de la protéine compatible avec l'eau, et moins elle a de pouvoir émulsifiant. Le pH du fromage affecte la configuration de la protéine: c'est ainsi qu'à certains pH, les protéines tendent à se rétracter dans les sphères en minimisant leur interaction. Le vieillissement du fromage tend à fragmenter la protéine comme le fait une enzyme, ceci peut aider l'émulsification ou non. Tandis que le chauffage tend à dénaturer les protéines et à diminuer leurs propriétés émulsifiantes, le taux de chauffage nécessaire est largement dicté par le besoin de pasteurisation du fromage, et le degré de l'action du temps est déterminé par la saveur désirée (**Shimp, 1985**).

II.4.1.3. Phase de crémage ou cuisson

La rupture des ponts inter et intra-chaînes, résultant de la capture du calcium, a pour conséquence la peptisation de la para-caséine. Le crémage est, après la peptisation, l'épisode de la fonte qui détermine la qualité future du fromage fondu. Ce terme (crémage) employé couramment en pratique signifie plus précisément « gonflement et hydratation » (**Lee, 1981**).

La notion de gonflement peut s'appliquer à l'augmentation de viscosité pendant la fonte, à la fixation d'eau, ou à la transformation de la pâte d'un jeune fromage en une pâte crémeuse plus courte (**Paquet, 1988**).

Il nécessite des températures qui varient entre 70° et 90°C, du fait que cette étape est considérée comme l'opération clef au cours de laquelle le fromage acquiert sa consistance, de plus, elle assure la destruction thermique des microorganismes et des enzymes. Le crémage ou hydratation des protéines est obtenu par une association de trois facteurs : l'agitation, le traitement thermique, et l'action dispersante des sels de fonte. Cette association fait apparaître des zones hydrophiles à la surface de la caséine, ce qui facilite la liaison des molécules avec l'eau, et fait augmenter la viscosité du fromage fondu (**Scharpf, 1971**).

II.4.2. L'homogénéisation

En même temps que se déroule le processus d'hydratation, la para-caséinate de sodium émulsifie la matière grasse libérée sous forme de gros globules gras dans le mélange en cours de la fonte. D'après Rayan et ses collaborateurs, l'homogénéisation provoquée par les effets simultanés des sels émulsifiants, du chauffage et de l'agitation, réduit la taille de ces globules gras et améliore ainsi la stabilité de l'émulsion (**Rayan et al., 1980**).

La prolongation du crémage provoque un épuisement de la capacité d'hydratation des protéines, d'où le risque de voir de faibles perturbations du système (pH, température), ce qui entraîne l'effondrement de l'ensemble (**Lee, 1981**).

Au cours du refroidissement, il est probable que se produit une réorientation des protéines, de sorte que les forces structurantes interviennent à nouveau (**Mair-Waldburg et Sturm, 1968**).

II.4.3. Le conditionnement

Le conditionnement étant une étape très complexe, il est réalisé à l'aide de machines automatiques à des cadences très rapides, surtout pour le fromage fondu, ce qui permet de produire de 20 à 800 portions par minute. Il s'effectue dans des feuilles d'aluminium vernis sur les deux faces. La feuille est préformée par pression sur la machine sous forme d'une coquille, qui après remplissage avec la pâte fondue reçoit un couvercle avant l'accomplissement du scellage qui se situe entre 60° et 70°C, ce qui permet d'utiliser la seule chaleur du fromage fondu comme énergie de scellage (**Boutonnier, 2000**).

L'avantage de l'automatisation du conditionnement est de réduire les risques de contamination de la pâte après la pasteurisation ou la stérilisation (**Luquet et Boudier, 1981**).

II.5. Les étapes de fabrication du fromage fondu selon Goumidi (cf. Annexe III)

MATERIEL
ET
METHODES

I. Lieu de stage

Notre stage a été effectué au niveau du laboratoire de contrôle de qualité au sein de la laiterie fromagère "GIG" (Groupe Industriel GOUMIDI) qui se situe au niveau de la zone industrielle d'Ouled-Yaich, wilaya de Blida, durant la période s'étalant du 22 mars 2015 au 17 juin 2015. Ce stage porte sur un contrôle microbiologique et physico-chimique du fromage fondu UHT "O'kids".

II. Matériel

II.1. Matières premières

Les matières premières utilisées sont les suivantes:

- **Poudre de lait** : la poudre de lait est une matière résultant de l'enlèvement partiel de l'eau du lait, elle se trouve être conditionnée dans des sacs de 25 kg en polyéthylène recouverts par des sacs en papier.
- **Cheddar** : le cheddar est fromage à pâte dure dont la couleur oscille du blanc ou jaune, fabriqué à partir de lait doux entier, cru ou pasteurisé. A partir du lait cru, il est généralement fermier, sa date de péremption, dure au moins 60 jours et jusqu'à 6 mois, quelque fois 1 ans, il se présente généralement sous forme de bloc de 36 cm de diamètre et 30 cm d'épaisseur, pesant entre 27 et 35 kg.
- **Beurre** : ce produit à humidité faible (15%) et à teneur en lipides élevée (80%) est microbiologiquement stable. L'eau est présente sous forme de fines gouttelettes en émulsion dans la phase liquide. Il se présente sous forme de bloc de 25 kg enveloppés d'une pellicule en cellophane.
- **L'eau de process** :(cf. Annexe IV)

II.2. Matériel nécessaire

Le matériel de laboratoire, les appareils de mesure, ainsi que les milieux de culture et réactifs utilisés lors des analyses microbiologiques et physico-chimiques sont représentés dans les annexes V, VI et VII.

III. Méthodes

III.1 Prélèvement

L'étape d'échantillonnage a une influence directe sur la qualité des résultats analytiques obtenus. A l'effet d'obtenir un échantillon représentatif et de minimiser les risques associés à la contamination de ce dernier, le préleveur doit s'assurer, au préalable, de la qualité du prélèvement, de la conservation et du transport adéquat des échantillons avant qu'ils ne soient soumis à un laboratoire (C.E.A.E, 2006).

III.1.1. Technique de prélèvement

Le prélèvement doit s'effectuer dans des conditions de travail aseptiques en utilisant un bec Bunsen, ou sur le terrain, une lampe à gaz (genre lampe à souder portative). Il faut éviter les courants d'air, les déplacements et discussions inutiles.

III.1.2. Prélèvement de la matière première

La poudre de lait :

- Conditionnée dans des sacs en polyéthylène de 25 kg, la poudre de lait est entreposée dans un magasin à température ambiante, sur des palettes en bois à l'effet d'éviter le contact direct avec le sol. Ces sacs sont généralement doublés ou triplés avec du papier de Kraft et fermés hermétiquement. Le prélèvement s'effectue par un choix au hasard sur des sacs qui seront nettoyés avec de l'eau de javel.
- A l'aide d'une sonde de prélèvement stérile, on prélève environ 100 g de poudre à partir de trois niveaux (la surface, le milieu et le fond du sac).

Le cheddar :

- Concernant cette matière, le prélèvement s'effectue dès réception de ce dernier au magasin, dans les mêmes conditions que celles réalisées lors du prélèvement de la poudre de lait et à l'aide d'une sonde de fromage à partir de la surface, le milieu et le fond.

Le beurre :

- Le prélèvement s'effectue à partir de cinq blocs de beurre de 25 kg, choisis au hasard de la palette de stockage. A l'aide d'un couteau stérilisé, on procède à l'ouverture de l'emballage et au découpage des morceaux de beurre qui sont introduits aseptiquement dans un bécher stérile et bien fermé.

L'eau de process :

- On prélève à chaque fois 500 ml de l'eau de process qui est stockée dans un tank d'une capacité de 20.000 litres. Cette procédure nécessite la désinfection, au préalable, du robinet dont l'extrémité est convenablement nettoyée et flambée. Avant de remplir les flacons déjà stérilisés et bien fermés, on doit laisser couler les premiers jets quelque instants.

III.1.3. Prélèvement du produit après stérilisation

Avant le remplissage des flacons, on utilise toujours la flamme lors du prélèvement et on laisse couler le produit quelques minutes.

III.1.4. Prélèvement du produit fini (fromage fondu)

Le prélèvement du produit fini porte sur cinq boîtes de fromage de 16 portions et s'effectue directement en retirant aléatoirement, du côté, du milieu, du haut et du bas de la palette. Ces échantillons ont été utilisés pour les différentes analyses, et font l'objet d'un stockage à une température ambiante (entre 22° et 27 °C).

Les dates de prélèvements ainsi que les quantités prélevées sont représentées dans l'annexe IX

III.2. Analyses microbiologiques

Au cours de la présente étude, nous nous sommes fixés comme objectif à vérifier la présence ou l'absence de germes indicateurs des conditions d'hygiène. Les germes d'importance particulière qui peuvent être à l'origine des toxi-infections alimentaires sont principalement les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les staphylocoques et les spores anaérobies gazogènes (SAG).

III.2.1. Analyses microbiologiques des matières premières et du produit fini

Les germes recherchés dans les différents prélèvements de matière première et du produit fini sont déterminés par le Journal Officiel de la République Algérienne (JORA) n°35 daté le **27 Mai 1998** (cf. tableau VI)

Tableau VI: Analyses microbiologiques effectuées sur les différents prélèvements.

	Poudre de lait	Cheddar	Beurre	Eau de process	Produit fini
Germes totaux	+	-	+	+	+
Coliformes	+	-	+	+	+
<i>S.aureus</i>	+	+	+	-	+
Levures et moisissures	+	-	+	-	+
<i>Clostridium</i> sulfito-réducteur	+	+	+	+	+
<i>Streptocoques</i> fécaux	-	-	-	+	-

III.2.1.1. Préparation des dilutions (cf. figure 1/ figure 2)

La préparation des dilutions se fait selon directive générale pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique : **NF V08-057-2**.

III.2.1.1.1. Suspension mère (première dilution)

La suspension mère est une solution ou émulsion obtenue après qu'une quantité pesée (unité d'analyse) du produit à analyser ait été mélangée, avec un homogénéisateur si nécessaire et en observant des précautions appropriées, avec une quantité neuf fois égale de diluant, sauf exception, en laissant se déposer les particules grossières, s'il y en a (**ISO 6887-1 ,1999**).

Procédure

Prélever l'échantillon de façon représentative et le peser. Ajouter une quantité de diluant égale à 9 fois la masse de l'échantillon (généralement 25 g d'aliment avec 225 ml de TSE "*Tryptone Sel Eau*"). Cette première dilution correspond à la dilution mère (DM) 10^{-1} (cf. figure 02)

En cas d'un produit liquide, l'échantillon lui-même correspond à la suspension mère (SM) et est égale à 1 (cf. figure 01).

III.2.1.1.2. Dilutions décimales

Il s'agit de suspensions ou de solutions obtenues en mélangeant un volume déterminé de la suspension mère avec un volume neuf fois égal de diluant, et en répétant cette opération pour chaque dilution préparée, jusqu'à l'obtention d'une gamme de dilutions décimales appropriées pour l'inoculation des milieux de culture (**ISO 6887-1 ,1999**).

Procédure

Transférer à l'aide d'une micropipette 1 ml de la suspension ou la dilution mère dans un tube contenant 9 ml de TSE. À l'aide d'un agitateur mécanique, mélanger le tube pendant 5 à 10 secondes afin d'obtenir la dilution 10^{-1} pour les produits liquides et la dilution 10^{-2} pour les produits solides. Répéter ces opérations pour la dilution 10^{-2} et les dilutions décimales suivantes afin d'obtenir les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , etc., en changeant la micropipette pour chaque dilution, jusqu'à l'obtention d'une gamme de dilutions décimales appropriées.

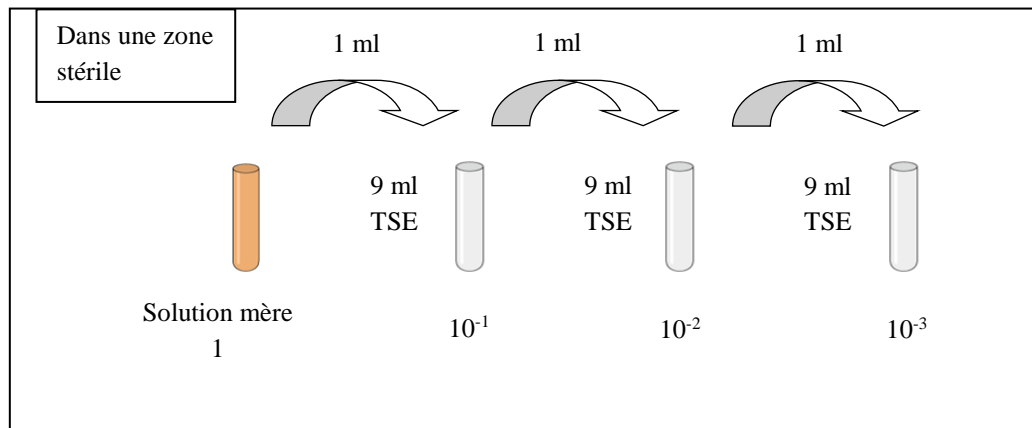


Figure 1: Préparation des dilutions décimales pour les produits liquides.

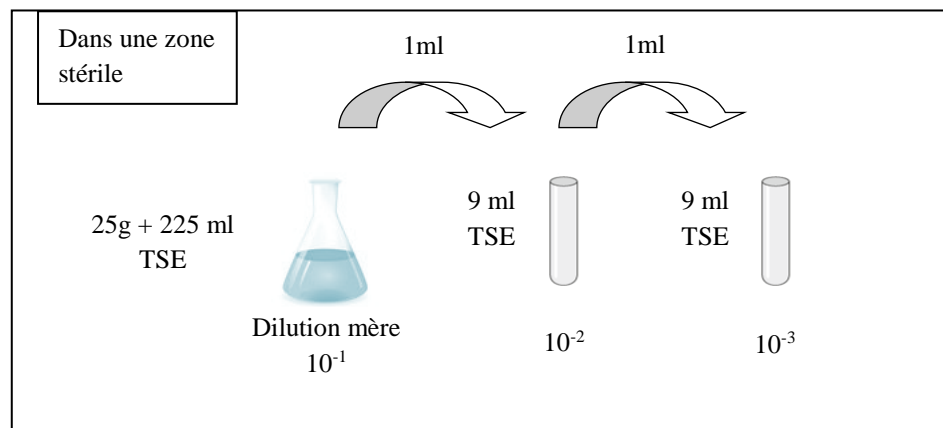


Figure 2: Préparation des dilutions décimales pour les produits solides.

III.2.1.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)

La recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux se fait selon la norme **NF V08-051**, relative au dénombrement des microorganismes par méthode de comptage des colonies.

Selon les normes internationales, les micro-organismes reviviscibles se définissent comme étant la totalité des bactéries, levures et moisissures capables de former des colonies dans ou sur le milieu de culture spécifié dans les conditions d'essai décrites (**Rodier, 1996**).

Principe

Les germes aérobies totaux ne constituent pas une famille bactérienne particulière. Il s'agit des microorganismes formant des colonies dénombrables après leur multiplication dans des conditions définies de laboratoire. Le milieu de culture utilisé est la gélose PCA (plate count agar) selon l'Organisation Internationale de Normalisation (ISO) avec incubation à 30°C pendant 72 h (**Ghafir et Daube, 2007**).

Mode opératoire

- **Matières premières et le produit fini (cf. figure 3)**

Prélever aseptiquement, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, un millilitre de la solution mère et des dilutions décimales successives allant de 10^{-1} à 10^{-3} et mettre en culture en profondeur dans des boîtes de Pétri stériles, vides, préparées et pré-numérotées.

Compléter avec environ 15 à 20 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$.

Faire ensuite des mouvements circulaires et en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.

Laisser solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche fine de la même gélose. Cette double couche à un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

Incuber les boîtes renversées à 30°C pendant 72 heures avec une première lecture à 24 heures, une deuxième lecture à 48 heures, et une troisième à 72 heures.

▪ Eau de process (cf. figure 4)

A partir de l'eau à analyser, mettre 2 fois 1 ml dans deux boîtes de Pétri vides, stériles et pré-numérotées.

Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 15 à 20 ml de gélose PCA.

Mélanger avec précaution en mouvement rotatoire et de va-et-vient en forme de « 8 » puis laisser solidifier. Retourner les boîtes et incuber l'une à 22 °C pendant 24 h à 48 h, et l'autre à 37 °C pendant 72 h.

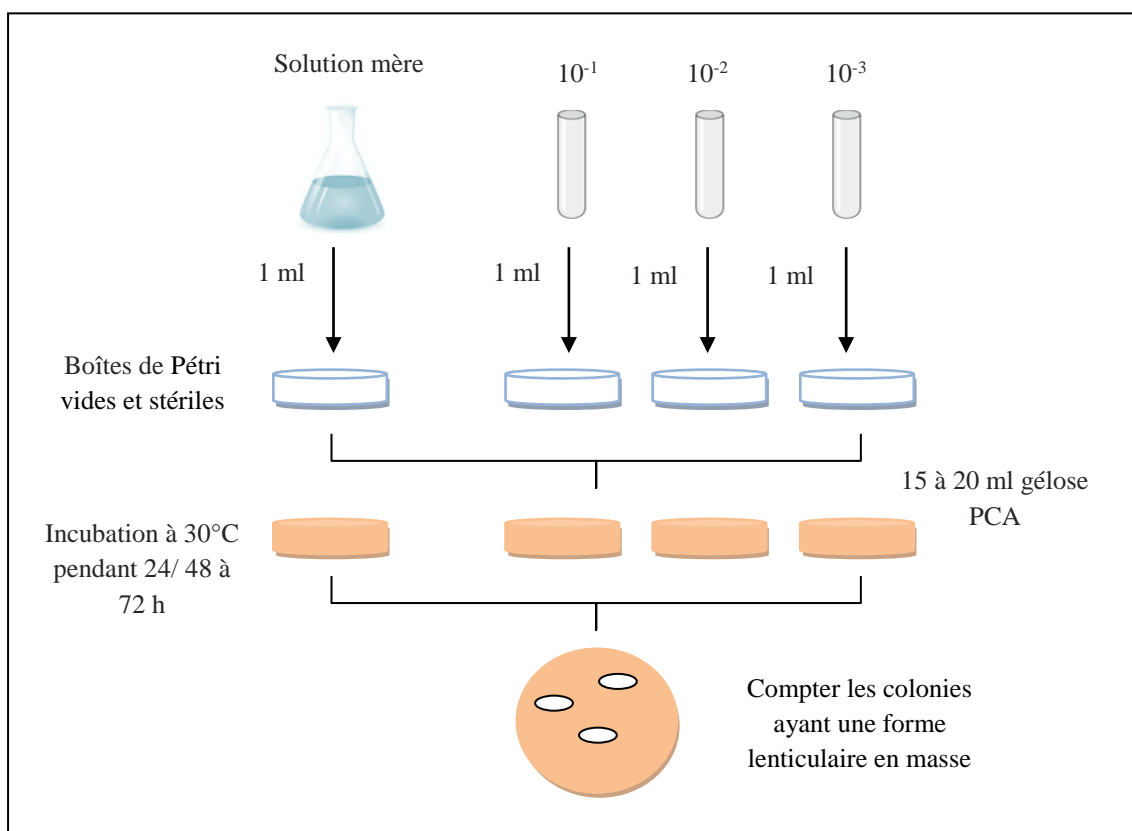


Figure 3: Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) dans les matières premières et le produit fini.

Lecture

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des boîtes contenant entre 15 et 300 colonies, et qui se présentent sous forme lenticulaire en masse.

Le résultat final est exprimé en UFC (unité formant colonie) /g de produit analysé ou par UFC/ml (dans le cas d'eau de process); le nombre de microorganismes est obtenu par l'application de la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{1.1 d}$$

N = le nombre de microorganismes

C = nombre de colonies dans chaque boîte

d = la dilution décimale

Dénombrement

Il s'agit de faire un comptage de toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en référence aux facteurs suivants :

- 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.

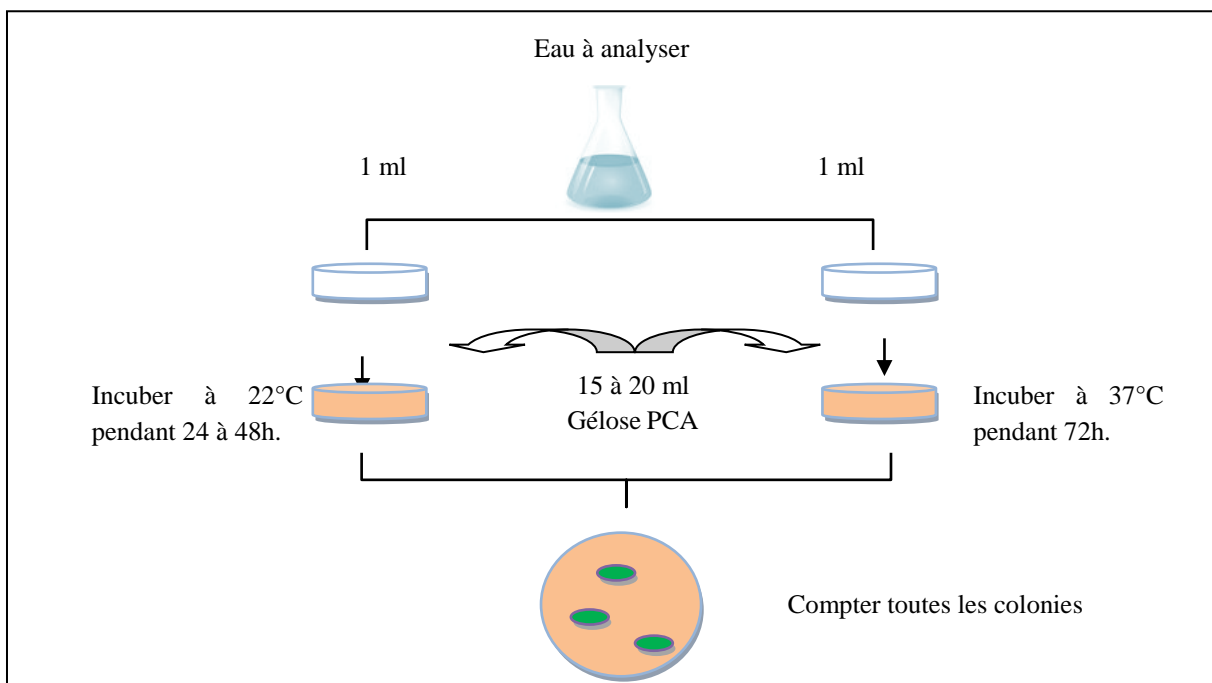


Figure 4: Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT) dans l'eau de process.

III.2.1.3. Recherche et dénombrement des coliformes

Les coliformes correspondent à des organismes en bâtonnets, non sporogènes, à coloration de Gram négatif, oxydase négative, aérobies ou facultativement anaérobies. Elles sont capables de croître en présence de sels biliaries ou d'autres agents de surface, et possèdent des activités inhibitrices de croissance similaires, et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et d'aldéhyde en 48 heures, à des températures de 35° à 37 °C (Rodier, 1996).

Les coliformes fécaux ou coliformes thermo-tolérants sont des coliformes qui fermentent le lactose mais à 44°C (Rodier, 1996). L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *Escherichia coli* (*E.coli*), et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klasiella* et *Serratia* (OMS, 2000).

- **Méthode de comptage des colonies (cf. figure 5)**

La recherche et le dénombrement d'après cette méthode se fait selon la norme **NF V 08-017** relative au dénombrement des coliformes.

Principe

Numérotation des colonies caractéristiques des coliformes totaux qui se développent en 24 h à 37°C et les coliformes fécaux qui se développent en 24 h à 44°C, sur gélose VRBL (gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) puis confirmation du nombre de colonies par fermentation du lactose (NF ISO 4832, 2006).

Mode opératoire

Prélever aseptiquement, à l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1 ml de la solution mère et des dilutions décimales dans des boîtes de Pétri stériles, vides, préparées et pré-numérotées.

Compléter par la suite avec environ 15 à 20 ml de gélose VRBL fondue puis refroidie à $45 \pm 2^\circ\text{C}$ dans un bain Marie.

Homogénéiser parfaitement le contenu en effectuant des mouvements circulaires, de «va-et-vient» et en forme de «8» sur une surface fraîche et horizontale pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose et laisser solidifier.

Incuber les boîtes renversées à :

- 37°C pendant 24h pour les coliformes totaux ;
- 44°C pendant 24h pour les coliformes fécaux (thermo-tolérants).

Lecture

Les colonies caractéristiques des coliformes présentent une couleur violette avec un diamètre de 0,5 mm ou plus, et sont parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile. Les résultats sont exprimés en nombre de coliformes / ml du produit.

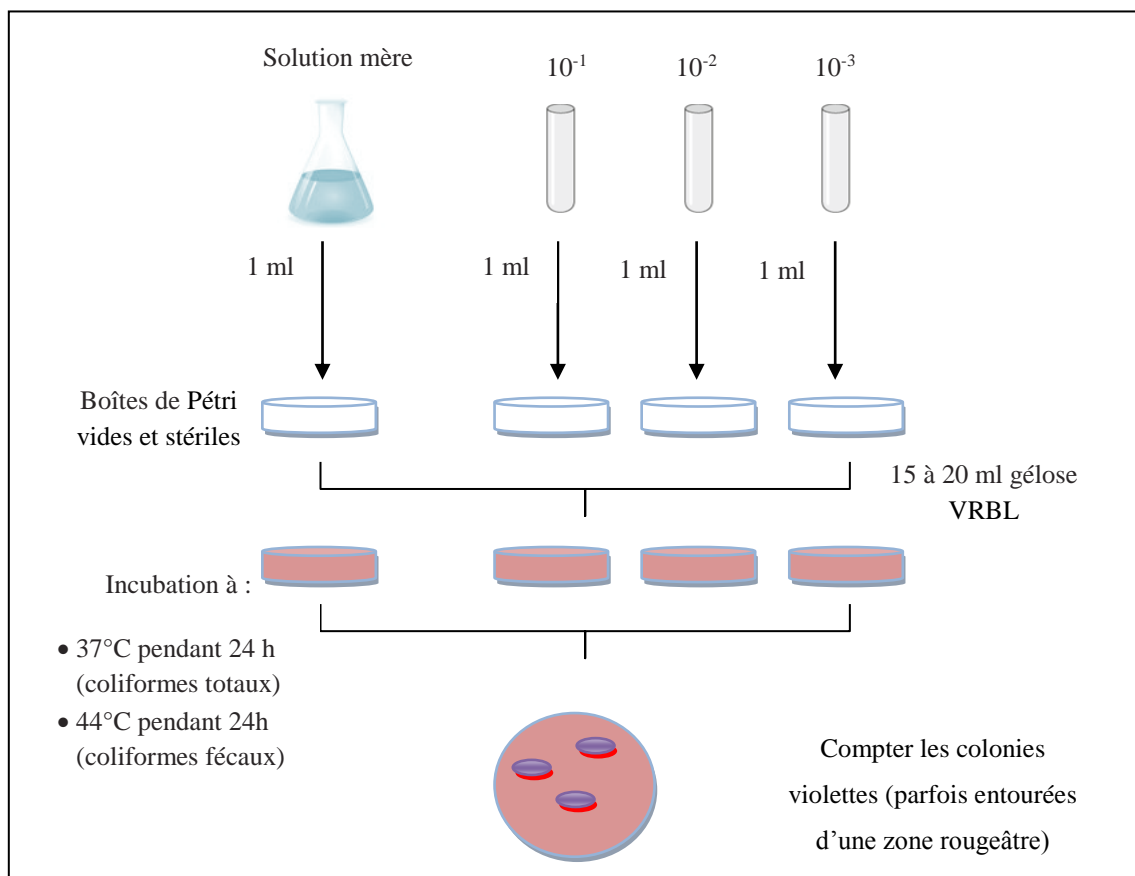


Figure 5: Recherche et dénombrement des coliformes par comptage des colonies sur milieu VRBL.

- **Méthode du nombre le plus probable (NPP)**

La recherche et le dénombrement des coliformes selon cette technique se fait selon une méthode officielle (qui fait l'accord entre les résultats obtenus à des moments différents ou par des analyses différents ou dans des laboratoires différents).

Principe

La technique du nombre le plus probable (NPP) en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

➤ Test présomptif

Ce test est réservé à la recherche des coliformes totaux et est effectué en utilisant le bouillon lactosé bilié au vert brillant (bouillon VBL) pour l'analyse des échantillons de matières premières ainsi que du produit fini, et en utilisant le bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (bouillon BCPL) pour l'analyse de l'eau de process. Tous les tubes sont munis de cloches de Durham pour déceler le dégagement éventuel de gaz dans le milieu (plus de 1/10 du volume de la cloche).

Mode opératoire

▪ Matières premières et produit fini (cf. figure 6)

Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif VBL à raison de trois tubes par dilution.

A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} voire la solution mère, porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée :

- 3 fois 1 ml de la dilution mère (10^{-1}) dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu VBL muni d'une cloche de Durham.
- 3 fois 1ml de la dilution 10^{-2} dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu VBL muni d'une cloche de Durham.
- 3 fois 0,1ml de la dilution 10^{-3} dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu VBL muni d'une cloche de Durham.

▪ Eau de process (cf. figure 7)

Il s'agit d'utiliser des pipettes stériles pour ensemercer:

- 1 flacon de 50 ml de bouillon BCPL, à D/C (double concentration), avec 50 ml de l'eau à analyser.
- 5 tubes de 10 ml de bouillon BCPL à D/C, avec 10 ml de l'eau à analyser.
- 5 tubes de 10 ml de bouillon BCPL à S/C (simple concentration) avec 1 ml de l'eau à analyser.
- 5 tubes de 10 ml de bouillon BCPL à S/C avec 0,1 ml de l'eau à analyser.

Chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches. Mélanger convenablement le milieu et incubé à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

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

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table de Mac Grady qui se trouve en annexe VIII.

➤ **Test confirmatif (recherche des Coliformes fécaux)**

Appelé encore test de Mac Kenzie, il est réservé à la recherche des Coliformes fécaux (parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*) à partir des réactions positives du test de présomption (OMS, 2000).

Mode opératoire

▪ **Matières premières et produit fini (cf. figure 6)**

Les tubes de VBL recensés positifs lors du test présomptif feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une pipette pasteur dans à la fois:

- Un autre tube de VBL muni d'une cloche et ;
 - Un tube contenant de l'eau peptonée exempte d'indole (EPEI).
-
- **Eau de process (cf. figure 7)**
 - A partir des tubes de BCPL positifs, prélever, à l'aide d'une pipette Pasteur, quelques gouttes afin de faire le repiquage dans un tube contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham.

Chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum puis incubé à 44°C pendant 24 heures.

Lecture

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

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche) dans les tubes de VBL utilisés pour l'analyse des matières premières et du produit fini, ainsi que dans les tubes du BCPL utilisés pour l'analyse de l'eau de process ;
- Un anneau rouge en surface, témoin de production d'indole par *E.coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif "Kovacs" dans le tube d'EPEI et celui contenant le milieu Schubert.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table de Mac Grady (cf. annexe VIII) en tenant compte du fait qu'*E.coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C.

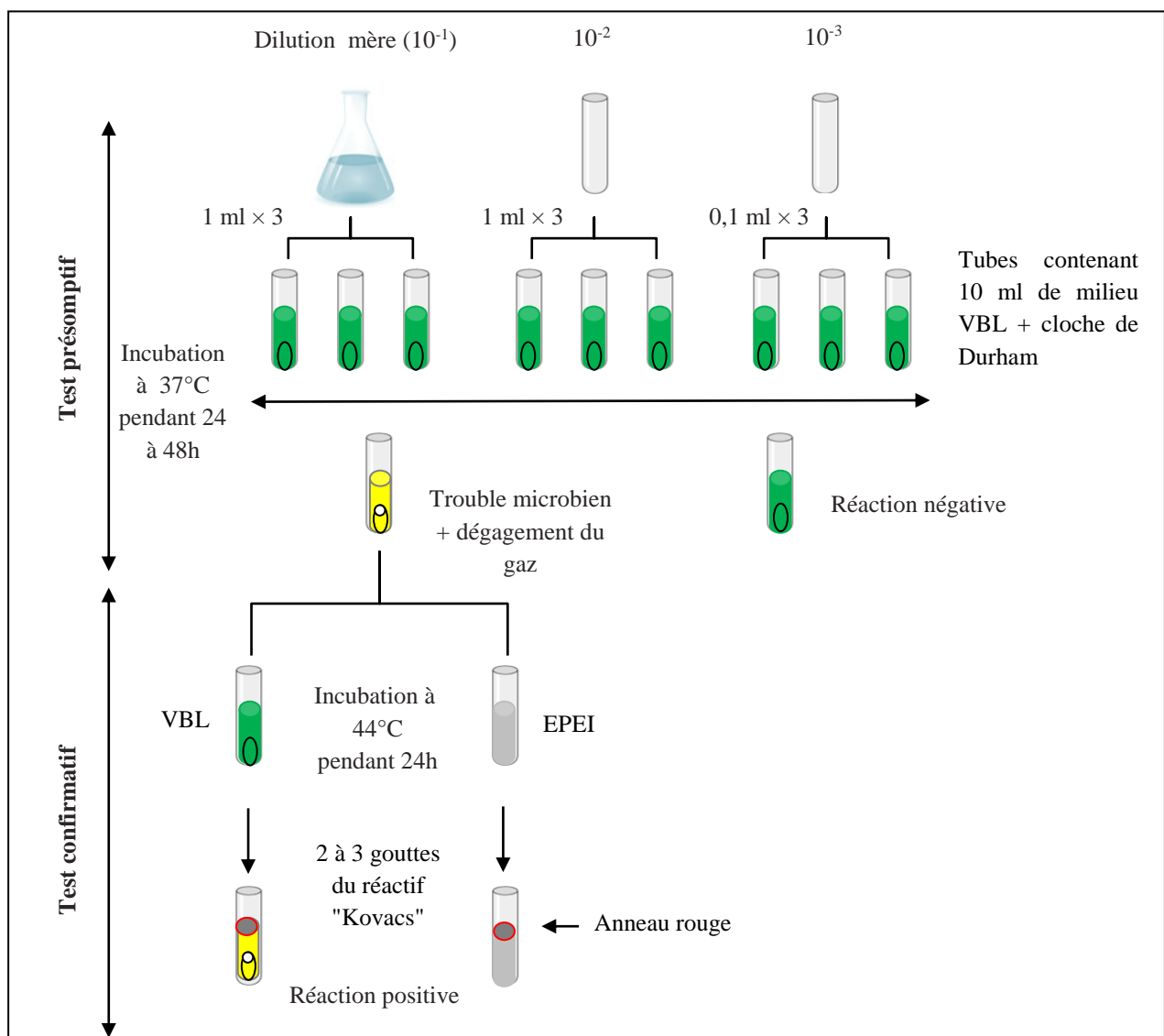


Figure 6 : Recherche et dénombrement des coliformes dans les matières premières et le produit fini par la méthode du nombre le plus probable (NPP).

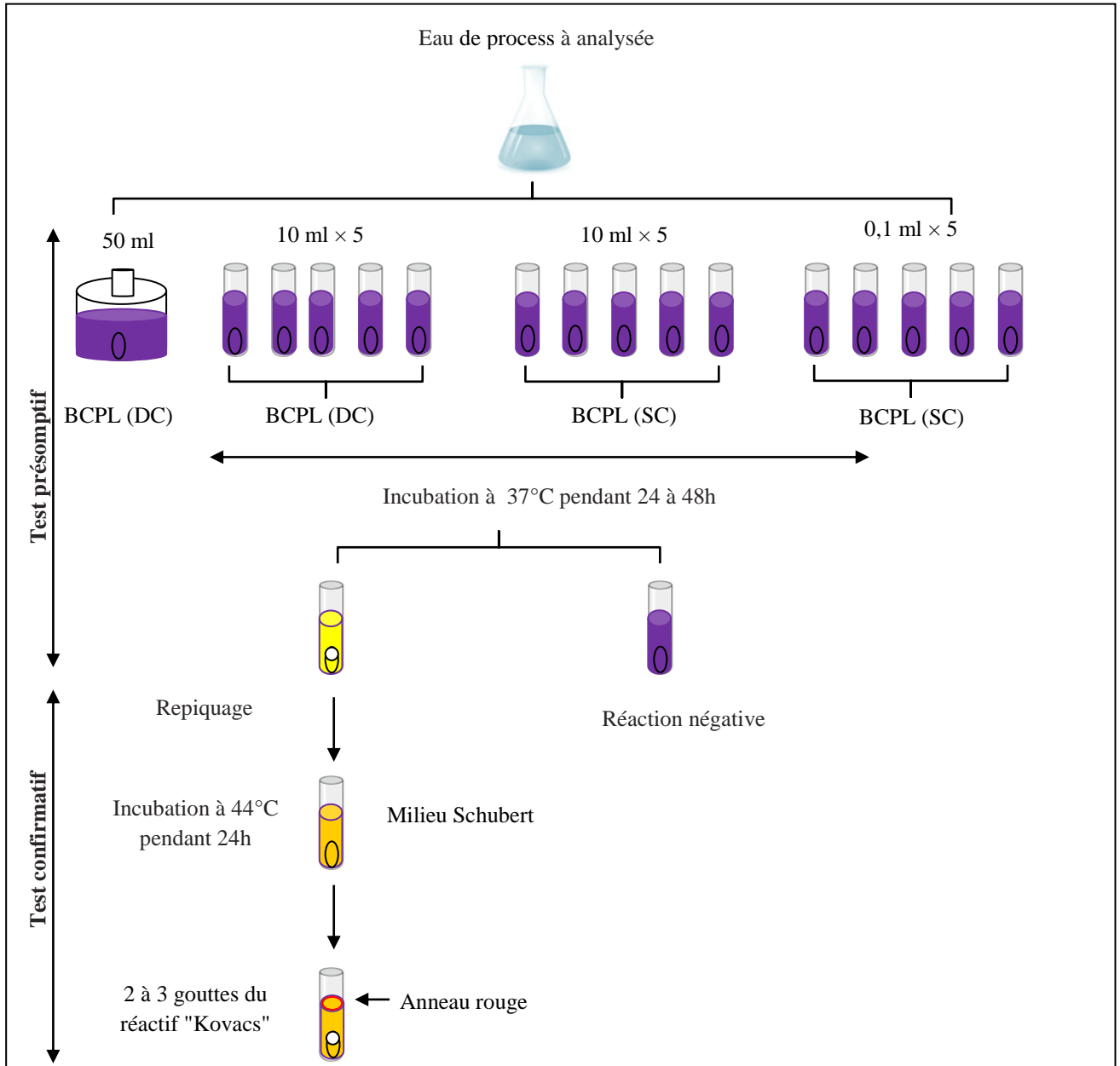


Figure 7: Recherche et dénombrement des coliformes dans l'eau du process par la méthode du NPP.

III.2.1.4. Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs

La recherche et le dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs se fait selon une méthode officielle.

Les *Clostridium* sulfito-réducteurs (ou leurs spores) sont des bactéries commensales de l'intestin ou saprophytes du sol; ils réduisent les sulfites en sulfures. (Joffin C. et Joffin J.N, 1993). Les colonies typiques de ces bactéries sont issues de spores de *Clostridium* (Dellarras, 2000), cette forme est beaucoup plus résistante que les formes végétatives des coliformes et des Streptocoques. Ce test est considéré comme un test de contamination fécale éventuellement ancienne vu la résistance des spores à l'extérieur (Rodier et al., 2005).

Principe

La recherche des bactéries sulfito-réductrices se fait principalement en trois étapes (Rejsek, 2002) :

- A. Destruction de la forme végétative.
- B. Préparation du milieu de culture.
- C. Ensemencement et incubation.

Mode opératoire

Prélever aseptiquement 1 ml de la solution mère et 1 ml de chaque dilution dans 4 tubes stériles (cf. figure 8), et 5 ml de l'eau de process à analyser dans cinq tubes (cf. figure 9).

Elaborer pour les 9 tubes un chauffage à 80°C au bain Marie, pendant 10 minutes; puis un refroidissement brutal sous l'eau de robinet (provoquer un choc thermique à l'effet d'éliminer la forme végétative et conserver uniquement la forme sporulée des bactéries sulfito-réducteurs).

Compléter par la suite chacun des tubes avec environ 15 ml de gélose VF (viande-foie) additionnée d'1 ml d'alun de fer et 5 ml sulfite de sodium.

Mélanger avec précaution puis laisser solidifier, ensuite incuber à 37°C pendant 48 heures avec une première lecture après 16 heures d'incubation.

Lecture

Seront considérés comme positifs, les tubes contenant de grosses colonies noires entourées d'un halo noir, qui correspond au *Clostridium* sulfito-réducteur.

Le résultat est exprimé par le nombre de spores des *Clostridium* sulfito-réducteurs présents dans 100 ml d'eau de process à analyser.

Remarque

Parfois, après 48 heures d'incubation, le tube devient complètement noir et donc indénombrable.

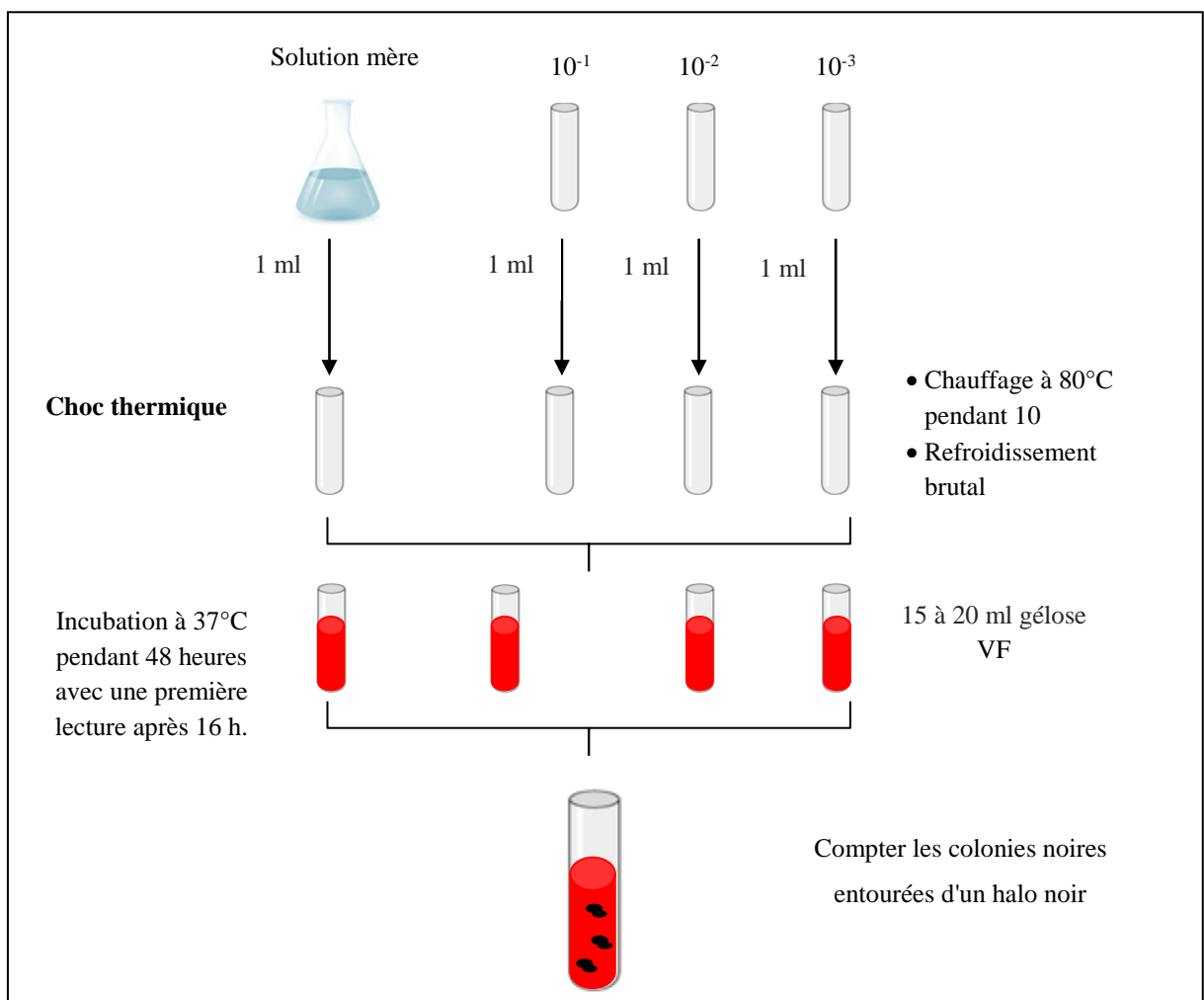


Figure 8: Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs dans les matières premières et le produit fini.

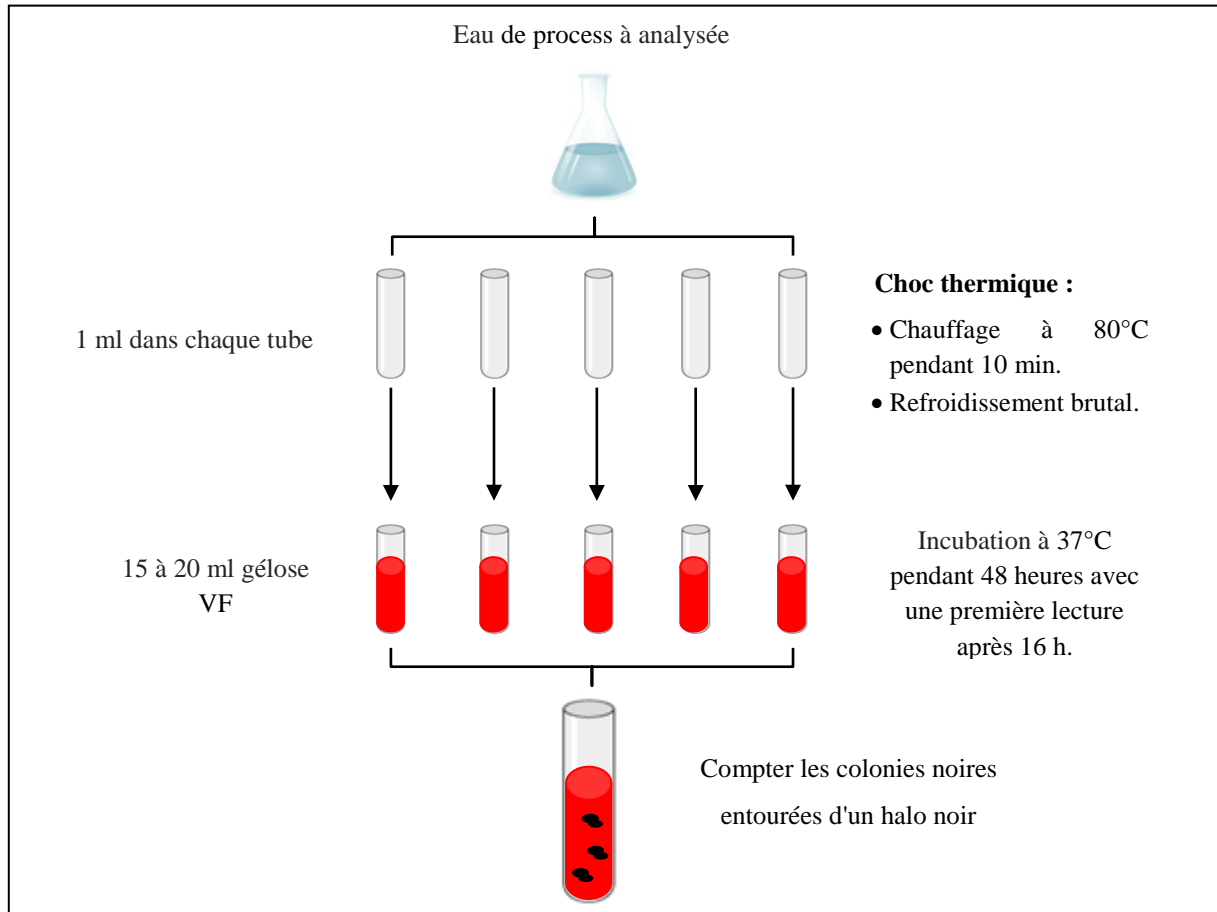


Figure 9: Recherche et dénombrement des *Clostridium* Sulfite-Réducteurs dans l'eau de process.

III.2.1.5. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau de process

La recherche et le dénombrement des Streptocoques fécaux se fait selon une méthode officielle.

Les Streptocoques fécaux sont des cocci Gram positif, groupés typiquement en chaînettes plus au moins longues. Ce sont des germes anaérobies facultatifs, généralement micro-aérophiles et très exigeant au point de vue nutritionnel, et qui se développent à 37°C. Ce sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux à sang chaud (**Rodier, 1996**). Parmi les Streptocoques fécaux, quatre espèces possèdent une substance antigénique (acide téichoïque) caractéristique du groupe D de LANCEFIELD : *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Eterococcus durans*, *Streptococcus bovis*

Principe

Le dénombrement des Streptocoques fécaux présumés est rarement effectué indépendamment des dénombrements des Coliformes totaux et Coliformes fécaux présumés. Leur recherche associée à celle des Coliformes fécaux, constitue un bon indice de contamination fécale. Ils témoignent d'une contamination d'origine fécale ancienne tandis que les Coliformes fécaux témoignent d'une contamination d'origine fécale récente. (**Rodier, 1996**).

La recherche des Streptocoques fécaux ou Streptocoques du groupe «D», se fait en milieu liquide par la technique du NPP.

Mode opératoire (cf. figure 10)

➤ Test de présomption

Il s'agit d'utiliser des pipettes stériles pour ensemercer :

- 1 flacon de 50 ml de bouillon ROTHE à D/C avec 50 ml de l'eau à analyser.
- 5 tubes de 10 ml de bouillon ROTHE à D/C avec 10 ml de l'eau à analyser.
- 5 tubes de 10 ml de bouillon ROTHE à S/C avec 1 ml de l'eau à analyser.
- 5 tubes de 10 ml de bouillon ROTHE à S/C avec 0,1 ml de l'eau à analyser.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum puis incuber à 37 °C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

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

- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu est présumé contenir un streptocoque fécal.
- Aucun dénombrement ne se fait à ce stade, les tubes positifs feront l'objet d'un repiquage.

➤ **Test de confirmation**

Il est basé sur la confirmation des Streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption. Il s'agit de prélever, à l'aide d'une pipette Pasteur, quelques gouttes à partir des tubes ROTHE positifs, qui feront l'objet d'un repiquage dans un tube contenant le milieu EVA LITSKY à l'éthyl violet et l'azide de sodium. Bien mélanger le milieu et l'inoculum puis incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture

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

- Un trouble microbien.
- Une pastille violette (blanchâtre) au fond des tubes.

Noter le nombre de tubes positifs dans chaque série et se reporter aux tables de NPP (cf. annexe VIII) pour connaître le nombre de Streptocoques fécaux présents dans 100 ml de l'échantillon.

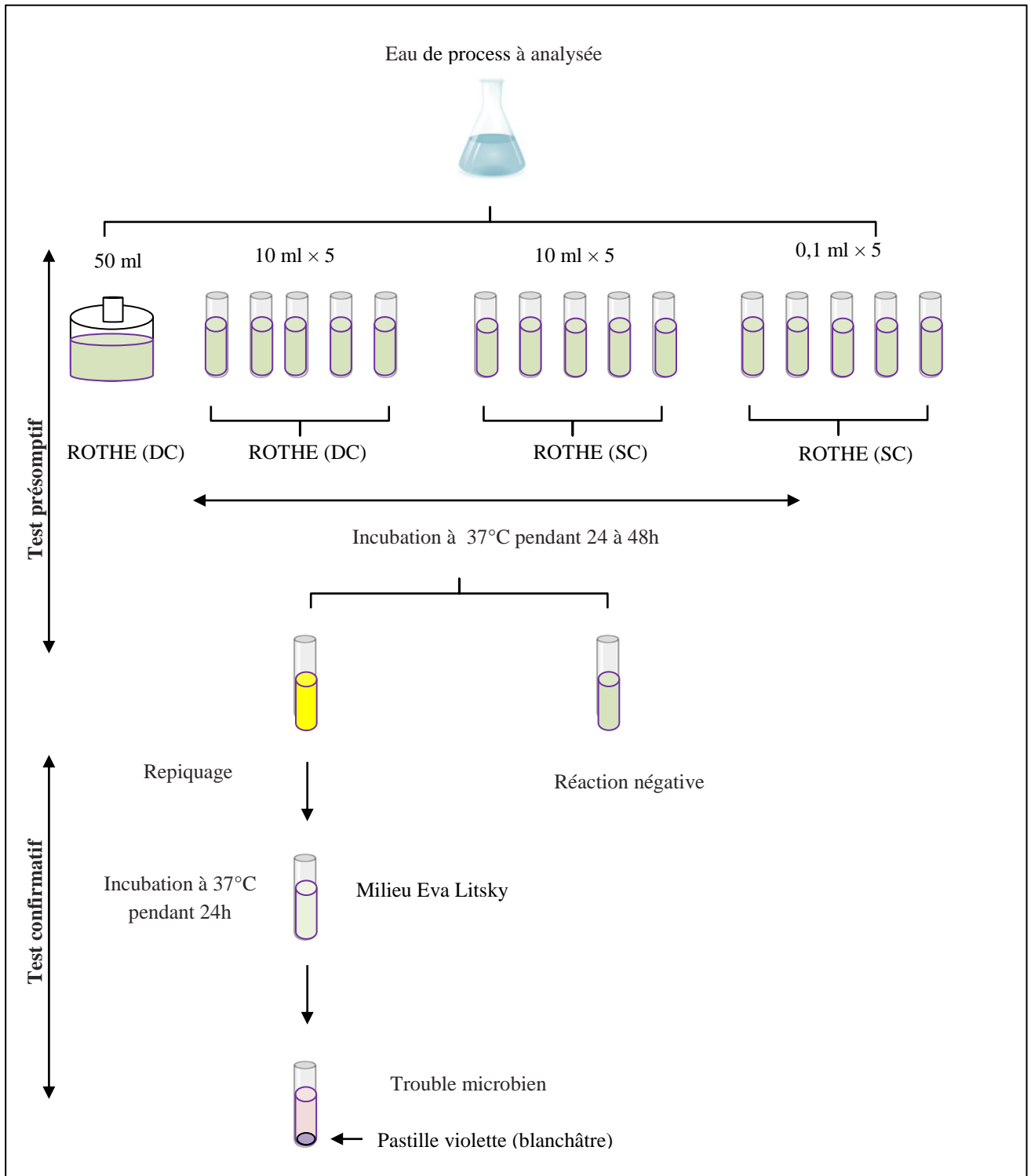


Figure 10: Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau de process.

III.2.1.6. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

La recherche et le dénombrement des Staphylocoques se fait selon une méthode officielle.

Les *Staphylococcus aureus* sont des bactéries Gram positif, immobiles, aéro-anaérobies facultatives, coagulase et catalase positives. Elles se présentent sous forme de sphère d'un diamètre de 0,5 à 1µm, et résistent au sel et à plusieurs facteurs bactéricides (OMS/PNUD,1995).

Principe

A partir de la solution mère, on réalise des dilutions décimales et, en parallèle, on ensemence en surface de gélose Baird Parker pré-coulée en boîte de Pétri avec chacune des dilutions retenues (NF ISO 6888-1/A1).

Après une incubation de 24h à 48 heures à 37°C, les colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques apparues sont dénombrées.

Mode opératoire (cf. figure 11)

Sécher les boîtes de gélose dans une étuve à 45°C ± 1°C jusqu'à disparition complète des gouttelettes à la surface du milieu (couvercle enlevé et surface de la gélose tournée vers le bas).

Homogénéiser chaque dilution avant inoculation à la surface des boîtes gélosées et avant la réalisation des dilutions décimales.

Déposer 0,1 ml, de la suspension mère et / ou des dilutions décimales retenues, à la surface de la gélose en changeant de pipette à chaque dilution.

Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible sans toucher les bords de la boîte.

Laisser les boîtes, couvercle fermé, pendant 15 minutes à température ambiante puis les incuber à l'étuve pendant 48 heures ± 2 heures à 37°C ± 1°C.

Lecture

Après 48h ± 2h d'incubation, les colonies caractéristiques apparaissent noires ou grises, brillantes et convexes avec un diamètre de 1 mm à 2,5 mm entourées d'un halo d'éclaircissement et de précipitation.

Les colonies non caractéristiques après $48\text{h} \pm 2\text{h}$ d'incubation sont noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit, et ne présentent pas d'halo d'éclaircissement et de précipitation. Elles peuvent être grises et dépourvues de zone claire.

Dénombrement

Les boîtes contenant moins de 150 colonies caractéristiques et / ou non caractéristiques au niveau de deux dilutions successives sont retenues ; mais l'une d'entre elle doit renfermer au moins 15 colonies. Les colonies caractéristiques et / ou non caractéristiques sont dénombrées manuellement.

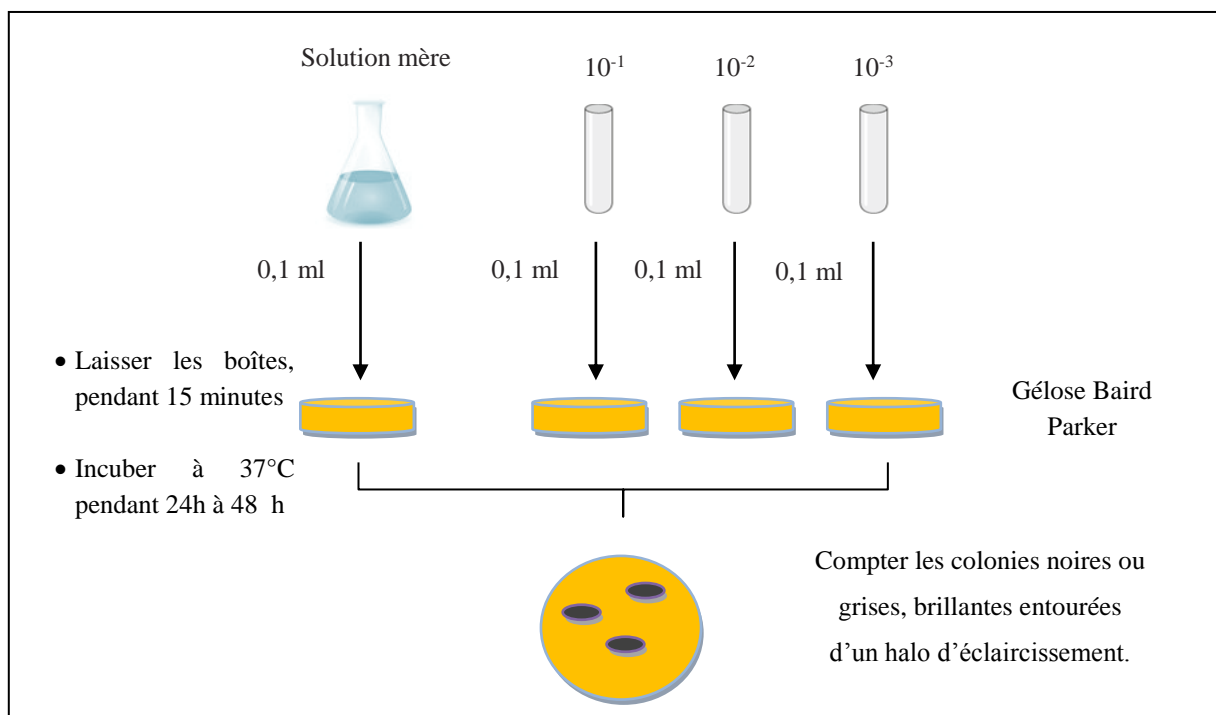


Figure 11: Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*.

III.2.1.7. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

La recherche et le dénombrement d'après cette méthode se fait selon la norme expérimentale **XP:V08-059** relative au dénombrement des microorganismes par comptage de colonies à 22°C.

Les levures et moisissures sont des contaminants habituels du lait et des produits laitiers; toutefois leur caractère fortement aérobic limite leur prolifération aux interfaces des substrats avec l'atmosphère. Le développement équilibré de levures et de moisissures,ensemencées de manière naturelle sur de nombreux types de fromages, contribue efficacement par leur activité enzymatique élevée et variée à la protéolyse et à la lipolyse de la pâte au cours de l'affinage (**Eck A. et Gillis J.C, 1998**).

Mode opératoire (cf. figure 12)

Sécher les boîtes de gélose Sabouraud dans une étuve à 45°C ± 1°C jusqu'à disparition complète des gouttelettes à la surface du milieu (couvercle enlevé et surface de la gélose tournée vers le bas).

Homogénéiser chaque dilution avant inoculation à la surface des boîtes gélosées et avant la réalisation des dilutions décimales.

Déposer 0,1 ml de la suspension mère et / ou des dilutions décimales retenues, à la surface de la gélose en changeant de pipette à chaque dilution.

Etaler soigneusement l'inoculum à l'aide d'un râteau stérile sur toute la surface de la gélose, puis éliminer le reste de l'inoculum avant incubation à l'étuve à 22°C pendant 3 à 5 jours.

Lecture

Après la période d'incubation, compter toutes les colonies de deux dilutions successives présentes, comprises entre 15 et 150 colonies/boîte et appliquer la formule suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{1.1 d}$$

N = le nombre de levures et de moisissures

C = nombre de colonies dans chaque boîte

d = la dilution décimale

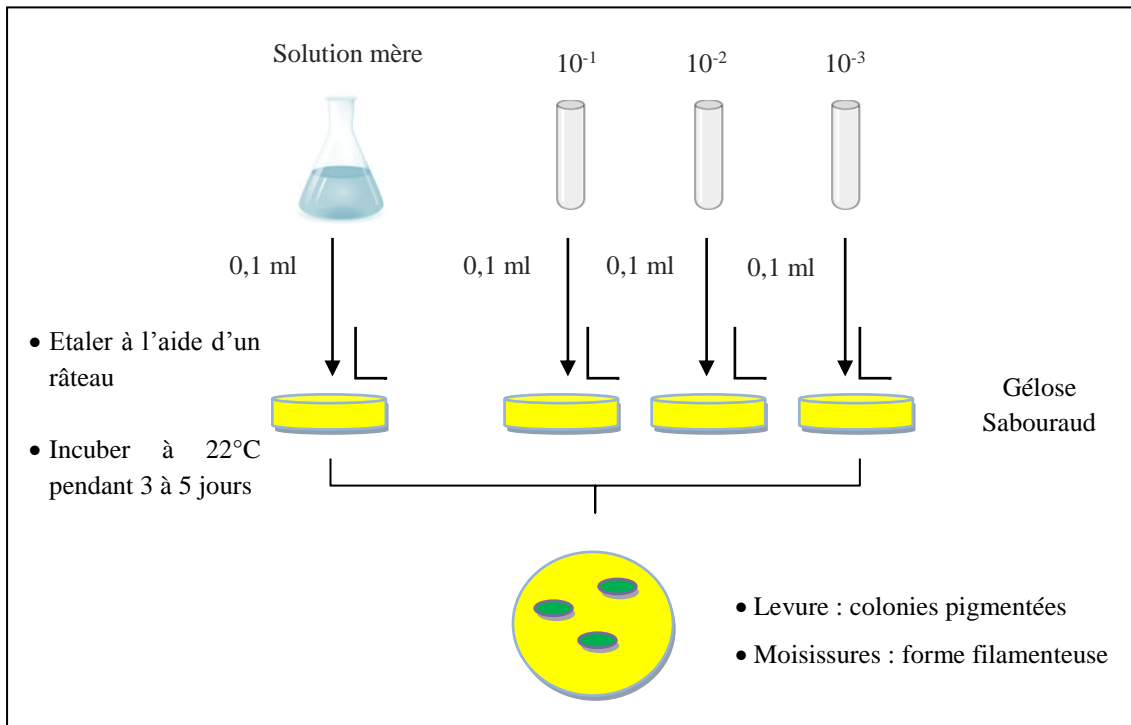


Figure 12: Recherche et dénombrement des levures et des moisissures.

III.2.2. Analyse microbiologique de l'environnement

Le tableau VII englobe les germes à rechercher, les milieux utilisés et les conditions d'incubation pour le contrôle microbiologique de l'environnement (personnel, air ambiant et surfaces).

Tableau VII: Germes à rechercher, milieux utilisés et conditions d'incubation pour le contrôle microbiologique de l'environnement (personnel, air ambiant et surfaces).

Echantillons	Germes recherchés	Milieux de culture	Incubation
Air ambiant	- Germes totaux	- PCA	30°C / 72h
	- Levures et moisissures	- Sabouraud	22°C / 5 jrs
Personnels	- Coliformes totaux	- VRBL	37°C / 48h
	- Coliformes fécaux	- VRBL	44°C / 48h
	- <i>S.aureus</i>	- Baird Parker	37°C / 48h
Surface	- Coliformes totaux	- VRBL	37°C / 48h
	- Coliformes fécaux	- VRBL	44°C / 48h
	- <i>S.aureus</i>	- Baird Parker	37°C / 48h
	- Levures et moisissures	- Sabouraud	22°C / 5 jrs

III.2.2.1. Contrôles microbiologique de l'air ambiant

Le contrôle microbiologique de l'aire se fait selon la norme **NF S 90-351** relative à la qualité de l'air au bloc opératoire.

Objectif

Contrôler et analyser la qualité de l'air ambiant pour prévenir et maîtriser les risques de contamination. Surveiller et maîtriser la contamination de l'air d'une zone de production ou de conditionnement est essentiel. En effet, si l'air ambiant est contaminé, il existe un risque de retrouver des micro-organismes dans les produits finis.

Principe

Sédimentation sur boîte de Pétri ouverte : C'est la technique la plus simple pour mettre en évidence les micro-organismes vivant dans l'air qui nous entoure et que nous inhalons. Comme toute méthode faisant appel à des milieux gélosés, seuls les germes vivants peuvent être isolés et le choix du milieu et de la température d'incubation sont déterminants.

Mode opératoire

Trois boîtes de Pétri, remplies d'un milieu gélosé nutritif spécifique (Sabouraud et/ou Baird Parker) sont laissées semi-ouvertes pendant 10 à 30 min sur une surface. Elles sont placées ensuite sous incubation à :

- 22°C pendant 5 jours pour le milieu Sabouraud.
- 37°C pendant 48 à 72h pour le milieu Baird Parker.

Il reste à dénombrer et identifier les colonies qui apparaissent à la surface du milieu.

III.2.2.2. Contrôle microbiologique du personnel

La recherche de la flore microbienne pouvant être transmise au produit fini par le personnel. Cette transmission pourra être effectuée par le contact des mains, des vêtements ou de cheveux.

Mode opératoire

Nous avons réalisé chaque analyse avec 6 personnes dont 4 sont en contact direct avec les matières premières : deux personnes travaillant au niveau du bec de lancement et deux travaillant sur l'emballage ; les deux autres personnes sont des agents du laboratoire (un chargé de la vérification du bon déroulement de la procédure de fabrication, et le 2^{ème} une stagiaire).

Le personnel examiné doit poser ses doigts dans des boîtes de pétri contenant des milieux gélosés : VRBL pour la recherche des coliformes et Baird Parker pour la recherche des *S.aureus*.

Ces boîtes seront incubées à :

- 37°C pendant 24 à 72h pour la recherche des coliformes (gélose VRBL).
- 44°C pendant 24 à 72h pour la recherche des coliformes fécaux (gélose VRBL).
- 37°C pendant 3 à 5 jours pour la recherche du *S.aureus* gélose (Baird Parker).

III.2.2.3. Contrôle microbiologique des surfaces

Le contrôle microbiologique des surfaces se fait selon la norme **NF/EN 1370** du Février 2012 relative au Contrôle de l'état de surface

Objectif

Quantifier voire qualifier la flore microbienne pour une surface donnée. Cette technique est réservée aux petites surfaces ne permettant pas l'utilisation de gélose contact ou les surfaces absorbantes ou irrégulières.

Mode opératoire

Retirer l'écouvillon de son étui et le plonger dans une solution de rinçage stérile par exemple l'eau distillée ou TSE pour l'humidifier.

Frotter la surface tout en tournant l'écouvillon dans les deux sens.

Remettre l'écouvillon dans son étui jusqu'à son analyse.

Plonger l'écouvillon dans la solution de rinçage.

A partir de ce tube, ensemencer 0,1 ml de la solution sur une gélose PCA pour la recherche des germes totaux, et gélose Sabouraud pour la recherche des levures et moisissures puis incubé à :

- 37°C pendant 24 à 72h pour le milieu PCA.
- 22°C pendant 3 à 5 jours pour le milieu Sabouraud.

Lecture

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.

III.3. Analyses physico-chimiques

Les tableaux VIII et IX reflètent toutes les analyses physico-chimiques effectuées.

Tableau VIII: Analyses physico-chimiques effectuées sur les différentes matières premières selon le JORA n° 35.

Echantillons	EST%	MG%	H°	G/S %	pH
Poudre de lait	+	+	+	-	+
Cheddar	+	+	+	-	+
Beurre	+	+	+	-	+
Produit fini	+	+	+	+	+

Tableau IX: Analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau de process selon le JORA n° 35.

Eau de process	TA (°F)	+
	TAC (°F)	+
	TA/TAC	+
	TH (°F)	+
	Cl ⁻ (mg/l)	+
	Chlorure (mg/l)	+
	pH	+
	Conductivité	+

+ : nécessite analyse

- : ne nécessite pas une analyse

Matière première et produit fini : Chaque prélèvement doit comporter trois échantillons dont les paramètres suivants ont été déterminés :

III.3.1. Détermination de l'extrait sec total (EST)

La détermination de l'extrait sec se fait selon la norme française **V04-207** du septembre 1970

L'extrait sec est la proportion de matière sèche entrant dans la composition des aliments et qui subsiste après une totale dessiccation à l'étuve ($103^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant plusieurs heures). Il sert à définir les différents types de fromage. (**Luquet et Boudier, 1981**)

Principe

C'est une dessiccation jusqu'au poids constant de l'échantillon. La détermination de l'extrait sec est réalisée par un dessiccateur **SARTORIUM-M150**, son principe repose sur l'élimination de toute l'eau à une température de $103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ jusqu'à obtention d'un poids constant de la prise d'essai analysée.

Une prise d'essai est étalée sur toute la surface d'une capsule en aluminium préalablement tarée, puis introduite dans le dessiccateur où l'analyse est lancée.

Chaque analyse est répétée deux fois pour chaque substance.

Préparation des capsules

Placer les capsules en aluminium dans l'étuve pendant au moins 1 heure, lorsque cette dernière atteint la température requise.

Laisser refroidir les capsules dans le dessiccateur jusqu'à température ambiante et après les peser en enregistrant la masse de chacune d'elles.

Mode opératoire

- **La poudre de lait :**

Dans une capsule en aluminium stérile sèche et tarée, on pèse 2 g de poudre de lait puis on les introduit dans l'étuve à 103°C pendant 3 heures.

- **Le fromage :**

Dans une capsule en aluminium stérile sèche et tarée, on pèse 3 g et on les met dans l'étuve à 103°C pendant 5 heures.

- **Cheddar / beurre :**

Dans une capsule en aluminium stérile sèche et tarée, on pèse 5 g et on les met dans l'étuve à 103°C pendant 5 heures.

Mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur en verre pendant 45 min afin qu'elle se refroidisse et que les traces d'eau soient absorbées par le gel de silice.

Calcul et expression des résultats

L'extrait sec est exprimé en pourcentage massique, et est égal à :

$$\text{EST (\%)} = \frac{M - m}{E} \times 100$$

D'où :

M : Masse en gramme de la capsule et prise d'essai après dessiccation

m : masse en gramme de la capsule après dessiccation.

E : masse en gramme de la prise d'essai.

III.3.2. Détermination de l'humidité (H)

La teneur en eau, appelée aussi taux d'humidité s'exprime en pourcentage de masse de produit, elle est déterminée selon l'équation :

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

III.3.3. Détermination de la matière grasse (MG)

La détermination de la matière grasse se fait selon la norme d'AFNOR: **V 04-210** du Décembre 1971 pour la poudre de lait et la norme **2706-1992** pour les fromages.

La matière grasse proprement dite, ou lipide neutre, constituée de glycérides ou acylglycérols qui sont très prédominants (98%). Elle est solide à température ambiante (c'est une grasse) comme elle est presque entièrement libre et se trouve en fine dispersion dans les globules gras. (**Charles et Gylinden, 2003**).

Principe

Les composants du produit (fromage fondu) à l'exception de la matière grasse sont dissouts par l'acide sulfurique, sous l'influence de la force centrifuge (1040 tours/min). La matière grasse se sépare en une couche supérieure claire et transparente du reste des éléments du produit. L'adjonction préalable de l'alcool iso-amylique permet de mieux visualiser cette séparation, la teneur en matière grasse se définit sur un butyromètre préalablement calibré.

Mode opératoire

▪ **Poudre de lait :**

- Introduire, dans un Butyromètre, 10 ml d'acide sulfurique de densité 1,825 puis ajouter 10 ml de l'eau distillée et 1 ml d'alcool iso-amylque.
- Introduire ainsi 2,5 g de poudre de lait.
- Fermer le butyromètre avec un bouchon sec et propre et le déposer dans un bain Marie à une température de 65°C pendant 5 min.
- Centrifuger pendant 10 min à une vitesse de 1040 tours/min.
- Après la centrifugation, plonger le butyromètre verticalement, bouchon en bas, dans le bain Marie (65°C) et laisser pendant 5 min.
- Faire la lecture avant 10 secondes, sinon remettre le butyromètre au bain Marie pendant une autre phase de 5 min.

▪ **Fromage :**

- Introduire, dans un Butyromètre, 10 ml d'acide sulfurique de densité 1,522.
- Ajouter ainsi 3 g du fromage et agiter le butyromètre énergétiquement et rapidement mais avec précaution.
- Déposer le butyromètre dans un bain Marie à une température de 65°C pendant 20 min jusqu'à avoir un fondu du fromage.
- Ajouter 1 ml d'alcool iso-amylque et de l'acide sulfurique jusqu'à atteindre la graduation 35 du butyromètre.
- remettre le butyromètre dans le bain Marie pendant 5 min après une bonne agitation.
- Centrifuger pendant 10 min à une vitesse de 1040 tours/min.
- Remettre le butyromètre dans le bain Marie (65°C) et laisser pendant 5 min.
- Faire la lecture avant 10 secondes.

▪ **Cheddar / beurre :**

- Peser dans un godet du butyromètre préalablement taré 5 g du beurre ou du cheddar.
- Introduire le godet dans le butyromètre et fixer le bouchon.
- Ajouter délicatement et dans l'ordre (afin d'éviter l'attaque rapide de la matière grasse) : 10 ml d'acide sulfurique de densité 1,820 ; puis 1 ml d'alcool iso-amylque.
- Ajuster le niveau par de l'eau distillée jusqu'à la graduation 85 (cette opération dépend du modèle du butyromètre).
- Fermer le butyromètre et opérer des retournements successifs (délicatement) jusqu'à dissolution complète du beurre (ou du cheddar).
- Centrifuger pendant 10 min à une vitesse de 1040 tours/min.
- Placer au bain Marie pendant 5 min à une température de 65°C.
- Après 5 min passer à la lecture le plus rapidement possible (10 secondes), si non plonger le butyromètre dans le bain Marie et attendre de nouveau 5 min.

Calcul et expression des résultats

On maintient le butyromètre verticalement et on fait la lecture rapidement.

$$MG(\%) = B - A$$

D'où :

- A : la valeur de matière grasse lue sur l'extrémité inférieur de butyromètre.
- B : la valeur de matière grasse lue sur l'extrémité supérieur de butyromètre.

Les résultats sont exprimés en pourcentage massique (%).

III.3.4. Rapport G/S (matière grasse dans la matière sèche)

La teneur en matière grasse dans la matière sèche exprimée en gramme pour 100g de matière sèche, est donnée par la formule suivante :

$$R = \frac{G}{S} \times 100$$

D'où :

- R: rapport G/S
- G: matière grasse.
- S: matière sèche.

III.3.5. Analyses physico-chimiques de l'eau

III.3.5.1. Détermination du titre alcalimétrique(TA) et titre alcalimétrique complet(TAC)

La détermination du titre alcalimétrique et du titre alcalimétrique complet se fait selon les AFNOR T 90-501 et T 90-506 respectivement.

Principe

Ces déterminations sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral dilué, en présence d'indicateurs colorés.

III.3.5.1.1.Détermination du titre alcalimétrique (TA)

Le titre alcalimétrique ou TA mesure la teneur de l'eau en alcalis libres et en carbonates alcalins caustiques (Rodier et al., 2005).

Mode opératoire

Prélever 100 ml d'eau à analyser dans un bécher de 500 ml, ajouter 1 à 2 gouttes de solution alcoolique phénophtaléine (0.5%). Une coloration rose doit se développer.

Verser ensuite doucement l'acide sulfurique à 0,02 N dans le bécher à l'aide d'une burette, en agitant constamment et ceci jusqu'à la décoloration complète de la solution.

Soit V : le nombre de millilitres d'acide utilisés pour obtenir le virage.

N.B:

Dans le cas où il n'y a pas de coloration rose après l'ajout de phénophtaléine, le titre alcalimétrique (TA) de ce produit est égal à 0, et donc on parle généralement d'eau naturelle dont le pH est inférieur à 8,3.

Expression des résultats

- S'il n'y a pas de coloration: TA=0.
- Présence de coloration: on va exprimer en degrés français (°F), le volume (V) de l'acide sulfurique nécessaire pour la décoloration de la solution, et on exprime le titre alcalimétrique en g/l ou en milliéquivalent (en divisant le volume par 5).

$$TA= V (°F) = V/5 \text{ (milliéquivalents /l)}$$

III.3.5.1.2.Détermination du titre alcalimétrique complet (TAC)

Le titre alcalimétrique complet ou TAC correspond à la teneur de l'eau en alcalis libérés, carbonates et hydrogencarbonates (**Rodier et al., 2005**).

Mode opératoire

Sur le même échantillon utilisé pour la détermination du TA, ajouté 2 gouttes de solution méthylorange à 0,5 % et titrer de nouveau avec le même acide jusqu'au virement du jaune au rouge orangé (pH 4).

Soit V' le nombre de millilitre d'acide 0,02 N versés depuis le début du dosage.

N.B.:

Il faut s'assurer qu'une goutte est suffisante pour le passage du jaune vers le rouge orange (pH=4).

Répéter 3 fois le titrage et prendre la moyenne des 3 valeurs pour le TA et pour le TAC.

En cas d'écart important (plus de 3 ml) entre différentes lectures, répéter jusqu' à ce que soient obtenus trois résultats concordants et on prend la moyenne.

Expression des résultats

Soit :

- V : le nombre de millilitres d'acide sulfurique à 0,02N utilisés pour obtenir le virage du TA.
- V' le volume d'acide sulfurique à 0,02N nécessaire à la neutralisation :

$$\text{TAC} = V + V' \text{ (}^\circ\text{F)} = V/5 \text{ (milliéquivalents /l)}$$

III.3.5.2. Détermination du titre hydrotimétrique (TH)

La Détermination du titre hydrotimétrique se fait selon les normes d'AFNOR **T90-501** et **T90-506**.

La dureté d'une eau ou titre hydrotimétrique (TH) est un indicateur de sa minéralisation et surtout de sa teneur en ions calcium (Ca^{2+}) et magnésium (Mg^{2+}). Les teneurs en ions des eaux s'expriment en mg/l alors que leur dureté est donnée en degré hydrotimétrique français (°F) qui correspond à 10^{-4} mol/l de cations divalents.

Tableau X: Relation entre le titre hydrotimétrique d'une eau et sa dureté.

TH (°F)	0 à 7	7 à 15	15 à 25	25 à 42	> 42
Eau	Très douce	Douce	Moyennement dure	Dure	Très dure

Principe

Le titre hydrotimétrique est basé sur le titrage par complexométrie du Ca et du Mg avec une solution aqueuse d'acide éthylène-diamine tétra acétique (EDTA). Les ions des éléments alcalino-terreux présents dans l'eau forment un complexe de type chélate avec l'EDTA.

La disparition des dernières traces d'éléments libres à doser est décelée par le virage de l'indicateur spécifique.

En milieu convenablement tamponné pour empêcher la participation du magnésium, la méthode permet de doser la somme des ions du calcium et du magnésium.

Mode opératoire

Prélever précisément 100 ml d'eau de process à analyser dans un bécher de 500 ml, ajouter 10 ml de solution tampon K10 et 2 à 3 gouttes de l'indicateur coloré noir ériochrome T (NET). Une coloration rose-violet doit se développer.

Verser ensuite doucement l'EDTA à 0,02 N dans le bécher à l'aide d'une burette, en agitant constamment et ceci jusqu'au virement du rose-violet au bleu.

Expression des résultats

Soit V'' : le nombre de millilitres d'acide utilisés pour obtenir le virage.

$$\text{TH} = V'' (\text{°F}) = V''/5 \text{ (milliéquivalents /l)}$$

III.3.5.3. Détermination du Chlorures (Cl⁻)

La Détermination des chlorures se fait selon les normes d'AFNOR **T 90-501** et **T 90-506**.

La teneur des eaux en chlorures est extrêmement variée, elle est liée à la nature des terrains traversés et indique la concentration de l'eau en ions **Cl⁻** ou **NaCl**.

Principe

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrates d'argent (**AgNO₃**) ou de dichromate de potassium(**K₂Cr₂O₇**).

Mode opératoire

Prélever 100 ml d'eau à analyser dans un Erlenmeyer de 500 ml, ajouter 10 gouttes de dichromate de potassium (**K₂Cr₂O₇**) à 10%. Une coloration jaune doit se développer. Titrer ensuite doucement avec la solution de nitrate d'argent (**AgNO₃**) à 0,1N jusqu'à l'apparition d'une coloration rouge brique.

Expression des résultats

Soit V* le volume d'AgNO₃ nécessaire pour le virage de couleur :

$$\text{Cl}^- = (V^* - 0.9) \times 35.5$$

III.3.5.4. Détermination du chlore libre (Cl₂)

La Détermination des chlores libres se fait selon les normes d'AFNOR **T 90-501** et **T 90-506**.

Le chlorure libre (Cl₂) est l'association de deux molécules de chlore (Cl) pour donner une substance activée de chlore.

Principe

Le chlore libre est dosé par colorimétrie. Nous avons utilisé : un **Comparateur Lovibond 2000** avec adaptateur pour les cuvettes de 1 à 40 mm ; le disque comparateur colorimétrique du chlore 3/40S ; des éprouvettes standards carrées de 13,5 mm graduées spécifiques pour le dosage du chlore et une pilule DPD (Deutscher Paket Dienst).

Mode opératoire

Prélever dans deux éprouvettes graduées de 10 ml (spécifiques pour le dosage du chlore) 10 ml d'échantillon.

Introduire la première éprouvette dans le compartiment gauche du comparateur.

Introduire dans la seconde éprouvette une pilule DPD puis l'écraser ; fermer et -homogénéiser.

Insérer maintenant la seconde éprouvette dans le compartiment droit du comparateur.

Lire la valeur située en haut et à droite du comparateur en tournant le disque jusqu'à concordance des couleurs (obtention de deux couleurs identiques).

Expression du résultat

La valeur lue directement sur le comparateur est en mg/l de la concentration en chlore libre.

III.3.6. Détermination du pH

La détermination du PH se fait selon la norme française **NF V 04-385**.

C'est le potentiel chimique des ions dans une solution. Le pH est mesuré à l'aide d'un instrument pH-mètre. Il s'agit d'un appareil électronique muni d'une électrode qu'on plonge dans l'échantillon, l'électrode qui renferme une solution aqueuse acide, comporte une membrane de verre spéciale perméable aux ions H^+ . La différence entre les ions H^+ de la solution contenue dans l'électrode et les ions H^+ de l'échantillon est convertie en une différence de potentiel électrique. Le pH-mètre transforme cette différence de potentiel en unité de pH (Amiot et *al.*, 2002).

Principe

Les mesures du pH sont réalisées avec un pH-mètre (Model 9450, Unicam, Cambridge, UK) en introduisant directement les deux sondes (pH et température) dans l'échantillon à une température de 20 à 25°C. Les mesures ont été réalisées trois fois.

Mode opératoire

- Etalonner le pH-mètre en plongeant l'électrode dans une solution tampon (pH=4 et pH=7).
- Remplir le bêcher à moitié avec l'échantillon à analyser.
- Introduire la sonde de pH-mètre.
- Attendre jusqu'à la stabilité du pH et lire la valeur affichée.
- Rincer l'électrode avec de l'eau distillée après chaque utilisation.

Préparation de la matière première

- Pour la poudre de lait on pèse 3 g dans 30 ml de l'eau distillée.
- Pour le cheddar on pèse 10 g dans 50 ml de l'eau distillée.

III.3.7. Détermination de la conductivité

La détermination de la conductivité électrique se fait selon la norme **NF EN 27888** du Janvier **1994**.

La conductivité est une mesure de la capacité de l'eau à conduire un courant électrique, donc une mesure indirecte de la teneur de l'eau en ions. C'est ainsi que plus l'eau contient des ions comme le calcium (Ca^{2+}), le magnésium (Mg^{2+}), le sodium (Na^+), le potassium (K^+), le bicarbonate (HCO_3^-), le sulfate (SO_4^{2-}) et le chlorure (Cl^-), plus elle est capable de conduire un courant électrique et plus la conductivité mesurée est élevée (**Hade A, 2002**).

Principe

L'appareil servant à évaluer la conductivité spécifique de l'eau s'appelle un conductimètre. Le courant électrique mesuré est proportionnel à la concentration d'ions dans l'eau ; plus il est élevé, plus il y a d'ions dans l'eau. Le résultat se traduit en micro-Siemens par centimètre ($\mu\text{S}/\text{cm}$) à une température normalisée de 25°C.

Mode opératoire

- Prendre environ 100 ml de l'échantillon.
- Mettre le conductimètre en marche.
- Plonger l'électrode du conductimètre dans l'échantillon.

Expression du résultat

La valeur de la conductivité est directement affichée sur l'écran du conductimètre (en $\mu\text{S}/\text{cm}$ ou en mS/cm).

RESULTATS
ET
DISCUSSIONS

L'objectif de notre travail est d'étudier les paramètres microbiologiques et physicochimiques intervenant durant le process de fabrication du fromage fondu UHT « OKID'S » au niveau de l'entreprise fromagère Goumidi, en se basant sur deux sortes de normes :

- **DŽ** : Normes fixées par le JORA n°35 : 27-05-1998.
- * : Normes internes (fixées par l'entreprise).

Les différents échantillons qui ont été étudiés nous ont permis d'obtenir les résultats suivants:

I. Résultats des analyses microbiologiques

I.1. Analyses des matières premières

I.1.1. Beurre

Tableau XI: Résultats des analyses microbiologiques du beurre.

	22-mars	23-mars	24-mars	25-mars	31-mars	Norme	Note
Germes	E1	E2	E3	E4	E5		
Germes totaux	20	0	0	20	10	100 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Coliformes	0	0	0	0	0	10 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
C.S.R	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence *	Conforme
S.aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DŽ}	Conforme
Levures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DŽ}	Conforme
Moisissures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DŽ}	Conforme

D'après ces résultats on a constaté l'absence totale des coliformes (totaux et fécaux), de *S.aureus*, des spores du *Clostridium* sulfito-réducteurs, ainsi que l'absence de levures et moisissures dans tous les échantillons.

En revanche on remarque la présence des germes totaux dans pratiquement tous les échantillons : le 1^{er} échantillon daté du 22/03/2015 (20 UFC), le 3^{ème} échantillon daté du 24/03/2015 (80 UFC), le 4^{ème} échantillon daté du 25/03/2015 (20 UFC) et le 5^{ème} échantillon daté du 31/03/2015 (10 UFC), mais qui restent conformes aux normes, cela est dû probablement à la présence de la flore banale du beurre et/ou à une contamination lors de la manipulation.

En conclusion, le beurre utilisé présente une bonne qualité microbiologique.

I.1.2. Cheddar

Tableau XII: Résultats des analyses microbiologiques du cheddar.

	24-mars	25-mars	26-mars	27-mars	31-mars	Norme	Note
Germes	E1	E2	E3	E4	E5		
C.S.R	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence *	Conforme
S.aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DZ}	Conforme

Les résultats des analyses microbiologiques des 15 échantillons du cheddar (3 échantillons pour chaque analyse) indiquent l'absence totale de tous les germes recherchés (*S.aureus* et les spores du *Clostridium* sulfito-réducteurs), ce qui donne une conformité parfaite aux normes fixées par le JORA n°35 et/ou les normes fixées par l'entreprise Goumidi.

En conclusion, le cheddar utilisé est de bonne qualité microbiologique.

I.1.3. Poudre de lait

Tableau XIII: Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait.

	27-mars	28-mars	29-mars	30-mars	31-mars	Norme	Note
Germes	E1	E2	E3	E4	E5		
Germes totaux	30	20	20	10 ²	20	2.10 ⁵ UFC/g ^{DZ}	Conforme
Coliformes totaux	0	0	0	0	0	10 UFC/g*	Conforme
Coliformes fécaux	0	0	0	0	0	1 UFC /g ^{DZ}	Conforme
C.S.R	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DZ}	Conforme
S.aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DZ}	Conforme
Levures et moisissures	0	2 UFC	0	0	0	50 UFC ^{DZ}	Conforme

D'après ces résultats, on remarque la présence des germes totaux dans tous les échantillons : le 1^{ier} échantillon daté du 27/03/2015 (30 UFC), le 2^{ème} échantillon daté du 28/03/2015 (20 UFC), le 3^{ème} échantillon daté du 29/03/2015 (20 UFC), le 4^{ème} échantillon daté du 30/03/2015 (100 UFC) et le 5^{ème} échantillon daté du 31/03/2015 (20 UFC), mais cependant ces résultats restent conformes aux normes, et représentent généralement la flore banale de la poudre.

Toutefois, on remarque une absence totale de tout germe pathogène recherché, ce qui est conforme aux normes établies par le JORA et celles de l'entreprise.

Par conséquent, on peut dire que la poudre de lait utilisée est de bonne qualité microbiologique.

I.1.4. Eau de process

Tableau XIV: Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process.

	27 mars	28 mars	29 mars	30 mars	31 mars	Norme	Note
Germes	E1	E2	E3	E4	E5		
Germes totaux à 22°C	2	0	7	1	0	20 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Germes totaux à 37°C	12	0	8	1	2	<10 ² UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Coliformes totaux / 100ml	0	0	0	0	0	< 10 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Coliformes fécaux / 100ml	0	0	0	0	0	00 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Streptocoques fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DŽ}	Conforme
C.S.R	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DŽ}	Conforme

D'après les normes fixées du JORA n° 35 daté le 27 mai 1998 et celles fixées par l'industrie concernant :

- **Les germes totaux à 22°C :** On a remarqué leur présence dans trois échantillons : le 1^{ier} daté du 27/03/2015 (2colonies), le 3^{ème} échantillon daté du 29/03/2015 (7 colonies) et le 4^{ème} échantillon daté du 30/03/2015 (1 colonie). Il convient de préciser que ces nombres sont inférieurs aux normes.
- **Les germes totaux à 37°C :** On a remarqué leur présence dans quatre échantillons : le 1^{ier} daté du 27/03/2015 (12colonies), le 3^{ème} échantillon daté du 29/03/2015 (8 colonies), le 4^{ème} échantillon daté du 30/03/2015 (1 colonie) et le 5^{ème} échantillon daté du 31/03/2015 (2 colonie). Ces nombres sont, également, inférieurs aux normes.

Ces résultats sont dus probablement à des erreurs de manipulation.

- **Les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques et les spores du *Clostridium sulfito-réducteurs* :** On remarque une absence totale de ces germes, d'où la présence d'une conformité parfaite aux normes, ce qui indique le bon traitement de l'eau avant son utilisation.

On peut affirmer, donc, que l'eau de process utilisée est de bonne qualité microbiologique.

I.1.5. Résultats des analyses du fromage fondu en cours de fabrication

I.1.5.1. Bec de lancement

Tableau XV: Résultats des analyses microbiologiques du fromage fondu en cours de fabrication (bec de lancement).

Germes	31-mars					Norme	Note
	E1	E2	E3	E4	E5		
Germes totaux	0	0	0	0	0	100 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Coliformes totaux	0	0	0	0	0	100 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Coliformes fécaux	0	0	0	0	0	10 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
C.S.R	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DŽ}	Conforme
S.aureus	1	Abs	Abs	Abs	Abs	10 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Levures et moisissures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence *	Conforme

Concernant les germes recherchés (les germes totaux, les coliformes, les spores du Clostridium sulfito-réducteurs, les levures et moisissures), on note une absence totale, ce qui est conforme aux normes. Concernant le *S.aureus* on remarque qu'il est présent dans le 1^{ier} échantillon (1colonie) du fait qu'un manipulateur avait un rhume, mais sa présence ne dépasse pas les normes.

On peut conclure que tous les produits introduits dans le bec du lancement ont une bonne qualité microbiologique.

I.1.5.2. Après stérilisation

Tableau XVI: Résultats des analyses microbiologiques du fromage fondu en cours de fabrication (après stérilisation).

Germes	31-mars					Norme	Note
	E1	E2	E3	E4	E5		
Germes totaux	0	0	0	0	0	100 UFC/g*	Conforme
Coliformes totaux	0	0	0	0	0	100 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Coliformes fécaux	0	0	0	0	0	10 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
C.S.R	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DŽ}	Conforme
S.aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Levures et moisissures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence *	Conforme

D'après les résultats obtenus, l'on remarque une absence totale de tous les germes recherchés, ce qui signifie qu'il existe un bon traitement thermique lors de la stérilisation au niveau de l'entreprise Goumidi.

Les résultats donnent une conformité parfaite aux normes et cela indique l'efficacité du traitement thermique utilisé lors de la stérilisation.

I.2. Résultats des analyses du fromage fondu (produit fini)

Tableau XVII: Résultats des analyses microbiologiques du fromage fondu (produit fini).

	01 avr	15 avr	29 avr	13 mai	27 mai	10 juin	Norme	Note
Germes	E1	E2	E3	E4	E5	E6		
Germes totaux	0	0	0	0	0	0	100 UFC/g*	Conforme
Coliformes totaux	0	0	0	0	0	0	100 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Coliformes fécaux	0	0	0	0	0	0	10 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
C.S.R	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence ^{DŽ}	Conforme
S.aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 UFC/g ^{DŽ}	Conforme
Levures et moisissures	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*	Conforme

Les résultats obtenus lors des analyses microbiologiques que nous avons effectués dénotent l'absence totale des germes recherchés ce qui indique une conformité aux normes.

On peut conclure, à cet effet, que le fromage fondu "OKID'S" fabriqué par l'entreprise Goumidi, est de bonne qualité microbiologique.

I.3. Résultats des analyses microbiologiques de l'air ambiant

Tableau XVIII: Résultats des analyses microbiologiques de l'air ambiant.

	01-avr			15-avr			29-avr			13-mai			27-mai			Norme
	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	A1	A2	A3	
Germes totaux	13	0	27	03	0	11	01	00	2	13	00	11	13	00	2	10 ² germes*
S.aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*
Levures	0	0	1	0	0	3	0	0	1	0	0	4	0	0	1	06 boîtes*
Moisissures	0	0	1	0	0	2	0	0	3	0	0	2	0	0	4	06 boîtes *

Nos travaux ont été effectués au niveau de trois endroits qui sont: la salle de préparation des matières premières (A1), la salle d'analyse (laboratoire) (A2) et le magasin de stockage A3.

D'après les normes fixées par l'entreprise, on remarque :

- La présence des germes totaux dans la salle de préparation et dans le magasin de stockage, alors qu'on a remarqué une absence totale au niveau du laboratoire ce qui signifie que les analyses ont été effectuées dans des conditions d'asepsie.
- L'absence totale du *S.aureus* dans les trois endroits, ce qui est conforme aux normes.
- La présence des levures et des moisissures dans la majorité des analyses, mais cette dernière ne dépasse pas, cependant, les normes requises.

D'après les résultats obtenus, on peut affirmer et conclure que les conditions d'hygiène (indices de la contamination de l'air) ont été soigneusement respectées.

I.4. Résultats des analyses microbiologiques du personnel

Tableau XIX : Résultats des analyses microbiologiques du personnel.

	31-mars			15-avr			29-avr			13-mai			27-mai			Norme
	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	P1	P2	P3	
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*
S.aureus	1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*

P1 : préparateur au niveau du bec du lancement.

P2 : emballeur.

P3 : personnel du laboratoire.

D'après les normes fixées par l'entreprise, on remarque :

- Absence totale des coliformes (totaux et fécaux) d'où conformité aux normes.
- Absence du *S.aureus* dans toutes les analyses sauf pour **P1 du 31 mars 2015** et la raison était que cette personne présentait un rhume.

En générale, les résultats sont conformes aux normes, et cette conformité est liée, principalement, à l'application des bonnes pratiques d'hygiène, la formation continue du personnel et ainsi qu'à l'efficacité des produits de désinfection fournis par l'entreprise.

I.5. Résultats des analyses microbiologiques des surfaces

Tableau XX: Résultats des analyses microbiologiques des surfaces.

	01-avr			15-avr			29-avr			13-mai			27-mai			Norme
	22° C	37° C	44° C	22° C	37° C	44° C	22° C	37° C	44° C	22° C	37° C	44° C	22° C	37° C	44° C	
Germes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*
Coliformes totaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*
Coliformes fécaux	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*
S.aureus	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*
Levures et moisissures	Abs	Abs	Abs	4	1	2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence*

Concernant les surfaces des trois étuves utilisées pour l'incubation des milieux de culture, et d'après les normes fixées par l'entreprise, on remarque :

- L'absence totale du *S.aureus* d'où il y'a conformité aux normes.
- La présence des levures et des moisissures dans les 3 analyses du 15 avril du fait que le personnel responsable du nettoyage des étuves était absent sans informer le technicien du laboratoire mais le nombre était, cependant, dans les normes.

On peut conclure que le protocole des analyses, l'application de bonne méthode de nettoyage et l'inspection quotidienne sont bien respectées sans oublier l'efficacité des détergents utilisés.

II. Résultats des analyses physico-chimiques

II.1. Résultats des analyses des matières premières

II.1.1. Beurre

Tableau XXI: Résultats des analyses physico-chimiques du beurre.

	22-mars	23-mars	24-mars	25-mars	31-mars	Norme	Note
	E1	E2	E3	E4	E5		
pH	4.87	4.87	4.87	4.89	4.89	4.5 – 5 *	Conforme
EST %	84.20	84.23	84.23	84.23	84.79	84 *	Non conforme
MG %	81.9	82	81.9	82	82	82 *	Conforme

D'après les résultats des analyses physico-chimiques du beurre utilisé pour la fabrication du fromage fondu on constate que son pH varie entre 4,87 et 4,89 et sa teneur en matière grasse de l'ordre de 82 %. Tandis que sa teneur en extrait sec total varie entre 84,20 et 84,79 %, un taux qui dépasse, légèrement, la norme prescrite par l'entreprise (84%) mais sans altérer le produit, cela est dû, peut être, à sa présence, quelques minutes en plus, dans l'étuve et/ou aux conditions du stockage.

On peut conclure, cependant, que le beurre utilisé est conforme aux normes, donc, il est de bonne qualité physico-chimique.

II.1.2. Cheddar

Tableau XXII : Résultats des analyses physico-chimiques du cheddar.

	24 mars	25 mars	26 mars	27 mars	31 mars	Norme	Note
	E1	E2	E3	E4	E5		
pH	5,63	5,63	5,63	5,63	5,72	5,2 – 6,2 *	Conforme
EST %	53,59	53,74	53,92	52,47	53,88	50 - 60 *	Conforme
H°	46,41	46,26	46,08	46,53	46,12	40-50 *	Conforme
MG %	32.2	32	32.1	31.7	32	30-38 *	Conforme
G/S	60,09	59,54	59,53	60,41	59,39	< 65 *	Conforme

Les résultats des analyses physico-chimiques du cheddar utilisé pour la fabrication du fromage fondu montrent que son pH varie entre 5,63 et 5,74 et sa teneur en matière grasse varie entre 31,7% et 32%. Il convient de mentionner, également, que son taux d'humidité varie entre 46,08° et 46,53° et que sa teneur en extrait sec total varie entre 52,27 et 53,92 %, des résultats qui sont conformes aux normes.

D'après ces résultats, on peut affirmer que les conditions du stockage du cheddar utilisé (température / humidité) sont bien respectées.

II.1.3. Poudre de lait

Tableau XXIII : Résultats des analyses physico-chimiques de la poudre du lait.

	27 mars	28 mars	29 mars	30 mars	31 mars	Norme	Note
	E1	E2	E3	E4	E5		
pH	6,33	6,32	6,32	6,32	6,32	6 – 6,7 ⁺	Conforme
EST %	97	96,99	96,92	97,01	97,03	95 – 97 ⁺	Conforme
H °	3	3,01	3,08	2,99	2,97	3-5 ⁺	Conforme
MG %	26,9	27	27,1	27	27	26 ⁺	Non conforme
G/S	27,73	27,83	27,96	27,83	27,82	< 30 ⁺	Conforme

⁺ : Normes : code principes concernant le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaines : alimentation et nutrition n° 28 collection FAO

Il convient de constater que les paramètres physico-chimiques analysés (EST, humidité, matière grasse, pH et rapport G/S) sont conformes aux normes de la FAO, cela est dû aux modalités de fabrication et des bonnes conditions de stockage. En effet, une humidité trop élevée conduit à l'oxydation de la poudre de lait, tandis qu'un extrait sec total élevé conditionne une bonne consistance du fromage.

II.1.4. Eau de process

Tableau XXIV : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process.

	27 mars	28 mars	29 mars	30 mars	31 mars	Norme	Note
	E1	E2	E3	E4	E5		
TA	0,1	00	00	00	0,5	00 *	Conforme
TAC	28	27,3	27,2	26	27,5	< 50 *	Conforme
TA/ TAC	0,003	0,014	00	00	0,018	//	Conforme
TH	36,2	36	36,2	35,9	36,5	< 50 *	Conforme
Cl ⁻	56,8	56,2	57	56,5	56,8	< 60 *	Conforme
Cl ₂	2,3	1,5	1,5	2	3	2-3 *	Conforme
Conductivité	680	680	680	680	680	650 – 700 *	Conforme
pH	7,74	7,74	7,74	7,74	7,74	6 – 8 *	Conforme

Les résultats obtenus lors des analyses physico-chimiques de l'eau de process, concernant le TA, TAC, le rapport TA/TAC, TH, Cl⁻, Cl₂, la conductivité et le pH, sont tous conformes aux normes établies par l'entreprise. Ce qui signifie que l'entreprise procède, à l'évidence, à un bon traitement de l'eau avant son utilisation.

On peut conclure que l'eau de process utilisée lors de la fabrication du fromage fondu est de bonne qualité physico-chimique.

II.2. Résultats des analyses du fromage fondu

II.2.1. Bec de lancement

Tableau XXV : Résultats des analyses physico-chimiques du fromage fondu (bec de lancement).

	31 mars				
	E1	E2	E3	E4	E5
pH	5,75	5,79	5,82	5,84	5,85
EST %	63	45,85	43,83	42,66	41,99
H °	37	54,15	56,17	57,34	58,01
MG %	27,50	23,50	18,70	17,70	17,50
G/S	43,65	51,25	42,66	41,72	41,67

II.2.2. Après stérilisation

Tableau XXVI : Résultats des analyses physico-chimiques du fromage fondu (après stérilisation).

	31 mars				
	E1	E2	E3	E4	E5
pH	5,69	5,69	5,69	5,69	5,69
EST %	39,64	39,61	39,63	39,62	39,59
H °	60,36	60,39	60,37	60,38	60,41
MG %	16,10	16,10	16,10	16,10	16,10
G/S	40,61	40,64	40,62	40,63	40,66

II.2.3. Résultats des analyses du produit fini

Tableau XXVII : Résultats des analyses physico-chimiques du fromage fondu (produit fini).

	01 avr	15 avr	29 avr	13 mai	27 mai	10 juin	Norme	Note
	E1	E2	E3	E4	E5	E6		
pH	5,67	5,67	5,67	5,67	5,67	5,67	5,2 – 6,2 ^{DŽ}	Conforme
EST %	39,50	39,40	39,50	39,70	39,50	39,52	38 – 40 ^{DŽ}	Conforme
H °	60,50	60,60	60,50	60,30	60,50	60,49	60 – 62 ^{DŽ}	Conforme
MG %	16	16	16	16	16	16	16-17 ^{DŽ}	Conforme
G/S	40,50	40,61	40,51	40,30	40,51	40,52	40-42 ^{DŽ}	Conforme

D’après les résultats obtenus lors des analyses physico-chimiques du produit fini (fromage fondu en portion) on constate que :

- Le pH est stable et est de l’ordre de 5,67, il est conforme à la norme. Etant donné que l’ajustement du pH est une étape très importante, en ce sens qu’un pH en dehors de cet intervalle (5,2 à 6,2) ne permette pas d’obtenir la texture et la consistance désirées.
- L’extrait sec total varie entre 39,40% et 39,70%, des valeurs qui sont toutes inscrites dans les normes.
- Le taux d’humidité variant entre 60,30° et 60,60° est conforme aux normes du JORA. Bien qu’un fromage fondu soit un fromage à pâte molle, il doit avoir un taux d’humidité un peu élevé, de façon qu’il soit un fromage à tartiner.
- La teneur en matière grasse étant de l’ordre de 16%, teneur qui est conforme aux normes.
- Enfin le pourcentage du gras sur sec varie entre 40,30 et 40,61, ce qui donne au produit une texture tartinable voir tranchable.

III. Discussion générale

Cette étude a été établie dans le but de comprendre l'évolution des paramètres microbiologiques et physicochimiques qui interviennent durant le procédé de fabrication du fromage fondu stérilisé :

- **Analyses microbiologiques**

La présence des spores et leurs formes végétatives notamment le genre *Clostridium* (provenant des fromages utilisés ou des autres matières premières) dans les spécialités fromagères peut engendrer un risque sanitaire majeur, dans le cas où les conditions favorables de germination sont réunies à savoir la température d'activation des spores, l'anaérobiose, un pH relativement élevé et une a_w adéquate.

Les résultats des analyses microbiologiques ont révélé que le fromage fondu «O'kids » présentait une bonne qualité microbiologique. Le traitement UHT s'avère efficace et aucun germe ni spore n'ont été détecté, ce qui nous donne une indication sur la bonne pratique du traitement UHT. En plus, l'absence de coliformes, des staphylocoques et des SAG persiste jusqu'au produit fini, en raison de l'application et de l'efficacité des traitements thermiques (cuisson et traitement UHT), ainsi qu'aux conditions aseptiques, la salubrité et les bonnes conditions d'hygiène de la conditionneuse, du personnel et de tout l'atelier.

Les résultats révèlent, également, une bonne qualité microbiologique des matières premières, à savoir, la poudre de lait, le cheddar, le beurre et l'eau de process (sachant que cette eau a subi un bon traitement de chloration puis une dé-chloration ainsi qu'une diminution et régularisation des ions Mg^{2+}), ainsi qu'une bonne hygiène du personnel : par la mise en place des installations sanitaires, du système d'essuyage des mains à usage unique, des vêtements de travail propres et la sensibilisation continue.

- **Analyses physico-chimiques :**

- **pH**

L'observation des valeurs expérimentales montre que le pH augmente pendant la phase de fonte. C'est ainsi que ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Lee et al. (2004)** et **Dimitreli et al. (2005)**. Ceci peut être dû à l'influence de l'eau sur l'environnement ionique du fromage en induisant l'ionisation des complexes de phosphate de calcium et des différents groupements fonctionnels aminoacides.

Par ailleurs, ces valeurs font preuve d'une diminution significative du pH jusqu'à 5,67 dans le produit fini, cette chute est probablement due au pouvoir tampon des sels de fonte qui a pu ajuster le pH à la bonne valeur (**Gupta et al., 1984 ; Chambre et al., 1997**) ; les sels de fonte chélatent le calcium lié aux protéines et transforment ainsi le para-caséinate de calcium insoluble en para-caséinate de sodium soluble, ce qui se traduit par le déroulement et la dissociation des chaînes protéiques (peptisation) (**Sood et al., 1979; Lee et al., 1986; Marchesseau et al., 1997**).

➤ **Extrait sec**

Les propriétés fonctionnelles des fromages sont contrôlées par la composition chimique, y compris le taux d'humidité (**McMahon et al., 1999**). Le taux de l'extrait sec diminue de façon significative au cours du processus de fabrication, cette diminution devient très nette après la cuisson et reste légère jusqu'à la conditionneuse où le produit fini avait 39,52 % en extrait sec.

Ces résultats sont très proches de ceux apportés par **Hennelly et al. (2005)** et **Noronha et al. (2008b)**. L'injection de l'eau froide (25 % de la quantité d'eau totale injectée) dans le mélangeur peut être la cause principale de l'augmentation du taux d'humidité dans le mélange et par conséquent de la diminution de l'extrait sec. Après les traitements thermiques, la pré-cuisson (68°C à 110°C) et le traitement UHT (132°C à 145°C), il pourrait y avoir des pertes du condensat qui seront compensées par l'injection de l'eau chaude à 70°C (75 % de l'eau totale ajoutée).

➤ **Matière grasse**

La formule renferme un taux de 30,50 % en matière grasse. Cette dernière provenait essentiellement du beurre utilisé et du cheddar ajouté. Après la cuisson le taux de matière grasse chute jusqu'à 16 %.

La baisse de la teneur en matière grasse peut être glosée par l'effet des traitements thermiques, des sels de fonte qui ont un rôle émulsifiant et d'homogénéisation, ce qui engendre une réduction de la taille des globules gras jusqu'à 1 µm (**Rayan et al., 1980 ; Heertje et al., 1981; Kimura et al., 1986 ; Lelievre et al., 1990 ; Tamime et al., 1990**) ainsi qu'une destruction de leur membrane qui est remplacée par la membrane des micelles de caséine et de sub-micelles (**Keenan et al., 1988 ; Michalski et al., 2002**) pour former des particules dites pseudo-protéines qui interagissent avec les micelles de caséine et deviennent par la suite une partie intégrale de la pâte et par conséquent échappent à la quantification (**Tunick et al., 1997 ; Michalski et al., 2002**).

➤ **1.4. Matière grasse / extrait sec**

La diminution du rapport MG/ES peut être notifiée après la cuisson du mélange (40,50%). Cette diminution n'étant pas significative, mais elle indique, toutefois, une réduction du taux de la matière grasse pendant le processus de fabrication suite à l'augmentation de la teneur en eau dans la pâte au cours de la fonte sous l'effet de l'agitation (**Emmons et al., 1980 ; Metzger et Mistry, 1994 ; Drake et al., 1995**). Selon **McMahon et al. (1999)**. Les globules gras peuvent être emprisonnés dans les poches du sérum qui seront plus abondantes et plus volumineuses en raison de l'augmentation du taux d'humidité.

Conclusion

Au cours de ce travail, nous avons eu l'occasion d'assister avec le personnel de la société «GOUMIDI» dans la phase de fabrication du fromage fondu UHT, et de participer au contrôle de sa qualité à l'effet de donner un sens à notre stage. Lors de cette phase nous avons effectué différentes analyses pour conformer la qualité du produit fini, et ceci avec le personnel du laboratoire qui nous a accordé toute sa confiance.

Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, EST, MG, H, et également le TA, TAC, TH et la conductivité en ce qui concerne l'eau de process), ainsi que ceux des analyses microbiologiques (coliformes, spore de *Clostridium*, *S.aureus*, levures et moisissures) de matières premières (poudre de lait, cheddar, beurre et eau de process), du personnel, de surface et de l'atmosphère ainsi que du produit fini qu'on a effectué durant la période de stage sont tous conformes aux normes du JORA n°35 daté le 27 mai 1998, et celles fixées par l'entreprise.

Cependant, l'aération et l'isolement de chaque endroit et chaque étape de fabrication du fromage fondu, la fermeture de fenêtres et l'utilisation des appareils de désinfection de l'air ambiant, l'hygiène du personnel et la bonne conduite de traitement UHT qui rend le produit stable même à des températures extrêmes de conservation, permettent d'obtenir un produit de très bonne qualité, à la hauteur, et qui répond aux exigences des consommateurs.

Sur le plan personnel, ce stage a parfaitement répondu à nos aspirations, en ce sens qu'il nous a permis de redécouvrir l'industrie agroalimentaire. Il confirme, de ce fait, nos ambitions futures d'exercer dans ce domaine même s'il nous reste encore beaucoup à apprendre. En outre, nous souhaiterions que d'autres études plus poussées y seront élaborées à l'effet de donner un élan sauveur à ce créneau qui permettra à notre économie de remédier à toute importation

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

-
- **ABI AZAR R., 2007.** Complexation des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Propriétés technologiques des coagulums obtenus. Thèse doctorat. Agro-Paris-Tech Ed, p.196.
 - **AGIOUX L., 2003.** Conception et validation d'un outil d'aide à l'estimation de l'état sensoriel des fromages en cours d'affinage. Thèse doctorat. Institut National Agronomique de Paris Grignon, p.192.
 - **ALBONICO F. et GIANANI L., 1964.** Research on the supposed sequestering power of polyphosphate on calcium in processed cheese **In:** Latte, vol 38, p.223- 238.
 - **AMIOT J., FOURNIER S., LEBEUF Y., PAQUIN P et SIMPSON R., 2002.** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyses du lait **In :** Science et Technologies du lait: Transformation du lait par **VIGNOLA C.L.** Presse internationale polytechnique, p.1-60.
 - **BENELKADI., 2005.** Journal EL WATAN, article 1866.
 - **BERGER W. H., 1988.** Cours aux étudiants de l'Ecole Nationale Superior d'Agronomie et des Industries Alimentaires, n°42.
 - **BERGERON R., 2012.** Fabrication du fromage **In :** Avec l'œil du fromager. Paris, 01 juillet.
 - **BOUTONNIER J.L., 2000.** Fabrication du fromage fondu **In :** Techniques de l'ingénieur. Traité agroalimentaire. Paris, F-6310.
 - **CHAMBRE M. et DAURELLES J., 1997.** Le fromage fondu. **In:** **ECK A. et GILLIS.** Le fromage. Ed. Lavoisier, p. 691-708.
 - **C.E.A.E, 2006.** Centre d'Expertise en Analyse Environnementale. Méthodes de prélèvement, de conservation et d'analyse des échantillons relatifs à l'évaluation de la qualité de l'eau des piscines et autres bassins artificiels. Ministère de développement durable, de l'environnement et des parcs, Québec.
 - **CARIE M., GANTAR M. et KALAB M., 1985.** Effects of emulsifying agents on the microstructure and other characteristics of processed cheese. A review. Food Microstructure, p.4: 297.
 - **CHARLES A. et GUYLINDEN., 2003.** Biochimie alimentaire. Tec et Doc. Lavoisier, Paris, 5^{ème} édition p.167.
 - **CODEX ALIMENTARIUS, 1978.** Norme générale codex pour le fromage. CODEX STAN, p.283.
 - **COGITORE A., 1981.** Traité pratique de réglementation laitière. Edition du Sapin d'Or. 2^{ème} édition, Epinal.
-

-
- **DALGLEISH D.G., 1990.** The effect of denaturation of beta-lactoglobulin on renneting a quantitative study. *Milchwissenschaft*, p.45: 491-494.
 - **DANTAS CAVALCANTE A. B., REZENDE PINHEIRO A. et JET MOSQUIM M. C., 1992.** Requeijao : Uso de gordura vegetal como substituto parcial da gordura do leite na fabrication do Requeijao tradicional, *Rev, Inst, Lat, C.Tostes Ed.* n°47, p. 72:279-281.
 - **DELLARRAS C., 2000.** Microbiologie de l'environnement avec législation: travaux pratiques commentés. Gaëtan Morin éditeur, Paris, p.231.
 - **DHARAM P. et Narender R.P., 2007.** Indian traditional dairy products: an overview. International Conference on Traditional Dairy Foods. NDRI. KARNAL Ed, INDIA. November 14-17.
 - **DILLON J.C., 1997.** Le fromage dans l'alimentation. Technique et documentation. Lavoisier – Paris, 3^{ème} édition.
 - **DIMITRELI, G., THOMAREIS, A.S. et SMITH, P.G., 2005.** Effect of emulsifying salts on casein peptization and apparent viscosity of processed cheese. *International Journal of Food Engineering*, vol. 1, n. 4, p. 1–17.
 - **DRAKE M.A. et SWANSON B.G., 1995.** Reduced- and low-fat cheese technology. A review, *Trends Food Science Technology*, vol. 6, n. 11, p. 366–368.
 - **ECK A. et GILLIS J.C., 1998.** Le fromage. Edition Tec & Doc, Paris, p.3,7-513,
 - **ELLINGER R.H., 1972.** Phosphates as food ingredients. CRC Press Ed, Cleveland, OH.
 - **EMMONS D.B., KALAB M., LARMOND E. et LOWRIE R.J., 1980.** Milk gel structure. Texture and microstructure in Cheddar cheese made from whole milk and from homogenized low-fat milk. *J. Texture Stud.* vol. 11, p. 15–34.
 - **FROC J., 2001.** Des jus de fruits ou de plantes pour faire du fromage. *INRA mensuel* n°110, p.41-42.
 - **GELAIS ST-D., TIRRARD-COLLER P., BELANGER G., DRAPEAU R. et COUTURE R., 2002.** Le fromage **In : Science et Technologies du lait: Transformation du lait par VIGNOLA C.L.** Presse internationale polytechnique Ed, p.349-413.
 - **GHAFFIR Y. et DAUBE G., 2007.** Le point sur les méthodes de surveillance de la contamination microbienne des denrées alimentaires d'origine animale. Laboratoire national de Référence en Microbiologie des Denrées alimentaires pour l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire. Thèse doctorat. Université de Liège, faculté de Médecine vétérinaire.
-

-
- **GOLDIN B R., SWENSON L., DWYER J., SEXTON M. et Gorbach S.L., 1980.** Effect of diet and *Lactobacillus acidophilus* supplements on human fecal bacteria enzymes. J Nut Cancer Inst 64, p.255-260.
 - **GOUDEDRANCHE H., CAMIER-CAUDRON B., GASSI J-Y. et SCHUCK P., 1999.** Procédés de transformation fromagère. Techniques de l'Ingénieur. Traité Agroalimentaire, vol F1, partie 1, F-6305.
 - **GUPTA S.K., KARAHADIAN C. et LINDSAY R.C., 1984.** Effect of emulsifier salts on textural and flavour properties of processed cheeses. J Dairy Sci. vol. 67, p. 764–778.
 - **HABICHT L., 1934.** On the scientific basis of the cheese melting process. Milchwirtschaftliche Forsch 16, p.347.
 - **HADE A., 2002.** Nos lacs – les connaître pour mieux les protéger. Éditions Fides, p.360.
 - **HEERTJE I., BOSKAMP M.J., VAN KLEEF F. et GORTEMAYER F.H., 1981.** The microstructure of processed cheese. Neth. Milk Dairy J. vol. 35, p. 177–179.
 - **HENNELLY P.J., DUNNE P.G., O'SULLIVAN M. et O'RIORDAN D., 2005.** Increasing the moisture content of imitation cheese : effects on texture, rheology and microstructure. Eur Food Res Technol, vol. 220, p. 415–420.
 - **HERBERT S.A., RIAUBLANC B., BOUCHET D., GALLANT J. et DUFOUR E., 1999.** Fluorescence spectroscopy investigation of acid or rennet-induced coagulation of milk. Edition J Dairy Sci, pp. 82: 2056–2062 .
 - **HERMIER J., LENOIR J. et WEBER F., 1992.** Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Edition CEPIL, Paris.
 - **IKONEN T., 2000.** Possibilities of genetic improvement of milk coagulation properties of dairy cows. Academic dissertation. University of Helsinki, dept of animal science.
 - **ISO 6887-1, 1999.** Microbiologie des aliments : Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, partie1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.
 - **JOFFIN C. et JOFFIN J.N., 1993.** Microbiologie alimentaire, 5^{ème} édition.
 - **KANDARAKIS I., MOATSOU G., GEORGALA A., KAMINARIDES S. et ANIFANTAKIS E., 2001.** Effect of draining temperature on the biochemical characteristics of Feta cheese. Food Chemistry, pp.72, 369-378 .
 - **KATZ H. et Weaver W.W., 2003.** Encyclopedia of food and culture. Charles Scribner's Sons Ed, New York. vol 1: Acceptance to food politics, p.718.
-

-
- **KEENAN T.W., MAHER I.H. et DYLEWSKI D.P., 1988.** PHysical equilibria: lipid phase. In: **WONG N.P.**, Fundamental Dairy Chemistry, ed., Van Nostrand Reinbold Co., New York. pp.511–582.
 - **KIERMEIER F. et Mohler K., 1960.** Action of inorganic phosphate on the animal protein. Z. Lebensm. U ntersuch. Forsch Ed. vol III: The use of polyphosphate in process cheese, pp. 116:175.
 - **KIMURA T., SAGARA Y. et TANIMOTO M., 1986.** Microstructure of Cream cheese observed by cryo-SEM. Effects of melting salts and shear rate of the cheese structure during processing. Reports of Research Laboratory, Snow Brand Milk Products Co., n. 83, p. 43–54.
 - **LEE B.O., 1981.** Etude biochimique de la fonte des fromages. Thèse Docteur-ès-science, Université de Nancy1.
 - **LEE B.O., PAQUET D. et ALAIS C., 1986.** Etude biochimique de la fonte des fromages. Effet du type de sels de fonte et de la nature de la matière protéique sur la peptisation. Utilisation d'un système modèle. Le Lait, vol. 66, n. 3, p. 257-267.
 - **LEE S.K., ANEMA K. et KLOSTERMEYER H., 2004.** The influence of moisture content on the rheological properties of processed cheese spreads. International Journal of Food Science and Technology, vol. 39, p. 763–771.
 - **LELIEVRE J., SHAKER R.R. et TAYLOR M.W., 1990.** The role of homogenization in the manufacture of Halloumi and Mozzarella cheese from recombined milk. J. Soc. Dairy Technol. vol. 43, p. 21–24.
 - **LO PIERO A.R., PUGLISI I. et PETRONE G., 2002.** Characterization of lettuce, a serine-like protease from *Lactuca sativa* leaves, as a novel enzyme for milk clotting. Agric J. Ed. Food Chem, pp.50, 2439-2443.
 - **LUQUET FM. et BOUDIER J., 1981.** Dictionnaire laitier. Technique et documentation. Lavoisier, 2^{ème} édition, Paris, p. 219.
 - **MAHAUT M., JEANTET R. et Brule G., 2000.** Initiation à la technologie fromagère, Tec&Doc Ed.
 - **MAIR-WALDBURG H. et STURM W., 1968.** Handbuch der Lebensmittelchemie, vol 3, partie1, p.575.
 - **MARCHESSEAU S., GASTALADI E., LAGAUDE A. et CUQ J.L., 1997.** Influence of pH on protein interaction and microstructure of process cheese. Journal of Dairy Science, vol. 80, n. 8, p. 1483-1489.
-

-
- **McMAHON D.J., FIFE R.L. et OBERG C.J., 1999.** Water partitioning in Mozzarella cheese and its relationship to cheese meltability. *Journal of Dairy Science*, vol. 82, n. 7, p. 1361-1369.
 - **METZGER L.E. et MISTRY V.V., 1994.** A new approach using homogenization of cream in the manufacture of reducedfat Cheddar cheese. 1. Manufacture, composition and yield. *J. Dairy Sci.* vol. 77, p. 3506–3515.
 - **MEYER A., 1973.** Processed cheese manufacture. Food Trade Press. Edition LTD, London, p. 329.
 - **MICHALSKI M.C., CARIOU R., MICHEL F. et GARNIER C., 2002.** Native vs. damaged milk fat globules: membrane properties affect the viscoelasticity of milk gels. *J. Dairy Sci.* vol. 85, p. 2451–2461.
 - **MONTEL M.C., 2008. Libération.** mardi 2 septembre, p.28.
 - **MOUZALI L., AZIZA M., BENSIAMEUR-TOUATI K. et BENATEYA H., 2006.** A cardoon (*Cynara cardunculus* l.) used as vegetable rennet in an Algerian traditional cheese making "djben". *ISHS Acta Horticulturae. V International Congress on Artichoke*, p. 660.
 - **MURDOCK D. H., 2002.** The encyclopedia of foods: A guide to healthy nutrition. Academic press Ed. San Diego, California, USA.
 - **NF ISO 4832, 2006.** Microbiologie des aliments: Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes, Méthode par comptage des colonies.
 - **NF ISO 6888-1/A1 (V 08-014-1/A1), 2004.** Microbiologie des aliments: Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus* et autres espèces). partie 1: Technique utilisant le milieu gélosé de Baird-Parker, Amendement 1 : Inclusion des données de fidélité.
 - **NORONHA N., CRONIN D., O’RIORDAN D. et O’SULLIVAN M., 2008a.** Flavouring reduced fat high fibre cheese products with enzyme modified cheeses (EMCs). *Food Chemistry*, vol. 110, p. 973–978.
 - **NOUANI A., DAKO E., MORSLI A., BELHAMICHE N., BELBRAOUE T S., BELLAL M. et DADIE A., 2009.** Characterization of the purified coagulant extract from artichoke flower (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheese in Algeria. *Journal of food technology* 7. parite1, p. 20-29.
 - **OMS, 2000.** Directives pour l’eau de boisson. Critères d’hygiène et documentation à l’appui. Organisation Mondiale de la Santé. 2éme édition, vol 2, p.1050.
-

-
- **OMS/PNUE, 1995.** Recommandations pour la surveillance sanitaire des zones côtières d'usage récréatif et des zones conchylicoles: Programme à long terme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la mer Méditerranée. MED/POL. phase II, p. 156.
 - **PAQUET D., 1988.** La fonte des fromages : aspect physicochimiques, Les cahiers de l'ENSBANA. Technique et Documentation Ed. Lavoisier, Paris, vol 6, p.227-241.
 - **PAYNE M. et MORISON K., 1999.** A multi-component approach to salt and water diffusion in cheese. International Dairy Journal Ed, pp. 9-887-894.
 - **RAYAN A.A., KALÁB M. et ERNSTROM C.A., 1980.** Microstructure and rheology of process cheese. Scanning Electron Microsc. III, p. 635–643.
 - **REJSEK F., 2002.** Analyse de l'eau : Aspects et règlementaire et technique. CRDP d'Aquitaine Ed, France, p.358.
 - **RENNER E., 1993.** Nutritional aspect of cheese **In:** Cheese chemistry PHysics and microbiology. 2^{ème} Edition. P. F. FOX.Ed. Chapman & hall, London, p.557-580.
 - **RIAHI M H., 2006.** Modélisation des phénomènes microbiologiques, biochimiques et physico-chimiques intervenant lors de l'affinage d'un fromage de type pâte molle croûte lavée. Thèse doctorat. Institut national Agronomique Paris-Grignon, p.200.
 - **RODIER J., BAZIN C., BROUTIN J.-P., CHAMBON P., CHAMPSAUR H. et RODI L., 2005.** L'analyse de l'eau : eaux naturelle, eau résiduaires et l'eau de mer, 8^{ème} édition. Dounod Ed, Paris, p. 113-801-1383.
 - **RODIER.J, 1996.** L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mers. Edition DUNOD, pp. 661-847.
 - **ROUX JL., 1994.** Conserver les aliments : Comparaison des méthodes et des technologies. Edition Tec et Doc. Lavoisier, Paris, p. 122,123.
 - **SCHARPF L.G., 1971.** The use of phosphates **In:** cheese processing in Symposium: Phosphates in food processing. University of Guelph, Ontario, Canada. Av. Pub. Co., Inc., Westport, CT.
 - **SCOTT R., RICHARD K.R. et WILBEY A., 1998.** Cheese making practice. 3rd edition. Springer Ed, p. 449.
 - **SHIMP L.A., 1985.** Process cheese principles. Edition Food Technol, n.39 (5), p.63.
 - **SIPOLA M., 2002.** Effects of milk products and milk protein-derived peptides on blood pressure and arterial function in rats. Academic Dissertation. Medical Faculty of the University of Helsinki, p. 85.
-

-
- **SOOD V.K. et KOSIKOWSKI F.V., 1979.** Process Cheddar cheese from plain and enzyme treated retentates. *Journal of Dairy Science*, vol. 62, p.1713–1718.
 - **SOOMRO A.H., MASUD T. et KIRAN A., 2002.** Role of Lactic Acid Bacteria (LAB) In: *Food Preservation and Human Health. A Review.* *Pakistan Journal of Nutrition*, vol 1, p. 20-24.
 - **TAMIME A.Y., KALÁB M., DAVIES G. et YOUNIS M.F., 1990.** Microstructure and firmness of processed cheese manufactured from Cheddar cheese and skim milk powder cheese base. *Food Struct.* vol. 9, p. 23–37.
 - **TSUCHITA H., SUZUKI T. et KUWATA T., 2001.** The effect of casein pHospHopeptides on calcium absorption from calcium-fortified milk in growing rats. *British Journal of Nutrition*, n.85, p. 5-10.
 - **TUNICK M.H., COOKE P.H., MALIN E.L., SMITH P.W. et HOLSINGER V.H., 1997.** Reorganization of casein submicelles in Mozzarella cheese during storage. *Int. Dairy J.* vol. 7, p. 149–155.
 - **WALTHER B., SCHMID A., SIEBER R. et WEHRMULLER K., 2008.** Cheese in nutrition and health. A review. *Dairy Sci. Technol Ed*, p. 88-389–405.

ANNEXES

Annexe I- Méthode générale de fabrication des fromages.

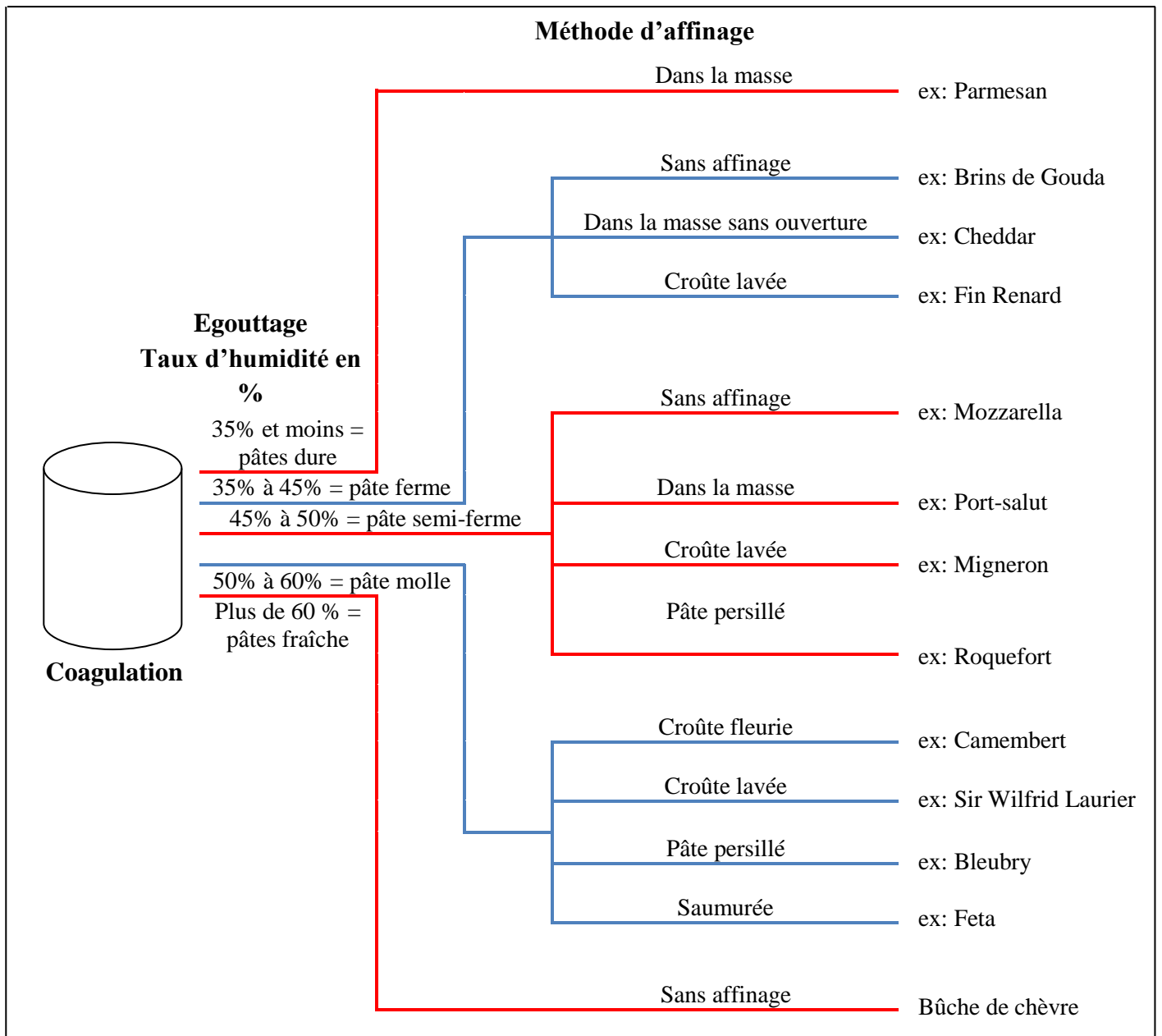


Figure 1: Méthode générale de fabrication des fromages (Bergeron., 2012).

Annexe II - Classification des fromages (d'après J.Kelling 1947).

I. Fromages frais	à coagulation lente: petits-suisses				
II. Fromage affinés	à coagulation rapide : fromage à la pie				
		à moisissures		à croûte	
		externes	internes	séchée	lavée cendrée
égouttage spontané	coagulation lente	saint-marcellin neuf châtel			
	coagulation rapide	Camembert brie coulommiers		genre chèvre	bourguignons langres olivet vendôme
égouttage accéléré	découpage du caillé	carre de l'est	gorgonzola bleu d'auvergne roquefort bleu du Jura		munster bel paese livarot maroilles pont-l'évêque
	découpage et brassage	fourme d'Ambert			Tilsitt
	découpage et brassage et pression	tome de Savoie saint-nectaire			saint-paulin hollande reblochon hollande étuvé
	découpage et brassage et pression et broyage			cantal	cheddar chester laguiole salers
	découpage, brassage, cuisson et pression			sbrinz asiago parmesan	emmental gruyère comte
III. Fromage fondu					
<p>Pour éviter de surcharge le tableau, une quarantaine seulement de variétés de fromages y figurent. Mais toutes leurs variétés qui ne sont pas citées pourraient y trouver place. Il faut noter que tous les fromages inscrits sur le fond en couleur appartiennent au groupe des fromages « de garde », fromages de longue conservation qui représentent la majeure partie de la production mondiale.</p>					

Figure 2 : Classification de KELLING 1947.

Annexe III- Les étapes de fabrication du fromage fondu selon "Goumidi".

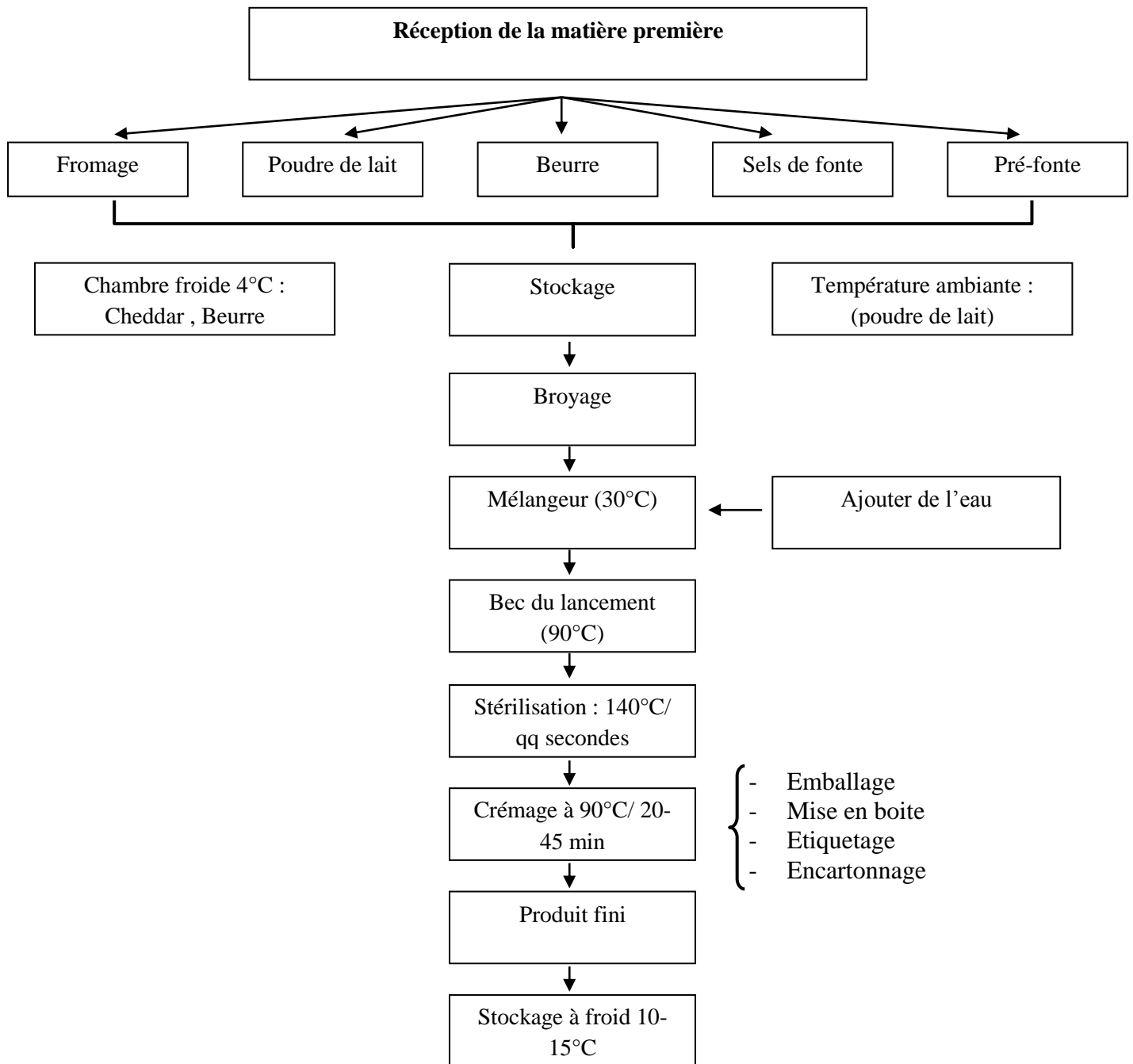
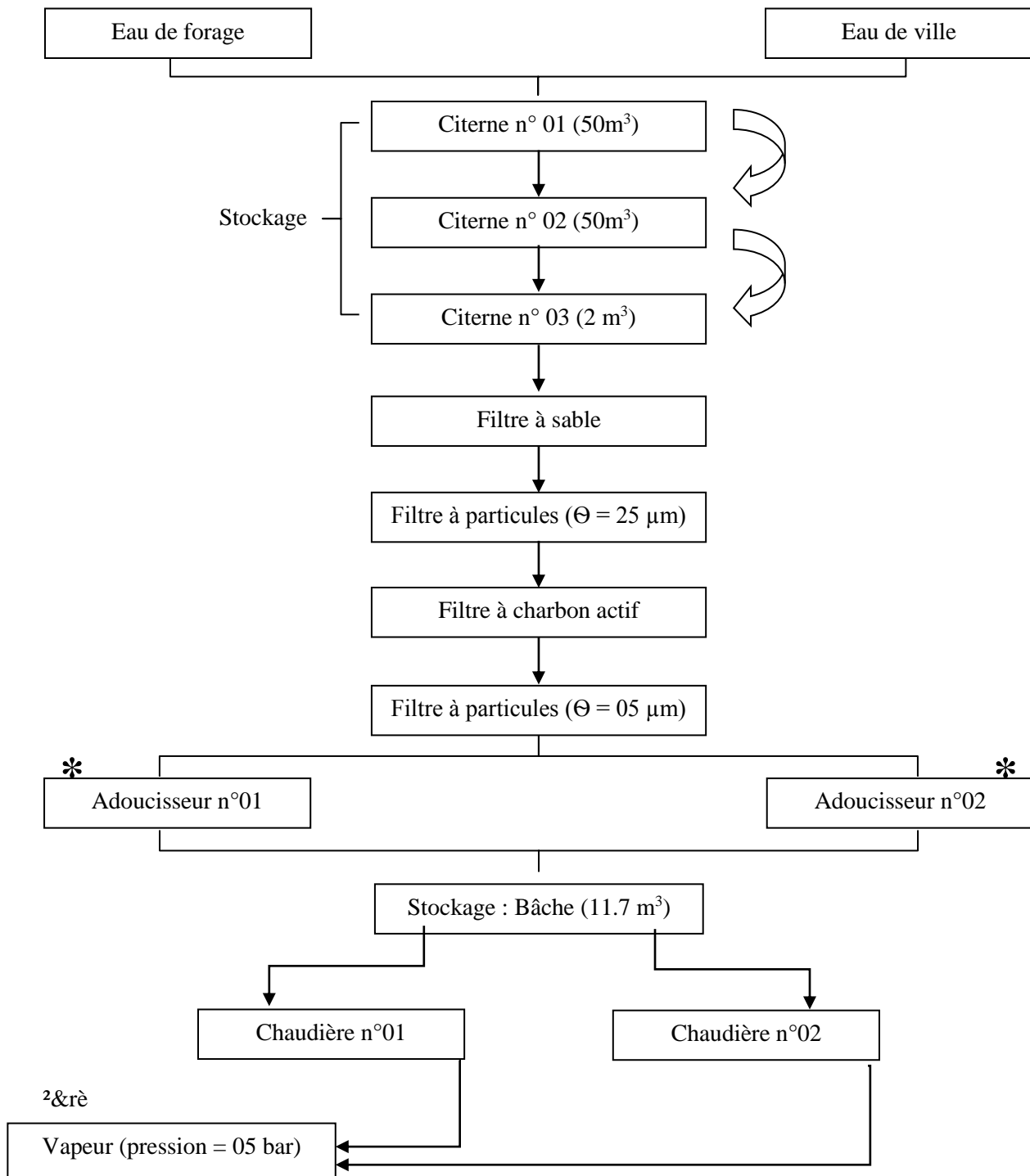


Figure 3 : Etapes de fabrication du fromage fondu selon "Goumidi".

Annexe IV- Les étapes du traitement de l'eau de process.



Θ : diamètre

* : Fonctionnement en alternance

Figure 4 : Principales étapes du traitement de l'eau au niveau de l'entreprise Goumidi.

Annexe V- Matériel nécessaire et verrerie.

Matériel nécessaire :

- Bain Marie.
- Balance électronique.
- Bec Bunsen.
- Capsule en aluminium.
- Centrifugeuse.
- Comparateur Lovibond 2000.
- Conductimètre.
- Couteau stérilisé.
- Dessiccateur.
- Ecouvillon.
- Étuve :
 - 22 ± 2 °C.
 - 30 ± 2 °C.
 - 37 ± 2 °C.
 - 44 ± 2 °C.
 - 103 ± 2 °C.
- PH-mètre (Model 9450, Unicam, Cambridge, UK).
- Sonde de prélèvement.
- Spatule.
- Portoir

Verrerie :

- Bécher de 500 ml.
 - Boîtes de Pétri.
 - Burette graduée.
 - Butyromètres + godets.
 - Erlenmeyer de 500 ml.
 - Fiole jaugée de 1000 ml.
 - Flacons de 500 ml.
 - Pipettes Pasteur de : 1 ml, 10 ml et 100 ml.
 - Tubes à essais + cloches de Durham.
-

Annexe VI- Réactifs et milieux de culture.

Réactifs :

- Acide éthylène-diamine tétra acétique (EDTA) à 0,02 N.
- Acide sulfurique 0,02 N.
- Acide sulfurique de densité 1,522.
- Acide sulfurique de densité 1,820.
- acide sulfurique de densité 1,825.
- Alcool iso-amylique
- Dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) à 10%.
- Eau de javel.
- Nitrate d'argent ($AgNO_3$) à 0,1N.
- Noir ériochrome T (NET).
- Réactif "Kovacs".
- Solution de méthylorange à 0.5 %.
- Solution de phénophtaléine 0.5 %.
- Solution tampon K10.
- Pilules DPD (Deutscher Paket Dienst).

Milieux de culture

- Bouillon BCPL (Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol).
 - Bouillon VBL (bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant).
 - EPEI (Eau Peptonée Exempte d'Indole).
 - Gélose Baird Parker.
 - Gélose PCA (Plate Count Agar).
 - Gélose Sabouraud.
 - Gélose VF (Viande-Foie).
 - Gélose VRBL (gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge Neutre).
 - Milieu de Rothe.
 - Milieu Eva Lytski.
 - Milieu Schubert.
-

Annexe VII- Composition de milieux de culture.
Tableau I: Composition du Bouillon BCPL (Bouillon Lactosé au Pourpre de Bromocrésol).

- Tryptone.....	5 g/l
- Extrait de viande	3 g/l
- Lactose	5 g/l
- Pourpre de bromocrésol.....	25 mg/l
- pH à 25°C	6,7 ± 0,2

Tableau II: Composition du Bouillon VBL (bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant).

- Peptone pancréatique de gélatine.....	5 g/l
- Extrait de viande	3 g/l
- Lactose	5 g/l
- pH à 25°C	6,9 ± 0,2

Tableau III: Composition d'EPEI (Eau Peptonée Exempte d'Indole).

- Peptone trypsique de caséine.....	10 g/l
- NaCl	5 g/l
-Eau permutée	1000 ml

Tableau IV: Composition de gélose PCA (Plate Count Agar).

- Tryptone.....	5 g/l
- Extrait de levure	2,5 g/l
- Glucose	1 g/l
- Agar Agar.....	15 g/l
- pH à 25°C	7,2 ± 0,2

Tableau V: Composition du milieu Sabouraud.

- Extrait de levure.....	3 g/l
- Extrait de malt.....	3 g/l
- Peptone.....	5 g/l
- Dextrose	10 g/l
- Agar agar.....	20 g/l
- pH à 25°C	6,2 ± 0,2

Tableau VI: Composition du milieu Baird Parker pré-coulée.

- Tryptone.....	9,47 g
- Extrait de viande	4,74 g
- Extrait de levure.....	0,95 g
- Pyruvate de sodium	9,47 g
- Glycine	11,37 g
- Chlorure de lithium.....	4,74 g
- Agar agar bactériologique.....	14,21 g
- Fibrinogène bovin	5,0 g
- Inhibiteur de trypsine.....	25,0 mg
- Tellurite de potassium.....	25,0 mg
- Plasma de lapin, EDTA.....	25,0 ml
- Eau.....	1000 ml
- pH	7,2 ± 0,2

Tableau VII: Composition de gélose VF (Viande-Foie).

- Peptone viande-foie.....	30 g/l
- Glucose	2 g/l
- Amidon soluble.....	2 g/l
- Sulfite de sodium.....	2,5 g/l
- Citrate de fer ammoniacal	0,5 g/l
- Agar agar	11 g/l
- pH à 25°C	7,6 ± 0,2

Tableau VIII: Composition de la gélose VRBL (lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre).

- Peptone	7,0 g
- Extrait de levure.....	3,0 g
- Lactose	10,0 g
- Sels biliaires	1,5 g
- Chlorure de sodium	5,0 g
- Rouge neutre.....	30,0 mg
- Cristal violet	2,0 mg
- Agar-agar.....	12 à 18 g
- Eau	1000 ml
- pH	7,4 ± 0,2

Tableau IX: Composition du milieu de Rothe.

	S/C	D/C
- Peptone	20 g/l	40 g/l
- Glucose	5 g/l	10 g/l
- NaCl	5 g/l	10 g/l
- Monohydrogenophosphate de potassium.....	2,7 g/l	5,4 g/l
- DihydrogenopHospahte de potassium.....	2,7 g/l	5,4 g/l
- Azide de sodium.....	0,2 g/l	0,4 g/l
- Eau permutée.....		1000 ml
- pH		6,8 ± 0,2

Tableau X: Composition du milieu Eva Lytski.

- Peptone	20 g/l
- Glucose	5 g/l
- NaCl	5 g/l
- Monohydrogenophosphate de potassium.....	2,7 g/l
- DihydrogenopHospahte de potassium.....	2,7 g/l
- Azide de sodium.....	0,3 g/l
- Ethyl violet.....	0.0005 g/l
- Eau permutée.....	1000 ml
- pH	6,8 ± 0,2

Tableau XI: Composition du milieu Schubert.

- Tryptone	10 g/l
- TryptopHane.....	0,2 g/l
- Acide glutamique.....	0,2 g/l
- Mannitol	7,5 g/l
- Sulfate de magnésium	7,5 g/l
- sulfate d'ammonium.....	0,4 g/l
- citrate de sodium.....	0,5 g/l
- NaCl.....	2 g/l
- phosphate disodique	4 g/l
- pH	7,6 ± 0,2

Annexe VIII- La table de Mac Grady

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

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

Figure 5: Table de Mac Grady.

Annexe IX- Dates des prélèvements et quantités prélevées**Tableau XII:** Dates de prélèvement et quantités prélevées

Matière	Dates et quantités des prélèvements
Beurre	22 mars 2015 : 1 bloc de 25 kg 23 mars 2015 : 1 bloc de 25 kg 24 mars 2015 : 1 bloc de 25 kg 25 mars 2015 : 1 bloc de 25 kg 31 mars 2015 : 1 bloc de 25 kg
Cheddar	22 mars 2015 : 100g × 3 fois 23 mars 2015 : 100g × 3 fois 24 mars 2015 : 100g × 3 fois 25 mars 2015 : 100g × 3 fois 31 mars 2015 : 100g × 3 fois
Poudre de lait	22 mars 2015 : 100g × 3 fois 23 mars 2015 : 100g × 3 fois 24 mars 2015 : 100g × 3 fois 25 mars 2015 : 100g × 3 fois 31 mars 2015 : 100g × 3 fois
Eau de process	22 mars 2015 : 500 ml × 3 fois 23 mars 2015 : 500 ml × 3 fois 24 mars 2015 : 500 ml × 3 fois 25 mars 2015 : 500 ml × 3 fois 31 mars 2015 : 500 ml × 3 fois
Produit en cours de fabrication	31 mars 2015 : 250g
Produit fini	01 avril 2015 : 5 boîtes de 16 portions