

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université SAAD DAHLEB de BLIDA
Faculté des sciences agro-vétérinaires et biologiques
Département d'agronomie

**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master
académique**

Option : Nutrition et contrôle des aliments

Thème

**Contrôle physicochimique et microbiologique d'un fromage fondu
et l'étude de l'effet bactériostatique des sels de fonte
vis-à-vis d'*Escherichia coli***

Présenté par :
M^{lle} MESSAOUDENE Nadia

Soutenu le : 26/06/2013

Devant le jury :

Président : Mr. MEGATLI S.	MCB	USDB
Examineur : Mr. BOUSBIA N.	MCB	USDB
Examinatrice : M ^{me} CHAKNANE F.	MCB	USDB
Examineur : Mr. RAMDANE S.	MAA	USDB
Examinatrice : M ^{me} IDRES A.	MAA	USDB
Promotrice : M ^{me} DEFFAIRI D.	MAA	USDB

Promotion : 2012 - 2013

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donnée la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je souhaite adresser mes remerciements les plus sincères aux personnes qui m'ont apportée leur aide et qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Mes vifs remerciements à ma promotrice Mme Deffairi D. Maitre assistante au département de Biologie université Saad Dahleb de Blida qui s'est dévouée pour me dispenser de tous conseils et directives utiles pour la réalisation de ce travail.

Je tiens également à remercier très sincèrement Mr Megatli S. Maitre de conférences au département de chimie université Saad Dahleb de Blida pour m'avoir fait l'honneur de présider le jury.

Mes remerciements s'adressent également à Mr Bousbia N., Mme Chaknane F. et Mme Idres A., qui ont consacré une partie de leur temps à examiner mon travail.

Je remercie également :

Mr Goumidi R. pour sa gentillesse, et sa modestie.

Mr Boufekrane A. , chef de la production chez le groupe industriel Goumidi pour sa générosité et sa grande patience dont il a fait preuve malgré ses charges professionnelles.

Les techniciens du laboratoire : Mourad, Sarah et Khaled pour leur grand soutien et qui m'ont permise de travailler dans un environnement scientifique de qualité.

Mr Ramdane S. et Mme Guendouz A., pour leurs gentillesse, soutien, encouragements et conseils qui m'ont été d'une grande aide.

Dédicaces

Je dédie mon mémoire de fin d'étude

À

Mon très cher père , et ma très chère mère

en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'ils ont fait pour mon éducation ainsi que ma formation

À

Mes chers frères et ma belle sœur

Abderrahmane, Abdelhadi et Fella pour leur affection, compréhension et patience

À

toute ma famille

*Mes grands-parents, mes tantes et oncles, cousins et cousines
(Chahira, Lila, Linda, Meriem, Imene, Salim, Walid...)
pour leur amour, soutien et encouragements*

À

Ma chère amie Hatie et sa famille

Pour sa présence, ses encouragements, et surtout sa patience

À

Mes amies

Samia, Fifi, Amina, Thinhinane, Sarah, Mimi, Nabila

Résumé

Notre travail a consisté à contrôler la qualité du fromage fondu Okid's produit par le groupe industriel Goumidi, Nous avons aussi étudié l'effet bactériostatique d'une combinaison de sels de fonte, utilisée dans ce fromage, vis-à-vis de la bactérie *Escherichia coli* puis déterminé la concentration minimale inhibitrice de cette dernière.

Les résultats du contrôle de la matière première au produit fini sont jugés conformes aux normes. Par ailleurs l'étude de l'effet bactériostatique des sels de fonte a montré une activité inhibitrice vis-à-vis d'*Escherichia coli* et a permis de déterminer que la concentration 2,2 % est la concentration minimale inhibitrice.

Mots clés :

Contrôle physicochimique, contrôle microbiologique, *Escherichia coli*, fromage fondu, sels de fonte, effet bactériostatique.

Abstract « physico-chemical and microbiological control of processed cheese and study of bacteriostatic effect of emulsifying salts vis-à-vis *Escherichia coli* »

Our work consisted to check the quality of processed cheese Okid's produced by industrial group Goumidi, for. We also studied the bacteriostatic effect of a combination of emulsifying salts, used in this processed cheese against the *Escherichia coli* and determined the minimum inhibitory concentration of this bacterium.

The results of control from raw material to finished product are conforme with standards. Also the study of bacteriostatic effect of emulsifying salts showed inhibitory activity against *Escherichia coli* and determine the concentration 2.2% as the minimum inhibitory concentration.

Keywords :

Physicochemical control, microbiological control, *Escherichia coli*, processed cheese, emulsifying salts, bacteriostatic effect.

الملخص: " رقابة فيزيوكيميائية و ميكروبيولوجية لجبن طري و دراسة تأثير ضد بكتيري لأملاح الذوبان ضد اشيريكية القولونية"

عملنا يشمل لتحقق من نوعية الجبن الـ نتجه صناعية قوميدي. درسنا أيضا تأثير مزيج من أملاح البكتيريا اشيريكية القولونية تحديد لتركيز لهذه الأخيرة.

النوعية المواد الأولية ج النهائي مرضية بالنسبة للمعايير. دراسة تأثير أملاح أظهرت وجود نشاط مثبط ضد البكتيريا اشيريكية القولونية حيث تحديد تركيز 2.2% هو للتركيز .

الكلمات الرئيسية:

المراقبة الفيزيوكيميائية ، المراقبة الميكروبيولوجية ، الجبن ضد بيكتريا. اشيريكية القولونية، تأثير

Abréviations

°F : degré français

µs : micro-siemens

AFNOR : Association française de normalisation

BCPL : bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol

BGT : Bouillon Glucosé Tamponné

CMI : concentration minimale inhibitrice

ESD : extrait sec dégraissé

EST : extrait sec total

FAO : Food agriculture organization

ISO : international organization for standardization

JORA : Journal officiel de la république algérienne

MG : matière grasse

NPP : nombre le plus probable

PCA : Plat-Count-Agar

pH : potentiel hydrogène

TH : titre hydrométrique

UHT : ultra haute température

VRBL : cristal violet, rouge neutre, bile, lactose

Liste des figures

N° de la figure	Titre des figures	Page
Figure 1	principales voies de fabrication du fromage fondu (Boutonnier, 2002)	02
Figure 2	résultats de l'effet bactériostatique des sels de fonte vis-à-vis d' <i>Escherichia coli</i>	38
Figure 3	résultats des témoins de l'étude de l'effet bactériostatique	38

Liste des tableaux

N° du tableau	Titre des tableaux	Page
Tableau I	composition moyenne de 100 g de fromage fondu (frédot, 2006)	02
Tableau II	résultats du contrôle physicochimique de l'eau de process	32
Tableau III	résultats du contrôle physicochimique de la poudre de lait	33
Tableau IV	résultats du contrôle physicochimique du beurre	33
Tableau V	résultats du contrôle physicochimique du cheddar	34
Tableau VI	résultats du contrôle physicochimique du produit fini	34
Tableau VII	résultats du contrôle microbiologique de l'eau de process	35
Tableau VIII	résultats du contrôle microbiologique des matières premières	35
Tableau IX	résultats du contrôle microbiologique du produit fini	36

Sommaire

INTRODUCTION	01
Partie I : Etude bibliographique	
I - LE FROMAGE FONDU	
I - 1 Définition	02
I - 2 Composition du fromage fondu	02
I - 3 Les matières premières de la technologie du fromage fondu	03
I - 4 Fabrication du fromage fondu.....	05
I - 5 Les différents types du fromage fondu	08
II - LES SELS DE FONTE	
II - 1 Définition	09
II - 2 Les sels utilisés dans la fabrication du fromage fondu	10
II - 3 Les propriétés des sels de fonte	11
III - CONTRÔLE DE LA QUALITE	
III - 1 Définition de la qualité	12
III - 2 La qualité d'un fromage fondu	12
III - 3 Contrôle de la qualité du fromage fondu.....	12
Partie II : Etude expérimentale	
MATERIEL ET METHODES	
I - Matériel	
I - 1 Matériel non biologique	16
I - 2 Matériel biologique	16
II - Méthodes	
II - 1 Méthode de prélèvement et d'échantillonnage	16
II - 2 Contrôle physicochimique	16
II - 2 - 1 L'eau de process	16
II - 2 - 2 La poudre de lait, cheddar, beurre et produit fini	18
II - 3 Contrôle microbiologique	21
II - 3 - 1 La préparation des dilutions	21
II - 3 - 2 Le contrôle microbiologique de l'eau de process	22
II - 3 - 3 Le contrôle microbiologique des autres matières premières et du produit fini.....	25
II - 4 L'étude de l'effet bactériostatique des sels de fonte vis-à-vis <i>Escherichia coli</i>	28
II - 4 - 1 La préparation de la souche	28
II - 4 - 2 La préparation des sels de fonte	29

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I - Résultats du contrôle physicochimique	32
I - 1 Matières premières.....	32
I - 1 - 1 Eau de process	32
I - 1 - 2 La poudre de lait	33
I - 1 - 3 Le beurre	33
I - 1 - 4 Le cheddar	34
I - 2 Produit fini	34
II - Résultats du contrôle microbiologique	35
II - 1 Matières premières	35
II - 1 - 1 Eau de process	35
II - 1 - 2 Poudre de lait, beurre et cheddar	35
II - 2 Produit fini.....	36
II - 3 Résultats de l'effet bactériostatique des sels de fonte	36
CONCLUSION	41

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Introduction

Le fromage est une savoureuse conservation des composés nutritifs du lait, qui a la vie courte en son état naturel. Consommé de toute antiquité, cet aliment eut l'avantage de s'élaborer facilement dans ses expressions les plus simples, d'être nourrissant, transportable sans embarras de la ferme aux marchés (Delpal, 2003). Il s'agit d'une transformation du lait très ancienne puisque des écrits témoignent de sa fabrication quelques trois mille ans avant notre ère en basse Mésopotamie (Boutonnier, 2002).

Le fromage fondu est une préparation beaucoup plus récente, qui a permis une stabilisation bien plus poussée des protéines laitières, tout en conservant plus ou moins au produit fini l'aspect d'un fromage (Boutonnier, 2000). Sa fabrication permettait traditionnellement de commercialiser des fromages présentant des défauts physiques et également les chutes des produits non-conformes (Lambert, 1988).

Ils sont obtenus par fonte d'un fromage ou d'un mélange de fromages à l'aide de la chaleur et d'agents émulsifiants ou sels de fonte (FAO, 2001). Ces derniers sont des polyphosphates qui sembleraient avoir un effet bactériostatique vis-à-vis de plusieurs micro-organismes (Vierling, 2008_b).

C'est dans ce contexte que s'insère notre étude, qui a pour objectif d'évaluer l'effet bactériostatique d'une combinaison de sels de fonte, utilisée par le groupe industriel Goumidi dans la formulation de leur fromage fondu Okid's, vis-à-vis de la souche *Escherichia coli* et de déterminer la concentration minimale inhibitrice de cette bactérie.

Notre étude consiste aussi à contrôler la qualité du fromage fondu O'kids. Ce dernier ainsi que les matières premières entrant dans sa composition subiront un contrôle physicochimique et un contrôle microbiologique.

Hormis l'introduction et la conclusion, le présent manuel est organisé en trois parties ; la première consiste à une synthèse bibliographique sur les fromages fondus, la deuxième expose l'ensemble des matériels et méthodes mis en œuvre dans le cadre du travail expérimental, les résultats discutés sont enfin développés dans la troisième partie.

I – Le fromage fondu

I – 1 Définition

Le fromage est un produit fermenté, ou non, obtenu à partir du lait ou d'un autre produit d'origine laitière, coagulé avant égouttage. Il peut subir une maturation ou un affinage (Roudaut et Lefrancq, 2005).

Le fromage fondu est un produit obtenu par la fonte et l'émulsion à l'aide de la chaleur et d'agents émulsifiants d'un fromage ou d'un mélange de fromages, additionné éventuellement de lait, beurre, crème, caséine, lactosérum et d'autres ingrédients (épices, aromates, champignons...etc) (Fao, 2001 ; Vierling, 2008_a).

Le fromage fondu un aliment énergétique riche en protéines et en minéraux ; il est digeste, d'une grande sécurité microbiologique, il se conserve à température ambiante tout en offrant une grande praticité pour son utilisation (Boutonnier, 2001). Il présente une teneur minimale en matière sèche est de 43 g pour 100 g de produit fini et une teneur minimale en matière grasse de 40 g pour 100 g de produit après complète dessiccation (Berthelot, 2001).

I – 2 Composition du fromage fondu

Selon Eck et Gillis (1997), les fromages fondus sont de vrais bâtisseurs de l'organisme avec leurs protéines, sels minéraux et matières grasses.

La composition moyenne de 100 g de fromage fondu, d'après Fredot (2006) est représentée dans le tableau I.

Eau (%)	50
Glucides (g)	2,5
Lipides (g)	30
Protéines (g)	17
Calcium (mg)	150
Phosphore (mg)	645
Magnésium (mg)	18
Potassium (mg)	100
Sodium (mg)	1100
Zinc (mg)	7

Tableau I : Composition moyenne de 100 g de fromage fondu (Fredot, 2006)

a - Les protéines

Les fromages fondus sont des aliments très riches en protéines qui proviennent de la caséine modifiée, dont une partie importante se trouve dégradée et solubilisée en oligopeptides

et acides aminés. La teneur en acides aminés du fromage lui confère une valeur biologique extrêmement élevée (Luquet, 1985).

b - Les glucides

La teneur en glucides dans les fromages fondus est négligeable (2%). Le lactose a été entraîné lors de l'égouttage dans le lactosérum ou a été transformé par la flore lactique lors du caillage ou de l'affinage (Vierling, 2008_a).

c - Les lipides

Les lipides conditionnent l'onctuosité de la pâte du fromage. Certains de ces acides gras sont volatils et interviennent dans la formation d'arôme. Les lipides du lait (triglycérides, phosphoglycérides et sphingicidés) se trouvent dans les fromages sous forme émulsionnés, ce qui les rend plus digestives (Gillis et Eck, 1997)

d - Les minéraux

Le sodium est apporté au fromage sous forme de chlorure de sodium. Ce dernier intervient pour relever la saveur du fromage. On l'utilise aussi pour limiter la prolifération de certaines moisissures indésirables et pour régler l'humidité. Une partie du sodium du fromage fondu provient des sels de fonte, notamment du polyphosphate de sodium (Gillis et Eck, 1997).

Les produits laitiers constituent une excellente source de calcium et de phosphore (Lékué, 2010). Une partie du phosphore se maintient dans la phase soluble du fromage et sa teneur augmente lors de la maturation. Seuls les fromages fondus additionnés de phosphates et quelques pâtes fraîches contiennent plus de phosphore que de calcium. Enfin, le rapport calcium/phosphore du fromage est élevé et donc satisfaisant au plan nutritionnel (FAO, 1995).

Le potassium, le magnésium et les oligo-éléments se trouvent dans le fromage particulièrement le fondu sous forme de traces (Fredot, 2006).

I – 3 Les matières premières de la technologie du fromage fondu

La sélection des matières premières est en relation avec la formule du produit à fabriquer, toutes les matières premières sélectionnées feront l'objet d'un contrôle microbiologique, organoleptique et physicochimique rigoureux avant utilisation (Chambre et Daurelles, 1997).

a – Le fromage naturel

A l'origine, la fabrication du fromage fondu permettait de recycler les fabrications défectueuses de gruyère. Actuellement, toutes les catégories de fromages sont utilisés (Mahaut et *al.*, 2000).

Dans certains pays la fabrication de fromage fondu est faite d'une seule variété de fromage à différents degrés d'affinage ; parmi les fromages les plus utilisés, on peut citer le cheddar aux Etats unis, au royaume uni et en Australie, l'emmental en Europe occidentale (Eck et Gillis, 1997).

D'après Boutonnier (2002), les fromages sont caractérisés par :

- le pH;
- l'extrait sec total (EST);
- la matière grasse (MG);
- l'extrait sec dégraissé (ESD);
- la nature de la texture en liaison avec la structure de la pâte;
- le niveau de minéralisation (% massique de calcium sur extrait sec dégraissé);
- la teneur en caséine relative.

Le fromage le mieux adapté à toutes les exigences est le cheddar (Boutonnier, 2000).

b – Autres matières premières laitières

D'autres matières d'origine laitières sont utilisées pour la fabrication du fromage fondu, elles améliorent la tartinabilité et la stabilité du fromage, parmi les principales, on peut citer (Eck et Gillis, 1997):

- Les concentrés protéiques laitiers obtenus par ultrafiltration ;
- Les poudres de lait écrémé, lactosérum, lactose, caséines-caséinates, protéines du sérum, co-précipité ... Ils présentent un intérêt particulier car ils permettent de réguler les excédents et apportent des constituants notamment protéiques non dégradés par l'affinage.
- La matière grasse laitière, son incorporation est fréquente pour ajuster la teneur finale en matière grasse du produit et lui confère des qualités organoleptiques notamment aromatiques agréables ; elle se fait essentiellement sous forme de beurre, de crème, de matière grasse laitière anhydride.

c – La préfonte

il s'agit de fromage déjà fondu qui résulte de la récupération de la pâte contenue dans différents endroits du circuit du produit dans l'atelier en fin de production et notamment au niveau de conditionnement. On a constaté en pratique que lorsqu'elle était refondue, la préfonte se comportait sur le plan de la chimie des colloïdes comme un fromage fondu ayant été exposé depuis un certain temps déjà aux phénomènes chimiques, physiques et mécaniques du processus de fonte. Ainsi, la préfonte transmet fortement ce processus physicochimique de modification de la structure au fromage fraîchement fondu auquel elle est ajoutée (Berger et *al.*, 1993).

Son rôle régulateur du processus de fonte se justifie surtout dans le cas des fabrications de produits tartinables, elle est particulièrement intéressante dans le cas de traitements UHT pour lesquels la pâte est extrêmement fluide après stérilisation et le crémage relativement délicat (Patart, 1987).

d – Matières premières non laitières

- *L'eau* : l'humidité des fromages étant généralement faible et puisque l'on incorpore des poudres, il est absolument nécessaire d'apporter de l'eau au mélange. Celle-ci permet de solubiliser et de disperser les protéines et d'émulsionner par conséquent la matière grasse libre. Cette eau doit être de qualité alimentaire, c'est-à-dire avec une faible teneur en micro-organismes et en contaminants chimiques tels que les nitrates. Elle peut être apportée sous forme liquide en une ou plusieurs fois à différents moments de fabrication. Dans le cas des traitements thermiques de type stérilisation UHT, cette eau est injectée sous forme de vapeur (Marshall, 1990 ; Berger et al., 1993 ; Gliguem et al., 2009).
- *Ingrédients d'aromatisation* : certains fromages fondus sont aromatisés par l'apport d'ingrédients aromatiques d'origine animale (salami, bœuf fumé, poissons, ...) ou végétale (épices, aromates, herbes, légumes, fruits) (Eck et Gillis, 1997).
- *Les sels de fonte* : ceux utilisés dans la fabrication du fromage fondu sont essentiellement les sels de sodium de l'acide phosphorique et l'acide citrique (Gupta et al., 1984). (le chapitre II sera consacré aux sels de fonte).

I – 4 Fabrication du fromage fondu

La figure 1 représente les principales étapes de fabrication du fromage fondu qui sont :

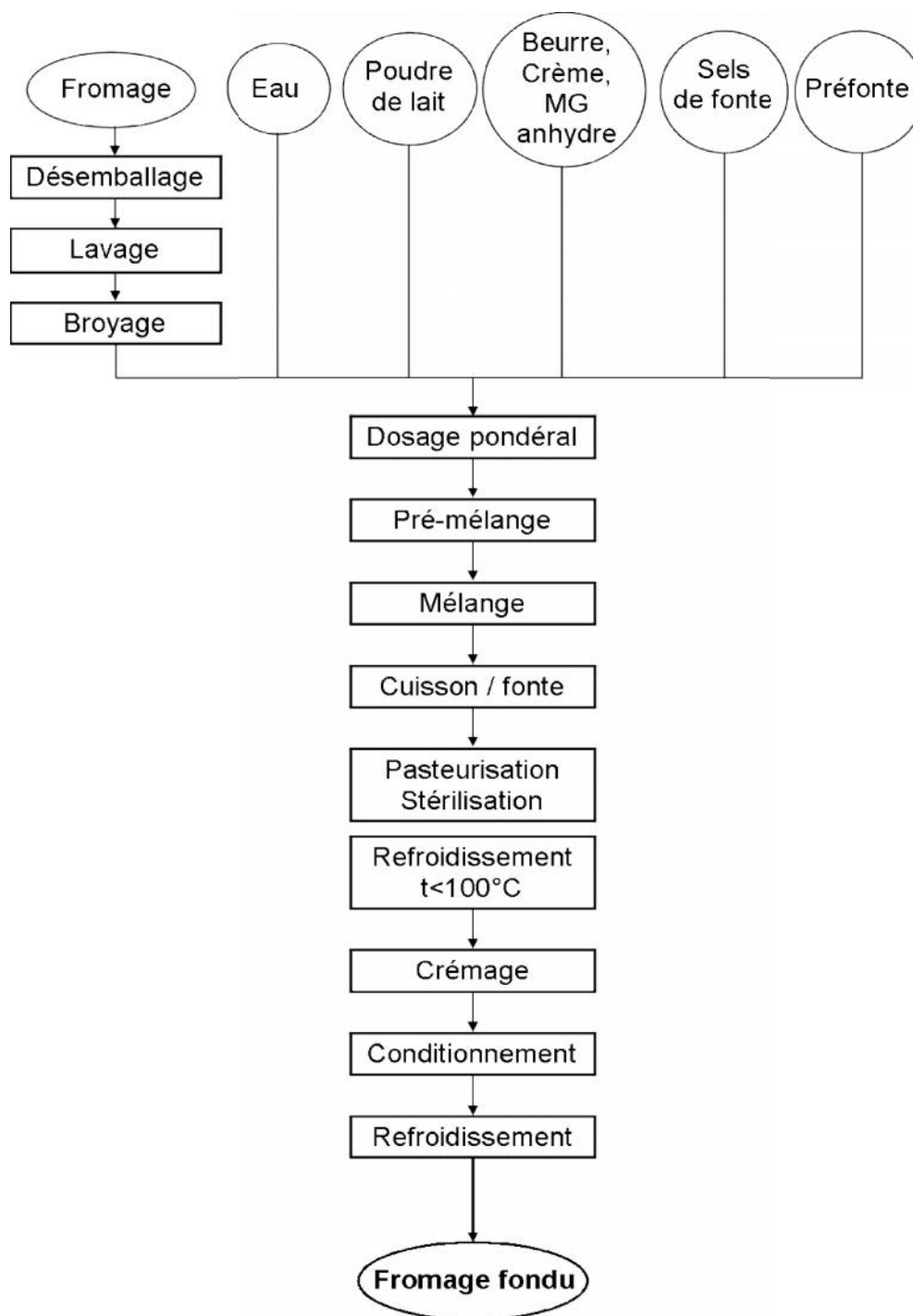


Figure 1 : Principales voies de fabrication du fromage fondu (Boutonnier, 2002)

I – 4 – 1 Ecroûtage, découpage et broyage des fromages

L'écroûtage est réalisé traditionnellement par raclage ou brossage, mais par des techniques nouvelles apparaissent telles que les jets d'eau chaude sous pression par exemple. Le broyage est une étape importante du traitement des matières premières, car il est indispensable de dissocier finement les fromages pour obtenir un fromage fondu homogène (Eck et Gillis, 1997).

I – 4 – 2 Préparation de la formule

Cette opération consiste à un mélange des différents types de fromage et autres produits laitiers, on ajoute de l'eau et des sels de fonte, puis on effectue un prébroyage de l'ensemble pendant quelques minutes pour obtenir un mélange prêt à être fondu. Ce qui permet une première action des sels de fonte (Luquet, 1990 ; Eck et Gillis, 1997).

I – 4 – 3 La cuisson

La cuisson ou la fonte proprement dite est l'étape clef de la fabrication du fromage fondu (Eck et Gillis, 1997).

Elle permet non seulement d'obtenir une masse fondue homogène, mais aussi de favoriser l'action des sels de fonte. En fonction du produit fini désiré, cette étape est réalisée par plusieurs techniques (Eck, 1989 ; Luquet, 1990 ; Gaucheron, 2003) :

- Pétrins traditionnels à simple ou double cuves et chauffage par injection directe de vapeur pour une simple pasteurisation à 90 - 95°C ;
- Pétrins du même type mais conçu pour une stérilisation à 120 – 125°C ;
- La cuisson pour certains types de fromage fondu peut être effectuée sous une ultra haute température (135 – 145°C).

Les phénomènes biochimiques de la fonte peuvent être résumés en trois phases principales (Eck et Gillis, 1997) :

a – La peptisation

Après avoir broyé finement les matières premières fromagères et dès la mise en contact avec l'eau et les sels de fonte, on assiste au démarrage de l'étape de déstructuration (Eck et Gillis, 1997).

Sous l'effet du traitement thermique, les sels de fonte chélatent le calcium lié aux protéines en transformant les paracaséinates de calcium insolubles en paracaséinates de sodium solubles (Luquet, 1985 ; Eck, 1989).

Cette dissolution est toujours suivie par un débobinage des chaînes peptidiques ; c'est le stade de peptisation (Schäffer et *al.*, 2001).

b – Le crémage

Le crémage est un phénomène physicochimique, il correspond à un épaissement et gonflement de la pâte fromagère (Eck et Gillis, 2006).

Selon Etienne (1992), cet épaissement du produit a deux origines :

- La peptisation des protéines, qui permet l'hydratation des chaînes, aboutit à un gonflement du système protéique et à une augmentation de la viscosité ;

- Les polyphosphates de calcium formés au cours du traitement thermique ont une taille qui leur permet de s'insérer entre les chaînes protéiques pour former des liaisons ioniques inter et intra-protéiques ce qui entraîne la gélification du réseau.

c – Le refroidissement

C'est au cours de cette phase que se produit la gélification. Le réseau protéique formé grâce aux liaisons hydrogènes, hydrophobes et ioniques établies, va se structurer pour former un gel qui va emprisonner fortement la matière grasse émulsionnée ainsi que l'eau d'hydratation (Eck et Gillis, 1997).

D'après Boutonnier (2000), le mode de refroidissement varie selon le format et le type du produit, dans la majorité des cas, le fromage fondu conditionné à chaud doit être refroidi rapidement.

I – 4 – 4 Le conditionnement

Pour éviter une contamination, le conditionnement est automatisé, ce qui permet de réduire considérablement les risques de contamination de la pâte après les opérations de pasteurisation et de stérilisation (Luquet, 1990).

Le conditionnement des portions de fromage à tartiner s'effectue dans une feuille 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. Le point du scellage se situe entre 60 et 70°C, ce qui permet d'utiliser la seule chaleur du fromage fondu comme énergie de scellage (Boutonnier, 2000).

Le fromage fondu peut être conditionné dans des contenants en matériau plastiques thermoscellables, ou emballé en tubes, en boîtes de conserves, ou dans des boyaux en plastiques lui donnant l'aspect de saucisse (Eck et Gillis, 1997).

I – 4 – 6 Le refroidissement et stockage

On stocke les produits mis en carton dans des entrepôts dont la température se situe autour de 10 – 15°C. Cette température est suffisante pour éviter la poursuite du crémage mais assez basse pour entraîner la formation de condensats sur les emballages. En conclusion, le respect des conditions optimales au cours des différentes étapes de fabrication permet d'obtenir un produit de bonne conservation, d'une durée comprise généralement entre six mois et un an (Eck et Gillis, 1997).

I – 5 Les différents types du fromage fondu

D'après Boutonnier (2000), les produits issus de la fonte des fromages peuvent être regroupés en cinq familles classées par ordre chronologique d'apparition sur le marché mondial :

a - Fromage fondu type *bloc*

Le traitement thermique est modéré de manière à conserver au produit fini une élasticité marquée et une bonne tranchabilité comparable à celle du fromage classique. Pour assurer sa stabilité, sa teneur en matière sèche est élevée et il est fondu partiellement ou totalement à partir de citrate de sodium. L'objectif est de retrouver l'aspect d'un fromage à pâte pressée bien que celui-ci ait fait l'objet d'un chauffage.

b - Fromage fondu type *coupe*

Moins ferme que le bloc, il n'en est pas pour autant tartinable. Il contient trois à quatre points de moins de matières sèches que le précédent, ce qui le rend plus agréable à la dégustation. L'élasticité, parfois recherchée n'est pas toujours souhaitable en raison de la formation des fils qui rendent le conditionnement délicat sur les machines classiques.

c - Fromage fondu type *tartinable*

C'est le processus du crémage qui permet en partie de régler la consistance du produit fini et de lui conférer une tartinabilité. Ce produit peut être aromatisé et conditionné en emballages souples (portions) ou rigides (pots, barquettes, tubes).

d - Fromage fondu type *toastable* (par refonte)

Originnaire d'Amérique du nord, il se présente généralement sous forme de tranches adaptée à une utilisation dans les cheeseburgers, les croquemonsieurs ... Ce produit doit refondre rapidement sans carbonisation superficielle, comme une tranche d'emmental par exemple, ce qui exige une préservation importante de la structure protéique de la matière première.

e - Fromage fondu type *thermostable*

Issu d'une demande extrême-orientale, à l'inverse du précédent, c'est un fromage fondu qui ne doit pas fondre lorsqu'on le soumet à une nouvelle source de chaleur. Il subit un crémage très poussé. Au Japon, les blocs obtenus sont découpés puis incorporés dans des plats cuisinés à base de légumes ou de poissons. Ces préparations peuvent être appertisées et, à des températures élevées, les cubes de fromage fondu doivent rester intacts après la stérilisation.

II – Les sels de fonte

II – 1 Définition

Ce sont les seuls additifs dans la fabrication des fromages fondus, ils agissent comme émulsifiants permettant de donner au produit fini une texture homogène, et ceci en dispersant les protéines contenues dans le fromage, entraînant ainsi une répartition homogène des matières grasses et des autres composants (Luquet, 1990 ; Branger et *al.*, 2007).

II – 2 Les sels utilisés dans la fabrication du fromage fondu

Les principaux sels utilisés pour la fabrication du fromage fondu sont les sels de l'acide phosphorique (les phosphates) et de l'acide citrique (les citrates). Ce pendant, d'autres sels peuvent être employés tels que les sels de l'acide tartrique, de potassium et de l'acide lactique. Toutefois, le tartrate et le lactate donnent des fromages fondus dont la qualité n'est pas acceptable, ce qui explique que leur emploi a été abandonné (Berger et *al.*, 1989 ; Eck et Gillis, 1997).

II – 2 – 1 Les sels d'acide phosphorique

Selon Eck et Gillis (1997), on distingue:

- *Les mono-phosphates*, plus communément appelés orthophosphates, obtenus par neutralisation progressive d'acide phosphorique avec la soude : ces phosphates alcalins constituent d'excellents tampons pour le pH.
- *Les polyphosphates linéaires*, ils sont obtenus à partir d'orthophosphates très purs par condensation à haute température, les di-phosphates et les triphosphates sont obtenus conforme à une formule chimique bien déterminée.

Sur le plan de la fonte du fromage, les phosphates les plus importants sont les groupes des polyphosphates à courte chaîne (di-phosphates) qui sont caractérisés par leur pouvoir de crémage considérable, et les polyphosphates à chaîne longue ou supérieure, qui ont un faible pouvoir de crémage mais sont d'excellents séquestrants du calcium (Boutonnier, 2000).

Les polyphosphates qui agissent au cours du processus de fonte et après la fonte, ne sont pas ceux que l'on a introduits. En effet, en présence de matières premières laitières, ils s'hydrolysent en devenant de moins au moins condensés ; les étapes ultimes sont les di-phosphates et orthophosphates. Les sels de fonte agissent donc, si on les a introduits sous forme hautement ou moyennement condensés, tout d'abord en séquestrant le calcium puis par hydrolyse, les di-phosphates obtenus favorisent le crémage (Eck et Gillis, 1997).

II – 2 – 2 Les sels d'acide citrique

Ce sont de bons séquestrants du calcium mais n'ont aucune action structurante au cours du crémage, ce qui ne permet pas l'obtention d'une pâte fondue courte recherchée dans les fromages fondus à tartiner (Eck et Gillis, 1997).

C'est le citrate trisodique dihydraté qui convient le mieux pour la fabrication du fromage, et qui est le plus stable au stockage (Boutonnier, 2000).

II – 3 Les propriétés des sels de fonte

Les principales propriétés pour lesquelles ils sont utilisés en fonte sont les suivantes :

II – 3 – 1 Le pouvoir complexant ou chélatant

Il peut être défini comme l'aptitude à fixer des cations métalliques pour former des complexes solubles ; cette propriété de séquestration qu'ont les polyphosphates permet de retirer un composant métallique, le calcium, du système protéique. Il en résulte un réarrangement des molécules protéiques et l'exposition des groupes hydrophiles (Eck et Gillis, 1997 ; Horne, 1998).

L'aptitude des polyphosphates à chélater l'ion de calcium croît avec les degrés d'ionisation (fonction du pH) et leur longueur de chaîne (Eck et Gillis, 1997).

II – 3 – 2 Le pouvoir tampon

L'ajustement du pH d'une formule de fromage fondu constitue une étape importante dans le procédé de fabrication. Les valeurs du pH tolérées se situent entre 5,6 et 6,1 (Guinée et *al.*, 2004).

En dehors de ces valeurs les qualités de texture et de consistance ne peuvent pas être atteintes, car les phases de peptisation et de restructuration ne sont possibles que dans cette gamme de pH. Vers un pH 5, la capacité émulsifiante des caséines est altérée et ne permet plus l'émulsion (Eck et Gillis, 1997).

Les différents sels de fonte permettent, par leur pouvoir tampon, d'ajuster le pH du produit à la bonne valeur (Chambre et Daurelles, 1997).

II – 3 – 3 L'effet bactériostatique

Vierling (2008_b) apporte que les polyphosphates sembleraient avoir un effet bactériostatique.

Selon Loessner et *al.* (1997), c'est surtout les polyphosphates et les orthophosphates qui seraient reconnus comme de bons inhibiteurs de la germination des spores et de la multiplication de plusieurs espèces de *Salmonella*, des bactéries à gram positif y compris *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Clostridium sporogenes* et *Clostridium botulinum*.

Cet effet s'explique par le fait que les parois et les membranes cellulaires de nombreux micro-organismes sont stabilisées par des ions Ca⁺. La liaison avec les anions qui ne peuvent traverser la membrane, comme c'est le cas avec les orthophosphates et les citrates, déstabilise l'enveloppe des micro-organismes (Boutonnier, 2002).

III – Contrôle de la qualité

III – 1 Définition de la qualité

La norme ISO 9000 (2000) définit la qualité comme « l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire des exigences » (Branger et *al.*, 2007).

AFNOR l'a défini comme « l'aptitude d'un produit ou d'un service à satisfaire exactement les besoins des utilisateurs en optimisant la perception de l'offre et en minimisant les défauts ou les erreurs » (Caronne, 2005).

III – 2 La qualité d'un fromage fondu

La qualité du produit fini est conditionnée premièrement par la qualité de la matière première avec une directe influence sur l'aspect, le goût, la consistance et la conservation du produit. Pour choisir les matières premières pour les fromages fondus, il est nécessaire de prendre en compte les caractéristiques suivantes (Miron et *al.*, 2006):

- L'assortiment des sels de fonte ajoutés ;
- Le degré de maturation et la contenance en caséine des fromages;
- Les caractéristiques physicochimiques et organoleptiques des matières premières.

Pour obtenir un produit avec goût, aspect, consistance il est absolument nécessaire d'assurer la corrélation des facteurs aussi importants tels que l'ajout de l'eau avant et après la fonte ; la température et la durée de la fonte ; l'agitation pendant la fonte et l'acidité (Miron et *al.*, 2006).

Le fromage fondu présente aussi une bonne qualité nutritionnelle, puisqu'il apporte à l'organisme la majorité des nutriments essentiels à un bon équilibre alimentaire. Comme tous les produits laitiers, c'est une source importante de protéines et de calcium (Eck et Gillis, 1997).

La qualité bactériologique d'un fromage fondu englobe deux aspects (Bourgeois et *al.*, 1996) :

- La qualité hygiénique qui vise la santé du consommateur, cette qualité est inacceptable lorsque le produit contient des toxines ou lorsqu'il présente des micro-organismes pathogènes.
- La qualité marchande, qui est liée à la qualité sensorielle, elle est garantie lorsque le produit est exempt de tout micro-organisme d'altération.

III – 3 Contrôle de la qualité du fromage fondu

Le contrôle de la qualité du fromage fondu intervient à trois niveaux (Boutonnier, 2002) :

a – Contrôle des matières premières

Ces contrôles doivent être réalisés dès l'arrivée des matières premières sur le lieu de fabrication :

- Plan physicochimique : pH, extrait sec et matière grasse, il est également souhaitable de réaliser une analyse de la teneur en caséine relative et de vérifier l'absence de contaminants ;
- Plan organoleptique : aspect externe et interne, texture, couleur et flaveur ;
- Plan bactériologique : estimation de la charge microbienne initiale en germes totaux et sporulés.

b – Contrôle au cours de fabrication

Aux principales étapes du procédé de fonte, plusieurs paramètres doivent être suivis tels que le contrôle des masses des ingrédients, mesure du pH, de la teneur en eau et la teneur en matière grasse. Lors de la cuisson, il faut surveiller aussi le temps et la température de fonte ainsi que la vitesse de brassage.

C – Contrôle lors du conditionnement

Des paramètres tels que la température de conditionnement, absence de fils de fromage, pliage et étanchéité des soudures pour les emballages souples, suivi des masses de l'étiquetage et du bande-rôlage doivent être suivis.

D'autres contrôles sont pratiqués, notamment ceux spécifiques à chaque type de fromage fondu ainsi que tous les contrôles quantitatifs (Boutonnier, 2002).

Notre étude a été réalisée au sein des laboratoires de l'entreprise G.I.G Spa (Groupe Industriel Goumidi) du mois de mars au mois de mai, elle avait pour objectif d'effectuer un contrôle physicochimique et un contrôle microbiologique du fromage fondu Okid's, puis d'étudier l'effet bactériostatique de différentes concentrations de la même combinaison de sels de fonte sur *Escherichia coli*.

I – Matériel

I – 1 Matériel non biologique (Annexe I)

I – 2 Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé consiste :

- A une souche d'*Escherichia coli* isolée au laboratoire de microbiologie du CHU de Franz-Fanon (Annexe II);
- Au fromage fondu obtenu après la chaîne de fabrication de l'entreprise G.I.G Spa ;
- Aux matières premières entrant dans la composition du fromage à savoir : la poudre de lait, le beurre et le cheddar.

II – Méthodes

II – 1 Méthode de prélèvement et échantillonnage

Les échantillons doivent être prélevés dans des conditions d'asepsie satisfaisante, avec des matériels et des récipients propres et stériles.

- La poudre de lait est conditionnée dans les sacs en polyéthylène de 25 kg, le prélèvement s'effectue à l'aide d'une sonde stérile, à partir de la surface, milieu et fond du sac. Prélever environ 100 g de poudre.
- Le cheddar et le beurre sont prélevés dans les mêmes conditions que la poudre de lait. 100 g d'échantillons sont prélevés et préservés dans un sachet stérile.
- Pour le prélèvement de l'eau de process, il faut nettoyer le robinet, le désinfecter à la flamme et laisser couler une certaine quantité de liquide avant de faire le prélèvement. Prélever 8 échantillons d'environ de 100 ml chacun.
- Le prélèvement du produit fini s'effectue au niveau de la conditionneuse, dont on prélève aléatoirement plusieurs boîtes de 3 à 6.

II – 2 Contrôle physicochimique

Pour contrôler et déterminer la qualité physicochimique de notre produit, on a réalisé des analyses sur les matières premières (eau de process, poudre de lait, beurre, cheddar), et le produit fini.

II – 2 – 1 L'eau de process

Les analyses les plus courantes dans le contrôle de traitement des eaux sont :

a – Détermination de la dureté totale (ou titre hydrométrique TH)

• **Principe**

La détermination de la dureté de l'eau s'effectue par une méthode complexométrique. On utilise le sel di-sodique de l'acide éthylène diaminetétracétique (EDTA). La réaction s'effectue en milieu tampon ammoniacal pour réaliser un pH de 9,2 à 9,3, avec un indicateur, le noir ériochrome T, qui forme un complexe coloré à la fois avec les ions calcium et magnésium. A la fin de la complexion des ions Ca^{+2} et Mg^{+2} par l'EDTA, l'indicateur vire du violet au bleu clair (Boeglin, 2000).

• **Mode opératoire**

- Prendre un échantillon de 100 ml ;
- Ajouter 10 gouttes du tampon ammoniacal,
- Ajouter une goutte du noir Eriochrome ;
Si la couleur vire au bleu, cela indique un TH = 0
Si la couleur vire au violet, le titrage se fait par la solution d'éthyle diaminotétracétique (EDTA) ou liqueur complexométrique à 0,02 N
- Evaluer le volume du titrage (V).

• **Expression des résultats**

Le titre hydrométrique est calculé selon l'équation suivante :

$$\text{TH} = V (\text{°F})$$

TH : titre hydrométrique ;

V : volume de l'EDTA nécessaire au titrage.

b – Détermination de la conductivité

• **Principe**

La conductivité électrique est l'aptitude d'un matériau à laisser les charges électriques se déplacer librement. Autrement dit, à permettre le passage du courant électrique. Cette conductivité est mesurée à l'aide d'un conductimètre, qui exprime la teneur globale en sels minéraux (Cambette et Ernoult, 2005).

• **Mode opératoire**

- rincer la cellule de conductivité, d'abord avec de l'eau distillée puis en la plongeant dans un récipient contenant de l'eau ;
- faire la mesure en agitant bien la solution afin que la concentration ionique entre les électrodes soit identique.

• **Lecture**

Lire la valeur de la conductivité affichée sur le conductimètre.

c – Dosage des ions chlorures

- **Principe**

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium. Ce dernier sert d'indicateur, car il réagit au point de fin de réaction avec l'ion d'argent pour former un précipité rouge brique de chromate d'argent (Rodier, 1996 ; Cheymol et Hoff, 1999).

- **Mode opératoire**

- Dans un bécher, introduire 10 ml d'eau de process ;
- Ajouter deux gouttes de la solution de chrome de potassium à 10 % ;
- Agiter et titrer par la solution de nitrates d'argent (0,01 N) ml par ml jusqu'à l'apparition de la couleur rouge brique.

- **Expression des résultats**

Le titre des chlorures est donné par l'expression suivante :

$$Cl^- = (V - V_0) \times M$$

V : volume de nitrate d'argent titré

V₀ : volume de nitrate d'argent titré pour le blanc (eau distillée)

M : masse molaire du chlorure

d – La mesure du pH

- **Principe**

La différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence (calomel- KCl saturé) plongeant dans une même solution est fonction linéaire du pH de celle-ci. Selon la loi de NERNST, le potentiel de l'électrode est lié à l'activité des ions H⁺ présent (Gavrilovic et *al.*, 1996).

- **Mode opératoire**

- rincer l'électrode avec de l'eau distillée puis la sécher par application délicate à l'aide d'un chiffon doux ;
- plonger l'électrode dans l'échantillon.

- **Lecture**

Noter la valeur du pH affichée sur l'appareil.

II – 2 – 2 La poudre de lait, cheddar, beurre et produit fini

Les paramètres à analyser sont la détermination de l'extrait sec, la détermination de la matière grasse.

La mesure du pH déterminée pour le produit fini uniquement.

a – Détermination de l'extrait sec

- **Principe**

La matière sèche ou l'extrait sec, est la masse restant après dessiccation complète, elle est habituellement indiquée en fraction massique, et est conventionnellement exprimée en pourcentage massique. Le principe consiste à une évaporation d'eau d'une prise d'essai dans une étuve à la température de $102^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ (AFNOR, 1999).

- **Mode opératoire**

- Peser une coupelle d'aluminium sèche puis tarer ;
- Peser dans une balance de précision 3 g (cheddar, beurre et produit fini), 5 g (poudre de lait) dans les différentes coupelles (prise d'essai avec +/- 0,0003 g) ;
- Introduire dans une étuve à 103°C (pendant 3 heures pour la poudre de lait et 5 heures pour les autres produits) ;
- Mettre ensuite la coupelle dans un dessiccateur en verre pendant 30 min puis peser.

- **Calcul et expression des résultats**

L'extrait sec des différentes matières premières et du produit fini est calculé par l'expression suivante :

$$\text{ES \%} = [(M_2 - M_0) / (M_1)] \times 100$$

ES : extrait sec ;

M₀ : Masse en grammes de la coupelle d'aluminium vide (Tare) ;

M₁ : Masse en grammes de la prise d'essai ;

M₂ : Masse de la coupelle et de l'échantillon après dessiccation.

Remarque : la teneur en extrait sec de la poudre de lait est déterminée pour connaître l'humidité de cette dernière (Humidité = 100 – ES).

b – Détermination de la matière grasse

Le principe de cette méthode est le même pour toutes les matières et produits à analyser, seulement le mode opératoire qui diffère.

- **Principe**

La détermination de la matière grasse se fait par centrifugation après désagrégation à chaud par l'acide sulfurique 65%, cette méthode est appelée méthode acido-butyrométrique de Gerber, après dégradation des protéines, la séparation de la matière grasse des autres constituants est réalisée après centrifugation du butyromètre en présence d'alcool iso-amyle (Bauer et *al.*, 2010).

- **Mode opératoire**

- Pour la poudre de lait :**

- Introduire dans un butyromètre gradué 10 ml d'acide sulfurique de densité 1,825 ;
 - Ajouter 10 ml d'eau distillée à l'aide d'une pipette, en la laissant se vider lentement afin d'éviter un mélange avec l'acide ;
 - Peser 2,5 g +/- 0,05 de l'échantillon dans un papier aluminium ;
 - Mettre le butyromètre dans l'éprouvette, tarer le poids et introduire quantitativement la prise d'essai dans le butyromètre ;
 - Ajouter 1 ml d'alcool iso-amylique,
 - Après avoir fermé le butyromètre, procéder à plusieurs homogénéisation par retournement jusqu'à complète dissolution ;
 - Placer le butyromètre dans la centrifugeuse Gerber pendant 5 min à 1100 tours/min ;
 - Mettre ensuite le butyromètre dans un bain marie à 65°C pendant 5 min, puis effectuer la lecture.

- Beurre :**

- Peser dans un godet du butyromètre gradué préalablement taré 5g de beurre ;
 - Introduire le godet contenant la prise d'essai dans le butyromètre et fixer le bouchon;
 - Ajouter délicatement et dans l'ordre 10 ml d'acide sulfurique (de densité 1,820) et 1 ml d'alcool iso-amylique ;
 - Ajuster le niveau par l'eau distillée jusqu'à la graduation 85;
 - Après avoir fermé le butyromètre, procéder à plusieurs homogénéisation par retournement jusqu'à complète dissolution;
 - Placer le butyromètre dans la centrifugeuse Gerber pendant 10 min ;
 - Mettre ensuite le butyromètre dans un bain marie à 65°C pendant 5 min, puis effectuer la lecture.

- Cheddar et produit fini :**

- Peser dans un godet du butyromètre gradué préalablement taré 3g d'échantillon;
 - Introduire le godet contenant la prise d'essai dans le butyromètre et fixer le bouchon;
 - Ajouter délicatement 10 ml d'acide sulfurique (de densité 1,522) puis agiter délicatement;
 - Mettre le butyromètre dans un bain marie à 65°C avec agitation jusqu'à avoir un fondu du fromage;
 - Ajouter 1 ml d'alcool iso-amylique ;
 - Ajouter encore de l'acide sulfurique jusqu'à atteindre 35 % du butyromètre ;
 - Remettre dans le bain marie pendant 5 min ;
 - Placer le butyromètre dans la centrifugeuse Gerber pendant 10 min ;
 - Mettre ensuite le butyromètre dans un bain marie à 65°C pendant 5 min, puis effectuer la lecture.

- **Lecture**

La lecture doit se faire le plus rapidement possible (10 secondes), il faut maintenir le butyromètre gradué verticalement, et ajuster le bouchon afin de coïncider la phase liquide avec une division et faire la lecture. Le résultat est exprimé en pourcentage massique

c - Mesure du pH

La mesure du pH est effectuée pour le produit fini seulement.

- **Principe**

Le principe est le même donné précédemment.

- **Mode opératoire**

- rincer l'électrode avec de l'eau distillée puis la sécher par application délicate à l'aide d'un chiffon doux ;
- plonger l'électrode dans l'échantillon.

- **Lecture**

Noter la valeur du pH affichée sur l'appareil.

II – 3 Contrôle microbiologique

Le contrôle microbiologique porte sur l'ensemble des matières premières (Eau de process, poudre de lait, beurre, cheddar) et du produit fini.

II – 3 – 1 Préparation des dilutions

- **Principe**

Cette technique sert à évaluer le nombre de microorganismes qui se trouvent dans un milieu liquide (eau de puits, boissons, eau de piscine...) ou dans un milieu solide (sol, aliments...).

- **Mode opératoire**

La consistance et la texture des produits font la différence entre les produits liquides et les produits solides.

Cas des produits solides :

- Introduire aseptiquement 25 g de produit à analyser dans un sachet stérile contenant au préalable 225 ml de diluant soit TSE (tryptophane, sel, eau) ;
- Homogénéiser pendant 6 à 8 min (La solution obtenue constitue la dilution mère (DM) qui correspond à la dilution 1/10) ;
- Introduire à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 1 ml de la DM dans un tube contenant 9 ml de TSE (cette dilution consiste alors la dilution 1/10²) puis mélanger soigneusement et doucement ;

- Changer la pipette et prendre aseptiquement 1 ml de la dilution $1/10^2$, à introduire dans un tube stérile contenant 9 ml de TSE (cette dilution est alors $1/10^3$) puis mélanger soigneusement.

Cas des produits liquides :

Dans ce cas, le mélange de 3 à 5 échantillons de produit liquide constituera la suspension mère (SM);

- Introduire à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 1 ml de la SM dans un tube contenant 9 ml de TSE (cette dilution consiste alors la dilution $1/10$) puis mélanger soigneusement et doucement ;
- Changer la pipette et prendre aseptiquement 1 ml de la dilution $1/10$, à introduire dans un tube stérile contenant 9 ml de TSE (cette dilution est alors $1/10^2$) puis mélanger soigneusement.

II – 3 – 2 Le contrôle microbiologique de l'eau de process

a - Recherche et dénombrement des germes mésophiles totaux

- **Principe**

Le terme germes totaux désigne de l'ensemble des bactéries mésophiles aérobies qui se développent à 30°C pendant 72 heures en laboratoire sur milieu nutritif gélosé. Le dénombrement de cette flore est un indicateur pertinent pour évaluer le degré de contamination (institut de l'élevage, 2009).

- **Mode opératoire**

- A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement deux fois 1 ml dans une boîte de pétri vide et stérile ;
- Couler ensuite la gélose PCA (Plat-Count-Agar) fondue et refroidie ;
- Faire des mouvements circulaires et de va et viens en forme de 8 ;
- Laisser solidifier sur la paillasse ;
- Incuber 25°C pendant 72 heures.
-

- **Lecture**

Les germes se présentent sous forme de colonies poussant en masse, ne retenir que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.

b – Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

- **Principe**

La recherche et le dénombrement des coliformes est réalisé en milieu liquide sur BCPL (bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol) par la technique NPP (nombre le plus probable).

Cette méthode standard (Rodier, 1996), fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

Le test présomptif : réservé à la recherche des coliformes totaux, réalisé sur bouillon lactosé, sa fermentation se manifeste par un trouble et un dégagement de gaz observé dans la cloche de Durham.

Le test confirmatif : réservé à la recherche des coliformes fécaux dits coliformes thermo tolérants, et des *Escherichia coli* à une température de 44°C, à partir des tubes positifs du test précédent.

- **Mode opératoire**

- **Test présomptif**

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL double concentration (D/C) munis d'une cloche de Durham ;
- Cinq fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C munis d'une cloche de Durham ;
- Cinq fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL simple concentration (S/C), munis d'une cloche de Durham.
- Bien mélanger l'inoculum et le milieu ;
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture du test présomptif**

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 de 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 du NPP (la table de Mac Grady).

- **Test confirmatif**

- A partir des tubes positifs lors du test présomptif, repiquer dans des tubes contenant le milieu Shubert munis d'une cloche de Durham ;
- Bien mélanger l'inoculum et le milieu ;
- Incuber à 44°C pendant 24 heures.

- **Lecture du test présomptif**

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

- Un dégagement gazeux ;
- Un anneau rouge en surface, témoin de production d'indole par *Escherichia coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif Kovacs.

La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP (la table de Mac Grady).

c – Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux

- **Principe**

La technique de recherche des Streptocoques fécaux, nécessite deux tests consécutifs, un test présomptif réalisé sur le milieu de Rothe et un test confirmatif qui consiste à repiquer les tubes positifs sur le milieu d'Eva Litsky (Rodier et *al.*, 2009).

- **Mode opératoire**

Test de présomption

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu Rothe D/C ;
- Cinq fois 10 ml dans 5 tubes contenant le milieu Rothe D/C ;
- Cinq fois 1 ml dans 5 tubes contenant le milieu Rothe S/C ;
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum ;
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien.

Test de confirmation

- A partir des tubes positifs du test de présomption, repiquer à l'aide d'une ose bouclée dans des tubes contenant le milieu Eva Litsky ;
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum ;
- Incuber à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture**

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

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

La lecture finale s'effectue selon les prescriptions de la table du NPP.

d – Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs

- **Principe**

Ces bactéries anaérobies strictes à Gram positif et sporulées réduisent des sulfites en sulfures d'hydrogène (Henze, 2008). Les échantillons sont préalablement chauffés à 80°C pendant 10 min afin de détruire les formes végétatives et garder uniquement les foies sporulés. Les spores d'anaérobies sulfito-réducteurs sont dénombrées après ensemencement dans un milieu gélosé viande-foie. Le milieu inoculé est recouvert d'huile de paraffine pour créer les conditions d'anaérobie nécessaire à la germination des spores. Il est ensuite incubé à 37°C pendant 48 heures (Eddabra, 2011).

- **Mode opératoire**

A partir de l'eau à analyser :

- Prendre environ 25 ml dans un tube stérile ;
- Chauffer le tube à 80°C pendant 8 à 10 min ;
- Après chauffage, refroidir immédiatement le tube sous l'eau du robinet,
- Répartir ensuite, le contenu de ce tube dans 4 tubes différents et stériles, à raison de 5 ml par tube ;
- Ajouter environ 18 à 20 ml de la gélose viande foie, fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$, additionnée d'une ampoule d'alun de fer et d'une ampoule de sulfite de sodium ;
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et en évitant l'introduction d'oxygène ;
- Laisser solidifier sur pailleuse pendant 30 min environ, puis incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture**

Repérer toute colonie de diamètre 0,5 mm entourée d'un halo noir poussant en masse.

II – 3 – 3 Le contrôle microbiologique des autres matières premières et du produit fini

Les analyses microbiologiques établies sur les matières premières à savoir le cheddar, le beurre et la poudre de lait consistent à une recherche et un dénombrement de différents microorganismes et à une recherche seulement pour le produit fini. Les germes recherchés sont les mêmes dans les deux cas.

a – Recherche et dénombrement des germes mésophiles totaux

- **Principe**

Le principe est le même donné précédemment.

- **Mode opératoire**

- A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} et 10^{-1} , introduire aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri vide;
- Compléter ensuite avec environ 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 47°C ;
- Faire ensuite des mouvements circulaires de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose ;
- Laisser solidifier sur pailleuse, puis incuber couvercles en bas à 30°C pendant 72 heures.

- **Lecture**

Les colonies se présentent sous forme lenticulaire poussant en masse.

Retenir les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies au niveau de deux dilutions successives.

- **Expression des résultats**

Le calcul du nombre N de germes totaux par ml ou g du produit analysé est obtenu par l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum C}{1,1 \times d}$$

N : nombre de germes ;

C : somme des colonies dans les deux boites retenues ;

d : taux correspondant à la première dilution.

b – Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

- **Principe**

Le milieu utilisé est le VRBL (cristal violet, rouge neutre, bile, lactose). C'est un milieu sélectif pour les coliformes par la présence des sels biliaires qui inhibent les bactéries non intestinales, et du cristal violet qui inhibent les bactéries gram +, il permet aussi la lecture du caractère lactose. Après incubation les colonies de coliformes sont rouges avec un halo rouge car elles acidifient le milieu à partir de la fermentation du lactose (Bonnefoy et *al.*, 2002 ; Branger, 2009).

- **Mode opératoire**

- A l'aide d'une pipette, transférer 1 ml de chaque dilution dans une boite de pétri préalablement préparée et numérotée à cet usage ;
- Couler dans chacune des boites de pétri environ 15 ml de gélose VRBL fondue puis refroidie et maintenue à 47°C ;
- Mélanger soigneusement milieu et inoculum ;
- Laisser le mélange se solidifier sur la paillasse ;
- Retourner les boites ainsi préparées puis incuber à 37°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux pendant 48 heures.

- **Lecture**

Compter les colonies dans chacune des boites contenant entre 15 et 150 colonies. On peut également compter toutes les colonies de deux dilutions successives présentant entre 15 et 150 colonies par boite et appliquer la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{1,1 \times d}$$

N : nombre de microorganismes par ml ou g de produit analysé ;

C : somme des colonies dans les deux boites retenues ;

d : taux correspondant à la première dilution.

c – Recherche des *Staphylococcus aureus*

- **Principe**

La méthode utilisée est sur milieu Baird Parker. Ce milieu est rendu sélectif par l'action du tellurite qui inhibe la plupart des bactéries à gram négatif et sert aussi d'indicateur par sa réduction en tellure noir. C'est un milieu riche du fait de la présence de jaune d'œuf qui permet la mise en évidence de la lécithinase de *Staphylococcus aureus* par opacification du milieu autour des colonies. Ces dernières apparaissent en 24 à 48 heures, noires (réduction de tellurite), entourées d'un halo clair dû à la protéolyse des protéines du jaune d'œuf et d'une zone opaque plus petite due à la lécithinase (Leyral et Vierling, 2007).

- **Mode opératoire**

- A partir des dilutions décimales 10^{-3} , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution réparti en surface à raison de 3 fractions sensiblement égales dans trois boîtes contenant le milieu Baird Parker ;
- Etaler à l'aide d'un même étaler en commençant par les boîtes de forte dilution ;
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture**

Les boîtes considérées positives sont celles contenant des colonies noires, brillantes, convexes, entourées d'une zone de transparence ce qui peut être translucide.

d – Recherche des anaérobies sulfito-réducteurs

- **Principe**

Le principe est le même donné précédemment.

- **Mode opératoire**

- Soumettre les tubes contenant les dilutions 10^{-2} et 10^{-1} d'abord à un chauffage à 80°C pendant 10 min, puis à un refroidissement immédiat sous l'eau du robinet ;
- A partir de chaque dilution, porter aseptiquement 1 ml en double dans deux tubes à vis stériles puis ajouter 15 ml de gélose viande-foie ;
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes ;
- Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture**

Il faut repérer toute colonie noire ayant poussée en masse et d'un diamètre de 0,5 mm.

e – Recherche et dénombrement des levures et moisissures

- **Principe**

Les levures et moisissures sont des microorganismes qui, après ensemencement en surface sur milieu inhibiteur pour les bactéries aérobies (gélose glucosée à l'oxytétracycline « OGA » ou Sabouraud au chloramphénicol), formant des colonies après une incubation à 20°C pendant 5 jours (Bonney et *al.*, 2002).

- **Mode opératoire**

- A partir de chaque dilution, ensemercer respectivement et par étalement 1 ml dans 3 boîtes de pétri contenant la gélose Sabouraud au chloramphénicol ;
- Incuber à 22°C pendant 5 jours.

- **Lecture**

Compter les colonies dans chacune des boîtes contenant entre 15 et 150 colonies. On peut également compter toutes les colonies de deux dilutions successives présentant entre 15 et 150 colonies par boîte et appliquer la formule suivante :

$$N = \frac{\sum C}{1,1 \times d}$$

N : nombre de microorganismes par ml ou g de produit analysé ;

C : somme des colonies dans les deux boîtes retenues ;

d : taux correspondant à la première dilution.

Remarque

- Opérer dans les mêmes conditions avec le diluant TSE, prendre 1 ml du TSE, l'étaler sur une boîte contenant la gélose Sabouraud puis incuber, cette boîte constitue le témoin diluant (TD) ;
- Incuber telle qu'elle, une boîte contenant le milieu Sabouraud, cette dernière constitue le témoin milieu (TM).
- Lors de la lecture, il faut commencer obligatoirement par les deux boîtes témoin (TM/TD) si l'une d'entre elles est contaminée, l'analyse est ininterprétable et donc à refaire.

II – 4 L'étude de l'effet bactériostatique des sels de fonte sur *Escherichia coli*

II – 4 – 1 Préparation de la souche

- **Principe**

Avant de procéder à l'étude de l'effet bactériostatique, la souche *Escherichia coli* doit être revivifié, c'est-à-dire restituer sa faculté de multiplication, puisqu'elle a été conservée après son isolement. L'étape de revivification sur un milieu moins sélectif est souvent importante avant la culture sur un milieu sélectif pour les bactéries qui ont

subi un stress dû aux traitements thermiques et autres ce qui rend les bactéries inactives (Doresbeke et *al.*, 1997; Sherwood et *al.*, 2010).

- **Mode opératoire**

- Stériliser une pipette Pasteur au Bec Bunsen puis la refroidir ;
- Repiquer quelques colonies de la souche contenant dans la boîte de pétri ;
- Mettre ces colonies dans un tube contenant le BGT (Bouillon Glucosé Tamponné) ;
- Incuber à 37⁰C pendant 24 heures.
- Après l'incubation, et à l'aide d'une pipette pasteur stérile ensemercer en strie un inoculum dans une boîte de pétri contenant une gélose nutritive ;
- Incuber à 37⁰C pendant 24 heures.

- **Lecture**

Les colonies se présentent en couleur crémeuse, poussant en masse.

II – 4 – 2 Préparation des sels de fonte :

Les sels de fonte utilisés dans cette étude correspondent à une combinaison de trois sels à savoir C spécial à 50%, S9 et PZ6 à 25% chacun (Voir annexe III). Cette combinaison de sels a été ajoutée à différentes concentrations à la gélose VRBL, la méthode utilisée prend son principe de l'antibiogramme par dilution sur milieu solide.

- **Principe**

La méthode de dilution est une technique permettant de déterminer la concentration minimale inhibitrice, elle peut être appliquée en gélose et en bouillon. En cas de gélose, des boîtes de pétri sont remplies de géloses sélectives mélangées avec des quantités différentes de l'agent inhibiteur, puis sont examinées pour vérifier la croissance (Sherwood et *al.*, 2010).

- **Mode opératoire**

- Calculer les quantités des sels de fonte qui doivent être additionnées au milieu de VRBL suivant des concentrations variant selon une progression géométrique de base de 0,2, allant de 1,8 % à 3,4 % ;
- Peser les sels de fonte chacun à part puis les mélanger ;
- Ajouter les à la gélose VRBL préalablement fondue ;
- Agiter énergiquement jusqu'à dissolution complète des sels de fonte ;
- à l'aide d'un écouvillon, ensemercer (pour chaque concentration) un inoculum d'un tube contenant 2 ou 3 colonies de *Escherichia coli* diluées dans le TSE ;
- Couler 20 ml de la gélose contenant les sels dans les boîtes de pétri;
- Laisser se solidifier sur paillasse ;
- Incuber à 37⁰C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture**

Observer l'évolution de l'inhibition de croissance d'*Escherichia coli* selon les concentrations étudiées et déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI).

I – Résultats du contrôle physicochimique

Le contrôle physicochimique a été effectué sur l'ensemble des matières premières (l'eau de process, cheddar, poudre de lait et beurre) ainsi que sur le produit fini.

I – 1 Matières premières

I – 1 – 1 Eau de process

Les résultats du contrôle physicochimique de l'eau de process sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau II : résultats du contrôle physicochimique de l'eau de process

Analyses	Résultats	JORA (1998)
Dureté (°F)	15	20
pH	7,74	6,5 - 9
Conductivité (µs/cm)	610	2800
Ions chlorures (mg/l)	39	500

JORA : Journal officiel de la république algérienne.

Les résultats de l'analyse de l'eau de process ont révélé une dureté de 15°F et un pH de 7,74. Ces résultats sont conformes aux normes établies par le JORA (1998).

Selon Vierling (2008_a), la dureté indique la teneur globale de l'eau en sels de calcium et de magnésium qui la rendent dure, et selon Bellin (2009), l'idéal est de consommer une eau dont la dureté est comprise entre 15 et 30, celle-ci est une eau moyennement dure, contenant peu de calcium et de magnésium.

D'après la FAO (1995), l'eau ajoutée à la poudre de lait des fromages doit avoir un pH voisin de la neutralité. Et en 2008, Chaumeton énonce que la modification de la dureté d'une eau s'accompagne d'une modification du pH, en augmentant la dureté on élève le pH, et inversement.

La conductivité de l'eau a été mesurée à 610 µs/cm, cette valeur est conforme aux normes du JORA (1998). D'après Goudet et Kowalski (2011), la conductivité de l'eau de qualité alimentaire doit être comprise entre 200 et 1100 µs/cm.

Le taux des ions de chlorures est de 39 mg/l, cette valeur est conforme aux normes établies par le JORA (1998).

I – 1 – 2 La poudre de lait

Le tableau III, résume les résultats des paramètres physicochimiques de la poudre de lait.

Tableau III : résultats du contrôle physicochimique de la poudre de lait

Analyses	Résultats		Normes	
Extrait sec/ humidité (%)	97,73	2,27	AFNOR V 04 - 207	H < 5
La teneur en matière grasse (%)	26		AFNOR V 04 - 210	26

H : taux d’humidité.

La teneur en extrait sec dans la poudre de lait est de 97,73%, d’où une humidité de 2, 27 %. Ces résultats sont conformes à la norme.

D’après le collectif international du Québec (2008), le lait en poudre est un lait déshydraté qui contient au maximum 2,5% d’humidité. L’augmentation de cette dernière a pour conséquence que les microorganismes ont une plus grande chance de s’y développer, ainsi que la cristallisation du lactose contenu dans le produit au cours de conservation (FAO, 1995 ; Wybauw et Leduc, 2005).

La teneur en matière grasse est de 26 %, cette valeur est satisfaisante, puisque la poudre utilisée est issue d’un lait entier d’où sa conformité. Le collectif international du Québec (2008), rapporte qu’une poudre de lait entier doit contenir au minimum 26% de matière grasse.

I – 1 – 3 Le beurre

Les résultats obtenus lors du contrôle physicochimique du beurre sont résumés dans le tableau IV.

Tableau IV : résultats du contrôle physicochimique du beurre

Analyses	Résultats	Normes	
Extrait sec (%)	84,2	AFNOR V 04 - 207	84
La teneur en matière grasse (%)	82	NF ISO 8851 (2004)	80 - 90

L’extrait sec obtenu pour le beurre est de 84,2 %, ce dernier est conforme à la norme énoncée par AFNOR.

La teneur en matière grasse obtenue est de 82 %, celle-ci est conforme à la norme. Selon Vierling (2008_a), le beurre contient entre 80 et 90 % de matière grasse.

I – 1 – 4 Le cheddar

Le tableau V résume les résultats des paramètres physicochimiques du cheddar.

Tableau V : résultats du contrôle physicochimique du cheddar

Analyses	Résultats	Normes	
Extrait sec (%)	64,78	AFNOR V 04 - 207	60 - 69
La teneur en matière grasse (%)	34	AFNOR 2706 - 1992	30 - 38

Les résultats de l'extrait sec et de la teneur en matière grasse pour le cheddar sont de 64,78% et de 34 % respectivement. Ces derniers sont conformes aux normes AFNOR.

I – 2 Produit fini

Les analyses physicochimiques effectuées pour le produit fini sont la détermination de la teneur en extrait sec, de la teneur en matière grasse puis la mesure du pH. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VI.

Tableau VI : résultats du contrôle physicochimique du produit fini

Analyses	Résultats	Normes	Spécifications
Extrait sec (%)	39,8	AFNOR V 04 - 282	39 - 40
Teneur en matière grasse (%)	16	AFNOR 2706 - 1992	16 - 17
MG/ES (%)	40,2	AFNOR 2706 - 1992	40
pH	5,68	JORA (1998)	5,5 – 5,7

- **MG** : matière grasse ;
- **ES** : extrait sec.

Les teneurs en extrait sec et en matière grasse obtenues pour le fromage fondu sont de 39,8% et 16% respectivement, ces valeurs sont jugées conformes aux normes AFNOR.

Selon la publication du groupe d'étude des marchés de restauration collective et nutrition (2009), le fromage fondu est un fromage présentant une teneur minimale en matière sèche de 40 g pour 100 g de produit fini, et Vierling (2008_a) rapporte que pour cette teneur, le rapport de la matière grasse à la matière sèche doit être supérieur ou égale à 40%.

La teneur du pH mesurée pour le produit fini est de 5,68, celle-ci est conforme à la norme. L'ajustement du pH d'une formule de fromage fondu constitue une étape importante dans le procédé de fabrication. Les valeurs du pH tolérées se situent entre 5,6 et 6,1 (Guinée et *al.*, 2004). En dehors de ces valeurs les qualités de texture et de consistance ne peuvent pas être atteintes, car les phases de peptisation et de restructuration ne sont possibles que dans cette gamme de pH. Vers un pH 5, la capacité émulsifiante des caséines est altérée et ne permet plus l'émulsion (Eck et Gillis, 1997).

II – Résultats du contrôle microbiologique

Le contrôle microbiologique a été effectué sur l'ensemble des matières premières (l'eau de process, cheddar, poudre de lait et beurre) ainsi que sur le produit fini.

II – 1 Matières premières

II – 1 – 1 Eau de process

Les résultats du contrôle microbiologique de l'eau de process sont portés tableau VII.

Tableau VII : résultats du contrôle microbiologique de l'eau de process

Germes recherchés	Résultats	JORA (1998)
Germes totaux à 30°C	Absence	20 germes/ml
Coliformes totaux à 37°C (germes/100ml)	Absence	< 10
Streptocoques fécaux à 37°C (germes/100ml)	Absence	Absence
Anaérobies sulfito-réducteurs à 37°C (germes/20ml)	Absence	Absence

Les résultats du contrôle microbiologique ont révélé une absence totale des microorganismes recherchés dans l'eau ce qui est conforme aux normes du JORA (1998).

De point de vue microbiologique, selon Petransxiene et Lapied (1981), une eau est dite potable quand elle n'est pas susceptible de porter atteinte à la santé de tous ceux qui la consomment, Cheftel et *al.* (1977) rajoutent qu'elle doit être exempte d'organismes parasites ou pathogènes et ne doit pas contenir les germes indicateurs de contamination fécale.

L'absence des différents germes recherchés dans l'eau montre la bonne qualité hygiénique et microbiologique obtenue par l'efficacité de son traitement, mais également à la fréquence et au bon déroulement du nettoyage des cuves de stockage ainsi qu'au soin particulier apporté à la propreté des canalisations et des joints (Martini, 2006).

II – 1 – 2 Poudre de lait, beurre et cheddar

Les résultats du contrôle microbiologiques de ces matières premières sont portés tableau VIII.

Tableau VIII : résultats du contrôle microbiologique des matières premières

Germes recherchés (germes/ml)	Résultats	JORA (1998)
Germes totaux à 30°C	Absence	10 ²
Coliformes totaux à 37°C	Absence	< 10
Coliformes fécaux à 44°C	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i> à 37°C	Absence	Absence
Anaérobies sulfito-réducteurs à 37°C	Absence	Absence
Levures et moisissures à 22°C	Absence	< 10

Le contrôle microbiologique de la poudre de lait, du beurre et du cheddar a révélé une absence totale de tous les microorganismes recherchés, d'où la conformité aux normes du JORA (1998).

Cette absence s'explique par les bonnes conditions de stockage qui assurent une bonne conservation des matières premières (Mautrait et Raoult, 2009).

II – 2 Produit fini

Les résultats des analyses microbiologiques du produit fini sont portés tableau IX.

Tableau IX : résultats du contrôle microbiologique du produit fini

Germes recherchés (germes/ml)	Résultats	JORA (1998)
Germes totaux à 30°C	Absence	10 ²
Coliformes totaux à 37°C	Absence	< 10
Coliformes fécaux à 44°C	Absence	Absence
<i>Staphylococcus aureus</i> à 37°C	Absence	Absence
Anaérobies sulfito-réducteurs à 37°C	Absence	Absence
Levures et moisissures à 22°C	Absence	< 10

L'analyse microbiologique du produit fini a confirmé les résultats du contrôle microbiologique des matières premières, vu que le produit fini ne contient aucun germe recherché d'où sa conformité aux normes établies par le JORA (1998).

Cette absence est peut être due au respect d'hygiène par le personnel, comme elle peut être due à l'effet des sels de fonte qui selon Loessner et *al.* (1997), seraient reconnus comme de bons inhibiteurs de la germination des spores et de la multiplication de plusieurs espèces, elle peut être due aussi au pH du produit fini, ou de nombreuses études ont permis de montrer la diminution de la croissance de la plupart des bactéries entre pH = 6 et pH = 5 (Collectif, 1995).

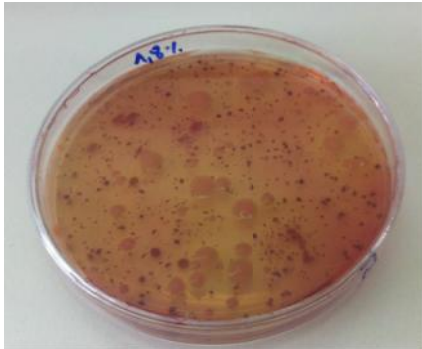
La stérilisation qui est une étape de fabrication du fromage fondu, peut contribuer aussi à cette absence de micro-organismes, puisque son concept a pour but d'éliminer les micro-organismes les plus résistants (Eck et Gillis, 1997).

Enfin, les bonnes pratiques employées pendant tout au long de la chaîne de fabrication visent à garantir la qualité et la durée de commercialisation du produit fini (Rolle, 2007).

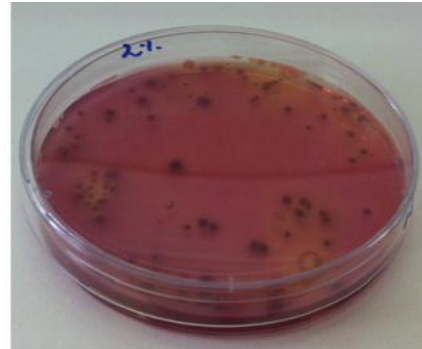
III – Résultats de l'effet bactériostatique des sels de fonte :

Pour l'évaluation de l'effet bactériostatique des sels de fonte, nous avons choisi une méthode qui consiste à observer le comportement d'*Escherichia coli* sur le milieu sélectif VRBL contenant la même combinaison des sels de fonte à différentes concentrations, variant selon

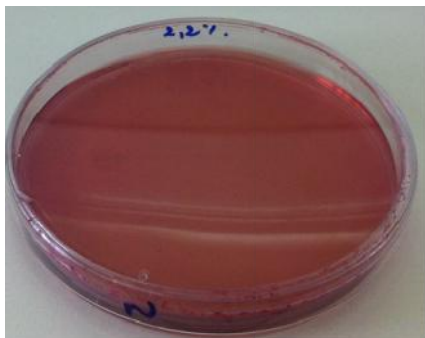
une progression géométrique de base de 0,2, allant de 1,8 % à 3,4 %. Les résultats obtenus sont portés figure 2 (a, b, c, d, e, f, g, h, i).



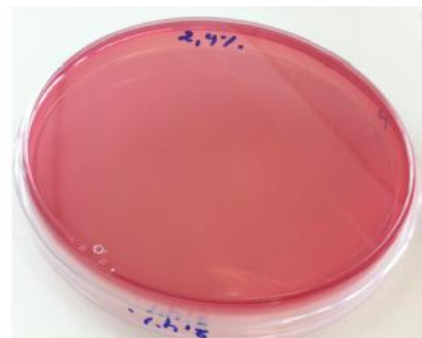
a - concentration de 1,8 %



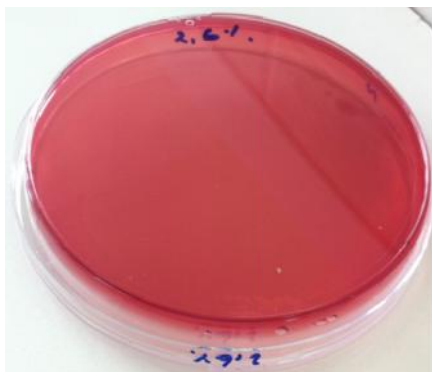
b - concentration de 2 %



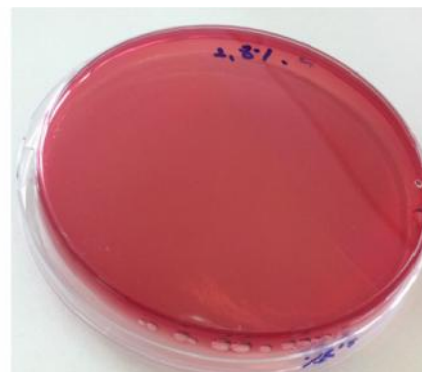
c - concentration de 2,2 %



d - concentration de 2,4 %



e - concentration de 2,6 %



f - concentration de 2,8 %

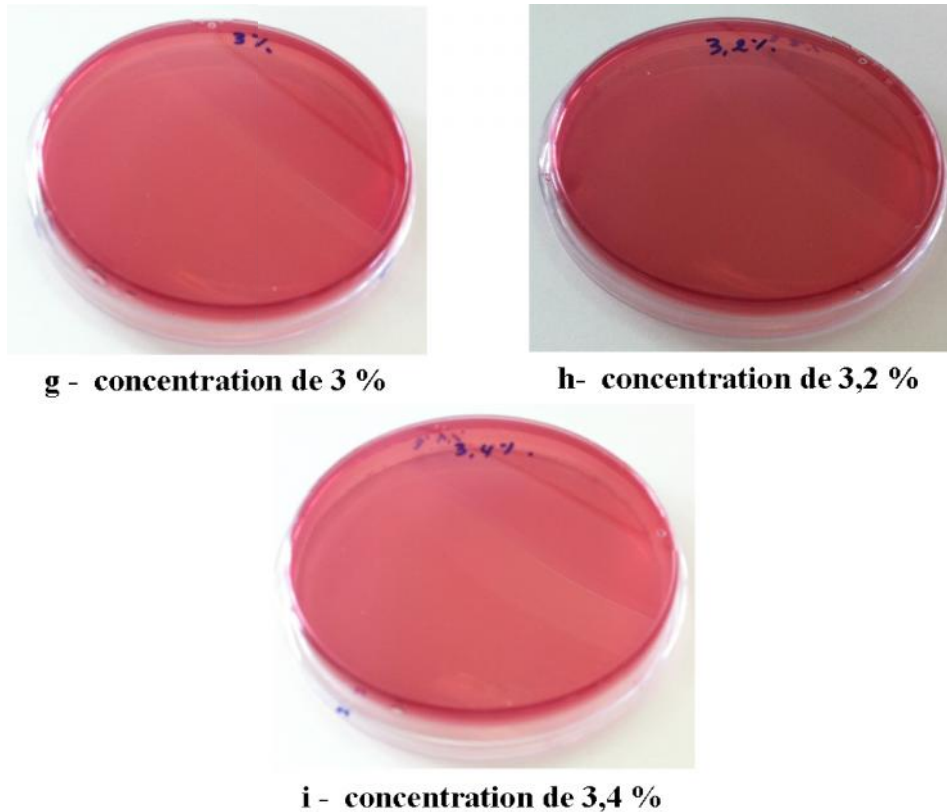


Figure 2 : résultats de l'effet bactériostatique des sels de fonte vis-à-vis d'*Escherichia coli*

La figure 3 (a, b) illustre les résultats des témoins de gélose VRBL et de la croissance d'*Escherichia coli* sans l'ajout des sels de fonte.

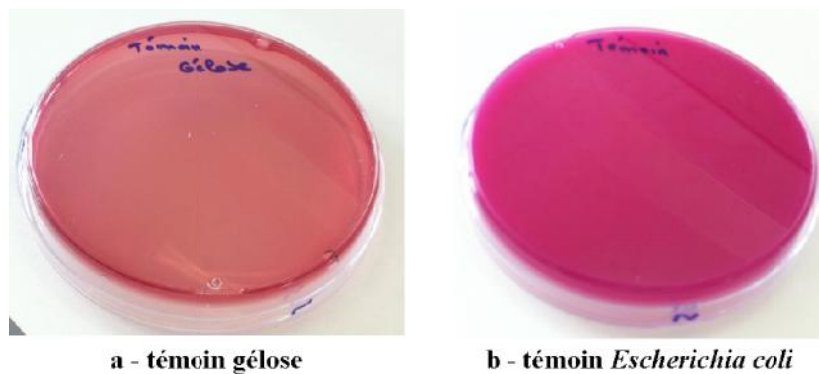


Figure 3 : résultats des témoins de l'étude de l'effet bactériostatique

Une croissance d'*Escherichia coli* a été observée dans la boîte de concentration 1,8% après une incubation de 48 heures à 37°C. Cependant celle-ci s'est montrée moins importante dans la concentration 2%, et complètement nulle à partir de 2,2%.

La concentration en sels de fonte de 2,2% est considérée comme la concentration minimale inhibitrice (CMI), puisqu'il y a eu une inhibition totale de croissance dès cette dernière, Sherwood et *al.* (2010) rapportent que la CMI est la concentration la plus faible capable d'empêcher le développement d'un micro-organisme.

Les résultats obtenus sont jugés satisfaisants puisque selon Eck et Gillis (1997) le taux maximal de sels de fonte autorisé varie jusqu'à 3 % dans la formule.

Les sels utilisés pour cette étude sont des polyphosphates et des orthophosphates, ainsi que des citrates. Ces derniers déstabilisent l'enveloppe des micro-organismes par la liaison des anions avec les ions Ca^+ qui stabilisent leurs parois et membranes cellulaires (Boutonnier, 2002).

Loessner et *al.* (1997), Eck et Gillis (1997) ainsi que Vierling (2008_b) ont déjà rapporté que les sels de fonte avaient un effet bactériostatique, et par cette étude nous concluons que la combinaison de C spécial, PZ6 et S9 a un effet bactériostatique vis-à-vis d'*Escherichia coli*.

Conclusion

Dans le cadre de la détermination de l'effet bactériostatique des sels de fonte ajoutés à la préparation du fromage fondu Okid's, nous avons mené une expérience qui consistait à étudier le comportement de la bactérie *Escherichia coli* dans son milieu sélectif contenant différentes concentrations d'une même combinaison de sels, et de déterminer la concentration minimale inhibitrice. Notre étude avait aussi pour objectif de contrôler la qualité du fromage fondu Okid's, en effectuant un contrôle physicochimique et microbiologique des matières premières et du produit fini.

Les résultats obtenus ont montré que :

- Le contrôle physicochimique de l'eau à savoir, la dureté, le pH, la conductivité et la teneur en ions chlorures a révélé une conformité aux normes ;
- Le contrôle physicochimique des matières premières laitières et du produit fini à savoir la teneur en extrait sec et la teneur en matière grasse a donné des résultats conformes à la norme ;
- Le contrôle microbiologique de l'ensemble des matières premières et du produit fini a révélé une absence totale des germes recherchés, d'où la conformité à la norme ;
- L'étude de l'effet bactériostatique des sels de fonte a permis de déterminer la concentration minimale inhibitrice de la souche *Escherichia coli* qui a donné un résultat de 2,2%.

Ces résultats nous permettent de conclure, que le fromage fondu Okid's est un produit de bonne qualité hygiénique et marchande, cette qualité est obtenue par la rigueur et le respect des bonnes pratiques par le personnel, et que la combinaison des sels de fonte utilisée par l'entreprise Goumidi dans ce fromage fondu a un effet bactériostatique vis-à-vis d'*Escherichia coli*.

En perspective, il serait intéressant de compléter cette étude par l'évaluation de l'effet bactériostatique des sels de fonte sur les différents micro-organismes susceptibles de contaminer les fromages fondus. Il serait aussi intéressant de confirmer cet effet en utilisant les concentrations minimales inhibitrices obtenues dans la formulation d'un fromage fondu contaminé.

AFNOR (1999)

« Lait et produits laitiers : produits laitiers »

5^{ème} édition AFNOR, volume 2.

Bauer W. J. , Badoud R. , Loliger J. , Etournaud A. (2010)

« Science et technologie des aliments : principes de chimie des constituants et de technologie des procédés »

Edition presse polytechnique, 720 p.

Bellin P. G. (2009)

« L’habitat co-économique »

Edition Eyrolles, 220 p.

Berger W. , Klostermeyer H. , Merkenich K. , Uhlmann G. (1993)

« Fabrication du fromage fondu »

Edition BK Ladenburg Dmbh, 233 p.

Berthelot J. (2001)

« L’agriculture, talon d’Achille de la mondialisation : clé pour un accord agricole solidaire à l’OMC »

Edition L’Harmattan, 509 p.

Boeglin J.C. (2000)

« Contrôle des eaux douces et consommation humaine »

Techniques de l’ingénieur, p 12.

Bonnefoy C. , Guillet F. , Leyral G. , Verne-Bourdais E. (2002)

« Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires »

Wolters Kluwers, 245 p.

Bourgeois C. M. , Messela J. F. , Zucca J. (1996)

« Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité de la qualité des aliments »

Techniques et documentation, 274 – 275 p.

Boutonnier J. L. (2000)

« Fabrication du fromage fondu »
Techniques de l'ingénieur, pp 2 – 14.

Boutonnier J. L. (2001)

« Fabrication du fromage fondu »
Techniques de l'ingénieur, pp 2 – 14.

Boutonnier J. L. (2002)

« Fabrication du fromage fondu »
Techniques de l'ingénieur, traité agroalimentaire F6 310 – 1, 14 p.

Branger A. (2009)

« Alimentation, processus technologiques et contrôles : applications pratiques et dirigées, guide de l'enseignant »
Editions Educagri, 101 p.

Branger A. , Richer M. M. , Roustel S. (2007)

« Alimentation et processus technologiques »
Editions Educagri, 293 p.

Caronne M. (2005)

« Le guide de l'infirmière libérale : de l'installation à la pratique »
Edition Lamane, 46 p.

Chambre M. et Daurelle J. (1997)

« Le fromage fondu » in Eck A. et Gillis J. C. « Le fromage »
Edition Lavoisier, pp 691 – 708.

Chaumetton H. (2008)

« L'encyclopédie pratique de l'aquarium »
Editions Artemis, 287p.

Cheftel H. , Cheftel J. C. , Besancon P. (1977)

« Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments »

Techniques et Documentation, 420 p.

Cheymol N. et Hoff M. (1999)

« La microchimie : Techniques et expériences »

Edition de Boeck, 240 p.

Collectif (1999)

« Nutrition des ruminants domestiques ; ingestion et digestion »

Editions INRA, 920 p.

Collectif international du Québec Amérique (2008)

« La mini-encyclopédie des aliments »

Québec Amérique, 616 p.

Combette P. et Ernoult I (2005)

« Physique des polymères : propriétés mécaniques »

Edition : Hermann, p 447.

Delpal J. L. (2003)

« Fromages et vins : le livre des accords »

Editions Artemis, 159 p.

Doresbeke J. J. , Saporta G. , Fine J. (1997)

« Plans d'expérience : application en entreprise »

Edition Technip, 609 p.

Eck A (1989)

« Le fromage »

2^{ème} édition Techniques et documentation Lavoisier, 539 p.

Eck A. et Gillis J. C. (1997)

« Le fromage : de la science à l'assurance qualité »

3^{ème} édition Techniques et documentation Lavoisier, pp 699 – 720.

Eck A. et Gillis J. C. (2006)

« Le fromage »

Techniques et documentation Lavoisier, pp 691 – 707.

Eddabra R. (2011)

« Evaluation de la contamination bactériologique des eaux usées des stations d'épuration du grand Agadir : isolement, caractérisation moléculaire et antibio-résistance des espèces du genre *Vibrio* »

Thèse doctorale « en cotutelle de l'université Ibn Zohr d'Agadir et l'université de Strasbourg.

Etienne K. M. (1992)

« Dénaturation thermique des protéines du lactosérum en solution modèle et dans un aliment complexe, le fromage fondu à tartiner : effet du NaCl, du lactose et du glycérol »

Thèse de doctorat, université Laval, Québec.

FAO (1995)

« Lait et produits laitiers dans la nutrition humaine »

Food and Agriculture Organisation, 271 p.

FAO (2001)

« Lait et produits laitiers dans la nutrition humaine »

Food and Agriculture Organisation, 146 p.

Fredot E. (2006)

« Connaissance des aliments. Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique »

Edition Techniques et documentation Lavoisier, pp 59 – 87.

Gaucheron F. (2003)

« Minéraux et produits laitiers »

Techniques et documentation, 922 p.

Gavrilovic. M., Maginot. M. J. et Wallach J. (1996)

« Manipulations d'analyse biochimique »

Edition Doin, 453 p.

Gliguem H. , Ghorbel D. , Gabrielle-Madelmout C. ,Goldshmidt B. , Lesieur S. , Attia H., Ollivan M. , Lesieur P. (2009)

« Water behaviour in processed cheese spreads DSC and ESEM study »

Journal of Thermal and Analysis and colorimetry, volume 98, pp 73 – 82.

Goudet P. et Kowalski A. (2011)

« Physique et chimie, 1^{ère} et terminale Bac Pro »

Editions Educagri, 288 p.

Groupe d'étude des marchés de restauration collective et nutrition (2009)

« Spécification technique n° B3-07-09 applicable aux laits et aux produits laitiers »

Direction des affaires juridiques – Ministère français de l'économie et des finances.

Guinée T. P. , Caric M. , Kalab M. (2004)

« Pasteurized processed cheese and substitute / imitation cheese products » in Fox P. F. , Mesweeney P. L. H. , Cogan T. M., Guinée T. P. « Cheese chemistry, physics and microbiology »

Major Cheese Groups Volume 2, 3^{ème} édition Elsevier, pp 349 – 394.

Gupta S. X. , Karahadian C. , Lindsay R. C. (1984)

« Effect of emulsifier salts on textural and flavour proprieties of processed cheese »

Journal Dairy Science Volume 67, pp 764 – 778.

Henze M. (2008)

« Traitement biologique des eaux usées ; principes, modélisation et conception »

IWA Publishing, 511 p.

Horne P. S. (1998)

« Casein interactions, casting light on the black boxes, the structure in dairy products »
International Dairy Journal Vol 8, N°3, pp 171 – 177.

Institut de l'élevage (2009)

« Traité des vaches laitières : matériel, installation, entretien »
Editions France Agricole, 555 p.

Lambert J. C. (1988)

« La transformation laitière au niveau villageois »
Food and agriculture organisation, 73 p.

Lékué S. L. (2010)

« De paris à Tokyo sur toutes les lèvres : 40 recettes pour cuisiner avec le coffret vapeur des plats sains et faciles au quotidien »
Edition Salsa books, 128 p.

Loesner M. J. , Maier S. K. , Schiwiek P. , Scherer S. (1997)

« Long-chain polyphosphates inhibits growth of *Clostridium tyrobutyricum* in processed cheese spreads »
Journal of Food Protection, volume 60, N°5, pp 493 – 498.

Luquet F. M. (1989)

« Lait et produits laitiers : vaches, brebis, chèvre »
Edition Techniques et documentation Lavoisier (tome 2), pp 252 – 266.

Luquet F. M. (1990)

« Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre Tome 2 : les produits laitiers, transformation et technologies »
Edition Techniques et documentation, 658 p.

Mahaut M. , Jeanlet R. , Brulé G. (2000)

« Initiation à la technologie fromagère »
Techniques et documentation, 194 p.

Marshall R. J. (1990)

« Composition, structure, rheological properties and sensory texture of processed cheese »

Journal of Science and Food Agriculture, volume 50, pp 237 – 252.

Martini M. C. (2006)

« Excipients » Encyclopédie Médicale Chirurgicale (Elsevier Masson) Cosmétologie et Dermatologie esthétique 50 - 120 - B – 10

Mauttrait C. et Raoult R. (2009)

« Mode d'emploi / officine, sous-traitance et BP »

Wolters Kluwer, 468 p.

Miron M. D. , Nistor I. D. , Dospinescu A. M. , Gradinaru A. (2006)

« Etude de quelques facteurs d'influence pour le processus de fondaison dans les fromages fondus »

Scientific study and research volume VII.

Patart J. P. (1987)

« Les fromages fondus » in Eck A. « le fromage »

Edition Lavoisier, pp 385 – 398.

Petransxiene D. et Lapied L. (1981)

« Qualité bactériologique du lait et des produits laitiers : analyses et tests »

2^{ème} édition Lavoisier, 219 p.

Rodier J. (1996)

« Analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer »

8^{ème} édition Dunod, 1383 p.

Rodier J. , Legube B. , Merlet N. (2009)

« L'analyse de l'eau : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer »

9^{ème} édition Dunod, 1600 p.

Rolle R. (2007)

« Bonnes pratiques pour la production à petite échelle d'eau de coco en bouteille »
Food and Agriculture Organisation, 48 p.

Roudaut H. et Lefrancq E. (2005)

« Alimentation théorique »
Editions Wolters Kluwers, 303 p.

Shaffer B. , Szakaly S. , Lőrinczy D. (2001)

« Processed cheese made with and without peptization : submicroscopic structure and thermal dynamic characteristics »
Journal of Thermal Analysis and Calorimetry Volume 64, pp 671 – 679.

Sherwood L. N. , Willey J. N. , Woolverton C. J. (2010)

« Microbiologie »
3^{ème} édition Boeck, 1216 p.

Vierling E. (2008_a)

« Aliments et boissons : filières et produits »
Edition Wolters Kluwers, 277 p.

Vierling E. (2008_b)

« Aliments et boissons : technologies et aspects réglementaires »
Wolters Kluwers, 203 p.

Vittone R. (2010)

« Bâtir, manuel de la construction »
Presse polytechnique, 1015 p.

Wybauw J. P. et Leduc T. (2005)

« Petits chocolats grande expérience »
Edition : Lannoo Uitgeverij, 228 p.

Annexe I

Matériels non biologique :

a - Appareillage :

- Agitateur
- Balance de précision
- Bec bunsen
- Conductimètre
- Etuve microbiologique
- pH mètre

b - Verrerie :

- Ballon 500 ml
- Bécher
- Boites pétri
- Burette 50 ml
- Eprouvette 100 ml
- Flacons stériles 100 ml
- Pipette pasteur
- Tubes à essai

Annexe II

Les caractéristiques d'*Escherichia coli*

Escherichia coli est un bacille gram négatif radiorésistant de la famille des *Enterobacteriaceae*. Sa taille varie en fonction des conditions de croissance (entre 0,5 à 3 μm), pesant de 0,5 à 5 picogrammes, les bactéries en croissance rapide étant plus allongées et donc plus grandes que les bactéries quiescentes.

C'est un hôte commun du microbiote intestinal (anciennement appelé microflore commensale intestinale) de l'Homme et des animaux homéothermes. Son établissement dans le tractus digestif s'effectue durant les premières heures ou journées qui suivent l'accouchement. *E. coli* constitue alors tout au long de la vie de l'hôte l'espèce bactérienne dominante de la flore aérobie facultative intestinale.

ANNEXE III

Fiche technique des sels de fonte

1 - JOHA C spécial

JOHA[®] C special

Produit n°: 7 7003



Sel de fonte pour la fabrication de fromage fondu et préparations fromagères fondues

Composition	E 452 polyphosphates de sodium, E 339 orthophosphates de sodium	
Spécifications	Description:	poudre blanche
	P2O5 (%):	65,7 +/- 1,0
	pH (solution à 1%):	7,3 +/- 0,3
	Arsenic:	max. 1 ppm
	Plomb:	max. 1 ppm
	Mercur:	max. 1 ppm
	Cadmium:	max. 1 ppm
	Produit répondant aux normes en vigueur en matière de contaminants des additifs alimentaires définies par la FAO/OMS et le JECFA, les directives CE et le FCC..	
Propriétés fonctionnelles	Caractère crémant:	o
	Échange d'ion:	xxx
	Déplacement pH:	-0,1 / -0,2
	(o = nul; x = faible; xx = moyen; xxx = fort)	
Données nutritionnelles	Sodium (%):	24 env.
	Potassium (%):	-
	Phosphore (%):	29 env.
	Energie (Kcal /100 g):	0
	Extrait sec (%):	min. 99
Certificats	ISO 9001, ISO 14001, casher, halal	
Déclaration OGM	Non soumis à obligation d'étiquetage par le règlement CE 1829/2003 et 1830/2003	
Déclaration allergènes	Exempt d'allergènes, en accord avec les directives CE 2000/13 et modifications 2003/89EC, 2006/142EC et 2007/68EC.	
Applications	JOHA C spécial est utilisé pour la fabrication de fromage fondu, spécialités et préparations fromagères fondues tartinables ou en blocs. Dosage calculé sur la matière première mise en œuvre: 3.0 à 3.5%. En cas de correction nécessaire de pH, il est recommandé d'utiliser JOHA T neu entre 0,1 et 0,5%.	
Données de sécurité	Données disponibles dans la "fiche de données de sécurité" du produit.	
Stockage	Local sec et tempéré. Protégé de l'humidité.	
Durée de conservation	36 mois minimum en conditions de stockage appropriées.	
Conditionnement	Sacs papier doublés polyéthylène de 25 kg net. Palette EUR houssee de 1000 kg.	

2 - JOHA S9

JOHA[®] S 9

Produit n°: 7 7007

97
Business Unit Food

Sel de fonte pour la fabrication de fromage fondu, et préparations fromagères fondues

Composition	E 452 polyphosphates de sodium, E 339 orthophosphates de sodium	
Spécifications	Description:	poudre blanche
	P2O5 (%):	59,7 +/- 1,0
	pH (solution à 1%):	9.0 +/- 0,3
	Arsenic:	max. 1 ppm
	Plomb:	max. 1 ppm
	Mercure:	max. 1 ppm
	Cadmium:	max. 1 ppm
	Produit répondant aux normes en vigueur en matière de contaminants des additifs alimentaires définies par la FAO/OMS et le JECFA, les directives CE et le FCC.	
Propriétés fonctionnelles	Caractère crémant:	x
	Échange d'ion:	xx
	Déplacement pH:	+0,1 / +0,2
	(o = nul; x = faible; xx = moyen; xxx = fort)	
Données nutritionnelles	Sodium (%):	30 env.
	Potassium (%):	-
	Phosphore (%):	26 env.
	Energie (Kcal /100 g):	0
	Extrait sec (%):	min. 99
Certificats	ISO 9001, ISO 14001, casher, halal	
Déclaration OGM	Non soumis à obligation d'étiquetage par le règlement CE 1829/2003 et 1830/2003.	
Déclaration allergènes	Exempt d'allergènes, en accord avec les directives CE 2000/13 et modifications 2003/89EC, 2006/142EC et 2007/68EC.	
Applications	JOHA S 9 est utilisé pour la fabrication de fromage fondu tartinable, spécialités et préparations fromagères fondues. Dosage calculé sur la matière première mise en œuvre: 2,8 à 3,2%.	
Données de sécurité	Données disponibles dans la fiche de données de sécurité du produit.	
Stockage	Local sec et tempéré. Protégé de l'humidité.	
Durée de conservation	36 mois minimum en conditions de stockage appropriées.	
Conditionnement	Sacs papier doublés polyéthylène de 25 kg net. Palette EUR houssée de 1000 kg.	

3 - JOHA PZ6

JOHA[®] PZ 6

Produit n°: 7 7459



Business Unit Food

Sel de fonte pour la fabrication de fromage fondu, spécialités et préparations fromagères fondues

Composition	E 452 polyphosphates de sodium, E 450 diphosphates de sodium, E 331 citrate de sodium, E 339 orthophosphates de sodium	
Spécifications	Description:	Poudre blanche
	P ₂ O ₅ (%):	50,5 ± 1,0
	pH (solution à 1%):	7,6 ± 0,3
	métaux lourds:	max. 10 ppm
	arsenic:	max. 2 ppm
	plomb:	max. 2 ppm
	mercure:	max. 1 ppm
	cadmium:	max. 1 ppm
	Produit répondant aux normes en vigueur en matière de contaminants des additifs alimentaires définies par la FAO/OMS et le JECFA, les directives CE et le FCC.	
Propriétés fonctionnelles	caractère crémant:	xx
	échange d'ion:	xx
	déplacement pH:	+ 0,1 / + 0,2
	(o = nul; x = faible; xx = moyen; xxx = fort)	
Données nutritionnelles	Sodium (%):	26 approx.
	Potassium (%):	-
	Phosphore (%):	22 approx.
	Energie (Kcal /100 g):	40 approx.
	Extrait sec (%):	99 min.
Certificats	ISO 9001, ISO 14001, halal	
Déclaration OGM	Non soumis à obligation d'étiquetage par le règlement CE 1829/2003 et 1830/2003.	
Déclaration allergènes	Exempt d'allergènes, en accord avec les directives CE 2000/13 et modifications 2003/89EC, 2006/142EC et 2007/68EC.	
Applications	JOHA PZ 6 est utilisé pour la fabrication de fromage fondu tartinable, spécialités et préparations fromagères fondues. Dosage calculé sur la matière première mise en œuvre : 3,5 à 4,0%.	
Données de sécurité	Données disponibles dans la "fiche de données de sécurité" du produit.	
Stockage	Local sec et tempéré. Protégé de l'humidité.	
Durée de conservation	18 mois minimum en conditions de stockage appropriées	
Conditionnement	Sacs papier doublés polyéthylène de 25 kg net. Palette EUR houssée de 1000 kg.	