

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLEB BLIDA 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie (SNV)

Département Sciences Alimentaires

Laboratoire : Sciences, Technologies et Développement Durable

Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du Diplôme de master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Alimentaires

Spécialité : Agro-alimentaire et contrôle de qualité

Thème

**Valorisation du lactosérum : incorporation dans une crème de fourrage d'un
biscuit « BIMO »**

Présenté par :

- Bacha Houda
- Brakni Khadidja
- Laidaoui Mira

Encadré par :

Dr. DEFFAIRI Djamilia

Devant le jury composé de :

Dr METIDJI H.	MCB	Univ. Blida 1	Présidente
Dr BOUGHERRA F.	MCB	Univ. De Blida 1	Examineur
Dr DEFFAIRI D.	MCB	Univ. De Blida 1	Promotrice

Année Universitaire 2021-2022

REMERCIEMENTS

Avant toute chose nous remercions le bon Dieu tout puissant de nous avoir donné la force et le courage qui nous a guidé et éclairer notre projet.

Nous tenons aussi à exprimer nos vifs remerciements et notre sincère gratitude à notre promotrice Dr Deffairi Djamila maître de conférences au département sciences alimentaires, Faculté Sciences de la nature et de la vie Université SAAD DAHLEB BLIDA 1 pour sa compréhension et ses conseils qu'elle a donné durant la progression de notre projet pour nous avoir dirigé.

nous remercions les membres de jury d'avoir accepté d'évaluer notre travail.

Madame Mitidji H. maître de conférences au département sciences alimentaires, Faculté Sciences de la nature et de la vie Université SAAD DAHLEB BLIDA 1 d'avoir accepté de présider le jury.

Monsieur Bougherra F. maître de conférences au département sciences alimentaires, Faculté Sciences de la nature et de la vie Université SAAD DAHLEB BLIDA 1 d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous remercions aussi toute l'équipe du laboratoire des analyses physico-chimiques de l'entreprise BIMO : Mme Samia, Mme Nawel et Mr Hakim.

Nous remercions tous les enseignants de notre promotion, et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la mise en œuvre de ce travail.

DEDICACE

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail, A ma très chère mère, mon exemple de patience qui me donne toujours l'espoir de vivre et que n'a jamais cessé de prier pour moi , de m'encourager tout au long de mon cursus.

A mon très cher père, mon idole pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

A mes deux chères sœurs Faiza et Sihem que je les ai trouvées toujours à mes côtés, qui ne cessent jamais à m'encourager me soutenir et m'aider.

A ma meilleure amie khadidja , à mes chers collègues Nabil, Aicha, Chaima Mira et Yasmine.

Et à toutes les personnes qui m'ont aider à réaliser ce travail Et enfin, je remercie mon trinôme Khadîdja et Mira qui ont attribuées à la réalisation de ce modestes travail.

HOUDA.

DEDICACE

A ma douce mère que j'aime le plus au monde qui m'a donné la vie, Tu es ma source de tendresse qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi toutes ces longues années d'études, aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu as fait pour moi et si je suis là c'est grâce à toi et papa.

A mon cher père qui a payé des années d'amour et de sacrifices, le prix de ma façon de penser.

Tu es un exemple à suivre j'ai de la chance de vous avoir comme parent, Je te remercie de m'avoir toujours soutenu, encouragée dans mon parcours et surtout d'avoir toujours cru en moi.

Ma réussite a été et est toujours ton souci permanent Voilà vous voyez enfin le bout de mes études,

A mon frère Abdelfattah et mes sœurs Malak et Anfel qui m'ont toujours soutenue et m'encouragée durant ces années d'étude.

A mes chers collègues Aicha, Chaima, Mira et toutes les personnes qui nous a aider pour réaliser ce travail.

A mes deux meilleures amies Chaima qui nous a quittée très tôt de ce monde, et Houda ma confidente et mon binôme je te remercie d'être à mes côtés.

Et enfin, je remercie mon trinôme Houda et Mira qui ont attribuées à la réalisation de ce modestes travail.

KHADIDJA.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail et ma profonde gratitude

A mes très chers parents que j'aime beaucoup, qui ont veillé sur mon éducation, en témoignage de ma reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices et leur soutien tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leur prête santé et longue vie.

A mes petites sœurs que j'aime énormément ; Bouchra et Marwa je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu vous protège.

Je remercie mes chers amis : Mebarka, Aicha, Khadîdja, Houda, Youcef.

Un grand merci à toute ma famille, mes camarades et toutes les personnes ayant contribué de loin ou de près à la réussite de ce travail.

Et enfin, je remercie mon trinôme Houda et Khadîdja. Qui ont attribuées à la réalisation de ce modestes travail.

MIRA.

RESUME

Notre travail a été effectué au niveau de l'unité biscuitière BIMO, dont l'objectif est la valorisation du lactosérum en poudre par la formulation d'une nouvelle recette de crème de fourrage de biscuit à base de poudre de lactosérum en remplaçant la poudre de lait.

Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, humidité, l'acidité grasse, taux des cendres et de gluten) des matières premières et des produits finis (les deux biscuits fourrés à la crème à base de poudre de lait et à la crème à base de la poudre de lactosérum), montrent que les matières premières et les produits finis fabriqués sont de bonne qualité et elles répondent aux normes Algériennes exigés.

Les résultats des analyses biochimiques des produits finis montrent qu'ils ont une bonne valeur nutritionnelle, le calcul de la valeur énergétique des deux biscuits fabriqués biscuit fourré à la crème à base de lactosérum et le biscuit fourré à la crème à base de la poudre de lait a révélé des valeurs égales qui sont respectivement 463.65 kcal et 477.78 kcal .

Les résultats des analyses microbiologiques, sont de qualité acceptable et conformes aux normes algériennes, les normes de l'entreprise BIMO et les normes françaises.

Enfin un test de dégustation (la texture, la saveur, le gout et l'aspect visuel) a été réalisé qui a révélé une acceptabilité du produit à base de poudre de lactosérum.

La poudre de lactosérum va enrichir le produit fini de point de vu nutritionnel en apportant des éléments de haute valeur nutritionnel comme elle peut constituer une base de la protection de l'environnement en évitant son évacuation dans la nature et par conséquent éviter la prolifération accru des micro-organismes nuisibles dans l'environnement.

Mots clés : Biscuit, Crème, Formulation, Fourrage, Incorporation, Lactosérum, Valorisation.

ملخص

يعتبر مصّل اللبّن أحد منتجات الألبان الثانوية الغنية بالعناصر المغذية، يشكل تصريفها في النفايات السائلة خسارة اقتصادية هائل تم تنفيذ عملنا على مستوى وحدة البسكويّت BIMO، وهو يهدف إلى تعزيز مسحوق مصّل اللبّن عن طريق إدخاله في صيغة وصفة قشدية جديدة حشوة بسكويّت مصنوعة من مسحوق مصّل اللبّن لتحل محل مسحوق الحليب . سيؤدي استرداد هذا المنتج الثانوي إلى تقليل التلوّث البيئي أيضًا من استعادة العناصر النبيلة من مصّل اللبّن الأصلي (اللاكتوز والبروتينات القابلة للذوبان، المعادن..). نتائج التحليلات الفيزيائية والكيميائية للمواد الخام للمنتجات النهائية (قطعان من البسكويّت محشوة بالقشدة على أساس الحليب المجفّف والقشدة على أساس الحليب المجفّف مصّل اللبّن)، تبين أن المواد الخام والمنتجات النهائية المصنعة جيدة الجودة وتفي بالمعايير . تظهر نتائج التحليلات البيوكيميائية للمنتجات النهائية أن لها قيمة غذائية جيدة، درسنا أيضًا قيم الطاقة لكلا البسكويّتين المصنّعين . توافق مع المعايير بالانتقال إلى التحليل الميكروبيولوجي، تكون النتائج ذات جودة مقبولة واخيرا اختبار الذوق لهذا الاخير (الملمس والنكهة والذوق والجانب البصري) التي كشفت عن مقبولية منتج مسحوق مصّل اللبّن بهذا من خلال تسجيل نتائج التقييم المماثلة لتلك المحضرة بمسحوق الحليب .

الكلمات المفتاحية: مسحوق، مصّل اللبّن، انتعاش، دمج، حشو، كريم، بسكويّت، الصياغة، التحليلات، الجودة الغذائية، اختبار الطعم، التوفير

ABSTRACT

Whey is considered a nutrient-rich dairy by-product and its disposal in effluent its rejection in the effluents constitutes an enormous economic loss.

Our work was carried out at the level of the cookie unit BIMO, it aims at valorizing the whey powder by introducing it in a formulation of a new recipe of cream of cookie filling based on whey powder by replacing the milk powder.

The valorization of this by-product will allow to reduce the pollution of the environment as well as and to recover the noble elements of the original whey (lactose and soluble proteins, minerals ...).

The results of physio-chemical analysis of the raw materials of the finished products (the two cookies filled with cream based on milk powder and cream based on whey powder), show that show that the raw materials and finished products manufactured are of good quality and they meet the quality and they meet the standards.

The results of biochemical analysis of finished products show that they have a good nutritional value.

The results of biochemical analysis of the finished products show that they have a good nutritional value, we also studied the energy values of the two manufactured cookies.

The results of the microbiological analysis are of acceptable quality and conform to conform to the standards.

And finally, a test of tasting of the latter (texture, flavor, taste and visual appearance) was carried out which revealed an acceptability of the product based on whey powder by this

The results of the evaluation were identical to those of the milk powder product.

Key words: powder, whey, valorization, incorporation, filling, cream, cookie, formulation, analysis, nutritional quality, taste test, savings.

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Résumé

Introduction1

CHAPITRE.1 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralité sur le lait.....	4
1.1. La composition du lait	4
1.1.1. L'eau	4
1.1.2. L'extrait sec	5
1.1.3. Matières azotées	5
1.1.4. Glucides	6
1.1.5. Minéraux	6
1.1.6. Matière grasse	6
1.1.7. Les enzymes.....	7
1.1.8. Les vitamines	7
2. Propriétés physico-chimiques du lait	8
2.1. Le pH	8
2.2. L'acidité titrable	8
2.3. La densité.....	8
2.4. La viscosité.....	8
2.5. Le point de congélation du lait	9
3. Qualités organoleptiques.....	9
4. Les différentes formes de lait commercialisés	9
4.1. La poudre de lait.....	10

CHAPITRE.2 LE LACTOSERUM

1. Définition du lactosérum	13
2. Sources industrielles du lactosérum	13
2.1. La fromagerie	13
2.2. La beurrerie.....	13
3. Types de lactosérum	14
4. Composition du lactosérum.....	16
4.1. Lactose	16
4.2. Les minéraux	17
4.3. Protéines du lactosérum	17
4.3.1. Les protéines majeures du lactosérum	18
4.3.1.1 La B-Lactoglobuline (β -Lg)	18
4.3.1.2. L' α -Lactalbumine (α -La)	18
4.3.2 Les protéines mineures	19
4.3.2.1 Les immunoglobulines.....	19
4.3.2.2. La sérum albumine bovine (BSA).....	19
4.3.2.3. Les protéoses-peptones.....	19
4.3.2.4. Le glycomacropéptide (GMP).....	20
4.4. Les vitamines	20
4.5. Matière grasse	21
5. Les propriétés fonctionnelles des protéines du lactosérum	21

6. Valorisation du lactosérum	22
6.1. Modes de valorisation du lactosérum.....	22
6.2 Les voies de valorisation du lactosérum.....	22
6.2.1. Utilisation dans l'alimentation humaine	23
6.2.2. Utilisation dans l'alimentation animal	24
6.2.3. Autres utilisations.....	24
7. Intérêt de valorisation du lactosérum	24
7.1. Valeur alimentaire et nutritionnelle du lactosérum.....	24
7.2. L'intérêt des principaux composés nutritionnels du lactosérum.....	25
7.3. Pouvoir polluant du lactosérum	26
8. Technologie de valorisation du lactosérum	26
8.1. Séchage et concentration.....	27

CHAPITRE. 3 LE BISCUIT

1. L'origine des biscuits	31
2. La modernisation des biscuits	31
3. Les grandes familles de biscuits.....	31
4. Composition des biscuits	32
5. Les étapes de fabrication d'un biscuit : «Types Pesos ».....	35

CHAPITRE. 4 LA CREME DE FOURRAGE

1. La crème industrielle	41
2. Les propriétés fonctionnelles de la crème et leurs avantages en fonction des applications industrielles	41
3. Fourrage d'un biscuit	42
4. La crème de fourrage	42
5. Les étapes de fabrication de la crème de fourrage.....	43

Etude expérimentale

Matériels et méthodes

1.Présentation de l'entreprise	47
2.Objectif du projet	47
3.Matériels	48
3.1.Matériel physique	48
3.2. Matériel biologique	48
3.1.1. Pour fabrication de crème	48
3.1.2. Pour fabrication biscuit.....	48
3.3. Formulation de la crème de fourrage à base de poudre du lactosérum	49
3.4.Préparation de la crème de fourrage.....	51
3.5. Fourrage et montage de biscuit	51
3.6.Emballage et conditionnement	52
4. Protocoles d'analyses	53
4.1. Les analyses physico-chimiques	54
4.1.1. Taux d'humidité	54
4.1.2. Potentiel hydrogène pH	54
4.1.3. Taux de cendres	54
4.1.4. Acidité grasse de la farine.....	54
4.1.5. Acidité grasse de la poudre de lait et du lactosérum.....	54
4.1.6. Acidité grasse de la matière grasse	54

4.1.7. Mesure du taux de gluten dans la farine	54
4.2. Les analyses biochimiques.....	55
4.2.1. La teneur en lipides totaux	55
4.2.2. La teneur en protéines totales	55
4.2.3. La teneur en glucides totaux	56
4.2.4. Détermination des chlorures par la méthode de MOHR (CI).....	56
4.2.5. Dosage des fibres par la méthode de Weende.....	57
4.2.6. Détermination de l'amidon d'après la méthode polarimétrique Ewers.....	57
4.2.7. Détermination de la valeur énergétique globale.....	57
4.3. Les analyses microbiologiques.....	58
4.3.1. Les germes aérobies	58
4.3.2. Escherichia coli	58
4.3.3. Les salmonelles.....	58
4.3.4. Staphylococcus aureus.....	59
4.3.5. Dénombrement des levures et moisissures	59
5. L'analyse sensorielle.....	60

RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Résultats des analyses physico-chimiques sur les matières premières.....	63
1.1. Taux d'humidité.....	63
1.2. Potentiel d'hydrogène.....	64
1.3. L'acidité grasse	66
1.4. Les cendres et le taux de gluten	68
2. Les résultats des analyses des produits finis.....	70
2.1. Résultats d'analyses physico-chimiques	70
2.2. Résultats d'analyses biochimiques.....	73
2.3. Les valeurs énergétiques	75
3. Résultats des analyses microbiologiques des produits finis.....	76
4. résultats des analyses sensorielles.....	78

CONCLUSION

REFERENCES

ANNEXES

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : modèle de micelle de caséine avec sous-unités (Amiot et al., 2002).....	5
Figure 02 : Structure d'un globule de matière grasse du lait (Lapointe-Vignola, 2002).....	7
Figure 03 : schéma général des sources industrielles du lactosérum. (Wiley & Sons Ltd 2019)..	14
Figure 04 : Structure moléculaire du lactose (A) et hydrolyse enzymatique (B)	16
Figure 05 : Composition en sels minéraux pour 1 kg de lactosérum.....	17
Figure 06 : composition en vitamines pour 1kg de lactosérum. (Wiley & Sons Ltd 2019).....	20
Figure 07 : Les produits finis résultants des différents procédés industriels appliqués au lactosérum. (Laplanche et al., 2006).....	27
Figure 08 : illustre quelques types des pates utilisés en biscuiterie	31
Figure 09 : Différents types de biscuit.....	32
Figure10 : Diagramme de fabrication d'un biscuit	38
Figure 11 : les différentes types des crèmes.....	41
Figure12 : diagramme de fabrication de la crème de fourrage.....	44
Figure 13 : Biscuit fourré à la crème fabriquée à base de la poudre de lait.....	52
Figure 14 : Biscuit fourré à la crème fabriquée à base de la poudre de lactosérum.....	52
Figure 15 : Biscuit « 1 » emballé fourré à la crème fabriquée à base de la poudre de lait.....	52
Figure 16 : Biscuit « 2 » emballé fourré à la crème fabriquée à base de la poudre de lactosérum.....	52
Figure 17 : Les résultats du taux d'humidité en % de la farine, la poudre de lait et la poudre de lactosérum.....	63
Figure 18 : Les résultats de la mesure du PH de la farine, la poudre de lait et la poudre de lactosérum.....	65
Figure 19 : résultats de l'acidité grasse des matière première (farine, poudre de lait, poudre de lactosérum et la matière grasse).....	66
Figure 20 : les résultats des taux des cendres et de gluten sec et le gluten humide de la farine en pourcentage (%)......	69
Figure 21 : résultat d'analyse physicochimique	71

Figure 22 : résultat d'analyse biochimique	73
Figure 23 : les résultats de calcul de valeur énergétique des 2 biscuits fabriqués à base de 2 crèmes différentes	76

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales (Vinola, 2002).....	4
Tableau 02 : Les paramètres physicochimique du lait de vache (DEBOUZ et al, 2014).....	9
Tableau 03 : Les différents types de lait livrés à la consommation (« Textes Et Documents pour la Classe »).....	10
Tableau 04 : Composition moyenne des deux types de poudre de lait (Cherrey., 1980).....	11
Tableau 05 : composition de différents lactosérums acides. (Pearce, 1992).....	15
Tableau 06 : Composition moyenne du lactosérum doux et acide. (Morr et al.,1993 ; Linden et al., 1994).....	16
Tableau 07 : couverture des besoins de quelques vitamines par le lactosérum. (Woo, A.2002)...	26
Tableau 08 : la formule de la crème fabriquée et la formule de la crème témoin (essai 1) en %.....	49
Tableau 09 : la formule de la crème fabriquée et la formule de la crème témoin (essai 1) en gr.....	50
Tableau 10 : La formules de la nouvelle crème et du crème témoin (essai 2) en %.....	50
Tableau 11 : La formules de la nouvelle crème et du crème témoin (essai 2) en gr.....	51
Tableau 12 : Les analyses faites sur les matières premières et les produits finis.....	53
Tableau 13 : Les analyses microbiologiques faites sur les produits finis.....	59
Tableau 14: les résultats d'analyses microbiologiques sur les 2 produits finis.....	76

LISTE DES ABREVIATIONS

α -LA : alpha lactoglobuline.

β -LG : Béta lactoglobuline.

BSA : Bovin sérum albumine.

EST : Extrait sec totale.

EPT : eau peptonée tamponnée.

Ig : Immunoglobuline.

IgG1 : Immunoglobuline classe G1.

IgG2 : Immunoglobuline classe G2.

IgA : Immunoglobuline classe A.

IgM : Immunoglobuline classe M.

IgE : Immunoglobuline classe G.

N : normalité voulue.

PH : potentiel hydrogène.

PCA : Plate Count Agar.

°D : degré dornic

Abs : absence

AG : acidité grasse

AT : acidité titrable

MG : matière grasse

DM : dilution mère

E : valeur énergétique

MS : matière sèche

MS : moyenne des scores

PE : prise d'essai

pH : potentiel Hydrogène

SM : somme des rangs

T : normalité

TSE : Tryptone, Sel, Eau

V : volume

SM : somme des rangs

NA : norme algérienne

NF : norme française

AFNOR : Association Française de Normalisation

BIMO : Biscuiterie Moderne

FAO: Food and Agriculture Organization

ISO: International Organization for Standardization

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

INTRODUCTION

Le lactosérum a été depuis longtemps considéré comme un sous-produit encombrant de fromagerie et caséinerie, sans intérêt, dont il fallait se débarrasser aux moindres frais, en particulier en le rejetant dans les eaux résiduaires des usines laitières. Or, depuis quelques années, les recherches effectuées par la plupart des pays laitiers ont mis en évidence sa valeur nutritionnelle.

Il est incontestablement une matière noble et riche. En effet, il est devenu une source intéressante de composés actifs et de nutriments spécifiques, présentant des propriétés incomparables, tant sur le plan nutritionnel que sur le plan techno-fonctionnel, tels que le lactose, les protéines solubles, les vitamines hydrosolubles, les matières grasses et les éléments minéraux **(BENAISSA , 2018)** ; ainsi que les possibilités de son utilisation dans l'alimentation humaine et animale. Où ses constituantes apportant généralement des améliorations très intéressantes. De ce fait, le lactosérum est passé subitement de l'état de sous-produit encombrant à celui de richesse alimentaire.

Ces quantités massives font de la gestion du lactosérum un enjeu à la fois économique et écologique. Économique puisque la gestion de chaque kilogramme de produit (le terme produit inclut produits finis, coproduits et sous-produits) représente un coût pour le transformateur industriel, et écologique puisque le lactosérum, s'il n'est pas géré correctement, représente un polluant majeur il serait à l'origine de pollution grave due à la fermentation de ses matières organiques (lactose et matières azotées) et à la diminution de la teneur en oxygène dissous de l'eau au-dessous d'un seuil acceptable. **(Smithers et al.,1996)**.

Le développement de nouvelles technologies pour la valorisation du lactosérum est nécessaire, surtout que les quantités produites ne cessent d'augmenter.

Paradoxalement, de nombreuses industries agroalimentaires importent du lactosérum en poudre pour leur production très diverses : biscuits, yaourts, confiseries, crèmes ; Cependant, notre pays rejette, actuellement, la totalité du lactosérum produit par les industries laitières, dont la matière première ; le lait, est importé à fortes devises.

En Algérie, l'inexistence d'une mise en valeur du lactosérum est le résultat de l'absence d'une réglementation stricte, émanant des pouvoirs publics, pouvant interdire le rejet de ce produit dans la nature. Le rejet du lactosérum dans les égouts représentant une perte sèche d'éléments nutritifs ; L'industrie fromagère rejette quotidiennement 6000 litres de lactosérum par jour, soit 4 à 12 kg pour 1 kg de fromage produit **(Gana et Touzi, 2001)**. Au cours de ces

dernières années, plusieurs travaux apportent des nouvelles connaissances sur la valorisation du lactosérum ont été réalisés au niveau des universités algériennes.

Le rejet de lactosérum dans les égouts représentant une perte sèche de l'élément nutritif.

A ces raisons, notre étude porte sur une contribution à la valorisation de la poudre de lactosérum, par son introduction dans le domaine de la biscuiterie à échelle laboratoire, GROUPE BIMO INDUSTRIE, SARL, Baba Ali, wilaya d'Alger, dont le but est :

- La fabrication d'une crème de fourrage à base de la poudre du lactosérum et son incorporation dans le biscuit.
- D'étudier l'impact de l'incorporation de la poudre sur la qualité nutritionnelle et organoleptique du produit et l'acceptabilité de ces biscuits par les consommateurs.
- D'effectuer des analyses physico chimiques et microbiologiques des matières premières et du produit fini pour assurer la conformité de notre produit.

Le document est présenté selon le plan suivant et qui comprend :

- La première partie relative à l'étude bibliographique comprenant quatre chapitres dont le Premier ; des généralités autour de lactosérum, la deuxième présente des généralités sur les Biscuits et enfin la technologie de sa fabrication, et le quatrième présente la crème de fourrage.
- Une deuxième partie expérimentale présentant le matériel utilisé, les méthodes nécessaires pour la confection des biscuits les résultats obtenus, leurs analyses et leurs discussions
- Une troisième partie concernant le déroulement du test de dégustation.

Enfin une conclusion générale résume les différents résultats obtenus et les perspectives de ce travail.

**CHAPITRE.1 SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE**

CHAPITRE.1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Généralité sur le lait

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes (GHAOUES, 2011). Selon la norme générale codex pour l'utilisation de terme de laiterie (CODEX STAN* 206,1999) « Le lait est la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenu à partir d'une ou de plusieurs traites, sans rien y ajouter qu'en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur » (FAO/OMS, 2011).

Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes) (FREDOT, 2006).

1.1. La composition du lait

Proche du plasma sanguin, est un sérum comportant une émulsion de matière grasse, une suspension de matière protéique caséuse, du lactose, des sels et minéraux, des protéines solubles et des traces d'éléments divers (Fernane-Boumedine, 2017).

Ainsi, la composition du lait varie selon les espèces animales mais aussi selon différents facteurs tels que l'individualité, la race, la période de lactation, l'alimentation, la saison, l'âge.

En règle générale, l'eau est le constituant principal du lait. La proportion des autres constituants varie selon les espèces (Tableau 1) (Fernane-Boumedine, 2017).

Tableau 1 : Composition moyenne du lait de différentes espèces animales (Vinola, 2002)

Animaux %	Eau	Protéine	Matière grasse	Glucides	Minéraux
Vache	87,5	3,2	3,7	4,6	0,8
Chèvre	87,0	2,9	3,8	4,4	0,9
Brebis	81,5	5,3	7,4	4,8	1,0
Chamelle	87,6	3,0	5,4	3,3	0,7
Jument	88,9	2,5	1,9	6,2	0,5

CHAPITRE.1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1.1. L'eau

C'est le constituant majeur du lait environ 87%, elle contient en solution le lactose, les sels minéraux et des protéines solubles. Elle est également l'élément dispersant des micelles de caséines et des globules de matière grasse. De ce fait les interactions entre l'eau et les autres composants sont à la base même de la stabilité du produit (**Banon et Hardy, 2002**).

1.1.2. L'extrait sec

Selon **ABOTAYEB (2011)**, il y a deux types d'extrait sec dans le lait : extrait sec totale (E.S.T) on l'appelle aussi la matière sèche et l'extrait sec dégraissé (E.S.D) qu'est la matière sèche sans la matière grasse. L'extrait sec total du lait est en moyenne de 13,1% et l'extrait sec dégraissé est de 9,2%. Selon (**FAO, 2010**), l'E.S. T est de 125 g/l et de 90 à 95 g/l pour l'E.S. D du lait. Il se compose de tous les constituants du lait à l'exclusion de l'eau. L'extrait sec dégraissé a une composition presque fixe car les matières grasses du lait constituent le composant le plus variable. Il est déterminé par étuvage à une température de $103 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

1.1.3. Matières azotées

On peut distinguer 2 groupes de matières azotées dans le lait :

- Les protéines et les matières azotées qui représentent respectivement 95% et 5 % de l'azote minéral du lait (**Goursaud, 1985**).

On distingue deux grands groupes de protéines dans le lait : les caséines et les protéines du lactosérum (**Poughon et Goursaud, 2001**).

- **Caséines** : Elles forment près de 80% de toutes les protéines présentes dans le lait, les caséines se regroupent sous forme sphérique appelée micelle constituée de 92 % de protéines et de 8% de minéraux (Figure 1) (**Amiot et al., 2002**).

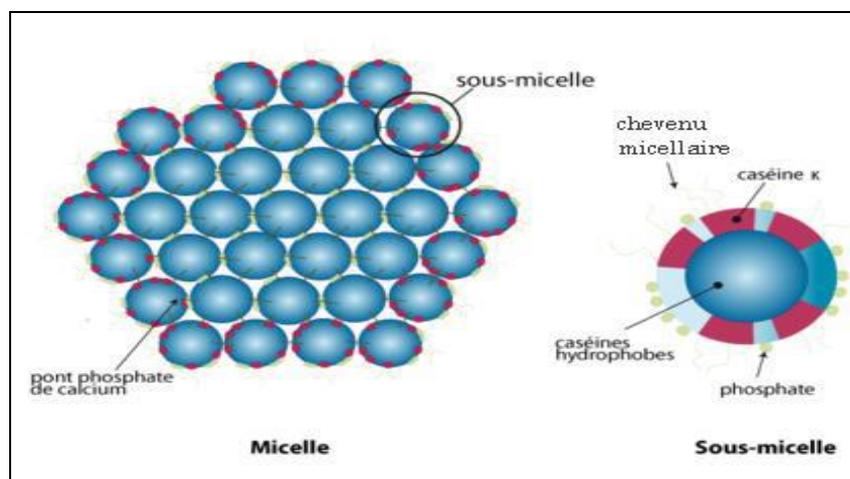


Figure 01 : modèle de micelle de caséine avec sous-unités (**Amiot et al., 2002**)

CHAPITRE.1 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

➤ **Protéines du lactosérum**

- Elles présentent 15 à 28 % des protéines du lait de vache et 17 % des matières azotées.
- Elles demeurent en solution dans le « sérum isoélectrique », leur teneur est élevée en lysine, Tryptophane, cystéine (**Poughon et Goursoud, 2001**).

1.1.4. Glucides

Le lactose est le glucide ou l'hydrate de carbone ; le plus important composant du lait puisqu'il constitue environ 47-50% des solides totaux. Il est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin. Celui-ci est en grande partie produit par le foie.

D'autres glucides peuvent être en faibles quantités, comme le glucose et le galactose qui proviendrait de l'hydrolyse du lactose. En outre, certains glucides peuvent se combiner aux protéines. Ainsi, le lait contient près de 4,8% de lactose, tandis que la poudre de lait écrémé en contient 52% et la poudre de lactosérum, près de 70% (**Vignola, 2002**).

1.1.5. Minéraux

- Selon **Gaucheron, (2004)**, le lait contient des quantités importantes de différents minéraux.
- Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions.

1.1.6. Matière grasse

- 35 à 45 g / l de matière grasse qui se présente sous forme de globules gras, sont constitués d'un noyau de triglycérides entouré par une fine membrane appelée la membrane grasse du lait.
- La membrane du globule de matière grasse a un diamètre moyen avoisinant les 5 µm agit comme un agent émulsifiant (**POUGHEON et al., 2001**).
- Cette fraction lipidique est essentiellement constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K, et ces constituants varient plus avec l'alimentation. (**COUVREUR et al., 2006**). (**Figure2**).

CHAPITRE.1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

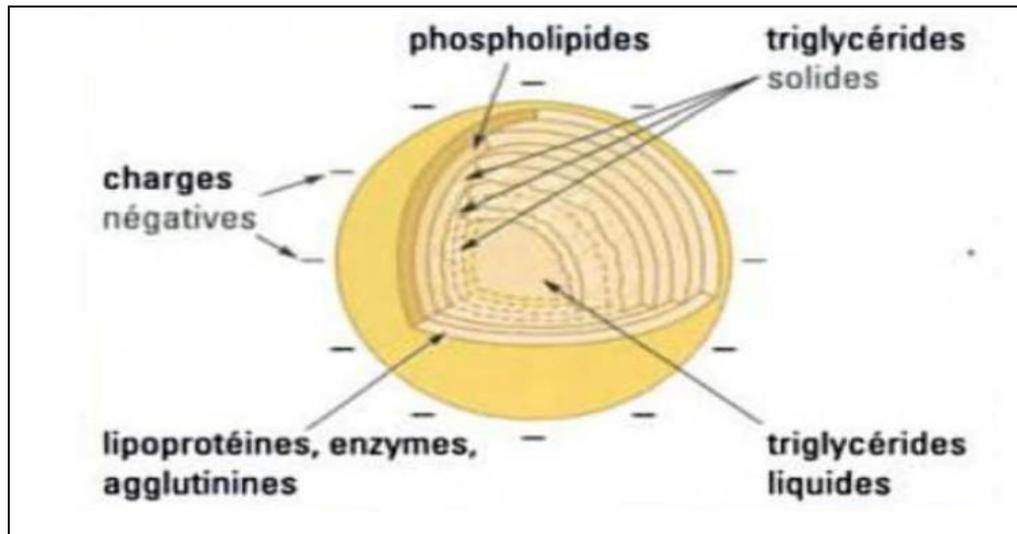


Figure 02 : Structure d'un globule de matière grasse du lait (Lapointe-Vignola, 2002).

1.1.7. Les enzymes

L'importance des enzymes du lait découle de cinq propriétés principalement :

- Certaines sont des facteurs de dégradation (lipase, protéase) avec des conséquences importantes sur le plan technologique et les qualités organoleptiques.
- La mesure de leur activité peut être un indicateur hygiénique du lait.
- Certaines ont une action bactéricide ou bactériostatique qui peut apporter aussi une protection du lait (lactoperoxydase et lysozyme).
- La thermo stabilité de la phosphatase alcaline et de la peroxydase permet le contrôle des traitements techniques industriels du lait.
- Les laits de différentes espèces peuvent être distingués, comme les laits ne présentent pas les mêmes concentrations pour certaines enzymes. (Debry, 2001).

1.1.8. Les vitamines

Les vitamines sont des substances organiques que l'on rencontre en très faibles concentrations chez les animaux et dans les végétaux. Elles sont essentielles aux processus vitaux élémentaires.

➤ On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait. (Debry, 2001).
- Les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie (Debry, 2001).

CHAPITRE.1 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

2. Propriétés physico-chimiques du lait

Le lait est un mélange complexe constitué à 90% d'eau et qui comprend une solution vraie contenant les sucres, les protéines solubles, les minéraux et les vitamines hydrosolubles une solution colloïdale contenant les protéines, en particulier les caséines. Une émulsion de matières grasses dans l'eau (LEYMARIOS, 2010). (Tableau 2).

2.1. Le pH

Le PH du lait varie d'une espèce animale à l'autre et aux conditions environnementales, le pH du lait de vache est compris entre 6,5 et 6,8 (VEIGNOL, 2002).

Selon ABOTAYUBE (2011), affirme que le colostrum est plus acide que le lait normal, alors que le lait de fine lactation et celui de la vache malade ont des PH plus élevé. Et d'après CROGUNNEC et al (2008), une diminution de PH due à l'augmentation des constitutions ioniques de lait par l'augmentation de l'appart des

2.2. L'acidité titrable

Selon ABOTAYEB (2011), l'acidité est déterminée à partir d'un équilibre entre les constituants basiques (sodium, potassium, magnésium, calcium et hydrogène) et les constituants acides (phosphates, citrates, chlorures, carbonates, hydroxyles et protéines) du lait.

L'acidité est une notion importante pour l'industrie laitière, elle permet de juger l'état de conservation du lait. Elle est exprimée en "degré Dornic" (°D) $1^{\circ}D=0,1g$ de l'acide lactique, cette acidité est comprise entre $15^{\circ}D$ et $18^{\circ}D$.

2.3. La densité

La densité est le rapport de la masse volumique avec celle de l'eau, elle est de 1,032 à 20 C° pour les laits de grand mélange. Le lait a donc un volume et un poids quasi égaux car sa densité est proche de 1. La densité varie soit en fonction des matières grasses, soit avec la concentration des éléments dissous et en suspension. Un lait écrémé a une densité plus forte, en revanche en cas de mouillage, la densité diminue. (FREDOT, 2005).

2.4. La viscosité

Elle correspond à la résistance d'un liquide à l'écoulement. Elle est due à la présence de protéines et de matières grasses dans le lait. Elle limite la montée des matières grasses à la

CHAPITRE.1 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

surface du lait, diminue lorsque la température augmente et augmente lorsque le pH est < 6 . (FREDOT, 2005).

2.5. Le point de congélation du lait

Il est le seul paramètre fiable pour vérifier un mouillage.

Le point de solidification du lait de vache est compris entre $-0,54$ et $-0,59^{\circ}\text{C}$. L'abaissement de cette tenue est en relation directe avec la concentration en solutés d'une solution ABOTAYUB (2011).

Tableau 02 : Les paramètres physicochimique du lait de vache (DEBOUZ et al., 2014).

Paramètres	Valeur
Ph \AA 20°C	6.6-6.8
Acidité (degré Dornic)	15-18
Densité	1.028-1.032
Matière grasse g/l	24-55
Protéine g/l	35
Lactose g/l	50
Sels minéraux g/l	7.2
Extrait sec dégraissé g/l	132
Point de congélation (C°)	-0.55
Conductivité électrique Ms	4.5à25°C

3. Qualités organoleptiques

Elle concerne l'ensemble constitué par l'odeur, la couleur et la saveur.

- **La Couleur :** Le lait est d'une couleur blanc matte porcelaine due à la diffusion de la lumière à travers les micelles des colloïdes. Sa richesse en matières grasses et en β - carotène lui confère une teinte un peu jaunâtre (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait) (LAURE et CAZET, 2007).
- **L'odeur :** le lait du fait de la matière grasse qu'il contient, fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite et à l'alimentation. A la conservation c'est l'acidification du lait par l'acide lactique qui donne une odeur aigrelette (VIERLING, 1998 ; LAURE et CAZET, 2007).

CHAPITRE.1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

- **La saveur** : Il a une saveur légèrement sucrée due au taux important du lactose. Elle évolue en fonction de l'alimentation de l'animal, elle varie en fonction de la température de dégustation (**VIERLING, 1998**).

4. Les différentes formes de lait commercialisés

Le tableau 3 représente Les différents types de lait livrés à la consommation (« Textes Et Documents pour la Classe »).

Tableau 03 : Les différents types de lait livrés à la consommation

	Kcal	KJ	P (g)	L (g)	G (g)	Ca (mg)
Lait entier	63	263	3,2	3,5	4,6	120
Lait 1/2 écrémé	46	195	3,2	1,6	4,6	114
Lait écrémé	34	142	3,3	0,2	4,6	112
Lait en poudre écrémé*	351	1467	35,5	0,8	50	1300
Lait concentré entier non sucré	130	544	6,4	7,5	9,2	255
Lait concentré sucré	325	1358	8,4	9,1	55,8	280

**10 g de poudre permet de reconstituer 100 ml de lait. Source : Répertoire général des aliments, produits laitiers, Ciqual, 1995.*

4.1. La poudre de lait

a. Définition

Les poudres de lait sont des produits résultant de l'enlèvement partiel de l'eau de lait (**Hall et Hedric, 1961**). On répartit les poudres de lait en 3 groupes.

La composition et les propriétés doivent répondre à certaines conditions qui permettent de classer chaque type de poudre en différentes catégories (**Balis et al., 1984**). (**Tableau 4**).

- **Lait entier en poudre ou poudre de lait entier** : correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières est égale au minimum 26% en poids (**JORA N69 / 1993**).
- **Lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé** : correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières est supérieure à 1.5% est inférieur à 26% en poids (**JORA N69 / 1993**).
- **Lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé** correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières ne doit pas excéder 1.5% en poids (**JORA N69 / 1993**).

CHAPITRE.1 SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Les laits en poudre, doivent contenir en poids en maximum un taux de 6% de sel et au minimum 34% des protéines du lait (**JORA N69 / 1993**).

Tableau 04 : Composition moyenne des deux types de poudre de lait (**Cherrey., 1980**)

Constituants	Lait entier (g/l)	Lait écrémé (g/l)
Eau	03.50	04.30
Protéine	25.20	35.00
Matière grasse	26.20	00.97
Lactose	35.10	50.50
Minéraux	07.00	07.80

b. Différents usages de la poudre de lait

La poudre de lait est dissoute dans l'eau et utilisée en tant que lait reconstitué. Ce sont surtout les pays ne disposant pas d'un grand secteur de production laitière qui constituent un marché important en la matière. De grandes quantités de lait en poudre sont utilisées avec des composants de cacao et du sucre pour la fabrication d'exquis chocolat au lait. Il est en outre utilisé pour les articles de confiserie, les biscuits, les articles de boulangerie, les glaçages et divers produits laitiers tels que la crème glacée et le fromage fondu (**Taleb, 2017**).

CHAPITRE.2
LE LACTOSERUM

1. Définition du lactosérum

Le lactosérum (parfois appelé sérum de lait) est une solution claire jaunâtre à verdâtre c'est un sous-produit de la fromagerie et de la caséinerie, son pH est compris entre 5 et 6, extrait du caillé de lait coagulé par la présure ou l'acide. Il est très fermentescible et représente 85 à 90% du volume de lait utilisé. Les composants du lactosérum sont les petites molécules qui ne participent pas au caillage du lait et qui peuvent être extraites par filtration.

Les composants solides typiques du lactosérum comprennent le lactose(glucides), les protéines (principalement des protéines de lactosérum), des minéraux et de vitamines hydrosolubles de haute qualité (**Wiley et al 2019**). La présence de tous ces composants en fait un produit très nutritif. Bien que les preuves continuent à s'accumuler qu'ils contiennent une variété de facteurs et de composés capables d'améliorer la santé et de prévenir les maladies, le lactosérum continue d'être utilisé. Il contient plus de 50 % des solides du lait entier, y compris la majorité des minéraux, et presque toutes les protéines de lactosérum et le lactose.

2. Sources industrielles du lactosérum

2.1. La fromagerie

La fabrication des fromages et l'extraction de la caséine du lait écrémé laissent comme produit dérivé un liquide clair, jaune verdâtre : le lactosérum qui a une composition variable avec le type de fabrication dont il provient. (**Saulnier et al ., 1996**).

2.2. La beurrerie

Le babeurre ou « lait de beurre » est le résidu issu de la fabrication du beurre à partir de lait ou de crème. Le babeurre coagulé peut y être transformé en fromage et en lactosérum. (**Meyer et Duteurtre, 1998**). (**Figure 3**)

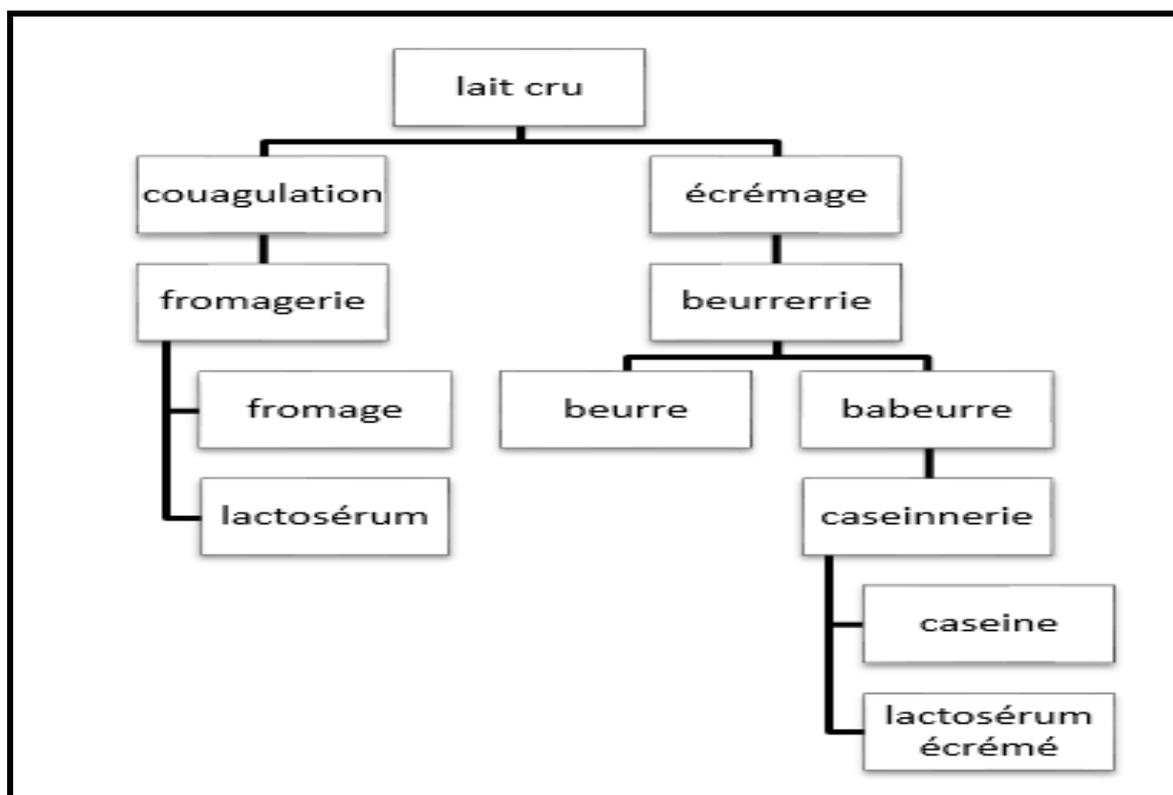


Figure 03 : schéma général des sources industrielles du lactosérum (Wiley et Sons Ltd ,2019)

3. Types de lactosérum

Le lactosérum doit être considéré comme un produit dérivé plutôt qu'un sous-produit de la fabrication des fromages, ou de la caséine. On distingue deux types de lactosérums :

- Celui résultant de la coagulation des laits non acides, par la présure, et qu'on appelle « lactosérum doux » et celui résultant, de la fabrication des fromages à pâtes fraîches, à pâtes molles ou de la caséine lactique appelle « lactosérum acide.

- **Lactosérum acide**

Obtenu après la coagulation du lait par précipitation des caséines à leur pH isoélectrique de 4.6 par ajout d'acide fort ou d'acide lactique. La caséine est combinée à des sels de calcium, l'acidification entraîne sa déminéralisation qui fait passer dans le sérum une part importante d'élément minéraux, notamment le calcium et le phosphore.

Les lactosérums acides sont moins riches en lactose et plus riche en minéraux. Ils sont aussi plusensemencés en germes lactiques et moins sujets à des fermentations que les lactosérums doux. Les teneurs élevées en acide lactique et en minéraux Posent des difficultés pour la déshydratation ; aussi les lactosérums acides sont souvent utilisés à l'état liquide alors que les sérums doux sont généralement déshydratés. Le lactosérum acide provient de la fabrication des pâtes fraîches et des pâtes molles, son pH varie entre 3,8-4,6. (Tableau 05)

Tableau 05 : composition de différents lactosérums acides (Pearce, 1992)

Lactosérums acides				
Constituants	D'acide lactique	D'acide chlorhydrique	D'acide sulfurique	Présure
Liquide				
Solides (%)	6.0	5.8 – 6.1	6.0 – 6.3	6.4 – 6.7
pH	4.0	4.6	4.6	6.6
Solides (%)				
Lactose	65.5	70 - 76	68 - 74	75 - 80
Protéines	12	9.9 – 12.8	9.9 – 11.7	13.8 – 15.5
Cendre	12	11.6 – 19.4	12 - 13	7.0 – 8.0
Acide lactique	10	ND	ND	ND
Gras	0.5	ND	ND	ND
Minéraux :				0,6
Calcium	1.9	2.0 – 2.4	2.0 – 2.4	0.7 – 0.8
Phosphore	1.5	2.8 – 3.2	2.8 – 3.2	1.0 – 1.4
Chlorure de sodium	2.5	7.5	2.5	2.5

Adapté de Pearce, 1992.

- **Lactosérum doux**

Il est obtenu après la coagulation de la caséine sous l'action de la présure sans acidification préalable, on obtient alors un sérum doux, pauvre en sels minéraux et riche en lactose et en protéines. En plus des protéines solubles du lait, ce type de lactosérum contient une glycoprotéine qui provient de l'hydrolyse de la caséine Kappa par la présure.

Lorsque le lactosérum de fromagerie n'est pas traité avec toutes les précautions nécessaires, la poursuite de la fermentation naturelle augmente son acidité. Le lactosérum doux issu de la fabrication de fromage à pâte pressée cuite ou non cuite (Emmenthal, Saint Paulin, Edam...etc.), est de pH variant entre 5 et 6,3. (voir le tableau 02)

Tableau 06 : Composition moyenne du lactosérum doux et acide. (Morr et al.,1993 ; Linden et al., 1994).

	Lactosérum doux (%)	Lactosérum acide (%)
pH	6,3	4,6
Eau	93	93,5
Lactose	4,77	4,71
Protéines	0,82	0,75
MG	0,07	0,03
Acide lactique	0,15	0,55
Cendres	0,53	0,69
Calcium	0,05	0,13
Sodium	0,07	0,06
Potassium	0,13	0,15
phosphore	0,06	0,09

D'après ce tableau on constate que les lactosérums sont riches en lactose et potassium.

Dans le lactosérum acide une partie du lactose a été transformé en acide lactique ; les lactosérums doux sont pauvres en calcium (reste dans le caillé pour participer à la coagulation des protéines), alors que les lactosérums acides sont riches en calcium.

4. Composition du lactosérum

4.1. Lactose

Le lactosérum contient la quasi-totalité du lactose du lait. C'est un diholoside (disaccharide) réducteur et fermentescible constitué par l'association d'une molécule de D-galactose et d'une molécule de D-glucose via une liaison osidique β -Dgalactopyranosyl (1-4) - α -D glucose

(Figure 4) (Noureddine Belattar.2016)

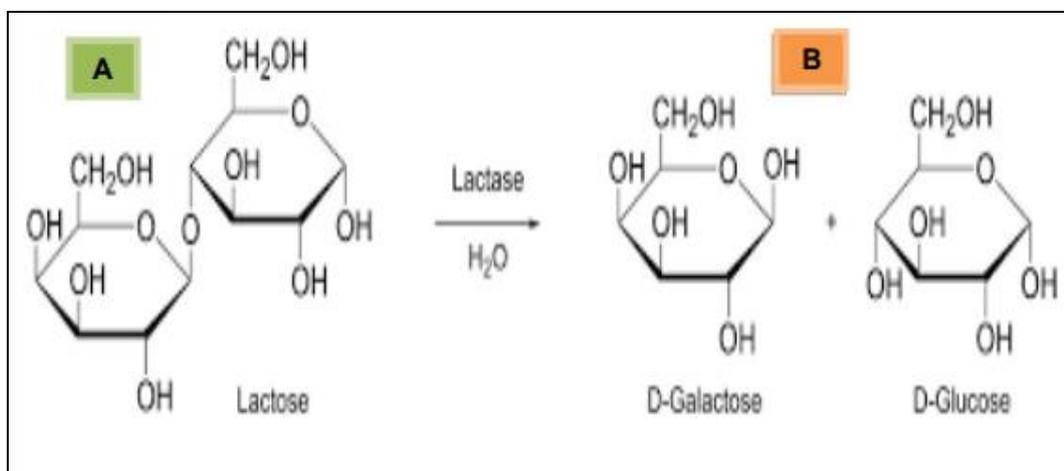


Figure 04 : Structure moléculaire du lactose (A) et hydrolyse enzymatique (B).

Le lactose est le principal composant du lactosérum en dehors de l'eau, constitue environ 4,4-4,9% du lactosérum "tel quel" (près de 75% de la matière sèche) selon le type de lactosérum. La teneur en lactose est généralement plus faible dans les lactosérums acides en raison du processus de fermentation qui précède préalable au cours duquel une partie du lactose est convertie en acide lactique. Bien que lactose soit la matière la plus abondante du lactosérum, protéines du lactosérum, qui constituent environ 0,7 % du lactosérum (environ 9-11 % de la matière sèche). (Jelen and Renz-schauen 1989)

4.2. Les minéraux

Les minéraux constituent le troisième grand groupe de composants, ils représentent 7 à 12 % de la matière sèche du lactosérum, il s'agit essentiellement du calcium et du phosphore, ainsi que le potassium, le sodium, le magnésium, le chlore, le fer ...etc.

La composition minérale présente les plus grandes variations entre les deux types de lactosérum, ainsi que le pH et la teneur en acide lactique. Bien que les valeurs de composition globale de chacun des deux types de lactosérum dépendent de nombreux facteurs liés au processus de fabrication du fromage. Les principales différences entre les deux types de reflètent les différentes voies de coagulation de la caséine. En plus d'un pH plus faible et d'une teneur plus élevée en acide lactique (et par conséquent en lactose), les lactosérums acides présentent des teneurs en calcium et en phosphore sensiblement plus élevées en raison de la solubilisation du complexe calcium-phosphate de la micelle de caséine dans la plage de pH acide, utilisée pour la coagulation acide de la caséine. (Sheth et al.,1988). (Figure 05)

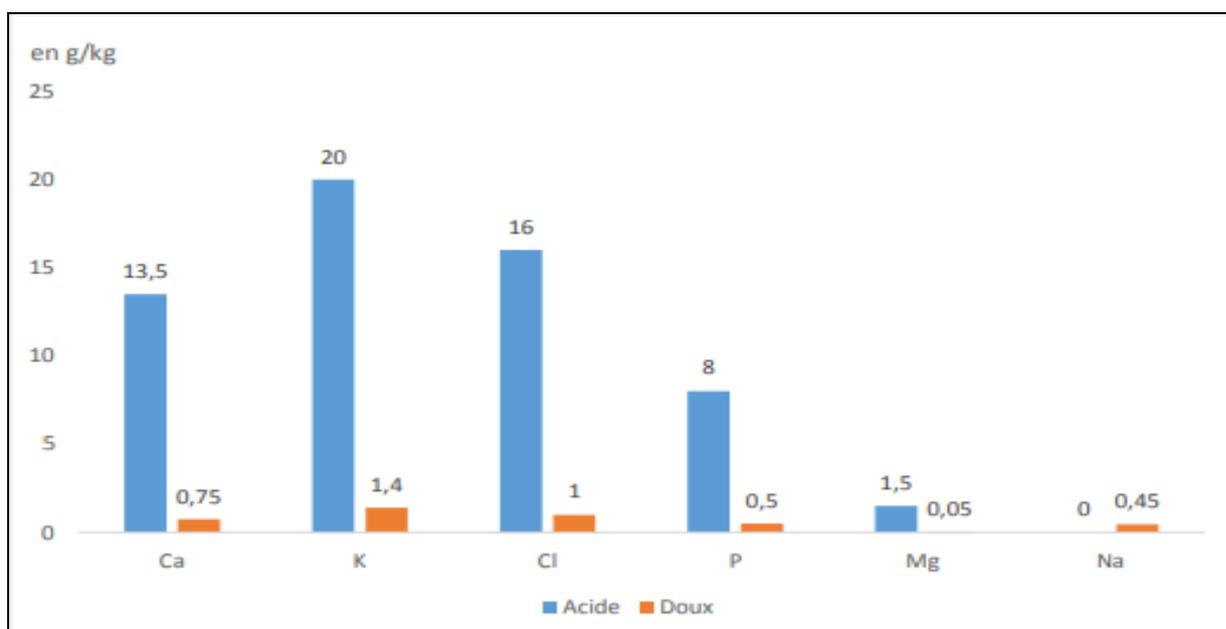


Figure 05 : Composition en sels minéraux pour 1 kg de lactosérum (Wiley et Sons Ltd 2019)

4.3. Protéines du lactosérum

Les protéines du lactosérum constituent 20% de la totalité des protéines contenues dans le lait (wit ,1981). Elles sont composées de plusieurs types de protéines qui diffèrent significativement dans leurs propriétés moléculaires, physiques et fonctionnelles (wit et al. ,1981). Cependant, ces protéines possèdent certaines similitudes comme leur structure globulaire et leur solubilité à pH 4.6.

On s'intéresse, déjà depuis longtemps, à l'application des protéines du lactosérum en alimentation humaine. Cet intérêt trouvant son fondement dans la grande valeur nutritive et les caractéristiques fonctionnelles prometteuses de ces protéines.

Malheureusement, les propriétés fonctionnelles des protéines du lactosérum varient en fonction des traitements qu'ils subissent lors de leur fabrication (ultrafiltration, fixation sur

échangeurs d'ions, précipitation par agents chimique ou thermique). De même, leur grande sensibilité aux traitements thermiques en freine l'application alimentaire à grande échelle.

4.3.1. Les protéines majeures du lactosérum

La B-Lactoglobuline et l'a-Lactalbumine sont les protéines majeures du lactosérum. Les autres protéines du lactosérum sont considérées comme mineures. Contrairement à la sérum albumine bovine et aux immunoglobulines qui proviennent du compartiment sanguin, ces deux protéines du lait sont synthétisées par la glande mammaire de la vache (Cayot, 1998).

4.3.1.1. La B-Lactoglobuline (β -Lg)

La P-Lg est quantitativement la plus importante en constituant environ 50% de la totalité des protéines du lactosérum (Mulvihill et ~insello, 1987 ; Nielsen et al., 1996; Kristiansen et al., 1998). Sur le plan qualitatif également, cette protéine exerce. Surtout lors des traitements thermiques, une influence marquée sur le comportement fonctionnel des autres protéines. En effet, du fait qu'elle possède un groupe SH libre, la P-Lg réagit lors du chauffage avec d'autres protéines du lactosérum via possiblement la formation d'échange de ponts disulfure [-S-S-].

Au pH naturel du lait, la P-Lg existe sous la forme d'un dimère (ffinsella, 1984; Sugai et al., 1991), en milieu acide elle existe essentiellement sous la forme d'un monomère (Mac Kenzie, 1971) et à d'autres pH, elle existe sous forme poly-unitaire ou mono-unitaire (monomère). Cette protéine est constituée de 162 résidus d'acides aminés, sa fonction thiol se trouve sur l'un des trois résidus cystine 106, 119 ou 121 et elle comporte également deux ponts disulfure. On dénombre actuellement 7 variants génétiques de la P-Lg, mais les plus fréquents sont A et B.

La P-Lg a reçu beaucoup d'intérêt en faisant l'objet de nombreuses études (Sawyer, 1968; Harwalkar, 1980a; Harwalkar, 1980b; Dumay, 1988; Xiong et al., 1993; Liu et al., 1994; Manderson et al., 1998; Bauer et al., 1998; Galani et Apenten, 1999; Schokker et al., 1999; McPhail et Holt, 1999; Le Bon et al., 1999) à cause de son abondance dans le lactosérum et ses excellentes propriétés nutritionnelles et fonctionnelles (Morgan et al., 1999).

4.3.1.2. L'a-Lactalbumine (α -La) :

Après la P-Lg, la protéine la plus importante dans le lactosérum est l'a-La, l'une des plus petites de toutes avec 123 résidus d'acides aminés. Il s'agit d'une métalloprotéine dont la structure est fortement ordonnée par des ponts disulfures au nombre de 4, et rigidifiée par la présence d'un ion calcium associé au cœur de la protéine. On en dénombre deux variants génétiques (A et B).

Qualitativement le rôle de l'a-La dans les caractéristiques fonctionnelles du lactosérum est moins important, entre autres, à cause de son grand pouvoir de régénération après chauffage, ce qui fait d'elle la protéine du lactosérum la plus stable envers les traitements thermiques mais sa résistance peut, toutefois, être affectée par la présence de la B-Lg pendant le chauffage (**Morgan et al., 1999**).

4.3.2. Les protéines mineures

Ces protéines sont jugées mineures dans le lait sur un critère quantitatif. Leur présence s'avère dans bien des cas, non négligeable. La Lactoferrine, la lactoperoxydase, la phosphatase alcaline, la catalase, la sulfhydryle oxydase, le lysozyme, la plasmine, les immunoglobulines, la sérum albumine bovine (BSA), les protéoses-peptones et le glycomacropeptide (GMP) font tous partie des constituants protéiques mineurs du lactosérum. Les quatre derniers composés protéiques mineurs du lactosérum sont traités plus en détail à cause de leur importance relative par rapport aux autres.

4.3.2.1. Les immunoglobulines :

Les immunoglobulines sont des anticorps synthétisés en réponse aux stimulations par les antigènes étrangers à l'animal. Ce sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (**de Wit, 1981**).

4.3.2.2. La sérum albumine bovine (BSA) :

La BSA est assez semblable, thermiquement, à la B-Lg. Comme cette dernière elle possède un groupement SH libre par molécule sur le résidu 34 (**Kinsella et Whitehead, 1989**) et se distingue donc à ce titre des autres protéines sériques. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés et structurée grâce à 17 ponts disulfure intramoléculaires. Cependant, vu sa faible concentration dans le lait, ses incidences technologiques sont moins évidentes que pour la P-tg (**de Wit, 1901**).

4.3.2.3. Les protéoses-peptones

Ils font partie d'une fraction formée par un mélange de composés azotés thermostables et solubles à leur point isoélectrique. Bien que cette fraction soit soluble dans l'acide trichloroacétique (TCA) 12%, tous les protéoses-peptones ne sont pas classés parmi les protéines naturelles. Il a déjà été démontré pour plusieurs d'entre eux que ce sont des résidus de la dégradation de la p-caséine sous l'action de la protéase du lait. Du point de vue de la technologie,

on reconnaît à cette fraction un excellent pouvoir moussant, lequel se manifeste quand, au terme d'un chauffage, les protéines du lactosérum dénaturées se trouvent éliminées (Cayot, 1998).

4.3.2.4. Le glycomacropéptide (GMP)

Le GMP est un fragment peptidique correspondant aux résidus (1 06-169) de la caséine K obtenu suite à l'hydrolyse de celle-ci après emprésurage du lait par la chymosine. Le GMP est très soluble dans l'eau à cause de sa nature très hydrophile (Cayot, 1998) et demeure dans le lactosérum après coagulation du lait (Zydney, 1998)

4.4. Les vitamines

Les vitamines sont des substances organiques non synthétisés par l'organisme et doivent être apportées par les aliments dans des proportions appropriées pour assurer diverses fonctions vitales en participant en tant que coenzymes à des réactions de dégradation ou de synthèse dans le métabolisme cellulaire (acides gras, des glucides, des acides aminés, des acides nucléiques...etc.). Le lactosérum étant presque dépourvu de matière grasse (retenue dans la masse du caillé), la majorité des vitamines présentes sont hydrosolubles appartenant au groupe B telles que la B1 (thiamine), la vitamine B2 (riboflavine), la vitamine B3 (niacine), la vitamine B5 (acide pantothénique), la vitamine B6 (pyridoxine), la vitamine B9 (acide folique ou folate) et la vitamine B12 (cobalamine ou cyanocobalamine). (Figure 06).

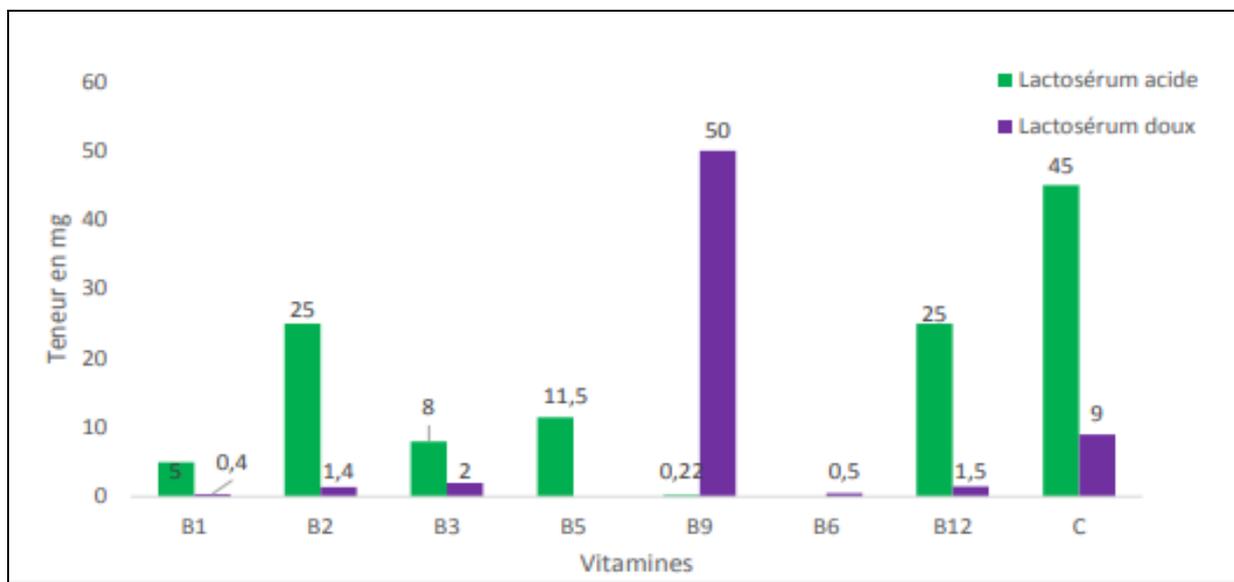


Figure 06 : composition en vitamines pour 1kg de lactosérum. (Wiley et al. ,2019).

4.5. Matière grasse

Les lipides du lactosérum, entraînés lors de l'étape d'égouttage et de séparation du caillé, constituent une faible fraction de la matière sèche avec une teneur de l'ordre de 0,7 à 0,8g composés essentiellement d'environ de 66% de lipides neutres (glycérides) et de 33% de lipides polaires (phospholipides et sphingolipides). Lors des actions de valorisation, la matière grasse est récupérée par écrémage du lactosérum puis utilisée telle que dans la fabrication de beurre de second choix. Les lipides polaires amphiphiles (hydrophiles et hydrophobes) fractionnés du lactosérum ou du babeurre (coproduit de la beurrerie) peuvent être utilisés comme émulsifiant dans de préparations alimentaires.

5. Les propriétés fonctionnelles des protéines du lactosérum

Si on classe les propriétés fonctionnelles des protéines du lactosérum en fonction de la nature des liaisons entretenues, on obtient principalement les trois catégories suivantes :

- **Propriétés d'hydratation** : solubilité, rétention d'eau.
- **Interactions protéine/protéine** : gélification, texturation.
- **Propriétés interfaciales (interactions avec une phase grasse ou gazeuse)** : formation et stabilisation de mousses et d'émulsions.

6. Valorisation du lactosérum

Les effluents produits par l'industrie fromagère sont caractérisés par leur volume et leur charge polluante élevée. Bien qu'il existe des possibilités de valorisation du lactosérum, approximativement la moitié de la production mondiale n'est pas exploitée mais rejetée comme effluents, ce qui constitue une perte importante de matière alimentaire (Souza et al., 2016) et sa production dans le monde est estimée à plus de 108 tonnes par an (Ghasemi et al., 2009).

Le lactosérum représente un problème environnemental important en raison des volumes élevés produits et de sa haute teneur en matière organique, présentant une DBO5 = 30000-50000 ppm et DCO = 60000-80000 ppm (Siso , 1996). Pour diminuer le risque polluant du lactosérum, ce dernier est utilisé dans différents domaines tels que l'alimentation humaine, l'alimentation animale et éventuellement dans le domaine de la biotechnologie afin de produire des protéines d'organismes unicellulaires (P.O.U.), enzymes, vitamines, alcool, acides organiques (acide citrique, acide lactique), etc... (Boudjema et al., 2009).

6.1. Les voies de valorisation du lactosérum

Deux grandes tendances guident à la valorisation du lactosérum :

- Valorisation globale ou le lactosérum peut être utilisé dans sa totalité.
- Valorisation partielle qui repose sur l'extraction des constituants nobles du lactosérum (protéines et lactose).

6.2. Modes de valorisation du lactosérum

Traditionnellement, le lactosérum était orienté soit vers l'alimentation de porcs, des veaux ou épanché ou rejeté en rivière.

Ces dernières années, la production des produits alimentaires de haute valeur, à base de lactosérum s'est développée, et on peut utiliser le lactosérum sous diverses formes :

- Sous forme liquide pour l'alimentation humaine et surtout animale.
- Sous forme de concentré ou de poudre.
- Sous forme de lactose.
- Sous de produits fermentés pas les bactéries lactiques ou des levures.

6.2.1. Utilisation dans l'alimentation humaine

- **Industrie de boisson**

Les boissons à base de lactosérum, ont une grande valeur diététique, digestion facile et rapide. Elles sont légères, désaltérantes, et très agréable à boire (**Nelson et Coll.,1978**). Il se représente généralement sous sa forme d'une poudre soluble que le consommateur mélange au liquide de son choix pour constituer une boisson riche en protéines. On trouve aussi des tablettes nutritives protéines et des préparations pour nourrissons qui contiennent du lactosérum (**lefrancois et al., 2007**).

Le mélange de lactosérum acide avec des jus de fruits surgelés concentrée, frais ou déshydraté donne des breuvages de qualité acceptable (**boudier et luquet, 1989**).

- **Industrie laitière**

La poudre de lactosérum acide peut remplacer la poudre de lait écrémé à des taux précis pour la fabrication des yaourts, sans atteinte à la qualité ni à l'arôme de ces derniers (**Luquet et Boudier, 1984**).

- **Utilisation dans les glaces et crèmes glacées**

La poudre de lactosérum doux peut remplacer jusqu'à 25% de la quantité du lait écrémé pour la fabrication des crèmes glacées ou les avantages sont essentiellement d'ordre économique, tandis que celle de lactosérum acide (pH 4.6) peut remplacer une partie du sucre pour la fabrication des sorbets de bonne qualité (**Apria, 1973**).

- **Dans la confiserie**

Le lactosérum à d'importantes utilisations dans la fabrication de certains bonbons, et il se trouve le moins couteux des produits laitiers utilisables du fait de son importante teneur en eau (**Vrignaud, 1983**).

- **En boulangerie**

Selon Apria (1980). Le lactosérum doux connaît un emploi croissant dans les produits de boulangerie de fait de nombreux avantages :

- ❖ Meilleure conservation : la combinaison du lactose avec les matières azotées (réaction de Maillard) donne des complexes stables qui constituent donc une moyenne de défense naturelle contre le rancissement.
- ❖ Amélioration du gout et l'arôme du pain.
- ❖ Amélioration des caractéristiques internes et externe : affinage de la coloration ; pâte plus tendre et augmentation du rendement.

6.2.2. Utilisation dans l'alimentation animale

L'homme peut bénéficier du lactosérum par l'intermédiaire des animaux, les applications les plus étudiées sont :

➤ Pour le bétail laitier

La consommation du lactosérum liquide par les vaches, en période de lactation diminue la consommation de foin et de céréales mais n'affecte pas la production laitière. (**Girad et Coll, (1982)**), observaient une économie de 15% sur les coûts de gain de poids avec les régimes riches en lactosérum pour les vaches en période de lactation.

• Pour le veau

L'ultra filtrat du lactosérum à l'état liquide et bien toléré par le veau après sevrage. Il peut remplacer la totalité de l'eau de boisson, et apporter jusqu'à 30-35% de la matière ingérée chez les animaux pesant 100 à 110 kg. En outre le lactosérum peut être utilisé pour d'autres animaux : volailles ovins (**Luquet et Boudier, 1984**).

6.2.3. Autres utilisations

La production de produits chimiques précieux à partir du lactosérum a été considérée comme une option intéressante en raison de sa richesse en éléments nutritifs. Le lactosérum de fromage a été utilisé comme substrat pour la production d'acide organique, d'éthanol, et de méthane. (**Ghasemi et al., 2009**).

Le lactosérum a également été utilisé comme engrais agricole, mais avec l'inconvénient de laisser des dépôts salins élevés (**Siso, 1996**).

7. Intérêt de valorisation du lactosérum

7.1. Valeur alimentaire et nutritionnelle du lactosérum

La valeur alimentaire d'un produit se définit par rapport à deux notions :

- Première relative aux nutriments existants dans le produit en qualité (protéine, lipide, vitamines, minéraux) et à leur quantité (tenant compte des besoins quotidiens de l'organisme)
- Seconde relative aux possibilités physiologiques animales à assimiler ces nutriments.

Le lactosérum est un aliment intéressant non seulement par la présence du lactose mais aussi par la teneur des protéines solubles riches en acides aminés indispensables (lysine et tryptophane) et par la présence de nombreuses vitamines du groupe B.

7.2. L'intérêt des principaux composés nutritionnels du lactosérum

- **Le lactose**

Le lactose a une importance biologique déterminante pour la vie des jeunes mammifères, cela se traduit par :

- Son rôle énergétique.
- Son rôle dans la fixation du calcium (glucide de structure).
- Son rôle dans la formation des muscles lisses (intestin, peau).
- Son rôle dans la formation des cérébrosides (le lactose est une molécule formée de glucose et galactose), les cérébrosides se forment à partir du galactose.
- Son rôle dans l'allaitement en tant qu'antiseptique intestinal par fermentation de l'acide lactique.
- L'acidification du tube digestive au niveau de l'intestin grêle constitue une barrière biologique contre les infections intestinales.

- **Les protéines**

La fraction protéique du lactosérum n'est pas négligeable puisqu'elle est de l'ordre de 16% par rapport à celle du lait.

L'efficacité alimentaire des protéines solubles (lactalbumines, lactoglobuline) est très appréciable. Il faut noter que les fractions bêta-lactoglobuline et alpha-lactalbumine sont assez riches en acides aminés importants du point de vue nutritionnel.

Les acides aminés qui composent les protéines du sérum sont parmi les plus importants.

Notons la présence d'acides aminés essentiels soufrés tels que la méthionine et la cystéine.

L'équilibre des protéines de sérum en acides aminés permet de couvrir un pourcentage assez large des besoins de croissances. (**Linden et Lorient,1994**).

- **Les vitamines**

La couverture des besoins de l'organisme par les vitamines présentes dans le lactosérum est décrite ci-dessous (**tableau 7**) :

Tableau 07 : couverture des besoins de quelques vitamines par le lactosérum. (**Woo, 2002**)

Vitamines	Besoin de croissance (en mg) d'un enfant de 8-10ans	Couverture par le lactosérum (%)
Vitamine A	1.1	34
Riboflavine	1.2	100
Vitamine B ₁₂	0.005	100
Pyridoxine	1.2	35
Acide folique	0.3	-
Vitamine C	40	6

7.3. Pouvoir polluant du lactosérum

Pendant longtemps, le lactosérum à constituer un effluent de l'industrie fromagère. Par sa composition riche en matière organique, son rejet dans l'environnement constitue une source de pollution à cause de sa demande biochimique en oxygène qui est très élevée entre 32000 à 60000 mg d'O₂/L (**Cheryan, 1998**), c'est-à-dire qu'un litre de sérum nécessite 40 g d'oxygène pour que ses matières organiques soient détruites par oxydation microbienne. Le lactosérum engendre une pollution organique importante soit : 1 L correspond à environ 85% de la pollution journalière générée par un habitant. (**Laplanche et al., 2006**).

Encore faut-il que son traitement soit économiquement acceptable, et parmi les méthodes de traitement du sérum, qui sont variées et permettent aussi d'obtenir de nombreux produits.

8. Technologie de valorisation du lactosérum

Même si le lactosérum contient des nutriments de grande valeur, c'est seulement au cours des dernières années que de nouveaux procédés industriels furent développés pour la fabrication de produits sériques de haute qualité. Le diagramme illustré dans la figure 07 résume les différents procédés- utilisés dans le traitement du lactosérum et montre les produits finis obtenus. (**figure.07**)

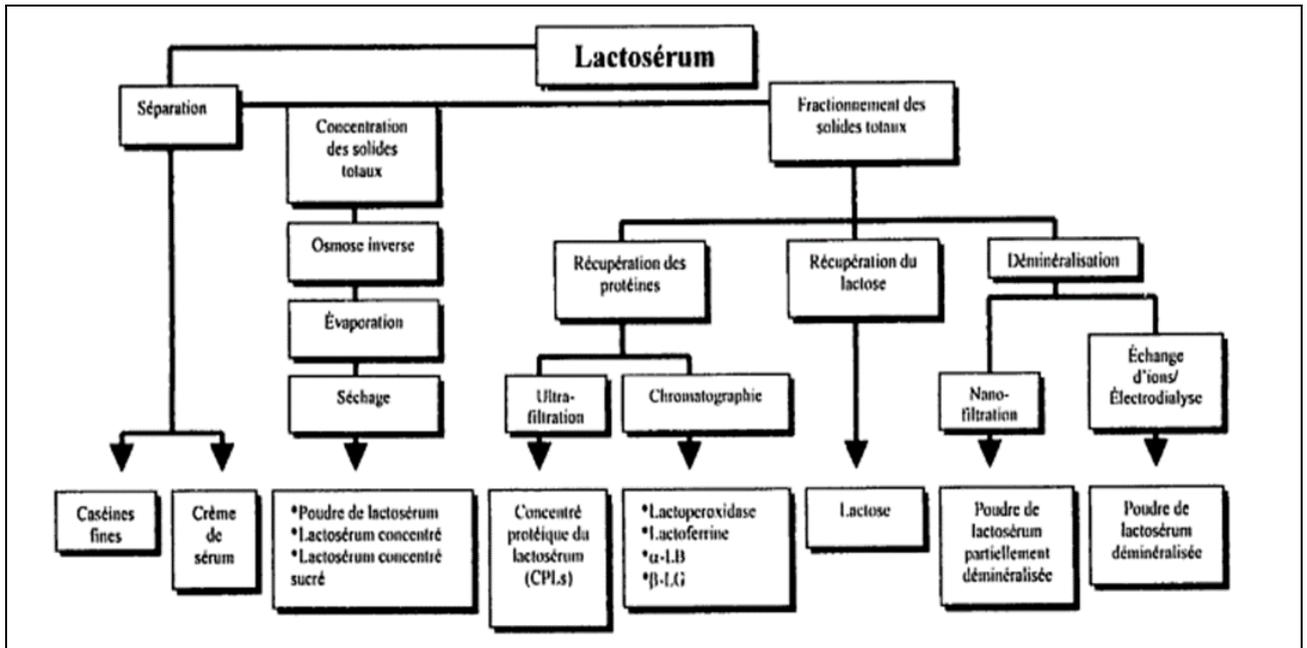


Figure 07 : Les produits finis résultants des différents procédés industriels appliqués au lactosérum. (Laplanche et al., 2006).

8.1. Séchage et concentration

❖ Séchage

Le séchage du lactosérum est l'opération la plus simple utilisée dans l'utilisation du lactosérum. Il vise et il est utilisé juste pour réduire la quantité d'humidité afin de produire des poudres de lactosérum. Lactosérum traditionnel typique les opérations de séchage consistent en une évaporation dans des évaporateurs sous vide à plusieurs étages, suivie de séchage par pulvérisation ou en rouleau.

Un séchoir par pulvérisation ou un séchoir à rouleaux l'humidité est éliminée jusqu'à ce que le produit final atteigne 5% d'humidité contenu. (Tsakali et al. - 2010).

❖ Concentration

La concentration a comme but d'éliminer la quantité d'eau présente dans le lactosérum. Ce procédé permet de réduire le volume du lactosérum afin de faciliter le transport et de produire un produit de valeur ajoutée comme le lactosérum en poudre (Spreer ,1998).

Osmose inverse : les technologies membranaires comme l'osmose inverse (OI) et la nano-filtration (NF) sont des technologies utilisées pour la concentration du lactosérum. Elles se distinguent par le diamètre de pores et la pression d'opération utilisée.

❖ Séparation par membrane

La séparation membranaire (ultrafiltration) permet la concentration de protéines par tamisage (**Lapointe-Vignola, 2002**). Ce procédé permet de préserver l'état natif et les propriétés originales des protéines sériques (**Spreer, 1998**). L'ultrafiltration permet d'obtenir des concentrés de protéines de lactosérum (CPL) d'un maximum de 65% de contenu en solides. À partir de 100 kg de lactosérum ultrafiltré, il y a une production de 17 kg de retenta et 83 kg de perméat de lactosérum.

❖ La dénaturation

Grâce à la combinaison d'un traitement thermique (90 - 95°C) et un ajustement de pH (4,4-4,8), la précipitation ou la dénaturation des protéines de lactosérum est possible (**Trivino, 2017**). La dénaturation thermique utilise la chaleur pour flocculer les protéines et les séparer du lactosérum, le produit obtenu est connu sous le nom de lactalbumine. Les étapes de production de lactalbumine sont la précipitation, la récupération du précipité, le lavage et le séchage. À partir de 1 000 L de lactosérum, il est possible produire 20 – 25kg de protéines dénaturées avec un contenu d'humidité inférieur à 80% (**Lapointe-Vignola, 2002**)

❖ La cristallisation et l'hydrolyse

Le lactose est le principal composant du lactosérum. Deux principales options sont disponibles pour valoriser le lactose du lactosérum : la cristallisation et l'hydrolyse. La récupération de lactose peut se faire à partir du concentré de lactosérum ou de lactosérum déprotéiné.

Le fractionnement de lactose est fait en trois étapes : la concentration, la cristallisation et la séparation de cristaux. Le procédé d'évaporation permet de concentrer le lactosérum entre 55 et 65% de solides totaux. Après l'évaporation, la cristallisation débute avec le refroidissement du sirop obtenu de l'évaporation.

❖ La fermentation

Le lactosérum constitue un excellent milieu de culture, notamment pour les micro-organismes susceptibles de métaboliser le lactose. Il peut être soumis à de nombreuses fermentations conduisant à des acides, des alcools, des enzymes, des vitamines, des boissons alcoolisées ou non (**Veisseyre, 1979**). En effet l'utilisation des micro-organismes a trouvé dans ces industries un champ d'application privilégié pour obtenir toute une gamme de produits de plus élaborés (**Hansen, 1980 ; Roukas et al., 1991**).

❖ Conservation et stockage du lactosérum

Les substances nutritives du lactosérum constituent un bon milieu de culture pour nombreux...) qui en se multiplient, consomment la matière sèche du lactosérum, en particulier le lactose, qui est transformé en acide lactique, cela conduit à une augmentation de l'acidité, cette évolution est plus rapide quand la température ambiante est élevée ; le lactosérum va donc se conserver moins bien l'été que l'hiver.

A 4°C, le stockage de lactosérum pendant deux semaines ne montrent aucune variation notable de la composition chimique. Le développement des fermentations est très limité même dans le cas où un ensemencement en levains lactique a été fait.

Par contre à température ambiante (20°C), les variations de compositions sont assez importantes surtout si le sérum a été ensemencé et s'il est doux.

Les fermentations se développent au sein du lactosérum. L'effet principal est une diminution rapide de la teneur en lactose, corolaire d'un accroissement de la teneur en acide lactique. Cet accroissement tend à se ralentir assez vite par suite d'une inhibition de l'activité des bactéries lactique à un taux d'activité élevé. En fait, certains micro-organismes hétérofermentaires (des levures notamment) produisent d'autre composés à partir du lactose, par exemple le CO₂.

Globalement, le stockage à température ambiante se manifeste par une diminution notable du taux de matières sèches et l'acidité des sérums augmente moins vite quand il est stocké en grandes quantités (**Boudier et Luquet , 1980**).

CHAPITRE. 3

LE BISCUIT

Depuis toujours, les biscuits et les gâteaux sont des plaisirs gourmands, bons et sains à la fois. Les biscuits et les gâteaux ont une histoire parfois très ancienne et parfois plus récente ils recouvrent une infinie variété de produits et une grande diversité d'ingrédients : au chocolat, fourrés, aux amandes, à la noix de coco, moelleux, tendre ou secs. (Okpala et Okoli, 2013)

1. L'origine des biscuits

Les origines des biscuits remontent à plusieurs milliers d'années, lorsque la bouillie de céréales devint galette, premier aliment condensé susceptible d'être conservé.

2. La modernisation des biscuits

Au fil des siècles, les recettes de biscuits se sont modernisées. Au XVIIe siècle, les biscuits sucrés ou salés sont de plus en plus variés et parfois parfumés ou aromatisés à la vanille, au café, au chocolat, à la noix de coco, à l'anis... mais aussi fourrés à la confiture, aux fruits frais ou secs. C'est au XVIIe siècle que naît l'expression «petits fours» qui désigne de petits articles cuits à petit four », c'est-à-dire à four presque éteint, après la cuisson de grosses pièces. C'est probablement aussi au XVIIIe siècle, que les premières Gaufres sont apparues. Issues de l'allemand « Wabe », elles étaient souvent vendues dans la rue à la criée. (Okpala et Okoli, 2013)

3. Les grandes familles de biscuits :

Au niveau industriel, les produits sont classés selon les processus utilisés c'est-à-dire selon les caractéristiques technologiques des pâtes crues avant cuisson. On parle alors de pâtes biscuitières ; Selon BROUTAIN. (2001)il existe 4 grands types : (Figure8)

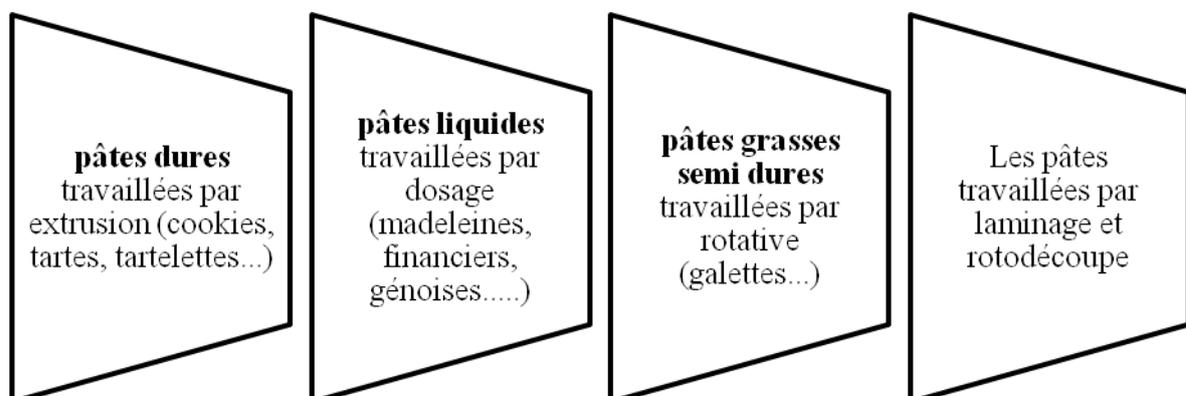


Figure 08 : Quelques types des pâtes en biscuiterie (BROUTAIN. (2001)).



Figure 09 : Différents types de biscuit (groupe BIMO).

4. Composition des biscuits

❖ Les principaux ingrédients

Au cœur des biscuits sont les farines, élaborées à partir de blés spécialement sélectionnés pour la confection de ceux-ci. Mélangé à la farine, chaque ingrédient est à l'origine de la diversité des recettes. Ainsi les corps gras peuvent donner différentes textures de pâtes à biscuits : brisées, sablées, feuilletées et influencer sur leur couleur et leur saveur. Les œufs apportent de la légèreté et

du moussant aux recettes, comme pour les boudoirs. Les madeleines les meringues et les génoises. Prenant couleur à la cuisson, ils permettent aussi de donner du doré aux biscuits.

Les différents sucres contribuent au goût et à l'arôme des biscuits et selon leurs provenances et leurs utilisations, ils développent, colorent et donnent du croustillant aux gâteaux.

Le lait donne couleur et saveur à la pâte, tout en améliorant sa texture. Il permet une liaison plus rapide de la pâte avec l'eau et peut jouer sur la friabilité ou le fondant du biscuit. Afin de donner plus de saveurs aux biscuits, on peut ajouter à la pâte, au fourrage ou aux décors, les fruits, les confitures ou le chocolat offrent une large palette de saveurs aux spécialités biscuitières. Les fruits secs, séchés, fruits confits et confitures, se retrouvent notamment en garniture des tartelettes ou dans les goûters fourrés.

Le chocolat est utilisé en pépites dans les cookies, en pâte dans les gâteaux marbrés, en enrobage ou en tablette accolée aux biscuits. **(BROUTAIN, 2001).**

❖ **La farine**

La farine de blé est la matière première prépondérante dans la fabrication des produits de biscuiterie, elle présente plus de 94% de matière amylacées par les industries de cuisson française avec 4% environ d'autres farines et 2% d'amidon et de féculés.

La farine de froment est une farine de blé tendre, pauvre en protéines, elle est extensible et peu élastique. Le gluten, qui est une protéine de réserve des grains de certaines, joue un rôle moins important que l'amidon.

❖ **Les matières grasses**

Les corps gras peuvent donner différentes textures de pâtes à biscuits : brisées, sablées, feuilletées... et influencer sur leur couleur et leur saveur. La matière grasse utilisée peut être d'origine animale ou végétale partiellement hydrogénée.

❖ **Les œufs**

Les œufs apportent de la légèreté et du «moussant »aux recettes, comme pour les boudoirs, madeleines, meringues, et les génoises. Prenant couleur à la cuisson, ils permettent aussi de donner du doré aux biscuits. Les œufs sous forme de poudre, sont moins sensibles aux attaques microbiennes et de stockage plus facile.

❖ Les sucres

Contribuent au goût et à l'arôme des biscuits (apporté par la réaction de Maillard) et selon leurs provenances et leurs utilisations, ils développent, colorent et donnent du croustillant aux décors.

❖ Le sirop de glucose

Il est utilisé pour graisser le sucre. En effet, incorporé dans une cuisson de sucre il évite que ce dernier ne masse (cristallise) par la suite.

Il retarde la dessiccation des produits et assure ainsi une plus longue conservation tout en permettant à ces derniers de conserver leur aspect souple et moelleux. Il donne couleur et saveur à la pâte, tout en améliorant sa texture.

❖ Le lait pasteurisé

Il permet une liaison plus rapide de la pâte avec l'eau et peut jouer sur la friabilité ou le fondant du biscuit.

❖ Les agents levants

Bicarbonate de sodium est la substance chimique de levée la plus ancienne et la plus universelle, cette poudre blanche, cristalline, inodore, à saveur salée, est assez peu soluble dans l'eau.

Le bicarbonate de sodium soumis à une température (à partir de 20°C) ou mélangé avec l'acide dans la levure chimique, dégage du dioxyde de carbone, ce qui rend les produits meilleurs et plus digestibles, il facilite la digestion alimentaire et favorise la levée des pâtes.

Cette substance ne doit jamais être chauffée ou mise en solution préalablement à son emploi.

On l'ajoute en saupoudrage sur les pâtes en cours de pétrissage. En cas d'apport excessif les produits seront durs, jaunâtres et à saveur amère avec un arrière-goût de lessive.

❖ Sel

Chlorure de sodium Na Cl :

- Composé essentiellement de chlorure de sodium
- Donne du goût et de la saveur
- Améliore les propriétés plastiques des pâtes
- Apporte de la ténacité à la pâte
- Par temps sec, il contribue à la fixation de l'eau

- Accélère le ramollissement de la croûte
- Joue un rôle important dans la conservation des ingrédients et protège l'aliment des microorganismes.

❖ **Les additifs alimentaires et les arômes**

Les colorants (E129, E155), les conservateurs (E201). Emulsifiants et agents inhibiteurs de la flore de contamination. Ils sont ajoutés dans le but d'améliorer les caractéristiques organoleptiques de la pâte, de prolonger la durée de conservation et de réduire les risques d'altération susceptibles de toucher le produit lors du stockage.

❖ **L'eau**

Sert à hydrater la farine, rassembler, coller, gonfler toutes les particules d'amidon qui la composent. Dès que le gluten est imbibé d'eau, il devient élastique et pourra jouer son rôle agglutinant. On obtient une pâte corsée, souple, homogène et presque imperméable au gaz qui essaye de la traverser

❖ **Les produits annexes**

Ajoutés à la pâte, au fourrage ou aux décors, les fruits, le fromage, les herbes aromatiques, les confitures ou le chocolat offrent une large palette de saveurs aux spécialités biscuitières. (Saadoudi, 2019).

5. **Les étapes de fabrication d'un biscuit : «Types Pesos »**

- Arrivée de la matière première** : Chaque matière première est sélectionnée et contrôlée rigoureusement.
- Stockage** : Elle est ensuite stockée dans des conditions (à température ambiante ou réfrigérée) qui permettent d'en préserver les qualités.
- Préparation de la pâte** : A chaque recette, un dosage et un pesage rigoureux. Un tableau de commande permet de visualiser les quantités nécessaires selon la formule.
- Pétrissage** : une fois pesés, les ingrédients sont acheminés dans des pétrins d'une contenance de 300 à 600 kilos. Ces ingrédients sont pétris de 5 à 40 min environ selon les recettes (par exemple : 10 à 12 min pour le pesos) afin d'amener la pâte en une dispersion homogène de différents ingrédients et de minimiser le développement de gluten dans la farine, la pâte du pesos et un peu élastique.
- Stockage de la pâte** : la pâte est transférée dans une cuve pour un repos de durée variable permettant la fermentation par la levure : levée de la pâte.

f. Façonnage : après pétrissage et repos, et selon le type de pâte, la pâte est alors façonnée et détaillée en portion individuelle selon la forme bien connue des consommateurs.

La pâte des biscuits passe sur un tapis roulant entre deux gros rouleaux et est ensuite découpée automatiquement, pour qu'il soit de même épaisseur, forme, diamètre... ces paramètres sont réglés.

Dans le cas des pâtes sablées, exemple : le pesos la mise en forme est réalisée par une rotative ou le dessin du biscuit est gravé au creux dans un cylindre, d'où il fait sortir 6 lignes de biscuit perforés et 6 simples.

g. Cuisson : la cuisson est l'étape la plus spectaculaire de la fabrication. Les produits crus rentrent dans un four en forme de tunnel assure la cuisson à plus de 200°C /7min la Température va descendre au fils du temps.

Le four peut atteindre 100 mètres de long et ressortent par milliers, tout dorés à l'autre extrémité.

➤ Pendant la cuisson, les biscuits subissent automatiquement trois étapes :

A- Développement : (zone de fermentation)

Le pâton forme en surface un film mince qui épaissit de la cuisson grâce à T° d'évaporation de L'eau sur le dessus de pâton, ce film à la surface de pâton doit être élastique le degré d'élasticité sera directement proportionnel à la température de Sour.

B- Solidification : (la cuisson)

La gélatinisation pareille de l'amidon joue un rôle important dans la texture interne du biscuit. Elle se commence à 52 °C et se poursuit jusqu'à 93°C Les protéines de la farine commence à se dénaturer à partir de 63°C selon leur ture, cette dénaturation qui assurera l'ossature ou la rigidité de biscuit.

C- Coloration : (dorure)

Le brunissement de la surface est causé par la caramélisation de sucre, ou de lait étaler à la surface, la réaction de Maillard (interaction d'un sucre réducteur avec une protéine).

Remarque

La cuisson dans l'entreprise a été effectuée dans un four industriel :

➤ Le four est un simple tunnel dans lequel circule un roulant longueur : 40m

- Le temps de cuisson était de 07 min et aussi variable en variabilité de vitesse roulement de tapis.
- En générale les fours sont divisés en 03 zones.
- La température de chaque zone doit être réglée indépendamment par 02 tables commande qui sont fixées la sortie de première chambre et l'autre à la sortie de la 3ème chambre.

h. Refroidissement : Il y a deux types de refroidissement :

- Naturelle.
- Forcée, par des ventilos, on utilise les 02 types à la fois sur le long de tapis roulant.

A la sortie de four, les biscuits sont ensuite refroidis avant de recevoir un décor, un enrobage ou un fourrage si la recette l'exige.

Le biscuit sera refroidi après fourrage à une $T=14^{\circ}\text{C}$ dans le tunnel avant le conditionnement.

i. Conditionnement et stockage

Une fois refroidis le biscuit sera ramassés et mis dans la conditionneuse ou le chargement s'effectuée manuellement ces biscuits sont enveloppés pour préserver la qualité des biscuits, l'emballage se fait en continu grâce à des machines automatisées, qui assurent également la pesée et le décompte des paquets. Ceux-ci sont regroupés dans des cartons réunis sur des palettes et destinés au stockage ou à la livraison. (**MATZ & MENARD, 1992 ; FEILLET, 2000 ; DELACHARLERIE et al., 2008**).

- ✚ Présentation : Paquet de 200 grs net à l'origine.
- ✚ Date de péremption : 12 mois à compter de la date de fabrication.
- ✚ Contenance du carton : 30 paquets.
- ✚ Dimension : 33.5X30.5X21 cm.
- ✚ Poids net : 6kg 600

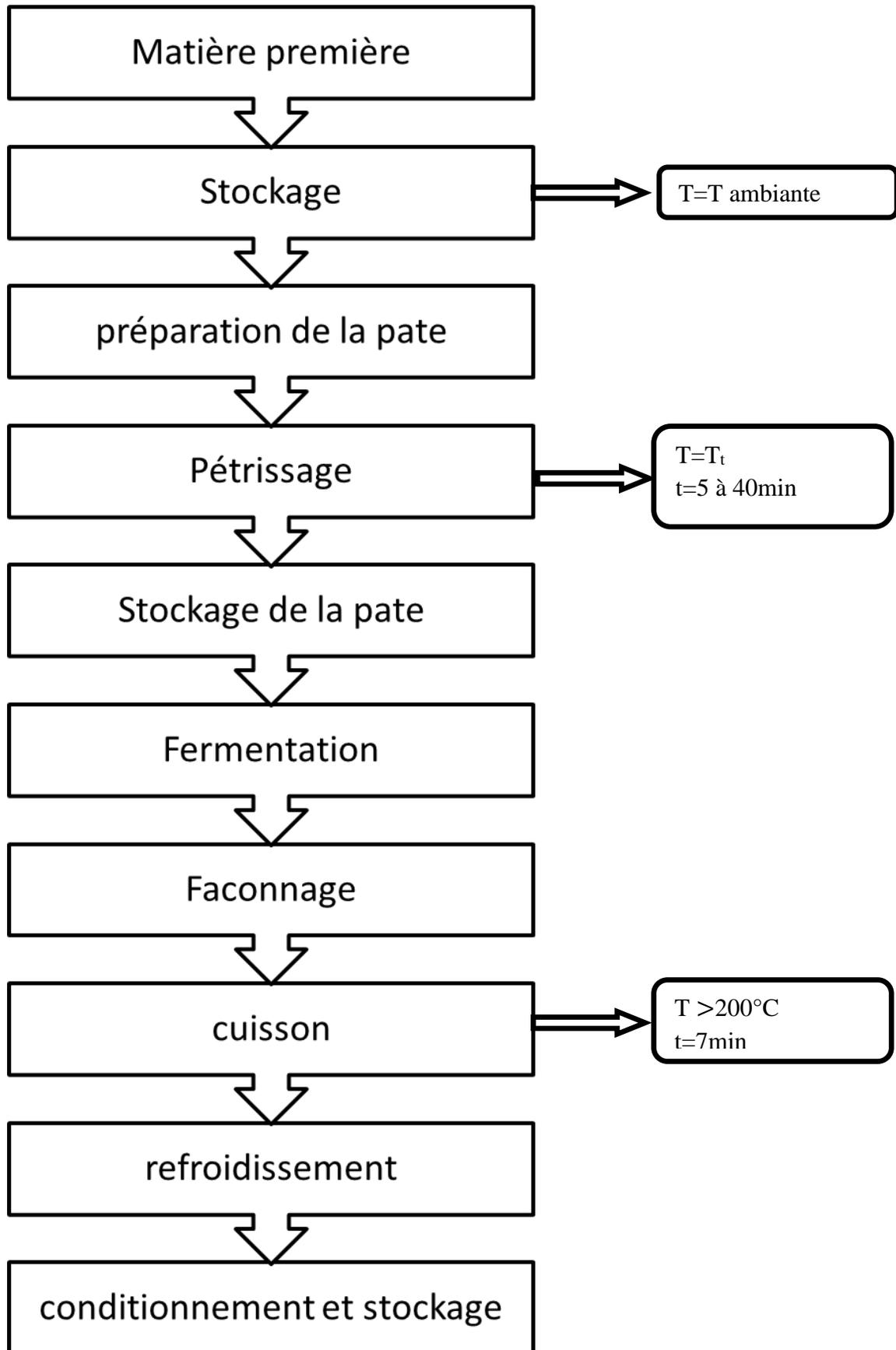


Figure10 : Diagramme de fabrication d'un biscuit

Apport nutritionnel des biscuits

Les biscuits sont habituellement composés de farine, de sucre, de matières grasses, d'eau, de sel et de levure chimique. Cette diversité dans la composition des biscuits leur confère un pouvoir nutritionnel intéressant (**Ait Ameur, 2006**). Dans les biscuits secs, il y a une prédominance des matières céréalières environ 72%, de l'amidon 51,5% (**SNBF, 2001**). Ils contiennent une bonne teneur en protéines et en fibres.

Les biscuits secs se distinguent des autres produits céréaliers par leur faible teneur en eau : 1 à 5% contre 15 à 30% pour les gâteaux et 35 à 40% pour les pains (**Ait Ameur, 2006**). Du fait de leur teneur faible en eau, les biscuits secs ont une densité énergétique élevée. La teneur en lipides des biscuits secs est estimée à 12% (**Ait Ameur, 2006**).

CHAPITRE. 4
LA CREME DE FOURRAGE

CHAPITRE .4 LA CREME DE FOURRAGE

1. La crème industrielle

Le traitement thermique (stérilisation, UHT, pasteurisation et thermisation), la teneur en matière grasse, la viscosité (liquide, semi-épaisse ou épaisse), la structure (crème fouettée ou à fouetter) et le mode de conditionnement (aseptique ou non, pots, poches, bouteilles, briques...) sont autant d'éléments qui permettent de distinguer les différentes crèmes existantes, il est possible de combiner tous ces critères, ce qui permet d'obtenir une large palette de crèmes (CHABOISSIERh & LERIGRE, 2003) :

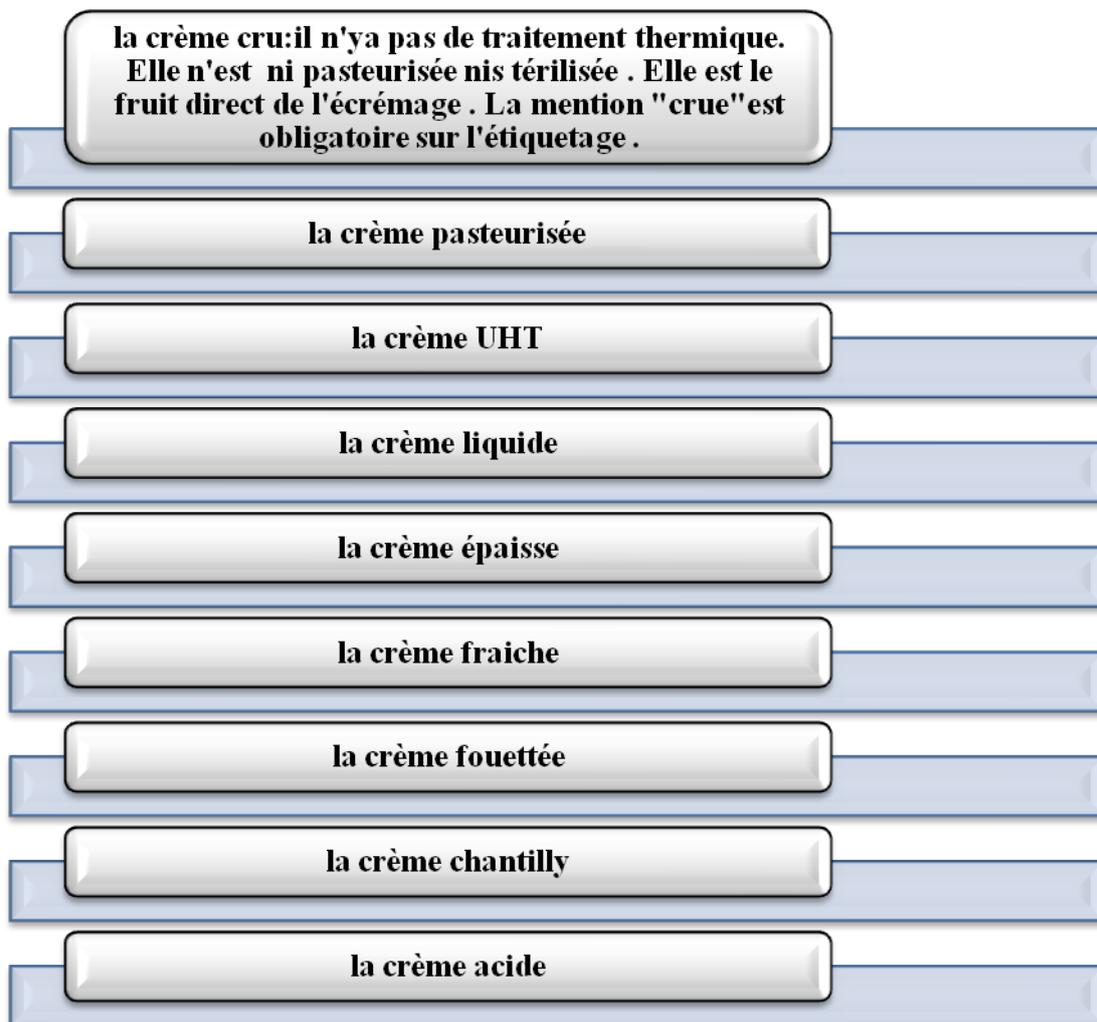


Figure 11 : les différents types de crèmes. (CHABOISSIERh & LERIGRE, 2003)

2. Les propriétés fonctionnelles de la crème et leurs avantages en fonction des applications industrielles : (CHABOISSIERh & LERIGRE, 2003)

- Sensations gustatives :
- Exhausteur de goût et de saveurs, rehausseur d'arômes.

CHAPITRE .4 LA CREME DE FOURRAGE

- La maturation rend la crème plus aromatique.
- La taille des globules gras en suspension permet une fonte rapide de la matière grasse.
- **Apport de texture** : viscosité riche et veloutée due notamment à l'étape d'homogénéisation de la crème, parfait pour les potages et les sauces.
- **Propriété émulsifiante** : Les protéines de la crème facilitent l'émulsifiassions, l'aération, le moussage et le foisonnement.
- **Propriétés blanchissantes** : Effet de blanchiment : Pouvoir colorant lié aux globules gras et caséines qui diffusent la lumière.
- **Brunissement des aliments cuits Réaction de Maillard** : entre les protéines, le lactose contenu dans la crème.

3. Fourrage d'un biscuit

Le fourrage du biscuit suit l'étape de refroidissement.

C'est de mettre à l'intérieur de deux biscuits une quantité d'une crème de fourrage qui est fabriquée à base de chocolat, vanille, café.... Il sert à donner plus de saveur aux biscuits et de permettre d'avoir une texture molle à l'intérieur de deux textures dures.

Il s'effectue à l'aide d'une machine de fourrage (remplisseuse).

4. La crème de fourrage

C'est une crème non cuite, épaisse et homogène qui est faites avec plusieurs produits :

- **Graisse végétale** : Corps gras se présente à l'état solide à température ordinaire. Le terme s'oppose aux huiles qui se présentent sous forme liquide.
- **Sucre broyé** : Il est obtenu par broyage du sucre cristallisé, raffiné ou non. Les cristaux sont réduits en une poudre impalpable (avec une dimension des fragments de cristaux de 0,05 à 0,13 millimètres).

L'utilisation du sucre broyé sert à donner une homogénéité et une texture précise à la crème, plus le goût sucré.

- **Lait en poudre** : Le lait en poudre est additionné à la crème dans le but d'obtenir une crème légère et d'améliorer son volume.
- **L'amidon** : est utiliser pour ses propriétés : il donne la légèreté, l'onctuosité, aspect brillant.

CHAPITRE .4 LA CREME DE FOURRAGE

- **Poudre de cacao** : Le cacao en poudre est obtenu après broyage des fèves de cacao plates fermentées produites par le cacaoyer. Elle est rajoutée pour identifier la crème, et donner le goût chocolat.
- **Dextrose** : Connue en tant que glucose est un monosaccharide ou sucre simple qui est au moins 20% sucré que le sucre de canne. Il est complètement dérivé du maïs, et à prix réduit, il ne contient pas de fructose ou de lactose. C'est une poudre blanche finement cristalline ayant une faible saveur sucrée, elle est obtenue par hydrolyse enzymatique de l'amidon de maïs purifié et cristallisé.
- **Lécithine** : Ou phosphatidylcholine, extraite du jaune d'œuf : c'est un lipide de la classe des phosphatidyl glycérols, formé à partir d'une choline, d'un phosphate, d'un glycérol et deux acides gras.
Ainsi les lécithines vont adopter diverses couleurs selon cette composition du jaune pour la lécithine végétale à la brune pour la lécithine de poisson. (**Chaboissier et Lerigre, 2003**).
- **Arôme chocolat** : L'arôme chocolat sert à améliorer le goût de la crème, il est destiné à rehausser le goût.
- **Arômes vanille** : c'est l'arôme de l'industrie alimentaire, grâce à son odeur agréable due au parfum qu'elle dégage et le bon goût du produit fini.

5. Les étapes de fabrication de la crème de fourrage

La crème de fourrage est une crème qui ne passe par aucun traitement thermique, il suffit de mélanger les ingrédients crus à l'aide d'un turbo dans lequel la $T^{\circ} = 14^{\circ}\text{C}$ afin de préserver la texture de la crème, ou par pétrin et elle sera prête dans quelques minutes, et le fourrage commence.

L'opération de fabrication de la crème commence par la pesée des ingrédients, puis par le crémage, c'est le fait de mélanger le sucre et la matière grasse et les laisser se mélanger pendant quelques minutes afin d'avoir une texture épaisse. Ensuite, il faut rajouter les autres ingrédients, et les laisser se mélanger.

CHAPITRE .4 LA CREME DE FOURRAGE

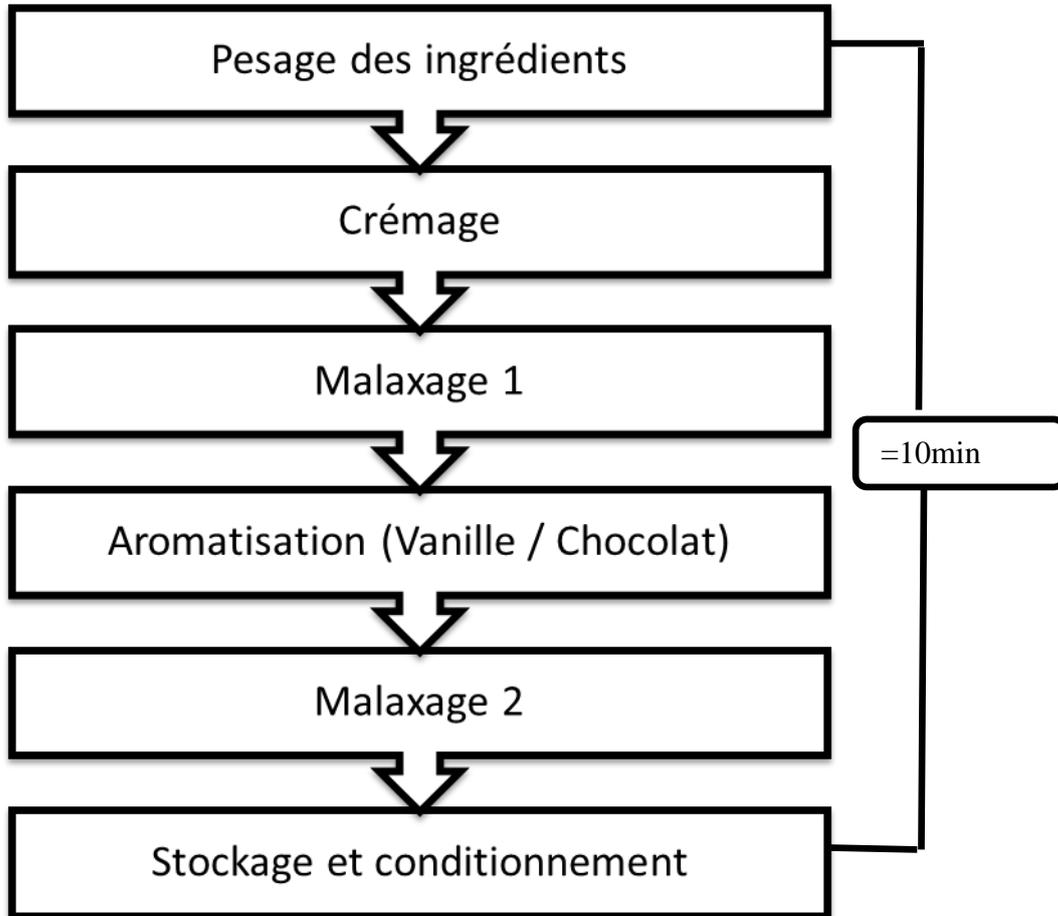


Figure12 : diagramme de fabrication de la crème de fourrage

Etude expérimentale

Matériel et méthodes

1. Objectif

Notre étude consiste à formuler une nouvelle recette de crème de fourrage des biscuits en Algérie, en remplaçant la poudre de lait présente dans la recette de la crème de fourrage de groupe « BIMO» par la poudre de lactosérum doux.

Le biscuit fourré par la nouvelle crème fabriquée sera ensuite comparé avec le biscuit témoin qui contient la crème de fourrage à base du lait de groupe « BIMO», sur le plan nutritionnel ainsi que leurs qualités sensorielles.

- Notre stage a été effectué au niveau de GROUPE BIMO INDUSTRIE, SARL sise à Baba-Ali durant la période qui s'étale du 18 juin 2022 au 04 juillet 2022.

2. Présentation de l'entreprise

Le groupe BIMO a été créé en **1981** par **Amar Hamoudi** dans la zone industrielle de baba Ali, c'est une société algérienne spécialisée dans la biscuiterie, la chocolaterie et le cacao Cette société regroupe six filiales :

Fabrication du biscuit

- SARL biscuiterie moderne BIMO sise à baba-Ali
- SARL biscuiterie du Maghreb «BM »

Usine de chocolat

- SARL chocolaterie bimo à baba-Ali.

Transformation de cacao : SARL cacao bimo.

Unité de gaufrette : SARL gaufretterie bimo.

Confiserie : SARL confiserie Bulle d'Or.

3. Notre stage s'est déroulé en sept grandes parties :

1. Les analyses physico-chimiques de la matière première (dosage des cendres, mesure de l'humidité, pH, acidité titrable et l'acidité grasse) au sein du laboratoire de la biscuiterie « BIMO».
2. La réalisation de la recette au sein de l'entreprise BIMO.
3. Les analyses physico-chimiques (pH et humidité) du produits finis (le biscuit avec la crème de lait et le biscuit avec la crème du lactosérum) au sein du laboratoire de l'entreprise « BIMO» ; (les

endres, l'extrait sec) au niveau de laboratoire de contrôle de la qualité et de conformité « Altesse lab», Joinville, Blida.

4. Le dosage des protéines, des lipides et des glucides (sucre, amidon, fibres alimentaires) et les sels pour les produits finis réalisés au niveau du laboratoire de contrôle de la qualité et de conformité « Altesse lab», Joinville, Blida.

5. Les analyses microbiologiques du produits finis au niveau de laboratoire de contrôle de la qualité et de conformité « Altesse lab», Joinville, Blida.

7. Un test de dégustation pour les deux biscuits au niveau de l'usine « BIMO » et l'université de Saad Dahleb Blida¹, Faculté des sciences de la nature et de la vie.

3. Matériel

3.1. Matériel

Le matériel courant du laboratoire de contrôle de qualité représenté par appareillages, la verrerie, les réactifs, et les milieux de cultures illustrées dans **l'annexe 3** (Photos appareils).

3.2. Matériel biologique

3.1.1. Pour fabrication de crème

❖ La poudre du lactosérum

Pour notre crème, on a travaillé avec une poudre prête à l'emploi importée de la Türkiye provenant du Groupe **LACTALIS, France**, elle a été fournie par biscuiterie « BIMO»

La poudre de lactosérum doux, figure souvent sur la liste d'ingrédients des biscuits pour sa teneur en lactose. Son utilisation s'explique également par son goût sucré et salé équilibré, qui est particulièrement apprécié dans les fourrages des gaufrettes. Facile à mélanger à d'autres ingrédients sous forme de poudre ou liquide, s'intègre dans de nombreuses recettes des biscuits.

❖ Poudre de lait

C'est une poudre de lait à 27% de mg, utilisée dans la biscuiterie « BIMO»

❖ Matière grasse

Nous avons utilisé matière grasse végétale 38/40 qui est l'huile palme, marque AKOLEO, elle a été fournie par la biscuiterie « BIMO» avec d'autres produits :

-le sucre, l'amidon et l'arôme de vanille.

3.1.2. Fabrication du biscuit

Aucun changement n'a été effectué au niveau de la recette de biscuit utilisée, nous avons choisi le biscuit PESOS, qui est un biscuit à pâte élastique.

Les ingrédients utilisés pour la fabrication du biscuit sont la farine, le sucre, matière grasse, extrait mais, lactosérum, amidon, bicarbonate de sodium, bicarbonate d'ammonium, poudre de pyrophosphate de sodium, poudre de cacao, lécithine, arôme vanille et l'eau.

Le biscuit sera ensuite pris directement de la chaîne de fabrication vers le laboratoire pour compléter l'étape de fourrage.

3.3. Formulation de la crème de fourrage à base de poudre du lactosérum

-Notre objectif est de remplacer la poudre de lait par la poudre du lactosérum.

pour faire une comparaison nous avons choisi de fabriquer :

- Une crème originale utilisé au sein de « BIMO» comme témoin à base de poudre de lait et une autre à base de lactosérum.

- La recette de la crème qu'on a préparés a été répétée 2 fois afin d'obtenir une bonne recette, elle a été préparée avec les mêmes ingrédients mais différentes quantités, sauf qu'on a éliminé le dextrose dans la recette finale et remplacer sa quantité par le lait à cause de son pouvoir sucrant.

- La recette de la crème choisit a été préparée avec les mêmes ingrédients et les mêmes quantités sauf qu'on a remplacé la poudre de lait par la poudre de lactosérum.

Les tableaux **08, 09** ci-dessous présentent la formule de la nouvelle crème fabriquée au sein de l'usine BIMO et la formule de la crème témoin (essai 1) :

Tableau 08 : la formule de la crème fabriquée et la formule de la crème témoin (essai 1) en %

Ingrédients (%)	Crème 1 (Témoin) à base de lait	Crème 2 à base du lactosérum
Graisse végétale	34,82	34,82
Sucre	46,43	46,43
Poudre de lait	6,96	-
Poudre de lactosérum	-	6,96
Amidon	4,64	4,64
Dextrose	6,96	6,96
Arome de vanille	0,17	0,17

Tableau 09 : la formule de la crème fabriquée et la formule de la crème témoin (essai 1) en gr

Ingrédients (gr)	Crème 1 (Témoin) à base de lait	Crème 2 à base du lactosérum
Graisse végétale	34,82	34,82
Sucre	46,43	46,43
Poudre de lait	34,8	-
Poudre de lactosérum	-	34,8
Amidon	4,64	4,64
Dextrose	34,8	34,8
Arome de vanille	0,17	0,17

Après la réalisation de plusieurs tests on a utilisé la recette suivante :

➤ Donc nous avons comme formules

1. Crème 01 avec 13.92% (69,6 g) de poudre de lait.
2. Crème 02 avec 13.92% (69,6 g) de poudre de Lactosérum.

Les tableaux 10 et 11 ci-dessous présentent la formule de la nouvelle crème fabriquée au sein de l'usine BIMO et la formule de la crème témoin. (La recette utilisée).

Tableau 10 : La formule de la nouvelle crème et de la crème témoin (essai 2) en %

Ingrédients (%)	Crème 1 (Témoin) à base de lait	Crème 2 à base du lactosérum
Graisse végétale	34,82	34,82
Sucre	46,43	46,43
Poudre de lait	13,92	-
Poudre de lactosérum	-	13,92
Amidon	4,64	4,64
Arome de vanille	0,17	0,17

Tableau 11 : La formules de la nouvelle crème et de la crème témoin (essai 2) en gr

Ingrédients (gr)	Crème 1 (Témoin) à base de lait	Crème 2 à base du lactosérum
Graisse végétale	174,1	174,1
Sucre	232,15	232,15
Poudre de lait	69,6	-
Poudre de lactosérum	-	69,6
Amidon	23,2	23,2
Arome de vanille	0,85	0,85

3.4. Préparation de la crème de fourrage

L'opération est effectuée au niveau du laboratoire de l'industrie « BIMO », en respectant les bonnes pratiques d'hygiène, le travail a été réalisé en conditions aseptiques.

➤ Première étape

-Le pesage des ingrédients à mélanger

- On prend une quantité de chaque ingrédient avec une cuillère ou une spatule, A l'aide d'une balance on pèse la quantité nécessaire des ingrédients : la graisse, le sucre, l'amidon, poudre de lait et l'arôme de vanille (les quantités sont mentionnées dans le tableau 08 ci-dessus).

- Les quantités de tous les ingrédients restent les mêmes, sauf dans la 2ème préparation le lait on le remplace par le lactosérum en gardant la même quantité

➤ La 2ème étape

- **Le crémage :** dans un pétrin on commence à introduire la graisse, sucre et les laisser se mélanger pendant quelques minutes afin d'avoir une texture épaisse.

- Ensuite, on ajoute progressivement les autres ingrédients : l'amidon, le lait / la lactosérum et l'arôme de vanille et les laisser se mélanger.

- Une fois la crème atteint la texture un peu ferme désirée, elle sera prête.

- On a mis les deux crèmes préparées dans des boites en plastiques, on a laissé les 2 boites dans le réfrigérateur pendant 10min avant de commencer le fourrage du biscuit.

3.5. Fourrage et montage de biscuit



- On prend un biscuit, à l'aide d'une spatule on a étalé les crèmes préparées sur la première tranche de biscuit, puis on le recouvre avec la deuxième tranche.

- le poids d'une tranche de biscuits avec la crème ne doit pas dépasser 4.5g.

3.6. Emballage et conditionnement

Les biscuits sont emballés dans des barquettes en plastiques jetables, puis ils seront couverts par un emballage en plastique qui contient l'étiquetage : le poids, la date de fabrication et de péremption.



Figure 15 : Biscuit « 1 » emballé fourré à la crème fabriquée à base de la poudre de lait.

- Les figures 15 et 16 illustrent notre produit fini emballé :

é à la crème
udre de lait.



Figure 14 : Biscuit fourré à la crème fabriquée à base de la poudre de lactosérum.

Figure 16: Biscuit « 2 » emballé fourré à la

crème fabriquée à base de la poudre de lactosérum.

4. Méthodes d'analyses

Comme toute production réalisée au sein d'une entreprise, des analyses physico-chimiques, microbiologiques, biochimiques et sensorielles doivent être réalisées.

Le tableau 12 représente les analyses réalisées :

Les analyses effectuées	Matière premières				Produit fini	
	La farine	La poudre de lait	La poudre du lactosérum	La matière grasse	Le biscuit 2 (fourré avec la crème à base de lactosérum)	Le biscuit 1 (fourré avec la crème à base de lait)
Les analyses physico-chimiques	-Taux d'humidité -pH -Température -Taux de cendres -Acidité titrable -Taux de gluten	-Taux d'humidité -pH -Température -Acidité titrable	-Taux d'humidité -pH -Température -Acidité titrable	-Acidité titrable	-Taux d'humidité -Extrait sec -Cendres -pH -Température -Taux de cendres	
Les analyses biochimiques					-matière grasse -Les protéine -Les glucides : Sucres Amidon Fibres alimentaires -Sel (Na cl)	
Les analyses microbiologiques					-Germe aérobie à 30°C -Escherichia coli -Moisissures -Staphylocoque coagulase+ -Salmonella	
Les analyses					-Texture	

sensorielles						-Couleur -Odeur -Gout
--------------	--	--	--	--	--	-----------------------------

Tableau 12 : Les analyses réalisées sur les matières premières et les produits finis.

4.1. Les analyses physico-chimiques

L'analyse physico-chimique a pour but de déterminer la stabilité et la consistance d'un produit afin de conserver ses caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques.

Dans les laboratoires des industries alimentaires, il est parfois nécessaire, pour diverses raisons, de faire l'analyse de certains de ces constituants alimentaires.

4.1.1. Taux d'humidité (NA1132.199)

La teneur en eau est la perte de masse, exprimée en pourcentage.

4.1.2. Détermination de la teneur en solides totaux (EST) : (JORAN, 2013)

La matière sèche représente toute la composition de l'échantillon sauf l'eau, donc elle est déterminée comme suit : $MS \% = 100\% - H\%$.

4.1.3. Potentiel d'hydrogène pH

C'est une mesure de l'activité chimique des hydrants (protons ou ions d'hydrogène) en solution. Notamment, en solution aqueuse, ces ions sont présents sous la forme de l'ion hydronium. Plus souvent, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution.

4.1.4. Taux de cendres (NA.733. 1991.ISO2171)

Cette analyse est basée sur l'élimination des matières organiques d'un échantillon de matériau par calcination à température définie durant un temps donné

4.1.5. Acidité grasse de la farine (AFNOR NF ISO 7304 : 1998)

L'acidité grasse est l'expression conventionnelle des acides, essentiellement des acides gras libres. Elle est exprimée en gramme d'acide sulfurique pour 100g de matière sèche.

C'est la mise en solution des acides dans l'éthanol à 95% (v/v) à la température du laboratoire, centrifugation et titrage d'une partie aliquote de la solution surnageant par l'hydroxyde de sodium.

4.1.6. Acidité grasse de la poudre de lait et du lactosérum : (NF v04-206, (01/1969) (R1999)

Elle a le même principe que l'acidité grasse de la farine de blé, mais elles se différencient dans la méthode d'analyse.

4.1.7. Acidité grasse de la matière grasse : (NF ISO 17402 : 2008)

Elle a le même principe que l'acidité grasse de la poudre de lait et de lactosérum, mais elles se différencient dans la méthode d'analyse, la solution titrante et les réactifs.

4.1.8. Mesure du taux de gluten dans la farine : (NA.735.1991 ISO5531), (ISO 21415-2 :2015)

La teneur en gluten humide est déterminée en lavant la farine moulue avec une solution saline à 2% pour éliminer l'amidon et les autres solubles de l'échantillon. Le résidu restant après le lavage est le gluten humide. (NAEGA , 2005)

Le gluten sec est le séchage ou l'élimination de la fraction d'eau présente dans le gluten humide. (Bengriche et Tiliouine ; 2016-2017).

4.2. Les analyses biochimiques

L'analyse biochimique des aliments n'est généralement pas une fin en soi, c'est un moyen d'évaluer rapidement la valeur alimentaire des produits analysés. Nous sommes amenés à un double choix :

- Sur quoi portera cette analyse ?
- Quelle méthode devra-t-on employer ?

Nous allons déterminer :

4.2.1. La teneur en lipides totaux

La teneur en matière grasse fait partie des paramètres les plus importants pour évaluer la qualité d'un produit alimentaire.

La détermination quantitative de la teneur en matières grasses d'un échantillon s'effectue généralement selon les normes (AFNOR NF V 03-713 1984) par extraction avec un solvant lipophile, la graisse libre est détectée par extraction directe sans minéralisation préalable.

La méthode d'extraction la plus répandue est la méthode avec **SOXHLET**.

Le mélange (cartouche Soxhlet) est chauffé 6 heures jusqu'à épuisement de la matière grasse, le contenu du ballon est séché (1h) puis refroidi à une température de 68°C.

4.2.2. La teneur en protéines totales

La teneur en protéines totales d'un produit peut être déterminée par la méthode **Kjeldahl**. Cette méthode est applicable à tout type de milieu.

Selon les normes **AFNOR NF V 03.313**, les composés organiques contenant de l'azote (protéines et acides nucléiques dans certaines matrices) sont décomposés à chaud, sous l'action d'acide sulfurique et d'un catalyseur, ce catalyseur contient du sulfate de potassium (K_2SO_4) qui permet d'augmenter la température d'ébullition de l'acide sulfurique (c'est l'étape de minéralisation).

L'ammoniac est ensuite déplacé de son sel par la soude, distillé par entrainement de la vapeur d'eau et recueilli dans une quantité connue d'acide chlorhydrique en excès. C'est l'étape de distillation.

4.2.3. La teneur en glucides totaux

La teneur en glucides de l'échantillon est obtenue par la différence entre la teneur en matière sèche et la somme des teneurs en protéines, en lipides et en cendres brutes de l'échantillon (**ADRIAN, 1995**)

Elle est exprimée en pour 100g de matière sèche, elle est obtenue comme suit :

$$GT\% = 100 - (H\% + P\% + MG\% + CB\%)$$

Avec :

-  **H%** : humidité pour 100g de l'échantillon
-  **P%** : teneur en protéines en pour 100g de matière sèche
-  **MG%** : teneur en lipides en pour 100g de matière sèche
-  **CB%** : teneur en cendres brutes en pour 100g de matière sèche

La teneur en glucides déterminée par la méthode de Bertrand selon la norme (NF V40-100-Avril 2002)

Méthode de dosage réductimètre basée sur la réduction de la liqueur de Fehling par des glucides réducteurs en milieu alcalin à chaud.

Le glucose contenu dans la prise d'essai de la solution à doser réduit partiellement un volume de liqueur de Fehling. L'oxyde cuivreux formé est dissous par une solution de sulfate ferrique, le sulfate ferreux formé est dosé par manganimétrie.

Une table donne la correspondance entre la masse de cuivre et la masse de glucose contenu dans la prise d'essai.

4.2.4. Détermination des chlorures par la méthode de MOHR (Cl)

Les chlorures sont déterminés selon la méthode de **MOHR** qui répond à la norme française (**NF ISO 9297, 1989**).

On entend par les chlorures, l'ensemble des sels sous formes Cl ou Na Cl en solution., leurs dosages se fait en milieu neutre par une solution de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium, à la fin on aura l'apparition d'une couleur rouge brique caractéristique du chromate d'argent.

4.2.5. Dosage des fibres par la méthode de Weende

Méthode « de Weende » basée sur une hydrolyse acide suivie d'une hydrolyse basique, selon la méthode **AFNOR NF V03-40 (1993)**.

4.2.6. Détermination de l'amidon d'après la méthode polarimétrique Ewers : (NF EN ISO 10520,1997).

Elle spécifie une méthode polarimétrique pour la détermination de la teneur en amidon de l'amidon natif, à l'exception de l'amidon à forte teneur en amylose. La méthode comprend deux étapes avant la mesure de la rotation spécifique sur le polarimètre :

Une hydrolyse de l'échantillon et Une extraction des substances solubles dans l'éthanol.

Les polarimètres reposent sur la lumière polarisée. Les solutions d'amidon font tourner la lumière polarisée dans le plan et sont donc optiquement actives.

4.2.7. Détermination de la valeur énergétique globale

La valeur énergétique globale est l'énergie libérée par la combustion des macronutriments : protéines, glucides et les lipides contenus dans l'alimentation en tenant compte de leur coefficient d'**ATWATER** : 4Kcal, 4Kcal et 9Kcal respectivement (**Greenfield et Southgate, 1992**)

Elle est exprimée en kilocalories (Kcal) et calculée partie de la relation :

$$E(\text{Kcal}) = (9 \times L) + (4 \times P) + (4 \times G)$$

Avec :

 **L** : teneur en lipides

 **P** : teneur en protéines

 **G** : teneur en glucides

Elle est exprimée aussi en KJ est calculé selon la formule :

$$E (\text{KJ}) = (37 \times \text{lipides}) + (17 \times \text{protéines}) + (17 \times \text{glucides})$$

4.3. Les analyses microbiologiques

L'assurance de la qualité des et de la sécurité des aliments est primordial à chaque étape. Les analyses microbiologiques sont indispensables pour vérifier la conformité des produits par rapport à la réglementation Pour chaque produit, une liste de micro-organismes est établie par les pouvoirs publics avec les taux de présence acceptables.

Nous allons faire des analyses microbiologiques pour notre produit, afin d'évaluer la qualité microbiologique du produit après la fabrication et avant sa distribution

Les analyses sont effectuées sur la suspension mère ou sur ses dilutions, elles peuvent consister en

- **Des dénombrements** : évaluation quantitative des populations contaminants
- **Des recherches** : mise en évidence d'un micro-organisme dans une quantité du produit déterminée

Le plus souvent, c'est une bactérie responsable d'intoxication alimentaire qui est recherchée et identifiée.

Nous allons chercher et dénombrer :

4.3.1. Les germes aérobies

Sont des indicateurs du niveau d'hygiène générales et/ou flore d'altération, ils reflètent l'histoire du produit (mauvaise gestion du couple durée/température, rupture de la chaîne du froid). Cette flore peut comprendre des bactéries qui se multiplient à la température des 30°C (Branger, 2007).

4.3.2. Escherichia coli

Les fécaux ou coliformes thermos tolérants, fermentent le lactose, produisent en outre de l'indole à partir de tryptophane à 44°C (Elmund et al., 2007)

4.3.3. Les salmonelles

Ce sont des bactéries entériques en forme bâtonnets, aéro-anaérobies facultatives, à gram- leur survie voire leur multiplication est possible dans un milieu privé d'oxygène. Elles se développent dans une gamme de température variant entre 4°C et 47°C, avec un optimum situé entre 35 et plus 40°C (Cuq. 2007).

4.3.4. Staphylococcus aureus

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococcaceae*, présente une forme arrondie, on distingue ainsi des espèces à Coagulase positive et des espèces à coagulase négative (Fatet, 2004).

4.3.5. Dénombrement des levures et moisissures

Les levures et moisissures sont des champignons microscopiques : Les moisissures sont des champignons filamenteux unis ou multicellulaires, les Levures : sont des micro-organismes chez lesquels la forme unicellulaire est prédominante. La forme la plus fréquente est ovalaire ou sphérique (GUIRAUD 2003).

À 25°C ils provoquent des changements organoleptiques tels que :

L'altération du gout, le gonflement, la mauvaise présentation et la diminution de la durée de conservation des produits (Guiraud et Galzy, 1980).

Voici un tableau récapitulatif des analyses microbiologiques faites sur les deux types de biscuits avec les milieux de culture utilisés, les températures et les temps d'incubation.

Le tableau 13 représente les analyses microbiologiques réalisées sur les produits finis

Tableau 13 : Les analyses microbiologiques réalisées sur les produits finis.

	Milieu de culture utilisé	Température d'incubation (°C)	Temps d'incubation	Résultats
Germe aérobie	PCA	30±1 °C	72h	Colonie en tête d'épingle.
E. Coli	VRBL	44C ± 1°C	24h ± 2h	Colonies violacées d'un diamètre supérieur ou égal à 0.5mm et parfois entourées d'une zone rougeâtre.
Salmonella	gélose XLD	37°C	24h ±3h	Colonies ont un centre noir et sont entourés d'un halo clair transparent rouge.

MATERIEL ET METHODES

Staphylococcus aureus	gélose baird parker	35 -37° C	24h ±2h	Colonies noir ou grises, brillantes et convexes 1 à 1,5mm de diamètres.
Levure et moisissure	sabouraud chloramphenol dextrose agar	25C ±1°C	5 à 7 jours	Cellules présentent des filaments mycéliens.

5. L'analyse sensorielle

La qualité sensorielle c'est tout ce que nous percevons d'un produit grâce à nos sens.

- Tout d'abord la vue qui nous permet d'apprécier les aliments : leur forme, couleur, l'état de surface..., l'olfaction : déterminante de l'arôme l'odeur de notre aliment, le goût, le toucher et enfin l'ouïe qui intervient dans la notion de croustillance ...
- Les dimensions qualitatives et quantitatives sont utilisées dans les approches analytiques de l'évaluation sensorielle, c'est-à-dire lorsqu'on décrit les produits.
- Pour évaluer la qualité sensorielle d'un produit, on va faire appel à l'évaluation sensorielle qui n'est pas une simple dégustation.
- En évaluation sensorielle, on s'attache à objectiver le plus possible la description des produits.
- L'évaluation est réalisée par un groupe de dégustateurs qui ont été au préalable sélectionné selon leurs bonnes performances à des tests sensoriels. Ils sont entraînés à une sémantique commune pour décrire les produits grâce à des références, par exemple à une aromathèque.
- **L'environnement est contrôlé** : les dégustations ont lieu en laboratoire dans des cabines sensorielles. Les produits sont anonymes par un code, les dégustateurs n'ont pas connaissance d'informations supplémentaires sur les produits.
- Des fiches de dégustation sont distribuées aux dégustateurs pour les remplir, les produits sont comparés entre eux, l'évaluation de l'intensité des perceptions est donc possible et comparative. Les résultats du groupe sont ensuite analysés de manière fiable grâce à l'utilisation de statistiques.

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats des analyses physico-chimiques sur les matières premières

1.1. Taux d'humidité

Les résultats de la mesure du taux d'humidité de la farine, la poudre de lait et la poudre de lactosérum sont représentés par la figure 19 :

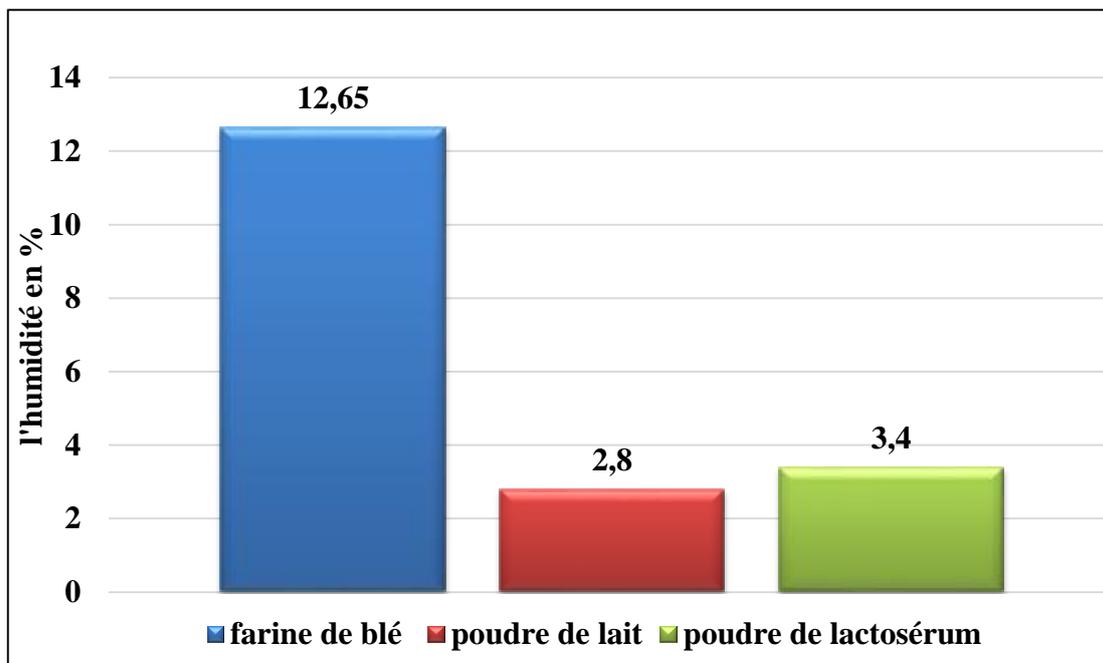


Figure 17 : Les résultats du taux d'humidité en % de la farine, la poudre de lait et la poudre de lactosérum.

La détermination de la teneur en eau et en humidité est primordiale pour l'inspection des produits alimentaires destinés à la consommation humaine, elle influe directement sur la stabilité et la qualité des produits analysés.

Les ingrédients doivent avoir une teneur en humidité optimale pour avoir une conservation idéale, une bonne consistance et une bonne apparence.

Si le taux d'humidité est dans les normes, les produits alimentaires vont durer plus longtemps en comparant avec un produit qui a une teneur en eau plus élevée, et ça c'est par rapport à la multiplication des microorganismes dans leur milieu favorable.

La détermination de la teneur en eau présente deux principaux enjeux : le premier est technologique ; il nous informe sur le comportement matières premières durant le procédé de transformation et la période de stockage. Le second concerne la sécurité sanitaire, car il est établi que la teneur en eau a un effet sur la croissance microbienne (**Beuchat et Scouten., 2002**).

RESULTATS ET DISCUSSION

Au cours des analyses effectuées, d'après la figure :

- Le taux d'humidité de la farine analysée est de 12.65%, l'humidité normale d'une farine biscuitière de blé tendre se situe dans la fourchette de 11 à 15%. Selon le **CODEX STAN 152-1985 : NORME CODEX POUR LA FARINE DE BLÉ**, elle ne doit pas dépasser le 15.5 %. Il ressort que dans notre cas l'humidité de la farine étudiée se situe bien dans cette fourchette.
- Le taux d'humidité de la poudre de lait est de : 2.8 %, ainsi que la norme tolérable de l'humidité est fixée à une limite de 2 à 4 % au maximum pour la poudre de lait 26%.
- La valeurs d'humidité se situe dans cet intervalle, elle ne dépasse pas les normes fixées par **la norme NS 03-001**, donc es résultats obtenus ont été conformes aux normes.
- l'humidité obtenue de poudre du lactosérum est de 3,4%, cette valeur ne dépasse pas la norme fixée par **NORME POUR LES POUDRES DE LACTOSÉRUM codex aliment Arius (CXS 289-1995) qui doit être \leq à 5%**. Donc la valeur de taux d'humidité du lactosérum est conforme aux normes.

Sachant que la farine de blé tendre, la poudre de lait et la poudre du lactosérum sont généralement très hygroscopiques et donc très sensibles à l'humidité.

D'après les analyses effectuées : le taux d'humidité de ces trois matières premières sont conformes aux normes cela veut dire que : ces matières premières ont été dans des bonnes conditions pendant leur élaboration, leur transfert ou bien leur conservation.

1.2. Potentiel d'hydrogène

Les résultats de la mesure du pH de la farine de blé, la poudre de lait et la poudre de lactosérum sont représenté par la figure 18 :

RESULTATS ET DISCUSSION

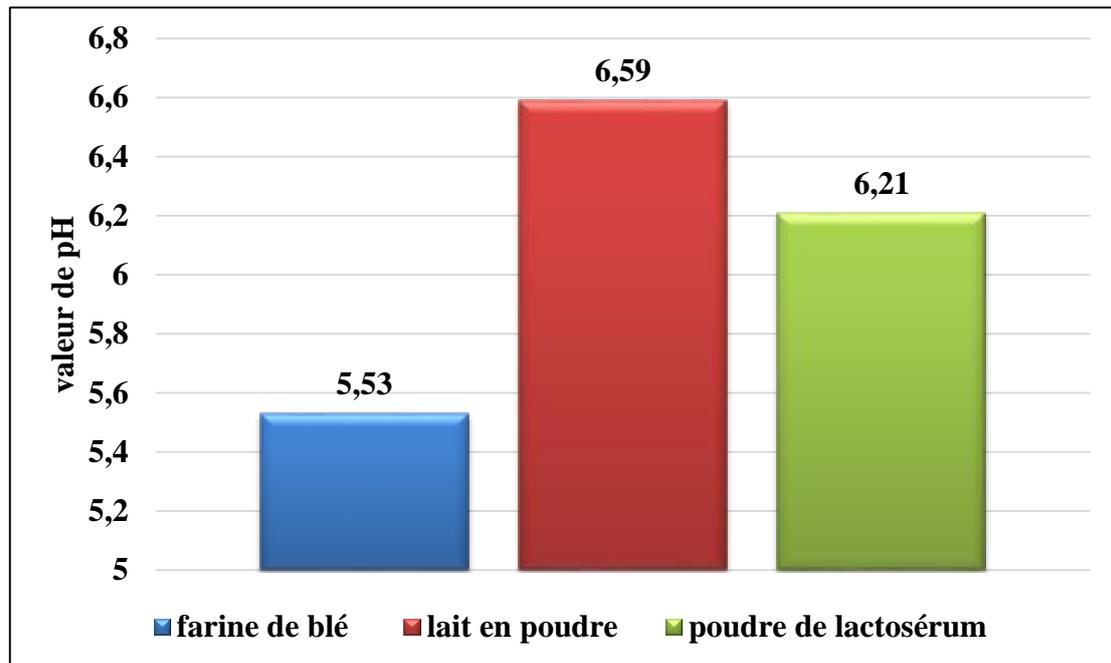


Figure 18 : Les résultats de la mesure du PH de la farine de blé , la poudre de lait et la poudre de lactosérum.

Le pH est un autre paramètre déterminant l'aptitude à la conservation des aliments. Il constitue l'un des principaux obstacles que la flore microbienne doit franchir pour assurer sa prolifération (GIDDEY , 1982, GATEL , 1982, BRISSONET et al., 1994).

Nous devons savoir si le produit alimentaire est acide ou pas par la mesure de la quantité d'ions H⁺.

Pour se multiplier, les bactéries ont besoin d'un milieu dont le pH est compris entre 5,5 et 6,5 et de 3 à 6 et très favorables au développement des levures et moisissures. Donc proche de la neutralité. La majorité des aliments se trouve dans ces valeurs.

La **figure 18** montre que :

- ✚ La valeur de PH de la farine est **de 5,53**.
- ✚ D'après ce résultat, le pH de cette farine est dans un intervalle de 5,5 à 6,5, proche de la neutralité donc sont conformes à **la norme AFNOR (NFV05-108) (JORA, 2004)** qui exige une valeur de pH proche a la neutralité.
- ✚ Les valeurs du pH de poudre de lait analysé se situent dans l'intervalle (6,5-6,6), elle est de 6.59.

RESULTATS ET DISCUSSION

Ces résultats montrent que les valeurs obtenues ne dépassent pas les normes technologiques (6,5- 6,8) (AFNOR, 1993), donc la valeur de PH de poudre de lait est conforme aux normes.

La poudre du lactosérum analysée, est une poudre issue d'un lactosérum doux, avec un pH de : 6,21

Cela peut s'expliquer par : la conformité de cette valeur au **NORME POUR LES POUDRES DE LACTOSÉRUM, codex aliment Arius (CXS 289-1995)** : qui exige une valeur de PH pour la poudre du lactosérum doux **égale ou supérieur à 6.**

1.3. L'acidité grasse

Les résultats de mesure de l'acidité grasse des matières premières (farine de blé , poudre de lait, poudre de lactosérum et la matière grasse) sont illustrés par la figure 19:

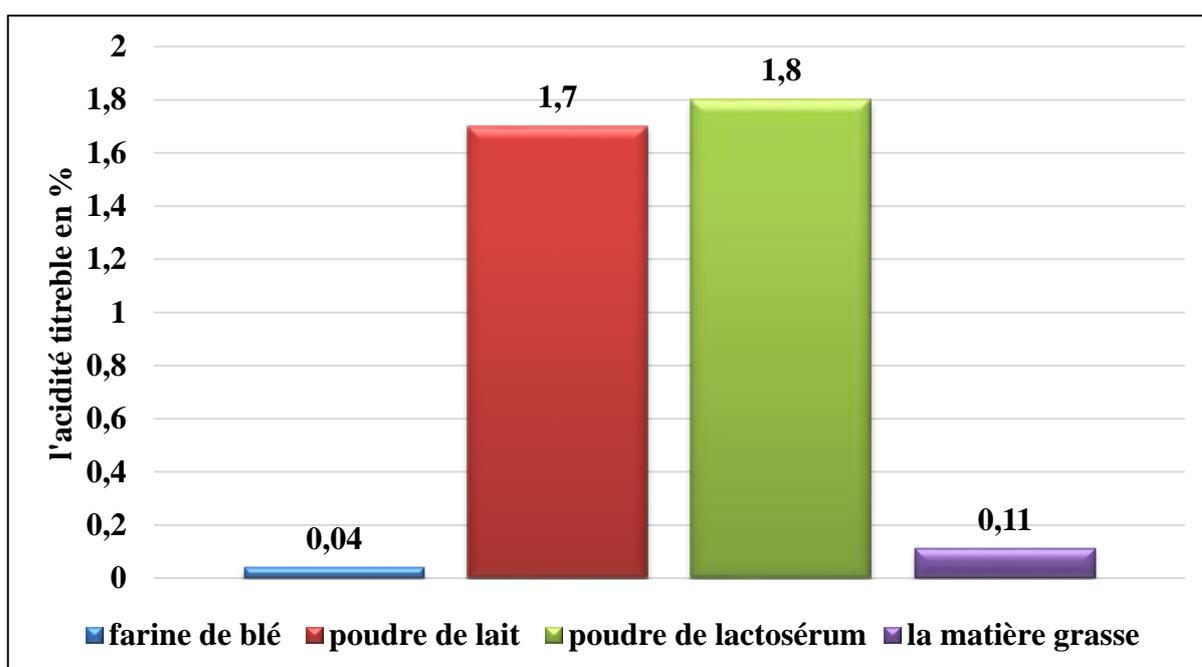


Figure 19 : résultats de l'acidité grasse des matières premières (farine de blé , poudre de lait, poudre de lactosérum et la matière grasse).

L'acidité est un paramètre indicateur de la qualité du produit et de sa stabilité et de son état de conservation des aliments (farine, lait ...).

RESULTATS ET DISCUSSION

Elle permet de déterminer le taux d'acides gras libres présents dans la matière grasse. Ces acides gras libres favorisent les réactions d'oxydation entraînant ainsi la détérioration du corps gras et des aliments (**VIERLING, 2003**).

La **figure 19** montre que :

- ✚ La farine de blé tendre analysée présente une acidité grasse égale à 0.04%, elle est exprimée en gramme d'acide sulfurique H_2SO_4 pour 100g de matière sèche.
 - ✚ Ces résultats sont conformes à **la norme algérienne (NA : 1182/1990)** qui rapporte une teneur comprise entre 0,04 à 0,05% Ms ne dépasse pas le 0.07 % (**CODEX STAN 152-1985 : NORME CODEX POUR LA FARINE DE BLÉ**) pour une farine biscuitière.
 - ✚ C'est un bon indicateur de l'état de conservation (une bonne conservation) des grains de blé et de la farine, une mauvaise conservation révèle en fait une oxydation de la matière grasse de l'échantillon. Une acidité excessive de la farine peut prévenir du grain de blé si celui-ci a été mal conservé.
 - ✚ Le résultat représenté sur la figure montre que l'acidité titrable de la poudre de lait est de 1,7%, elle est exprimée en pourcentage, cela veut dire 1,7 g d'acide lactique par 100 g d'échantillon (de poudre de lait).
 - ✚ En outre, l'acidité en degré dornic ($^{\circ}D$) est calculée à partir de la teneur en acide lactique par la formule suivante : **$1^{\circ}D = 0.1g$ d'acide lactique**
 - ✚ La valeur trouvée est de $17^{\circ}D$, donc L'acidité Dornic est conforme car elle se situe dans l'intervalle fixée par la **Norme AFNOR** qui est entre **$16-18^{\circ}D$** (**Boudalia et al., 2016**) (**Aboutayeb, 2005**) (**FAO, 2010**).
 - ✚ Ces valeurs d'acidité obtenue témoignent de la bonne qualité des laits crus utilisés dans la production de ces poudres de lait. L'excès d'acide lactique est dû à une qualité hygiénique initiale non acceptable entraînant la prolifération microbienne et l'altération des laits par une production d'acide lactique. L'excès de l'acide lactique dans une poudre de lait servant à la transformation laitière sera à l'origine d'une instabilité au traitement thermique et à des déperditions de la qualité fonctionnelle des produits laitiers fabriqués.
- Pareil pour la poudre du lactosérum :

RESULTATS ET DISCUSSION

✚ L'acidité titrable de la poudre de lactosérum est de 1,8%, elle est exprimée en pourcentage cela veut dire 1,8 g d'acide lactique par 100 g d'échantillon (de poudre de lactosérum).

✚ L'acidité en degré dornic (°D) est calculée à partir de la teneur en acide lactique par la formule suivante :

$$1^{\circ}\text{D} = 0.1 \text{ g d'acide lactique}$$

✚ La valeur trouvée est de 18° D, donc l'acidité Dornic est égale à la **norme AFNOR** fixée par **codex aliment Arius (CODEX STAN, 212-1999)** qui exige que : l'acidité dornic mesurée sur le lactosérum doux ne dépasse guère la norme admise qui est 18°D ; doit être **inférieur ou égale à 18D° (BENAISSA, 2018)** donc elle est conforme aux normes.

Ce résultat confirme que :

✚ Le lactosérum analysé est obtenu suite à une fermentation lactique qui transforme le lactose du lait en acide lactique (**Fran Worth et Mainville, 2010**).

✚ La matière grasse analysée présente une acidité de 0.11 % cette valeur est approximative et proche à celle préconisée par **KARLESKIND et WOLFF, 1992** qui est de **0,2%**.

✚ La mesure de l'acidité libre constitue, de ce fait, un des bons moyens pour déterminer l'altération du corps gras par hydrolyse (**Perrin, 1992**), une augmentation de l'acidité des margarines due aux mauvaises conditions de conservation et de stockage conduit vers une altération, donc on constate que la matière grasse analysée a été très bien conservée contre la détérioration.

1.4. Les cendres et le taux de gluten

Les résultats de mesure de taux de cendre et le taux de gluten (sec et humide) de la farine sont représentés par la figure 20 :

RESULTATS ET DISCUSSION

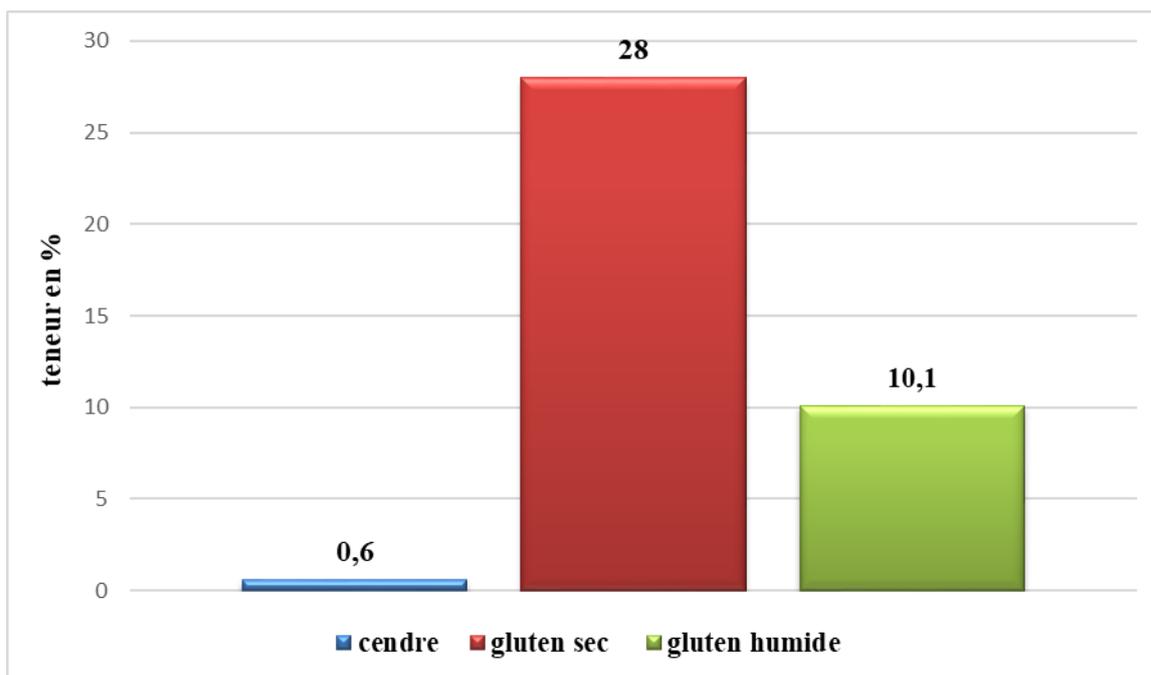


Figure 20 : les résultats des taux des cendres et de gluten sec et le gluten humide de la farine en pourcentage (%).

❖ Les cendres de la farine de blé

La mesure du taux de cendres permet de connaître la minéralité d'un produit alimentaire, elle permet une bonne estimation des teneurs réelles en matières organiques. C'est le complément à 100% de la perte au feu.

Dans le cas de la farine de blé, le taux de cendres est une indication de la teneur de la farine en matière minérale. Plus le taux de cendres est faible plus la farine est pure et blanche, car les matières minérales sont surtout contenues dans le son. Elle est en relation avec son taux d'extraction et la minéralisation des grains mis en mouture. Elle définit en outre les types commerciaux de la farine (**Godon, 1978 ; Colas, 1998 et Feillet, 2000**).

-Notre farine analysée présente un taux de 0.6 %, la valeur obtenue est acceptable et conforme à la norme de taux de cendre pour la farine biscuitière (**NF.1.1-29/1985**) qui exige un taux de cendre compris entre **0.4 et 0.8 % MS**.

On constate que cette farine de blé n'est pas riche en matière minérale, cette farine peut être classée en type 55 ou type 65 (**JORA, 2004**) donc elle est considérée comme excellente pour la biscuiterie elle est blanche et pure.

❖ Le gluten

RESULTATS ET DISCUSSION

Le gluten blé est une substance plasto-élastique composée principalement de gliadine et de gluténine, qui constitue l'armature de la pâte et lui communique les propriétés rhéologiques (la plasticité, l'élasticité et l'extensibilité) (**Benmeftah et al., 2015**).

En biscuiterie sèche il n'est pas recherché à développer un réseau de gluten continu, au cours du pétrissage de façon à éviter les phénomènes de rétraction des pâtes au laminage et au découpage. Une farine ayant une teneur de **7 à 9%** de gluten sec est suffisante pour la biscuiterie sèche, et spécialement les biscuits à pâte dure qui nécessitent un gluten possédant une grande extensibilité et un degré limité d'élasticité (**KIGER et KIGER, 1967**).

Dans le cas du gluten humide le taux usuel rapporté par (**BOUDREAU et MENARD, 1992**) se situe entre **20 et 24%**.

Nos résultats pour le gluten sec et le gluten humide sont comme suite :

 Gluten Sec : 10.10%

 Gluten Humide : 28%

Dans notre cas, la farine était choisie avec ces teneurs en gluten par ce que dans la Fabrication de notre biscuit on a besoin d'une pâte un peu élastique, ces teneurs sont un peu supérieures des valeurs citées dans la littérature pour la biscuiterie sèche, elles restent quand même dans la fourchette recommandée.

2. Les résultats des analyses des produits finis

2.1. Résultats des analyses physico-chimiques

Les résultats de mesures de PH, taux d'humidité, EST et les cendres des 2 biscuits fabriquées à base de 2crèmes différentes (crèmes fabriqués à base du lactosérum et du crème témoin a base du lait) sont représentés par la figure 21:

RESULTATS ET DISCUSSION

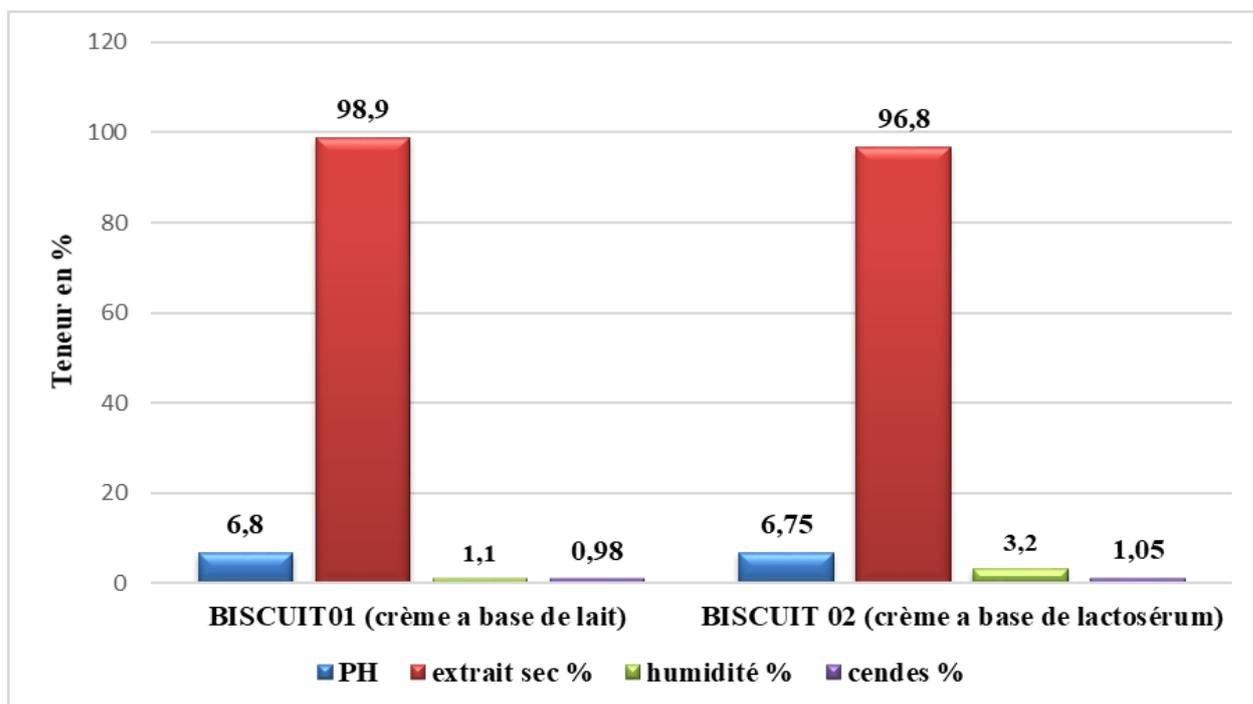


Figure 21 : résultat des analyse physicochimique (mesure de pH, taux d'humidité, EST et les cendres) des 2 biscuits fabriquées à base de 2 crèmes différentes (crèmes fabriqués à base du lactosérum et du crème témoin a base du lait).

La figure ci – dessus montre que :

❖ Résultats de mesure de PH :

Les pH de biscuit 1 et 2 sont égaux respectivement à 6,80 et 6,75, on remarque que la valeur de PH du biscuit 1 est un peu supérieur que le PH du biscuit 2, elles sont proches à la neutralité et conformes à la normes (**norme interne de l'usine BIMO**) qui se situe dans l'intervalle de 6.5 à 7.5.

Ces résultats sont liés aux valeurs du pH de la poudre de lait pour le biscuit 1 et la poudre du lactosérum pour le deuxième, mais elles sont proches les unes aux autres, il ya une légère augmentation du pH d'un biscuit a une autre, mais non significative.

❖ Taux d'humidité

Le taux d'humidité est un paramètre très important dans la détermination de la conformité du produit fabriqué, elle influe sur les propriétés organoleptique et l'acceptabilité par le consommateur : la reprise d'humidité altère la texture craquante et agréable aux produits en raison de leurs faibles teneurs en humidité cela ils ont une durée de vie relativement longue.

RESULTATS ET DISCUSSION

Nous voyons sur la figure que les teneurs en eau des deux biscuits 1 et 2, sont respectivement 1,10 % et 3,20%. Les résultats sont dans les normes rapportés par **IS :1011, 2002** qui doit être inférieure à 5% et aussi à **la norme interne de l'usine BIMO** qui se situe entre 2.5 -3.5%.

Nous remarquons que la teneur en eau de biscuit 1 est inférieure à celle du biscuit 2, cela peut justifier que la poudre du lait a une teneur en eau plus basse en comparant avec celle du lactosérum (ce résultat est trouvé lors de l'analyse des matières premières).

❖ EST

La matière sèche d'un produit alimentaire représente l'ensemble de ses constituants solides qui constituent ce produit alimentaire et sont représentés par la matière grasse, les protéines et les minéraux, en effet l'humidité des biscuits est proportionnellement liée à leur teneur en matière sèche, c'est-à-dire, un biscuit très riche en matière sèche apparaît le moins humide.

Donc on conclut que la valeur de l'EST du biscuit 1 est de 98,90 % donc elle est supérieure à celle du biscuit 2 qui est 96,80%, car la valeur de l'EST et de la poudre de lait est supérieure à celle de la poudre de lactosérum cela veut dire que le biscuit 1 est un peu plus riche en matière sèche par rapport au biscuit 2.

❖ La teneur en cendre

La teneur en cendres indique une estimation de la teneur totale minérale dans une quantité donnée de biscuits, cette teneur peut conférer aux biscuits une qualité nutritionnelle intéressante.

Le taux de cendre du biscuit 1 et biscuit 2 sont respectivement 0,98% et 1,05%, ces résultats restent conformes aux normes dictées par **Nguyen (2014)** et à **la norme de BIMO** qui exigent une valeur inférieure à 3,5% de la matière minérale dans les biscuits.

On remarque que la valeur de cendre du biscuit 2 est un peu supérieure que celle du biscuit 1, mais elles sont proches l'une à l'autre, il y a une légère augmentation, mais non significative.

La différence de ces teneurs pourrait être expliquée par la variabilité de la composition entre ces échantillons en prenant en considération la farine utilisée qui est la même, la matière grasse aussi, le lait, et la poudre de lactosérum, selon les résultats on dit que le lactosérum est riche en sels minéraux que la poudre de lait.

En gros il n'y a pas une grande différence significative entre les analyses physico-chimiques du biscuit fourré à la crème à base de la poudre de lait et du biscuit fourré à la crème à base de la poudre de lactosérum.

2.2. Résultats d'analyses biochimiques

Les résultats d'analyses biochimiques (teneur en glucides, protéine, lipides et les sels) des 2 biscuits fabriquées à base de 2 crèmes différentes (crème fabriqués à base du lactosérum et du crème témoin a base du lait) sont illustrés par la figures 22 :

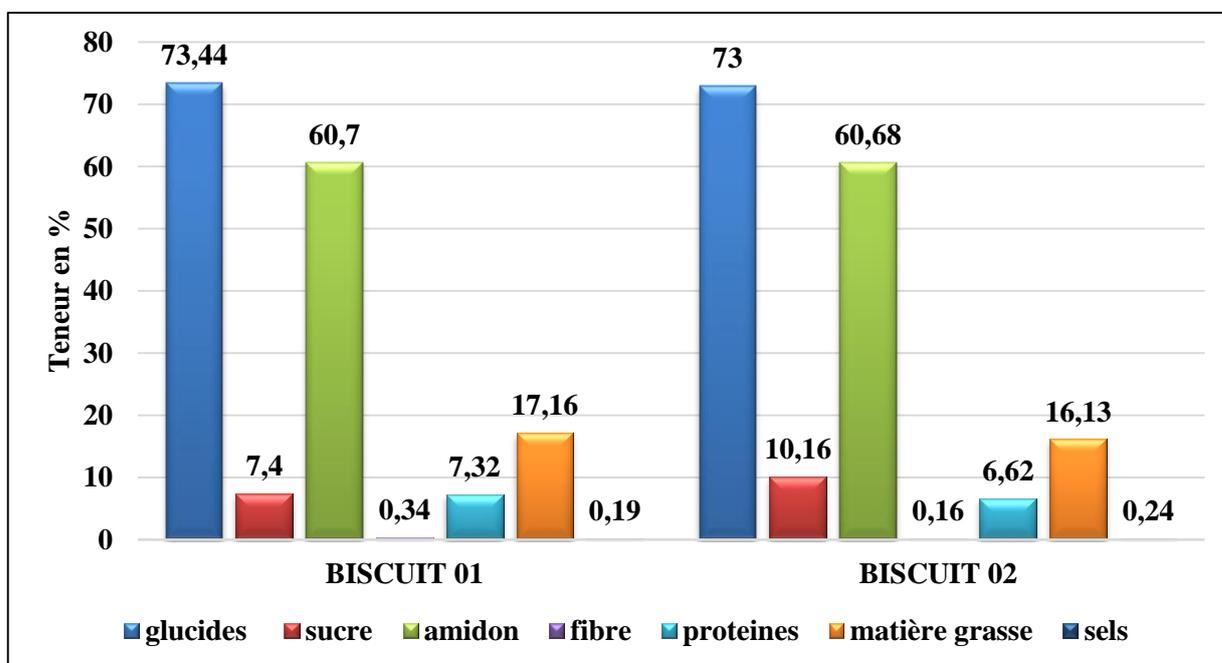


Figure 22 : résultat des analyses biochimiques (teneur en glucides, protéine, lipides et les sels) des 2 biscuits fabriqués à base de 2 crèmes différentes (crèmes fabriqués à base du lactosérum et du crème témoin a base du lait).

❖ Résultats de mesure des lipides totaux

Les matières grasses jouent un rôle essentiel dans la texture du biscuit et lui confèrent ses saveurs et ses caractères particuliers.

Dans les biscuits la teneur en lipides varie en fonction de type de la matière grasse utilisée ou rajoutée au cours de la fabrication ainsi que la matière grasse présente dans quelques ingrédients des matières premières tel que la farine, le chocolat, la crème...

La teneur en lipides des deux biscuits fabriqués 1 et 2 sont respectivement : 17,16% et 16,13%. Elles sont conformes à **la norme interne de la biscuiterie BIMO et à celle décrite par Denis (2011)**, qui rapporte des valeurs comprises entre 6 et 27% pour les biscuits.

On remarque que la valeur de la teneur en lipides du biscuit 1 est légèrement supérieure a celle de biscuit 2.

RESULTATS ET DISCUSSION

Puisqu'on a utilisé les mêmes matières premières dans la fabrication des deux biscuits et les mêmes ingrédients dans la fabrication de la crème sauf qu'on a remplacé la poudre de lait de la crème du biscuit 1 par la poudre de lactosérum dans la crème du biscuit 2, donc ces variations en matière grasse entre les deux biscuits sont probablement dues à la composition du poudre de lait qui est à 26% de MG qui est légèrement supérieur par rapport à la teneur en lipides de la poudre de lactosérum, mais quand même cette différence n'est pas assez significative.

Les deux biscuits ont une bonne teneur en matières grasses qui confère aux biscuits un fort potentiel calorifique et une bonne valeur nutritionnelle.

❖ Résultats de la mesure des protéines totales

Le teneur en protéine totale pour les deux biscuits 1 et 2 est égale respectivement 7,32 et 6,62.

Elles sont conformes à **la norme interne de la biscuiterie BIMO et à celle décrite par Denis (2011)**, qui constate des teneurs variant de 6 et 9% pour les biscuits.

Nous notons que le biscuit 1 fourré à la crème fabriquée à base de lait est un peu plus riche en protéine en comparant avec le biscuit 2 fourré à la crème fabriquée à base de lactosérum, mais il n'y a pas une grande différence entre les teneurs en protéine des deux biscuits fabriqués.

Ces différences peuvent être dues à la composition de chaque type c'est-à-dire les ingrédients utilisés tel que la farine utilisée, le chocolat, la crème, la poudre de lait, lactosérum, n'oublions pas que ces constituants sont riches en protéines et ont donc un effet majeur sur la variance de la teneur en protéines de ces biscuits, ce résultat est dû à la concentration de protéines trouvée dans la poudre de lactosérum qui est légèrement inférieure à celle de poudre de lait.

Les deux biscuits fabriqués ont une bonne teneur en protéine qui indique une valeur nutritionnelle élevée.

❖ La teneur en glucides

La **figure 22** montre que les teneurs en glucides des deux biscuits fabriqués qui sont égales respectivement à 73,44 % et 73%, on remarque que la teneur en glucides totales dans le biscuit 1 est égale à la teneur en glucides dans le biscuit 2.



Elles sont conformes à **la norme interne de la biscuiterie BIMO**.



Elle se compose essentiellement de sucre, amidon et fibre alimentaire.

RESULTATS ET DISCUSSION

Nous notons que le biscuit 2 est riche en sucre, sa teneur est de 10,16 % que le biscuit 1 qui est à 7,40% ce résultat est justifié par la richesse de la poudre du lactosérum en sucre qui est le lactose, c'est d'ailleurs le composé le plus important.

Pour l'amidon les : la teneur en amidon du biscuit 1 qui est 60,70% est égale à la teneur du biscuit 2 qui est 60,68 %, cela peut s'expliquer par l'utilisation de l'amidon comme un ingrédient dans les 2 biscuits avec les mêmes mesures.

Concernant les fibres la valeur de la teneur en fibres pour le biscuit 1 est de 0.34% elle est un peu supérieure à celle du biscuit 2 est 0.16% mais, il n'y a pas une grande différence significative, les deux valeurs sont presque égales, donc les deux biscuits contiennent des fibres alimentaires.

Pour les sels (Na cl) : nous remarquons que la teneur en sels de biscuit 2 est un peu supérieure à celle de biscuit 1, cela veut dire que la poudre du lactosérum ne part importante d'éléments minéraux.

✚ D'après les analyses biochimiques effectuées sur les deux biscuits, on observe que :

Les résultats des analyses des protéines, lipides, glucides et les sels des deux biscuits sont très proches ou égales les unes aux autres. Donc, cela veut dire qu'il n'y a pas une grande différence sur le plan nutritionnel entre le biscuit 1 fabriqué, qui est fourré à la crème à base de poudre de lait et le biscuit 2 fourré à la crème à base de poudre de lactosérum.

On peut dire que la qualité nutritive de la poudre du lactosérum est proche à celle de poudre de lait (elles sont riches en protéine, en lactose, minéraux ...), donc nous pouvons remplacer cette dernière par la poudre du lactosérum en biscuiterie non seulement en gardant la qualité nutritionnelle du produit mais aussi en diminuant le coût.

2.3. Les valeurs énergétiques :

Les résultats de calcul de valeur énergétique des 2 biscuits fabriqués à base de 2 crèmes différentes (crèmes fabriqués à base du lactosérum et du crème témoin a base du lait) sont représentés par la figure 23 :

RESULTATS ET DISCUSSION

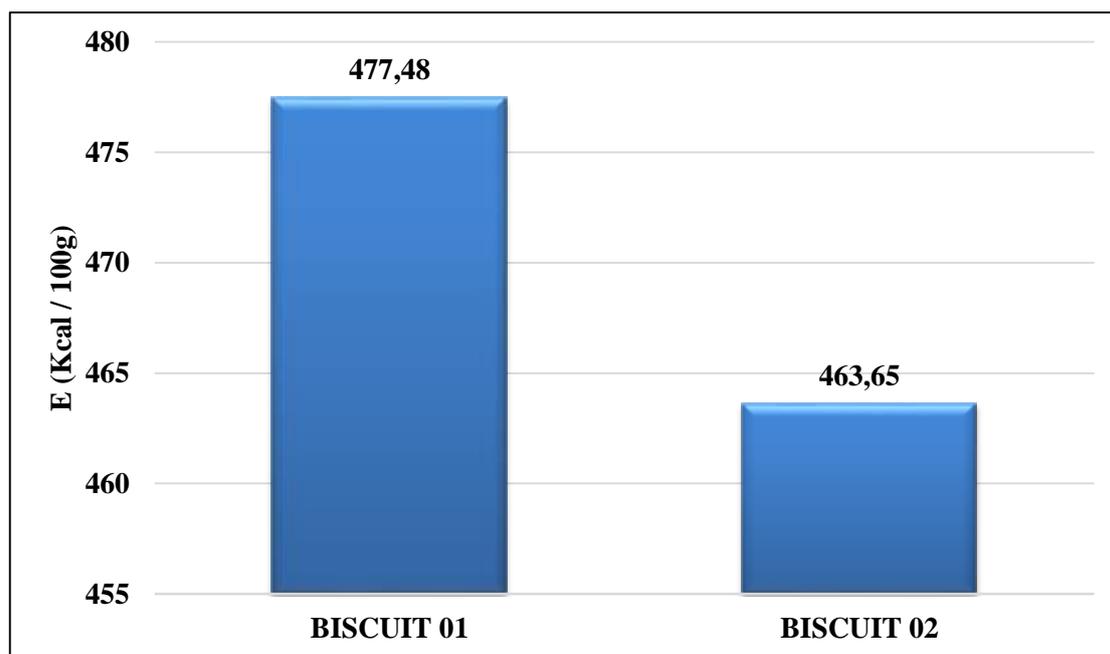


Figure 23 : les résultats de calcul de la valeur énergétique des 2 biscuits fabriqués à base des 2 crèmes différentes (crèmes fabriqués à base du lactosérum et du crème témoin a base du lait).

Les valeurs énergétiques des deux biscuits 1 et 2 sont comme suite 477,48Kcal (équivalent 2007,48 KJ) et 463,65Kcal (équivalent de 1950,35 KJ).

Nous remarquons que les deux biscuits fabriqués ont une valeur énergétique proche, l'une à autre car les teneurs en protéine, glucides, lipides des deux biscuits sont proches.

3. Résultats des analyses microbiologiques des produits finis

Le tableau 21 regroupe les résultats de toutes les analyses microbiologiques réalisées sur les deux biscuits fabriqués (biscuit1 :la crème de fourrage a base du lait, biscuit 2 :la crème de fourrage à base du lactosérum)

Tableau 14 : les résultats d'analyses microbiologiques sur les 2 produits finis

Micro-organismes	Résultats		Plan D'échantillon		Limites microbiologiques (ufc/g ou ufc /ml)		Méthodes appliquées (L'IANOR)
	Biscuit 1	Biscuit 2	n- nage		M	M	
			n	c			
Germe totaux a 30 °C	9. 10 ²	10 ³	5	2	10 ³	10 ⁴	NA1207(2014)
Escherichia coli	Absence	Absence	5	2	3	30	NA6803

RESULTATS ET DISCUSSION

							JORA N°75 (2015)
Moisissures	<15	<15	5	2	10 ²	10 ³	NA 761 JORA N°52 (2014)
Staphylocoques à coagulase +	8. 10 ¹	9.10 ¹	5	2	10 ²	10 ³	NA 15164 JORA N°68 (2014)
Salmonella	Absence	Absence	5	0	Absence /25g		JORA N°44 (2017)

Les résultats des analyses microbiologiques des deux biscuits révèlent une absence totale de *Salmonella et Escherichia coli*.

En outre, les résultats obtenus pour germes aérobies à 30°C, de germes d'altération (moisissures), et de germes pathogènes (*Staphylococcus aureus*), pour les deux biscuits analysés (biscuit1 et 2) sont consignés dans le tableau 21.

En comparant les résultats obtenus avec les critères d'acceptation donnés par le **journal officiel de la république Algérienne N°39** selon l'arrêté interministériel du **02 juillet 2017** fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires qui stipule que :

- ✚ **n** : nombre d'unités composant l'échantillon
- ✚ **c** : nombre d'unités de l'échantillon donnant des valeurs situées entre m et M.
- ✚ **m** : seuil au-dessous duquel le produit considéré comme étant de qualité satisfaisante ; Tous les résultats égaux ou inférieurs à ce critère sont considérés comme satisfaisante.
- ✚ **M** : seuil limite d'acceptabilité au-delà duquel les résultats ne sont plus considérés comme satisfaisants, sans pour autant que le produit soit considéré comme toxique.

Nous trouvons que la qualité microbiologique est satisfaisante et conforme aux normes, de ce fait notre produit se classe comme un produit de qualité excellente du point de vue microbiologique donc il est propre à la consommation

Ceci est dû au respect des bonnes pratiques de fabrication, de conditionnement, de bonne conservation et de stockage ainsi que des bonnes pratiques d'hygiène des locaux, des installations et des manipulations au niveau de l'unité « BIMO » jouent un rôle primordial dans la qualité microbiologique du produit fabriqué.

4. Résultats des analyses sensorielles

Notre étude a été basée sur une comparaison entre le biscuit fabriqué qui est fourré à la crème à base de poudre de lactosérum et un autre qui est fourré à la crème à base de poudre de lait sur le plan nutritionnel et même l'organoleptique.

Selon l'analyse sensorielle faite au niveau de laboratoires BIMO nous remarquons qu'il n'y avait aucune différence entre les deux biscuits fabriqués sur le plan organoleptique ni au niveau de couleur, goût, arôme, ni la texture des deux crèmes et des deux biscuits, ni la forme de biscuits, ils ont été identiques.

La forme des deux biscuits était attrayante, commerciale avec une crème épaisse, la couleur est présentable attrayante avec une crème blanche jaunâtre, le goût des deux biscuits avec la crème était bon, moyennement sucré, croustillants avec une crème lisse, l'arôme des biscuits était agréable mélangé avec l'arôme de vanille et l'arôme de lait qui était légèrement présente dans la crème.

Donc nous pouvons dire que le goût, l'odeur et la couleur de la poudre de lactosérum est proche à celle de la poudre de lait, on peut l'utiliser en remplaçant le lait sans aucune influence donc le goût des deux biscuits est le même.

CONCLUSION

Les effluents produits par les unités de production du lait et de fromages sont parmi les rejets les plus polluants pour l'environnement. Cette charge polluante est due à la composition organique et minéralogique de ce type d'effluent. Ceci dit, le lactosérum qui est un des rejets principaux des unités laitières, qui représente le 1/3 des effluents, se compose principalement de l'eau, lactose, en plus des protéines, la matière grasse et les minéraux.

Ce travail a été entrepris dans le but de contribuer à la valorisation du lactosérum en poudre par son incorporation dans une crème de fourrage d'un biscuit au lieu de la poudre de lait, principale composé de cette crème, constitue une valeur ajoutée de ce produit fini vu sa richesse en éléments nutritifs.

Le but de cette étude était de voir l'impact de l'incorporation du lactosérum sur la qualité nutritionnelle de ce biscuit, es ce qu'il possède la même valeur notionnelle que le biscuit avec la poudre de lait.

Nous avons effectué des analyses physiques, microbiologiques et sensorielles pour déterminer la qualité du produit fini, et on a étudié la valeur énergétique des deux biscuits fabriqués.

Les analyses physico-chimique (PH, Humidité, cendres, l'acidité grasse et le taux de gluten) des matières premières (Farine poudre de lait, lactosérum et la matière grasse) et des analyses physico-chimiques (cendre, EST, ph, Humidité) des produits finis (les deux biscuit fourrés à la crème à base de poudre de lait et à la crème à base du poudre de lactosérum), montrent que les matières premières et les produits finis fabriqués sont de bonne qualité et elles répondent aux normes nationales et internationales.

Les résultats des analyses biochimiques (teneur en protéine, lipides et glucides totaux) des produits finis montrent qu'ils ont une bonne valeur nutritionnelle, ils sont riches en nutriments.

Les résultats des analyses microbiologiques (la recherche des FAMT, *Staphylococcus a* coagulase +, *Salmonella*, *E. coli* et levures et moisissures) des deux biscuits étaient conforme à la législation Algérienne ne dépassent pas les normes et d'excellente qualité et apte à la consommation sans aucun risque cela dû aux bonnes conditions d'hygiène et de conservation.

Le test de dégustation, qui est basé sur la comparaison entre les deux biscuits qui sont fourrés à la crème à base de poudre de lactosérum et à base de poudre lait, montre que les deux biscuits sont très proches les uns aux autres, il n'y a pas de différences significatives au niveau du goût, arôme, texture, couleur et forme.

Au terme de cette étude, il faut dire que :

Nos résultats montrent bien la faisabilité technologique de l'utilisation de la poudre de lactosérum pour la fabrication d'une crème de fourrage d'un biscuit en remplaçant la poudre de lait, en offrant une qualité concurrente à celle de poudre de lait.

D'après les analyses effectuées , en comparant entre les deux biscuits fabriqués sur le plan nutritionnel, on note qu'ils ont une valeur nutritionnelle égale ou proche, il n'y a pas une grande différences entre les teneurs en protéines, lipides , glucides et les sels de biscuits fourré à la crème à base du lactosérum et le biscuit fourré à la crème à base de la poudre de lait , de ce fait ils ont une densité énergétiques importante .

Donc la poudre de lactosérum va enrichir le produit fini de point de vu nutritionnel en apportant des éléments de haute valeur nutritionnel (protéines, glucides, matière grasse et minéraux) en plus ça fera l'objet d'une facilité de s'en débarrasser par les usines d'origine (fromageries) et constituera une relation gagnant-gagnant avec l'industrie de fabrication et la biscuiterie qui gagnera sur le prix d'achat de ce sous-produit, et en diminuant le coût d'achat de poudre de lait en le remplaçant par la poudre du lactosérum ,comme il peut constituer une base de la protection de l'environnement en évitant son évacuation dans la nature et par conséquent éviter la prolifération accru des micro-organismes nuisibles dans l'environnement.

REFERENCES

A

Ait Ameer Lamia (2006), Evolution de la qualité nutritionnelle des protéines de biscuits modèles au cours de la cuisson au travers d'indicateurs de la réaction de Maillard : Intérêt de la fluorescence frontale. Institut National Agronomique, Paris – Grignon : 35.

B

BELATTAN. Biochimie Appliquée ; Biochimie des substances animales : composition et valorisation Le lactosérum.

Boudier J-F ; Luquet F-M ; 1980. Utilisation des lactosérums en alimentation humaine et animale. APRIAN°21, PARIS, 113p.

BROUTAIN C., 2001- Fabriqué des biscuits à base de farine composée. PME agroalimentaires, Biscuiteries. 20 pp.

Biguzzi, C., 2013. L'amélioration de la qualité nutritionnelle est-elle compatible avec le maintien de la qualité sensorielle ? : l'exemple des biscuits. Thèse de doctorat en Sciences de l'Alimentation. Université De Bourgogne, 238 p.

BENKADRI S., 2010- Contribution à la diversification de l'alimentation pour enfants cœliaques : fabrication de farines-biscuits sans gluten. Mémoire de Magistère en Science alimentaire, Institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agroalimentaires, Université MENTOURI, Constantine, 125p.

Bourekoua, H., 2018. Panification traditionnelle sans gluten type « khobz eddar » : formulation avec améliorants naturels. Thèse de doctorat en Sciences. Université Freres Mentouri Constantine 1, Algérie, 137 p.

C

Cheryan M. (1998). Ultrafiltration and microfiltration handbook, thechnomic publishing company. Lancaster, PA.

Coutouly G et Marcussen L, 1998 : « Biscuits et biotechnologies » Ed Initiative for boitechnology. 29p.

CHEVALIER S., COLONNA P., DELLA VALLE G and LOURDIN D., 1999- Structural modifications of biscuit dough drings baking-Rôle of ingrédients. INRA. Paris. Les Collègues, 191-197 p.

Cheblaoui Y. et Yahiaten N ., 2016 : « Contribution à la diversification de l'alimentation pour l'enfant cœliaque : fabrication de farine- Biscuit sans gluten ».PP :15-16.

CHABOISSIER D. et LEBIGRE D. (2005). Compagnon et maître pâtissier. Editions Jérôm Villette, Tome 2 Technologie de la pâtisserie. pp206.

D

De Wit J.N. (1981) Structure and functional behaviour of whey proteins. Neth. Milk Dairy J. 35,47-64.

Dairy processing handbook (1995) Ed. Teknotext AB. Publisher, Tetra Pak Processing Systems AB S-221 86 Lind, Sweden. Chap. 6.4, 15

Devi, A. et Khatkar, B.S., 2016. Physicochemical, rheological and functional properties of fats and oils in relation to cookie quality : a review. Journal of Food Science and Technology, 53(10) : 3633-3641.

Document extrait de « Textes Et Documents pour la Classe » n°139« Le lait et les produits laitiers ».

DELACHARLERIE, S., DE BIOURGE, S., CHENE, C., SINDIC, M. & DEROANNE, C. (2008). HACCP organoleptique : Guide pratique. Presses Agronomiques de Gembloux, Belgique. 176p.

F

Feillet, P., 2000. Le grain de blé, composition et utilisation. Edition Quae, INRA. Paris, 308 p.

Floros, J.D., Newsome, R. et Fisher, W., 2010. Feeding the world today and tomorrow : the importance of food science and technology : An IFT scientific review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2010: 1-28.

H

Haoua R. et TINGALI R., 2007 : « Essai d'incorporation de lactosérum en poudre dans la fabrication du biscuit type "Petit BIMO" » ,35 p.

J

Journal officiel N°39 de 2juillet 2017 : Arrêté interministériel du 2 moharrem 1438 correspond au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaire – Art 3 et Art 6

Journal officiel n°39 du 2017

K

KIGERJ. L., KIGERJ. G. (1967) Techniques modernes de la biscuiterie, pâtisserie boulangerie industrielle et artisanale et des produits de régime. Dunod. Tome 1. Paris. 696p.

Kabore N., 2012 : « Optimisation de la production de biscuits à base de patate douce à chair orange » P10.

L

Laplanche J., Ducognon V., Trevisan D. (2006). Traitement du lactosérum par filtration sur compost ensemencé de vers, épuration of lactosérum in a compost filter with Worms, syndicat des apagistes, fruit communs et vendeur direct de savoie. Maison de l'agriculture- saut baldoph. PP: 73-90.

Lassoued-Oualdi, N., 2005. Structure alvéolaire des produits céréaliers de cuisson en lien avec les propriétés rhéologiques et thermiques de la pâte : Effet de la composition. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaires. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires « ENSIA ». AgroParisTech, 163 p.

Lapointe-Vignola, C. (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait, Presses inter Polytechnique.

M

MENARDG.,EMONDS.,SEGINR.,BOLDUCR,BOUDREAU.,MARCOUSD PAINCHAUDM.etPOIRIERD.(1992) Labiscuiterie industrielle. In, BOUDREAU., MENARDG .(1992). Le blé: éléments fondamentaux et transformation. Les presses de l'université Laval. Sainte-Foy. Canada: 287-348. 439p.

Mohtadji-Lamballais, C., 1989. Les aliments. Edition Maloine, Paris, 203 p.

Maache-Rezzoug, Z., Bouvier, J.M., Allaf, K. et Patras, C., 1998a. Effect of principal ingredients on rheological behavior of biscuit dough and on quality of biscuits. Journal of Food Engineering. 35: 23-42.

Manoharr, S.R. et Rao, H.P., 2002. Interrelationship between rheological characteristics of dough and quality of biscuits; use of elastic recovery of dough to predict biscuit quality. Food Research International, 35: 807-813.

Mamat, H. et Hill, S.E., 2018. Mini Review : Structural and functional properties of major ingredients of biscuit. International Food Research Journal, 25(2): 462-471.

Mezian, S., 2011. Influence du procédé de congélation sur les levures et les propriétés technofonctionnelles des pâtes sucrées (type Kougelhopf). Thèse de doctorat en Procédés Biotechnologiques et Alimentaires. École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. Université de Nancy, 123p.

MENARD, G., EMOND, S., BOLDUC, R., MARCOUX, D. & BOUDEAU, A. (1992). La pâtisserie industrielle. In : Le blé : Eléments fondamentaux et transformation. Boudereau A. et Ménard G., Les presses de l'Université de Laval, Sainte-Foy .349-390.

N

Ndangui, C.B., 2015. Production et caractérisation de farine de patate douce (Ipomoeabatatas.Lam) : optimisation de la technologie de panification. Thèse de doctorat en Co-tutelle en Procédés et Biotechnologiques Alimentaires. Université de Lorraine et Université Marien Ngouabi. 134 p

O

Okpala, L.C. et Okoli, E.C., 2013. Optimization of composite flours biscuits by mixture response surface methodology. Food Science and Technology International, 19(4): 343-350.

P

Jelen , P and Renz-Schauen , A (1989). “Quarg Manufacturing Innovations and Their Effect on Quality, Nutritive Value and Consumer Acceptance,” Food Technol. 43(3), 74 -81 p

R

Redjem N. et Derghal W . 2016 : « Contribution à la formulation d’un biscuit à base de caroube et lactosérum ».P36.

S

Saadoudi, M., 2019. Caractérisation biochimique, conservation et essais d’élaboration des produits alimentaires à base du fruit de Zizyphus lotus L. Thèse de doctorat en sciences. Université Hadj Lakhdar Batna 01 (UHB1), Algérie, 140 p.

Sharma, A., 2013. Tea catechins: their stability and roles in the biscuit making process and effects on biscuit quality. Thèse de doctorat en Science et Technologie Alimentaire. Université Nationale de Singapour, 226 p.

Sheth H., P. Jelen, L. Ozimek, and W. Sauer, (1988). “Yield, Sensory Properties and Nutritive Qualities of Quarg Produced from Lactose—Hydrolyzed and High Heated Milk,” J. Dairy Sci. 71, 2891 .

Spreer, E. (1998). Milk and dairy product technology, CRC Press.

Sudha, M.L., Vetrmani, R., Leelavathi, K., 2007. Influence of fibre from different cereals on the rheological characteristics of wheat flour dough and on biscuit quality. Food Chemistry, 100: 1365-1370.

Sofia ES., 2016 : « Processus de fabrication des biscuits et gaufrettes ». P : 9.

Soulianc L et Remy S., 2010 « Travaux sur les lipides et le goût ». P : 127.

T

Tsakali ,E.,Petrotos ,K., D’allessandro , A-G. et Goulas , P.,- 2010 - A review on whey composition and the methods used for its utilization for food and pharmaceutical products, Greece, page 2-3

Trivino Arevalo, A. (2017). "Étude environnementale comparative des procédés de valorisation du lactosérum."

Tharrault, J.F., 1997. Qualité biscuitière des farines de blé tendre : des blés biscuitiers pour une bonne maîtrise de la texture des biscuits. In, GODON B. et OISEL W. Guide pratique d’analyse dans les industries des céréales. Lavoisier. Tec. Et doc. Paris, 819 p.

V

Vethakanraj, H-S., Sayanti, S., Ashoke, R-T. & Shaon, R-C(2013). Bacteria from lactic acid production from whey water. *Am. J. biochem.biotechnol* 9 :118.

Vujic, L., Cepo, D.V., Sebecic, B. et Dragojevic, V., 2014. Effects of pseudocereals, legumes and inulin addition on selected nutritional properties and glycemic index of whole grain wheat-based biscuits. *Journal of Food Nutrition Recherche*, 53: 152-161.

Valorisation alimentaire de la production agricole / Guy Linden, Denis Lorient, ; préface de Hervé Bichat ; Linden, Guy (1941-...). ; Lorient, Denis. Bichat, Hervé (1938-2015). Paris ; Milan ; Barcelone : Masson, 1994.

W

Wiley J. et Sons Ltd 2019 Whey Protein Production, Chemistry, Functionality, and Applications.First Edition. Edited by Mingruo Guo. © 2019 John. 62.Woo, A.2002. La grande diversité du lactosérum. *Agriculture et agroalimentaire*. Canada. p 3-13.

Z

ANNEXES

ANNEXE.I. PROTOCOLE ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES**1. Mesure du taux de cendres****1.1. Objet**

Le présent mode opératoire pour objet de définir la marche à suivre par la mesures du taux de cendres.

1.2. Matériels

- ✓ Four à moufle le réglable à $900\text{ °C} \pm 25\text{°C}$
- ✓ Une balance électronique un creuset en porcelaine un dessiccateur
- ✓ Une spatule
- ✓ Une pince

1.3. Mode opératoire**❖ Méthode**

- + Chauffer durant 10 mn le creuset dans le four réglé à $900\text{°C} \pm 25\text{°c}$.
- + Laisser refroidir à la température ambiante dans le dessiccateur et le peser.
- + Peser 10 g du produit à analyser.
- + Introduire le creuset dans le four à $900\text{ °C} \pm 25\text{°C}$ jusqu'à la disparition des particules Charbonneuses (en général le temps d'incinération est de 1h30 min).
- + Retirer le creuset du four à l'aide d'une pince et le refroidir dans le dessiccateur jusqu'à température ambiant.
- + Peser le creuset.
- + Le taux de cendres exprimé en % en masse est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{ de cendres} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0} \times 100$$

- ✓ m_0 : masse du creuset vide en gramme
- ✓ m_1 : masse du creuset +prise d'essai en gramme
- ✓ m_2 : masse du creuset + cendres en gramme

2. Mesure du taux de gluten de la farine

2.1. Objet du mode opératoire

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la marche à suivre pour la mesure du Taux de Gluten de la farine

2.2. Domaine d'application :

Le présent mode opératoire s'applique à tous les échantillons de la farine au niveau des processus de production du groupe BIMO Industrie.

a) Documentation :

- ✓ NA.735.1991 ISO5531
- ✓ NA 736.1991 1805531

2.3. Matériels

- ✓ Une balance électronique.
- ✓ Un mortier en porcelaine
- ✓ Une burette 10ml graduée en 0,1ml - De l'eau distillée.
- ✓ Une solution de chlorure de sodium à 20 g/l (Na Cl)
- ✓ Une spatule.
- ✓ Une étuve thermo statée.

2.4. Méthode

-  Mettre sous tension la balance électronique en appuyant sur la touche « power
-  Peser dans un mortier 10 g de farine
-  Ajouter 5,5 ml de Na Cl. Solution (20g /l)
-  Agiter la farine avec la spatule et former une boule de pâte 5) Malaxer le piton en le plaçant dans la pomme de la main tout en versant des gouttes à gouttes du Na Cl
-  Poursuivre l'opération jusqu'à ce que l'eau de lavage ne soit plus trouble
-  Eliminer la grande partie de la solution du rinçage en comprimant la boule de gluten entre les mains et refaire cette opération plusieurs fois
-  Le gluten humide exprimé en % en masse du produit tel quel est égal à :

➤
$$\text{GH} = \frac{m \times 100}{10}$$

✚ **m** : est la masse en gramme du gluten humide.

✚ 8)- Placer le gluten humide obtenu dans l'étuve pendant 2 heures à 100° C

➤ Le gluten sec exprimé en % en masse du produit tel quel est égal à :

$$\text{GS} = \frac{m' \times 100}{10}$$

m' : est la masse en gramme du gluten sec

3. Mesure de l'acidité de la poudre de lait

3.1. Objet du mode opératoire

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la marche à suivre pour la mesure de l'acidité de la poudre de lait.

3.2. Domaine d'application

Le présent mode opératoire s'applique aux échantillons de la matière première poudre de lait prélevés sur les différents points des processus production du groupe BIMO.

3.3. Documentation

-Norme française (NF v04-206)

3.4. Matériels

- ✓ -Balance électronique
- ✓ -Agitateur magnétique
- ✓ -Becher de 250 ml
- ✓ 1 Burette de 10 ml.
- ✓ -Pipette graduée de 20 ml
- ✓ NaoH (N/9)
- ✓ -Solution alcoolique de phénolphtaléine (1%)

3.5. Méthode

-  Mettre sous tension la Balance électronique en appuyant sur la touche « Power ».
-  Peser dans un Becher 2 g de poudre de lait.
-  Ajouter 20 ml d'eau distillée.
-  Mélanger bien la solution à l'aide d'une baguette en verre.
-  Laisser reposer 20 min.
-  Ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine.
-  Titrer goutte à goutte la solution avec la « Na OH N/9% jusqu'à ce que la solution vire à la couleur « rose faiblement perceptible.
-  Calculer l'acidité suivant la formule ci-après :

L'acidité titrable exprimée en gramme d'acide lactique par 100 g d'échantillon est donnée par la formule :

$$A\% = (0.01 \times V) \times 100 / 2 = V/2$$

- l'acidité exprimée en degré Dornic :

$$1.D^{\circ} \longrightarrow 0.1 \text{ ml d'acide lactique}$$

- **V** : volume de NaoH (N/9).
- **A** : l'acidité en degré Dornic.

4. Mesure de l'acidité de la matière grasse

4.1. Objet du mode opératoire :

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la marche à suivre pour la mesure de l'acidité de la matière grasse

4.2. Domaine d'application

Le présent mode opératoire s'applique à tous les échantillons prélevés sur les différents points des processus production du groupe BIMO.

4.3. Matériels

- ✓ Agitateur magnétique.
- ✓ Balance analytique électronique.
- ✓ 2 Bêchers de 250 ml.
- ✓ 1 burette de 10 ml.
- ✓ fiole jaugée de 100 ml.
- ✓ Ethanol à 98% (1 vol).
- ✓ Ether di éthylique (2 Vol).
- ✓ KOH (0.1 N).
- ✓ Solution alcoolique de Phénolphtaléine 1% (ph.ph).

4.4. Méthode

- ✚ Mettre sous tension la balance analytique en appuyant sur la touche « POWER ».
- ✚ Peser (5g) de matière grasse sous forme liquide dans le Bécher (250ml).
- ✚ Allumer l'interrupteur de l'agitateur magnétique.
- ✚ Remplir la burette (10ml) de KOH et ajuster.
- ✚ Remplir la fiole avec le mélange (Ether di éthylique 2V et l'Ethanol IV) jusqu'au trait jaugé (100ml).
- ✚ Verser le mélange dans un bécher vide.
- ✚ Ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine dans le mélange (Ether di éthylique 2V et l'Ethanol IV).
- ✚ Mettre le bécher sur l'agitateur magnétique.
- ✚ Fixer la vitesse de l'agitation en tournant le bouton de l'agitateur en position.

- ✚ Titrer au goutte à goutte la solution avec le KOH jusqu'à ce que la solution vire à la couleur ROSE ». Le volume de KOH utilisé pour le titrage est appelé V_1 .
- ✚ Verser la solution titrée dans le bécher contenant la matière grasse
- ✚ Titrer de nouveau le mélange jusqu'à ce que la solution vire à la couleur << ROSE : le volume de KOH utilisé pour le titrage est appelé V_2 .
- ✚ Calculer l'acidité à l'aide à la formule :

$$AC \% = (282 \times N \times \Delta V) / m. 10$$

282 = Masse molaire de l'acide oléique

- **N** = Normalité du KOH
- $\Delta V = V_2 - V_1$
- **M** = Masse en gramme de la matière grasse.

5. Mesure du pH

5.1. Objet du mode opératoire

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la marche à suivre pour la mesure du pH.

5.2. Domaine d'application

Le présent mode opératoire s'applique à tous les échantillons matière première, produit semi fini et produit fini au niveau des processus production du groupe BIMO Industrie.

5.3. Matériels

- ✓ Balance analytique
- ✓ PH-mètre avec électrode
- ✓ Agitateur magnétique chauffant
- ✓ Becher 250 ml
- ✓ Entonnoir
- ✓ Erlenmeyer 200 ml
- ✓ Eau distillée
- ✓ Papier filtre
- ✓ Tube à essai

-Thermomètre

5.4. Méthode

- ✚ Mettre sous tension le pH-mètre en appuyant sur « ON ».
- ✚ Appuyant sur le bouton « T° C » et régler la température du pH-mètre à 20°C en utilisant le bouton situé au-dessus.
- ✚ Allumer la balance à l'aide du bouton « POWER ».
- ✚ Peser 10g de l'échantillon dans un bécher et compléter avec l'eau distillée jusqu'à atteindre.
- ✚ Allumer l'agitateur et poser le bécher.
- ✚ Chauffer juste assez pour dissoudre l'échantillon.
- ✚ Régler la vitesse d'agitation à « 1 » et agiter jusqu'à ce que la solution devienne homogène
- ✚ Préparer l'Erlenmeyer, l'entonnoir et le filtre.
- ✚ Verser la solution sur le filtre.
- ✚ Après filtration totale, récupérer le filtrat dans le tube à essai et le refroidir a 20 °C.
- ✚ Plonger l'électrode du pH-mètre dans le tube à essai.
- ✚ Lire sur l'afficheur la valeur du pH.

6. MESURE DE L'HUMIDITE

6.1. L'objectif du mode opératoire

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la marche à suivre pour la mesure de l'humidité de la pâte de chocolat

6.2. Domaine d'application

Le présent mode opératoire s'applique aux échantillons de pâte prélevés au niveau des conches de la Chocolaterie BIMO.

a) Documents de références

-Norme ISO 9001

-Norme ISO 9000

-Processus Laboratoire contrôle qualité

6.3. Matériels

-Un ou deux plateaux

-Une spatule

-Une pince

-Un humidimètre

6.4. Méthode

-  Mettre l'appareil sous tension en le tournant à droite le bouton rouge.
-  Placer un plateau vide et le poids de 10g sur le support de plateau inférieur.
-  Débloquer la balance en manœuvrant le bouton gauche vers le bas, l'éclairage des deux cadrans est enclenché.
-  Sur le cadran droit, l'aiguille doit se trouver sur la ligne (10g).
-  Fixer l'index du cadran de gauche sur le trait du milieu.
-  Remettre l'aiguille du cadran droit au Zéro <<0>
-  **Important** : L'index sur le cadran gradué gauche doit rester sur le trait du milieu.
En cas d'apparition de petits écarts : corriger à l'aide du bouton situé en dessous de

l'écran. En cas de grands écarts : Régler au moyen de vis moletées et des contrepoids se trouvant à droite de la balance

- ✚ Remettre la balance à zéro au début de chaque analyse.
- ✚ Retirer le poids de 10g.
- ✚ Peser l'échantillon à analyser jusqu'à atteindre 10g.
- ✚ Vérifier que l'index du cadran de gauche se trouve de nouveau sur le trait du milieu.
- ✚ Bloquer en tournant le bouton de gauche vers le haut.
- ✚ Déposer le plateau et le produit sur l'une des plaques chauffantes.
- ✚ Régler la minuterie à 10mn.
- ❖ **Remarque** : En cas de deux mesures simultanées : ne pas changer le réglage du cadran gauche et veiller à ce que les poids des deux plateaux soient identiques.
- ✚ Amener le plateau avec le produit séché sur le porte plateau supérieure à l'aide du bouton de réglage du haut en tournant à droite ou à gauche selon le cas.
- ✚ Débloquer en tournant le bouton de réglage gauche vers le bas.
- ✚ Amener l'index sur le trait du milieu du cadran gradué de gauche en tournant de réglage de droite.
- ✚ Lire la teneur d'humidité en % directement sur l'écran droit (lecture d'humidité).
- ✚ Bloquer en tournant le bouton de gauche vers le haut.
- ✚ Replacer le plateau sur la plaque du bas à l'aide du bouton de réglage du haut.
- ✚ Retirer le plateau à l'aide d'une pince.
- ✚ Eteindre l'appareil à l'aide du commutateur.



7. Méthode d'analyse n° 06.97.06

7.1. Farine et semoule de blé détermination de l'acidité grasse :

a) Objectif et domaine d'application :

La présente norme décrit une méthode de détermination de l'acidité grasse dans les farines et les semoules de bile. Cette norme s'applique également aux pâtes alimentaires.

b) Définition

L'acidité grasse et l'expression conventionnelle des acides, essentiellement des acides gras libres, extraits dans les conditions qui suivront. Elle est exprimée en grammes d'acide sulfurique pour 100g de matière sèche.

c) Principe

Mise en solution des acides dans l'éthanol à 95 % (v/v) à la température du laboratoire, centrifugation et titrage d'une partie aliquote de la solution surnageant par hydroxyde de sodium.

d) Réactifs

Tous les réactifs doivent être de qualité analytique utilisée doit être de l'eau distillée

- Ethanol (alcool éthylique à 95 % (v/v))
- Hydroxyde de sodium (NaOH) : solution titrée à 0,05 dans l'eau distillée dont on aura éliminé le dioxyde de carbone par ébullition. Cette solution doit être exempte de carbonates et doit être conservée dans un flacon en verre inactinique.

Le titre de la solution doit être vitrifié immédiatement avant chaque série de déterminations de l'acidité.

- Phénolphtaléine : Solution à 1g pour 100 ml dans l'éthanol à 95% (v/v).

e) Appareillage

- ❖ Balance précise à 0,01g.
- ❖ Broyeur permettant un broyage rapide et uniforme, sans provoquer d'échauffement sensible du produit et en évitant au maximum le contact avec l'air extérieur (cas des semoules et des pâtes alimentaires).
- ❖ Tamis en toile métallique de 1mm d'ouverture de maille (pour les farines) et de 160um et de 500um d'ouverture de maille (pour les semoules et pâtes alimentaires).

- ❖ Centrifugeuse à 5000-6000 tours/min.
- ❖ Tubes de centrifugeuse de 45 min verre ou en plastique neutre bouchés hermétiquement.
- ❖ Tubes de 50 ml en verre ou en plastique neutres bouchés hermétiquement.
- ❖ Pipettes précises de 10 et 20ml.
- ❖ Fioles coniques ou Erlenmeyer de 250ml.
- ❖ Micro-burette graduée en 0.01ml.
- ❖ Agitateur rotatif mécanique, 30-60tours /min.

f) Condition de conservation :

Les échantillons ne doivent pas être conservés à température du laboratoire plus d'une journée, l'acidité augmente pendant le stockage. Les conserver en flacons étanches à 4°C environ. Avant chaque prélèvement, pour analyse, laisser est échantillon revenir à la température du laboratoire dans le flocon étanche

7.2. Mode opératoire

a) Nombre de déterminations

Faire deux déterminations sur le même échantillon pour essai.

b) Préparation de l'échantillon pour essai

➤ **Cas des farines**

Prélever environ 50g de farine et les tamiser à l'aide du tamis de 1 mm d'ouverture de maille (5.3.) de manière à désagréger les agglomérats éventuellement présents

➤ **Cas des semoules et des pâtes alimentaires**

Broyer environ 50 g de produit à l'aide du broyeur (5.2.) de telle manière que la totalité du broyat passe au travers du tamis de 500um d'ouverture de maille (5.3.) et qua moins 80 % passent au travers du tamis de 160um d'ouverture de maille (5.3)

c) Détermination de la teneur en eau

Effectuer immédiatement la détermination de la teneur en eau selon la méthode d'analyse N° 06.95.04

d) Prise d'essai

Peser à 001g près environ 5 g de l'échantillon pour essai, après avoir bien homogénéisé

e) Détermination

➤ **Extraction**

- Introduire la prise d'essai dans le tube de centrifugeuse, et ajouter à la pipette 30 ml d'éthanol (4.1) et fermer le tube hermétiquement.
- Agiter pendant une heure à l'aide de l'agitateur rotatif mécanique (5.10) en opérant à une température de 20°C ±5°C. Centrifuger ensuite à deux reprises et successivement pendant 2 min.
- Ces deux centrifugations sont plus efficaces qu'une seule de plus longue durée car elles permettent d'éliminer les particules restant suspension.

➤ **Titrage**

- Prélever à l'aide d'une pipette de 20 ml du liquide surnageant parfaitement limpide et les verser dans une fiole conique (5.8).
- Ajouter 5 gouttes de phénolphthaléine (4.3).
- Titrer à l'aide de la micro-burette (5.9) avec la solution d'hydroxyde de sodium 0.05 N (4.2), Jusqu'au virage rose pâle persistant quelques secondes.

f) Essai blanc

- Titrer l'acidité apportée par l'alcool (4.1), en opérant 20ml d'éthanol suivant les conditions.

7.3. Expression des résultats :

Mode de calcul et formules

- a) Acidité exprimée en grammes d'acide sulfurique pour 100 g de matière telle quelle

$$\frac{7,35 \times (v1 - v0.) \times T}{m}$$

- b) Acidité exprimée en gramme d'acide sulfurique pour 100g de matière sèche

$$\frac{7,35 \times (V1 - V0)}{m} \times T \times \frac{100}{100 - H}$$

Où :

V1 : est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée pour la détermination.

V0 : est le volume, en millilitres, de la solution d'hydroxyde de sodium pour l'essai à blanc.

- **m** : est la masse, en grammes, de la prise d'essai.
- **T** : le titre exact de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée.
- **H** : est la teneur en cal, en pourcentage en masse, de l'échantillon pour essai.

Résultat

-Faire le calcul avec 4 décimales

- Prendre comme résultat la moyenne arithmétique des deux déterminations si les conditions de répétabilité (voir 1.8.3) sont remplies. Dans le cas contraire, refaire l'essai en double.

- Exprimer le résultat à 0,001 % (m/m) près.

7.4. Répétabilité

La différence entre les résultats des deux déterminations (voir e) effectuées simultanément ou rapidement l'une après l'autre par le même analyste. Ne doit pas dépasser 0,002 g d'acide sulfurique pour 100g de matière sèche.

Volume de l'essai à blanc : 0.4 ml

8. Détermination du taux d'humidité : (du biscuit)

8.1. Principe

On pèse l'échantillon. On élimine l'eau par chauffage dans des conditions prédéterminées jusqu'à ce que la masse de l'échantillon demeure constante. On pèse l'échantillon dire les solides totaux.

8.2. Méthode

-L'humidité est déterminée par pesage de 5g des échantillons séparément dans les creusets marqués de poids connus.

- Les échantillons dans des creusets sont placés dans l'étuve pendant 5 heures à 105°C et puis refroidis dans les dessiccateurs et repesés.

On a assumé que la différence dans le poids est perte d'humidité (**Bunde et al.,2010**).

8.3. Expression des résultats

La teneur en eau est donnée par la formule suivante :

$$H \% = (m1 - m0) / (m1 - m0) \times 100$$

- **m0**: est la masse en grammes de la capsule vide;

- **m₁**: est la masse en grammes de la capsule avec la prise d'essai avant séchage.
- **m**: est la masse en grammes de la capsule avec la prise d'essai après séchage.

ANNEXE.II. PROTOCOLE D'ANALYSES MICROBIOLOGIQUE

1-Préparation des géloses, des suspensions mères et des dilutions

décimales :

1. Objet du mode opératoire :

Le présent mode opératoire a pour objet de préparation des géloses, des suspensions mères et des dilutions décimales à partir des milieux déshydratés.

- **Les géloses :**

- Gélose **PCA**: pour la recherche et dénombrements des germes totaux aérobies mésophiles à 30° C.
- Gélose **VRBL** ou **Désoxycholate**: pour la recherche et dénombrements des Coliformes Totaux et Fécaux à 37° C et 44° C. Gélose **VRBG**: pour la recherche et dénombrements des entérobactéries à 37°C
- Gélose nutritive **NA**: milieu gélosé non sélectif NA utilisé pour la réaction à l'oxydase des Entérobacteriaceae
- Milieu **OF** glucose: Milieu utilisé pour l'essai de fermentation des Entérobacterioco.
- **Gélose Baird Parker ou Chapman** pour la recherche et dénombrements des staphylococcus aureus à 37 C
- Gélose **SABOURAUD chlorophényeol** ou **OGA**: pour la recherche et dénombrements des levures et des moisissures
- Gélose **VF** pour recherche et dénombrements des Anaérobies Sulfite Réducteurs à 46° C

- **suspensions mères et les dilutions décimales:**

Des suspensions mères et des dilutions décimales: pour la recherche et le dénombrement des germes totaux aérobies mésophiles à 30° C, les coliformes totaux, fécaux et Escherichia coli, les entérobactéries, les staphylococcus aureus, les levures, les moisissures, les anaérobies Sulfite réducteurs et pour la recherche des salmonella et listeria dans tous les échantillons des processus production du groupe Bimo.

11. Domaine d'application:

Le présent mode opératoire s'applique à tous les échantillons des processus production du groupe Bimo.

III. Documentation et référentiels :

- Norme ISO 9001
- Norme ISO 9000
- ISO 11133: Microbiologie des aliments, des aliments pour animaux et de l'eau-réparation, production, stockage et essais de performance des milieux de culture
 - Journal officiel de la république algérienne n° 38 de 22 juin 2014.
- ISO/TS 11133-1: Microbiologie des aliments-Guide pour la préparation et la production des milieux de culture Partie 1: Guide général pour l'assurance de la qualité pour la préparation des milieux de culture en laboratoire
- ISO 6887-1: Microbiologie des aliments Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique Partie 1: Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales.
- ISO 7218 Amd 1 (2013): Microbiologie des aliments-Exigences générales recommandations NA 1199 (2008): Microbiologie des aliments- Exigences générales et recommandations
- Norme NF ISO 7218 règles générales pour les examens microbiologiques
- Journal officiel de la république algérienne n° 38 de 22 juin 2014: arrêté du 28 rajab 1435 correspondant au 28 mai 2013 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.
- Journal officiel de la république algérienne n° 63 de 30 octobre 2016: arrêté du 22 dhou el kalda 1437 correspondant au 25 août 2016 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des produits autres que les produits laitiers, les produits carnés et les produits de la pêche.

IV. Définitions et abréviations:

TSE: tryptone sel eau.

PCA: plate conte agar.

VRBI: Gélose Lactose Biliée Au Cristal Violet Et Au Rouge Neutre.

VRBG: Gélose Glucose Biliée Au Cristal Violet Et Au Rouge Neutre.

OGA: Gélose oxéthetracycline agar.

VF: Gélose viande-foie

VI. Diluants :

Pour améliorer la reproductibilité des résultats, il est recommandé d'utiliser, pour la préparation du diluant, des composants de base déshydratés ou une préparation complète déshydratée en suivant les instructions du fabricant.

Les produits chimiques doivent être de qualité analytique reconnue et appropriée pour l'analyse microbiologique.

L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de qualité équivalente.

VII Appareillage et verrerie:

-Autoclave allant jusqu'à 140°C, pression maximum 2,7 bars.

-Bain-marie réglable 45+2°C.

- Loupe électrique.

-Balance analytique de portée suffisante.

-Becs bunsen.

-Etuve réglable

- Flacons en verre stériles Tubes à essais stériles.

- Micropipette embouts

-Pipette pasteur.

-Portoir métallique.

-Spatule métallique stérile.

- Boites de pétri
- Pipette (10 ml: 25 ml).
- Eau Distillée Stérile
- Papier aluminium/ bol stérile sac en plastique stérile.
- Agitateur mécanique + barres magnétique d'agitation.
- pH-mètre

VIII. Mode opératoire:

a. Préparations des géloses:

- 1) Stériliser le matériel à utiliser dans l'autoclave qu'on règle à 121°C pendant 20 min.
- 2) Allumer les becs bunsen.
- 3) Peser dans un bol ou dans un c les milieux déshydratés en suivant les instructions du fabricant puis les dissoudre dans l'eau distillée stérile pour faire les géloses.
- 4) Homogénéiser et chauffer si nécessaire sur l'agitateur réglé jusqu'à l'ébullition.
- 5) Verser le milieu liquide dans des flacons stériles ou des tubes stériles selon le germe à recherché.
- 6) Dans l'autoclave, faire stériliser à une température et une durée appropriée, si nécessaire, ajuster le pH.
- 7) Stockage/conservation:
 - Le stockage du milieu déshydraté est à température de 2 à 30°C, à l'abri de la lumière et de la dessiccation.
 - La date de préparation et de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

- Régénérer à 100°C pendant 20 minutes avant d'ensemencer. Ne pas renouveler cette opération plus d'une fois. Utiliser les milieux en surfusion le plus vite et de ne pas les conserver plus de 4 h.

-En cas de réfrigération, il est en général recommandé de ne pas dépasser une durée de conservation comprise entre deux et quatre semaines, pour les boîtes, et entre trois et six mois, pour les flacons et les tubes scellés, sauf indication contraire.

b. Préparation de diluant des suspensions mères et des dilutions décimales:

- 1) Stériliser le matériel à utiliser dans l'autoclave qu'on règle à 121°C pendant 21 min.
- 2) Allumer les becs bunsen.
- 3) Peser dans un bol ou dans un sac en plastique stériles le NaCl en poudre en suivant les instructions du fabricant puis le dissoudre dans l'eau distillée stérile.
- 4) Homogénéiser sur l'agitateur réglé,
- 5) Verser 225ml de ce dernier dans des flacons stériles pour les suspensions mères et 9ml dans des tubes stériles pour les dilutions décimales.
- 6) Après avoir stériliser dans l'autoclave réglé à 121°C pendant 20min, ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation il soit de 7,0 ± 0,2 à 25 °C.

c. Prise d'essai et suspension mère (première dilution) et dilutions décimales:

- La prise d'essai:

Cas de produit solide: Exemple: biscuits, les gaufrettes, chocolat, poudre de lait, poudre de cacao, beurre de cacao, farine, amidon, sucre, graisse,.....

1) Peser dans un flacon stérile ou un sachet stérile 3 x 25 gr du produit à analyser aseptiquement

-La première pesée servira au contrôle bactériologique

-La seconde servira à la recherche des Salmonella

-La troisième servira à la recherche de *Listeria*

• Préparation de la suspension mère:

- 1) Verser le flacon de 225 ml de TSE (NaCl) dans le sachet stérile contenant 25 gr de produit à analyser
- 2) Broyer l'aliment 6 à 8 minutes.
- 3) Verser le contenu dans le même flacon pour obtenir une suspension mère au 1/10.
- 4) Chauffer la solution dans le Bain-marie réglé à $45 \pm 2^\circ\text{C}$.
- 5) Retirer les solutions, si nécessaire, laisser les grosses particules durant 15 min au maximum avant de commencer l'analyse

Dans le cas du dénombrement des spores, un chauffage de la suspension mère (par exemple 10min à 80°C) doit être pratiqué immédiatement après sa préparation, suivi d'un refroidissement rapide.

• Préparation de dilutions successives:

- 1) Transverser, à l'aide d'une Micropipette et un embout stérile, 1 ml de la suspension mère dans un tube contenant 9 ml de diluant stérile à la température appropriée. Pour une précision optimale, ne pas introduire l'embout dans la suspension mère de plus de 1 cm.
- 2) Eviter tout contact entre l'embout contenant la solution précédente et le diluant stérile.

Mélanger soigneusement la prise d'essai et le diluant, en utilisant de préférence un agitateur mécanique pendant 5s à 10 s, pour obtenir la dilution 10^{-2} .

Si nécessaire, répéter ces opérations sur la dilution 10^{-2} et les dilutions décimales suivantes en utilisant à chaque dilution un nouvel embout stérile afin d'obtenir les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} , etc., jusqu'à obtention du nombre approprié de micro-organismes.

d. Durée des opérations :

Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la suspension mère et le moment où l'inoculum entre en contact avec le milieu de culture ne doit pas dépasser 45 min, en limitant à 30 min le temps séparant la préparation de la suspension mère du début de la préparation des dilutions décimales suivantes.

Si la température ambiante du laboratoire est trop élevée, il convient de réduire ces deux durées

2-Recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophiles Totaux à 30°C :

I. Objet du mode opératoire:

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la méthode à suivre pour effectuer la recherche et le dénombrement des Germes Aérobie Mésophiles Totaux à 30° C dans tous les échantillons des processus production du groupe Bimo..

II. Domaine d'application:

Le présent mode opératoire s'applique à tous les échantillons du processus production du groupe Bimo.

III. Documentation et référentiels :

- Norme Algérienne 15530
- Norme ISO 9001
- Norme ISO 9000

IV. Définitions et abréviations:

GAMT: Germes Aérobie Mésophiles Totaux.

UFC : unité formant colonies

PCA.: plate count agar

TSE: Tryptone Sel Eau

VI. Appareillage, verrerie, diluants, milieux de culture et réactifs :

- Autoclave allant jusqu'à 140°C, pression maximum 2,7 bars,
- Bain-marie réglable 45+ 2°C.
- Loupe électrique.
- Balance analytique de portée suffisante.
- Becs bunsen
- Etuve réglable à 30°C±1°C.
- Flacons en verre stériles et tubes à essais stériles
- Micropipette +embouts
- Pipette pasteur
- Portoir métallique
- Spatule métallique stérile.
- Pipette (10 ml: 25 ml).
- Agitateur mécanique + barreau magnétique d'agitation
- pH-mètre
- Eau physiologique/ TSE
- Gélose PCA

VII .Mode opératoire :

- 1) Stériliser le matériel à utiliser dans l'autoclave qu'on règle à 121°C pendant 20 min.
- 2) Allumer les becs bunsen
- 3) Préparer le lieu de PCA juste avant l'emploi. Utiliser le milieu fondu dans les 4 h suivant sa préparation ou faire fondre le milieu dans l'autoclave réglé à 100°C pendant 15min.

4) Gander les milieux en surfusion entre 47 °C et 50 °C dans le bain-marie réglé à 45±2°C.

5) Préparation de la suspension mère: Produit solide: Peser aseptiquement 25 gr de l'échantillon rajouter 225 ml de TSE. On obtient une suspension mère au 1/10

6) Préparation de dilutions successives:

En milieu aseptique 1ml de la suspension mère est prélevé avec une micropipette, et transversé dans un tube contenant 9 ml de diluant TSE afin de réaliser une dilution as 1/100.

Si nécessaire, répéter ces opérations sur la dilution 10⁻² et les dilution décimales suivantes en utilisant à chaque dilution un nouvel embout stérile afin d'obtenir les dilution 10⁻³, 10⁻⁴, etc.., jusqu'à obtention du nombre approprié de micro-organismes. Les tubes sont homogénéisés, entre chaque dilution.

7) Mise en gélose:

Les boîtes de pétri sont annotées et doivent contenir sur les tranches:

- la date ;
- la dilution utilisée ;
- la température d'incubation ;
- la durée d'incubation

Ajouter dans chaque boîte de Pétri environ 15 ml de la gélose PCA et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface fraîche horizontale. La durée entre la fin de la préparation de la suspension mère (ou de la dilution à 10 dans le cas d'un produit liquide) et le moment où le milieu est versé dans les boîtes ne doit pas dépasser 45 min. Après solidification du mélange, ajouter une seconde couche d'environ environ 4 ml de PCA.

Laisser se solidifier.

8) Incuber en aérobiose les boîtes préparées, couvercles en haut à 30 °C± 1°C pendant 72h

9) Comptage et sélection des colonies pour confirmation:

Après la période d'incubation, sélectionner les boîtes contenant moins de 300 colonies. Examiner les boîtes sous une lumière diffuse. Il est important d'inclure dans le comptage les colonies de la taille d'une tête d'épingle; toutefois il est indispensable que l'opérateur évite de

confondre les particules non dissoutes ou les matières présentes sous forme de précipité avec ces colonies en tête d'épingle.

Les colonies envahissantes doivent être considérées comme une seule colonie. Si moins d'un quart de la boîte est envahi par de telles colonies, compter les colonies de la partie non envahie de la boîte et calculer le nombre de colonies correspondant à la boîte entière. Si plus d'un quart de la boîte est recouvert de colonies envahissantes, ne pas tenir compte de cette boîte pour le comptage.

10) Expression des résultats:

On utilise la formule mathématique suivante :

$$N = \frac{\sum c}{V \text{ ml} \times (n_1 + 0,1n_2) \times d_1}$$

Retenir 2 dilutions successives (plus fortes dilutions) où le nombre de colonies dénombrées soit compris: $15 \leq c \leq 150$.

N: nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial;

\sum : somme des colonies des boîtes interprétables ;

V ml: volume de solution déposé (1 ml);

n1 : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue

n2: nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue:

d1: facteur de la première dilution retenue,

NB : s'il n'y a aucune colonie sur les boîtes

$$N = < \frac{1}{D}$$

D= Taux de dilution de la suspension mère (produits solides) =10⁻¹ et échantillon pour essai = +1 (produit liquide).

11) Interpréter les résultats et diffuser les bulletins.

3-Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

Partie 2:Technique par comptage des colonies dans les produits à activité d'eau inférieure ou égale à 0,95

I. Objet du mode opératoire:

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la méthode à suivre pour effectuer la recherche et le dénombrement des levures et des moisissures dans tous les échantillons des processus production du groupe Bimo,

II. Domaine d'application:

Le présent mode opératoire spécifie une technique horizontale de dénombrement des levures et des moisissures xérophiles dans les produits destinés à la consommation humaine ou animale, dont l'activité d'eau est inférieure ou égale à 0,95 au moyen de la technique par comptage des colonies à 25 °C ± 1°C [fruits secs, gâteaux, confitures, viande séchée, poisson salé, grains, céréales et produits à base de céréales, farines, noix, épices et condiments, etc.].

Le présent mode opératoire ne s'applique pas aux produits déshydratés dont l'activité d'eau est inférieure ou égale à 0,60 (céréales déshydratées, produits oléagineux, épices, légumineuses, graines, poudres pour boissons instantanées, produits anhydres pour animaux domestiques, etc.) et ne permet pas le dénombrement des spores de moisissures. Cette méthode ne s'applique pas également, à l'identification de la flore fongique ou à l'examen des aliments pour la recherche de mycotoxines; et elle n'est pas appropriée au dénombrement des

moisissures halophiles xérophiles (*Polypaecilum pisce* et *Basipetospora halophila*), qui peuvent notamment se trouver dans le poisson séché

III. Documentation et référentiels :

- Norme ISO 9001
- Norme ISO 9000
- Journal officiel de la république algérienne n° 52 de 30 septembre 2015 IV.

IV.. Définitions et abréviations :

Levure : Micro-organisme aérobic, mésophile qui, à 25°C et en utilisant un milieu gélosé, qui se développe à la surface du milieu en formant des colonies présentant le plus souvent un contour régulier et une surface plus au moins convexe.

Moisissure : Micro-organisme aérobie, mésophile filamenteux qui, à la surface d'un milieu gélosé, se développe habituellement des propagules ou des germes plats ou duveteux ou des colonies présentant souvent des fructifications colorées et des formes de sporulation.

UGA: Oxéthétracycline Glucose A

TSE: Tryptone Sel Eau

VI. Appareillage, verrerie, diluants, milieux de culture et réactif :

-Autoclave allant jusqu'à 140°C, pression maximum 2,7 bars

-Bain-marie réglable 45±2°C.

-Loupe électrique

-Balance analytique de portée suffisante.

-Becs bunsen

-Etuve réglable à 25 °C ±1°C.

-Flacons en verre stériles et tubes à essais stériles.

- Micropipette embouts,
- Pipette pasteur
- Portoir métallique
- Spatule métallique stérile
- Boîtes de pétri
- Pipette (10 ml: 25 ml)
- Agitateur mécanique bureau magnétique d'agitation
- pH-mètre
- Eau physiologique/TSE

SABOURAUD CHLORAMPHENICOL DEXTROSE AGA

VII. Mode opératoire :

- 1) Si le matériel à utiliser dans l'autoclave qu'on règle à 121°C pendant 20 min
- 2)allumer les becs bunsen
- 3) parer le milieu de culture **SABOURAUD CHLORAMPHENICOL DEXTROSE AGAR** juste avant l'emploi. Utiliser le milieu fonda dans les 4 suivant sa préparation ou faire fondre le milieu dans l'autoclave réglé à 100°C pendant 15min.
- 4) Carder les milieux en surfion entre 47 °C et 50 °C dans le bain-marie réglé à 45 24, activité d'eau inférieure ou égale à 0,95.

5) Préparation de la suspension mère :

Produit solide : Peser aseptiquement 25 gr de l'échantillon : rajouter 225 ml de TSE. On obtient une suspension mère au 1/10.

6) Préparation de dilutions successives :

En milieu aseptique, 1ml de la suspension mère est prélevé avec une micropipette, et transversé dans un tube contenant 9 ml de diluant TSE afin de réaliser une dilution au 1/100,

Si nécessaire, répéter ces opérations sur la dilution 10 et les dilutions décimales suivantes en utilisant à chaque dilution un nouvel embout stérile afin d'obtenir les dilutions 10. 10, etc. jusqu'à obtention du nombre approprié de micro-organismes, Les tubes sont homogénéisés entre chaque dilution.

7) Mise en gélose :

Les boîtes de pétri sont annotées et doivent contenir sur les tranches :

- La date.
- La dilution utilisée.
- La température d'incubation.
- La durée d'incubation.

Ajouter dans chaque boîte de Pétri environ 15 ml de la gélose **SABOURAUD CHLORAMPHENICOL DEXTROSE AGAR** et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface fraîche horizontale. Le temps qui s'écoule entre l'ensemencement des boîtes de Pétri et le moment où le milieu est versé dans les boîtes ne doit pas excéder 15 min.

Après solidification du mélange, ajouter une seconde couche d'environ 5 ml à 10 ml de **SABOURAUD CHLORAMPHENICOL DEXTROSE AGAR**. Laisser se solidifier.

Incuber en aérobiose les boîtes préparées, couvercles en haut à 25 °C pendant 5 à 7 jours.

9) Comptage et sélection des colonies pour confirmation :

Après la période d'incubation, sélectionner les boîtes contenant moins de 150 colonies ou propagules ou germes et compter ces colonies ou propagules ou germes Si on observe un envahissement rapide des boîtes, compter les colonies ou propagules ou germes après deux jours, puis de nouveau après 5 à 7 jours.

Aspect macroscopique des colonies :

- Colonies de levures : cellules ovoïdes ou rondes.
- Moisissures : cellules présentent des filaments mycéliens. Les colonies de levures et les colonies/propagules de moisissures sont comptées séparément, si nécessaire.

Afin de différencier les cellules de levures ou de moisissures des colonies de bactéries, effectuer un examen à l'aide de la loupe binoculaire ou du microscope.

10) Expression des résultats :

On utilise la formule mathématique suivante :

$$N = \frac{\Sigma C}{V_{ml} \times (n1 \cdot 0,1n2) \times d1}$$

Retenir 2 dilutions successives (plus fortes dilutions) où le nombre de colonies dénombrées soit compris : $15 \leq n \leq 150$.

- N : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial.
- ΣC : somme des colonies des boîtes interprétables.
- V_{ml} : volume de solution déposé (1 ml).
- n1: nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue.
- n2: nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue.
- d1: facteur de la première dilution retenue.

NB : s'il n'y a aucune colonie sur les boîtes

$$N \leq \frac{1}{D}$$

D = taux de dilution de la suspension mère (produits solides) = 10^{-2} et échantillon pour essai = +1 (produit liquide).

11) Interpréter les résultats et diffuser les bulletins.

4- Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus* :

I. Objet du mode opératoire :

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la méthode à suivre pour effectuer la recherche et le dénombrement des *Staphylococcus aureus* dans tous les échantillons des processus production du groupe Bimo.

II. Domaine d'application :

Le présent mode opératoire spécifie une technique horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase positive dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale.

III. Documentation et référentiels :

- Norme ISO 9001
- Norme ISO 9000
- Journal officiel de la république algérienne n° 68 de 23 novembre 2014

IV. Définitions et abréviations :

- **UFC** : unité formant colonies
- **TSE** : Tryptone Sel Eau

VI. Appareillage, verrerie, diluants, milieux de culture et réactifs :

- Autoclave allant jusqu'à 140°C, pression maximum 2,7 bars.
- Bain-marie réglable 45+2°C.
- Loupe électrique.
- Balance analytique de portée suffisante.
- Becs bunsen.
- Etuve réglable à 35 °C 1 °C ou 37°C 1 °C.
- Flacons en verre stériles et tubes à essais stériles.
- Micropipette + embouts.
- Pipette pasteur.
- Portoir métallique,
- Spatule métallique stérile.
- Boîtes de pétri.
- Pipette (10 ml ; 25 ml).
- Agitateur mécanique + barreau magnétique d'agitation.

- pH-mètre

- Étaleur stérile en verre ou en plastique.

-Eau physiologique/TSE

-Gélose Baird-Parker.

-**Solutions** : Tellurite de potassium, Emulsion de jaune d'œuf, solution de sulfamérathine

-Bouillon cuer-cervelle.

-Plasma de lapin.

VII. Mode opératoire :

1) Stériliser le matériel à utiliser dans l'autoclave qu'on règle à 121°C pendant 20 min.

2) Allumer les becs bunsen.

3) Préparer le milieu complet juste avant l'emploi.

Composition :

- Milieu de base (gélose Baird Parker)100ml
- Emulsion de jaune d'œuf.....5ml
- Solution de Tellurite de potassium.....1ml

- **Milieu de base (gélose Baird Parker) :**

Dissoudre le milieu complet déshydraté dans l'eau, pour obtenir un volume final de 1l.

Répartir le milieu, par quantités de 100 ml, dans des flacons puis stériliser le milieu à 121 °C pendant 15min. pH du milieu prêt-à l'emploi à 25°C après la stérilisation est de 7,2±0,2.

- **Emulsion de jaune d'œuf :**

A défaut de préparation commerciale, utiliser des œufs frais de poule, à coquille intacte.

Nettoyer les œufs avec une brosse à l'aide d'un détergent liquide. Les rincer à l'eau courante puis désinfecter la coquille à l'éthanol à 70° (V/V) pendant 30 s et laisser sécher à l'air, soit en les pulvérisant d'alcool suivi de flambage.

4) Transférer, à l'aide d'une pipette stérile 0,1ml de suspension mère (solution 10) à la surface de chacune des deux boîtes de milieu gélosé.

5) Répéter l'opération avec la dilution 10° et les dilutions suivantes si nécessaire.

6) Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé en évitant de toucher les bords de la boîte avec l'épandeur, Laisser sécher les boîtes avec leur couvercle en place pendant environ 15 min à la température ambiante.

7) Incubation :

Retourner les boîtes préparées, les incuber pendant 24h 2h supplémentaires dans l'étuve à 35°C ou à 37°C.

8) Sélection des boîtes et interprétation :

Après 24 h+2 h d'incubation, marquer sur le fond des boîtes les positions des colonies caractéristiques éventuellement présentes.

Incuber à nouveau toutes les boîtes à 35° C ou à 37° C (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse) durant 24 h 2 h supplémentaires, et marquer les nouvelles colonies caractéristiques. Marquer également les colonies non caractéristiques éventuellement présentes.

Ne retenir pour le dénombrement que les boîtes renfermant au maximum 300 colonies dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques au niveau de deux dilutions successives. Il faut qu'une des boîtes renferme au moins 15 colonies.

Choisir, en vue de la confirmation, un nombre déterminé A (en général 5 colonies caractéristiques s'il n'y a que des colonies caractéristiques, ou 5 colonies non caractéristiques s'il n'y a que des colonies non caractéristiques, ou 5 colonies caractéristiques et 5 colonies non caractéristiques si les deux types sont présents, à partir de chaque boîte).

S'il y a moins de 15 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques sur les boîtesensemencées avec un produit liquide non dilué ou avec la dilution la plus faible pour les autres produits, il est possible de faire une estimation.

Les colonies caractéristiques sont noires ou grises, brillantes et convexes (1 mm à 1,5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1,5 mm à 2.5 mm de diamètre après 48 h d'incubation) et

sont entourées d'une auréole claire qui peut être partiellement opaque : Après, au moins, 24 h d'incubation, un anneau opalescent peut apparaître dans cette zone claire immédiatement au contact des colonies.

Les colonies non caractéristiques ont la même taille que les colonies caractéristiques et peuvent présenter l'une des morphologies suivantes :

- Colonies noires et brillantes avec ou sans bord blanc étroit ; la zone claire et l'anneau opalescent sont absents ou à peine visibles.
- Colonies grises dépourvues de zone claire.

Les colonies non caractéristiques sont surtout formées de souches de staphylocoques à coagulase positive contaminant, par exemple, les produits laitiers, les crevettes et les abats. Ce sont moins souvent des souches de staphylocoques à coagulase positive qui contaminent les autres produits.

Les autres colonies sont celles éventuellement présentes sur les boîtes et qui n'ont pas l'apparence décrite dans les notes 1 et 2 pour les colonies caractéristiques et non caractéristiques.

9) Confirmation (recherche de la coagulase) :

À l'aide d'un fil stérile (4.7), prélever une partie de chaque colonie sélectionnée (6.4) et l'ensemencer dans un tube ou dans un flacon de bouillon cur-cervelle (3.3).

Incuber à 35° C ou 37° C (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse) pendant 24 h à 2h.

Ajouter aseptiquement 0,1 ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin (3.4) (à moins que d'autres quantités soient spécifiées par le fabricant) dans des tubes stériles à hémolyse ou flacons (spécifiés en 4.5) et incubera 35° C ou à 37° C (la température est indiquée dans le bulletin d'analyse).

En inclinant le tube, examiner la coagulation du plasma après 4 h à 6 h d'incubation et, si le test est négatif, réexaminer après 24 h d'incubation, ou examiner après les temps d'incubation préconisés par le fabricant.

Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus de la moitié du volume initialement occupé par le liquide.

A titre de contrôle négatif, ajouter, pour chaque lot de plasma, 0,1 ml de bouillon cur cervelle stérile (3.3) à la quantité recommandée de plasma de lapin (3.4) et faire incuber sans ensemencement. Pour que la réaction soit valable, le plasma du tube témoin ne devra pas montrer de signes de coagulation.

10) Expression des résultats :

On utilise la formule mathématique suivante :

$$N = \frac{\Sigma c}{V_{ml} * (n1 * 0.1n2) * d1}$$

Retenir 2 dilutions successives (plus fortes dilutions) où le nombre de colonies dénombrées soit compris : $15 \leq c \leq 150$.

N : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial.

Σc : somme des colonies des boîtes interprétables.

V : volume de solution déposé (1 ml).

n1 : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue.

n2 : nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue

d1 : facteur de la première dilution retenue.

NB : s'il n'y a aucune colonie sur les boîtes

$$N = < \frac{1}{D}$$

D = taux de dilution de la suspension mère (produits solides) 10^{-1} et échantillon pour essai = +1 (produit liquide).

11) Interpréter les résultats et diffuser les bulletins.

5- Recherche et dénombrement des SALMONELLA SPP :

I. Objet du mode opératoire :

Le présent mode opératoire a pour objet de définir la méthode à suivre pour effectuer la recherche des SALMONELLA SPP dans tous les échantillons des processus production du groupe Bimo.

III. Documentation et référentiels :

- Norme ISO 9001
- Norme ISO 9000
- Journal officiel de la république algérienne n°44 de 23 juillet 2017.

IV. Définitions et abréviations :

UFC : unité formant colonies.

TSE : Tryptone Sel Eau.

RVS : Rappaport-Vassiliadis avec soja.

MKTTA : Muller-Kaufmann au tétrathionate-novobiocine.

XLD : xylose lysine désoxycholate.

Gélose TSI : Gélose au citrate de fer et aux trois sucres

VI. Appareillage, verrerie, diluants, milieux de culture et réactifs :

- Autoclave allant jusqu'à 140°C, pression maximum 2,7 bars.
- Bain-marie réglable 45+2°C.
- Loupe électrique.
- Balance analytique de portée suffisante.
- Becs bunsen.
- Etuve réglable à 37 °C ±1 °C.
- Flacons en verre stériles et tubes à essais stériles

Micropipette + embouts.

- Pipette pasteur.

- Portoir métallique.
- Spatule métallique stérile, Boites de pétri.
- Pipette (10 ml; 25 ml).
- Agitateur mécanique + barreau magnétique d'agitation.
- pH-mètre
- Eau physiologique/ TSE.

-Milieux d'enrichissement sélectifs :

Bouillon Rappaport-Vassiliadis avec soja (bouillon RVS) (B-point B.2) et bouillon Muller-Kauffmann an tetrathionate-novobiocine (bouillon MKTTn) (B-point B.3).

-Milieux d'isolement sélectifs solides :

Le premier est la gélose au xylose lysine désoxycholate (gélose XLD) (B-point B.4) et le choix du deuxième milieu est laissé à l'initiative du laboratoire d'essais.

- Gélose nutritive (B-point B.5).
- Gélose au citrate de fer et aux trois sucres (gélose TSI) (B-point B.6).
- Gélose à l'urée (Christensen) (B-point B.7).
- Milieu pour décarboxylation de la L-lysine (B-point B.8).
- Réactif pour la recherche de la galactosidase (ou disques de papier préparés et utilisés selon les instructions du fabricant) (B-point B.9).
- Réactifs pour la réaction de Voges-Proskauer (réaction VP) (B-point B.10).
- Réactifs pour la recherche de l'indole (B-point B.11).
- Gélose nutritive semi-solide (B-point B.12).
- Solution saline physiologique (B-point B.13).
- Sérums

VII. MODE OPERATOIRE (schéma du mode opératoire) :

1) Stériliser le matériel à utiliser dans l'autoclave qu'on règle à 121°C pendant 20 min

2) Allumer les becs bunsen.

3) Préparation des milieux de culture et des rens se fait juste avant l'emploi.

4) Préparation de la suspension mère : prend aseptiquement 25 gr de l'échantillon ; rajouter 225 ml de TSE. On obtient une suspension mère au 1/10.

5) Pré enrichissement non sélectif : Incuber la suspension mère à 37 °C 1 °C pendant 18 h à 42h.

6) Enrichissement sélectif :

Transférer 0,1 ml de la culture obtenue précédemment dans un tube contenant 10 ml de bouillon RVS et également, transférer 1 ml de la culture obtenue précédemment dans un tube contenant 10 ml de bouillon MKTTn. Incuber le bouillon RVS ensemencé à 41,5 °C 1 °C pendant 24 h 3 h et le bouillon MKTTn à 37 °C 1 °C pendant 24 h +3 h.

Il convient de s'assurer que la température maximale d'incubation ne dépasse, à aucun moment, 42.5 °C pour le bouillon RVS.

7) Isolement et identification :

-A partir de la culture obtenue dans le bouillon RVS après 24 h3h d'incubation, ensemencer avec une anse la surface d'une grande boîte de Pétri contenant le milieu d'isolement sélectif (gélose XLD), de façon il permette le développement de isolées.

A défaut de grandes boîtes, utiliser deux petites boîtes, l'une après l'autre, en se serait de la même anse.

Procéder de la même manière avec le deuxième milieu d'isolement sélectif en se servant des nouvelles anses et des boites de Pétri de dimensions appropriées.

- A partir de la culture obtenue dans le bouillon MKTTn après 24 h+3 h d'incubation, répéter les opérations décrites précédemment avec les deux milieux d'isolement sélectifs

- Dans le cas du premier milieu d'isolement (gélose XLD), retourner les boîtes, les placer dans une étuve réglée à 37 °C. Pour le second milieu d'isolement, suivre les recommandations du fabricant.
- Après 24h+3 h d'incubation, examiner les boîtes obtenues afin de rechercher la présence de colonies typiques de Salmonella, ainsi que les colonies atypiques acceptables d'être des Salmonella.
- Les Colonies typiques de Salmonella cultivées sur la gélose XLD ont un centre noir et sont entourées d'un halo clair transparent rouge dû à un changement de l'indicateur du milieu.

Les Salmonella H₂S négatif (par exemple Salmonella Paratyphi A) cultivées sur la gélose XLD sont roses avec un centre rose foncé et les Salmonella lactose positif cultivées sur la gélose XLD sont jaunes sans noircissement.

- Incuber le second milieu sélectif à la température et au temps appropriés puis examiner la présence de colonies qui, d'après leurs caractéristiques, peuvent être considérées comme des Salmonella présumées.

Marquer leur position sur le dessous de la boîte.

Les colonies typiques de Salmonella cultivées sur la gélose XLD ont un centre noir et sont entourées d'un halo clair transparent rouge dû à un changement de l'indicateur du milieu.

8) Confirmation :

Des kits d'identification biochimique des colonies peuvent être utilisés pour identifier les salmonella. Il convient d'utiliser ces kits conformément aux instructions du fabricant L'aspect des colonies de Salmonella peut, quelquefois, varier non seulement d'une espèce à une autre, mais également d'un lot de milieu de culture à un autre.

1. Choix des colonies pour la confirmation :

Pour la confirmation, prélever à partir de chaque boîte (deux boîtes de petites dimensions ou une boîte de grandes dimensions) de chacun des milieux sélectifs, au moins, une colonie considérée comme caractéristique ou suspecte, puis quatre autres colonies si la première s'est révélée négative.

Dans le cas d'études épidémiologiques, il est recommandé que cinq (5) colonies, au moins, soient identifiées. S'il se trouve qu'une boîte contient moins de cinq (5) colonies

caractéristiques ou suspectes, retenir toutes les colonies caractéristiques ou suspectes.
Ensemencer les colonies sélectionnées sur la surface des boîtes de gélose nutritive préalablement séchées, de façon à permettre le développement de colonies bien isolées
Incuber les boîtes ainsiensemencées à $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durant $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$.

Utiliser des cultures pures pour les confirmations biochimiques et sérologiques.

2. Confirmation biochimique :

A l'aide d'un fil à ensemencer, ensemencer les milieux indiqués ci-dessous avec chacune des cultures obtenues à partir des colonies retenues précédemment.

Gélose TSI : Ensemencer la pente du milieu en stries et le culot par piqûre. Incuber à $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durant $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$. Interpréter les phénomènes qui se produisent.

Les cultures caractéristiques de *Salmonella* correspondent à une pente alcaline (rouge) et imculot acide (jaune) avec formation de gaz (bulles) et (dans environ 90 % des cas) formation de sulfure d'hydrogène (noircissement de la gélose) (tableau 1). Lorsqu'on isole une *Salmonella* lactose positif, la pente de la gélose TSI est jaune. En conséquence, une confirmation préliminaire de cultures de *Salmonella*, ne doit pas être fondée sur les résultats obtenus à partir de la gélose TSL uniquement.

Gélose à l'urée : Ensemencer en stries la pente de la gélose. Incuber à $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durant $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$ et examiner de temps en temps. En cas de réaction positive, la décomposition de l'urée produit un dégagement d'ammoniac, faisant virer le rouge de phénol au rose puis au rouge foncé. La réaction est souvent visible au bout de 2 h à 4h

Milieu de décarboxylation de la L-lysine :

Ensemencer le milieu liquide juste au-dessous de la surface, Incuber à $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ durant $24 \text{ h} \pm 3 \text{ h}$.

L'apparition d'une turbidité et d'une couleur violette après incubation indique une réaction positive et l'apparition d'une couleur jaune indique une réaction négative.

Recherche de la galactosidase : Mettre en suspension une anse de la colonie suspecte dans un tube contenant 0.25 ml de la solution saline.

Ajouter une goutte de toluène et agiter le tube. Placer ce dernier dans le bain de réglé à 37 °C et l'y laisser séjourner quelques minutes (environ 5 min). Ajouter 0,25 ml du réactif pour la recherche de la galactosidase et mélanger.

Replacer le tube dans le bain d'eau réglé à 37 °C, l'y laisser séjourner 24 h ±3h en l'examinant de temps à autre.

Une couleur jaune indique une réaction positive. La réaction est souvent visible au bout de 20 min.

Dans le cas d'utilisation de disques en papier tout préparés, suivre les instructions du fabricant.

Milieu pour la réaction de Voges-Proskauer (VP) : Mettre en suspension une anse de la colonie suspecte dans un tube stérile contenant 3 ml milieu VP.

Incuber à 37 °C ± 1 °C durant 24 h ± 3 h.

Après incubation, ajouter deux (2) gouttes de la solution de créatine, trois (3) gouttes de la solution éthanoïque de naphthol-1 et ensuite deux (2) gouttes de la solution d'hydroxyde de potassium en agitant après avoir ajouté chaque réactif.

La formation d'une coloration rose à rouge brillant dans un délai de 15 min indique une réaction positive.

Milieu pour la recherche de l'indole :

Ensemencer un tube contenant 5 ml du milieu tryptone/tryptophane avec la colonie suspecte et incuber à 37 °C ± 1 °C durant 24 h ± 3 h. Après incubation, ajouter 1 ml du réactif de Kovacs.

La formation d'un anneau rouge indique une réaction positive. Un anneau jaune-brun indique une réaction négative.

3. Confirmation sérologique et sérotypage :

La recherche de la présence des antigènes Os, Vis, ou «H» des Salmonella est effectuée par une agglutination sur lame avec les sérums appropriés à partir de colonies pures et après élimination des souches auto agglutinables.

Élimination des souches auto agglutinables (A):

Déposer une goutte de la solution saline sur une lame de verre parfaitement propre. A l'aide d'une anse bouclée, disperser dans cette goutte une fraction de la colonie à tester de manière à obtenir une suspension homogène et trouble. Il est aussi possible de disperser une fraction de la colonie à tester dans une goutte d'eau, puis de mélanger cette solution à une goutte de solution saline.

Faire osciller la lame durant 30s à 60s. Observer le résultat sur un fond noir de préférence à l'aide d'une loupe.

Si les bactéries se sont rassemblées en masses plus ou moins distinctes, la souche est considérée comme auto agglutinable et ne doit pas être soumise aux essais suivants et ainsi la mise en évidence des antigènes devient impossible.

Mise en évidence des antigènes « O » :

A partir d'une colonie pure reconnue non auto agglutinable, opérer comme l'étape précédente (A), mais en utilisant une goutte de l'antisérum O au lieu de la solution saline.

S'il y a agglutination, la réaction est considérée comme positive. Utiliser les sérums polyvalents et monovalents l'un après l'autre.

Mise en évidence des antigènes « Vb » :

Opérer comme en étape précédente (A), mais en utilisant une goutte de l'antisérum « Vi au lieu de la solution saline. S'il y a agglutination, la réaction est considérée comme positive.

Mise en évidence des antigènes « H » :

Ensemencer la gélose nutritive semi-solide avec une colonie pure non auto agglutinable.

Incuber à 37 °C 1 °C durant 24 h + 3 h.

Utiliser cette culture pour l'examen des antigènes «H en opérant comme en l'étape précédente (A), mais en utilisant une goutte de l'antisérum -H au lieu de la solution saline.

S'il y a agglutination, la réaction est considérée comme positive.

4. Confirmation définitive :

Les souches considérées comme étant des Salmonella ou comme pouvant être des Salmonella doivent être envoyées à un centre agréé pour l'identification des Salmonella en vue d'une

détermination définitive du sérotype, accompagnées de toutes les informations concernant ces souches.

VIII. EXPRESSION DES RESULTATS :

Selon les résultats de l'interprétation, indiquer la présence ou l'absence de Salmonella dans une prise d'essai de x g ou x ml de produit.

5. METHODE DE DENOMBREMENT DES COLIFORMES THERMOTOLERANTS PAR COMPTAGE DES COLONIES OBTENUES A 44 °C :

3. Principe :

3.1 Ensemencement en profondeur du milieu gélosé à la bile, au cristal violet, au rouge neutre et au lactose, coulé dans une boîte de Petri :

- Avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai si le produit à examiner est liquide ;
- Ou avec une quantité déterminée de la suspension mère dans le cas d'autres produits. Recouvrement avec une couche du même milieu.
- Dans les mêmes conditions, ensemencement d'autres boîtes de Petri avec les dilutions décimales obtenues à partir de l'échantillon pour essai ou de la suspension mère.

3.2 Incubation des boîtes de Pétri à 44 °C pendant 24 h.

3.3 Calcul du nombre de coliformes thermo tolérants par millilitre ou par gramme d'échantillon pour essai, à partir du nombre de colonies caractéristiques dénombrées par boîte de Pétri.

4. Diluants et milieu de culture :

Au cours de l'analyse, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déionisée stérilisée.

4.1 Diluants :

Il convient de préparer les diluants conformément aux exigences spécifiées dans les méthodes relatives à la préparation des échantillons pour essai, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, fixées par la réglementation en vigueur.

4.2 Milieu de culture, gélose au cristal violet, au rouge neutre, à la bile et au lactose (VRBL)

4.2.1 Composition :

Digestat enzymatique de tissus animaux.....	7 g
Extrait de levure.....	3 g
Sels biliaries.....	1,5 g
Lactose.....	10 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Rouge neutre.....	0,03 g
Cristal violet.....	0,002 g
Agar-agar bactériologique.....	12 g à 18 g
Eau.....	1000 ml

a) Selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar.

4.2.2 Préparation :

Dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant le tout à ébullition. Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après ébullition et refroidissement, il soit de $7,4 \pm 0,2$ à 25 °C.

Répartir le milieu de culture dans des tubes stériles ou dans des flacons stériles (5.4) de capacité appropriée.

Éviter un chauffage trop prolongé ou des chauffages répétés.

Ne pas stériliser à l'autoclave.

Utiliser ce milieu rapidement après sa préparation (ne pas dépasser 4 h).

Ne pas stériliser le milieu et le préparer extemporanément.

5. Appareillage et verrerie :

Matériel courant de laboratoire de microbiologie et notamment ce qui suit.

5.1 Etuve réglable à $44\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

5.2 Boîtes de Pétri stériles en verre ou en matière plastique, de diamètre 90 mm à 100 mm

5.3 Bain d'eau ou équipement similaire thermostaté entre 44 °C et 47 °C .

5.4 Tubes à essai et flacons de capacité appropriée.

5.5 Pipettes graduées à écoulement total de capacité nominale de 1 ml et 2 ml, graduées en 0,1 ml.

5.6 pH-mètre précis à 0,1 unité pH à 25 °C et de seuil minimal de mesure de 0,01 unité de pH.

6. Echantillonnage :

L'échantillon doit être réellement représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport et de l'entreposage.

L'échantillonnage doit être effectué conformément aux exigences fixées par la réglementation en vigueur, le cas échéant aux normes reconnues.

7. Préparation de l'échantillon pour essai :

La préparation de l'échantillon pour essai doit être faite conformément aux méthodes d'analyses relatives à la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, fixées par la réglementation en vigueur.

8. Mode opératoire :

8.1 Prise d'essai, suspension-mère et dilutions :

La suspension mère et les dilutions doivent être préparées conformément aux méthodes relatives à la préparation des échantillons pour essai de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, fixées par la réglementation en vigueur.

8.2 Ensemencement et incubation :

8.2.1 Prendre une boîte de Pétri stérile (5.2).

À l'aide d'une pipette stérile (5.5), transférer dans la boîte de Pétri 1 ml de l'échantillon pour essai si le produit est liquide ou 1 ml de la suspension mère dans le cas d'autres produits.

Prendre une autre boîte de Pétri stérile. Transférer dans la boîte, à l'aide, d'une nouvelle pipette stérile, 1 ml de la première dilution décimale de l'échantillon pour essai si le produit est liquide ou 1 ml de la première dilution décimale de la suspension mère dans le cas d'autres produits.

Recommencer ces opérations avec les dilutions qui suivent, à l'aide d'une nouvelle pipette stérile pour chaque dilution décimale.

8.2.2 Couler dans chaque boîte de Pétri environ 15 ml du milieu gélosé à la bile, au rouge neutre, au cristal violet et au lactose (4.2.1) refroidi au bain d'eau (5.3) à une température comprise entre 44 °C et 47 °C.

Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu de culture et laisser le mélange se solidifier en posant les boîtes de Pétri sur une surface froide et horizontale.

8.2.3 Après solidification du mélange, ajouter une couche d'environ 5 ml de milieu V.R.B.L. (4.2) refroidi comme décrit en (8.2.2), afin d'empêcher l'étalement des colonies.

8.2.4 Laisser la seconde couche se solidifier. Retourner les boîtes ainsi préparées (couvercle en dessous) et les incuber dans l'étuve réglée à 44 °C ± 1 °C (5.1) durant 24 h ± 2 h.

Note : Il est important de mettre rapidement les boîtes de Pétri en incubation après solidification.

8.3 Comptage des colonies :

Après la période d'incubation spécifiée en (8.2.4), procéder au comptage des colonies caractéristiques de coliformes thermo tolérants pour chaque boîte ne contenant pas plus de 150 colonies au total. Au-delà de ce chiffre, les colonies de coliformes thermo tolérants risquent de prendre des aspects non caractéristiques. Après 24 h d'incubation, les colonies

caractéristiques sont violacées, d'un diamètre supérieur ou égal à 0,5 mm et parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile.

9. Expression des résultats :

9.1 Cas général : Retenir les boîtes contenant moins de 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques au niveau des deux dilutions successives.

Il faut qu'une boîte de pétri renferme au moins 10 colonies caractéristiques.

Calculer le nombre N de coliformes thermo tolérants par millilitre ou par gramme de produit, en tant que moyenne pondérée, à l'aide de l'équation suivante :

$$\sum c N = v \times 1,1 \times d$$

Où :

$\sum c$: la somme des colonies caractéristiques comptées sur les deux boîtes retenues ;

v : le volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres ;

d : le taux de dilution correspondant à la première dilution comptée.

Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs.

Noter comme résultat, le nombre de coliformes thermo tolérants par millilitre ou par gramme de produit, exprimé par un nombre compris entre 1 et 9,9 multiplié par 10^x , où x est la puissance appropriée de 10.

Arrondir à deux chiffres significatifs, soit 8 700 ou $8,7 \times 10^3$ coliformes thermo tolérants par millilitre de produit.

9.2 Estimation des petits nombres :

9.2.1 Si la boîte de Pétri, au niveau de l'échantillon pour essai (produit liquide) ou de la suspension mère (autres produits) contient moins de 10 colonies caractéristiques, donner le résultat sous la forme ci-après :

- pour les produits liquides, nombre estimé N_e de coliformes thermo tolérants par

$$N_e = a$$

Où :

a : est le nombre de colonies caractéristiques comptées ;

- pour les autres produits, nombre estimé N_e de coliformes thermo tolérants par gramme

$$N_e = a / d$$

Où :

a : est le nombre de colonies caractéristiques comptées ;

d : est le taux de dilution de la suspension mère.

9.2.2 Si le total est compris entre 1 et 3, la fidélité des résultats est si faible que l'on doit exprimer le résultat comme suit :

Le coliforme thermo tolérant est présent, mais avec moins **de** ($4 \times 1 / d$) coliformes thermo tolérants par gramme ou par millilitre.

9.2.3 Si la boîte, au niveau de l'échantillon pour essai (produit liquide) ou de la suspension mère (autres produits) ne contient aucune colonie caractéristique, donner le résultat sous la forme :

- moins de 1 coliforme thermo tolérant par millilitre (produit liquide) ;
- moins de coliformes thermo tolérants par gramme (autres produits)

Où :

d : est le taux de dilution de la suspension mère.

ANNEXE.III.APPAREILLAGE UTILISEES



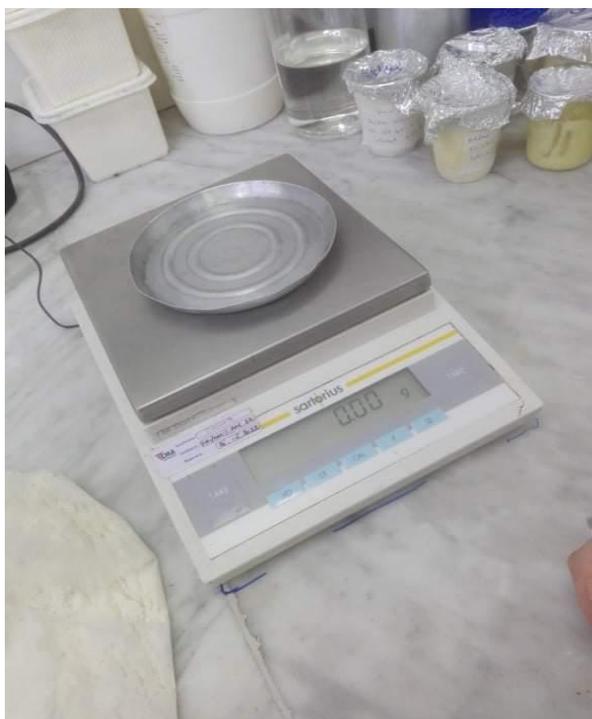
Etuve



Four a moufle



Méthode de kjeldahl



Balance



Humidimètre



Humidimètre



Ph mètre



Centrifugeuse



Extraction par soxhlet



Titrimétrie



Dessiccateur

ANNEXE.IV.PROTOCOLES DES ANALYSES BIOCHIMIQUES

1. La teneur en protéine totales (NA 652/1992) :

Matériels

- Un matras
- Un appareil distillateur
- Un appareil Minéralisateur
- Line Burette
- H₂SO₄ concentré (95%)
- NaOH à 40%
- HCl 0,1N
- Catalyseur (80g de sulfate de potassium +20g sulfate de cuivre + 2g de sélénium)
- Solution absorbant (vert de Bromocrésol 0.1% + rouge de méthyle0.2%)

Méthodes

A. Minéralisation

1. Peser 1g de l'échantillon
2. L'introduire dans un matras de 250 ml.
3. Ajouter 2 gouttes de catalyseur (capsule)
4. Ajouter 20 ml d'acide sulfurique pure (couleur marron)
5. Porter le matras sur le support dans l'appareil minéralisateur (changement de couleur vers la transparente).
6. Laisser refroidir.

B. Distillation

7. Ajouter 200 ml d'eau distillé en agitant.
8. Traverser 20 ml de l'échantillon dans le matras de l'appareil distillateur

9. Introduire 20 ml. D'une solution absorbante (vert de Bromocrésol 0.1% + rouge de méthyle 0.2%)

10. Ajouter 50 ml, de NaOH à 40%.

11. Mettre la solution dans le distillateur

12. Récupérer 100 ml. De la solution (changement de couleur de rose vers vert).

Titration

13. Titrer la solution par l'acide sulfurique jusqu'à atteindre la couleur rose

Expression des résultats

$$P\% = \text{Chute de burette} \times 0.0007 \times \frac{100}{PE} \times \frac{200}{20} \times 6,26$$

P% = teneur en protéine dans l'échantillon

Chute de burette = volume (ml) de H₂SO₄ titrant (sur la burette).

PE = masse de la prise d'essais

0.0007 = coefficient de correction

6.26 = Facteur générale de protéine

 Teneur en azote

 Protéine brute

2. La teneur en lipides totaux (NA 654-1992) :

a) Matériels

- ❖ Des ballons
- ❖ Des cartouches
- ❖ Étuve

b) Méthodes

1. Peser des ballons vides
2. Peser 3g de l'échantillon et mettre le dans les cartouches
3. Ajouter 200 ml de l'hexane dans les ballons 4. Après 6 heures récupérer la couche solide (l'hexane)
5. mettre les ballons dans l'étuve pendant 1 heure
6. Peser les ballons avec la matière grasse

c) Expression des résultats

$$\text{Lipides \%} = \frac{P_1 - P_0}{P_e} \times 100$$

- ✚ **P₀** = ballon vide
- ✚ **P₁** = ballon + matière grasse
- ✚ **P_e** = prise d'essai

3. Teneur en glucides (NF V40-100-Avril 2002) : (méthode de Bertrand)

La teneur en glucides est déterminée par la méthode de Bertrand selon la norme (NF V40 100-Avril 2002)

a) Matériels

- HCL pur
- Solution tartrique
- Solution cuivrique
- Solution ferrique
- Permanganate de potassium 0,1N

b) Mode opératoire

-Peser 10g d'échantillon + 200 ml d'eau distille laisse reposer 01h filtrer et compléter à 200ml.

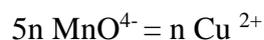
-Prendre 50ml du filtrat + 2 gouttes de HCL pur puis 30 min au bain-marie puis compléter a 100 ml.

-Prendre 10 ml + 20 ml solution tartrique+ 20 ml solution cuivrique faire bouillir 3 min refroidir avec l'eau de robinet et incliner les erlenes.

-Ajouter un peu de la solution ferrique et titrer avec permanganate de potassium KMno4 0.1N

On remarque le Virage de la couleur du vert au rose.

c) Expression des résultats



$$m_{\text{Cu}} = 5 \times V_{\text{kmno}_4^-} \times C_{\text{kmno}_4^-} \times M(\text{Cu})$$

✚ C : concentration KMnO4

✚ M : masse molaire de cuivre

✚ V : volume de la chute de KMnO4

Une fois la masse du cuivre est connue, il nous faut utiliser la table de Bertrand (annexe) pour obtenir le taux de glucides.

4. Détermination des chlorures par la méthode de MOHR (Cl) :

Le titrage colorimétrique est basé sur la précipitation différentielle de deux anions : Cl⁻ et CrO₄⁻ par ajout d'une solution de nitrate d'argent (AgNO₃) en milieu neutre ou alcalin en présence d'un indicateur coloré, le chromate de potassium (K₂CrO₄).

a) Matériel

- ✓ Bécher
- ✓ Pipette
- ✓ Fiole
- ✓ Burette
- ✓ Les solutions utilisées :
- ✓ Le nitrate d'argent (AgNO₃)
- ✓ Chromate de potassium (K₂CrO₄) , comme indicateur coloré.

b) Mode opératoire

- ✓ On pèse 2 g de l'échantillon
- ✓ On ajoute 20 ml d'eau distillée, ensuite homogénéisé et laissé au repos.
- ✓ Ajouter 10 gouttes de la solution de bichromate (K₂CrO₄) à 10 (0.1N).
- ✓ Titrer avec la solution de nitrate d'argent à 0.1 N jusqu'au virage du jaune au rouge brique.

c) Lecture

Pour une prise d'essai de 100ml :

$$Cl = V \times 10 \times 35.5$$

Avec : V-volume nécessaire pour le tirage.

Les chlorures sont exprimés en mg de Cl par litre d'eau.

5. Dosage des fibres par la méthode de Weende : AFNOR NF V03-40 (1993)

L'échantillon conditionné est hydrolysé successivement par une solution acide diluée (H₂S₀₄ 0,26 N) et ensuite par une solution alcaline diluée (KOH : 0.23N).

a) Réactifs

- ✓ Solution H₂S₀₄ : 0,26 N (13,28 g de H₂S₀₄ concentré dans un litre de solution)
- ✓ Solution KOH : 0.23 N (13 g de KOH dans un litre de solution)
- ✓ Acétone

b) Appareillage

- ✓ Analyseur semi-automatique (type Fibertec)
- ✓ Creusets filtrants

c) Mode opératoire

- Peser avec précision de l'ordre de 1 g d'échantillon dans un creuset filtrant
- Préchauffer les réactifs sur une plaque chauffante
- Placer les creusets sur la plaque de l'appareil
- Verser 150 ml de la solution H₂S₀₄ à 0,26 N
- Allumer la résistance électrique et laisser bouillir durant 30 minutes
- Arrêter le chauffage et rincer à trois reprises chaque creuset avec l'eau distillée chaude (il faut absolument récupérer toutes les particules de l'échantillon dans le creuset).
- Remettre de nouveau et verser 150 ml de la solution KOH à 0.23 N
- Laisser bouillir durant 30 minutes
- Arrêter le chauffage, rincer à trois reprises chaque creuset avec l'eau distillée chaude
- Rincer abondamment avec l'acétone et récupérer toutes les particules résiduelles dans les creusets
- Arrêter l'eau des réfrigérants et faire sortir les creusets

- Sécher les creusets dans une étuve à 105°C durant une nuit puis les peser après refroidissement au dessiccateur.
- Calciner les creusets dans un four à moufle (à 450°C et durant 3 heures afin d'en déterminer Les cendres) puis les peser après refroidissement au dessiccateur

La teneur en fibre est ainsi calculée comme suit :

$$\% F = ((P1 - P2) / PE \times MS_a) \times 100$$

✚ **P1** : poids du creuset après séchage à 105°C (g)

✚ **P2** : poids du creuset après calcination (g)

✚ **PE** : prise d'essai (g).

✚ **MS_a** : %MS_a / 100.

6. Détermination de l'amidon d'après la méthode polarimétrique Ewers : (NF EN ISO 10520)

a) Réactifs

1. Acide chlorhydrique (HCl) à 1,128 % en poids. La concentration de cet acide Chlorhydrique doit être fixée par titration : 10 ml = 30,94 cc NaOH N/ 10 ; pour cette titration, l'on utilise le méthyl rouge comme indicateur : 1 0/00 méthyl rouge dans l'alcool éthylique à 94°.
2. Acide chlorhydrique (HCl) à 25 % en poids (poids spécifique 1,126);
3. Phosphotungstate de soude à 4 % dans l'eau.

b) Appareils

1. Ballons jaugés de 100 et 250 ml
2. Un saccharimètre ou un polarimètre.

c) Préparation de l'échantillon

La substance à analyser doit avoir une finesse telle qu'elle passe au tamis à mailles rondes de 1 mm de diamètre. Si la substance renferme des particules dures, riches en amidon, comme cela représente pour la farine de maïs, la farine de riz, etc., la finesse doit être plus grande.

d) Mode opératoire

a) Détermination du pouvoir rotatoire total (— P ou S)

On porte 2,5 g de la substance dans un ballon jaugé de 100 ml et on ajoute 25 ml d'acide chlorhydrique à 1,128 % (solution n° 1). On agite le ballon jusqu'à ce que la matière soit bien imbibée et on y ajoute encore 25 ml du même acide chlorhydrique dilué.

Le ballon est ensuite plongé dans un bain-marie bouillant et secoué énergiquement pendant les premières minutes, en vue d'éviter la formation de grumeaux.

Le volume de l'eau bouillante contenue dans le bain-marie doit être suffisant pour maintenir l'eau en ébullition lorsqu'on y plonge le ballon ; celui-ci ne peut être retiré du bain-marie pendant qu'on l'agite.

Après 15 minutes, on retire le ballon du bain-marie, on y ajoute 30 ml d'eau froide et on refroidit immédiatement jusque 20 °C. On défèque au moyen de la solution de phosphotungstate de soude. Il est impossible de déterminer à l'avance la quantité de déféquant à employer. Pour les diverses sortes d'amidon pur, il suffit de 1 ou de 2 ml pour d'autres produits, il y a lieu d'utiliser 6, 8 ou 15 ml. On porte au volume, on homogénéise et on filtre.

Avant de polariser le filtrat, on ajoute une goutte du déféquant à environ 2ml du filtrat. On attend 2 à 3 minutes et on vérifie s'il se forme un précipité. S'il y a formation d'un précipité, il y a lieu de recommencer le dosage en employant une plus grande quantité de déféquant. On polarise au tube de 200 mm avec un polarimètre ou un saccharimètre.

b) Détermination du pouvoir rotatoire des substances actives solubles dans l'eau, après traitement à l'acide chlorhydrique d'après la méthode Ewers (P' ou S') :

On introduit 12,5 g de matière dans un ballon jaugé de 250 ml, on y ajoute environ 200 ml d'eau et laisse digérer pendant une heure à la température ordinaire tout en agitant de temps en temps.

On porte au volume de 250 ml, homogénéise, secoue et filtre. On porte 50 ml (2,5 g de la matière) du filtrat dans un ballon jaugé de 100 ml, on y ajoute 2,1 ml d'acide chlorhydrique à 25 %, on secoue énergiquement et on le plonge dans un bain-marie bouillant.

Après 15 minutes, on retire le ballon du bain-marie, on y ajoute 30 ml d'eau froide et refroidit immédiatement jusque 20 °C. On défèque ensuite avec la solution de phosphotungstate de soude, on porte au volume, on secoue énergiquement, on filtre et on polarise au tube de 200 mm avec un polarimètre ou un saccharimètre.

c) Calcul de la teneur en amidon

Lorsqu'on emploie un polarimètre :

$$A = 2000 \times \frac{P - P'}{\alpha D}$$

✚ A = % amidon d'après Ewers.

✚ P = rotation totale exprimée en degrés d'arcs polarimétriques.

✚ P' = degrés d'arcs polarimétriques des substances actives solubles dans l'eau.

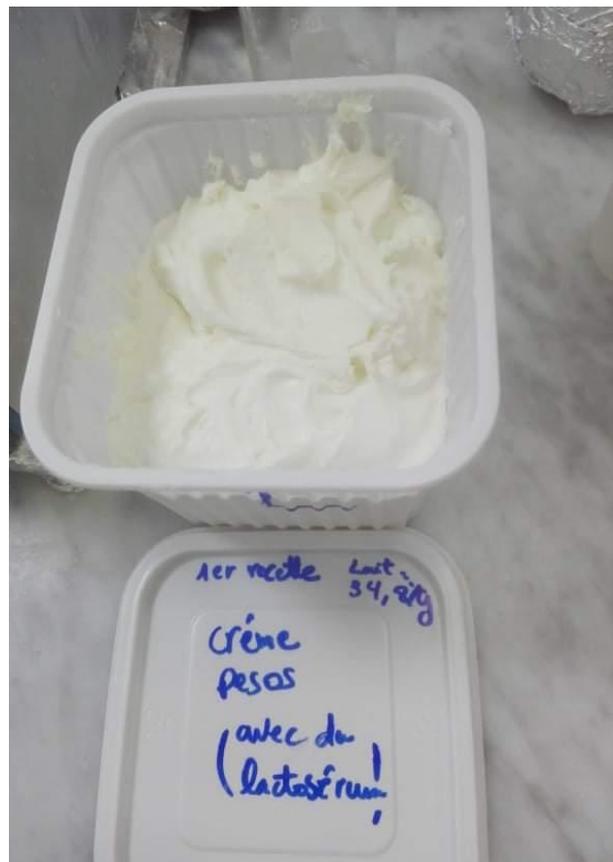
✚ N = 20,00 pour les appareils mixtes.

Pour cette méthode Ewers, les valeurs ci-après sont appliquées conventionnellement pour l' α D.

- ✓ 185,7 pour l'amidon de pommes de terre,
- ✓ 182,7 pour l'amidon de froment,
- ✓ 184,0 pour 1 amidon de seigle,
- ✓ 181,5 pour 1 amidon d'orge,
- ✓ 181,3 pour l'amidon d'avoine,
- ✓ 185,9 pour l'amidon de riz,
- ✓ 184,5 pour l'amidon de maïs,
- ✓ 184,0 pour les autres amidons et les mélanges d'amidons dans les aliments composés.

ANNEXE.V. Préparation des ingrédients et fabrication des crèmes de fourrage.





ANNEXE.VI. TABLE DE BERTRAND

Glucose en mg	Cuivre en mg	Glucose en mg	Cuivre en mg	Glucose en mg	Cuivre en mg
10	20, 4	40	77, 5	70	129, 8
11	22, 4	41	79, 3	71	131, 4
12	24, 3	42	81, 1	72	133, 1
13	26, 3	43	82, 9	73	134, 7
14	28, 3	44	84, 7	74	136, 3
15	30, 2	45	86, 4	75	137, 9
16	32, 2	46	88, 2	76	139, 6
17	34, 2	47	90, 0	77	141, 2
18	36, 2	48	91, 8	78	142, 8
19	38, 1	49	93, 6	79	144, 5
20	40, 1	50	95, 4	80	146, 1
21	42, 0	51	97, 1	81	147, 7
22	43, 9	52	98, 9	82	149, 3
23	45, 8	53	100, 6	83	150, 9
24	47, 7	54	102, 3	84	152, 5
25	49, 6	55	104, 1	85	154, 0
26	51, 5	56	105, 8	86	155, 6
27	53, 4	57	107, 6	87	157, 2
28	55, 5	58	109, 3	88	158, 8
29	57, 2	59	111, 1	89	160, 4
30	59, 1	60	112, 8	90	162, 0
31	60, 9	61	114, 5	91	163, 6
32	62, 8	62	116, 2	92	165, 2
33	64, 6	63	117, 9	93	166, 7
34	66, 5	64	119, 6	94	168, 3
35	68, 3	65	121, 3	95	169, 9
36	70, 1	66	123, 0	96	171, 5
37	72, 0	67	124, 7	97	173, 1
38	73, 8	68	126, 4	98	174, 6
39	75, 7	69	128, 1	99	176, 2
				100	177, 8