

Liste des abréviations

AOC : Appellation d'Origine Contrôlée

BCPL : Bouillon Lactosee au Pourpre de Bromocresol

BGN :Bactérie a Gram Negatif

Ca : Calcium

CaCl₂ : Chlorure de Calcium

CSR : Clostridium Sulfito-Réducteur

CT : Coliforme Totaux

CF : Coliformes Fécaux

D/C : Double Concentration

EST : Extrait sec

Etc : Exeterat

EDTA :l'acide Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique

°F : degré Français

FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale

GC: GiolittiContonii

G/ S : Gras / Sec

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

Kcal : Kilo calorie

MG : Matière Grasse

Min : Minimum

Max : Maximum

NaCl : Chlorure de Sodium

NPP : Nombre le Plus Probable

O.G.A : (Oxytétracycline-Glucose-Yeast Extract Agar)

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OPT: Optimal

PCA: Plate Count Agar

pH : potentiel d'Hydrogène

SM : Solution Mère

S/C : Simple Concentration

TSE: Tryptone Sel Eau

TA : Titre Alcalimétrique

TAC : Titre Alcalimétrique Complet

TH : Titre Hydrométrique

TTC :TriphenylTetrazoliumChloride : nom anglais du Chlorure de TriphenylTetrazolium

UFC : Unité Formant Colonie

Ug : Micro gramme

VF : Viande Foie

VBL :bouillonLactosé Bilié au Vert Brillant

VRBL : Gélose Bilié LactoséBilié au cristal Violet et Rouge neutre

Liste des figures :

Figure N°1 : la diversité des fabrications fromagères	03
Figure N°2 : Composition du lait de vache	16
Figure N°3: recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale dans l'eau.....	26
Figure N°4 : recherche et dénombrement des coliformes totaux	29
Figure N°5 : recherche et dénombrement des coliformes fécaux	30
Figure N°6: Recherche et dénombrement des coliformes par filtration sur membrane.....	31
Figure N°7 : Recherche et dénombrement des Streptocoque fécaux.....	33
Figure N°8 : recherche et dénombrement de CSR dans l'eau.....	34
Figure N°9: préparation des délutions décimales de produit solide ou semi solide.....	36
Figure N°10: préparation des dilutions décimales de produit liquide.....	36
Figure N°11: Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale.....	38
Figure N°12: recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	39
Figure N°13: Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	41
Figure N°14: Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs	43
Figure N°15 : recherche et dénombrement des levures et moisissures	44

Liste des tableaux

Tableau I : Classification des fromages selon la richesse en matière grasse.....	04
Tableau II : Les critères physico-chimiques des fromages fondu	11
Tableau III: Les critères microbiologiques règlementaires du fromage fondu	11
Tableau II : calendrier des analyses physicochimiques et microbiologiques.....	21
Tableau III : Les différents prélèvements effectués au niveau de la chaîne de fabrication....	22
Tableau IV: milieux de cultures, température et temps d'incubation des germes recherchés dans les échantillons analysés.....	24
Tableau VII : Illustration de test de présomption.....	27
Tableau VIII : Illustration de test de confirmation.....	29
Tableau VII: Représentation des analyses physicochimiques de la matière première et produit fini.....	45
Tableau X : Résultat des analyses microbiologiques de l'eau de procès.....	53
Tableau XI: Résultat des analyses microbiologiques de la poudre de lait	54
Tableau XII : Résultat des analyses microbiologiques de beurre	56
Tableau XIII : Résultat des analyses microbiologiques de cheddar	56
Tableau XIV: Résultat des analyses microbiologiques de produit fini (fromage fondu).....	57
Tableau XV: Résultat des analyses physico-chimiques de l'eau de procès	58
Tableau XVI : Résultat des analyses physico-chimiques de la poudre de lait.....	59
Tableau XVII : Résultat des analyses physico-chimiques de beurre	59
Tableau XVIII : Résultat des analyses physico-chimiques de cheddar.....	60
Tableau XIX: Résultats des analyses physicochimiques du produit fini (fromage fondu).....	60

Résumé

Le fromage est un produit vulnérable et facilement altérable si les conditions d'hygiène de fabrication ne sont pas respectées. Cette altération peut résulter à tout moment de fabrication, la qualité des fromages dépend en grande partie des microorganismes capables de s'installer et de se développer. Ces aspects sont difficilement maîtrisables et il est souvent nécessaire de rechercher les germes présents, l'isolement est l'étape la plus délicate, car on peut obtenir une souche microbienne sans que celle-ci soit pour autant responsable du problème. Les principaux groupes microbiens responsables de défauts sont par exemple les coliformes, les levures, les moisissures...Mais elle dépend aussi des méthodes de paramètres physicochimiques par exemple : l'acidité, le pH, la matière grasse...

Au cours de ce travail, nous nous sommes intéressés à l'étude de la qualité physicochimique et microbiologique d'un fromage fondu, et de suivre le déroulement du processus de sa fabrication au sein de groupe industriel de GOUMIDI. Les analyses physicochimiques et microbiologiques sont réalisées pour 3 dates de fabrication, et les prélèvements sont réalisés sur les matières premières (eau de processus, la poudre de lait, le cheddar, le beurre, et aussi le produit fini (fromage fondu)). Des analyses microbiologiques ont été réalisées pour tous les prélèvements à savoir culture, enrichissement, et identification biochimique.

Les résultats des analyses physicochimiques tels que : la matière grasse, extrait sec, le pH, le titre hydrométrique. De la matière première jusqu'au stade produit fini sont conformes aux normes.

Le contrôle microbiologique recherche les germes d'ordre hygiéniques comme les coliformes, les germes totaux, les clostridiés, *Staphylococcus aureus*...etc., et les résultats montrent une qualité microbiologique acceptable du fromage fondu.

D'un point de vue prospectif il est important de contrôler la qualité de ces produits par les pouvoirs publics en appliquant les textes réglementaires en matière de production des produits laitiers car c'est une nécessité fondamentale.

Mots clés : fromage fondu, qualité physicochimique, qualité microbiologique, fromagerie, matière première, produit fini.

Summary

Cheese is a vulnerable and easily tamperproof product if the manufacturing hygiene conditions are not respected. This alteration can result at any time of manufacture, the quality of the cheeses depend the most on microorganisms which is able to settle and develop. These aspects are difficult to control and it is often necessary to look for the germs present. The isolation is the most delicate step because a microbial strain can be obtained without this being responsible for the problem. The main microbial groups responsible of defects are for example coliforms, yeasts, molds ... But it also depends on physicochemical parameters such as acidity, pH, fat. In this work, we focused on studying the physicochemical and microbiological quality of a processed cheese called, and to following the process of its manufacturing process at the GOUMIDI INDUSTRIAL GROUP. The physicochemical and microbiological analyzes were carried out for 3 production dates and samples were taken from raw materials (process water, milk powder, cheddar, butter, and also the finished product (processed cheese)). The microbiological analyzes were carried out for all samples, namely culture, enrichment, and biochemical identification.

The results of physicochemical analyzes such as: fat, dry matter, pH, hydrometric titre ... From the raw material to the finished product stage comply with the standards. The microbiological control seeks hygienic seeds such as coliforms, total germs, clostridia, *Staphylococcus aureus*, etc., and the results show an acceptable microbiological quality of the melted processed cheese.

From a prospective point of view, it is important to control the quality of these products by the public authorities by applying the regulatory texts on the production of dairy products, because this is a fundamental necessity.

Key words: processed cheese, physicochemical quality, microbiological quality, GOUMIDI INDUS

ملخص

الجبن هو مادة سريعة التلف و قابلة للتغيير بسهولة إذا لم يتم احترام شروط نظافة التصنيع. هذا التغيير يمكن أن يحدث في أي مرحلة من مراحل التصنيع، ونوعية الجبنو جودته تعتمد أكثر على الكائنات الحية الدقيقة التي هي قادرة على. الاستقرار و التكاثر هذه المظاهر يصعب السيطرة عليها وغالبا ما يكون من الضروري البحث عن الجراثيم الموجودةو القيام بعزلها هذه هي الخطوة الأكثر حساسية لأنه يمكن الحصول على سلالة ميكروبات دون أن تكون مسؤولة عن هذه المشكلة. المجموعات الميكروبية الرئيسية المسؤولة عن العيوب هي على سبيل المثال القولون، الخمائر، قوالب ... ولكنه يعتمد أيضا على المعلمات الفيزيائية مثل الحموضة، ودرجة الحموضة والدهون...

في هذا العمل، ركزنا على دراسة الجودة الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية للجبن ، ومتابعة عملية التصنيع في مجموعة غوميدي الصناعية. التحاليل الفيزيائية والكيميائية الحيوية أجريت لمدة 3 تواريخ إنتاج وتم أخذ عينات من المواد الخام (معالجة المياه، مسحوق الحليب، شيدر، زبدة، وأيضا من المنتج النهائي الجبن. وأجريت التحاليل الميكروبيولوجية لجميع العينات، بما فيها التكاثر والتعريف الكيميائي الحيوي.

نتائج التحاليل الفيزيوكيميائية مثل: الدهون، المادة الجافة، درجة الحموضة، عيار الهيدرومترية ... من المواد الخام إلى مرحلة المنتج النهائي تتوافق مع المعايير. وتوسعى المراقبة الميكروبيولوجية إلى البحث على المجموعة الميكروبيولوجية الخاصة بالنظافة الصحية مثل القولون، والجراثيم الكلية ان النتائج تبين وجود جودة ميكروبيولوجية مقبولة للجبن.

من وجهة نظر محتملة، من المهم مراقبة جودة هذه المنتجات من قبل السلطات العامة من خلال تطبيق النصوص التنظيمية على إنتاج منتجات الألبان، لأن هذا من الضروريات الأساسية.

كلمات البحث: الجبن ، ، الجودة الفيزيوكيميائية، الجودة الميكروبيولوجية،.

Table de matière

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction	

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. LE FROMAGE	01
I.1. Généralités sur les fromages	01
I.2. Classification des fromages	01
I.2.1 Selon la technologie de fabrication	01
I.2.2. Selon la richesse en matière grasse	03
I.2.3. Selon le type de lait	04
I.3. La flore d'intérêt technologique	04
I.3.1. Les bactéries lactiques	04
I.4. Les différents types des ferments	05
I.5 .Les principaux genres des ferments lactiques	05
I.5.1. Streptocoques	05
I.5.2. Lactobacillus	06
I.5.3. Leuconostocs	06
I.6. Activités métaboliques des ferments lactiques	06
I.7. Bactériespropioniques	07
I.8. Bactéries de surface	07
I.9. Flore fongique	07
I.9.1. Levure	07
I.9.2. Moisissure	08
II. Les fromages fondus	08
II.1 Histoire	08
II.2. Définition du fromage fondu	08
II.3 .Les différents types de fromage fondu	08
II.4. Les critères du fromage fondu	10
II.4.1. Les critères biochimiques du fromage fondu	10
II.4.2. Les critères microbiologiques des fromages fondus	11
II.4.3. Valeur nutritive	11
II.4.4. Valeur énergétique	12
II.5. Processus de fabrication du fromage	12
II.5.1. Sélection et préparation des matières premières	12
II.5.2 .Formulation	12
II.5.3. Mélanges des ingrédients	12
II.5.4. La cuisson et le brassage	12
II.5.5. Le crémage	13
II.5.6 .Le conditionnement	13
II.5.7 .L'emballage	13
II.5.8 .Le refroidissement	14
II.5.9 .Le stockage et conservation du produit	14
II.5.10. L'étiquetage	14
II.6 .Principaux défauts du fromage fondu	14

II.6.1 .Défaut dû à l'influence des sels de fonte.....	14
II.6.2. Défauts dû au crémage	15
II.6.3. Défauts d'altération d'origines bactériennes	15
III. Les matières premières	15
III.1. Lait de vache	15
III.1.1. Définition	15
III.1.2. La Composition moyenne du lait de vache	16
III.1.3. La flore du lait.....	16
III.2. La poudre de lait	17
III.2.1. Définition	17
III.2.2. Classification et composition	17
III.2.3. La composition de la poudre de lait écrémé.....	17
III.3. Matière grasse laitière anhydre « MGLA »	17
III.3.1. Définition	18
III.3.2. Composition de la MGLA.....	18
III.4. L'eau de procès	18
IV. Les bactéries thermorésistantes	18
IV.1. Définition de la flore thermorésistante.....	18
IV.1.1. Les Clostridium	19
IV.1.2. <i>Bacillus cereus</i>	19

Chapitre II : Matériel et méthodes

1. Démarche expérimentale.....	21
1.2. Les analyses effectuées	21
1.3.1. Matériel non biologique.....	21
1.3.2. Matériel biologique	21
1.4. Méthodes	22
1.4.1. Echantillonnage	22
1.4.2. Mode de prélèvement	22
2. Techniques d'analyses microbiologiques	22
2.1. Méthodes d'analyses	23
2.1.1. L'eau de procès	25
2.1.1.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (germes totaux).....	25
2.1.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes.....	26
2.1.1.3. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux	32
2.1.1.4. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteur	33
2.1.2. Préparation des échantillons pour les analyses microbiologiques	34
2.1.2.1. Produit liquide	35
2.1.2.2. Produit solide ou semi	35
2.1.2.3. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (germes totaux).....	37
2.1.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes.....	38
2.1.2.5. Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	40
2.1.2.6. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs	42
2.1.2.7. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	43
3. Technique d'analyses physicochimiques	45
3.1. Méthodes d'analyses	45
3.1.1. Détermination du pH.....	45
3.1.2. Détermination de l'alcalinité de l'eau	46
3.1.3. Détermination de titre hydrométrique de l'eau (TH).....	47
3.1.4. Détermination du chlore libre et du chlore total	48

3.1.5. Détermination de la matière grasse	48
3.1.5.1. Détermination de la matière grasse de la poudre du lait	48
3.1.5.2. Détermination de la matière grasse du fromage fondu	49
3.1.6. Détermination de l'extrait sec total.....	50
3.1.7. Détermination de la teneur en matière grasse dans la matière sèche (G/S)	51

Chapitre III : Résultats et discussion

III. Résultat des analyses microbiologiques et physicochimiques	53
III.1. Résultats microbiologiques	53
III.1.1. Résultats microbiologiques des matières premières.....	53
a/ l'eau de procès.....	53
b/ La poudre de lait.....	54
c/ Le Beurre.....	55
d/ Cheddar	56
III.1.2. Résultats microbiologique du produit fini.....	57
III.2. Résultat des analyses physico-chimiques.....	58
III.2.1. Résultats des analyses physico-chimiques des matières premières	58
a/ L'eau de procès	58
b/ La poudre de lait.....	59
c/ Beurre	59
d/ Cheddar	60
III.2.2. Résultats physico-chimique du produit fini	60
Conclusion	
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

La sécurité et la qualité d'un produit sont les premières exigences que les entreprises algériennes doivent réaliser pour une meilleure satisfaction du consommateur, d'où la nécessité de mettre en place un système qualité perpétuel permettant de suivre la qualité du produit à chaque stade de son parcours et également avant sa commercialisation.

C'est pour cet objet que la société «**GOUMIDI**» (groupe industriel producteur du fromage fondu) s'est engagée de mettre l'accent au service qualité par la réalisation des différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques confirmant la qualité du produit, sans oublier également le contrôle de son unité logistique (emballage) afin d'assurer la commercialisation d'un produit sain, nutritif et de haute qualité.

Le fromage a toujours été une valeur sûre de l'alimentation humaine. C'est le résultat d'une transformation du lait très ancienne puisque des écrits témoignent de sa fabrication quelque trois mille ans avant notre ère. Source précieuse de protéines, le fromage a été l'un des premiers moyens de conservation du lait, matière première rapidement périssable. Plusieurs procédés ont été développés afin de prolonger la durée de vie du fromage. **(Boutonnier, 2000)**

L'Algérie est le premier consommateur du lait et produits dérivés au Maghreb et se place ainsi au troisième rang mondial en matière d'importation du lait et produits laitiers, après l'Italie et le Mexique. Malgré l'immense diversification des types de fromage dans le marché, les fromages en portions ressortent avec une meilleure prédilection du consommateur algérien au dépend des autres types de fromage qui sont considérés comme des produits de luxe. **(CHEMACHE, 2011)**

Dans le cadre de poursuivre ma formation universitaire, j'ai eu la chance d'effectuer mon stage de fin d'étude au sein de la société « **GOUMIDI** », qui s'est accentuée particulièrement sur le contrôle de la qualité du fromage fondu en terme des paramètres physico-chimiques et microbiologiques.

L'objectif principal de notre travail sera d'assurer la conformité des résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques aux normes prédéfinies pour garantir une bonne qualité du produit.

Le manuscrit comporte trois parties : une revue bibliographique sur les fromages et les différents types de fromage fondu ainsi que la technologie de fabrication. Les techniques et

les méthodologies utilisées pour les deux analyses physicochimique et microbiologique sont également décrites dans le second chapitre, et finalement un troisième chapitre qui englobe les résultats et la discussion, avec une conclusion qui clôture ce manuscrit.

I. LE FROMAGE :

I.1. Généralités sur les fromages:

Le fromage est un produit laitier, frais ou affiné, plus ou moins riche en matière grasse qui résulte de la coagulation de certaines protéines du lait (caséines), sous l'effet de l'acidification due à des ferments microbiens ou à l'action enzymatique de divers produits comme la présure. Le mot *fromage* dérivé de l'ancien français « fromage » et vient du latin *formaticum* qui désigne un moule à fromage. Sa fabrication est apparue il y a 8000 ans, peu après la domestication des animaux, pour conserver les principaux constituants du lait. Plus tard, les romains s'intéressèrent aux procédés de fabrication des fromages et stimulèrent le développement de nouvelles variétés. L'art fromager a connu un fort développement au XIXème siècle avec la découverte des micro-organismes de fermentation par Pasteur, l'apparition du froid industriel et le développement des moyens de transport... **(In Ben Ah., 2008).**

La composition du fromage, aliment hautement digestible, le rend intéressant pour tous les groupes d'âge. Les qualités nutritionnelles des fromages sont liées à leur composition et à l'état de leurs composants **(Eck et Gillis, 1997).**

La **dénomination** « **fromage** » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière suivantes : lait, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse (MG), babeurre, utilisées seules ou en mélange et coagulées en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de la partie aqueuse. La teneur minimale en matière sèche (MS) du produit ainsi défini doit être de 23g pour 100g de fromage. La description et les caractéristiques techniques des fromages et des spécialités fromagères figurent dans le texte et l'annexe (qui présente les dénominations définies telles que (Camembert, Brie, Raclette, Emmental, Saint-paulin ...) du **décret n°2007-628 du 27 avril 2007.** **(GEM RCN, 2009)**

I.2. Classification des fromages :

La grande diversité des fromages rend leur classification difficile. Les critères de classification suivants peuvent être pris en compte :

- L'origine du lait (vache, brebis, chèvres...).
- La composition des fromages en matière grasse.
- La technologie de fabrication **(Deroissard et Luquet, 1994).**

I.2.1 Selon la technologie de fabrication :

Les fromages sont, généralement, classés en fonction de leur technologie et de leur croûte.

I.2.1.1. Fromages à pâte pressée cuite : ainsi dénommés car leur caillé est chauffé à 50-55°C.

L'affinage commence en général dans des salles froides, puis continue dans des endroits tempérés à chauds, ce qui provoque une augmentation de la fermentation. (Gruyère...)

I.2.1.2. Fromages à pâte pressée non cuite : Le caillé est coupé en morceaux et brassé, puis pressé pour en extraire le petit-lait. Le salage se fait ensuite par immersion dans de la saumure ou par frottage. L'affinage dure en général plusieurs mois où les fromages sont régulièrement brossés, mordués et retournés. Ils sont communément appelés tommes ou fourmes. (Salers, Abondance, Raclette ...)

I.2.1.3. Fromages à pâte persillée : dont la pâte contient des moisissures bleues. La couleur de bleu à vert qui zèbre la pâte lui confère le qualificatif de persillée ; on donne également à ces fromages le nom de bleus. Cette caractéristique provient de l'ensemencement artificiel de la pâte avec des moisissures. (Roquefort, Bleu d'Auvergne, Bleu des Causses ...)

I.2.1.4. Fromages à pâte molle : (fromages fermentés dont la pâte n'est ni cuite ni pressée) : Deux modalités sont en usage pour faire cailler le lait en fromagerie : l'acidification et l'addition de présure ; donnant lieu à deux types de caillé, soit le caillé acide et le caillé présure. Les propriétés et le comportement de chacun d'eux diffèrent sensiblement, si bien que leurs différences sont à la base de la technologie et des caractères des divers types de fromage. Pour la majorité des fromages, on provoque le caillage du lait par l'action conjuguée de la présure et de l'acidification.

On peut également distinguer deux types de croûte :

À croûte fleurie (recouverte de moisissure blanche : *Penicillium candidum*) Leur croûte est blanche et duveteuse qui provient de l'ensemencement d'un mycelium au moment du salage du caillé. (Camembert, Brie, Coulommiers...)

À croûte lavée (durant l'affinage, ils sont lavés avec de l'eau salée puis brossés : La fabrication de ces fromages est similaire à celle des fromages à croûte fleurie : au cours de l'affinage, ils sont lavés avec de l'eau additionnée de saumure et parfois d'alcool (marc, vin, cidre ou bière). Ce faisant, le fromage acquiert une couleur particulière, le plus souvent orangée. (Reblochon...)

I.2.1.5. Fromages frais ou à pâte fraîche : Les fromages frais sont des fromages à égouttage lent, n'ayant subi que la fermentation lactique et pas d'affinage, aucune présure n'est ajoutée pour favoriser leur caillage. Ils sont égouttés, salés et moulés et doivent être consommés avant qu'ils ne développent une croûte. Ils peuvent être roulés dans des cendres ou aromatisés avec des herbes, de l'ail ou des noix pour accroître leur arôme. (Petit-suisse, fromages blancs ...)

I.2.1.6. Fromages de lactosérum : comme leur nom l’indique ces fromages sont élaborés à partir de lactosérum ou « petit lait » (issu de la fabrication de fromage), avec ou non une adjonction de lait. La coagulation est obtenue par un chauffage à la température d’ébullition ou proche de celle-ci. Les plus connus sont le « Brocciu » corse, la « Brousse de Rove »...

I.2.1.7. Fromages à pâte filée (obtenus par le pétrissage et l’étirement du caillé) : Mozzarella.

- Fromages fondus : obtenus par la cuisson de fromages divers.

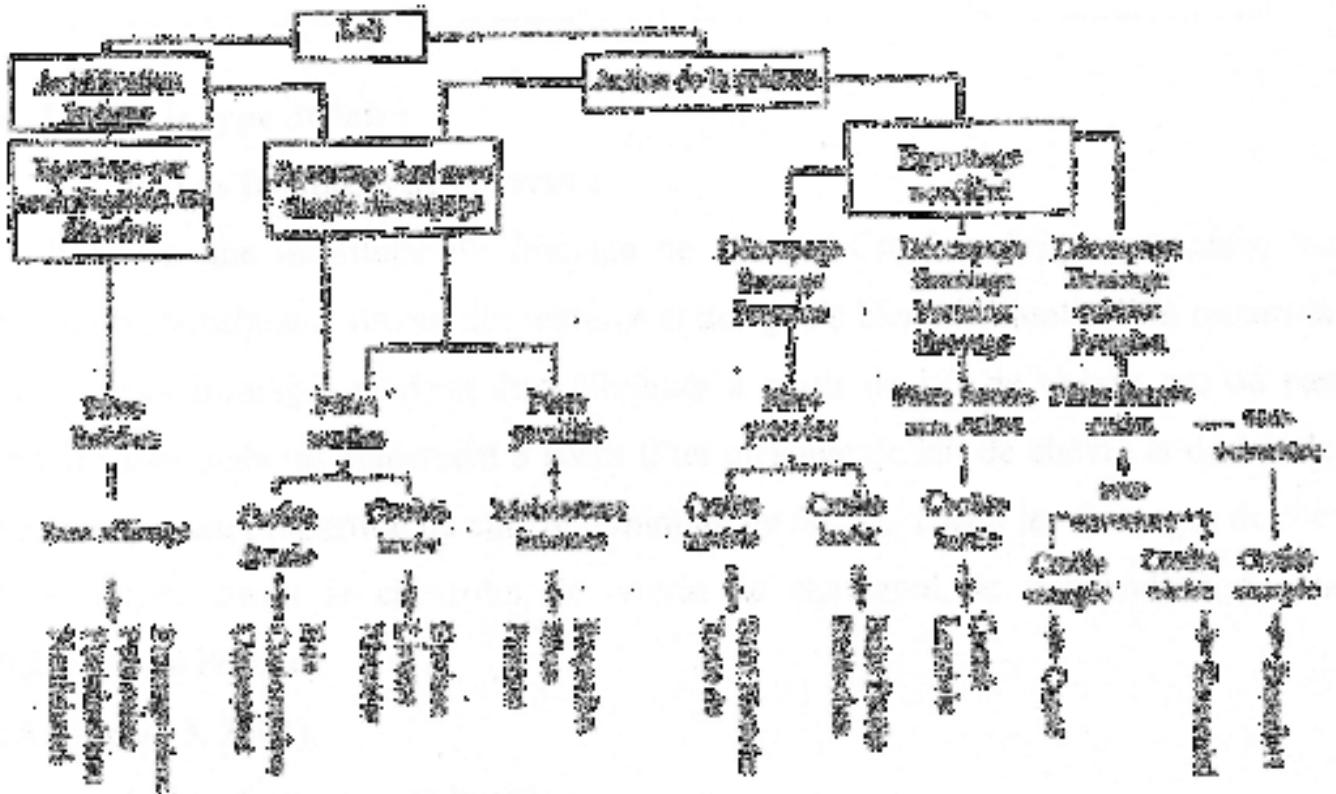


Figure 1 : la diversité des fabrications fromagères (Gaucheron, 2004).

I.2.2. Selon la richesse en matière grasse :

La matière grasse joue un rôle essentiel dans la texture du fromage et contient les éléments chimiques qui donnent à chaque fromage ses caractères et ses saveurs particulières et selon la teneur en matière grasse le cadre réglementaire qui est constitué principalement par le décret 88-1206 du 30 décembre 1988 par la norme A-1978 de la FAO et enfin par le codex alimentarius qui classe les fromages comme suit :

Le tableau ci — après donne la classification des fromages selon leurs richesses en matière grasse.

Tableau I: Classification des fromages selon la richesse en matière grasse.

Type/classification	% en matière grasse
Triple crème	Plus de 75%
Double crème	De 60% à moins de 75%
Fromage gras	De 50% à moins de 60%
Fromage allégé (sans addition de sucre)	De 20% à moins de 30%
Fromage maigre	Moins de 20%

I.2.3. Selon le type de lait :

a/ Les fromages de chèvre :

Il existe une multitude de fromage de chèvre. Crottins, briques, bûches, bûchettes, pyramides, bouchons... La grande majorité des fromages de chèvre est obtenue par une coagulation mixte de type lactique ou « coagulation lente ». Ils entrent dans la catégorie des fromages à pâte molle et à croûte fleurie. A côté on trouve d'autres variétés, dont la coagulation est de type présure ou « coagulation rapide ». (Bruno Zeller, 2005)

b/ Les fromages de brebis :

Le lait qui sert à fabriquer ce type de fromage est assez rare. En effet, il faut traire une vingtaine de brebis pour obtenir le volume équivalent à la traite d'une seule vache, il contient plus de deux fois la quantité de matière grasse dans le lait de vache. La saveur peut également être améliorée par le réseau des herbes qui poussent dans les zones souvent pâturées par les moutons. Il fournit également des harmoniques douces de la lanoline résultant dans un arôme de fromage. Le lait sucré combiné avec des saveurs de noix naturelles élaborées à partir des résultats de l'affinage des fromages dans une riche dégustation de fromages qui peuvent aller dans la saveur de légère à très forte. Variétés courantes comprennent Amou, Annot, Barac, Feta, Roquefort, Ricotta... (In Moussa et Foura, 2015).

I.3. La flore d'intérêt technologique :

I.3.1. Les bactéries lactiques :

Sont des bactéries des fermentations alimentaires, Elles sont en générale des cocci ou bâtonnets, gram +, aérotolérantes, catalase - ; les bactéries lactiques se caractérisent par une forte production d'acides lactiques et comprend les genres suivants :

Lactobacillus, *Lactococcus*, *Entérocooccus*, *Pediococcus* (Bourgeois et Larpent, 1996).

Les bactéries lactiques sont utilisées depuis longtemps dans la transformation et la conservation des aliments, cet usage prolongé a établi. Sans ambiguïté, l'innocuité d'un

certain nombre de souche et d'espèces appartenant à un nombre restreint de genre microbiens **(Luquet et Corrieu, 2005)**.

Les bactéries lactiques peuvent être classées selon leur degré de fermentation en deux grands groupes :

a. Homo fermentaires :

Qui acidifient le lait par fermentation du lactose présent dans le lait dont le produit final est l'acide lactique.

b. Hétéro fermentaires :

En plus de l'acidification du lactose ils lui confèrent des arômes particuliers. Les produits finaux de la fermentation seront constitués en plus de l'acide lactique, de l'éthanol, de l'acétate et du CO₂ **(Deroissard et Luquet, 1994)**.

1.4. Les différents types des ferments :

Les ferments lactiques sont des cultures pures en proportion définies de différentes bactéries lactiques qui en se multipliant dans le lait et dans le fromage **(Bourgeois et Larpent, 1996)**.

On distingue couramment deux types de ferments :

I.4.1. Les ferments mésophiles :

Qui sont en général utilisés pour des variétés de fromages dont la température des caillés dans la phase d'acidification ne dépasse pas 40°C.

I.4.2. Les ferments thermophiles :

Qui sont plutôt employés dans des variétés de fromages où la température dépasse 40°C. **(In Moussa et Foura, 2015)**.

I.5. Les principaux genres des ferments lactiques :

Les streptocoques, Les lactobacilles, Les leuconostocs

I.5.1. Les Streptocoques:

Les Streptocoques sont des coques à coloration de gram positive et catalase négative qui possèdent un métabolisme homofermentaire strict, conduisant essentiellement à la production d'acide lactique. Ce genre microbien regroupe à la fois des bactéries d'intérêt industriel et nutritionnel (*Streptococcus thermophilus*). **(Drider et Prévost, 2009)**

I.5.1.1. *Streptococcus thermophilus* :

C'est une bactérie homofermentaire et produisant uniquement du L-lactate. C'est actuellement le seul Streptocoque utilisé volontairement dans la fabrication des fromages et les produits laitiers (yaourt, lait fermenté), cette espèce présente le grand avantage de produire une activité acidifiante dans un large spectre de température. Sa température de croissance optimale se situe entre 42 et 44 °C, et la température minimale entre 19 et 30 °C. *Streptococcus*

thermophilus présente une sensibilité importante au pH bas (de l'ordre de 4,6-4,8) et à l'acidité, impliquant sa lyse rapide au cours de l'acidification du lait (**Dridier et Prévost, 2009**).

I.5.2. Les lactobacillus :

Sont des bactéries Gram +, asporogènes, immobiles, pour la plupart aérotolérantes. Leur morphologie va de cocci plus ou moins allongés à des formes longues, ce qui les rend parfois difficile à distinguer des leuconostoc.

Le genre lactobacillus se subdivise en trois groupes :

- Groupe 1 : anciennement appelé Thermobacterium.
- Groupe2 : anciennement appelé Streptobacterium.
- Groupe3 : anciennement appelé Betabacterium(**Bourgeois et Larpent, 1996**).

I.5.3. Les leuconostocs :

Ils produisent de l'éthanol et des acides organiques à partir du lactose et du diacétyl à partir du citrate. Ils participent donc aussi à la constitution de l'arôme et de la saveur (**Fredot, 2005**).

Ces bactéries inhibent les microorganismes contaminants acidosensibles, certains espèces peuvent utiliser le citrate du lait et produisent du diacétyl, élément principal de saveur du beurre et d'autres produits laitiers (**Bourgeois et Larpent, 1996**).

I.6. Activités métaboliques des ferments lactiques :

I.6.1. Acidification :

La croissance des bactéries lactiques dans le lait, puis dans le caillé entraîne la consommation du lactose et l'excrétion de l'acide lactique conduisant à l'abaissement du pH. Cette fonction acidifiante des bactéries lactiques est déterminante dans le processus d'élaboration des fromages.

La cinétique d'acidification dépend directement de trois paramètres : la nature des bactéries lactiques, leur niveau de population et la température du milieu (**Corrieu et Luquet, 2008**).

Cette acidification accélère la coagulation des caséines pendant la fabrication des fromages et favorise la synérèse.

Le pH acide et la faible activité de l'eau réduisent la croissance de certains micro-organismes indésirables tels que Clostridium, listeria et Staphylococcus et préparent les conditions de développement des micro-organismes responsables et de l'affinage (levures et moisissures) (**In Cholet, 2006**).

I.6.2. Production de composés aromatiques :

Les bactéries libèrent des enzymes protéolytiques (plasmine, chymosine, protéase, acide) responsables de la protéolyse lors de l'affinage des fromages. Ce phénomène agit aussi bien sur la texture de la pâte que sur sa saveur et son arôme. Les protéases des bactéries lactiques libèrent des oligopeptides et des acides aminés qui participent à la saveur et à l'arôme des fromages, soit par eux-mêmes, soit par leur métabolites (acides volatils, acétaldéhyde, alcool...).

Les bactéries lactiques sont responsables aussi de la lipolyse de la matière grasse du lait libérant des acides gras qui participent, soit par eux-mêmes, soit parce qu'ils sont à l'origine d'autres composés aromatiques (cétone, ester, lactone), aux caractéristiques sensorielles des fromages (**Corrieu, 2008**).

I.7. Bactériespropioniques :

Ce sont des germes anaérobies leur concentration augmente au cours de l'affinage de certains fromages (Emmental). Elles fermentent le lactose résiduel avec production d'acide propionique, d'acide acétique et de CO₂ dont l'accumulation est responsable de *trous* dans les fromages. Ces germes contribuent à la formation des saveurs et des arômes des pâtes fromagères (**Fredot, 2005**).

I.8. Bactéries de surface :

Les bactéries dominantes à la surface sont des Gram+ et appartiennent, en grande partie, au groupe de Staphylocoques et aux bactéries corynéformes. Elles possèdent en commun certains caractères physiologiques qui expliquent leur aptitude à s'implanter à la surface des fromages. Elles sont les plus souvent aérobies, mésophiles, halotolérantes et acidosensibles, ne pouvant de ce fait se développer que dans une zone de pH proche de la neutralité (6 à 8.5) (**In Riahi, 2006**).

I.9. Flore fongique

I.9.1. Levure :

Les levures sont présentes dans le fromage à tous les stades de fabrication. Parmi les rôles qui peuvent leur être attribués, on peut citer :

La fermentation du lactose avec production du CO₂. Cependant, une fermentation trop active du lactose par les levures peut aussi provoquer des accidents tels que l'apparition d'une ouverture anormale ou l'apparition d'un goût levuré.

La neutralisation de la pâte par la consommation de l'acide lactique et des lactates formées par les bactéries lactiques et par la production d'ammoniac. Cette désacidification est indisponible pour le développement de la flore bactérienne acido-sensible (**Larpen, 1991**).

I.9.2. Moisissure :

La présence de moisissures internes ou superficielles caractérise divers types de fromages. Elles contribuent, en métabolisant l'acide lactique, à la neutralisation de la pâte et produisent de nombreuses enzymes qui participent à la maturation du fromage.

D'autres moisissures peuvent contaminer le fromage à pâte molle pendant l'affinage. Les mucors sont souvent principalement incriminés dans l'incident du « poil de chat » des fromages à pâte molle. La surface des fromages est alors recouverte de touffe duveteuse plus ou moins blanche terminée par des petites boules grises, brunes, ou noires (**In Cholet, 2006**).

II. LES FROMAGES FONDUS

II.1 Histoire :

Le fromage fondu est un produit laitier relativement jeune et moderne puisqu'il a été inventé en suisse vers 1910, par la société GERBER THUM (**Luquet, 1985**). L'intérêt de fondre des fromages provenait à l'époque de difficultés qu'il y avait à ralentir ou stopper leur maturation, du fait de l'absence de possibilité de stockage en chambres froides (**Luquet, 1985**).

Le fromage a connu depuis du succès commercial important et durable en Amérique du Nord (**Viesseyre, 1979**).

II.2. Définition du fromage fondu :

Les fromages fondus sont les résultats d'une seconde transformation de fromage (**Evette, 1975**)

Selon (**Viesseyre, 1979**), le fromage fondu est un produit de la fonte de fromage dont la teneur en matière sèche est au moins égale à 50% et une teneur en matières grasses de 40% au minimum obtenus par le mélange de fromages de différentes origines et à différents stades d'affinage avec des sels de fonte, ce mélange est broyé puis chauffé sous vide partiel et agitation constante, jusqu'à obtention d'une masse homogène qui est conditionnée dans un emballage protecteur. On peut ajouter d'autres matières premières d'origine laitières (beurre, poudre de lait) ou incorporer des ingrédients aromatiques. (**ECK Gillis, 1997**).

II.3 .Les différents types de fromage fondu :

Six variétés de fromages fondus peuvent être couramment rencontrées sur le marché:

II.3.1 .Fromage fondu type «bloc» :

Le traitement thermique subi est modéré de manière à conserver au produit fini une élasticité marquée et une bonne tranchabilité, comparable à celle d'un 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'objectif d'un chauffage (**Boutonnier, 2006**).

II.3.2 .Fromage fondu type «coupée» :

Moins ferme que le bloc, il n'est pas pour autant tartinable, il contient trois à quatre points de moins de matière sèche que le précédent, ce qui le rend plus agréable à la dégustation. L'élasticité, par fois recherchée, n'est pas toujours souhaitable en raison de la formation de fils qui rendent le conditionnement délicat sur les machines classiques (**Boutonnier, 2006**).

II.3.3 .Fromage fondu tartinable :

C'est le processus de crémage qui permet en partie de régler la consistance du produit fini et de lui conférer une certaine tartinabilité. Ces produits peuvent être aromatisés et conditionnés en emballages souple ou rigide (**Boutonnier, 2006**).

II.3.4 .Fromage toastable (Pour fonte) :

L'après guerre a vu un changement d'habitudes de consommation par la fréquentation des restaurants « fast-food ». Afin d'améliorer leurs produits, ces restaurants ajoutèrent une tranche de fromage. Celle-ci devait fondre sous l'influence de la chaleur comme il était fastidieux de couper de fines tranches d'Emmental, de gouda ou de cheddar, un nouveau procédé de fonte à été développé. (**Mayer, 1973**).

II.3.5 .Fromages fondus résistant à la chaleur :

Dans les années 1960 l'ajout d'autres ingrédients au fromage prenaient de l'essor, un autre a vu le jour en Extrême-Orient. C'est un fond non refondable, principalement coupé sous forme de dés et qui accompagne d'autres aliments (**Boule, 1990**).

II.3.6. Fromages fondus fluides :

Pour les fourrages alimentaires Récemment se sont développés des formulations de fromage fondu fluides et pompables à température ambiante, à usage de l'industrie alimentaire pour des fromages de crêpes, viandes... De façon générale les trois dernières catégories ci-dessus sont essentiellement destinées à être utilisées dans l'industrie alimentaire en tant qu'ingrédients. (**Boule, 1990**).

II.4. Les critères du fromage fondu :

II.4.1. Les critères biochimiques du fromage fondu :

Dans certains pays, la fabrication de fromage fondu est faite à partir d'une seule variété de fromage (fromage à pâte dur ou semi dur) on peut citer: le cheddar aux U.S.A., au Royaume-Uni et en Australie; le gruyère et la mozzarella au Canada aux U.S.A. Le fromage fondu est généralement fabriqué à partir d'un mélange de différentes variétés de fromage naturel (**Eck, 1997**)

II.4.2. Les critères physico-chimiques et biochimiques :

Le fromage fondu est un produit laitier riche en lipides, protéines et en certains minéraux tels que le phosphore, le sodium et le calcium et des vitamines (A, D, E, K).

-Protéines :

Le fromage fondu contient 18g de protéines pour 100g de produit frais, ces protéines sont très digestible (**Eck, 1987**)

-Lipides :

Ils conditionnent l'onctuosité de la pâte du fromage, les lipides du lait se trouvent dans le fromage sous forme émulsionnée, ce que les rend très digestibles (**Eck, 1987**)

-pH :

Le pH du fromage fondu est compris entre 5,3 et 5,8 (**ECK, 1987**).

-Matière grasse :

Selon (**Boutonier, 2006**), la teneur en matière grasse est de 40% au minimum.

-L'extrait sec total et la teneur en eau :

La matière sèche du fromage fondu supérieur ou égal à 43% (**Vierling, 1999**). Un fromage fondu à 45% de MG doit contenir 48% d'eau (**Luquet, 1986**).

-Calcium :

Les fromages fondus constituent d'excellentes sources de calcium cependant, sa teneur varie en fonction de teneur en eau et il présente une facilité d'assimilation par l'organisme humain grâce à un rapport Ca/P favorable (**Luquet, 1990**)

-Sodium :

Le chlorure de sodium intervient pour relever la saveur du fromage, on l'utilise pour limiter la prolifération de certaines moisissures indésirables (**ECK, 1987**).

Tableau II: Les critères physico-chimiques des fromages fondu (ECK, 1997)

Physico-chimique	Pourcentage
Matière grasse	40%
pH	5.3 à 5.8
Extrait sec total	43%
Cendres	3%

II.4.2. Les critères microbiologiques des fromages fondus :

Selon le Journal Officiel de la République Algérienne N°35 et plus précisément l'arrêté interministériel du 24 janvier 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, les critères microbiologiques sont indiqués au tableau suivant:

Tableau III: Les critères microbiologiques réglementaires du fromage fondu [J.0, N° 35, 1998].

Les bactéries	N	C	m
<i>Coliformes</i>	5	2	10
<i>Coliformes fécaux</i>	5	2	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	2	10
<i>Salmonella</i>	5	0	Absence
<i>Listeria monocytogenese</i>	5	0	Absence

m: seuil au-dessous duquel le produit est considéré comme étant de qualité satisfaisante.

Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisants.

n: nombre d'unités composant l'échantillon.

c: nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre « m » et « M ».

M: Seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants. **(Codex, 1998 dans Belhawa et Benttayeb, 2008)**

II.4.3. Valeur nutritive :

Le fromage fondu comporte toutes les caractéristiques nutritionnelles des produits laitiers qui le composent. Il apporte à l'organisme la majorité des nutriments essentiels à un bon équilibre alimentaire tels que protéines de haute valeur nutritionnelle, lipides, glucides, vitamines et minéraux (Calcium, Phosphate, Potassium, Magnésium et Sodium) **(Gaucheron, 2004)**.

II.4.4. Valeur énergétique :

La teneur calorique du fromage fondu est de 280cal pour 100g de produit frais avec une teneur en lactose très faible, l'essentiel des calories provient des lipides. Ce fromage fondu contient 22g de lipide dans 100g de produit frais, qui apportent une énergie équivalente à 198cal, alors que les protéines et les glucides ne représentent que 82cal (**Dupin et al.,1981**).

II.5. Processus de fabrication du fromage :

II.5.1. Sélection et préparation des matières premières :

La sélection est guidée par les caractéristiques souhaitées du produit fini. Le choix des matières premières contribuera à la détermination du procédé de fonte. Les fromages, particulièrement ceux à pâte dure ou demi-dure, sont écrouvés par raclage ou brossage et sont découpés voire laminés afin que le broyage soit efficace (**Boutonnier 2006**).

II.5.2 .Formulation :

C'est tout l'art du fondeur de réaliser une formule répondant à la fois aux caractéristiques sensorielles recherchées, aux contraintes réglementaires et aux propriétés technologiques des procédés mis en œuvre (**Gaucheron, 2004**).

II.5.3. Mélanges des ingrédients :

Le plus souvent, le mélange est effectué dans deux pré-mélangeurs fonctionnant de manière alternative afin d'assurer un fonctionnement continu de la ligne de fabrication. L'homogénéité du mélange est fondamentale pour assurer une bonne qualité du produit fini; elle est notamment en fonction du matériel, de l'intensité des forces de cisaillement générées par les systèmes d'agitation (agitateurs à pâles, à rubans concentriques ou excentriques), ainsi que de la durée du traitement (**Boutonnier, 2006**).

II.5.4. La cuisson et le brassage :

Le produit fini désiré est obtenu compte tenu de la cuisson et le brassage simultanés mais toujours avec utilisation de vapeur:

- Pétrin traditionnelle a simple double cuve et chauffage par injection direct de vapeur et double fond, pour une simple pasteurisation à 90/95°.
- Pétrin de même type méconnue pour atteindre une stérilisation lente a 120/125°C.
- Stérilisation de diverse conception assurant ou non préalablement la fonte proprement dite, et permettant, notamment en U.H.T d'atteindre des températures de l'ordre de 135 à 140°C, assurant au produits fini une conservation particulièrement lente apprécié pour les pays chaud (**Luquet, 1985**).

- Il faut que la pâte de fromage, totalement fondu soit parfaitement homogène pour assurer un chauffage satisfaisant de toutes les particules de fromage.En outre la température atteinte

doit permettre la destruction de la plus grande partie des germes, forme sporulées comprises (Veisseyre, 1979).

II.5.5. Le crémage :

Le crémage est une notion très importante en fonte c'est en maîtrisant ce phénomène que l'on peut régler la consistance du fondu. Plus le crémage est poussé plus le produit fini à une pâte longue et tartinable. Ils y a des facteurs qui influents sur le crémage dont le type du fromage, l'âge du fromage (plus il est « vieux » plus le crémage sera poussé), les sels de fonte (Certains diphosphates ont un pouvoir de crémage important), l'eau et le moment de son introduction, la température de fonte et la vitesse de refroidissement. Tous ces paramètres doivent être pris en compte par le fondeur pour obtenir le produit désiré (Veisseyre, 1979).

II.5.6 .Le conditionnement :

Généralement le conditionnement en blocs du fromage fondu s'effectue à l'aide des machines semi-automatiques, mais elle peut être établie manuellement. Pour des pâtes tartinables (triangulaires, rondes, demi-rondes ou carrées) il est réalisé automatiquement par des machines qui établissent des dosages très précis (Haury, 1986). Pour éviter une recontamination au conditionnement, le transfert du fromage se fait de plus en plus par des tuyauteries en acier inoxydable alimentant des «couleuses». Celles-ci emballent à très grande vitesse (De 60 à plusieurs centaines de portions à la minute) le fromage fondu chaud liquide dans des feuilles d'aluminium laqué ou des contenants en matériaux plastiques thermoscellable; le fromage fondu peut être aussi emballé en tubes, en boîtes de conserve, ou dans des boyaux en plastique lui donnant l'aspect de saucisses (Eck et Gillis, 1997 dans Belhawa et Bentayeb, 2008). En fin le conditionnement du fromage fondu a une température minimale de 70 à 75°C (Boutonnier, 2006).

II.5.7 .L'emballage :

Il faut que l'emballage soit très soigné pour éviter la contamination. On y parvient grâce à la coulée à chaud et à l'utilisation de feuilles d'emballage thermoscellable ou des récipients étanches. L'emballage de la barre de fromage composé d'une couche de papier cellulosique reliée entre eux par de la paraffine l'emballage des portions de fromages composés de papier aluminium traité au vernis alimentaire qui assure l'étanchéité de l'emballage et protège le produit contre la Cuisson. Les portions sont ensuite coulées dans des boites en carton cylindrique(Eck, 1987).

II.5.8 .Le refroidissement

Le mode de refroidissement du fromage fondu varie selon le format et le type de produit. Dans la majorité des cas le fromage fondu conditionné à chaud doit être refroidi rapidement

afin d'éviter le risque de brunissement enzymatique de la pâte, cette vitesse de refroidissement rapide s'impose de manière à interrompre le processus de crémage plus ou moins intense et conserver au produit une structure courte indispensable à l'obtention d'une tartinabilité satisfaisante, ce refroidissement peut se faire par circulation des produits sur des tapis à l'air ambiant mais les meilleurs résultats sont obtenus dans des tunnels de refroidissement (**Boutonnier, 2006**).

II.5.9 .Le stockage et conservation du produit

Selon la réglementation nationale, il faut également éviter l'écrasement par surcharge et le mouillage ainsi l'exposition au soleil et le stockage à une température trop élevée; l'idéal se situant entre 8 à 12°C (**Eck, 1987**).

II.5.10. L'étiquetage

Selon le décret exécutif n°90-367 du 10 novembre 1990 relatif à l'étiquetage et à la présentation des denrées alimentaires, l'emballage des fromages fondus doit comporter:

- Le nom du produit « FROMAGE FONDU » ou « FROMAGE FONDU POUR TARTINER ».
- Dans le cas où le produit contient des épices ou autres les appellations ci-dessus sont applicables suivies de la mention « à /à la /au /aux ».
- La teneur en matières grasses laitières.
- La liste complète des ingrédients utilisés.
- Le nom et l'adresse du fabricant, de l'emballer, du distributeur, de l'importateur, de l'exportateur ou du vendeur du produit doivent être déclarés.
- La température de conservation.
- Numéro d'identification de l'usine.
- Numéro du lot (**Eck, 1987**).

II.6.Principaux défauts du fromage fondu

Les défauts qui peuvent concerner les fromages fondus peuvent être de nature différente.

II.6.1 .Défaut dû à l'influence des sels de fonte :

*** Influence sur le goût**

Les citrates ont une influence très prononcée et caractéristique de l'acide citrique et confèrent à la pâte un agréable goût de frais (**Tiscier, 1971**)

***Influence sur la conservation**

Il a été reconnu scientifiquement que les polyphosphates ont la capacité bactériostatique permettant de prolonger la durée de conservation des produits. Toutefois, il n'est pas moins

vrai que la meilleure conservation donnée par l'emploi des polyphosphates se trouvent être la résultante directe de leur pouvoir émulsifiant qui est supérieur aux autres sels de fonte (Veisseyre, 1979)

***Influence sur la couleur**

Une fonte est réalisée uniquement avec des citrates de sodium à une influence directe sur la couleur de la pâte de (calcium) fromage fondu (CLEP. 1991)

II.6.2. Défauts dû au crémage :

Le crémage joue un rôle très important et décisif dans la consistance du fromage fondu mais ce n'est pas l'unique facteur pouvant influencer la consistance mais il faut prendre en considération le pH (Quand la valeur du pH est faible on aura une pâte ferme et inversement) et la teneur en eau (entant que régulier de consistance, elle ne doit pas être considérée séparément, mais doit toujours être mise en relation avec la matière grasse et l'extrait sec (Cuguel, 1988).

II.6.3. Défauts d'altération d'origines bactériennes :

Les altérations se traduisent généralement par un défaut de texture bien caractéristique à savoir:

Le gonflement qui est un accident de fabrication particulièrement grave. Il se traduit par la présence de nombreux yeux dans le fromage, principalement près de la surface. Les germes responsables sont divers, assez rarement il s'agit de coliformes ou des levures gênées par l'absence de lactose et plus souvent ce sont des sporulés anaérobies capables de se développer à partir des lactates (Konovalova, 1982). Toutefois la cause de gonflement la plus fréquente reste encore la présence massive de bactéries propénoïque au delà de 10,000 germes par gramme de fromage. (Cuguel, 1988).

III. Les matières premières :

III.1. Lait de vache :

III.1.1. Définition :

Le lait a été défini en 1908, au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant : « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum». Le Codex Alimentarius en 1999, le définit comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur.

Selon **Deforges et al, en 1999**, le lait cru est un lait non chauffé au-delà de 40°C ni soumis à un traitement non thermique d'effet équivalent notamment du point de vue de la réduction de la concentration en micro-organismes (**In Mme Benhedane, 2011**).

III.1.2. La Composition moyenne du lait de vache :

La composition moyenne du lait de vache est représentée par la figure 2. Elle fait apparaître les grandes catégories de constituants du lait : eau, lactose, matière grasse, protéines et les constituants salins.

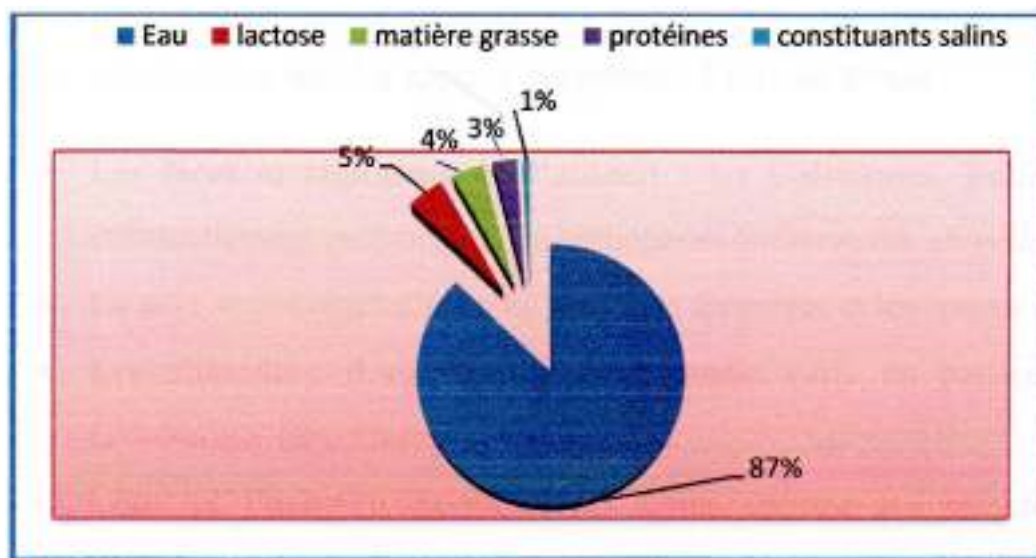


Figure N°2 : Composition du lait de vache(**Gérard, 2001**)

III.1.3. La flore du lait

a/ Flore originale :

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 103 germes/ml). A sa sortie du pis, il est pratiquement stérile et est protégé par des substances inhibitrices appelées lacténines à activité limitée dans le temps (une heure après la traite).

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis.(**Gérard, 2001**)

a/La flore de contamination :

Le lait se contamine par des apports microbiens d'origine divers :

- **Les fèces et tégument de l'animal** : les Coliformes, Entérocoques, Clostridium, éventuellement entérobactéries pathogènes (salmonella, shigella, yersinia,...)
- **Le sol** :Streptomyces, listeria, bactéries sporulées et les spores fongiques.
- **Les aliments** : il existe une flore banale varie en particulier les lactobacilles, Clostridium butyriques.

- **L'air et l'eau** : il existe divers flores comme les Pseudomonas, les bactéries sporulées, les microcoques.
- **Equipement de la traite** : les microcoques, les levures, la flore lactique Lactobacillus, streptocoque.
- **Manipulateur** : staphylocoques dans le cas de la traite manuelle. (Chemineau, 1999).

III.2. La poudre de lait :

III.2.1. Définition :

Selon le décret du 9 mars 1978 : C'est un lait dont toute l'eau a été éliminée pour ne laisser que la matière sèche sous forme de poudre. Cette déshydratation presque totale assure sa longue conservation jusqu'à un an dans un endroit frais et sec et sous emballage ferme. La poudre de lait est constituée essentiellement de matière sèche de lait et d'une très faible quantité d'eau de (2-4%). (Chemineau, 1999)

III.2.2. Classification et composition :

- **Lait entier en poudre:**

- Teneur en matière grasse laitière : min 26% et inférieure à 42%.
- Teneur maximale en eau : 5%.
- Teneur minimum en protéines du lait dans l'extrait sec dégraissé : 34%.

- **Lait partiellement écrémé:**

- Teneur en matière grasse laitière : plus de 1,5% et moins de 26%.
- Teneur en eau : 5%
- Teneur minimale en protéines du lait dans l'extrait sec dégraissé : 34%.

- **Lait écrémé en poudre:**

- Teneur en matière grasse laitière : 1,5%.
- Teneur maximale en eau 5%.
- Teneur minimale en protéines du lait dans l'extrait sec dégraissé 34%.(Chemineau, 1999)

III.3. Matière grasse laitière anhydre « MGLA » :

III.3.1. Définition :

Selon JORA du 27 octobre 1999: la MGLA est le produit obtenu exclusivement à partir du lait, de beure ou de crème au moyen de procédé entraînant l'élimination quasi-totale de l'eau et de l'extrait sec non gras.

La MGLA doit contenir, au minimum, 99.8% de matière grasse et au maximum 1% d'eau). (Veisseyre, 1979).

III.3.2. Composition de la MGLA :

- Teneur minimale en matière grasse laitière: 99.8 %
- Teneur maximale en eau: 1%
- 0.1% au maximum d'extrait sec non gras (**Eck, 1984**).

III.4.L'eau de procès :

L'eau doit présenter une qualité aux différentes caractéristiques :

- Pour l'alimentation des chaudières, celles-ci exigent surtout une eau débarrassée de sels de chaux, de magnésium et de calcium afin d'éviter l'entartrage au niveau des tuyauteries et conduites intérieures ;
- Pour l'eau destiné au lavage, elle ne doit pas contenir des germes indésirables ;
- Pour l'eau intervenant dans la fabrication, elle doit remplir les mêmes conditions, mais elle doit aussi présenter une pureté chimique satisfaisante et ne pas contenir d'ions métalliques pour des raisons de toxicité.
- L'eau de reconstitution doit être potable et notamment aux standards fixés par l'organisation mondiale de la santé (OMS) sur le plan microbiologique, elle ne doit contenir aucun germe pathogène.

Leur recherche nécessite des techniques spéciales, on choisit comme indicateurs de pollution des germes de contamination fécale qui sont plus facile à identifier, à dénombrer et plus communs (les coliformes, les Clostridium sulfito-réducteurs, Streptocoques fécaux...) (**GIG, 2016**).

III. LES BACTERIES THERMORESISTANTES :

Un traitement thermique à 75/85°C pendant 2 à 3 minutes en présence de sels de fonte au cours de la fabrication de fromage fondu, permet généralement la destruction des bactéries, seules ayant la forme sporulée peuvent résister (**Beerens et Luquet, 1987 dans Magherbi et Touil 2007**).

L'étude de cette flore thermorésistante permet d'évaluer la contamination et de mettre au point les techniques de traitement thermique à mettre en œuvre et de contrôler leur efficacité (**Guiraud, 1998**).

III.1. Définition de la flore thermorésistante :

Il s'agit de la flore capable de résister à la thermisation (au moins 5 secondes à une température entre 57 et 68°C) ainsi qu'à certains types de pasteurisation (pasteurisation basse : 30 minutes de chauffage à 63.5°C) et même à des températures encore plus élevées. (**Guiraud, 1998**).

Plusieurs genres bactériens possèdent des espèces capables de résister à des températures relativement élevées, et de survivre ainsi à une pasteurisation (*Micrococcus*, *Microbacterium*, *Streptococcus*, *LactoBacillus*, *Corynebacterium*). (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

Les genres les plus importants et les plus étudiés sont : *Bacillus* et *Clostridium*. (**Prescott et al., 1995 dans Magherbi et Touil 2007**)

III.1.1. Les Clostridiiums :

Se sont des bactéries de la famille Bacillaceae et au genre Cloristridium, ce sont des bacilles a gram positive de forme sporulés. Ils se multiplient essentiellement dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Les espèces les plus responsables de toxi-infection alimentaire sont les *Clostridium perfringens* et *Cloristridiumbolulinum*. (**Bourgeois, Mescle et zucca;1996**).

III.1.2. Bacillus cereus :

Bacillus cereus appartient à la famille des Bacillaceae, formée de bacilles donnant des spores themorésistantes, à coloration de Gram positive (Mais variable avec l'âge des cultures), possédant une catalase mais dépourvus d'oxydase. C'est une bactérie aérobie, pouvant cependant cultiver en anaéro-biose sur milieux complexes. *Bacillus cereus* ne fermente pas le mannitol, mais possède une phospholipase très active (**Bourgeois et al., 1996**).

1. Démarche expérimentale :

Notre travail est basé sur l'étude physico-chimique et microbiologique de fromage fondu tout au long de son processus de fabrication des les matières premières jusqu'au produit fini mise à la consommation dans notre marché. Ces analyses sont faites au niveau de laboratoire de groupe industriel « GOUMIDI » situé dans la Zone Industrielle de OueldYaïch, Blidadu 17.03.2017/17.05.2017.

1.2. Les analyses effectuées :

Le tableau ci-après représente le calendrier des analyses physicochimiques et microbiologiques :

Tableau I : calendrier des analyses physicochimiques et microbiologiques

	Les matières premières				Produit fini	
	Eau de procès	Lait en poudre	Beurre	Cheddar		
Première production de 23.03.2017 au 01.04.2017	Le 23.03.2017				01.04.2017	
	P		M		P	M
Deuxième production de 24.03.2017 au 02.04.2017	24.03.2017				02.04.2017	
	P		M		P	M
Troisième production de 26.03.2017 au 04.04.2017	26.03.2017				04.04.2017	
	P		M		P	M

Avec :

P : analyses physicochimiques

M : analyse microbiologiques

1.3. Matériels utilisés :

Le produit utilisé est le fromage fondu obtenu auprès de l'unité de production "GOUMIDI" OueldYaïch, Blida.

1.3.1. Matériel non biologique :

Appareillages, verreries, produits chimiques et milieux de culture.(Voir annexe N°5).

1.3.2. Matériel biologique :

La poudre de lait, l'eau de procès, beurre, cheddar, et le produit fini (fromage fondu).

1.4. Méthodes :

1.4.1. Echantillonnage :

Le prélèvement des échantillons pour les analyses microbiologiques nécessite un matériel stérile, propre et sec pour les analyses physicochimiques.

1.4.2. Mode de prélèvement :

L'eau de procès :

Le prélèvement s'effectue au niveau du robinet, celui-ci est flambé, on laisse couler le liquide pendant quelques secondes, puis on prélève dans un flacon stérile.

La poudre de lait écrémé:

La poudre de lait écrémé utilisé est importée de différents pays (France, Suisse), cette poudre est conditionnée dans des sacs en polyéthylène.

Avant chaque utilisation de cette poudre, on lui fait subir au niveau du laboratoire des analyses physicochimiques et microbiologiques.

Les prélèvements ont été effectués à partir de ces sacs choisis au hasard, l'ouverture des sacs se fait aseptiquement.

La poudre est prélevé à l'aide d'une sonde stérile à longue manche, elle est introduite rapidement dans un sac Stomacher à proximité d'une flamme.

Pour le produit fini, le prélèvement des échantillons est effectué le jour même de leur conditionnement, chaque échantillon est pris au hasard.

Les différents prélèvements effectués au niveau de la chaîne de fabrication sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau II : Les différents prélèvements effectués au niveau de la chaîne de fabrication.

	Produits analysés	Lieu de prélèvement
Matières premières	-lait en poudre -l'eau de procès -Beurre -Cheddar	-Hangar de stockage - les stations de traitement -Hangar de stockage -Hangar de stockage
Produit fini	-Fromage fondu	Ateliers de conditionnement

2. Techniques d'analyses microbiologiques :

Les aliments sont habituellement contaminés par une grande variété de micro-organismes.

De ce fait, quatre objectifs sont couramment visés :

- La recherche des germes qui peuvent présenter un danger pour la santé du consommateur.

- La recherche des germes qui affectent la qualité marchande (organoleptique) et dégradent les composants du produit en formant des produits de métabolisme indésirable. Il s'agit des agents d'altération.
- La recherche des germes de contamination fécale représentés essentiellement par des coliformes et des streptocoques fécaux qui sont considérés comme un indice d'une mauvaise hygiène.
- La recherche des germes dits indicateurs technologiques. Cette recherche s'effectue habituellement sur une denrée alimentaire qui a subi un traitement de stabilisation (pasteurisation). Dans ce cas, la mise en évidence d'une bactérie végétative serait une preuve d'une défaillance du traitement thermique appliqué.

La recherche et le dénombrement des germes dans les produits à analyser sont réglementés par l'arrêté interministériel **N°35 du 27 Mai 1998**.

2.1. Méthodes d'analyses :

Le tableau ci après représente les germes recherchés dans les matières premières et leurs milieux de culture, leurs température et temps d'incubation.

Tableau III: milieux de cultures, température et temps d'incubation des germes recherchés dans les échantillons analysés

Echantillons analysés	Germes recherchés	Milieux de culture	T (°C) et temps d'incubation
Poudre de lait	Germes totaux	PCA	30°C/72H
	<i>Staphylococcus aureus</i>	GC.Braid Parker +additifs	37°C/24-48H
	Clostridium sulfitoréducteurs (CSR)	VF+ additives	46°C/24H
	Coliformes totaux	VRBL	37°C/24-48H
	Coliformes fécaux	VRBL	44°C/24-48H
	Levure et moisissure	Sabouraud	25°C/3 a 5jours
Cheddar	<i>Staphylococcus aureus</i>	GC.Braid Parker +additifs	37°C/24-48H
	Clostridium sulfitoréducteurs (CSR)	VF+ additives	46°C/24H
Beurre	Germes totaux	PCA	30°C/72H
	Coliformes totaux	VRBL	37°C/24-48H
	Coliformes fécaux	VRBL	44°C/24-48H
	<i>Staphylococcus aureus</i>	GC.chap+additifs	37°C/24-48H
	Levure et moisissure	Sabouraud	25°C/3 a 5jours
Eau de procès	Germes totaux	PCA	30°C/72H
	Coliformes fécaux	BCPL RHOTH	44°C/24-48H
	Clostridium sulfitoréducteurs (CSR)	VF+additives	46°C/24H
Produit fini	Germes totaux	PCA	30°C/72H
	Coliformes totaux	VRBL	37°C/24-48H
	Coliformes fécaux	VRBL	44°C/24-48H
	<i>Staphylococcus aureus</i>	GC,Chapman	37°C/24-48H
	Clostridium sulfitoréducteurs (CSR)	VF+additifs	46°C/24H
	Levure et moisissure	Sabouraud	25°C/3 a 5jours

2.1.1. L'eau de procès:

2.1.1.1. Recherche et dénombrement de la flore aérobic mésophile totale (germes totaux) :NF EN ISO 6222, juillet 1999

But:

Le dénombrement de ces germes reste meilleur moyen permettant d'estimer l'indice de salubrité et la qualité hygiénique de l'eau ; l'eau dont la flore totale est en dessus de la norme sera considéré comme impropre à la consommation due aux mauvaises conditions de stockage.

Mode opératoire:

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 1 ml dans chacune des deux boites de pétri vide préparées à cet usage.

Compléter ensuite chacune des boites avec environ 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 45 °C.

Faire ensuite des mouvements circulaire de va et vient en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.

Laisser solidifier sur paillasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5ml de la même gélose ou de gélose blanche. Cette couche a un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

Incubation:

- La première boite sera incubée, couvercle en bas à 22°C.
- La seconde sera incubée couvercle en bas à 37°C, pendant 72 heures avec :

Première lecture à 24 heures.

Deuxième lecture à 48 heures.

Troisième lecture à 72 heures.

Lecture:

La flore aérobic mésophile totale se présente dans les deux boites sous forme de colonies blanchâtres lenticulaires poussant en masse.

Dénombrement:

Il s'agit de dénombrer toutes les colonies, en tenant compte des facteurs suivants :

- Ne dénombrer que les boites contenant entre 15 et 300 colonies.
- Le résultat sera exprimé par UFC/ml d'eau à analyser à 22°C et à 37°C.

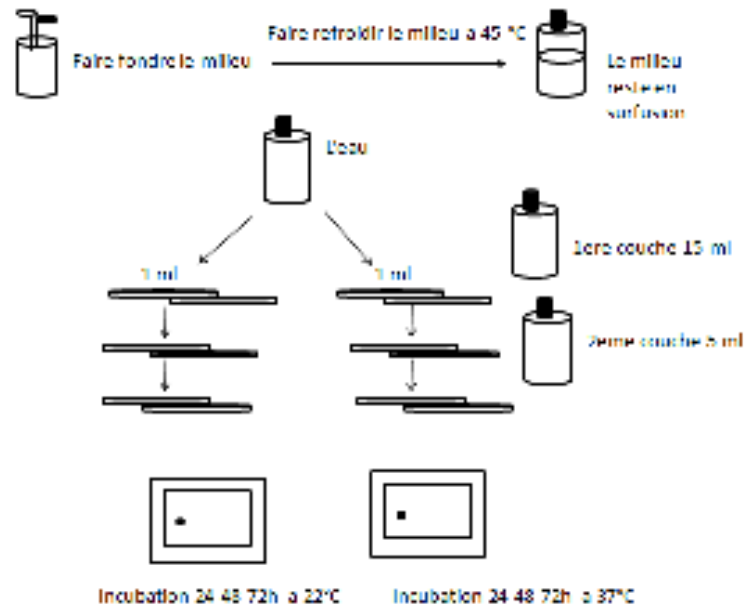


Figure N°3: recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale dans l'eau

2.1.1.2. Recherche et dénombrement des coliformes :

(NF EN ISO 9308-1, septembre 2000)

Les coliformes se présentent sous forme de Bacilles Gram négatifs (BGN), non sporogènes, oxydase négative, aéro-anaérobies facultatifs, capables de croître en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose avec production d'acides et de gaz, en 24 à 48 heures à 37°C.

Les coliformes sont considérés comme indices de contamination fécale. La recherche et le dénombrement des coliformes peuvent se faire selon deux méthodes de choix :

- Soit en milieu liquide sur BCPL par la technique du NPP (Nombre le Plus Probable).
- Soit par filtration sur membrane à 0,45µm en milieu solide en supposant la disponibilité d'une rampe de filtration.

Principe :

Technique en milieu liquide sur BCPL.

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir

- le test de présomption : réservé à la recherche des Coliformes totaux
- le test de confirmation : encore appelé test de Mac Kenzie et réservé à la Recherche des Coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

Mode opératoire :

Test de présomption :

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

- 50 ml dans un flacon contenant 50 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham
- 5 fois 10 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL D/C muni d'une cloche de Durham.
- 5 fois 1 ml dans 5 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham, comme l'indique la figure N°4 page 29.

Chasser le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

Incubation :

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

Lecture :

Sont considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

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

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrites. La lecture finale se fait selon les prescriptions de la table du NPP.

Tableau IVII : Illustration de test de présomption

Inoculum	Test de présomption	Nombre caractéristique
1 x 50 ml	+	1
5 x 10 ml	+	3
	+	
	+	
	-	
	-	
5 x 1 ml	+	2
	+	
	-	
	-	
	-	

Le nombre caractéristique est donc « 132 » ; ce qui correspond sur la table de Mac Grady au nombre 14. On considère alors qu'il y a 14 Coliformes par 100 ml d'eau analysée.

Test de confirmation ou test de Mac Kenzie :

Le test de confirmation ou test de Mac Kenzie est basé sur la recherche de Coliformes thermotolérants parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia coli*.

Les coliformes thermotolérants ont les mêmes propriétés de fermentation que les coliformes mais à 44°C. *Escherichia coli* est un coliforme thermotolérant qui entre autre :

- produit de l'indole à partir du tryptophane à 44°C,
- donne un résultat positif à l'essai au rouge de méthyl,
- ne produit pas de l'acétyl méthyl carbinol, n'utilise pas le citrate comme source unique de carbone.

Les tubes de BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des Coliformes totaux feront l'objet d'un repiquage à l'aide d'une ose bouclé dans des tubes contenant le milieu Schubert muni d'une cloche de Durham, comme l'indique la figure N°5.

Chasser le gaz présent éventuellement dans les Cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum.

Incubation :

L'incubation se fait cette fois-ci au bain marie à 44°C pendant 24 heures.

Lecture :

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois un dégagement gazeux, et un anneau rouge en surface, témoin de la production d'indole par *Escherichia Coli* après adjonction de 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs.

La lecture finale s'effectue également selon les prescriptions de la table du NPP en tenant compte du fait qu'*Escherichia Coli* est à la fois producteur de gaz et d'indole à 44°C.

Illustration En reprenant l'exemple précédent relatif au dénombrement des Coliformes totaux , cela suppose que nous avons 6 tubes à repiquer à savoir :

- le flacon de BCPL D/C.
- 3 tubes sur 5 de BCPL D/C.
- 2 tubes sur 5 de BCPL SIC.

Inoculum	Test de confirmation		Nombrecaracteristique
	gaz	indole	
1 x50 ml	+	+	1
5 x 10 ml	+	-	1
	+	+	
	-	+	
5 x 1 ml	-	+	1
	+	+	

+: presence

-: absence

Tableau Récapitulatif le nombre caractéristique relatif au dénombrement des Coliformes fécaux est donc « 111 », ce qui correspond sur la table du NPP au chiffre 5. Le résultat final sera donc de :

14 Coliformes totaux dans 100 ml d'eau à analyser 5 Coliformes fécaux dans 100 ml d'eau à analyser.

Remarque : Etant donné que les Coliformes fécaux font partie des Coliformes totaux, il est pratiquement impossible de trouver plus de Coliformes fécaux que de Coliformes totaux.

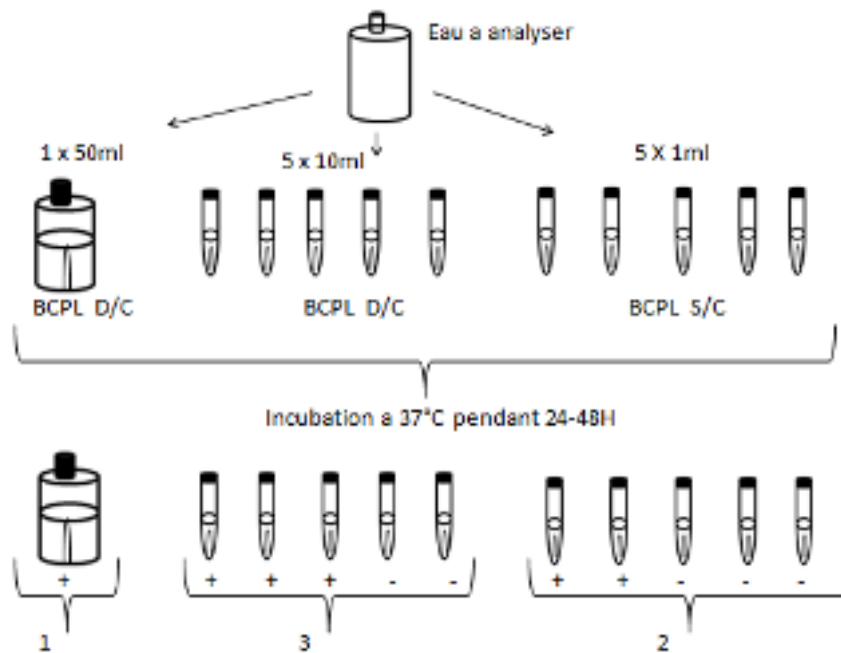


Figure N°4 : recherche et dénombrement des coliformes totaux

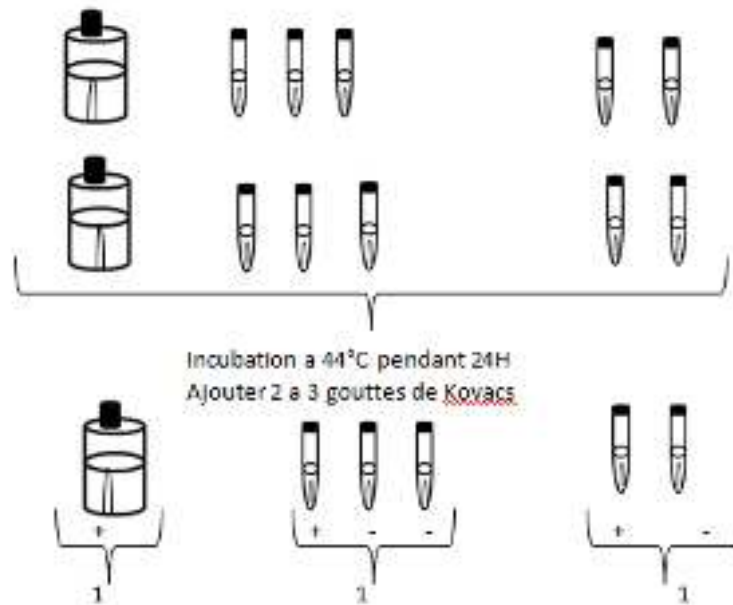


Figure N°5 : recherche et dénombrement des coliformes fécaux.

-La recherche et le dénombrement des coliformes par filtration sur membrane en milieu solide TTC en supposant la disponibilité d'une rampe de filtration.

Principe :

Ce milieu contient une base nutritive riche, il contient trois critères :

- Le TTC qui montre le pouvoir réducteur des bactéries : les coliformes Présentent des colonies de coloration jaune ou orangée, due à la réduction du TTC en formazan insoluble
- Le lactose dont l'utilisation est révélé par le virage du bleu de bromothymol.
- Le Tergitol 7 est un inhibiteur permettant de sélectionner les coliformes : (inhibe la croissance des micro-organismes à gram positif).

Technique :

- Tout d'abord, il faudrait stériliser l'entonnoir à l'aide d'un bec bunsen.
- Le refroidir avec de l'eau distillée stérile.
- Mettre en place de façon aseptique une membrane de 0.45 µm entre la membrane poreuse et l'entonnoir à l'aide d'une pince stérile.
- Fixer ce dernier avec la pince correspondante.

Pour la recherche des coliformes totaux :

- Remplir de façon aseptique l'entonnoir avec 100 ml d'eau à analyser.
- Actionner la pompe à vide pour permettre le passage de l'eau à travers la membrane.
- Retirer ensuite la membrane à l'aide d'une pince stérile et la placer dans une boîte de pétrie de 45 mm de diamètre contenant de la gélose TTC.
- Cette boîte sera incubée à 37 °C, pendant 24-48H et servira à la recherche des coliformes totaux.

Pour la recherche des coliformes fécaux :

Suivre les mêmes étapes citées avant puis incuber la boîte à 44°C pendant 24H.

Lecture :

- Après 24H d'incubation, les coliformes totaux et fécaux apparaissent sous forme de petites colonies jaunes ou orangés, lisses légèrement bombées.
- Etant donné le caractère sélectif de la gélose TTC, ne pousseront théoriquement que les coliformes.
- Ne dénombrer que les boîtes referme en 15 et 300 colonies.
- Le nombre des colonies trouvées sera exprimé dans 100 ml d'eau à analyser.

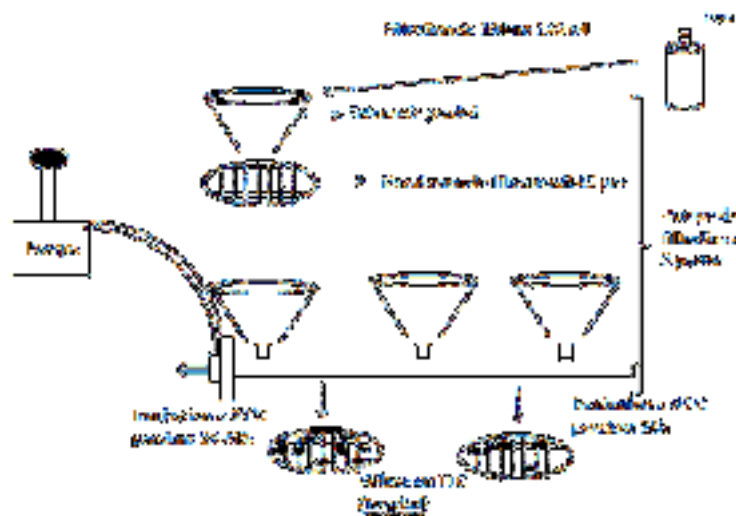


Figure N°6: Recherche et dénombrement des coliformes par filtration sur membrane.

Après 24 H d'incubation :

- A 37°C qui concerne la recherche des coliformes totaux.
- A 44°C qui concerne la recherche des coliformes fécaux.
- Procéder au dénombrement de toutes les colonies caractéristiques et rapporter ce nombre à 100 ml.

2.1.1.3. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :**(ISO 7402)****Principe :**

- La recherche des streptocoques fécaux se fait en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable.
- Le dénombrement se fait en milieu sélectif, on utilise dans un premier temps un milieu d'enrichissement relativement sélectif le milieu **ROTHE**. Et dans un deuxième temps, les tubes positifs feront l'objet d'un repiquage dans le milieu d'enrichissement **EVA Litsky**.

Mode opératoire :

- **Test de présomption :**
- Préparer un flacon de 50 ml de milieu sélectif **ROTHE** double concentration, 5 tubes double concentration de **ROTHE** et tubes simple concentration de **ROTHE**, (les tubes sont posés dans un portoir).
- Porter aseptiquement 50 ml d'eau à analyser à l'aide d'une pipette graduée stérile, et les verser dans un flacon de 50ml.
- Ajouter aseptiquement 10ml d'eau à analyser à chaque une des boites de pétrie contenant le milieu **ROTHE** double concentration.
- Ajouter aseptiquement 1 ml d'eau à analyser à chaque une des boites de pétrie contenant le milieu **ROTHE** simple concentration.
- Bien mélanger l'inoculum et le milieu.

Incubation :

Le flacon et les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 à 48H.

Lecture :

Les tubes qui sont considérés comme positifs sont qui présentent un trouble microbien qui ferrant objet d'isolement par repiquage sur milieu **EVA Litsky**.

• Test de confirmation :

- Prendre les tubes positifs précédents et réaliser un repiquage (3 à 4 gouttes) sur le milieu **EVA Litsky**.
- Bien mélanger l'inoculum et le milieu.

Incubation :

L'incubation des tubes est réalisée à 37°C pendant 24 H.

Lecture :

Les tubes positifs d'**EVA Litsky** présentent à la fois :

- Un trouble microbien.

- Une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

- **Dénombrement :**

Le dénombrement final s'effectue selon les prescriptions de la table de **Mac Grady**.

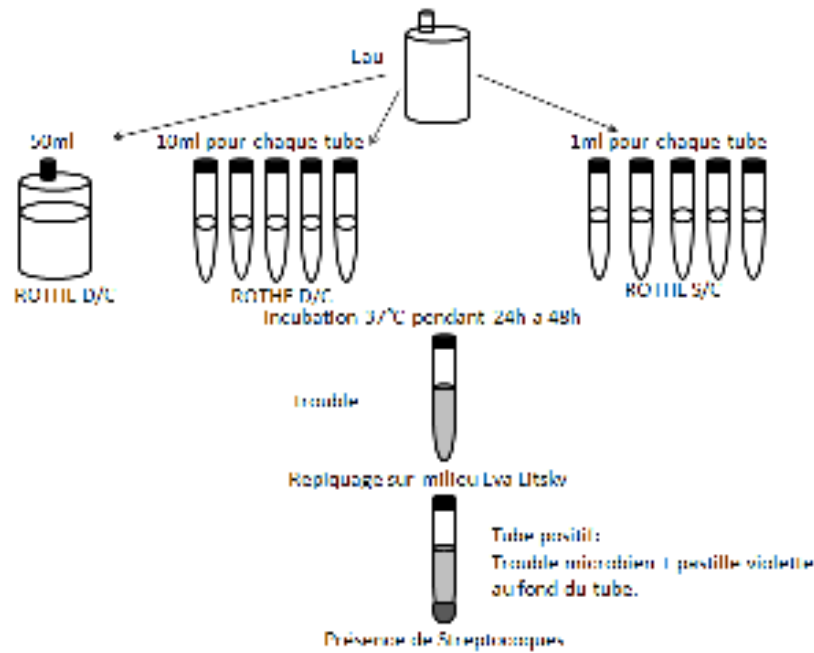


Figure N°7 : Recherche et dénombrement des Streptocoque fécaux

2.1.1.4: Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs :

ISO 6461-1:1986

- **But :**

Parmi les paramètres retenus pour déterminer la qualité microbiologique d'une eau, les Clostridium sulfito-réducteurs sont souvent considérés comme témoin de pollution ancienne. Ces bactéries sont des hôtes normaux de l'intestin de l'homme et des animaux, mais on les rencontre fréquemment dans la nature et en particulier dans le sol (bactéries telluriques) et dans la matière organique en cours de putréfaction. Ces germes sont très résistants en raison de leur forme sporulée.

- **Principe :**

L'eau à analyser est chauffée à 80°C pendant 5 à 10 minutes au bain marie. Il ya dans ces condition, la sporulation des formes végétatives.

Le milieu utilisé est la gélose viande foie (VF), additionnée de sulfite de sodium et l'alun de fer, l'action des germes sulfito-réducteurs conduit à la réduction de sulfite de sodium en présence d'alun de fer en sulfure, donnant la couleur noire aux colonies.

• **Mode opératoire :**

- Faire fondre un flacon de gélose viande foie, et le refroidir dans un bain marie d'eau à 45 °C puis ajouter une ampoule d'alun de fer à 1 ml et une ampoule de sulfite de sodium à 5 ml.
- Mélanger soigneusement et aseptiquement le milieu et le maintenir dans une étuve à 45°C jusqu'au moment de l'emploi.
- Prendre 25 ml d'eau à analyser dans un tube stérile qui sera soumis à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes.
- Réaliser un choc thermique sous l'eau de robinet pour détruire tous les formes végétatives.
- Répartir le contenu du tube dans 4 tubes différents à raison de 5 ml par tube.
- Ajouter environ 18 à 20 ml de gélose VF.
- Mélanger doucement le milieu et l'inoculum en évitant les bulles d'air et Laisser solidifier.
- Incuber à 46°C pendant 24H.
- Lecture :

La présence des Clostridium sulfito-réducteurs correspond à l'apparition de colonies noires ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0.5 cm. Le résultat final est exprimé en nombre de spores par 20 ml de l'eau à analyser.

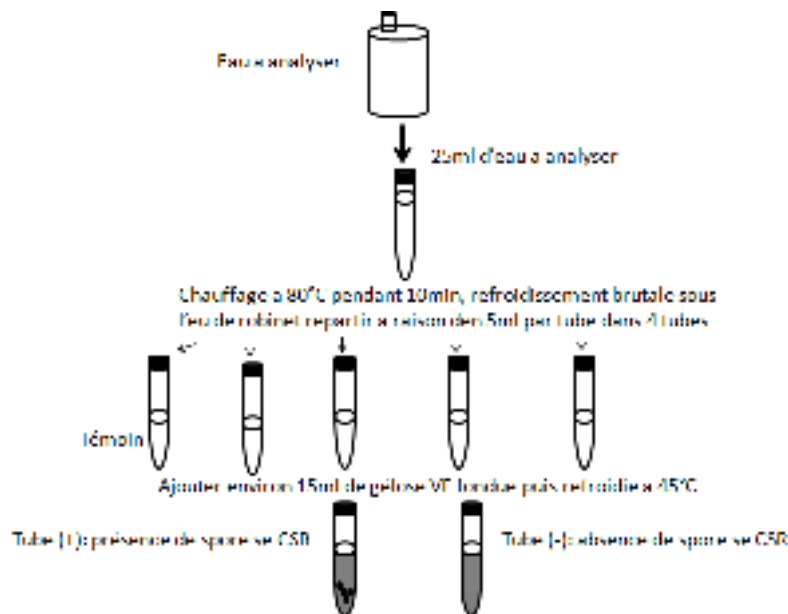


Figure N°8 : recherche et dénombrement de CSR dans l'eau

2.1.2. Préparation des échantillons pour les analyses microbiologiques :

Les dilutions sont réalisées selon la norme AFNOR NF V08-010 de mars 1996 parallèlement avec la norme ISO 6887, 1993.

Les dilutions sont toujours effectuées dans les conditions aseptiques avec le maximum de précision. Elles sont nécessaires dans le cas de produit contenant un nombre élevé de micro-organismes.

Entre le moment de la préparation de la suspension et la mise en culture, il ne doit pas s'écouler plus 45 minutes.

2.1.2.1. Produit liquide (lait reconstituée après pasteurisation,..) :

Suspension mère:

La suspension mère (SM) est constitués par l'échantillon, et suivra ensuite les dilutions décimales, tout en considérant la suspension mère à 0, la première dilution sera donc au 1/10.

Préparation des dilutions décimales :

- Dans un tube stérile contenant 9 ml de diluant (eau physiologique, TSE), introduit aseptiquement 1 ml de la suspension mère (SM), afin de réaliser des suspensions diluées en 1/10 homogénéisées.
- A partir de la dilution 1/10, on prélève à l'aide d'une pipette stérile 1 ml que l'on introduit dans un tube stérile contenant 9 ml de l'eau physiologique(en s'assurant qu'une nouvelle pipette est utilisé pour chaque dilution),on homogénéise et on obtient ainsi la dilution 1/100.
- On prélève ensuite aseptiquement 1ml de la dilution 1/100 que l'on introduit dans un autre contenant 9 ml de l'eau physiologique ou TSE (Tryptone sel) qui donnera la dilution 1/1000.

Remarque :

Lors de l'ensemencement, il est recommandé de commencer par la plus haute dilution, dans le but de ne changer la pipette.

2.1.2.2. Produit solide ou semi solide (poudre de lait, produit fini..) :

Dilution mère :

Introduit aseptiquement à l'aide d'une spatule stérile 25 g d'échantillon à analyser (poudre de lait, fromage) dans un flacon contenant 225ml de l'eau physiologique, on fait ensuite une agitation pour permettre l'homogénéisation de la solution qui constitue la première dilution 1/10.

Préparation des dilutions décimales :

- On prélève aseptiquement 1 ml de la dilution mère à l'aide d'une pipette pasteur stérile et on l'introduit dans un tube stérile contenant 9 ml de l'eau physiologique, c'est la dilution 1/100 ou 10^{-2}
- On prélève aseptiquement ml de la dilution 1/100 à l'aide d'une pipette pasteur stérile et on l'introduit dans un tube stérile contenant 9 ml de l'eau physiologique, c'est la dilution 1/1000 ou 10^{-3}

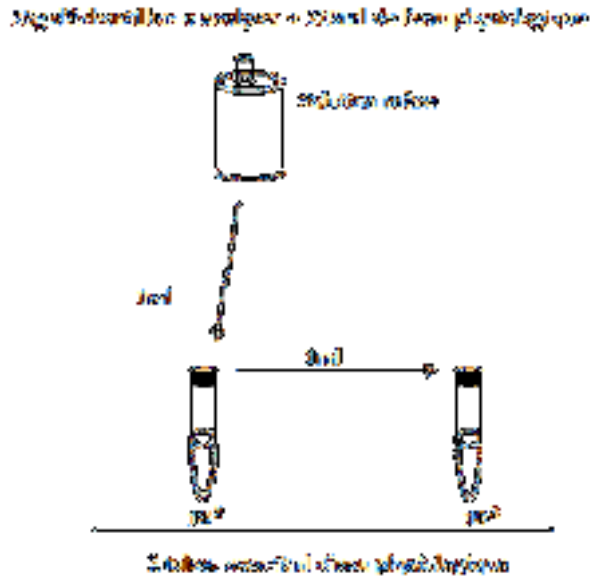


Figure N°9: préparation des déluions décimales de produit solide ou semi solide

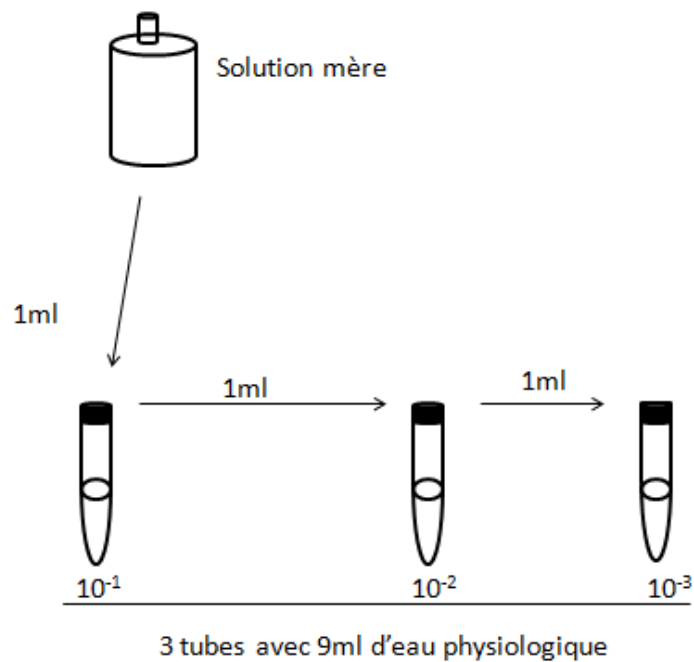


Figure N°10: préparation des dilutions décimales de produit liquide

2.1.2.3. Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (germes totaux) :

NF EN (ISO 4833)

But :

Le dénombrement de la flore mésophile, concerne tous les micro-organismes présents afin d'estimer le degré de pollution microbienne du produit, donc sa salubrité.

• **Principe :**

Le dénombrement est réalisé sur gélose PCA par ensemencement en masse et comptage des colonies à aspect lenticulaire et normale.

• **Mode opératoire :**

- Porter aseptiquement 1 ml des dilutions décimales dans des boites de Petri vide et stérile.
- Compléter ensuite avec environ de 15 ml de gélose PCA fondue et refroidie à 45°C.
- Réaliser des mouvements en 8.
- Laisser les boites solidifiées sur la pailleasse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose (protection contre la contamination).
- Incuber les boites couvercle en bas à 30°C pendant 72 avec lecture à 24,48 et 72H.

• **Lecture**

Il s'agit de compter toutes les colonies poussées sur les boites en tenant compte des facteurs suivants:

- Ne dénombrer que les boites contenant entre 15 et 300 colonies ;
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution ;
- Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions ;
- Les résultats obtenus sont exprimés en germe/g ou germe/ml ou UFC/ml de produit à analyser.

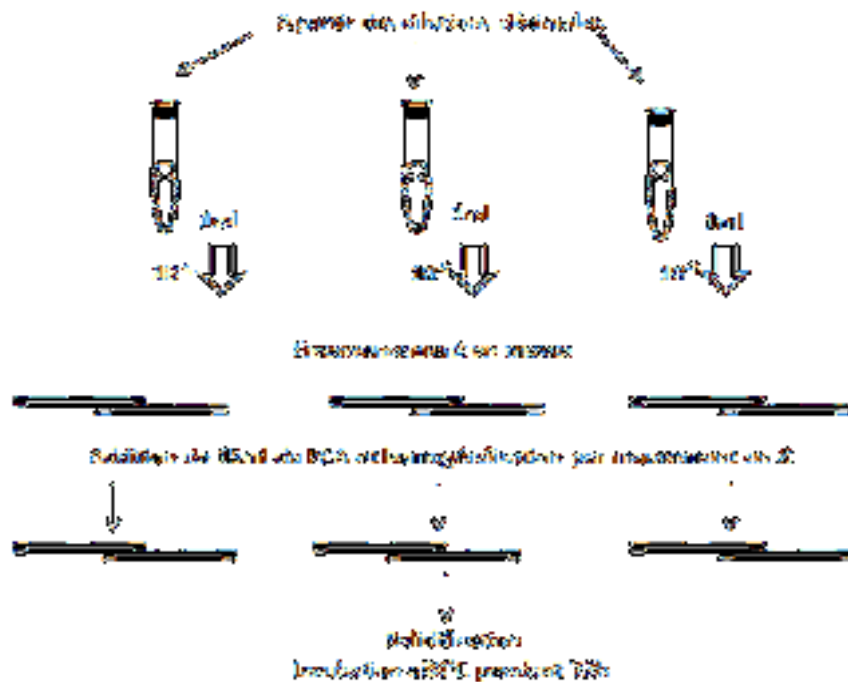


Figure N°11: Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale

2.1.2.4. Recherche et dénombrement des coliformes

(NF 08-16 1991/ISO 4832)

But :

Ce dénombrement a pour but la recherche des coliformes d'une manière générale, et des coliformes fécaux ou d'*Escherichia. Coli* en particulier afin d'estimer l'ampleur de la contamination fécale de notre produit.

Principe :

La recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux sont réalisés :

- Soit sur milieu solide sur gélose VRBL(gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet et au Rouge Neutre), qui refferme une teneur en sels biliaries et en citrate suffisante pour inhiber la majeure partie de la flore Gram positif tout en préservant le développement des coliformes, le lactose est le seul glucide fermenté et le rouge neutre c'est l'indicateur de pH.
- Soit sur milieu liquide : par la technique du nombre le plus probable NPP à l'aide de bouillon VBL ((Bouillon Lactosé Bilié au Vers Brillant).

Mode opératoire :

- Inoculer aseptiquement dans une boite de Pétri stérile 1ml de l'échantillon ou de la dilution primaire, et de la même façon pour les dilutions décimales suivantes et couler les boites par la gélose VRBL en surfusion dans chaque boite dePétri(ensemencement en masse).
- Faire ensuite des mouvements circulaire et de va et vient en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée
- Par la suite réaliser une double couche du milieu VRBL, en surface du milieu ensemencé.
- Incuber les boites à 37°C pendant 24 à 48 H pour les coliformes totaux et à 44°C pendant 24 à 48 H pour les coliformes fécaux.

Lecture :

- Les coliformes fécaux apparaissent sous forme de petites colonies fluorescentes de couleur violacée et parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile, d'un diamètre de 0.5 cm pour les coliformes et 1 ml pour *E. Coli*, dont le nombre est compris entre 15 et 300. la lecture doit se faire dans une chambre noire et sous une lampe à UV.
- multiplier le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
- Le résultat est exprimé en UFC/g ou UFC/ml.

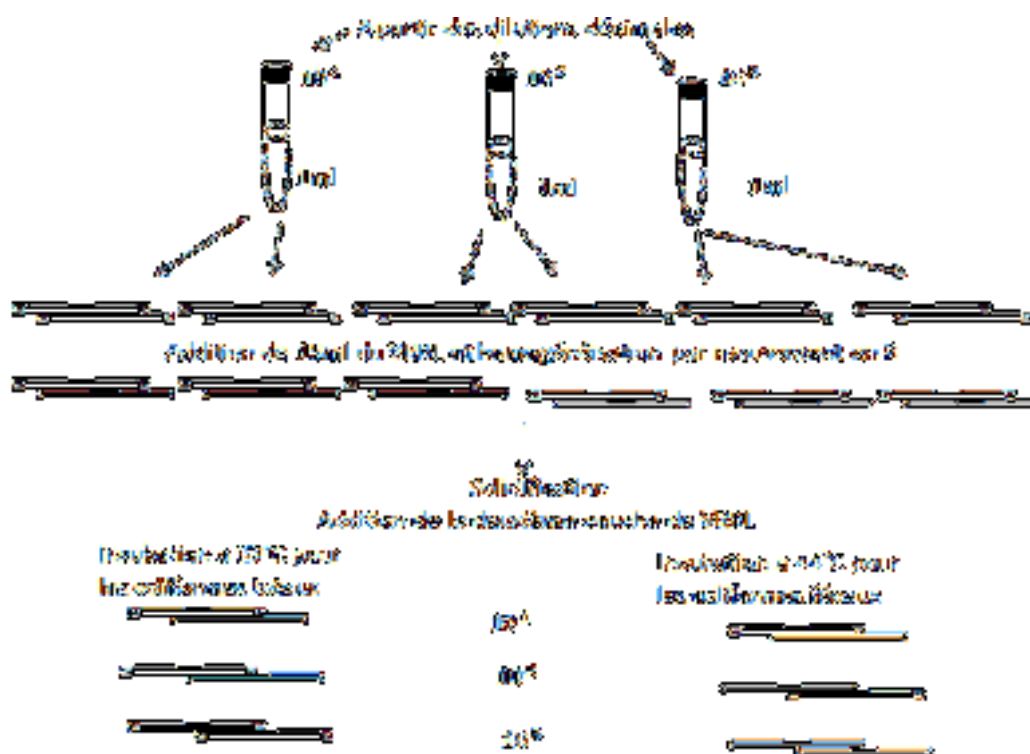


Figure N°12: recherche et le dénombrement des coliformes totaux et fécaux

2.1.2.5. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* :

(ISO 6888-2)

But :

La recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus* permettant de savoir si le produit à analyser présente des risques pour le consommateur parce qu'ils sont la cause d'une éventuelle intoxication alimentaire.

Principe :

La recherche des *Staphylococcus aureus* nécessite deux étapes consécutives :

- La première consiste en l'enrichissement sur milieu GC (Giolitti Contonii) qui permet une meilleure revivification des souches.
- La deuxième dans l'isolement sur milieu Chapman qui a un pouvoir inhibiteur obtenu par de fortes concentration de chlore de sodium (75%) qui sélectionne les micro-organismes halophiles parmi lesquels figurent les Staphylocoques entourés d'un halo jaune due à l'utilisation du mannitol avec acidification du milieu, et virage de l'indicateur (le rouge de phénol) du rouge au jaune.

Mode opératoire :

Enrichissement :

- En premier lieu, on prépare le milieu d'enrichissement par l'addition de 15 ml de téllurite de potassium dans un flacon de GC .
- On prélève aseptiquement 1ml des dilutions décimales dans des tubes à essais stériles.
- On ajoute dans chaque tube 15 ml du milieu d'enrichissement.
- On mélange le milieu et l'inoculum et on incube à 37°C pendant 24 à 48H.

Lecture :

Sont considérés comme positifs, les tubes ayant viré au noir suite à la réduction du téllurite de potassium en tellure.

Pour assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *S.aureus*, ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose Chapman (préalablement fondue puis coulée en boîtes de Petri et bien séchées).

Isolement :

On effectue un isolement des tubes positifs par ensemencement en stries sur la surface du milieu Chapman.

Ce dernier contient une forte teneur en NaCl inhibant la croissance de nombreuses bactéries autres que les Micrococcus et les Streptococcus.

Lecture :

On repère les colonies suspectes : Staphylocoques sous formes de colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, légèrement bombées et pigmentées par le pigment caroténoïdes en jaune ocre.

La confirmation se fait par un test de la catalase et de la coagulase.

• Test de catalase :

Prendre une colonie sur une lame et ajouter une goutte de l'eau oxygénée H₂O₂ et si on observe des bulles d'air qui se dégagent on peut dire que la colonie possède une catalase (catalase positif).

• Test de coagulase :

Ce test nous permet de déduire s'il s'agit de *S.aureus*.

- Prendre une colonie du milieu Chapman et la mettre dans un bouillon nutritif, et l'incubé à 37°C pendant 18H.
- Mesurer dans un tube à essai stérile 0.5 ml de plasma de lapin + 0.5 ml de la culture en bouillon de staphylocoque à tester.
- Mélanger et incuber le tube à 37°C pendant 18 à 24H
- La formation d'un caillot est vérifiée après des temps d'incubation.

Les résultats retrouvés sont multipliés par l'inverse de la dilution, et ils sont exprimés en UFC/ml ou UFC/g.

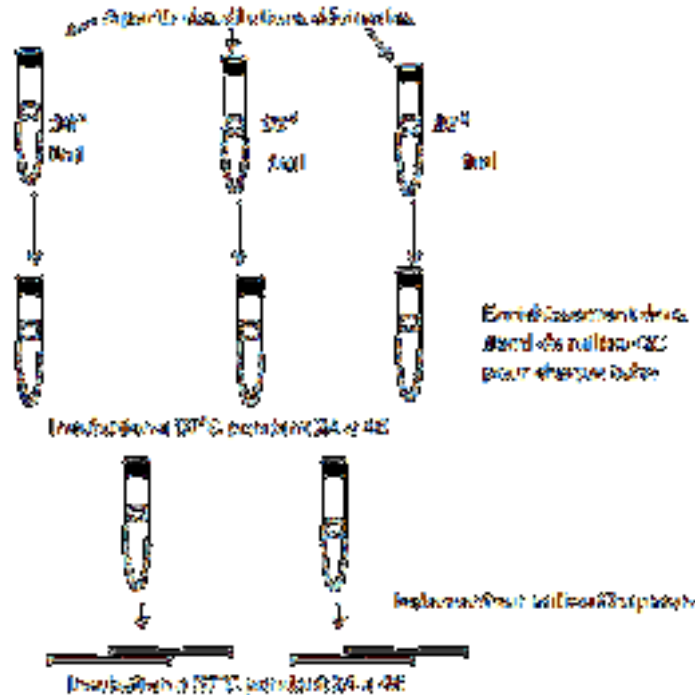


Figure N°13: Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

2.1.2.6. Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs : (NF V08-061)

But :

La recherche et le dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs ont pour but de déterminer l'existence ou non d'une contamination fécale ancienne (car leur spores sont très résistants), et de savoir si l'aliment présente un risque pour la santé du consommateur.

Principe :

Le dénombrement des anaérobies sulfito-réducteurs aura lieu en milieu gélose Viande foie additionné de 1 ml d'alun de fer et de 5 ml de sodium. Notons que les anaérobies sulfito-réducteurs réduisent les sulfites en sulfures par une enzyme : la sulfito-réductase, ce qui précipite les ions de fer et donne des colonies de couleur noir.

Mode opératoire :

- Au moment de l'emploi et après fusion de la gélose VF, celle-ci est refroidie dans un bain d'eau à 45°C, ajouter une ampoule d'alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium (5%).
- mélanger soigneusement et aseptiquement.
- prévoir une série de tubes stériles à raison de deux tubes par dilutions, et répartir aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double.

- porter les tubes au bain marie à 80°C pendant 10 min, puis les refroidir immédiatement sous l'eau de robinet (choc thermique), afin d'éliminer toute forme végétative et ne laisser que les forme sporulées.
- ajouter environ 15 ml de gélose VF prête à l'emploi dans chaque tube.
- homogénéiser soigneusement.
- laisser les tubes solidifier sur pailleasse environ 30 min et les incuber après à 37°C pendant 24 à 48H avec une première lecture à 16 H.

Lecture :

Les tubes considérés positifs sont ceux qui contiennent des colonies noires de spores d'anaérobies sulfito-réducteurs.

Les résultats seront exprimés en nombre de spore par ml ou g de produit analysé.

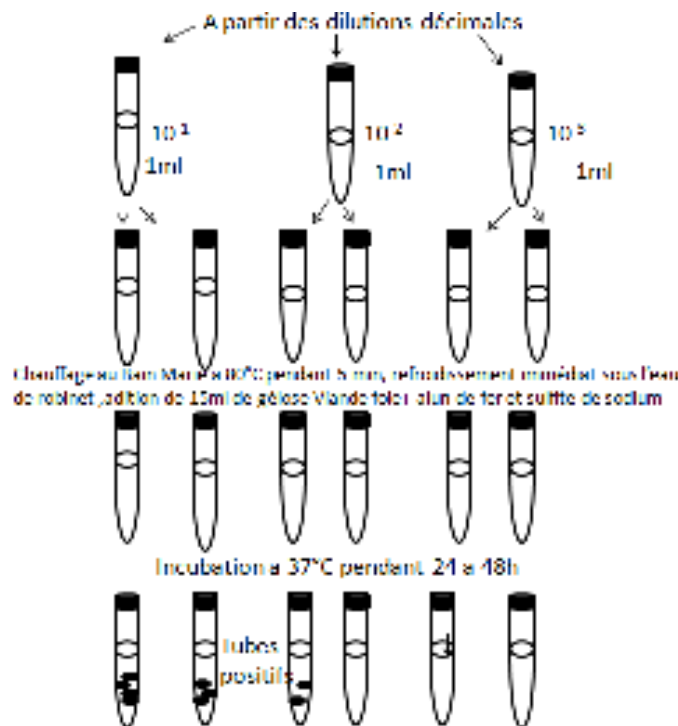


Figure N°14: Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs

2.1.2.7. Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

(NF V 08-059 /ISO 6611)

But :

La recherche et le dénombrement des levures et moisissures sont réalisés en raison des modifications qu'elles apportent et qui sont :

altération d'ordre organoleptique, nutritionnelle et même esthétique et l'aptitude de moisissure à provoquer des allergies ou des intoxications dues à l'ingestion des mycotoxines notamment les aflatoxines pouvant nuire la santé du consommateur.

Principe :

Le dénombrement est effectué en milieu sélectif doté de propriétés antibactériennes ; les milieux utilisés sont :

-OGA : additionnée d'ATB : oxytétracycline à raison de 0.1 mg/ml.

-Sabauraud+ATB : chloramphénicol (ATB thermorésistant) à raison de 0.5mg/ml

Mode opératoire :

- ensemercer 0.1 ml de l'échantillon ou de la suspension mère dans une boîte pétrie contenant le milieu OGA.
- Etaler cette suspension à l'aide d'un râteau stérile.
- Compléter de la même manière pour les dilutions décimales suivantes.
- Incuber ces boîtes à 25°C pendant 3 à 5 jours avec des lectures intermédiaires les 3ème et 4ème jours si nécessaire.

Lecture et dénombrement :

Lors de la lecture, il faut tenir en compte du facteur de dilution, en multipliant le nombre trouvé par l'inverse de la dilution correspondante.

Le dénombrement se fait par distinction entre les levures et les moisissures d'après leurs aspects macroscopiques :

- **Les moisissures** : pigmentées sous forme filamenteuse plus au moins grand à aspect velouté.
- **Les levures** : arrondies, brillantes, plates ou convexes à contours réguliers, elles sont pigmentées en jaune, en orange ou en blanc. Les résultats sont exprimés en UFC/ml ou UFC/g de produit à analyser.

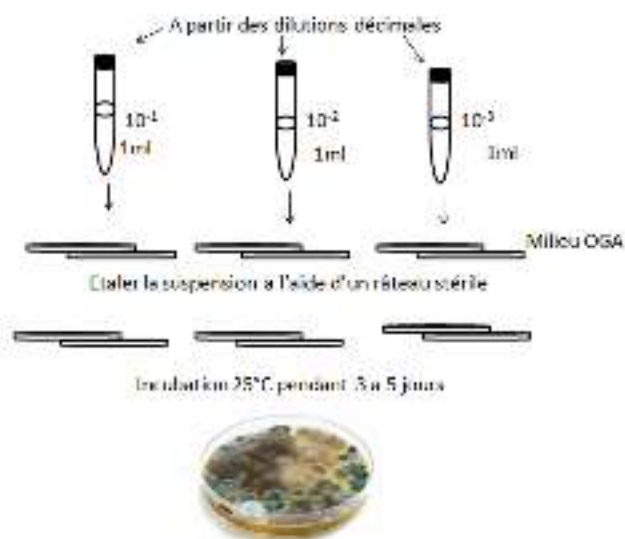


Figure N°15 : recherche et dénombrement des levures et moisissures

3. Technique d'analyses physicochimiques :

Le contrôle physicochimique a pour but d'analyser les matières premières, et les produits finis.

Le choix des paramètres d'analyses des produits dépend de l'influence de ceux-ci sur la qualité hygiénique et organoleptique ils sont indiqués dans le tableau VII.

Tableau VI: Représentation des analyses physicochimiques de la matière première et produit fini.

	pH	MG	EST	TA, TAC, TH, Cl_t, Cl_f	G/S
Eau de procès	+	-	-	+	-
Beurre	-	+	+	-	-
Cheddar	+	+	+	-	-
Poudre de lait	+	+	+	-	-
Produit fini	+	+	+	-	+

+: analyse effectué

-: analyse non effectué

3.1. Méthodes d'analyses :

3.1.1. Détermination du pH (d'après le fascicule de documentation AFNOR F DVO4-035 de juillet 2009)

Principe :

Le pH est déterminé directement à l'aide d'un pH mètre muni de deux électrodes qu'on plonge dans l'échantillon, l'une donne la valeur de pH, l'autre mesure la température de cet échantillon.

Mode opératoire :

Dans le cas de produit liquide :

Etalonner d'abord le pH mètre à la température de mesure par utilisation de deux solutions tamponnes (pH=4) et (pH=7).

Introduire la même électrode dans la solution à contrôler.

Laisser la valeur indiquée se stabilise.

Faire la lecture de pH directement sur l'écran.

Dans le cas de produit solide :

Mettre le produit dans un Stomacher et mixer le pendant 2 minute.

A l'aide d'une spatule étaler le produit dans une boîte Petri, on évite les trous puis mesurer le pH à l'aide d'un pH mètre.

Lire directement la valeur sur le pH mètre.

Expression des résultats :

Les résultats sont exprimés en unité de pH, à la température de 20°C sous la forme :

$$\text{pH à } 20^{\circ}\text{C} = x, xx$$

3.1.2. Détermination de l'alcalinité de l'eau (TA, TAC) (AFNOR, 1986)

L'alcalinité de l'eau correspond à la présence de bicarbonates (HCO_3^-) et d'hydroxyde (OH^-)

Principe :

L'évaluation de l'alcalinité de l'eau se fait par un acide minéral dilué en présence d'un indicateur coloré, le virage a lieu quant l'excès d'acide agit sur le bicarbonates pour donner l'acide carbonique.

-(TA) : Titre alcalimétrique (AFNOR, 1986)

Objectif :

La mesure de Titre alcalimétrique permet de connaître la teneur d'eau à analysée en hydroxyde et en bicarbonate, il est exprimé par la formule suivante :

$$\text{TA} = \text{OH}^- + \text{CO}_3^{2-}$$

Mode opératoire :

- Prélever 100ml d'eau à analysée et mettre dans un bécher.
- Ajouter 2 gouttes de phénol- phtaléine, une coloration rose se développée si la réaction est positive.
- Verser doucement l'acide sulfurique (0.02N), à l'aide d'une burette. On agite jusqu'à la décoloration complète de la solution.
- Dans le cas contraire où la solution est incolore c'est-à-dire le TA est nul et le pH inférieur à 8 donc l'eau est dépourvu du carbonate.
- **Expression des résultats :**

$$\text{TA} = V$$

TA : Titre alcalimétrique (°F).

V : volume d'acide sulfurique versé en ml.

Avec : 1°F correspond à 10 mg de carbonate de calcium.

- Titre alcalimétrique complet de l'eau (TAC) (AFNOR, 1986)**Objectif :**

La mesure de TAC permet de connaître la teneur totale en hydroxyde, carbonate, hydrogénocarbonate.

La formule de TAC :

**Mode opératoire :**

-Mettre dans un bécher 100ml d'eau à analysée.

-Ajouté 2 gouttes de méthyle orangé et on titre à nouveau avec la même solution d'acide sulfurique (H_2SO_4) jusqu'au le virage du jaune au jaune orangé, $\text{pH} = 4.3$.

-Expression des résultats :

Le résultat de titre alcalimétrique complet est donné par la lecture directe sur burette de volume d'acide sulfurique pour le titrage.

$$\text{TAC} = V$$

Avec : TAC : titre alcalimétrique complet (°F).

V : volume d'acide sulfurique versé en ml.

3.1.3. Détermination de titre hydrométrique de l'eau (TH) :(AFNOR, 1986)**Objectif :**

Le titre hydrométrique indique la teneur totale de l'eau en sel de calcium et magnésium.

Le TH correspond à la somme des concentrations des ions Ca^{2+} et Mg^{2+}

Elle est définie par l'expression suivante :

$$\text{TA} = \text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$$

Principe :

Consiste à doser un volume d'eau avec le sel di sodique d'acide d'EDTA, en présence de NET coloré comme indicateur avec une solution tampon ammoniacal à $\text{pH} = 10$.

Lors de titrage, l'EDTA réagit avec les ions Ca^{2+} et Mg^{2+} libre en solution puis au point d'équivalence avec les Ca^{2+} et Mg^{2+} combinés. Ce dernier(EDTA) est libéré et provoque un changement de couleur du violet au bleu.

Mode opératoire :

Mettre 100ml d'eau à analyser dans un bécher.

Ajouter 2ml de solution tampon ammoniacal ($\text{pH} = 10$).

Ajouter quelque goutte de noir Erichrome.

Si la couleur obtenue est bleu, le TH est nul.

Si la solution obtenue est violette, procéder au titrage par la solution EDTA jusqu'à le virage au bleu.

Expression des résultats :

La dureté hydrométrique totale s'exprime en degré français selon la formule suivante

$$TH=V$$

Avec : TH : titre hydrométrique en °F.

V : volume nécessaire de la solution EDTA utilisé pour le titrage en ml.

3.1.4. Détermination du chlore libre et du chlore total (AFNOR, 1986)

Objectif

La détermination de chlore libre(Cl_2) qui représente l'association de deux molécules chlore (Cl) pour donner une substance active de chlore et de chlore total.

Principe :

Pour le dosage de chlore libre on utilise un appareil automatique appelé chlore-mètre.

Mode opératoire :

Mettre une pastille de DPD dans un tube contenant 10ml d'eau.

Si l'eau reste incolore, le test est négatif ce qui signifie l'absence de chlore.

Si l'eau devient rose, le test est positif ce qui signifie la présence de chlore.

- Les résultats obtenus sont exprimés en parties par million (ppm).

3.1.5. Détermination de la matière grasse :

3.1.5.1. Détermination de la matière grasse de la poudre du lait MÉTHODE ACIDOBUTYROMÉTRIQUE (D'après recueil AFNOR — ITSV 1986) :

Principe :

- Dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique.

- Séparation de la matière grasse du lait par centrifugation, dans un butyromètre, celle-ci étant favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool iso amylique.

Mode opératoire :

- Introduire 10 ml d'acide sulfurique dans le butyromètre (ne pas mouiller le col du butyromètre avec l'acide).

- Ajouter 8 ml d'eau à l'aide de la pipette en laissant se vider très lentement afin d'éviter un mélange avec l'acide.

- Peser $2,5 \pm 0,005$ g de l'échantillon, sur un petit carré de papier sulfurisé par exemple.

- Introduire quantitativement la prise d'essai dans le butyromètre.

- Ajouter 1 ml d'alcool iso amylique à l'aide du mesureur (ne pas mouiller le col du butyromètre).

- Boucher puis secouer d'abord horizontalement le butyromètre maintenu dans une position verticale afin d'éviter une attaque trop brutale du lait par l'acide.
- Retourner ensuite et secouer le butyromètre à plusieurs reprises.
- Lorsque le lait est complètement dissous, maintenir le butyromètre bouchon vers le haut, et attendre que le mélange ait entièrement rempli l'ampoule terminale.
- Procéder à plusieurs retournements successifs, afin de rendre le liquide homogène.
- Placer le butyromètre dans le bain d'eau chaude pendant 5 minutes.
- Centrifuger pendant 5 minutes.
- Retirer le butyromètre de la centrifugeuse.

Ajuster le bouchon si nécessaire pour amener la colonne de matière grasse dans la partie graduée.

- Plonger le butyromètre dans le bain d'eau, le bouchon dirigé vers le bas.

Le laisser pendant 5 minutes avant d'effectuer la lecture.

- S'assurer qu'il n'a pas été projeté de matière grasse dans l'ampoule terminale au cours des manipulations.
- Maintenir le bouchon de façon à faire coïncider le plan inférieur de la colonne grasse avec une division.
- Déplacer le butyromètre devant l'œil, la colonne grasse demeurant immobile.

Expression des résultats:

La teneur en matière grasse, exprimée en pourcentage en masse, est donnée par la formule :

$$B - A$$

Où: A: représente la valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse

B: représente la valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse.

3.1.5.2. Détermination de la matière grasse du fromage fondu (NF VO4-287 février 2002)

Principe :

Dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique et séparation de la matière après ajout d'alcool iso- amylique.

Mode opératoire :

Un godet préalablement taré peser $3 \text{ g} \pm 0,005$ de l'échantillon préparé, et l'introduire le butyromètre.

Ajouter de l'acide sulfurique jusqu'à ce que le niveau d'acide atteigne les $\frac{2}{3}$ de la chambre butyromètre et mettre ce dernier dans le bain Marie pendant 5 min.

Retirer le butyromètre du bain d'eau et l'agiter énergiquement pendant 10 secs puis le remettre dans le bain Marie, (Répéter l'opération pendant 1h environ puis maintenir le butyromètre 15 min dans le bain d'eau).

Retirer le butyromètre du bain d'eau, ajouter 1 ml d'alcool iso -amylique puis agiter pendant 3secondes.

Ajouter de l'acide sulfurique jusqu'à ce que le niveau de graduation atteigne 35%, puis énergiquement pendant 10 secs.

Recommencer six fois les opérations de retournements et agitation.

Mettre dans le bain Marie pendant 5 minutes.

Centrifuger le butyromètre pendant 10 minutes puis le remettre dans le bain d'eau durant 5 min

Maintenir le bouchon de façon à faire coïncider le plan inférieur de la colonne grasse avec une division puis faire la lecture, (Il ne doit pas s'écouler plus de 10 sec entre le temps de la sortie du butyromètre du bain Marie et la fin de la lecture).

Les résultats sont obtenus selon la formule suivante :

$$MG\% = N1 - N2$$

N1 : la valeur atteinte par le niveau supérieur du butyromètre.

N2 : la valeur atteinte par le niveau inférieur du butyromètre.

MG : la teneur en matière grasse (exprimée en pourcentage).

3.1.6. Détermination de l'extrait sec total (AFNOR 1986) :

Principe :

L'extrait sec total de fromage est la matière résiduelle, après évaporation de l'eau qu'il contient dans un dessiccateur à rayonnement infrarouge 17-20 minutes. L'humidité représente le % de la masse d'eau contenant dans le produit.

Prise d'essai :

5g sont prélevés dans une capsule tarée.

Mode opératoire :

- répartie sur toute la surface de la capsule l'échantillon prélevé.
- introduire la capsule dans un dessiccateur à rayonnement.
- atteindre jusqu'à la valeur donnée par le dessiccateur soit constante.

Expression des résultats:

La valeur de L'extrait sec total est donnée directement par le dessiccateur.

3.1.7. Détermination de la teneur en matière grasse dans la matière sèche (G/S) : (ISO 5534-1985)

Objectif :

Le but de ce calcul est de vérifier la conformité en matière grasse dans la matière sèche du fromage.

Expression des résultats :

La teneur en matière grasse exprimée en « g » pour 100g de matière sèche est donnée par la formule suivante :

$$G/S\%=(MG\%/MS^{\circ}/0).100$$

Le Food Scan™ pour produits laitiers est un instrument rapide, précis et facile d'utilisation qui sert à l'analyse de fromage, de beurre, et de yaourt.

Il mesure avec précision tout un éventail de paramètres dont la teneur en matière grasse, les protéines l'eau et le sel. Seule une préparation minimale des échantillons est nécessaire et les résultats sont obtenus en 50 secondes uniquement.

III. Résultat des analyses microbiologiques et physicochimiques:

Les résultats des analyses microbiologiques et physicochimiques de la matière première jusqu'au produit fini sont reportés sur les tableaux ci-dessous.

III.1. Résultats microbiologiques :

III.1.1. Résultats microbiologiques des matières premières :

a/ l'eau de procès :

L'eau de procès est une eau d'alimentation de la chaudière et autres équipements, elle est destinée au lavage et intervenant dans la fabrication du produit fini. Cette eau doit présenter une qualité microbiologique convenable.

Les résultats des analyses microbiologiques de l'eau de procès sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau X : Résultat des analyses microbiologiques de l'eau de procès:

Les germes recherchés	Résultats trouvés			Norme (JORA, 1998)	Décision
	23.03.2017	24.03.2017	26.03.2017		
Les Coliformes totaux	Absence	Absence	Absence	<10UFC/ml	Conforme
Les Coliformes fécaux	Absence	Absence	Absence	Absence/100 ml	Conforme
Germes totaux à 37°C	Absence	Absence	Absence	<20UFC/ml	Conforme
Streptocoques	Absence	Absence	Absence	Absence/20ml	Conforme
Clostridium CSR	Absence	Absence	Absence	Absence/20ml	Conforme

Les résultats des analyses microbiologiques du tableau X montre une conformité aux normes de JORA(1998), nous remarquons une absence totale des germes de contamination fécale (coliformes fécaux, streptocoques fécaux), des germes pathogènes (Clostridium Sulfito-réducteur) et des germes indicateurs de l'hygiène (flore aérobies mésophiles totaux), cette absence due à l'efficacité des traitements appliqués à l'eau de forage au niveau de l'unité.

L'application du contrôle microbiologique est importante car la qualité bactériologique de l'eau de procès n'est pas un paramètre stable, mais au contraire sujet à fluctuation, par pollution accidentelle, nécessitant des contrôles permanents et représentant la cause la plus fréquente de non potabilité de l'eau. Pour cela il convient de vérifier aussi l'efficacité des traitements appliqués à l'eau par la recherche des germes indicateurs de contamination fécale

qui permettent d'apprécier, avec sûreté ou précocité, le risque de contamination fécale pouvant véhiculer des germes pathogènes. A l'issue de ces résultats nous déduisons que l'eau utilisée au niveau de l'industriefromagère GOUMIDI présente une bonne qualité sur le plan microbiologique donc c'est une eau potable, car la potabilité implique la destruction ou l'élimination des microorganismes qui pourraient infecter le produit fabriqué selon **Tremorlière, (1984)** et **Guiraud JP. (2012)**

En 2014 **Délassas** a confirmé que les coliformes sont des espèces qui constituent des germes indicateurs de contamination fécale en bactériologie des eaux.

Cependant l'OMS a signalé qu'*Escherichia coli* est le principal microorganisme indicateur d'une contamination fécale de l'eau.

b/ La poudre de lait :

Le lait réceptionné à l'unité est systématiquement soumis à des contrôles physico-chimiques et microbiologiques. C'est sur la base des résultats obtenus que le prix d'achat du lait cru par exemple soit fixé. Cette mesure motive les éleveurs producteurs du lait à améliorer les conditions de la traite et veiller à la santé des animaux.

- L'ensemble des résultats microbiologiques obtenus du lait en poudre sont regroupés dans le tableau XI

Tableau XI: Résultat des analyses microbiologiques de la poudre de lait :

Les germes recherchés	23.03.2017	La norme JORA(1998)	Décision
Les coliformes totaux	Absence	<10	conforme
Les coliformes fécaux	Absence	Absence	conforme
La flore totale aérobie mésophile	73 UFC/g	2.10^5 UFC/g	conforme
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	conforme
<i>Clostridium sulfito-réducteur</i>	Absence	Absence	conforme

D'après les résultats mentionnés dans le tableau XI réalisé sur le lot utilisé pour 3 productions du fromage fondu ; nous observons que l'échantillon examiné répond aux normes **JORA(1998)**.

Nous remarquons une absence totale des coliformes totaux et des germes indicateurs de contamination fécale, ainsi une absence totale des germes pathogènes.

Pour la flore totale aérobie mésophile, nous notons une faible présence avec un taux de

73 UFC/g, et qui reste conforme en comparant avec les normes, ce qui m'amène à dire que la poudre de lait utilisé par l'unité industrielle GOUMIDI est de qualité satisfaisante, ceci s'explique par le respect des bonnes pratiques d'hygiène de conditionnement et les bonnes conditions de stockage.

Selon **HOBBS et Gi Bert (1994)**, la présence de la flore totale aérobie mésophile dans l'aliment renseigne sur la salubrité de la denrée alimentaire ainsi que sur la qualité organoleptique et enfin sur sa durée de conservation. La présence de la FMAT dans le lait est dues probablement adiverses sources de contamination à savoir : latempérature, l'humidité, et les conditions de stockage. Selonle **Ledrer(1977)** les instruments et le personnel manipulateur constituent la source principale de contamination par FMAT, par *S.aureus* et les clostridiumSulfito-réducteurs qui sont des germes pathogènestémoins de mauvaises conditions hygiéniques.

Les poudres de lait utilisées en technologie fromagère doivent présenter une qualité microbiologique conforme à la réglementation et une aptitude fromagère acceptable, ceci peut être obtenue par un entreposage dans les conditions idéales à savoir une humidité qui ne dépassant pas les 4% et êtres placées à l'abri de la lumière pour éviter la multiplication des germes tels que les levures et les moisissures qui peuvent contaminer les poudres de lait et ainsi déprécier leurs qualité technologique et organoleptiques. Pratiquement privée d'eau (<4%), elle ne peut plus être le siège de développement microbien **Tremorlière(1984)** et **Guiraud JP. (2012)**.

c/Le Beurre :

L'analyse microbiologique du beurre permet d'estimer sa qualitéhygiénique

-Les résultats des échantillonsprélevés sont respectés dans le tableau suivant :

Tableau XII : Résultat des analyses microbiologiques de beurre

Germes	Nombre trouvé			Norme JORA(1998)	Décision
	23.03.2017	24.03.2017	26.03.2017		
	7	7	7		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence	10 UFC/g	conforme
Coliformes	Absence	Absence	Absence	10 UFC/g	conforme
Germes totaux	80 UFC/g	Absence	Absence	10 ² UFC/g	conforme
Levure	Absence	Absence	Absence	Absence	conforme
Moisissures	Absence	Absence	Absence	Absence	conforme

D'après les résultats mentionnés dans le tableau XII ; nous observons que les échantillons examinés du beurre répondent aux normes **JORA(1998)**.

Nous remarquons une absence totale des coliformes totaux et des germes indicateurs de contamination fécale, ainsi une absence totale des germes pathogènes.

Pour la flore totale aérobie mésophile, nous notons une présence avec un taux de 80 UFC/g, mais qui reste conforme en comparant avec les normes, ce qui signifie que le beurre utilisé par l'unité industrielle GOUMIDI est de qualité satisfaisante, ceci s'explique par le respect des bonnes pratiques d'hygiène de conditionnement et les bonnes conditions de stockage.

Selon **leader (1997)** le dénombrement de la FMAT reste la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique des aliments comme le beurre.

d/ Cheddar :

L'ensemble des résultats d'analyse du cheddar sont figures dans le tableau XIII

Tableau XIII : Résultat des analyses microbiologiques de cheddar

Germes	Nombre trouvé			Norme JORA(1998)	Décision
	23.03.2017	24.03.2017	26.03.2017		
Clostridium sulfito-réducteur	Absence	Absence	Absence	Absence	conforme

<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence	Absence	conforme
------------------------------	---------	---------	---------	---------	----------

D'après les résultats mentionnés dans le tableau XIII ; nous observons que les échantillons examinés du cheddar répondent aux normes **JORA(1998)**.

Nous remarquons une absence totale des germes pathogènes, ce qui signifie que le cheddar utilisé par l'unité industrielle GOUMIDI est de bonne qualité microbiologique, ceci s'explique par le respect des bonnes pratiques d'hygiène de conditionnement et les bonnes conditions de stockage.

III.1.2. Résultats microbiologique du produit fini :

Les résultats d'analyses microbiologiques réalisées sur le produit fini sont portés dans le tableau suivant :

Tableau XIV: Résultat des analyses microbiologiques de produit fini (fromage fondu) :

Germes	Résultats			Normes JORA(1998)
	23.03.2017	24.03.2017	26.03.2017	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence	Absence
Clostridium sulfito réducteur	Absence	Absence	Absence	Absence
Coliformes	Absence	Absence	Absence	Absence
Germes totaux	Absence	Absence	Absence	Absence
Levures	Absence	Absence	Absence	Absence
Moisissures	Absence	Absence	Absence	Absence

Les résultats microbiologiques des produits finis des 3 productions qui figurent dans le tableau XIV relèvent une absence totale des germes indicateurs de contaminations fécale (coliformes fécaux) ainsi une absence totale des germes pathogènes (Clostridium Sulfito-réducteur, Staphylocoque) ; ce qui est expliqué par la bonne conduite de la chaîne de fabrication, le respect des règles d'hygiène (matériels nettoyés et désinfectés...) et aussi le personnel et l'environnement ont influencé positivement sur les résultats .

Donc nous pouvons conclure que le fromage fondu (O'kids) de l'unité industriel GOUMIDI est de bonne qualité microbiologique.

III.2. Résultat des analyses physico-chimiques :

III.2.1. Résultats des analyses physico-chimiques des matières premières :

a/ L'eau de procès :

La qualité physico-chimique de l'eau de procès est très importante car elle intervient directement sur la qualité du produit fini.

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de procès sont portés dans le tableau XV.

Tableau XV: Résultat des analyses physico-chimiques de l'eau de procès

Paramètres physico-chimiques	Nombre trouvé			Norme JORA(1998)	Décision
	22.03.2017	23.03.2017	25.03.2017		
TH (°F)	9.2	7.2	8.4	(8-10)F°	conforme
TA (°F)	0	0	0	0	conforme
TAC (°F)	30	30	20	30	conforme
Chlore libre (mg/1)	0.75	0.77	0.81	0.8mg/1	conforme
pH	7.73	7.84	7.65	(7-8)	conforme

D'après les résultats physicochimiques de l'eau de procès, qui sont résumés dans le tableau XV je remarque :

Le TA et le TAC sont conformes aux normes établis par l'industrie, ainsi une conformité de TH aux normes **JORA (1998)**.

Selon **Sablonnière(2001)**, une eau de dureté moyenne a un degré hydrométrique compris entre 10 à 30, en dessous l'eau est douce, au-delà l'eau est dure, donc l'eau de procès de l'usine est une eau douce.

Les valeurs de pH et la teneur de chlore libre sont conformes aux normes fixées par l'unité industrielle GOUMIDI.

Ceci est due au fait que la pompe doseuse ((dispositif de chloration)) est soigneusement entretenu et extrêmement précise.

Selon l'OMS, une désinfection au chlore nécessite un contrôle de la qualité de l'eau en terme de pH et de la chlore résiduel libre, qui sont des indicateurs d'un traitement approprié et efficace (Anonyme 2013).

D'après Rodier *et al* (2009), L'inconvénient majeur des chlorures est la saveur désagréable qu'il confère à l'eau de process qui influence sur la qualité organoleptique de notre fromage fondu. En plus les teneurs élevées en chlorures provoquent des risques de corrosion des canalisations et des réservoirs.

-Selon les directives de l'OMS, le sodium et le magnésium de l'eau potable ne présentent pas de risque pour la santé.

-En 2004, Engalence a montré qu'une eau fortement minéralisée ne peut pas être bue sans restriction des minéraux de façon permanente, car la consommation d'un fromage fabriqué à base de cette eau peut être dangereuse pour la santé humaine.

b/La poudre de lait :

L'ensemble des résultats physicochimiques obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau XVI : Résultat des analyses physico-chimiques de la poudre de lait :

Les paramètres physico-chimiques	Résultat	Norme JORA (1998)	Décision
Matière grasse MG%	Des traces	Maximum 0-28%	Conforme
Acidité	2.88%	2-5%	Conforme
PH	6.62	6-6,90	Conforme

Les résultats physicochimiques de la poudre de lait montrent une conformité aux normes établis par l'unité industrielle GOUMIDI et JORA (1998). Il a été admis que le paramètre pH renseigne sur l'état physique du lait et sur sa stabilité ainsi que l'acidité qui indique la bonne qualité du lait utilisé.

c/ Beurre :

L'ensemble des résultats physicochimiques obtenus sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau XVII : Résultat des analyses physico-chimiques de beurre :

Paramètres physico-chimiques	Résultat	Norme JORA (1998)	Décision
MG (%)	82%	82%	conforme
EST (%)	84%	84%	conforme

Les résultats physicochimiques de beurre sont résumés dans le tableau XVII montrent la conformité de ce beurre aux normes établis par l'usine .Cela confirme un bon conditionnement de beurre.

d/ Cheddar :

L'ensemble des valeurs physico-chimiques de cheddar sont figurées dans le tableau suivant

Tableau XVIII : Résultat des analyses physico-chimiques de cheddar

Paramètres physico-chimique	Résultats	Norme Jora(1998)	Décision
MG (%)	36 %	30-37%	conforme
EST (%)	66 %	60-66 %	conforme
PH	5.60	4.30-5.97	conforme

Les résultats physicochimiques de cheddar sont résumés dans le tableau XVIII montrent la conformité de ce cheddar aux normes établis par l'usine et **JORA(1998)**, Ce qui confirme un bon conditionnement de cheddar.

III.2.2. Résultats physico-chimique du produit fini :

La vérification de la conformité du produit fini du point de vue physico-chimique est obligatoire, car il est destiné directement à la consommation.

-Cette vérification permet de s'assurer qu'aucun défaut n'est survenu pendant le conditionnement tell qu'un changement du gout, ou encore de la couleur du produit lors d'un long passage dans la pasteurisation.

L'ensemble des valeurs physico-chimiques du fromage fondu sont portés dans le tableau XIX

Tableau XIX: Résultats des analyses physicochimiques du produit fini fromage fondu :

Paramètres	Résultats	Norme JORA(1998)	décision
PH	5.78	5.68 a 5.79	conforme
MG (%)	16% - 17%	16% - 17%	conforme
EST (%)	39.56%	39.50% - 40%	conforme
G/S (%)	40.52%	40.50% - 41%	Conforme

-Les résultats portes dans le tableau XIX indiquent que toutes les valeurs sont conformes aux normes, ceci est dû au bonne pratiques de fabrication et du laboratoire, aussi au respect des

doses de la recette lors de la préparation du produit .ces échantillons sont validés pour le stockage et la livraison.

Conclusion :

Notre travail porte sur l'étude de différents paramètres qui conditionnent la qualité physicochimique et microbiologique du fromage fondu , fabriqué par le groupe industriel « GOUMIDI».

A la fin de notre étude, nous avons pu évaluer la qualité microbiologique et physicochimique d'un fromage fondu dont les résultats ont montré une bonne qualité des matières premières destinées à la fabrication du fromage fondu, ainsi que le produit fini (fromage fondu).

Le fromage fondu est un produit à base de lait écrémé ou partiellement écrémé, lait cru ou lait en poudre, avec un ajout de matière grasse animale et des sels de fonte. La composition de cet aliment (la teneur en eau, en sel, en sucre...) et la température sont des conditions très favorables pour le développement des bactéries sporulées thermo résistantes. Ces bactéries sont responsables d'accidents technologiques (Gonflement, putréfaction...) et de 5% des intoxications alimentaires qui peuvent porter préjudice à la santé du consommateur.

En fin. Nous espérons que les opérateurs économiques optent à respecter les conditions d'hygiène lors de la fabrication des produits alimentaires ainsi que l'application du Décret exécutif 91-53 du 23-02-1991 relatif aux conditions d'hygiène lors de la mise à la consommation des produits alimentaires serait indispensable pour minimiser les cas d'intoxications alimentaires que peut encourir le consommateur.

Références bibliographiques :

- **ALP FORUM n°77. (2009).** Critères microbiologiques de la fabrication du fromage Station de recherche AgroscopeLiebefeld-Poisieux ALP.
- **AFNOR. (1986).** Fromages et fromages fondus — Détermination de la teneur totale en matière sèche (Méthode de références).
- **AF NOR. (1986).** Détermination du chlore libre et du chlore total.
- **AFNOR. (1986).** Détermination de titre hydrométrique de l'eau (TH).
- **AFNOR. (1986).** Titre alcalimétrique complet de l'eau (TAC).
- **AFNOR. (1986).** Titre alcalimétrique (TA).
- **AFNOR F DVO4-035 de juillet. (2009).** Détermination de pH (d'après le fascicule de documentation).
- **Archive / Réf : F6310 v1**Fabrication du fromage fondu Auteur(s) : Jean-Luc BOUTONNIER Date de publication : 10 sept. 2000.
- **Anonyme (2013) :** CAWST Manuel pour introduction a l'analyse de la qualité de l'eau.
- **Bruno zeller.,(2005).**fromages :spécificité technologique et économique .
- **Bergère J ,1983 et Lenoir. (1997).** Les accidents de fromagerie inventaire de la flore bactérienne.
- **Bertrand. (1988).** Le fromage grand oeuvre de microbes, revue générale du froid, p 2- 8.
- **Bourgeois CM, Larpant J P. (1996).** Microbiologie alimentaire tome2, technique et documentation Lavoisier-Paris, pp (4, 16, 21,55-57, 321-324,346).
- **CHEMACHE Loucif., 2011 :** Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme Magister en SciencesAlimentaires, option de Technologies AlimentairesPar CHEMACHE LoucifQualité de deux spécialités fromagères fabriquéeset commercialisées en Algérie.
- **Chemache L. (2011).** Qualité de deux spécialités fromagères fabriquées et commercialisées en Algérie. Mémoire du Magister en Sciences Alimentaires, option de Technologies Alimentaires. (UNIVERSITE MENTOURI CONSTANTINE).
- **Chimeneau. (1999).** Les produits industriels laitiers.
- **Devoyod J. (1988).** Microbiologie alimentaire, NUT.
- **Dulor. (2002).** La France aux 400: fromages. Ecole nationale supérieur agronomique de Montpellier.
- **Delarras C(2007) :** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire .Tec et Doc-Lavoisier pp 476.
- **Delarras (2014) :**pratique en microbiologie de laboratoire.Tec et Doc.p772.

- **Eck A. (1984).** Le fromage, technique et documentation, Lavoisier, Paris.
- **Eck A. (1987).** Le fromage, technique et documentation, Lavoisier, Paris.
- **Eck A et Gillis J C 1997 :** de la science à l'assurance —qualité ,3ème édition, technique et documentation, Lavoisier, Paris.
- **Eckhof-storn N. (1976).** Les fromages, Oyez, Bruxelles.
- **Fredot É. (2005).** Connaissance des aliments, technique et documentation, Lavoisier, Paris.
- **Gaucheron F. (2004).** Minéraux et produits laitiers, technique et documentation, Lavoisier - Paris.
- **GEM RCN ,(2009).**lait et produits laitiers
- **Gobin. (1985).** Évolution technologique des pâtes molle revue des ENII.
- **Gueguen M. (1988).** Microbiologie alimentaire, NUT.
- **Guiraud JP. (2012).** Microbiologie alimentaire, Dunod, Paris.
- **ISO 5534. (1985).** Détermination de la teneur en matière grasse dans la matière sèche (G/S).
- **ISO 6461-1. (1986).** Qualité de l'eau - Recherche et dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réducteurs (clostridia) - Partie 1: Méthode par enrichissement dans un milieu liquide.
- **ISO 7402 :** Microbiologie des aliments - Méthodes horizontales pour la recherche et le dénombrement des Enterobacteriaceae- Partie 1: Recherche et dénombrement à l'aide de la technique NPP avec préenrichissement.
- **Jeantet R. (2007).** Science des aliments, volume 2, technique et documentation, Lavoisier, Paris, p (40-41).
- **Larpant J-P. (1997).**Microbiologie alimentaire, technique et documentation, Lavoisier-Paris, p (14, 15,18).
- **Lenoir J, Brulé G. (1997).** Le fromage, 3ème édition, technique et documentation, Lavoisier, Paris.
- **Luquet FM. (1986).** Le lait et les produits laitiers édition, technique et documentation, Lavoisier, p (111).
- **Mahaut F M. (1990).** Thèse de docteur ingénieur en science agronomiques ENSAR, rennes 35.
- **Mahaut M, Brulé G. (2000).** Initiation à la technologie fromagère, technique et documentation, Lavoisier, Paris.
- **Mahaut M, Brulé G. (2003).** Les produits industriels laitiers, technique et documentation, Lavoisier, Paris. trôle de qualité et analyse, université de Tizi-Ouzou.

- **Martin G. (1996).** L'homme et des aliments : initiation à la connaissance des aliments. Les presses de l'université Laval, Québec, Canada.
- **NF EN ISO 9308-1**, septembre 2000: Qualité de l'eau-Recherche et dénombrement des Escherichia Coli et des bactéries coliformes-Partie 1.
- **NF VO4-287 février 2002** : Détermination de la matière grasse du fromage.
- **NF V08-061**: Microbiologie des aliment-Dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito- réducteur-Méthode par comptage colonies obtenues en anaérobiose à 37 degrés Celsius. • **NF T90-006** : Lait sec — Détermination de l'acidité titrable (Méthode de référence).
- **NF 08-16 1991/ISO 4832** : Microbiologie des aliments : Méthode horizontale pour la recherche et le dénombrement des coliformes — Techniques du nombre le plus probable)
- **NF EN (ISO 4833)** : Microbiologie des aliments -- Méthode horizontale pour le dénombrement des bactéries lactiques mésophiles - Technique par comptage des colonies à 30 degrés C.
- **NF VO4-2010**: Fromages et fromages fondus — Détermination de la teneur en chlorures — Méthode par titrage potentiométrique de référence.
- **OMS(1997)** : guide OMS des normes relatives aux bonnes pratiques de fabrication(BPF), organisation mondiale de la santé, WHO/VSQ/97.pp :1-179.
- **Ramet. (1985).** La fromagerie, les variétés de fromages du bassin méditerranéen, édition, FAO, Roma, Italie.
- **Roux J I. (1994).** Conservé les aliments : comparaison des méthodes et des technologies. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, p (129).
- **Sablonnière B. (2001).** Technologie alimentaire. Ellipses, Paris, p 77.
- **Tremorliere E T. (1984).** Manuel d'alimentation humaine, Tome 2.9ème édition technique et documentation, Lavoisier, paris.
- **Veisseyre R. (1979).** Technologie de lait. Constitution, récolte, traitement et transformation du lait, 3ème édition, la maison rustique, paris.

Annexe N°1: Les indicateurs colorés et les additifs :

- Phénol phtaléine
- Méthyle d'orange
- EDTA
- Alun de fer : permet la formation d'un complexe noir entre le fer et le sulfites réduits par les Clostridium, la dose est de 1 ml par flacon de 250ml.
- Sulfite de sodium : additionné à la gélose VF pour rendre le milieu sélectif aux Clostridium qui réduisant les sulfites en sulfures, une dose de 5 ml par flacon de 250ml de gélose utilisée.

Annexe N°2 : Verrerie physicochimique et microbiologique :

- Flacons sec et stériles
- Butyromètres GERBER
- Pipettes stérilesgraduées
- Boîtes de Petristériles
- Becher
- Erlenmeyer
- Tubes a essai stériles
- Portoir de tube a essai
- Spatule métallique
- Bec benzène

Annexe N°3 :composition des Milieux de culture utilisés :

❖ Bouillon Roth (S/C)

Peptone.....	20g
Glucose	05g
Chlorure de sodium	05g
Phosphate di potassique	2,7g
Acide de sodium.....	2.7g

pH=7

❖ Bouillon lactose billé au vert brillant (VRBL) :

Bille de boeuf déshydraté	20g
---------------------------------	-----

Lactose..... 10g
 Peptone de viande.....10g
 Vert brillant2ml
 L'eau distillé100ml
 Dissoudre 40g du milieu VRBL dans un litre d'eau distillé autoclave 15min/121°C.

❖ Gélose PCA :

Peptone5
 Extrait de levure2.5g
 Glucose1g
 Gélose15g
 pH=7

❖ Tryptone, sels, eau distillé(TSE) :

Tryptone1g
 Chlorure..... 8.5g
 Eau distillé1000ml

On chauffe lentement jusqu'à l'obtention d'une dissolution complète, une répartition en tube puis un autoclave à 121°C pendant 20m1.

❖ Gélose Chapman :

Peptone10g
 Extrait de viande1 g
 Chlorure de sodium17g
 Rouge de phénol25g
 Mannitol..... 10g
 Gélose.....15g
 pH=7.4

❖ Bouillon EVA-LITSKY :

Peptone..... 20g
 Glucose..... 5g
 Chlorure de sodium5g

Phosphate bi potassique	2.7g
Phosphate mono potassique	2.7g
Acide de sodium	0.3g
Ethyle violet	0.0005g

pH=6. 8-7

❖ Bouillon Giolitti Contonii :

Peptone de caséine	20g
Extrait de viande	5g
Extrait de levure	5g
Chlorures de lithium	5g
Mannitol	20g
Chlorures.....	5g
Glycine	12g
Pyruvate de sodium	5g
Eau distillé	1000ml

pH final : 7.4

NB : ajouter l'additif téllurite de potassium à 0.025g

❖ Gélose VF (Viande Foie) :

Extrait viande foie	10g
Peptone	20g
Extrait de levure	10g
Glucose	5g
Gélose	15g

pH : 7.6

❖ Gélose BCPL :

Pour 1 litre de milieu :

Tryptone.....	5,0 g
Extrait de viande	3,0 g
Lactose	5,0 g
Pourpre de bromocrésol.....	25,0 mg

Agar.....15g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : $6,7 \pm 0,2$.

❖ Milieu sabouraud

Peptone..... 10 g

Glucose massé..... 20 g

Agar-agar..... 15 g

Eau distillée 1 000 ml

vitamines et facteurs de croissance

pH = 6,0

Annexe N°4 :Table de Mac-Grady

Nombre de tubes positifs au niveau de trois taux de dilution retenus			NPP	<u>Limites de confiance</u>				Catégories*	
3 tubes 1 mL	3 tubes 0,1 mL	3 tubes 0,01 mL		à 95 %		à 99 %		1	2
0	0	0	< 0,3						
0	0	1	0,3	< 0,1	1,7	< 0,1	2,3		
0	1	0	0,3	< 0,1	1,7	< 0,1	2,3		x
0	2	0	0,6	0,2	2,3	0,1	2,9		
1	0	0	0,4	0,1	2,1	< 0,1	2,8	x	
1	0	1	0,7	0,2	2,7	0,1	3,5		x
1	1	0	0,7	0,2	2,8	0,1	3,6	x	
1	1	1	1,1	0,4	3,4	0,2	4,3		
1	2	0	1,1	0,4	3,5	0,2	4,4		x
1	2	1	1,5	0,6	4,1	0,4	5,1		
1	3	0	1,6	0,6	4,2	0,4	5,2		
2	0	0	0,9	0,2	3,8	0,1	5,0	x	
2	0	1	1,4	0,5	4,8	0,3	6,2		x
2	1	0	1,5	0,5	5,0	0,3	6,5	x	
2	1	1	2,0	0,8	6,1	0,5	7,7		x
2	2	0	2,1	0,8	6,3	0,5	8,0	x	
2	2	1	2,8	1,1	7,5	0,7	9,3		
2	3	0	2,9	1,2	7,8	0,8	9,7		
3	0	0	2,3	0,7	12,9	0,4	17,7	x	
3	0	1	4	1	18	1	23	x	
3	0	2	6	2	23	1	29		
3	1	0	4	2	21	1	29	x	
3	1	1	7	2	28	2	37	x	
3	1	2	12	4	35	2	45		
3	2	0	9	3	39	2	52	x	
3	2	1	15	5	51	3	65	x	
3	2	2	21	8	64	5	82		x
3	2	3	29	12	80	8	99		
3	3	0	20	10	140	<10	190	x	
3	3	1	50	20	240	10	320	x	
3	3	2	110	30	480	20	640	x	
3	3	3	>110						

J.C. de Man European J Appl. Microbiol. 1,67 - 78 (1975)

(*) catégorie 1 : combinaisons de tubes les plus fréquentes correspondant à 95% des cas.
catégorie 2 : combinaisons de tubes moins fréquentes que la catégorie 1 et correspondent à seulement 4% des cas.
L'obtention de combinaisons hors catégorie doit inciter à considérer le résultat avec circonspection.

Annexe N°5 : Matériel utilisé :



Stomatcher



Broyeur



Agitateur



pH-mètre



Dessiccateur



Alcool et acide sulfurique



Balance



Centrifugeuse



Butyromètre



Bain marie



Food scan



Autoclave



Etuve

*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université SAAD DAHLAB – BLIDA -1-
Faculté : science de la nature et de la vie
Département: Biologie et physiologie cellulaire
Option : Microbiologie et Toxicologie Alimentaire Master 2*

Suivie de la qualité microbiologique et physico- chimique du fromage fondu O'kids



Supervisé par :

Mme Boulkour Soraya

Présenté par :

Bouketab Zoulikha Saadia Nabila

Année universitaire : 2016/2017

Plan de travail

- I. Introduction
- II. Matériel et méthodes
- III. Résultats et discussions
- IV. Conclusion





I. Introduction

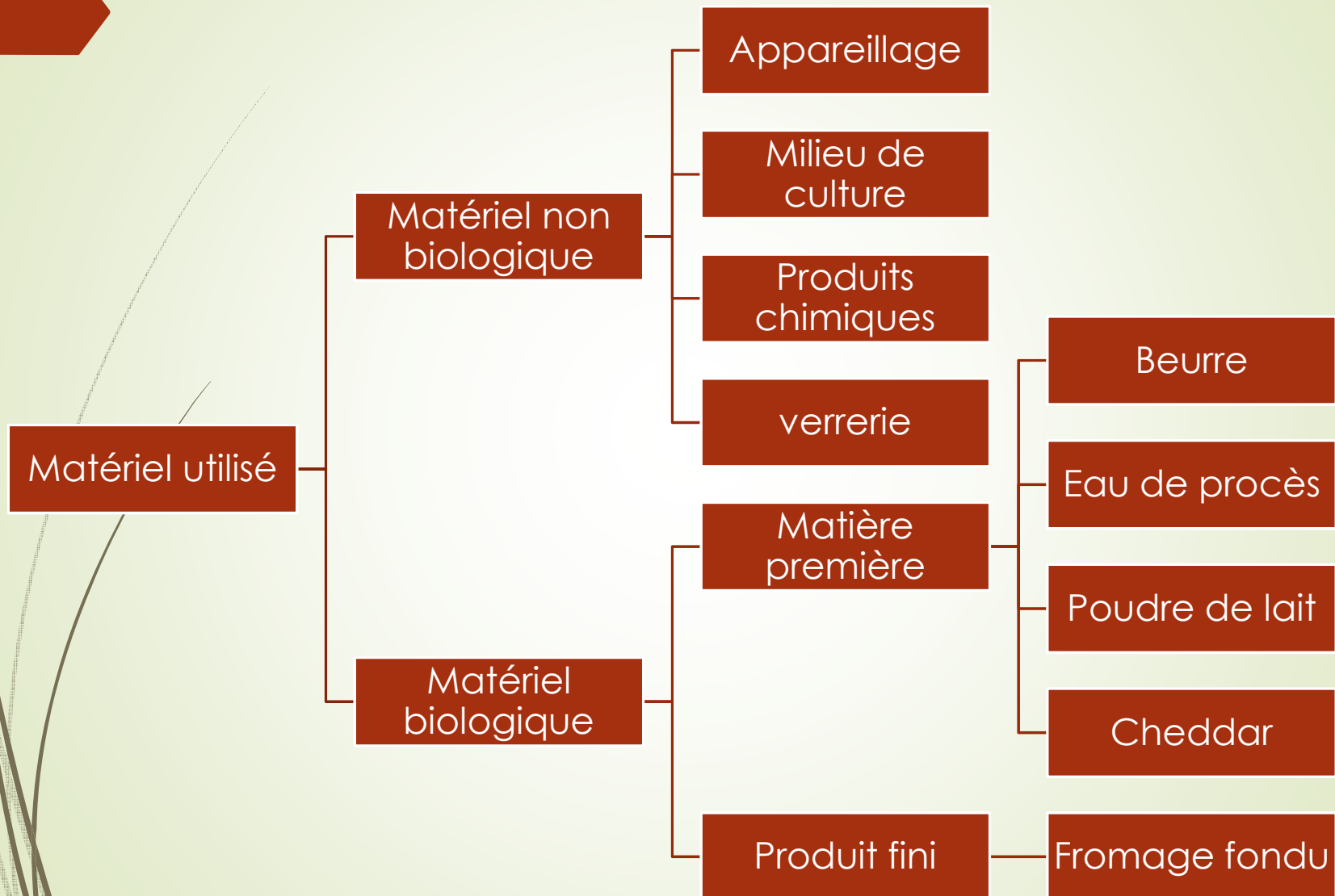
Le fromage a toujours été une valeur sûre de l'alimentation humaine. C'est le résultat d'une transformation du lait très ancienne puisque des écrits témoignent de sa fabrication quelque trois mille ans avant notre ère. Source précieuse de protéines, le fromage a été l'un des premiers moyens de conservation du lait, matière première rapidement périssable. Plusieurs procédés ont été développés afin de prolonger la durée de vie du fromage.

L'Algérie est le premier consommateur du lait et produits dérivés au Maghreb. Malgré l'immense diversification des types de fromage dans le marché, les fromages en portions ressortent avec une meilleure prédilection du consommateur algérien au dépend des autres types de fromage qui sont considérés comme des produits de luxe.

Objectif

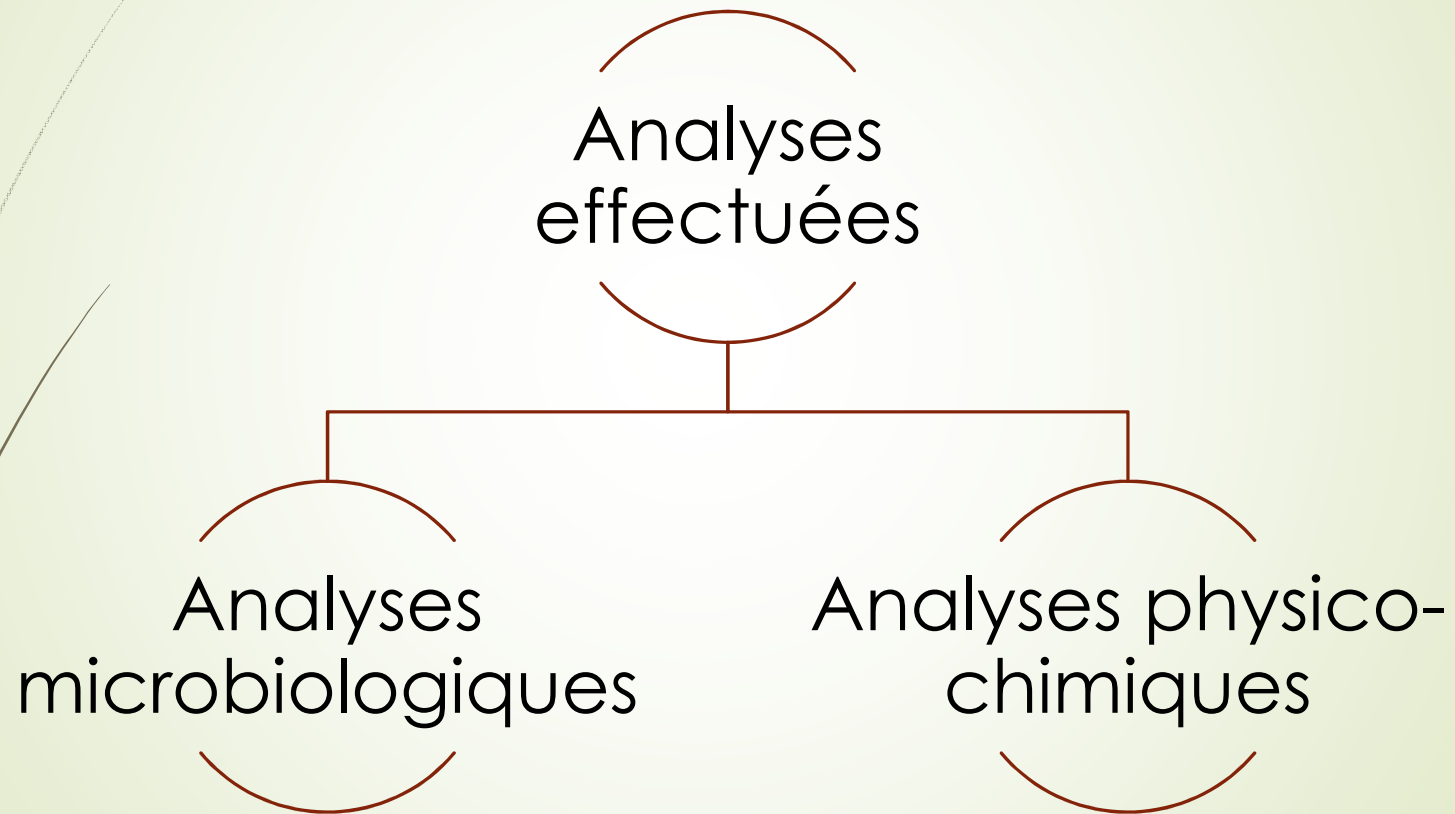
Assurer la conformité des résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques aux normes prédéfinies pour garantir une bonne qualité du produit.

II. Matériel et méthodes :



Ces analyses sont faites au niveau de laboratoire de groupe industriel « GOUMIDI » situé dans la Zone Industrielle de Oueld Yaïch, Blida du 17.03.2017/17.05.2017.

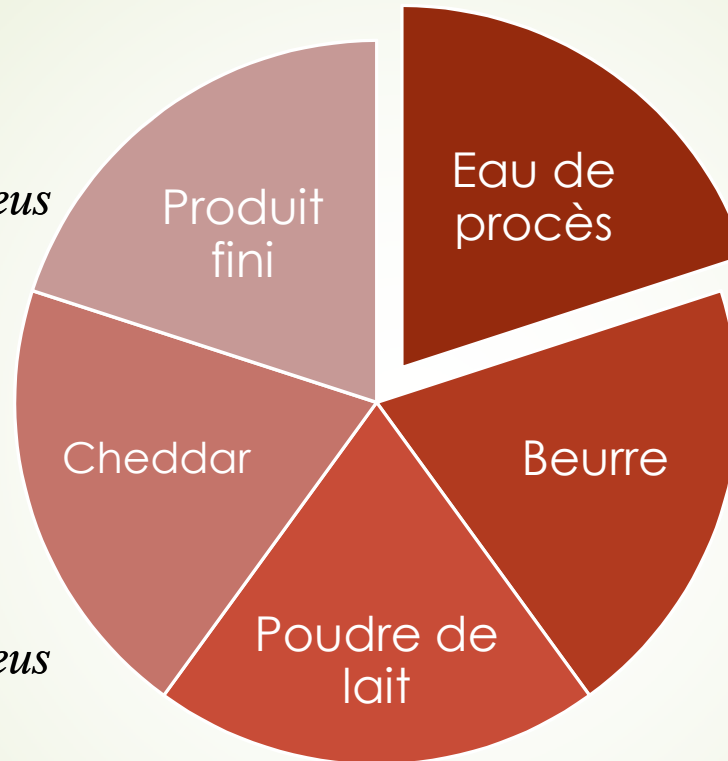
II. Matériel et méthodes :



1.a Analyses microbiologiques

- FMAT
- Coliformes totaux
- Coliformes fécaux
- *Staphylococcus aureus*
- Clostridium sulfito-reducteur
- Levure
- Moisissure

- *Staphylococcus aureus*
- Clostridium sulfito-reducteur



- FMAT
- Coliformes totaux
- Coliformes fécaux
- Streptocoques fécaux
- Clostridium sulfito-reducteur

- FMAT
- *Staphylococcus aureus*
- Clostridium sulfito-reducteur
- Levure
- Moisissure

- FMAT
- Coliformes totaux
- Coliformes fécaux
- *Staphylococcus aureus*
- Clostridium sulfito-reducteur

Techniques d'analyses microbiologiques :

a. L'eau de procédès

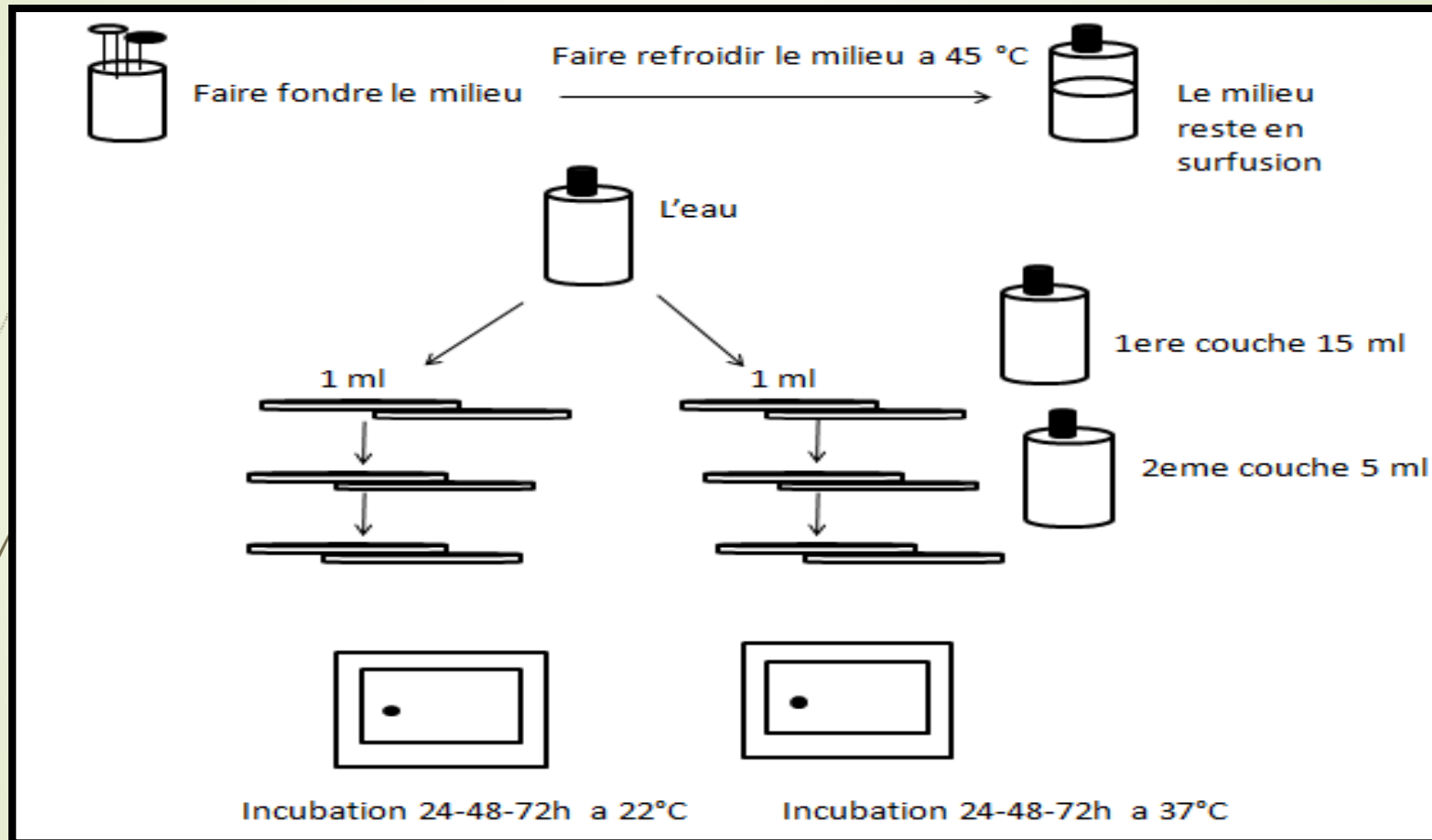


Fig1.- Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (germes totaux)

Techniques d'analyses microbiologiques :

a. L'eau de procès

Recherche et dénombrement des coliformes : Colimétrie liquide

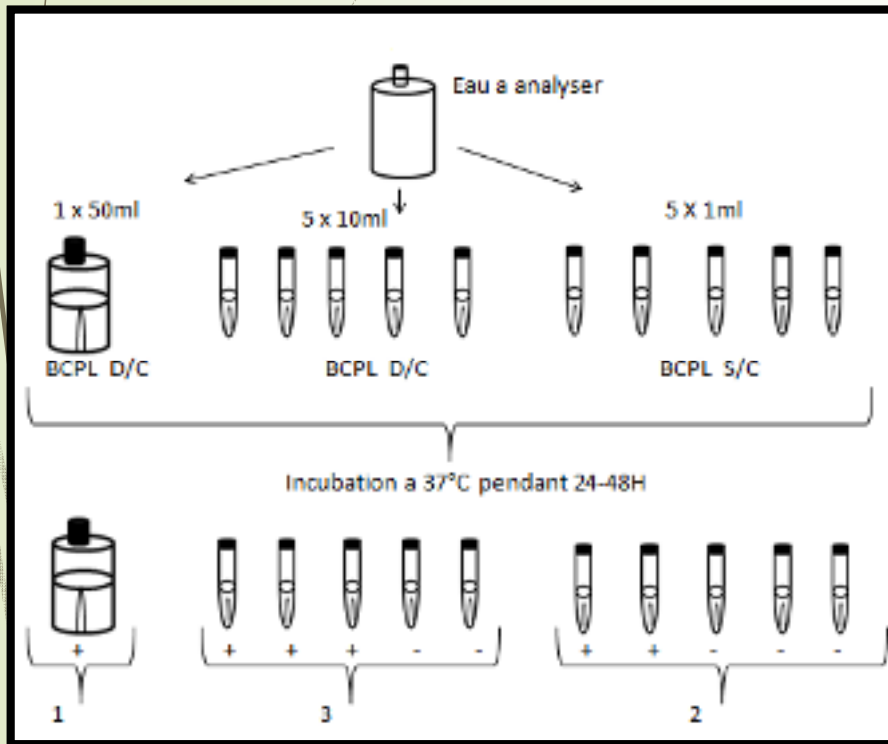


Fig2.- Test de présomption

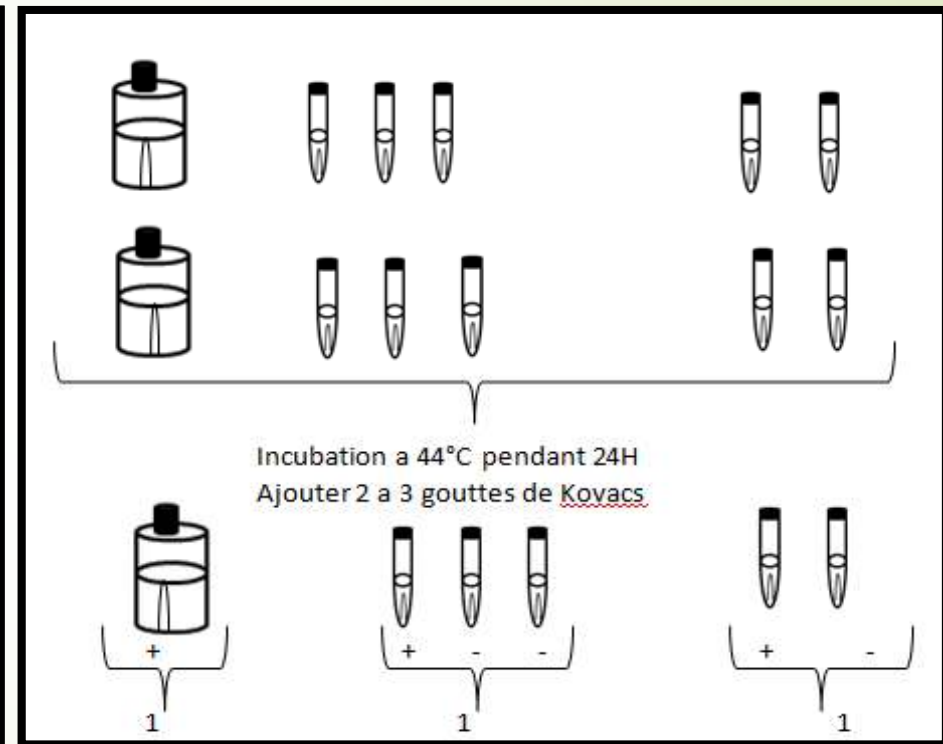


Fig3.- Test de confirmation

Techniques d'analyses microbiologiques :

a. L'eau de procédès

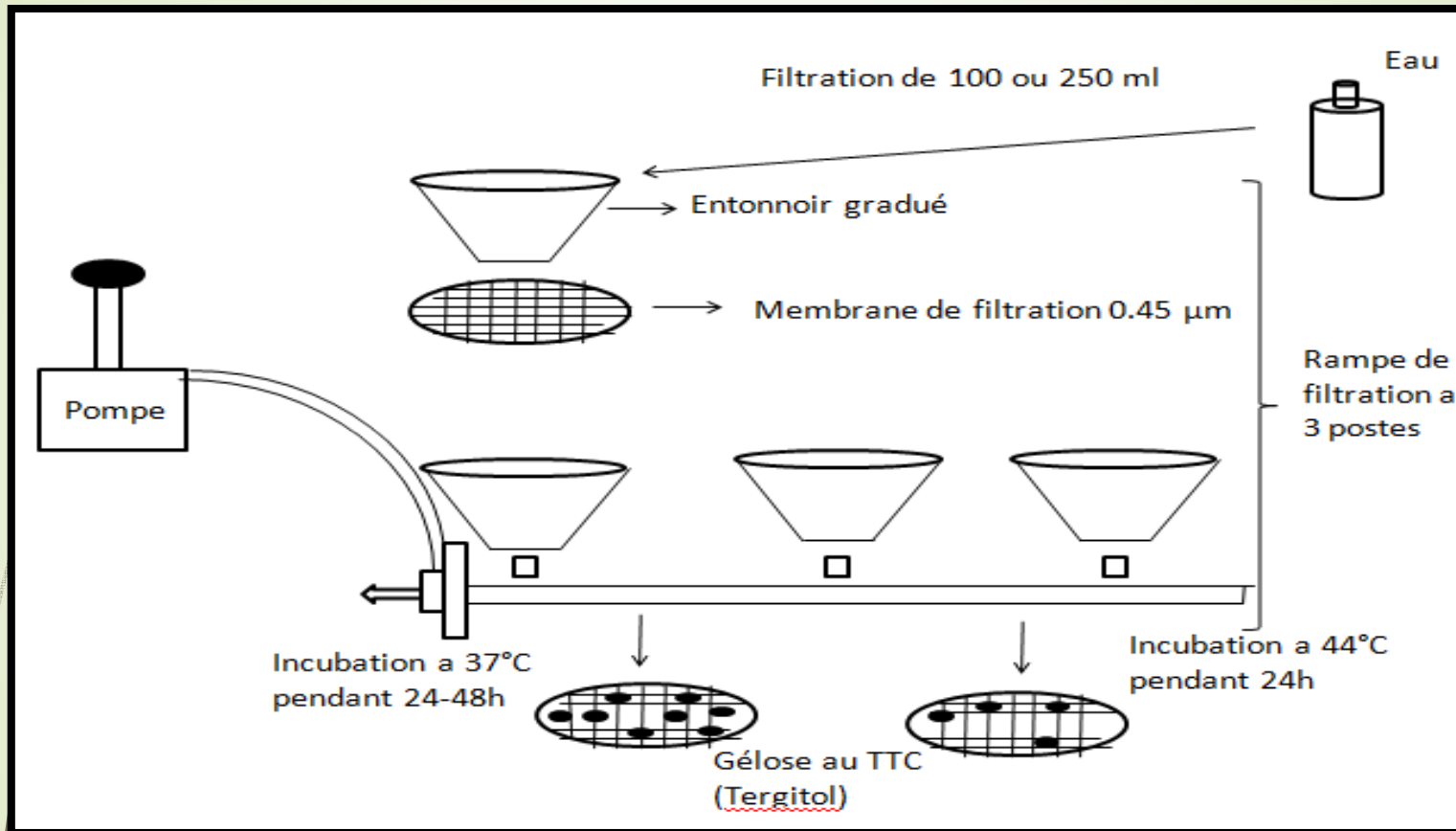


Fig4.- La recherche et le dénombrement des coliformes par filtration sur membrane en milieu solide TTC en supposant la disponibilité d'une rampe de filtration:

Techniques d'analyses microbiologiques :
 a. L'eau de procédès

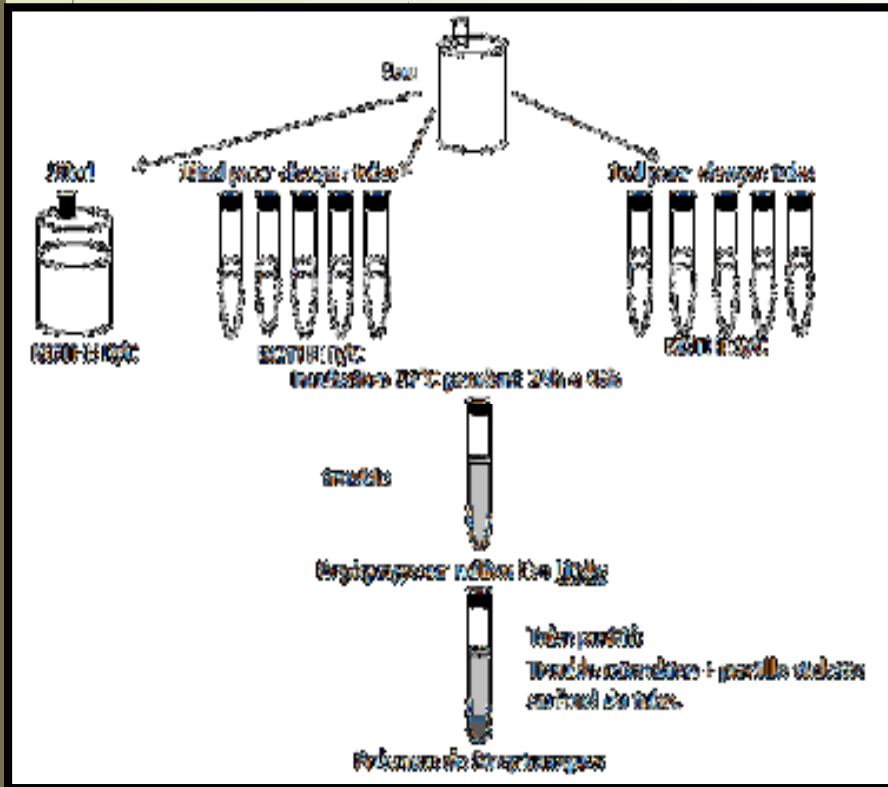


Fig5.- Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux :

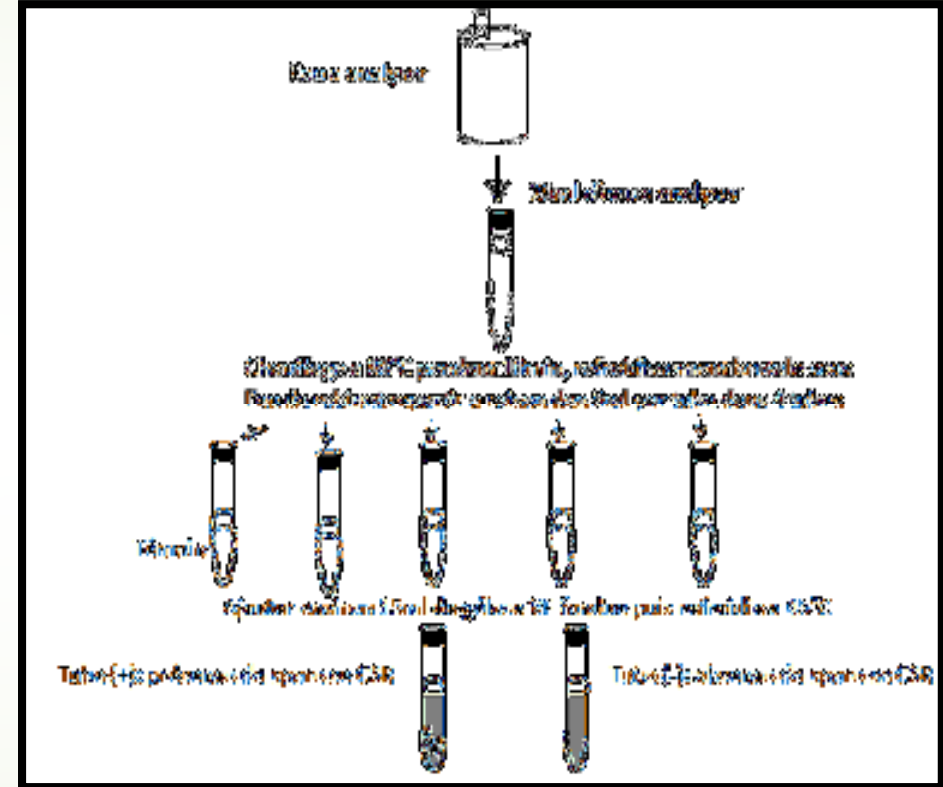


Fig6.- Recherche et dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs

Préparation des échantillons pour les analyses microbiologiques

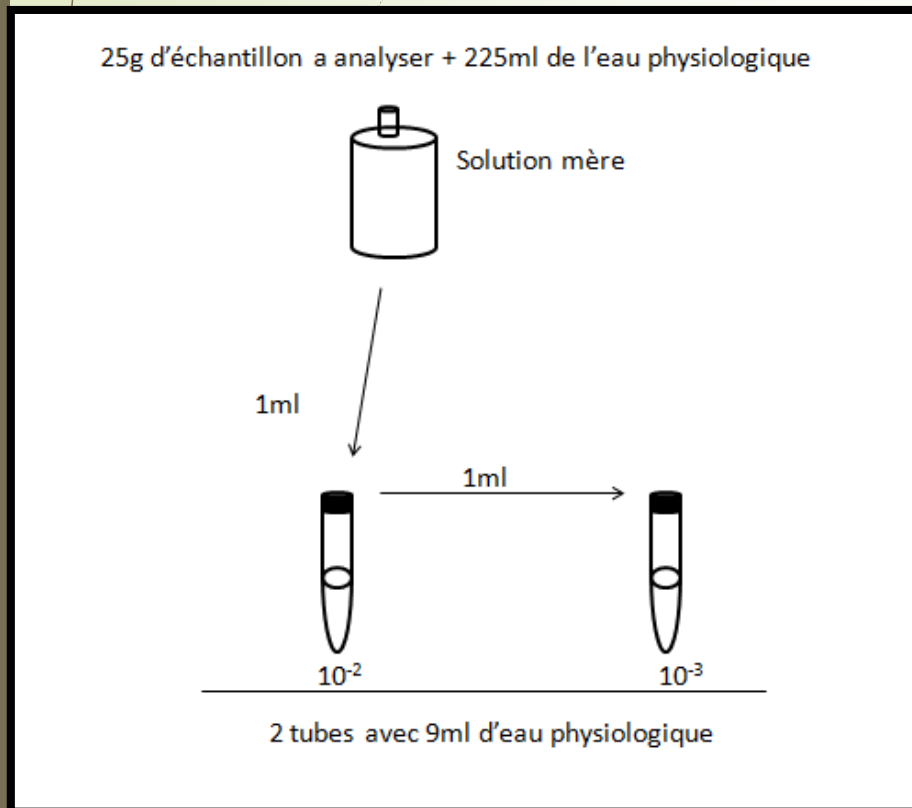


Fig7.- Préparation des déluions décimales de produit solide ou semi solide

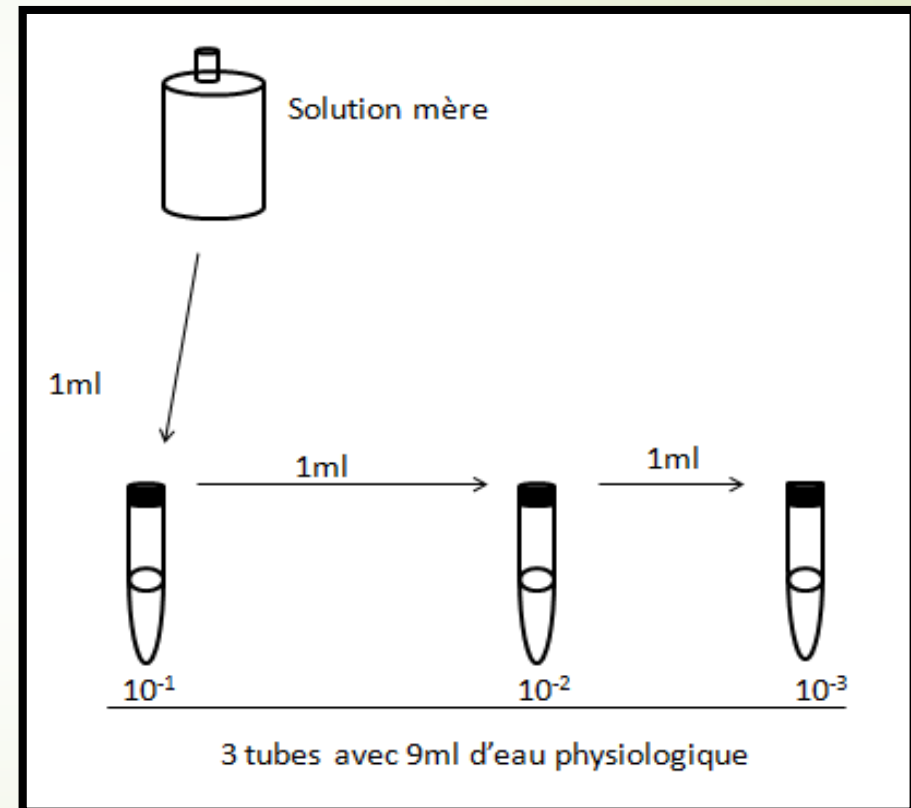


Fig8.- Préparation des dilutions décimales de produit liquide

- Techniques d'analyses microbiologiques :
 - b. Produit à analysé: (beurre, cheddar, PDL, fromage fondu)

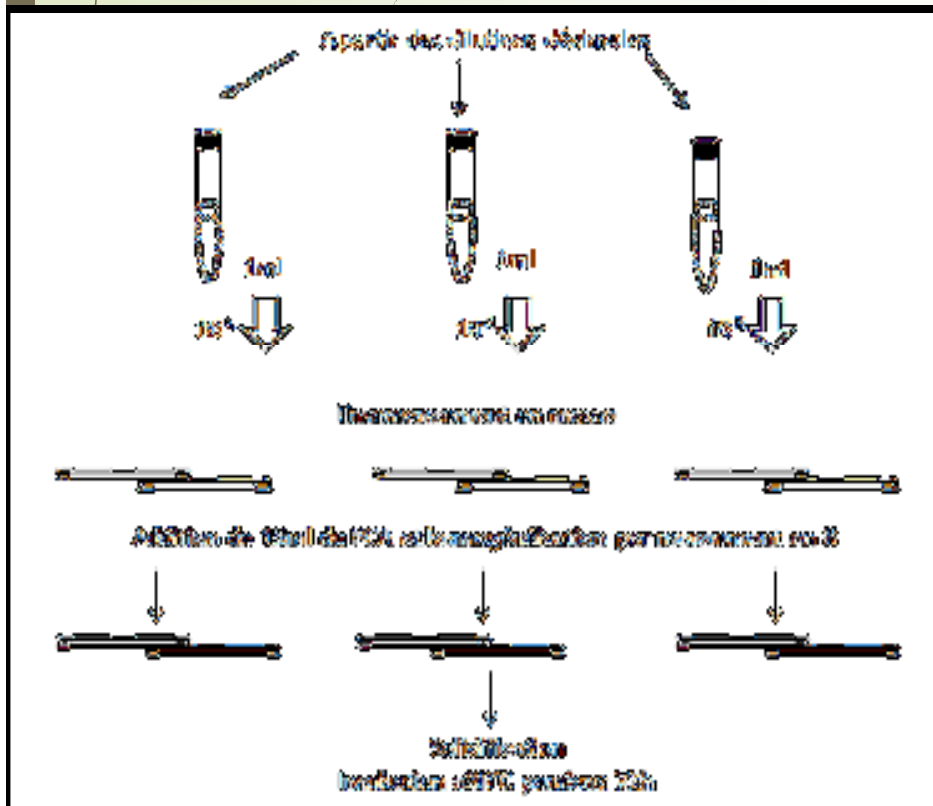


Fig9.- Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (germes totaux) :

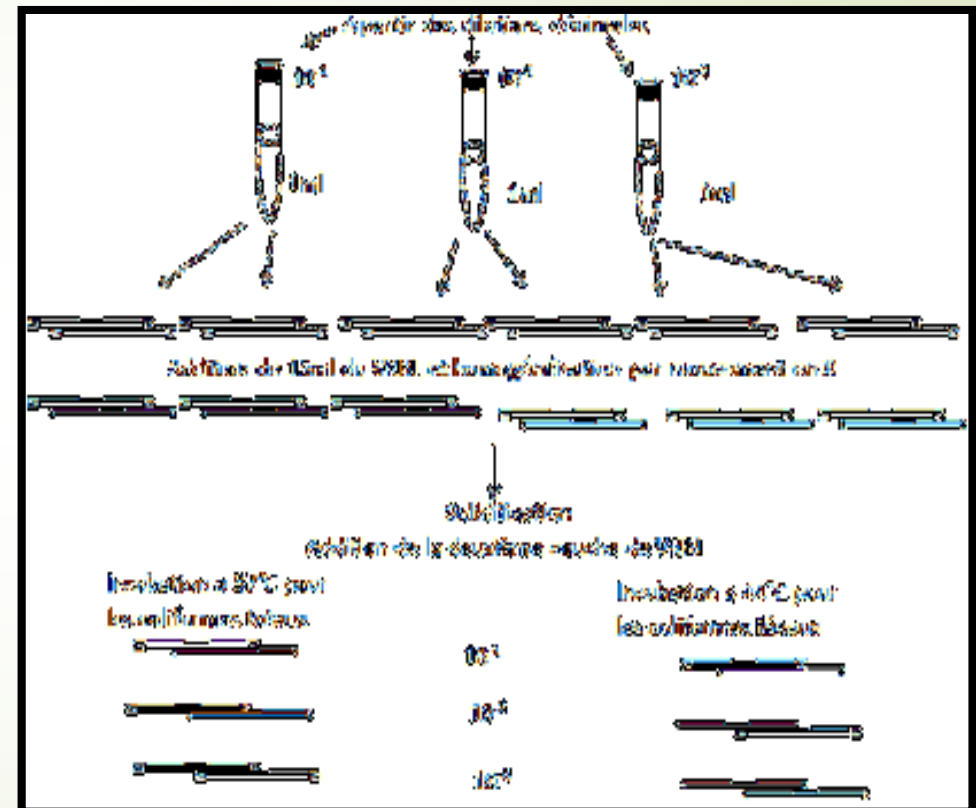


Fig10.- Recherche et dénombrement des coliformes:

- Techniques d'analyses microbiologiques :
 - b. Produit a analysé: (beurre, cheddar, PDL, fromage fondu)

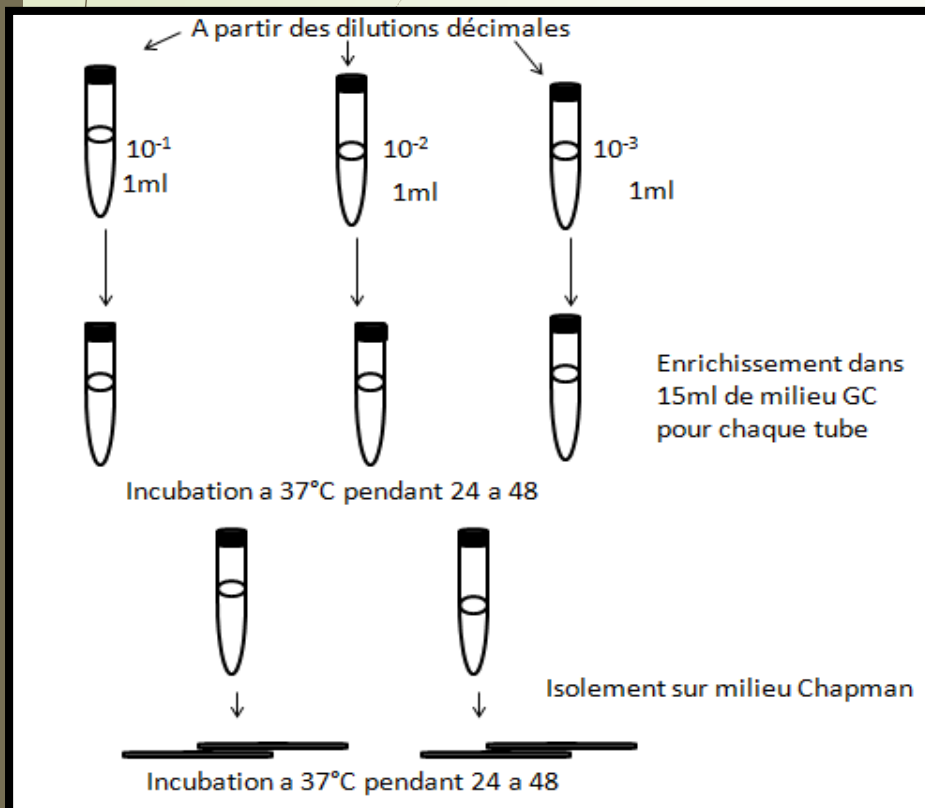


Fig11.- Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* :

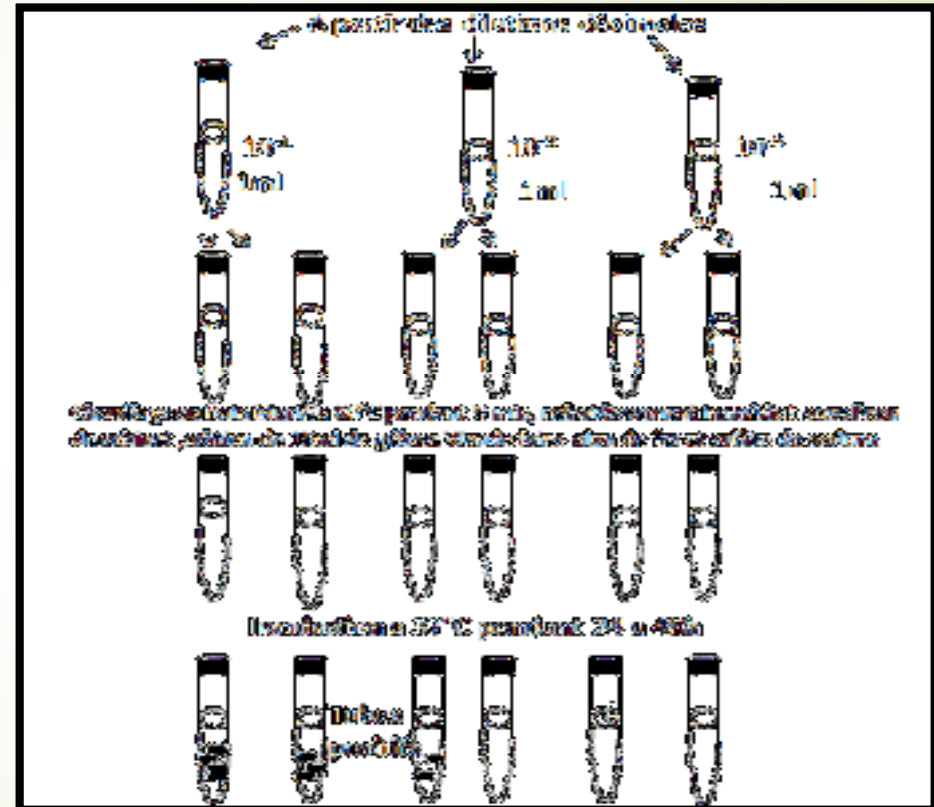


Fig12.- . Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs* :

- Techniques d'analyses microbiologiques :
 - b. Produit a analysé: (beurre, cheddar, PDL, fromage fondu)

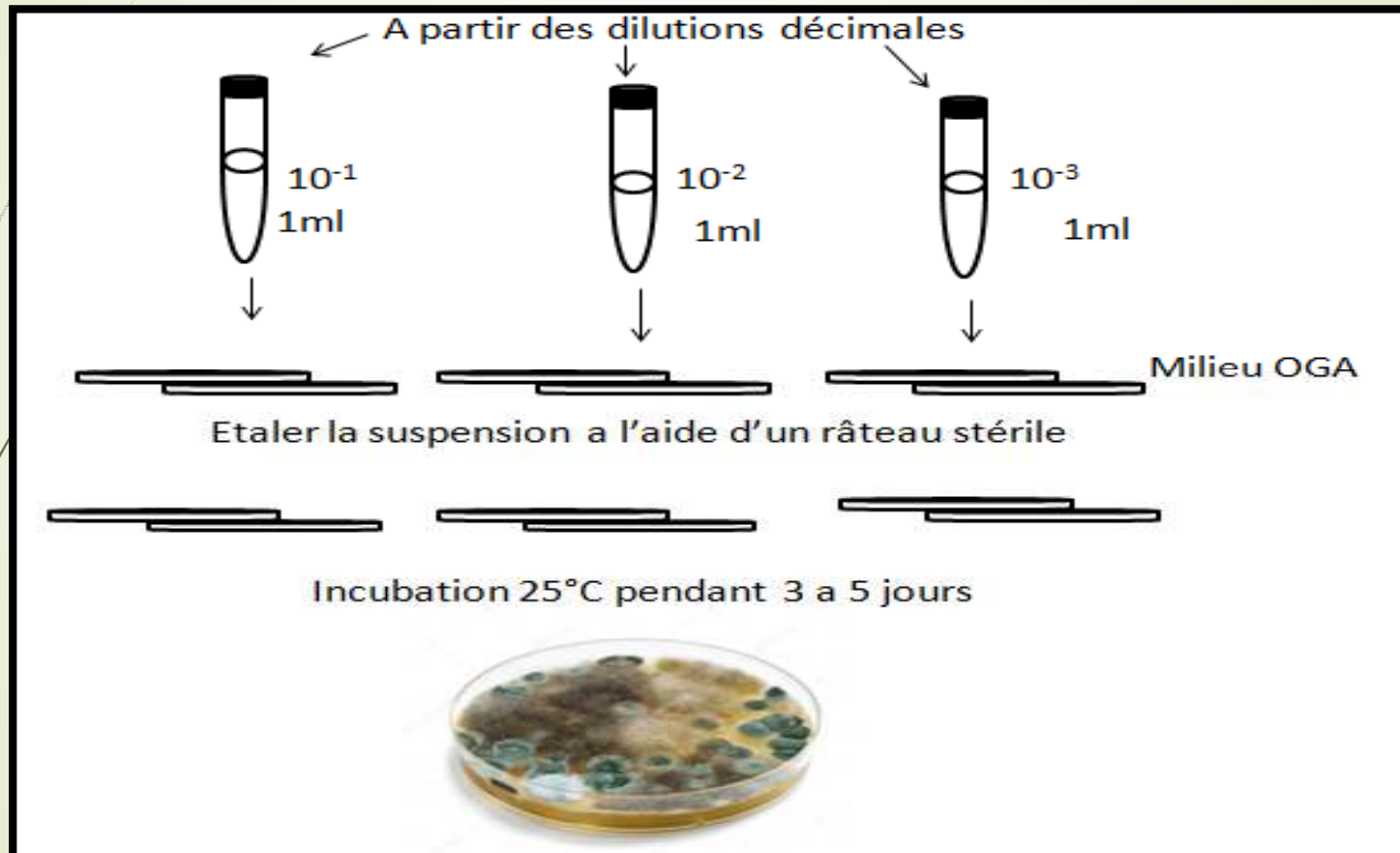
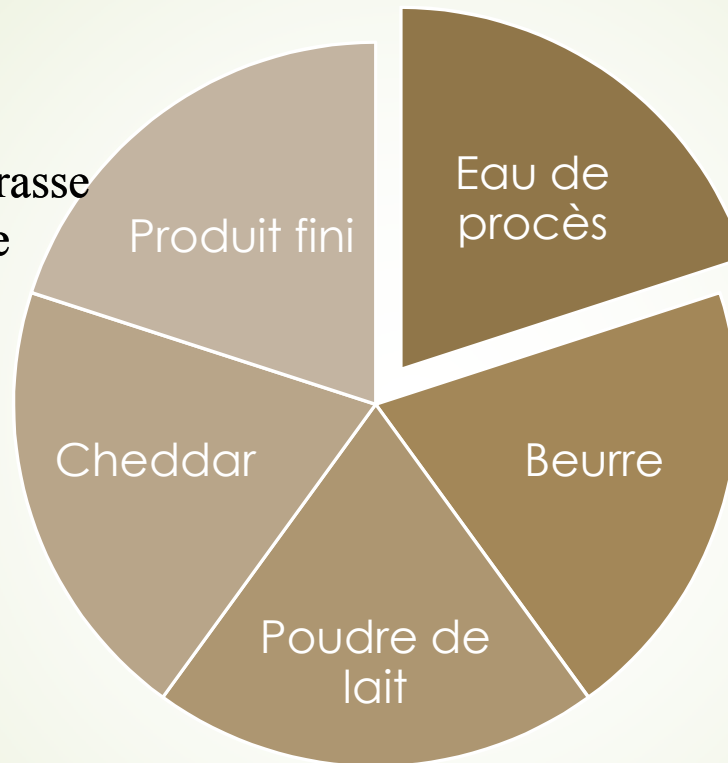


Fig13.- Recherche et dénombrement des levures et moisissures

Analyses physico-chimiques

- Matière grasse
- Extrait sec
- Teneur en matière grasse dans la matière sèche
- pH

- Matière grasse
- Extrait sec
- pH



- Titre hydrométrique
- Titre alcalimétrique
- Titre alcalimétrique complet
- Clore libre
- pH

- Matière grasse
- Extrait sec

- Matière grasse
- Acidité
- pH



III. Résultats et discussions

Résultat des analyses microbiologiques

Tableau1.- Résultat des analyses microbiologiques de l'eau de procès

Les germes recherchés	Résultats trouvés			Norme (jora,1998)	Décision
	23.03.2017	24.03.2017	26.03.2017		
Les Coliformes totaux	Absence	Absence	Absence	<10UFC/ml	Conforme
Les Coliformes fécaux	Absence	Absence	Absence	Absence/100 ml	Conforme
Germes totaux à 37°C	Absence	Absence	Absence	<20UFC/ml	Conforme
Streptocoques	Absence	Absence	Absence	Absence/20ml	Conforme
Clostridium CSR	Absence	Absence	Absence	Absence/20ml	Conforme



Tableau2.- Résultat des analyses microbiologiques de la poudre de lait

Les germes recherchés	23.03.2017	La norme JORA(1998)	Décision
Les coliformes totaux	Absence	<10	conforme
Les coliformes fécaux	Absence	Absence	conforme
La flore totale aérobie mésophiles	73 UFC/g	2.10^5 UFC/g	conforme
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	conforme
<i>Clostridium sulfito-réducteur</i>	Absence	Absence	conforme

Tableau3.- Résultat des analyses microbiologiques de beurre

Germes	Nombre trouvé			Norme JORA(1998)	Décision
	23.03.2017	24.03.2017	26.03.2017		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence	10 UFC/g	conforme
Coliformes	Absence	Absence	Absence	10 UFC/g	conforme
Germes totaux	80 UFC/g	Absence	Absence	10 ² UFC/g	conforme
Levure	Absence	Absence	Absence	Absence	conforme
Moisissures	Absence	Absence	Absence	Absence	conforme



Tableau4.- Résultat des analyses microbiologiques de cheddar

Germes	Nombre trouvé			Norme JORA(1998)	Décision
	23.03.2017	24.03.2017	26.03.2017		
Clostridium sulfito-réducteur	Absence	Absence	Absence	Absence	conforme
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence	Absence	conforme

Tableau 5.- Résultat des analyses microbiologiques du produit fini (fromage fondu)

Germes	Résultats			Normes JORA(1998)	Décision
	23.03.2017	24.03.2017	26.03.2017		
<i>Staphylococcus aureus</i>	Absence	Absence	Absence	Absence	Conforme
<i>Clostridium sulfito réducteur</i>	Absence	Absence	Absence	Absence	Conforme
Coliformes	Absence	Absence	Absence	Absence	Conforme
Germes totaux	Absence	Absence	Absence	Absence	Conforme
Levures	Absence	Absence	Absence	Absence	Conforme
Moisissures	Absence	Absence	Absence	Absence	Conforme

Résultats des analyses physico-chimiques:

Tableau 6.- Résultat des analyses physico-chimiques de l'eau de procès

Paramètres physico-chimiques	Nombre trouvé			Norme JORA(1998)	Décision
	22.03.2017	23.03.2017	25.03.2017		
TH (°F)	9.2	7.2	8.4	(8-10)F°	conforme
TA (°F)	0	0	0	0	conforme
TAC (°F)	30	30	20	30	conforme
Chlore libre (mg/l)	0.75	0.77	0.81	0.8mg/l	conforme
pH	7.73	7.84	7.65	(7-8)	conforme

Tableau7.- Résultat des analyses physico-chimiques de la poudre de lait

Les paramètres physico-chimiques	Résultat	Norme JORA (1998)	Décision
Matière grasse MG%	Des traces	Maximum 0-28%	Conforme
Acidité	2.88%	2-5%	Conforme
PH	6.62	6-6,90	Conforme

Tableau8.- Résultat des analyses physico-chimiques de beurre

Paramètres physico-chimiques	Résultat	Norme JORA (1998)	Décision
MG (%)	82%	82%	conforme
EST (%)	84%	84%	conforme

Tableau9.- Résultat des analyses physico-chimiques de cheddar

Paramètres physico-chimique	Résultats	Norme Jora(1998)	Décision
MG (%)	36 %	30-37%	conforme
EST (%)	66 %	60-66 %	conforme
PH	5.60	4.30-5.97	conforme

Tableau10.- Résultats des analyses physicochimiques du produit fini (fromage fondu)

Paramètres	Résultats	Norme JORA(1998)	Décision
PH	5.78	5.68 à 5.79	conforme
MG (%)	16% - 17%	16% - 17%	conforme
EST (%)	39.56%	39.50% - 40%	conforme
G/S (%)	40.52%	40.50% - 41%	Conforme



IV. Conclusion

Nous avons pu évaluer la qualité microbiologique et physicochimique du fromage fondu O'kids, dont les résultats ont montré une bonne qualité des matières premières destinés à la fabrication du fromage fondu, ainsi que le produit fini (fromage fondu).

Enfin. Nous espérons que les opérateurs économiques optent à respecter les conditions d'hygiène lors de la fabrication des produits alimentaires ainsi que l'application du Décret exécutif 91-53 du 23-02-1991 relatif aux conditions d'hygiène lors de la mise à la consommation des produits alimentaires serait indispensable pour minimiser les cas d'intoxications alimentaires que peut encourir le consommateur.



➤ MERCI POUR VOTRE
ATTENTION

Introduction

Chapitre I:
Synthèse bibliographi
que

Chapitre II : Matériel et méthodes

Chapitre III : résultats et discussions

Conclusion

Annexes