

Faculté des sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER 2**

**Option : Qualité en production animale**

**Thème**

**Contrôle de la qualité microbiologique et physico-chimique de la margarine au cours de la production et de la conservation**

Réalisé par:

**MEDJAD AHLEM**

Devant le jury :

Mme DECHICHA S.	MCB	Université Blida I	Présidente
Mme HEZIL N.	MAA	Université Blida I	Examinatrice
Mme ZEROUTI K.	MAA	Université Blida I	Promotrice

Année universitaire 2016/2017

## Résumé

Le présent travail a concerné le contrôle de la qualité microbiologique et physico-chimiques d'une margarine de feuilletage depuis la matière première (l'huile non hydrogénée) jusqu'au produit fini frais ou conservé. Parallèlement à une analyse microbiologique de quelques échantillons du beurre cru issus de différentes crèmeries à Blida.

- Les résultats des analyses physico-chimiques des produits de margarine le long de la chaîne de fabrication ont été conformes aux normes de l'entreprise et ceux exigées par la réglementation.
- D'autre part, les analyses microbiologiques basées sur la recherche des germes aérobies mésophiles totaux, les coliformes, *Staphylococcus aureus*, salmonelle, levures et moisissures ont également montrés une conformité aux normes, avec une absence totale des microorganismes.
- Contrairement à la margarine, le contrôle microbiologique du beurre à révéler, dans certains échantillons, la présence des coliformes et les levures à des charges dépassant les normes recommandées.

**Mot clé :** margarine, beurre, contrôle physico-chimique, contrôle microbiologique.

## **Abstract**

This work aims to control the microbiological and physico-chemical quality of a laminating margarine, started from the raw material (hydrogenated oil) to the fresh or stored finished product. Together with a microbiological analysis of some samples of raw butter from different dairy in Blida.

- The physicochemical analysis results of margarine products along the manufacturing line respect the company standards and those required by regulations.
- In addition, microbiological analyses based on the search for total mesophilic aerobic microorganisms, coliform bacteria, *Staphylococcus aureus*, *salmonella*, yeasts and molds have also shown conformity with standards, with a total absence of microorganisms.
- Unlike margarine, the microbiological control of the butter reveals, in some samples, the presence of coliforms and yeasts at loads exceeding the standards recommendations.

**Key words:** margarine, butter, physico-chemical control, microbiological control.

## ملخص

تهدف الدراسة التي قمنا بها إلى معاينة الجودة الميكروبيولوجية و الفيزيوكيميائية للمرغرين المخصص للتوريق خلال مسار الإنتاج، بدءا من المواد الأولية وصولا إلى المنتج النهائي و الذي قمنا بمراقبة الطازج منه وكذا المحفوظ في غرف الحفظ . بجانب هذه الدراسة قمنا بفحص ميكروبيولوجي لعينات من الزبدة تقليدية الصنع مأخوذة من باعة ألبان متفرقة في ولاية البليدة.

أثبتت النتائج الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية المحصل عليها مطابقة المنتج للمعايير المتبعة من طرف الشركة المنتجة و التي بدورها تخضع للمعايير المقننة من طرف الدولة الجزائرية و ذلك طول خط الإنتاج و حتى أثناء الحفظ. اظهر الفحص الميكروبيولوجي خلو كل العينات من أي ميكروبات كالبكتيريا الهوائية والقولونية، المكورات العنقودية او السالمونيلا ، إضافة إلى خلوها من الخمائر أو العفن.

على النقيض أظهرت النتائج الميكروبيولوجية للزبدة احتواء بعض العينات على تراكيز تجاوزت المعايير المسموحة من البكتيريا القولونية و الخمائر مما يجعلها غير مرخصة للاستهلاك ويظهر عدم احترام معايير النظافة في صنعها .

الكلمات الرئيسية: مرغرين، زبدة، التحاليل الفيزيائية والكيميائية، التحاليل الميكروبيولوجية.



# Sommaire

## Introduction

## Chapitre I. Généralités

<b>I.1. Généralités sur la margarine</b> .....	02
<b>I.1.1. Historique</b> .....	02
<b>I.1.2. Définition</b> .....	02
<b>I.1.3. Composition de la margarine</b> .....	02
I.1.3.1. Phase grasse.....	03
I.1.3.2. Phase aqueuse .....	03
I.1.3.3. Additifs.....	03
<b>I.1.4. Catégorie de margarine</b> .....	05
<b>I.1.5. Propriétés de la margarine</b> .....	06
I.1.5.1. Propriétés physiques.....	06
I.1.5.2. Propriétés chimiques.....	06
I.1.5.3. Propriétés organoleptiques et nutritionnelles.....	07
I.1.5.3. Propriétés microbiologiques.....	07
<b>I.1.6. Procédé technologique de fabrication</b> .....	08
<b>I.1.7. Conservation</b> .....	10
1.1.7.1. Influence de la température.....	10
1.1.7.2. Influence de l'humidité relative.....	10
1.1.7.3. Influence du mouvement d'air.....	10
<b>I.1.8. Altérations de la margarine</b> .....	11
I.1.8.1. Altérations chimiques.....	11
I.1.8.2. Altérations physiques.....	11
I.1.8.3. Altérations microbiologiques .....	11
<b>I.2. Généralités sur le beurre</b> .....	13
I.2.1. Historique .....	13
I.2.2. Définition.....	13
I.2.3. Composition et valeurs nutritionnelles du beurre.....	13
I.2.4. Caractéristiques du beurre.....	13
I.2.5. Catégories du beurre.....	15
I.2.6. Conservation du beurre.....	17
I.2.7. Altérations du beurre.....	17
<b>I.3. Comparaison générale entre le beurre et la margarine</b> .....	18
<b>Chapitre II. Matériel et méthodes</b>	
<b>II.1. Lieu et durée de l'étude</b> .....	19
<b>II.2. Objectifs</b> .....	19
<b>II.3. Matériel</b> .....	19
II.3.1. Matériel non biologique.....	19
II.3.2. Matériel biologique.....	19
<b>II.4. Méthodes</b> .....	20
II.4.1. Méthodes d'échantillonnage.....	21
II.4.2. Méthodes d'analyse physico-chimique.....	22
II.4.2.1. Détermination de l'humidité.....	22
II.4.2.2. Détermination de l'acidité titrable.....	23
II.4.2.3. Détermination du pH.....	23
II.4.3. Méthodes d'analyse microbiologique .....	23
II.4.3.1. Dénombrement des germes aérobies totaux.....	24

II.4. 3.2. Dénombrement des coliformes fécaux et totaux.....	25
II.4. 3.3. Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus.....	28
II.4. 3.4. Recherche des Salmonelles .....	30
II.4. 3.5. Recherche et Dénombrement des levures et moisissures.....	32

### **Chapitre III. Résultats et discussion**

<b>III.1. Qualité physico-chimique de la margarine.....</b>	<b>33</b>
<b>III.1.1. Qualité physico-chimique des matières premières.....</b>	<b>33</b>
<b>III.1.2. Qualité physico-chimique des produits semi-finis .....</b>	<b>34</b>
<b>III.1.3. Qualité physico-chimique des produits finis frais.....</b>	<b>35</b>
<b>III.1.4. Qualité physico-chimique des produits finis conservés.....</b>	<b>38</b>
<b>III.2. Qualité microbiologique de la margarine.....</b>	<b>39</b>
<b>III.3. Qualité microbiologique du beurre cru.....</b>	<b>40</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>42</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexes</b>	

## Liste des figures

<b>Figure 01</b>	Schéma général de fabrication de la margarine.....	<b>08</b>
<b>Figure 02</b>	Préparation de la solution mère et des dilutions décimales de la margarine.....	<b>21</b>
<b>Figure 03</b>	Recherche et dénombrement des germes aérobies totaux.....	<b>22</b>
<b>Figure 04</b>	Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux.....	<b>24</b>
<b>Figure 05</b>	Recherche et dénombrement des staphylocoques.....	<b>25</b>
<b>Figure 06</b>	Recherche des Salmonelles.....	<b>27</b>
<b>Figure 07</b>	Recherche et Dénombrement des levures et moisissures.....	<b>28</b>



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b>	Principaux composants et valeurs nutritionnelle du beurre .....	<b>12</b>
<b>Tableau II</b>	Différent types de beurre .....	<b>14</b>
<b>Tableau III</b>	Avantages et inconvénients du beurre et de la margarine.....	<b>16</b>
<b>Tableau IV</b>	Les caractéristiques de la margarine de feuilletage «el horra».....	<b>18</b>
<b>Tableau V</b>	Différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques effectuées pour la margarine.....	<b>19</b>
<b>Tableau VI</b>	Résultats des analyses physico-chimiques de l'huile non hydrogéné..	<b>30</b>
<b>Tableau VII</b>	Résultats des analyses physico-chimiques des produits semi-finis.....	<b>30</b>
<b>Tableau VIII</b>	Résultats des analyses physico-chimiques des produits finis frais.....	<b>32</b>
<b>Tableau IX</b>	Résultats des analyses physico-chimiques des produits finis conservés.....	<b>33</b>
<b>Tableau X</b>	Résultats des analyses microbiologiques «El Horra ».....	<b>35</b>
<b>Tableau XI</b>	Résultats des analyses microbiologiques du beurre cru.....	<b>36</b>

## Liste des abréviations

<b>AGI</b>	Acide gras insaturée
<b>AGMI</b>	Acide gras mono insaturé
<b>AGS</b>	Acide gras saturé
<b>AGT</b>	Acide gras trans
<b>AGPI</b>	Acide gras poly insaturé
<b>BR</b>	Beurre
<b>Mg</b>	Magnésium
<b>C</b>	Concentration exacte en mole/l de la soude à 0,1N ;
<b>Σ C</b>	La somme des colonies sur toutes les boites comptées
<b>D</b>	La dilution à partir de laquelle les premiers dénombrements sont obtenus.
<b>D/C</b>	Double concentration
<b>EDTA</b>	Ethylène diamine tétra acétique
<b>GAMT</b>	Germes aérobies mésophiles totaux
<b>pH</b>	potentiel hydrogène
<b>H (%)</b>	Humidité exprimée en pourcentage massique
<b>Kcal</b>	kilocalories
<b>NPP</b>	Nombre le plus probable
<b>UI</b>	Unité internationale
<b>SFB</b>	Bouillon d'enrichissement au sélénite et à la cystéine
<b>TSE</b>	Trepton sel eau
<b>Vitamine A</b>	Rétinol
<b>Vitamine D</b>	Calciférol
<b>Vitamine E</b>	Tocophérol

## **Introduction**

Les maladies d'origine alimentaire constituent un problème de santé publique dans plusieurs pays du monde. Les estimations de l'organisation mondiale de la santé montrent que chaque année, une personne sur 10 tombe malade en consommant des aliments contaminés et que 420 000 meurent par des intoxications alimentaires ou par des maladies transmises par les aliments (**mondiale de la Santé, 2016**).

Face à ce problème, la mise en place d'une politique de gestion basée sur un programme de contrôle alimentaire est devenue une priorité afin de garantir la salubrité et la qualité des aliments tout en assurant la protection du consommateur. Ce contrôle comporte toutes les activités entreprises pour assurer la qualité, la sécurité sanitaire et la loyauté des aliments à toutes les étapes depuis la production primaire, la transformation, le stockage jusqu'à la commercialisation et la consommation (**Karleskind, 1992**).

En Algérie, la margarine prend une place centrale au sein de nos habitudes alimentaires et remplace graduellement le beurre tant pour l'utilisation domestique que dans les institutions. Le bas prix, sa stabilité et la mise en marché qui la présentait comme meilleure pour la santé que le beurre explique cette popularité (**Réf**).

L'objectif principal de ce travail est le contrôle physico-chimique et microbiologique de la margarine fabriquée par l'unité de production de Bellat, implantée aux Eucalyptus (Alger). Cela est effectué par l'analyse de différents paramètres physico-chimiques et microbiologiques de la matière première, du produit semi fini et du produit fini frais et au cours de la conservation. Parallèlement à cet objectif, nous avons également réalisé une analyse microbiologique de quelques échantillons (06) du beurre cru issus de différentes crèmeries à Blida afin de comparer la qualité microbiologique de ces deux corps gras, margarine et beurre.

## I. 1. Généralités sur la margarine

### I.1. 1.Historique

La margarine a été inventée durant la guerre franco-allemande (1870-1871) par le pharmacien français Hippolyte Mège-Mouriés à la suite d'un concours organisé par Napoléon III pour développer un corps gras semblable au beurre mais de prix moins chère, apte à se conserver longtemps sans s'altérer tout en gardant sa valeur nutritive (**Andersen et Williams, 2016**).

Les premières margarines étaient composées d'une émulsion de graisses animales ou marines, d'eau ou de lait. Ces graisses ont ensuite été remplacées par des graisses végétales (coprah et palme) qui ont pris une place de plus en plus grande dans la formulation des margarines. L'apparition des huiles végétales fluides durcies par hydrogénation, était un essor dans l'histoire de ce produit. Cette invention ouvrit la porte aux huiles d'arachide, tournesol, soja et de colza dans la fabrication des margarines (**Andersen et Williams, 2016 ;Dupin, 1992**).

### I.1.2.Définition

Selon le codex alimentaire, la margarine est un aliment qui se présente sous forme d'une émulsion solide ou liquide et malléable, principalement du type eau dans l'huile, produit essentiellement à partir de graisses et d'huiles comestibles d'origine non exclusivement laitière. Ces mélanges peuvent contenir d'autres ingrédients tels que le lait, matières grasses lactiques ou produits laitiers (éventuellement acidifiés au moyen de ferments lactiques), protéines, amidon, sel comestible ou sucres.

La définition complète de la margarine est d'un système poly-dispersé de corps gras à l'état solide et à l'état liquide, d'eau et/ou lait, d'ingrédients et quelquefois de bulles de gaz (**Villière et Genot, 2006; Karleskind, 1992**).

### I.1.3. Composition de la margarine

Elle est constituée d'une phase grasse dont laquelle se trouve dispersée une phase aqueuse et des adjuvants (**Graille, 2003**). En général, elle est composée de :

- 82% de matière grasse (phase grasse)
- 16% d'eau et/ou de lait (phase aqueuse)

- 2% d'ingrédients additifs liposoluble tels que, la lécithine, les mono et diglycérides (comme émulsifiants), les colorants, les arômes naturels ou synthétiques, et les vitamines, ou bien hydrosolubles comme le sel, le sucre, les conservateurs (**François, 1974**).

### **I.1. 3.1. Phase grasse**

Elle est constituée d'huiles fluides et d'huiles concrètes et représente la partie la plus importante de l'émulsion (82-84%).

Les huiles concrètes comprenant l'huile de palme, caractérisée par une forte teneur en acides gras saturés (de 50 à 60%) et une teneur relativement faible en insaturés (30 à 40% d'oléique, 7 à 14% de linoléique) et l'huile de coprah de composition semblable, riche en acides gras saturés (environ 85%) (**Dupin, 1992**).

Tandis que les huiles fluides sont représentées par l'huile de colza (75% d'acides gras mono- insaturés et riche en acide linoléique), l'huile de soja (riche en acide linoléique (50 à 60%) et oléique (20 à 30%) ainsi qu'en tocophérols (100 à 170 mg pour 100g)), l'huile de tournesol caractérisée par une fluidité à température ambiante et particulièrement instable à cause de sa teneur en acide gras polyinsaturés, elle est mieux équilibrée en acides gras et particulièrement riche en acide linoléique (environ 65%). L'huile de maïs peut être également incorporée dans la margarine en raison de sa teneur élevée en acide gras insaturés (50 à 60% d'acide gras linoléique avec très peu de l'acide linoléique) (**Woerfel, 1990 ; Dupin, 1992 ; Alais, 2003 ; Vincent, 2012**).

### **I.1. 3.2. Phase aqueuse**

Elle est constituée d'eau et /ou lait ; l'eau utilisée dans la fabrication de la margarine doit être potable, limpide, débarrassée de toute coloration, d'odeur et de microorganismes pathogènes. De même, le lait utilisé (peut être du lait frais ou en poudre reconstituée) doit être pasteurisé pour éviter toute contamination (**Karleskind, 1992 ; Fredot, 2005**).

### **I.1.3.3. Additifs**

Comportent les additifs liposolubles et hydrosolubles réparties en phase aqueuse et grasse.

#### **a. Additifs liposolubles**

Ce sont les émulsifiants, les colorants, les antioxydants, les vitamines et les arômes (l'ensemble de ces additifs est également appelé la phase émulsifiante).

- **Emulsifiants** : sont des composés ayant des propriétés amphiphiles ce qui permet leur répartition dans les deux phases sous forme d'émulsion homogène. Ce caractère d'équilibre hydrophile-lipophile explique leur rôle facilitant la dispersion de la phase aqueuse dans la phase grasse (en fine gouttelettes) (**Karleskind, 1992 ; Fredot, 2005**). L'émulsifiant le plus utilisé en margarine est la lécithine (à des teneurs inférieures à 0,5%) qui est l'un des produits secondaires de l'extraction des huiles alimentaires, (**Simon, 2005**). Les mono et diglycérides peuvent aussi être utilisés (0.3-1.5%) (**Karleskind, 1992 ; Graille, 2003**).
- **Aromatisants** : ce sont des substances ou préparations ajoutées à un aliment pour lui conférer un nouvel arôme ou modifier celui qui existait. Par exemple, les margarines sans lait, sont la plus part additionnées de diacétyle à des faibles quantités (2-4 mg/kg) pour éviter d'avoir un goût artificiel désagréable (**Karleskind, 1992**).
- **Vitamines** : Les corps gras peuvent renfermer une quantité plus ou moins importante de vitamines liposolubles A, D et E, cette dernière étant présente dans tous les lipides naturels, alors que les deux autres ne sont rencontrées que dans des corps gras bien particuliers. D'autres vitamines comme la vitamine K, qui est également liposoluble, n'est pas présente dans les corps gras et elle est parfois ajoutée (**Graille, 2003**). En effet, le défaut principal de la margarine, comparée au beurre, réside dans sa teneur infime en vitamine A. Elle doit contenir autant que possible des quantités équivalentes de vitamine A et D (**Bailey, 1974 ; Multon, 1992**).
- **Colorants** : Ce sont les additifs les moins indispensables, on les utilise premièrement pour normaliser la couleur d'un aliment et secondairement pour leur aspect attractif, ils améliorent l'apparence des aliments et les rendent plus acceptables. La couleur de la margarine, assez voisine de celle du beurre, est obtenue soit par addition d'huile de palme rouge soit du  $\beta$ -carotène, ce dernier est le plus utilisé (**Veirling et Guy, 2004**).
- **Les antioxydants** : ils sont ajoutés à la phase grasse individuellement ou en mélange. Les plus utilisés sont les tocophérols (extrait naturel) via la phase grasse ou la vitamine E, cette dernière possède la propriété de piéger et d'empêcher la propagation des radicaux libres, par conséquent, éviter l'oxydation des acides gras insaturés et retarder l'apparition du rancissement. D'autres antioxydants non liposolubles peuvent être utilisés comme l'acide ascorbique et ses sels dérivés de sodium et de calcium (**Karleskind, 1992**).

**b. Additifs hydrosolubles**

- **Sel** : Le sel utilisé doit être de qualité alimentaire, pratiquement sec, neutre ou faiblement alcalin avec absence de sels de Mg, de Fe et d'ion  $\text{SO}_4$  qui accélèrent l'oxydation des graisses. Le chlorure de sodium est souvent ajouté, à des teneurs de 0,1 à 2 %, en premier lieu pour améliorer le goût car il est considéré comme un agent de sapidité et en second lieu, il joue un rôle protecteur *vis-à-vis* des micro-organismes grâce à son action bactériostatique (**Oteng-Gyang, 1984**).
- **Sucre** : Le sucre augmente les qualités organoleptiques, et donne la douceur aux margarines, généralement utilisé à raison de 0,1 à 0,3% (**Karleskind, 1992**).
- **Conservateurs** : l'acide sorbique (E200) ainsi que ses sels de sodium (E201), de potassium (E203) présente une bonne activité antibactérienne et fongicide (**Karleskind, 1992**). Ces conservateurs sont additionnés isolément ou ensemble dans une proportion pondérale de 2 g par kilogramme de produit fini.
- **Correcteurs de pH** : les plus utilisés sont l'acide citrique, lactique et ses sels de sodium, potassium et calcium (**Faur, 1992**).
- **Révélateurs** : C'est le seul ingrédient imposé par la loi et cela pour différencier la margarine du beurre et prévenir des transformations frauduleuses. Le plus utilisé est l'amidon de riz ou de fécule de pomme de terre à une dose de 0,2% (**Ducause, 2003**).

**I.1.4. Catégorie de margarines**

Suivant la teneur en acides gras polyinsaturés, la consistance de la margarine diffère et peut être classée en (**Jacotot et campillo, 2003**):

- Dure pour une teneur de moins de 10%
- Semi-dure pour une teneur de 10-20%
- Molle pour une teneur de 20-30%
- Extra moelle pour une teneur supérieure à 30%.

Suivant la composition de la matière grasse (choix du mélange de corps gras, caractère hydrogéné, fractionné, ou inter-estérifié de tout ou partie des matières premières), il est possible de formuler une large gamme de margarines à usages spécifiques (**Pagès-Xatart Parès, 2008 ; O'Brien, 2009**) :

- **Margarines classiques dures** : particulièrement destinées à la cuisson et à la pâtisserie, riche en acides gras saturés et sont de ce fait dures à la sortie du réfrigérateur.

- **Margarines tartinables** : riche en acides gras polyinsaturés, principalement linoléique de 20-40%, d'acides mono-insaturés de 25-50% et d'acides gras saturés de 10-30%.
- **Margarines allégées** : de même composition en matière grasse mais à une teneur réduite de 41-62%. Moins ces margarines sont riches en graisses, plus elles sont riches en eau.
- **Margarines industrielles** : leur formulation est adaptée à un usage spécifique (margarines pour la friture, biscuiterie et pâtisserie, feuilletage...).

### **I.1.5. Propriétés de la margarine**

Les propriétés de margarine sont déterminées en fonction de sa composition en matières grasses ainsi que les conditions de fabrication (**Naudet, 1996**).

#### **I.1.5.1. Propriétés physiques**

La margarine est caractérisée par sa texture buccale et tactile, ces deux caractères sont conditionnés par les paramètres suivants (**Roger, 1974**) :

- Son point de fusion qui doit être de l'ordre de 34°C à 37°C pour la margarine de table puisque elle doit fondre dans la bouche, et de l'ordre de 39°C à 42°C pour la margarine feuilletage puisque elle doit résister à la chaleur lors du travail mécanique qu'elle subit, et de l'ordre de 36°C à 38°C pour la margarine pâtissière puisque elle doit fondre dans la bouche aussi.
- Son état plastique, du fait que la margarine n'est pas tout à fait solide, ni tout à fait liquide. C'est une émulsion d'eau dispersée dans le corps gras sous forme de gouttelettes de quelques microns de diamètre.

#### **I.1.5.2. Propriétés chimiques**

Les propriétés chimiques sont assez variables du fait qu'il ya plusieurs sortes de margarines. Cependant, les plus intéressantes à connaître et à déterminer sont :

- La composition en acide gras de la phase grasse et en particulier la teneur en acide gras essentiel.
- La nature et la teneur en divers éléments non glycéridiques de la phase grasse (vitamine).
- Les indices révélant le degré de fraîcheur : acidité et indices de peroxyde.



### I.1.5.3. Propriétés organoleptiques et nutritionnelles

Il est nécessaire que la margarine soit fraîche et parfumée, d'une part et appétissante et d'agréable goût de l'autre part. Sa composition en acide gras et certains additifs comme le sucre, le lait, les vitamines détermine ses qualités organoleptiques et nutritionnelles.

Les margarines sont des corps gras alimentaires. A ce titre, rien ne doit les différencier sur le plan nutritionnel des autres corps gras alimentaires, elles sont une source d'énergie apportée sous un faible volume (9Kcal ou 37 KJ par un gramme de lipide). (**Feinberg et al. 1987**). Elles apportent également des acides gras essentiels (surtout linoléique), vitamines liposoluble (A, E et D). La margarine est très digestible, car leur coefficient d'utilisation digestive est de l'ordre de 97% à 99%. (**Petit, 1997 ; Jacotot et Campillo, 2003**).

### I.1.5.4. Propriétés microbiologiques

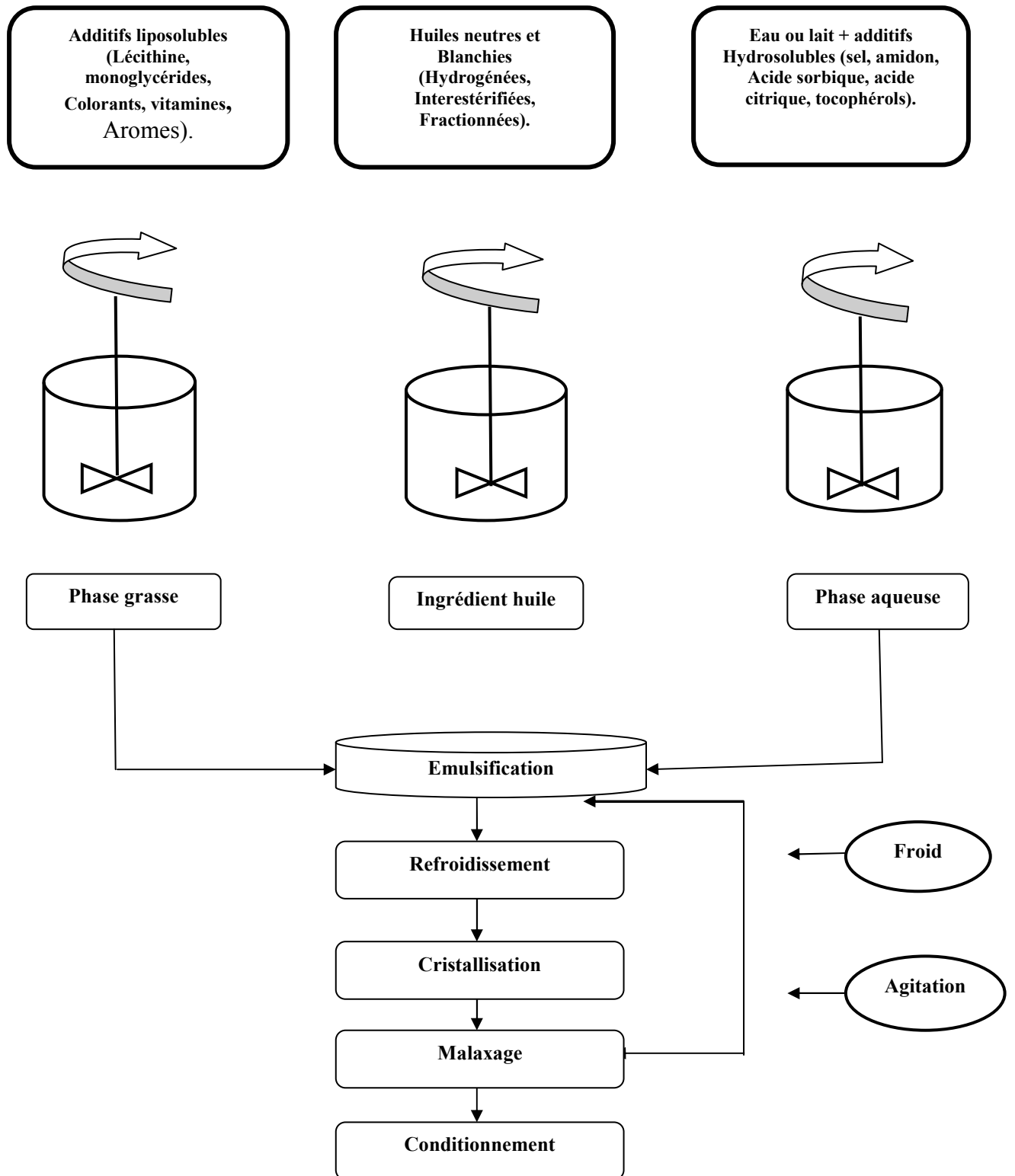
Comme toutes les denrées alimentaires, les margarines risquent d'être contaminées par des microorganismes qui en se développant, provoquent une altération de sa qualité marchande, celle-ci se traduit par une modification de son apparence, sa texture, et sa saveur, une altération de sa qualité hygiénique, met surtout en présentant un risque pour la santé du consommateur (**Faur, 1992**).

Généralement, la phase grasse n'est pas favorable pour le développement des bactéries. C'est surtout la phase aqueuse qui est beaucoup plus exposée à la contamination par les bactéries : *Escherichia coli*, germes aérobies, coliformes, levures et moisissures. Il peut arriver aussi que la margarine soit contaminée par des germes entéropathogènes ou entérotoxiques tels que les *salmonelles* et les *staphylocoques* (**Roger, 1974**).

**I.1.6. Procédé technologique de fabrication**

La fabrication de la margarine est une technologie connue et maîtrisée. Elle comprend les phases suivantes (**figure 1**) :

- Préparation de la phase grasse complète : huiles et graisses telles qu'elles sont raffinées et/ou modifiées par hydrogénation, inter estérification ou fractionnement ; lécithine, mono glycérides et colorants ;
- Préparation de la phase aqueuse complète : eau, lait, sel, sucre, arôme, conservateurs, correcteur de pH ;
- Emulsification : en mélangeant les deux phases précédentes
- Refroidissement, cristallisation, malaxage de l'émulsion de manière à lui conférer les caractéristiques rhéologiques espérées et la stabilité désirée ;
- Conditionnement du produit enveloppés (margarines traditionnelles) ou en pots confectionnés en différents matériaux.



**Figure 1:** Schéma général de fabrication de la margarine (Karleskind, 1992).

Selon **Multon (1992)**, deux techniques sont utilisées pour la réalisation de l'ensemble de ces opérations :

- **Procédé discontinu (Tambour)** : dans lequel les différentes étapes sont effectuées successivement mais avec un temps de repos.
- **Procédé continu (Combinatoire)** : l'ensemble des opérations est réalisé en une seule étape à travers un système de tubes de refroidissement et de cristallisation. Ce procédé comme il est totalement clos, il offre les avantages de diminuer les risques de contaminations microbiologiques et le temps de travail à côté d'augmenter la capacité de production.

### **I.1.7. Conservation**

Pendant la réfrigération, la margarine s'altère au cours du temps, avec plus ou moins d'intensité, qui nuit à ses qualités marchandes et parfois hygiénique. Plusieurs facteurs peuvent être inclus (**Plank, 1965**).

#### **1.1.7.1. Influence de la température**

L'évaporation de l'eau qui entraîne la perte de poids décroît avec la diminution de la tension de vapeur, celle-ci étant plus faible que la température est basse. On sait également que les réactions chimiques et biochimiques sont ralenties par l'abaissement de la température. Pour chaque réduction de 10°C, la résistance à l'altération s'accroît et double parfois la durée de conservation (**Plank, 1965**).

#### **1.1.7.2. Influence de l'humidité relative**

À côté de la température, l'humidité relative exerce une très grande influence sur la margarine réfrigérée ; la perte de poids par évaporation s'abaisse avec l'augmentation de l'humidité relative. Ces pertes de poids peuvent être sensiblement diminuées par un emballage convenable de la margarine.

En revanche, de fortes humidités relatives favorisent la croissance des micro-organismes. Leurs contaminations commencent toujours par les parties superficielles puis leurs proliférations se propagent rapidement vers l'intérieur (**Plank, 1965**).

#### **1.1.7.3. Influence du mouvement d'air**

Le mouvement d'air lors de la réfrigération exerce aussi la qualité et la résistance de la margarine à l'évolution bactériologique et à l'oxydation. L'air en mouvement empêche

l'accumulation d'humidité à la surface de la margarine et gêne la croissance des microorganismes. Cependant, il provoque un changement plus rapide de la couleur, d'odeurs et de goût sur les couches superficielles de la margarine par oxydation (**Plank, 1965**).

### **I.1.8. Altérations de la margarine**

La margarine comme tout produit alimentaire est sujette à des altérations qui peuvent être chimiques, physiques ou bien microbiologiques (**Karleskind, 1992 ; Morelle, 2003**).

#### **I.1.8. 1. Altérations chimiques**

Les liaisons ester et double-liaison, caractéristique chimique principale des corps gras, sont la cause des deux principales formes d'altérations des margarines et des corps gras alimentaires ; hydrolyse et auto-oxydation.

- **Hydrolyse et acidification** : c'est le résultat de l'hydrolyse d'une ou deux des trois liaisons esters des triglycérides, conduisant ainsi à la libération des acides gras et le glycérol qui se traduit par le phénomène de rancissement, préjudiciables à la qualité du corps gras en donnant le goût de savon à la margarine. Ce phénomène peut se produire chimiquement en présence de l'eau ou tout simplement d'humidité mais également par voie enzymatique en présence d'une lipase active (**Padley, 1994**).
- **Auto-oxydation** : elle est due à l'action de l'oxygène sur les doubles liaisons des acides gras au cours de stockage. C'est une réaction auto-catalytique et nécessite une quantité infime d'oxygène pour se déclencher et se poursuivre (**Morelle, 2003**).

#### **I.1.8. 2. Altérations physiques**

Les altérations physiques sont principalement :

- Défauts d'aspect** : apparition d'une coloration à la surface de la margarine à cause d'une dessiccation superficielle.
- Défauts de structure** : sont nombreux, tels que l'aspect feuilleté lié à un malaxage excessif, l'aspect huileux dû à l'excès de matière grasse libre ou l'aspect sableux faute d'une cristallisation trop lente.
- Défauts de consistance** : ils se traduisent par une margarine dure et cassante ou à l'opposé molle dues respectivement à une solidification trop poussée ou insuffisante.

#### **I.1.8. 3. Altérations microbiologiques**

Les risques de contamination microbiologique de la margarine proviennent généralement de la phase aqueuse qui contient des éléments nutritifs pour différents microorganismes

(germes aérobies mésophiles, coliformes totaux et fécaux, levures et moisissures). L'air, l'appareillage de fabrication ou du conditionnement et le personnel peuvent également être une source potentielle de contamination (**Roger, 1974**).

L'altération microbiologique peut provoquer une altération de la qualité d'organoleptique telle que l'apparence, la texture, la saveur et voire même l'apparition de substances toxiques (**Karleskind, 1992**).

## **I.2. Généralités sur le beurre**

### **I.2.1. Historique**

Le beurre est un produit alimentaire très ancien (plus de 5000 ans) mais il reste à nos jours un produit très consommable. Au moyen âge, le beurre de fabrication fermière et artisanale était vendu sur les marchés, conservé dans des dépôts de grés et recouvert d'eau salée et largement consommé. Cependant la qualité du beurre a été médiocre par manque d'hygiène et de maîtrise technologique ; il a fallu attendre le milieu du XX<sup>e</sup> siècle pour assister à l'essor de l'industrie beurrière, puis à la généralisation de la pasteurisation et en fin la prise en compte de l'importance de l'hygiène. Aujourd'hui, les progrès technique ont assurés au beurre des qualités organoleptiques et bactériologiques satisfaisantes et une bonne conservation sans altération et en quantité importante (**Boutonnier, 2007 ; Pointurier et Adda., 1969**).

### **I.2.2. Définition**

Selon la norme codex alimentaire (CODEX STAN A-1-1971, Rév.1-1999) et l'article 2 et 3 de l'arrêté interministériel du 10 /12 /1998 (journal officiel algérien N 96/23-12-1998), le beurre est défini comme un produit alimentaire obtenu exclusivement à partir du lait et/ou de produits issus principalement du lait sous forme d'une émulsion du type eau dans huile. Il doit présenter pour 100g de produit fini, 82g de matière grasse au minimum, 2g de matière sèche non grasse et 16g d'eau au maximum.

### **I.2.3. Composition et valeurs nutritionnelles du beurre**

C'est une très bonne source de vitamines principalement la vitamine A et D ; sa consommation raisonnable permet à l'organisme de bénéficier d'un ensemble d'acides gras et d'autres éléments indispensables (**Tableau I**).

### **I.2.4. Caractéristiques du beurre**

Les caractéristiques du beurre sont directement liées à la composition de la matière grasse et aux microorganismes présents à la base dans le lait. Cela donne au beurre les différentes caractéristiques suivantes :

**Tableau I.** Principaux composants et valeurs nutritionnelle du beurre (**Apfelbaum et Simpoulos, 2004**)

Composants du beurre	Teneurs
<b>La phase grasse</b>	<p>-<b>Triglycérides</b> (82%) dont : Acides gras saturés : 58 à 73%            Acides gras mono insaturés : 22 à 38%            Acides gras poly insaturés : 1,58 à 3,5 %            -<b>Phosphatides</b> (de 0,2 à 1 %).            -<b>Cholestérol</b> (de 250 à 270 mg/kg).            -<b>Carotène</b> (de 3 à 9 mg/kg).            -<b>Vitamine A</b> (de 9 à 30 mg/kg).            -<b>Vitamine D</b> (de 0,002 à 0,040 mg/kg).            -<b>Vitamine E</b> (de 8 à 40 mg/kg).</p>
<b>La matière sèche</b>	<p>-<b>Lactose</b> (de 0,1 à 0,3%).            -<b>Acide lactique</b> (0,15% dans le beurre de crème acide).            -<b>Matières azotées</b> (de 0,2 à 0,8 %) dont la caséine (de 0,2 à 0,6%), la lactalbumine (de 0,05 à 0,1%), les protéines membranaires, les peptides, les acides aminés (traces).            -<b>Sels</b>, le NaCl d'apport 0,1 % dont les citrates 0,02%.            -<b>Métaux lourds</b> dont le cuivre (40 à 300µg/kg).            -<b>Vitamine C</b> (3 mg/kg) et B12 (0,8mg/kg).</p>

#### **I.2.4.1. Caractéristiques microbiologiques et organoleptiques**

Le beurre peut contenir tous les germes rencontrés dans le lait ; les bactéries lactiques (*Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus diacetylactis* et *Leuconostoc citrovorum*) responsables de l'acidité et de l'arôme caractéristique du beurre. L'odeur est aussi produite par les composés volatils issus de la fermentation lactique induite par ces microorganismes.

Cependant, leur développement excessif peut entraîner une forte acidité favorisant la croissance de certains germes particulièrement les levures et les moisissures. Ces derniers peuvent, au contraire, altérer le goût et entraîner l'apparition des pigmentations et de Le



beurre peut être contaminé par des germes pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, des levures (*Candida*, *Rhodotorula*) et des moisissures. Durant le stockage, le beurre est également exposé aux contaminations microbiologiques par certains germes, généralement psychrophiles, provoquant différentes formes d'altérations (oxydation, lipolyse, coloration ou décoloration anormales) (Guiraud, 1998).

#### **I.2.4.2. Caractéristiques physicochimiques**

Elles varient avec la race de l'animal, la période de lactation, l'alimentation et les saisons. Au printemps et à l'été, l'augmentation de la proportion des acides gras insaturés, à faible poids moléculaires et à bas poids de fusion, se traduit par une consistance molle et une texture grasseuse du beurre. Par contre à l'automne et à l'hiver, le beurre a une consistance et une texture collante résultant d'augmentation de la proportion des acides gras saturés, à poids moléculaires élevés et à haut poids de fusion. (Carole, 2002).

#### **I.2.5. Catégories du beurre**

Le beurre est classé selon certains critères, notamment la teneur en matière grasse, la teneur en sel et le traitement au cours de sa fabrication. Les différents types sont résumés dans le **Tableau II** (Veisseyre, 1975).

**Tableau II.** Différent types de beurre (Veisseyre ,1975).

Type de beurre	Caractéristiques
<b>Beurre cru</b>	C'est le produit émulsionné, obtenu à partir des matières lactiques n'ayant pas subi au préalable une pasteurisation.
<b>Beurre allège</b>	Produit émulsionné, contenant pour 100g de produit fini, 41g Min 65g au Max de matière grasse lactique.
<b>Beurre concentré</b>	Produit émulsionné, contenant pour 100g de produit fini 95g de matière grasse lactique.
<b>Beurre de cuisine</b>	Contient aux Min 96% de matière grasse lactique.
<b>Beurre demi-sel</b>	Il a une teneur en sel supérieur à 0,5g et en plus égale à 2g pour 100g
<b>Beurre salé</b>	Il présente une teneur en sel > 3%.
<b>Beurre fin</b>	Il Ne doit pas contenir plus de 30% de matière grasse la crème est congelée ou surgelée.
<b>Beurre extrafin</b>	Il est issu d'une crème pasteurisée, non congelée ni surgelée et fabriquée 72h au plus tard après la collecte, le barattage de la crème a lieu au plus tard 48h après écrémage.
<b>Beurre pasteurisé</b>	C'est un beurre fabriqué à partir du lait ou de la crème pasteurisé.
<b>Beurre baratte</b>	Cette appellation ne peut s'appliquer qu'à des beurres fabriqués à l'aide d'une baratte pour la totalité du cycle de fabrication.

### I.2.6. Conservation du beurre

Le beurre est une matière très altérable à la chaleur ou à la lumière, il prend vite le goût des produits qui l'entourent, et il ne se conserve pas longtemps du fait de ses qualités bactériologiques. Pour remédier à cela, différents moyens et différentes méthodes sont mis en œuvre pour assurer sa conservation dans les meilleures conditions possibles (Veisseyre, 1975) :

- **Salage** : est généralement réalisé à sec, en malaxant le beurre avec du sel très fin et parfaitement pur. Cette méthode n'est valable que pour préparer les beurres peu salés (Veisseyre, 1975).
- **Réfrigération** : à une température de 4°C pendant quelques semaines (3 semaines au moyenne), la réfrigération permette de conférer au beurre une texture et une consistance souhaitable (Roger, 1979).
- **Congélation** : Une conservation à long terme (des mois) exige une congélation du beurre à des températures entre (-18,-25°C), ce qui diminue fortement l'activité lipolytique et inhibe le développement des microorganismes (Roger, 1979).

### I.2.7. Altérations du beurre

Ce sont soit d'origine chimique ou microbiologique :

- **Acidification ou rancissement butyrique** : Elle correspond à la libération des acides gras par une réaction d'hydrolyse enzymatique (d'origine microbienne), les acides gras libérés ont des goûts, odeurs plus ou moins fortes (on dit aussi rance) et désagréable (cas de l'acide butyrique), de plus ils ont tendance à s'oxyder beaucoup plus rapidement c'est pourquoi l'acidification est souvent accompagnée de l'oxydation (Fredot, 2006).
- **Oxydation** : l'oxydation de la matière grasse est un défaut d'ordre chimique intervenant lors de stockage du beurre. Elle a lieu sous l'action de l'oxygène qui est le principal facteur de la détérioration des corps gras. Une faible concentration en oxygène est suffisante pour déclencher ce processus d'attaque moléculaire au niveau des doubles liaisons des acides gras insaturés en donnant le peroxyde. La décomposition de ce dernier donne des composés carbonyles tel que : les aldéhydes et des cétones responsables de l'odeur de rance (Fredot, 2006).

-

### I.3. Comparaison générale entre le beurre et la margarine

A la différence du beurre, la margarine n'est pas fabriquée à partir du lait. L'origine de ses acides gras est diverse, principalement végétale. A l'heure actuelle une grande variété de corps gras, allant des huiles végétales plus ou moins hydrogénées. Les caractéristiques du beurre et de la margarine donne à chacun des avantages et des limites (**Tableau III**) (**Cheftel et Cheftel, 1977 ; Bauer, 2004**).

Les margarines sont actuellement préparées avec des huiles contenant principalement des acides gras en C18. Elles consistent en un mélange de 2 ou 3 qualités d'huile partiellement hydrogénée. La margarine peut être un bon compromis nutritionnel entre l'huile et le beurre pour certaines utilisations (**Cheftel et Cheftel, 1977 ; Bauer, 2004 ; Aboke et al., 2008**).

**Tableau III.** Avantages et inconvénients du beurre et de la margarine. (**Laurie et Mathilde, 2008**)

	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
<b>Beurre</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Ne contient pas d'additifs</li> <li>-Ne contient pas de colorants</li> <li>-Ne contient pas d'arômes artificiels</li> <li>-Contient des vitamines (A, D et E)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Source d'acide Gras Trans (AGT) d'origine naturelle</li> <li>Riche en Acide Gras Saturé (AGS)</li> <li>-Présence de cholestérol</li> <li>-Durée de conservation limitée à 4-5 semaines</li> </ul>
<b>Margarine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Contient de nombreuses vitamines (A, D et E)</li> <li>-Source d'Acide Gras Poly Insaturé (AGPI) (ex: huile de tournesol)</li> <li>- Source d'Acide Gras Mono Insaturé (AGMI) (ex: huile de colza)</li> <li>- Source d'Omega 3 (possible rapport oméga 3 et 6 optimal)</li> <li>- Ne contient pas de cholestérol</li> <li>-Longue durée de conservation (14 semaines)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Source d'AGT d'origine industrielle</li> <li>-Peut contenir de l'huile de palme et de coco (effet identique aux AGS)</li> <li>-Additifs industriels (émulsifiants, stabilisateurs, colorants, arômes)</li> <li>-Matière grasse d'assaisonnement exclusivement</li> </ul>



**II.1. Lieu et durée de l'étude**

Notre travail a été effectué au laboratoire de contrôle de qualité à la margarinerie "BELLAT" de Meftah, pendant 4 mois (mars 2017 jusqu'à juin 2017). L'organisation générale de l'entreprise est représentée dans la partie annexe (**annexe I**).

**II.2. Objectifs**

Notre étude a porté sur l'étude de la qualité physico-chimique, microbiologique de margarine de feuilletage "El Horra". L'analyse a concerné les matières premières, le produit semi-fini et fini ainsi que le suivi de leur conservation pendant le stockage. A coté de cette étude, nous avons également contrôlé la qualité bactériologique de six échantillons du beurre cru, provenant de différents laitiers à Blida. Les analyses du beurre ont été réalisées au niveau de laboratoire d'hygiène de Blida.

**II. 3. Matériel****II.3.1.Matériel non biologique**

Les milieux de culture pour la recherche et le dénombrement des microorganismes, les produits chimiques de bonne qualité, les réactifs et l'appareillage utilisés pour la réalisation des différentes expérimentations sont représentés dans la partie annexe (**Annexe II**).

**II.3.2.Matériel biologique**

Notre étude a consisté principalement à effectuer l'analyse microbiologique et physico-chimique de margarine "El Horra" (margarine de feuilletage) conditionnée en plaquette de 200g (**Tableau IV**). Les analyses ont été réalisées sur :

- **Matière première** : l'eau, le mélange des huiles végétales ou blend (huile de soja-huile de palme-huile de tournesol).
- **Produit semi fini** : mélange des matières premières après agitation.
- **Produit fini** : margarine conditionnée.

## II.4. Méthodes

L'ensemble des analyses, physico-chimiques et microbiologiques, effectuées à fin d'évaluer la qualité de margarine tout au long de la chaîne de fabrication (**Annexe III**) sont résumés dans le **tableau V**. Les modes opératoires détaillés des techniques sont mentionnés en **annexe IV**.

**Tableau IV.** Caractéristiques de la margarine de feuilletage "El Horra".

<b>Dénomination</b>	Margarine Bellat (El Horra)
<b>Matières premières</b>	Huiles végétales (huile de palme +huile de soja +huile de tournesol)
<b>Caractéristiques du produit</b>	pH=5 humidité =20% matières grasses = 39-40% Phase grasse (émulsifiant, anti oxydant, arôme, colorant, vitamine A) Phase aqueuse (sorbit de potassium, acide citrique, Sel, conservateur)
<b>Conditionnement</b>	Complexe de papier triplex (contient 3 couche : papier d'aluminium, sulfurisé, et de polyéthylène).
<b>Présentation commerciale</b>	Plaquette de 200g
<b>Durée moyenne de consommation</b>	12 mois
<b>Goût</b>	Goût de beurre frais.
<b>Couleur</b>	Jaune pale due a l'huile de palme naturellement coloré
<b>Texture</b>	Molle et ne présentent pas de grains et de taches
<b>Tartinabilité</b>	Malléabilité qui permet à la margarine de s'aplatir
<b>Fabricant</b>	Entreprise Bellat (59 houche Hafiz Route de Meftah, Blida)

**Tableau V.** Différentes analyses physico-chimiques et microbiologiques effectuées pour la margarine.

Analyses effectuées		Blend	Produit semi-fini	Produit fini	Produit fini conservé
Analyses physico-chimiques	pH	-	+	+	+
	Humidité	+	+	+	+
	Acidité	+	+	+	+
Analyses microbiologiques	Germes aérobies mésophiles totaux	+	+	+	+
	Coliformes fécaux	+	+	+	+
	<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	+
	<i>Salmonella</i>	+	+	+	+
	Levure et moisissure	+	+	+	+

(-). Analyse non effectuée (+). Analyse effectuée

#### II.4. 1. Méthodes d'échantillonnage

Conformément aux normes, l'échantillonnage est effectué selon le procès d'échantillonnage de la margarinerie. Pour cela, les échantillons aux différents points de fabrication (matière première, produit semi-fini et fini) sont prélevés au hasard, d'une manière aseptique en utilisant un matériel stérile, propre et sec pour ne pas influencer les propriétés du produit .

L'échantillonnage est effectué par la fréquence suivante :

- Les huiles fluides sont contrôlées une seul fois à la réception (7 fois durant la période du stage, n=7).
- Les produits semi-finis contrôlés 3 fois durant la période du stage à partir de la cuve de production.
- Les produits finis frais ont été contrôlés chaque jour à partir d'un échantillonnage au hasard à une fréquence de 3 fois par jour (n=30 échantillons) juste après la production selon le procès d'échantillonnage.



- Les produits finis conservé ont été contrôlé 5 fois durant la période du stage stocker dans une chambre froide a une T de 2-7°C (échantillon de 2 mois, 5mois ,8mois, 9mois et 10 mois)

Les prélèvements ont été effectués de la manière suivant :

- **Prélèvement de blend ou matières premières** : au niveau de son arrivage dans les camions à citernes (25000L), une prise d'échantillon est effectuée à l'aide d'un flacon stérile (200g), après la désinfection des deux couvercles de la citerne par un coton imbibé d'alcool.
- **Prélèvement de produit semi fini** : le prélèvement se fait à partir de cuve de production dans un bécher stérile avec des mains bien nettoyé et désinfectées.
- **Prélèvement de produit fini** : est réalisé par une prise de 3 plaquettes de chaque production pour les analyses physico-chimiques et 5 plaquettes pour les analyses microbiologiques. Selon la norme **JORA**

## II.4. 2. Méthodes d'analyse physico-chimique

### II.4. 2.1. Détermination de l'humidité

L'humidité (H) c'est la détermination de la teneur en eau (%) de la margarine par pesé après dessiccation totale. Elle consiste à faire évaporer l'eau d'une quantité connue de margarine à 103°C, en présence de sable.

Un échantillon de 5 à 7 g est déposé dans une capsule en inox puis séché dans un dessiccateur réglé à 103°C. Le pourcentage de l'humidité calculé à partir de la formule ci-dessous, s'affiche directement sur l'écran de l'appareil.

$$H\% = \frac{M1 - M2}{\text{prise d'échantillon}} * 100$$

- Avec :
- M1 est la masse de la capsule avec l'échantillon avant chauffage (g)
  - M2 est la masse de la capsule avec l'échantillon après chauffage(g)
  - Prise d'échantillon (g)

**II.4. 2.2. Détermination de l'acidité titrable**

L'acidité est l'expression conventionnelle du pourcentage en masse d'acides gras libres. C'est le nombre de milligrammes d'hydroxyde de sodium nécessaire pour neutraliser les acides gras libres contenus dans 100 g de matière grasse.

Elle consiste à la mise en solution d'un échantillon de la matière grasse ou de la margarine dans de l'alcool neutralisé puis le titrage des acides gras libre par une solution de NaOH en présence d'indicateur coloré.

**II.4. 2.3. Détermination du pH**

Le pH ou le potentiel d'hydrogène est une mesure de la concentration totale en ion  $H_3O^+$ , il est mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre, muni d'une électrode en verre.

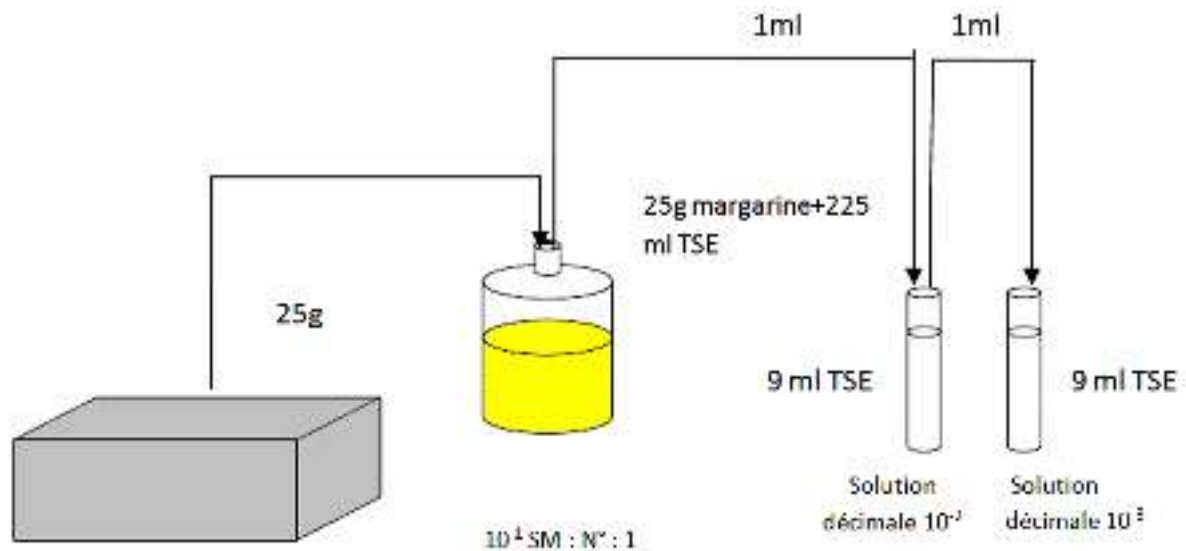
**II.4. 3. Méthodes d'analyse microbiologique**

L'objectif principal du contrôle microbiologique de la margarine est de révéler la présence ou le risque de prolifération des microorganismes indésirables, capables d'altérer la qualité de produit final. Les normes du contrôle microbiologique sont tirées du journal officiel algérien N 96/23-12-1998.

Le contrôle bactériologique du beurre cru est effectué de la même manière que celui de la margarine, utilisant les mêmes techniques et suivants les mêmes normes (journal officiel algérien N 96/23-12-1998).

Toutes les analyses microbiologiques sont réalisées avec des dilutions décimales de l'échantillon effectuées selon la norme **AFNOR NF V 08-010 de mars 1996 parallèlement avec la norme ISO 6887 de 1983**. Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques en respectant la condition que l'analyse doit se faire dans les limites de 45minutes après la préparation de la suspension.

Les dilutions sont préparées en introduisant aseptiquement à l'aide d'une spatule stérile 25g d'échantillon dans un flacon stérile contenant au préalable 225ml du milieu TSE (Tryptone sel eau), cette suspension constitue la solution mère ( $10^{-1}$ ). Le flacon est par la suite porté au bain marie à 45 C°. Après agitation et un temps du repos, on obtient la séparation des deux phases grasse et aqueuse, le prélèvement s'effectue sur la phase aqueuse à partir de laquelle des dilutions au dixième ( $10^{-2}, 10^{-3}$ ) sont réalisées (**Figure 2**).

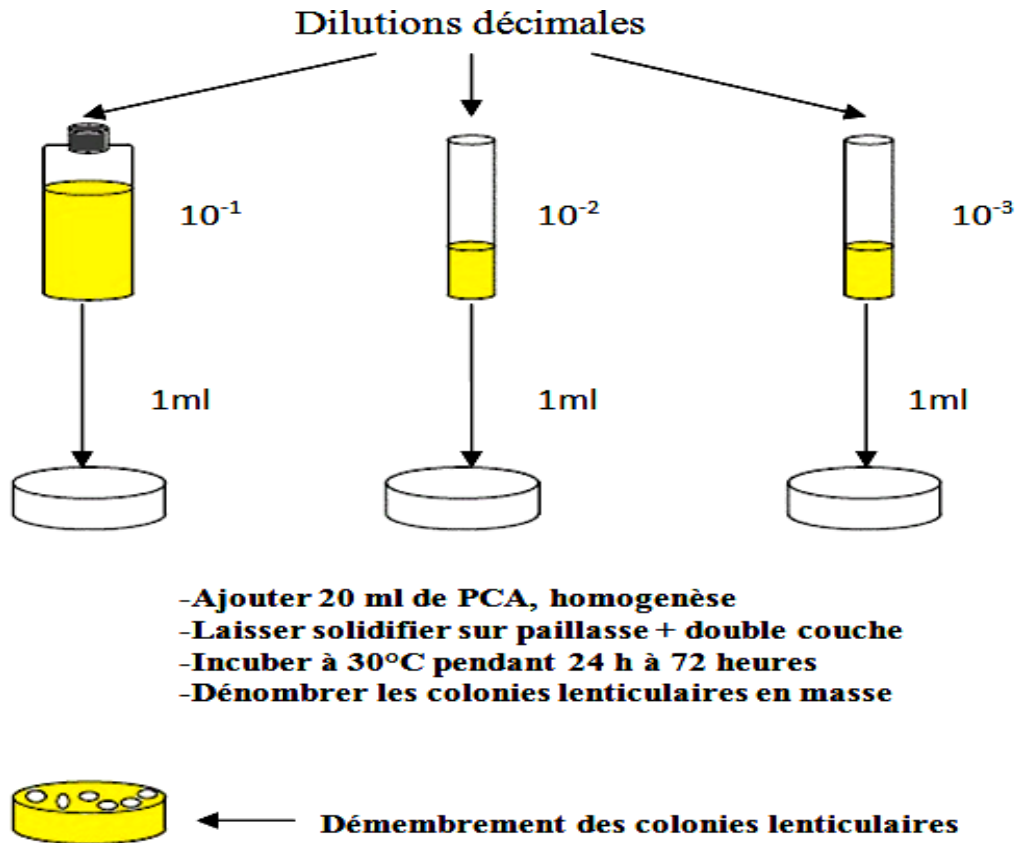


**Figure2.** Préparation de la solution mère et des dilutions décimales de la margarine

#### II.4. 3.1. Dénombrement des germes aérobies totaux

Il s'agit de l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance comprises entre 20 à 45°C. Cette microflore peut renfermer des microorganismes pathogènes pour l'homme et l'animal mais également des microorganismes d'altération variés (**Bonnefoy et al., 2002**).

L'ensemencement en masse se fait sur le milieu Plate Count Agar ou PCA (milieu riche permettant le développement de la plupart des microorganismes susceptibles d'être rencontrés dans un aliment). un ml de chaque dilution est ajouté à 15ml de gélose PCA en surfusion (environ 45°C), suivi par des mouvements circulaires d'homogénéisation. Après solidification à température ambiante, les milieux sont incubés à 30°C pendant 72 heures, avec une lecture chaque 24 heures. Après incubation, les colonies présentent sous forme lenticulaire en masse et de couleur blanchâtre sont dénombrées en prenant en considération que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies. Les résultats sont exprimées en germes /g ou germes /ml ou bien UFC/g ou UFC /ml de produits à analyser, après multiplication par l'inverse de la dilution (**Figure 3**).



**Figure 3.** Recherche et dénombrement des germes aérobies totaux

#### II.4. 3.2. Dénombrement des coliformes fécaux et totaux

Les coliformes sont des bacilles à Gram-négatif, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs. La recherche des coliformes fécaux principalement *Escherichia coli* (*E coli*) estime l'ampleur de la contamination fécale du produit. La recherche et le dénombrement des coliformes totaux sont réalisés soit :

-**Sur milieux solide VRBL** (Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre) qui referment une faible teneur en sel biliaires et citrate suffisante pour inhiber la majeure partie de la flore à Gram-positif tout en préservant le développement des coliformes, en plus il renferme de lactose et le rouge neutre comme indicateur de pH.

-**Sur milieu liquide** par la technique du nombre le plus probable (NPP) à l'aide de bouillon BLBVB (bouillon lactose bilié au vert brillant).

Dans notre analyse, 1 ml de l'échantillon (la dilution primaire ou des dilutions décimales) est ensemencé en masse dans la gélose VRBL. Après solidification, les boîtes sont incubées à 35°C pendant 24 à 48 h pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes

fécaux. Les coliformes fécaux apparaissent sous forme de petites colonies fluorescentes de couleur violacée et parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile. Le dénombrement et l'expression est semblable à celui des germes aérobies totaux (**Figure 4**).

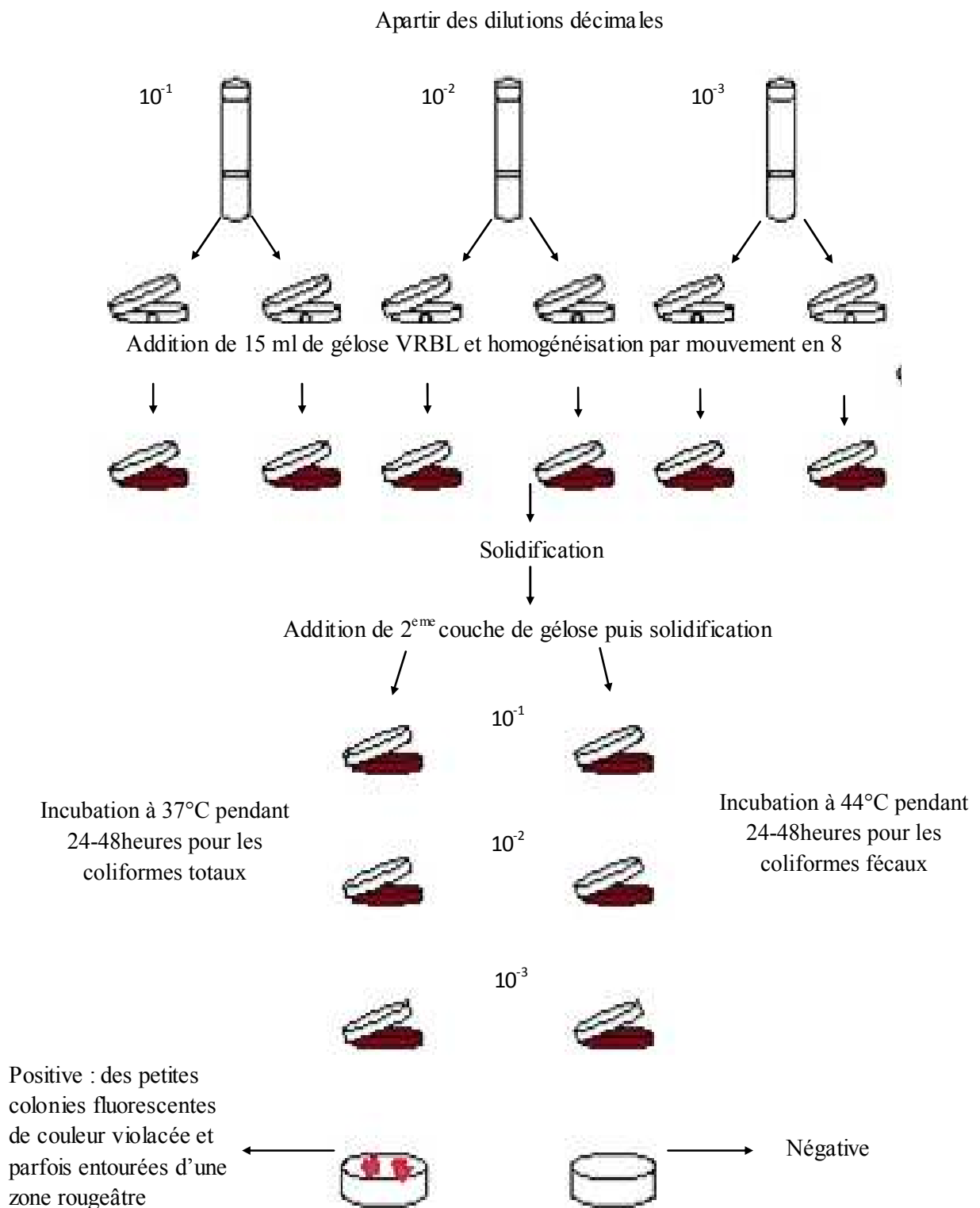
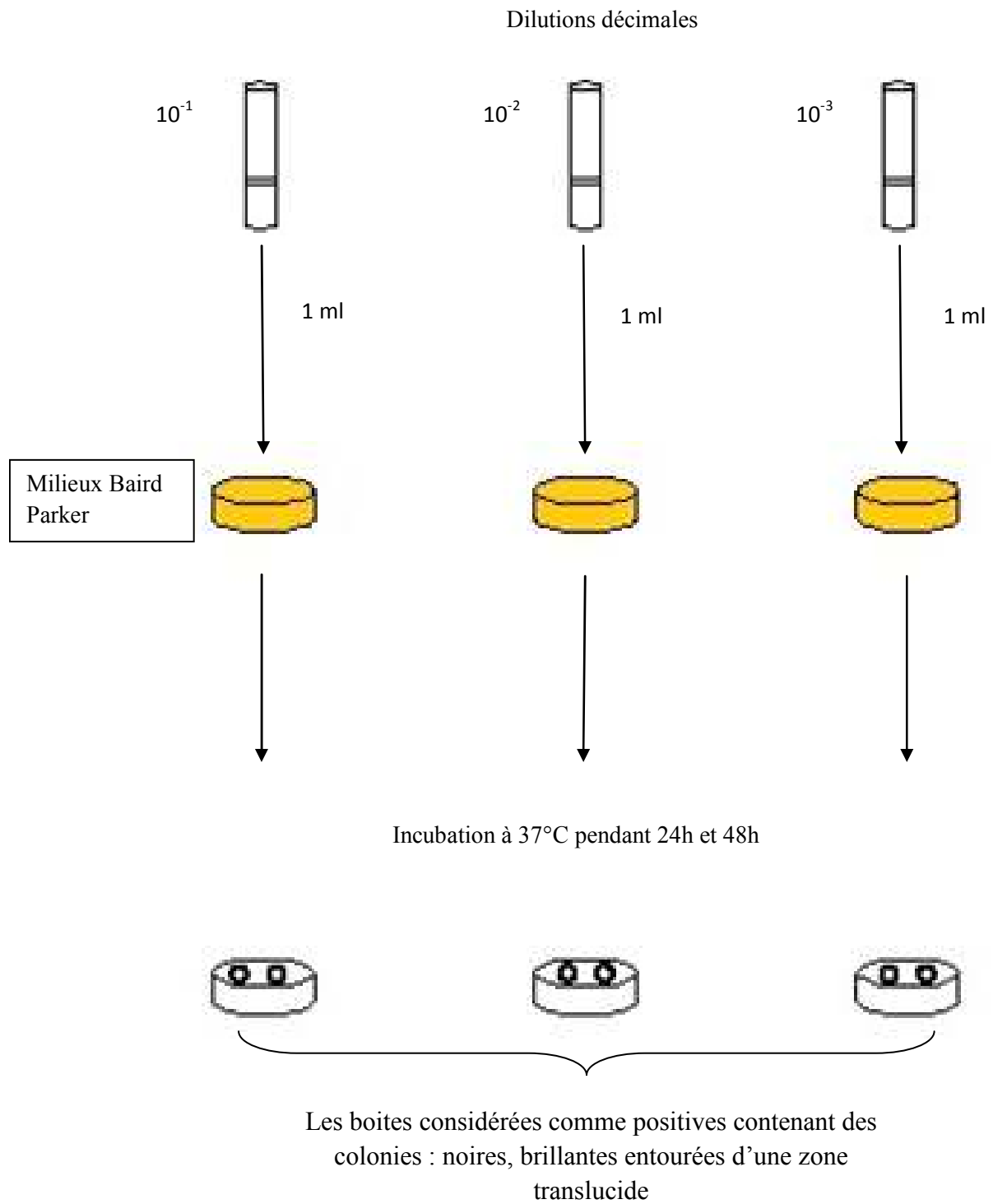


Figure 4. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux

**II.4. 3.3. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus***

Les *Staphylococcaceae* sont une famille des cocci à Gram-positif, immobiles, asporulés groupés généralement en amas. La recherche et le dénombrement des staphylocoques (*Staphylococcus aureus*) sont réalisés sur gélose sélective de Baird Parker additionné du tellurite de potassium.

L'ensemencement est effectué par un étalement de 1 ml d'échantillon à la surface de gélose. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, les colonies positives se révèlent par un noircissement dû à la réduction de tellurite en tellure noir révélant ainsi la croissance des staphylocoques (**Figure 5**). Les colonies positives sont confirmées par d'autres tests ; principalement par le test de coagulase.



**Figure 5.** Recherche et dénombrement des staphylocoques



**II.4. 3.4. Recherche des Salmonelles**

Les salmonelles sont des entérobactéries qui ne fermentent pas le lactose mais fermentent le glucose avec production des gaz et de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S). L'analyse est réalisée sur 25 g de produit solide ou 25 ml de produit liquide et passe par les étapes suivantes (**Figure 6**).

- **Prés enrichissement (1<sup>er</sup> jour)** : le produit à analyser est mélangé avec de l'eau peptones Tamponée (EPT) et incubé, après homogénéisation, à 37°C pendant 18 à 24 heures (Résultats positifs : observation d'une coloration rouge brique).
- **Enrichissement sélectif (2<sup>ième</sup> jour)** : L'enrichissement s'effectue principalement avec le bouillon sélénite-cystéine (SFB), simple ou double concentré. Il consiste à porter aseptiquement un volume de la suspension de pré-enrichissement dans ce bouillon puis incubé à 37°C pendant 18 à 24 heures. Le virage de la couleur jaune au rouge brique indique un résultat positif.
- **Isolement (3<sup>ième</sup> jour)** : Les échantillons positifs sont ensemencés sur gélose Hektoen, puis incubés à 37°C pendant 24 heures.
- **Lecture et identification (4<sup>ième</sup> jour)** : L'apparition de colonies grises bleu à centre noir indique la présence de Salmonella.

L'identification biochimique est aussi indispensable pour éviter toute confusion avec d'autres germes. Elle se fait par :

- Coloration de GRAM pour vérifier que ce sont des bacilles gram négatifs.
- Ensemencement en pique central et en strie dans le milieu TSI suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 heures. Le résultat positif se traduit par le virage du rouge au jaune du culot et de la pente, ainsi la production de gaz qui se manifeste par la présence des bulles d'air dans la gélose à côté d'un noircissement de la pente lié à la production de H<sub>2</sub>S.

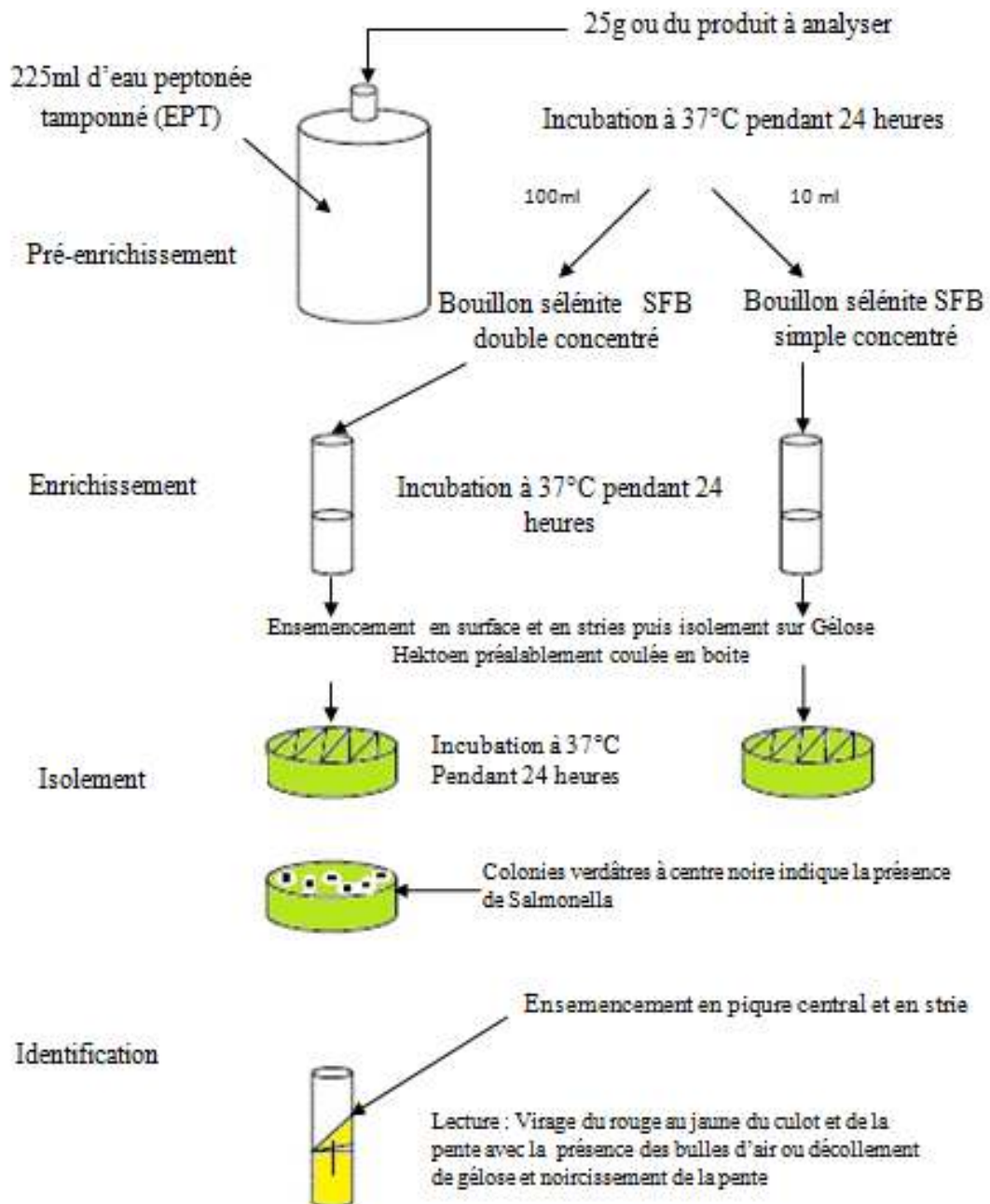
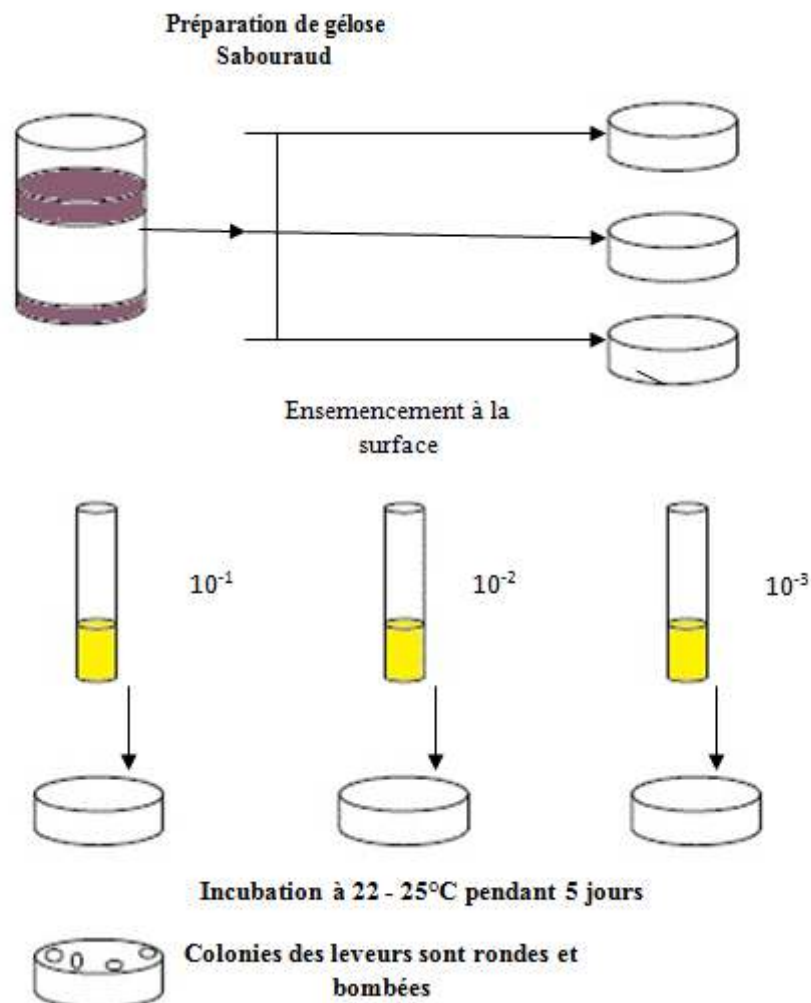


Figure 6. Recherche des Salmonelles

### II.4. 3.5. Recherche et Dénombrement des levures et moisissures

La recherche des levures et des champignons est réalisée sur gélose Sabouraud par un ensemencement en surface (**Figure 7**). Après préparation des milieux, les dilutions décimales sont ensemencées par étalement à la surface des géloses. L'incubation se fait pendant 5 jours à 25°C. Les colonies des levures sont rondes et bombées, brillantes et de couleur blanche rarement pigmentées, contrairement aux champignons qui sont granulaires et pigmentés.



**Figure 7.** Recherche et Dénombrement des levures et moisissures

**II.5.Expression statistique des résultats**

Tous les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type, le calcul des moyennes et d'écart-type est effectué en utilisant le logiciel Prism.5.

### III.1. Qualité physico-chimique de la margarine

Au niveau de l'unité de production, la matière première (mélange des huiles non hydrogénées), le produit semi fini (émulsion) et le produit fini (margarine) subissent différents contrôles physico-chimiques afin de déterminer leur qualité. Les paramètres mesurés sont : le pH, l'acidité et l'humidité.

La margarine étudiée dans notre travail est une margarine solide destinée au feuilletage et à l'utilisation dans les pâtes levées feuilletées. Le caractère principal de cette catégorie de margarine est la bonne plasticité adaptée aux contraintes mécaniques et à l'échauffement subis lors du feuilletage. La composition de la matière grasse définit directement la plasticité de ce produit, un pourcentage adapté supérieur à 30% (au moyenne de 46%) d'acide gras saturés donne l'aspect solide mais malléable à cette margarine (**Saillard, 2010**).

#### III.1.1. Qualité physico-chimique des matières premières

Les résultats des analyses physico-chimiques de l'huile hydrogénée sont mentionnés dans le **Tableau VI**. Les valeurs de l'acidité de l'huile non hydrogénée sont situées entre 0,01% et 0,12% avec une moyenne de  $0,0575 \pm 0.04$ , alors que l'humidité est de 0%. Ces valeurs sont conformes aux normes adoptées par l'unité de production (**Iso 660**) qui exigent une humidité de 0 % et une acidité inférieure ou égale à 0.20% pour la matière première.

**Tableau VI.** Résultats des analyses physico-chimiques des huiles non hydrogénées.

	Prélèvements							Norme de l'entreprise	
	1	2	3	4	5	6	7		Moyenne
<b>Humidité (%)</b>	0	0	0	0	0	0	0	0±0	0
<b>Acidité (%)</b>	0,09	0,07	0,12	0,04	0,02	0,01	0,08	$0,0575 \pm 0.04$	≤0,20%

Selon **Benhayoun (2007)**, l'acidité ne se perçoit jamais sous forme de goût acide, comme par exemple un goût de moisi, seules des analyses en laboratoire signalent l'acidité. Souvent le consommateur confond le piquant qu'il sent dans la gorge quand il goute une huile récente avec l'acidité, mais c'est une erreur, l'acidité indique le pourcentage d'acides gras libres en acide oléique. En effet, l'acidité oléique est la principale mesure de la dégradation hydrolytique des huiles dont la limite réglementaire est de 0.8% pour la qualité vierge extra

alors qu'elle peut atteindre 2.0% pour l'huile vierge, les valeurs basses sont en principe en faveur d'une meilleure qualité.

D'un autre côté, les valeurs d'humidité retrouvées à 0%, indiquent l'efficacité du traitement de séchage et de déshydratation du produit, ce qui est en faveur d'une bonne protection contre l'altération par hydrolyse et montrent ainsi que la matière première utilisée est d'une excellente qualité.

### III.1.2. Qualité physico-chimique des produits semi-finis

Au cours de notre étude nous n'avons effectué que 3 prélèvements pour le produit semi-fini à cause de la difficulté de l'échantillonnage et les risques de contamination. Les résultats obtenus lors de la détermination du pH, d'acidité et de l'humidité de ce produit sont résumés dans le **tableau VII**.

**Tableau VII.** Résultats des analyses physico-chimiques des produits semi-finis.

	Prélèvements				Norme de l'entreprise
	1	2	3	Moyenne	
<b>Humidité (%)</b>	19	20,02	20	19,67±0,44	18- 20
<b>Acidité (%)</b>	0,17	0,20	0,17	0,18±0,01	≤0,20%
<b>pH</b>	5,5	4,90	5,8	5,4±0,33	4,80-6

Les résultats des 3 prélèvements montrent un pourcentage d'humidité qui varie entre 19 % à 20 % (avec une moyenne de 19,67±0,44) mais qui reste dans les limites des recommandations (18- 20%). Les valeurs de l'acidité comprises entre 0,17% et 0,20% sont également conformes à la norme de l'entreprise.

Le pH est un indicateur important dans l'appréciation de la qualité physico-chimique de la margarine, on remarque que tous les résultats sont dans l'ensemble conformes aux normes qui doivent être compris entre 4,80 à 6.

**III.1.3. Qualité physico-chimique des produits finis frais**

L'humidité, l'acidité et le pH de margarine conditionnée, fraîche ou conservée, sont mesurés suite à un échantillonnage aléatoire à partir de différents lots et avec une fréquence de 3 fois par jour. Les résultats relatifs à chaque paramètre sont résumés dans le **tableau VIII**.

Tableau VIII. Résultats des analyses physico-chimiques des produits finis frais.

Dates du prélèvement	Humidité (%)			Moyenne
	13/03/2017	19,3	20	
28/03/2017	19,81	20	18,03	19,28±0,83
23/04/2017	20	20,01	19	19,67±0,44
24/04/2017	19,58	19,23	19,18	19,33±0,16
25/04/2017	20,02	20	19,89	19,97±0,05
27/04/2017	19,62	19,57	20	19,73±0,18
14/05/2017	19,02	20	19,88	19,63±0,40
17/05/2017	18,23	19	18,34	18,52±0,38
21/05/2017	19,9	20	20,01	19,97±0,04
28/05/2017	19,02	18,89	18,98	18,96±0,04
22/05/2017	19,04	19,24	20	19,42±0,38
03/06/2017	18,03	18,9	18,54	18,49±0,30
06/06/2017	18,06	18,7	19	18,58±0,35
<b>Norme</b>	<b>18- 20%</b>			
Dates du prélèvement	Acidité (%)			Moyenne
	13/03/2017	0,11	0,17	
28/03/2017	0,16	0,16	0,19	0,17±0,01
23/04/2017	0,17	0,17	0,16	0,16±0,00
24/04/2017	0,17	0,19	0,17	0,17±0,00
25/04/2017	0,16	0,14	0,16	0,15±0,00
27/04/2017	0,17	0,14	0,14	0,15±0,01
14/05/2017	0,14	0,17	0,16	0,15±0,01
17/05/2017	0,17	0,18	0,17	0,17±0,00
21/05/2017	0,17	0,16	0,16	0,16±0,00
28/05/2017	0,16	0,13	0,17	0,15±0,01
22/05/2017	0,14	0,16	0,14	0,14±0,00
03/06/2017	0,13	0,16	0,18	0,15±0,01
06/06/2017	0,17	0,17	0,16	0,16±0,00
<b>Norme</b>	<b>≤0,20%</b>			
Dates du prélèvement	pH			Moyenne
	13/03/2017	4,9	5,8	
28/03/2017	5,4	5,5	5,4	5,4±0,04
23/04/2017	5,8	5,6	5,7	5,7±0,06
24/04/2017	5,06	4,8	5	4,95±0,10
25/04/2017	4,9	5,3	4,9	5,03±0,17
27/04/2017	5,9	6	5,8	5,9±0,06
14/05/2017	4,8	5,6	5,5	5,3±0,3
17/05/2017	4,9	4,8	5,02	4,9±0,07
21/05/2017	5,5	5,8	5	5,43±0,28
28/05/2017	5,3	4,9	5,5	5,23±0,22
22/05/2017	5,5	5,6	5,9	5,66±0,15
03/06/2017	5,03	5,09	5,2	5,10±0,06
06/06/2017	5,6	5,9	5,4	5,63±0,17
<b>Norme</b>	<b>4,80-6</b>			



Les résultats obtenus pendant les 4 mois n'ont pas enregistré de non conformité aux critères adoptés par l'entreprise (**Iso 6321 et Iso 660**) ; un pourcentage d'humidité moyen de  $18,49 \pm 0,30$  à  $19,97 \pm 0,04$  et d'acidité de  $0,14 \pm 0,00$  à  $0,17 \pm 0,0$  inclus dans les intervalles des normes, de même pour les valeurs du pH ( $4,9 \pm 0,07$  à  $5,9 \pm 0,06$ ).

Selon **Karleskind (1992)**, la mesure en pourcentage de l'humidité dans la margarine est essentielle, les fortes teneurs favorisent l'hydrolyse enzymatique et l'oxydation de la margarine ce qui peut altérer les qualités organoleptiques et microbiologiques en rendant le produit un milieu plus favorable à la croissance microbienne. En plus les faibles teneurs d'humidité sont une qualité recherchée dans les margarines destinées au feuilletage car elles améliorent l'aspect croustillant pour les pâtes feuilletées.

En général le pH des margarines est fixé entre 4,0 et 5,5 (il peut atteindre des valeurs de 3,0 à 3,5 dans certaines margarines de feuilletage), ces faibles valeurs freinent la croissance des microorganismes mais si elles dépassent certaines limites et en présence d'une acidité forte, elles peuvent conduire à une sensation acide et désagréable chez les consommateurs (**Karleskind et Wolff, 1992**).

Les valeurs obtenues dans notre résultat de l'acidité sont situées entre 0,11% et 0,24%. Ces résultats sont conformes aux normes de l'unité, inférieur ou égal à 0,2 %. D'après **Karleskind (1992)**, il est préférable de contrôler le pH de la phase aqueuse ; une valeur basse de ce dernier freine la croissance des microorganismes.

En général on fixe le pH entre 4,0 et 5,5 (dans certaines margarines de feuilletage on peut avoir des valeurs de 3,0 à 3,5). Ces faibles valeurs de pH, conduisent à une sensation acide, qui peut ne peut pas plaire aux consommateurs.

Les tests physico-chimiques effectués pour les échantillons aux différents points de fabrication révèlent une qualité physico-chimique satisfaisante et un produit fini qui répond aux exigences recommandées pour une margarine de feuilletage. Ils montrent aussi la bonne maîtrise du processus de fabrication au niveau de cette entreprise.

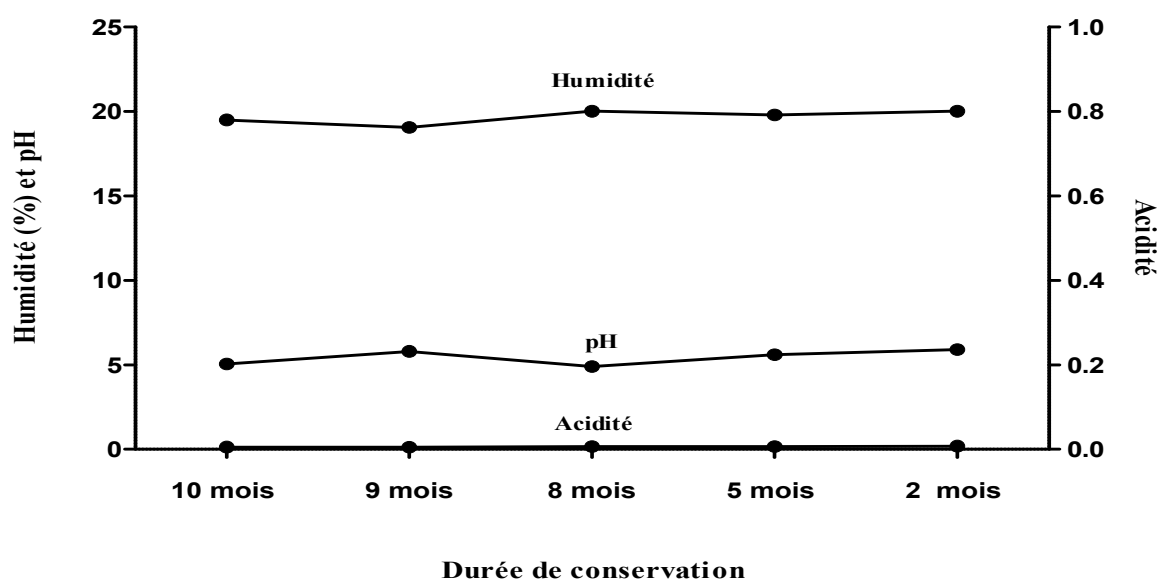
### III.1.4. Qualité physico-chimique des produits finis conservés

Dans cette étude nous avons également contrôlé la qualité physico-chimique des 5 échantillons conservés sous les conditions de conservation de l'entreprise (à l'abri de la lumière dans des chambres froides à température de 7°C). Les résultats des tests sont résumés au **tableau IX**, l'évolution de chaque paramètre en fonction de la durée de conservation est représentée dans la **figure 8**.

**Tableau IX.** Résultats des analyses physico-chimiques des produits finis conservés.

Durée de conservation	Acidité (%)	Humidité (%)	pH
10 mois	0,14	19,5	5,06
9 mois	0,12	19,06	5,8
8 mois	0,16	20,02	4,9
5 mois	0,17	19,8	5,6
2 mois	0,19	20,01	5,9
<b>Norme</b>	<b>≤0,20%</b>	<b>18-20%</b>	<b>(4,8-6)</b>

Le pH et l'humidité gardent une stabilité durant la période de conservation et ne présente aucune différence, cependant l'acidité a tendance de diminuer au cours de cette période. Néanmoins, les valeurs obtenues pour les trois paramètres restent conformes aux normes et stable au cours de conservation.



**Figure 8.** Evolution des paramètres physico-chimiques en fonction de la durée de conservation.

**III.2. Qualité microbiologique de la margarine**

La qualité microbiologique est un élément indispensable et déterminant dans un aliment. Pour cela nous avons cherché en déterminant la charge microbienne des germes capables d’altérer la qualité du produit et ceci suivant les recommandations du Journal officiel algérien N° 35 du 27 mai 1998.

A partir des résultats obtenus dans le **tableau X**, les différents produits analysés, y compris la margarine conservée, montrent l’absence totale des germes aérobies mésophiles totaux avec une absence totale des germes pathogènes (*Staphylocoques aureus*, *salmonella*). Les tests montrent aussi une absence totale des levures et des moisissures ainsi que les coliformes, ce qui révèle une bonne qualité microbiologique.

**Tableau X.** Résultats des analyses microbiologiques.

<b>Produits</b>	<b>Germes aérobies totaux</b>	<b>Coliformes totaux et fécaux</b>	<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	<b><i>Salmonella</i></b>	<b>Levures et Moisissures</b>
<b>Matières premières</b>	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
<b>Produits semi-finis</b>	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
<b>Produit fini frais</b>	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
<b>Produit fini conservé</b>	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
<b>Normes (MF)</b>	<b>10<sup>2</sup>-10<sup>3</sup> germes /g (max)</b>	<b>Absence</b>	<b>10-100</b>	<b>Absence</b>	<b>10 - 100 levures/g (max) &lt;1 moisissures/g (max)</b>
<b>Normes</b>	<b>(J.O.R.A.)</b> <b>Journal officiel N° 35 du 27 mai 1998 (annexe V)</b> <b>journal officiel N° 57 du 24 Septembre 1994</b> <b>IT : 08 pour MF</b>				

**MF** : Margarine de feuilletage

**IT** : Instruction de travail

En effet, l'absence totale des germes en particulier *Escherichia coli* dans la margarine indique un traitement thermique efficace (dans notre cas une pasteurisation à 80°C) et une bonne désinfection de l'appareillage, à coté de respect stricte des conditions d'hygiène (Vesina ,2003).

Ces résultats confirment également que le système de fabrication est totalement clos, donc le produit n'a aucun contact avec l'atmosphère de l'atelier. Sans négliger aussi l'effet des conservateurs additionnés tels que l'acide sorbique, l'acide citrique et même les sels. D'après **Faur (1992)**, le sel est considéré comme un agent antimicrobien efficace. L'acide sorbique inhibe surtout les moisissures, ainsi à un moindre degré les levures et même les bactéries, tandis que l'acide citrique a un effet antimicrobien notable.

Par ailleurs, le procédé de conservation de la margarine par le froid à 7°C, s'ajoute aux facteurs précités en expliquant ainsi les résultats conformes obtenus pour la margarine conservée et qui sont identiques à ceux de la margarine fraîche. En effet, le froid ralentit le développement des microorganismes, cependant la conservation à long terme peut sélectionner les espèces psychrophiles et psychotropes dont certains sont producteurs de lipases, ce qui nécessite un contrôle continu de produit au cours de conservation (**Jeantet et al ,2006 ; Cain, 2006**)

### **III.3. Qualité microbiologique du beurre cru**

Dans cette étude nous avons rajouté le contrôle microbiologique d'une matière grasse d'origine animale, le beurre cru. Les six échantillons analysés proviennent de différente crèmerie située à blida (meftah, l'arbaa ,beni marad bouinan ) . Le beurre est produit à base des crèmes crues et peut être considéré comme un beurre fermier.

Le beurre contient une microflore naturelle qui lui confèrent ses caractéristiques organoleptiques d'acidité et d'arome, principalement *Lactococcus lactis* et *Lactococcus cremoris* . En outre, certains germes lipolytiques et protéolytiques peuvent se développer et altérer la qualité du beurre en provoquant différentes formes d'altérations : oxydation, lipolyse, colorations ou décoloration anormales, ainsi à la libération des composés volatils aromatiques ayant une mauvaise répercutions sur la flaveur du beurre.

Les résultats des tests microbiologiques sont résumés dans le **tableau XI**.

**Tableau XI.** Résultats des analyses microbiologiques du beurre cru

Germes	Echantillons						Normes
	1	2	3	4	5	6	
<b>Germes aérobie Mésophiles totaux</b>	Absence	Absence	Absence	Absence	-	-	<b>3.10<sup>4</sup> UFC/g</b>
<b>Coliformes totaux</b>	Absence	10 <sup>2</sup> UFT/gr	10UFC /g	-	10 <sup>3</sup> UFC/g	10 <sup>2</sup> UFC/g	<b>10UFC/g</b>
<b>Salmonella</b>	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	<b>Absence</b>
<b>Staphylococcus aureus</b>	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	<b>10<sup>2</sup> UFC/g</b>
<b>Levures</b>	Absence	Absence	Absence	Absence	>10 <sup>3</sup> UFC/g	>10 <sup>3</sup> UFC/g	<b>10<sup>3</sup>UFC/g</b>
<b>Moisissures</b>	Absence	Absence	3.10 <sup>2</sup> UFC /g	37UFC/g	>3.10 <sup>2</sup> UFC/g	>3.10 <sup>2</sup> UFC/g	<b>3.10<sup>2</sup>UFC/g</b>

(-)analyse non effectué

Les résultats montrent une absence totale des germes aérobie mésophiles totaux et les germes pathogènes (*Staphylocoques*, *salmonella*). Les tests enregistrent une absence des levures dans les 2 premiers prélèvements contrairement aux autres où le nombre des levures et de moisissures dépasse les normes recommandées pour le beurre (**arrêté interministériel du 27/mai 1998 par le journal officiel de la RADP 35 N :98**) . Les résultats de cette analyse révèlent la qualité non satisfaisante de deux échantillons sur les six étudiés ce qui traduit une mauvaise fabrication et peut être une mauvaise conservation du beurre.

En effet, durant notre étude nous avons également noté le manque remarquable des entreprises spécialisées dans l'industrialisation du beurre, cela peut justifier en partie la qualité médiocre retrouvée dans certains échantillons.

## Conclusion

L'objectif tracé pour ce travail a porté sur l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologique d'une margarine de feuilletage produite par la margarinerie "Bellat". Ce contrôle a concerné la matière première, le produit semi-fini et fini frais ou au cours de la conservation. La qualité microbiologique du beurre cru, une matière grasse d'origine animale, est également contrôlée suivant les mêmes techniques utilisées pour le contrôle de la margarine.

Les résultats de l'analyse physico-chimique, depuis la matière première jusqu'au produit fini frais ou conservé, ont montrés une conformité aux normes.

L'absence totale des germes recherchés. Ces résultats certifient aussi la qualité microbiologique satisfaisante de la matière première et confirme ainsi que l'hygiène dans la préparation de la margarine est respectée tout au long de la chaîne de fabrication.

Les tests microbiologiques effectués pour les six échantillons du beurre ont révélé la présence d'une charge supérieure à la norme pour certains microorganismes tels que les coliformes et les moisissures.

Malgré l'absence des germes pathogènes et le faible échantillon analysé, les résultats obtenus montrent une qualité bactériologique non satisfaisante qui peut dévoiler une défaillance dans le contrôle de cette denrée alimentaire animale qui reste un élément indispensable en cuisine algérienne grâce à ses caractères rhéologiques essentiellement comme un extraordinaire révélateur de saveurs en plus des grands bénéfices nutritionnels qu'il possède.

## **Annexe I : Organisation de l'entreprise Bellat**

Le groupe **BELLAT** est l'entreprise reconnue comme la marque n°1 dans la production et la commercialisation des produits carnés (cachirs, patésRotis fumés,...), et de la margarine unanimement plébiscitée par les consommateurs Algériens, les produits BELLAT sont présents sur les tables de millions d'algériens.

Crée en 2002, la SARL Mitidja Margarine Production (Margarine BELLAT) fait partie du Groupe BELLAT. Elle offre une riche gamme de produits Elle se positionne dans le segment de la fabrication de la margarine de table, de la margarine de table allégée et le smen végétal. Elle se située a la Route de Meftah N° Haouche Hafiz, Les Eucalyptus Alger.

Le secteur de production est encadré par des ingénieurs en agro-alimentaire, ces derniers veillent sur les respects des bonnes pratiques d'hygiène et de la fabrication dans les différents ateliers.

### **Activités principales de l'unité**

L'unité est spécialisée dans la fabrication de différents types de margarines et de produit végétal aromatisé: SMEN.

La société garantis à ses clients des margarines :

- De table (à tartiner).
- Du SMEN (végétal).

Organigramme général de la SARL MITIDJA MARGARINE« **BELLAT**»

## **Annexe II : Matériels non biologiques**

### **➤ Verrerie et autres :**

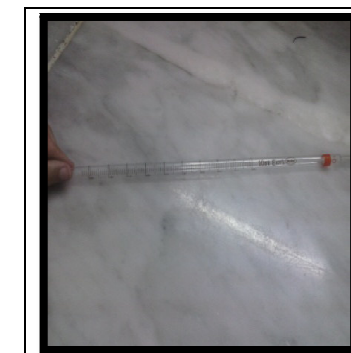
- 1-Fioles coniques de capacité d'environ 250 ml.
- 2-Fioles jaugées.
- 3-Burette de 50 ml graduée en 0,1 ml et éprouvettes.
- 4-Pipettes de 1 /10 et 25ml.
- 5-Pipettes pasteur.
- 6-Tubes a essai.
- 7-Flacons en verre.
- 8- Boites de pétri.
- 9-Tubes capillaires.
- 10-Anse de platine.
- 11-Thermomètre graduée
- 12-Bêcher ou fiole à col large capacité 1000ml.
- 13-Burette digital.
- 14-Capsule.
- 15-Couteau.
- 16-Papier pH.
  
- 17-Portoir métallique.



**Tube capillaire**



**Becher**

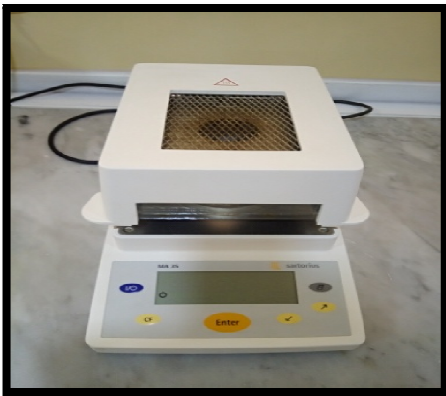


**Pipettes graduées**



➤ **Appareillage :**

- Balance analytique.
- Dessiccateur.
- réfrigérateur.
- Thermomètre.
- Agitateur à plaque chauffante.
- Bec Bunsen
- pH-mètre.
- Autoclave.
- Acidimètre doronic
- Etuves d'incubation 37 °C, 44 °C ,30°C.
- Bain marie.
- Dessiccateur



**Dessiccateur.**



**PH-mètre**



**Bain marie.**



**Etuves d'incubation**



**Plaque chauffante**



**Bec Bunsen**



**Autoclave**



**Balance analytique**



**Sécheur Verrerie**



**Acidimètre dornic**

➤ **Milieux de cultures :**

- Gélose Baird Parker
- Gélose Sabouraud
- Eau peptonée exemple d'indole (EPEI)
- Eau physiologique peptonée (TSE).
- Gélose VRBL
- Bouillon d'enrichissement au sélénite et à la cystéine (SFB)

➤ **Réactifs et solutions :**

- Hydroxyde de potassium à 0.1 N.
- Acide chlorhydrique (HCl).
- Soude caustique (NaOH).
- Eau physiologique peptonée (TSE)
  
- Réactif de Kovacs.
- Solution alcoolique de phénophtaléine à 0,1%.
- Eau distillée.

➤ **Milieux de culture pour l'analyse microbiologique :**

**Eau physiologique**

Chlorure de sodium.....9g  
Eau distillée.....1000ml  
Préparation : dissoudre dans l'eau et répartir en tubes de 9 ml.  
Autoclavage : 20 min à 121°C.

**Bouillon d'enrichissement au sélénite et à la cystéine (SFB)**

Peptone de caséine.....5g  
L(-)-mannitol.....0,01g  
Lactose .....4g  
Phosphate de sodium.....10g  
Sélénite de sodium.....4g  
Eau distillée.....1000ml

**Eau peptonée exemple d'indole (EPEI)**

Eau distillée .....1000ml  
Tryptone .....10g  
Chlorure de sodium.....5g  
pH du milieu.....7,2 ± 0,2

### Plate count Agar (PCA):

-Tryptone.....	5g
-Extrait de levure.....	2.5g
-Glucose.....	4g
-Agar.....	9g
-Eau Distillée.....	1000g

### Gélose Hectoén:

-Peptone .....	12g
-Extrait De Levure.....	3g
-Nah <sub>2</sub> po <sub>4</sub> .....	0.6g
-Hyposulfure De Sodium.....	5g
-Sel Biliaires.....	9g
-Citrate De Fer Ammoniacal.....	1.5g
-Salicine.....	2g
-Lactose.....	12g
-Saccharose.....	12g
-Fuschine Acide.....	40mg
-Bleu De Bromothymol.....	64g
-Gélose.....	13g
-Eau Distillée.....	1000g

### Milieu VRBL( milieulactosée biliée au cristal violet et et au rouge neutre)

- Peptone .....	7g
- Extrait de levure .....	3g
- Chlorure de sodium.....	5g
- Mélange sel biliaire .....	1.5g
- Cristal violet .....	0.002g
- Rouge neutre.....	0.03g
- Agar-agar .....	15g
- Eau distillé .....	1000 ml
- PH 7.4	

### La Gélose Baird Parker :

Composition pour la préparation d'un litre de milieu

-peptone.....	10.0g
-extrait de viande de bœuf .....	4.0g
-extrait de levure .....	2.0g
-Pyruvate de sodium.....	10.0g

- Glycocolle.....12 .0g
- chlorure de lithium..... 5.0g
- agar-agar .....20.0g

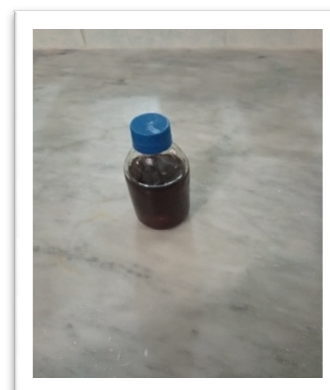
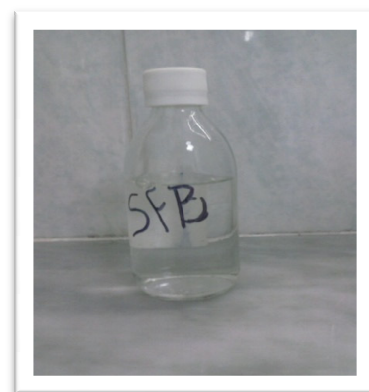
A ajouter en condition stériles juste avant l'ensemencement (sinon détruit par l'autoclavage) :

- émulsion de jaune d'œuf (stérile) .....50.0ml
- Tellurite de potassium (stérile)..... 0.1 g

PH du milieu= 7.2

**Milieu Sabouraud :**

- Pepton.....10g
- Glucose massé .....20g
- Agar-agar .....15g
- Eau distillée (qsp) ..... ;..1000m
- Vitamine et facteur de croissance
- PH =6.0

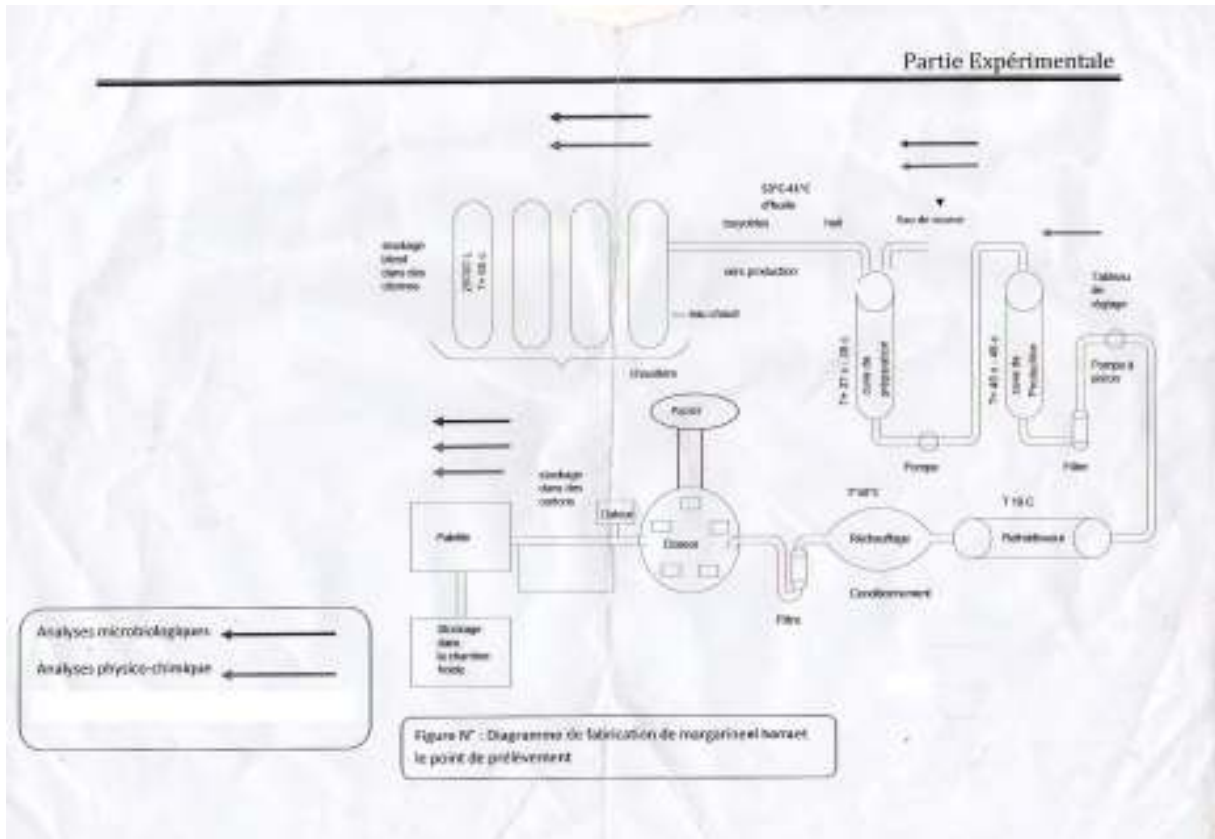


Milieu VRBL



Milieu PCA

### Annexe III : la chaine de fabrication



## **Annexe IV :**

### **I. Analyses physico-chimiques.**

#### **I.1.L'Humidité :**

➤ **Mode opératoire**

1-Dans une capsule, peser environ 15 g de sable marine ou de sable de quartz.

2-Faire sécher l'ensemble dans l'étuve à 103 °C jusqu'à masse constant.

3-Laisser refroidir l'ensemble à la température ambiante au dessiccateur pendant 30 à 35 mn et peser à 1mg près,( noter  $M_1 = M_{\text{CAPSULE}} + M_{\text{SABLE}}$ )

4-Mettre à zéro la balance.

5-Ajouter dans la capsule entre 5 et 7 g de margarine, peser à 1 mg près (noter  $M_0 =$  masse en grammes de la prise d'essai) ne pas mélanger.

6- Fermer l'appareil et attendre la lecture dans quelques minutes

➤ **-Expression des résultats :**

Lecture direct du pourcentage de la teneur en eau sur l'appareil.

#### **I.2. Détermination de l'acidité titrable :**

➤ **Mode opératoire :**

1- Homogénéiser les échantillons.

2- Dans la fiole conique peser à 1mg près environ 10 g d'échantillon.

3- Ajouter 30 ml d'éthanol.

4- Ajouter quelques gouttes de phénolphtaléine

5- Titrer par la solution d'hydroxyd

e de sodium jusqu'à apparition d'une coloration rose pale persistante pendant une dizaine de secondes.

### **I.3.Détermination du pH :**

➤ **Mode opératoire :**

- Mise sous tension du PH mètre.
- Mettre l'appareille sur pH
- Etalonnage du pH mètre par les solutions tampon.
- Introduire l'électrode dans la solution à analyser.
- Laisser la valeur indiquée se stabilisée.
- Faire la lecture du pH directement sur l'écran.
- Rincer l'électrode par l'eau distillée après chaque utilisation.
- Lecture direct de la valeur PH sur le PH mètre.

## **II .Analyses microbiologiques:**

### **II.1.Méthodes d'analyses microbiologiques :**

➤ **Mode opératoire :**

Introduire aseptiquement a l'aide d'une spatule stérile ,25g d'échantillon (margarine , bllend .. ) dans un flacon stérile contenant au préalable 225ml de diluant soit le TSE, (tryptone sel eau) cette suspension consiste la solution mère ( $10^{-1}$ ) .le flacon est par la suite porté au bain marie a  $45\text{ C}^{\circ}$  .après agitation et repos , on obtient la séparation des deux phases grasse et aqueuse ,le prélèvement s'effectuent sur la phase aqueuse à partir de laquelle des dilution au dixième ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) sont réalisées .

Introduire par la suite et aseptiquement a l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile 1ml de la dilution  $10^{-1}$  dans un tube a essai à vis stérile contenant au préalable 9 ml de TSE : cette dilution est alors 1 /100 ou  $10^{-2}$ , après avoir homogénéisé le contenu de tube N°01.

Introduire en suite aseptiquement à l'aide d'une pipette pasteur stérile ,1ml de la dilution de  $10^{-2}$  dans un tube a essai à vis stérile contenant au préalable 9ml de TSE : après avoir homogénéisé le contenu de tube N°02 et le contenu du tube N°03, cette dilution est alors 1 /100 0ou  $10^{-3}$

➤ **Remarque :**

1-Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impératif de changer les pipettes entre chaque dilution pour ne pas fausser les résultats et il faut bien veiller à travaillera dans une zone stérile (utilisation de bec bensen).



2- Contrairement à cela, lors de l'ensemencement, il est recommandé de commencer par la plus forte dilution à savoir  $10^{-3}$  dans le but justement de ne changer de pipette, on travaillera alors à l'aide d'une pipette graduée en verre stérile de 5ml.

### **II.1.1. Recherche et Dénombrement des Germes Aérobieux Totaux :**

- **Mode opératoire :**

Préparer 3 séries de boîtes de pétries

A partir des dilutions décimales allant de  $10^{-1}$  à  $10^{-3}$  porter aseptiquement 1ml de chaque dilution dans une boîte de pétrie préparée à cet usage.

Couler en suite avec environ 15ml de gélose PCA (Plat count Agar) préalablement fondue puis refroidie à  $45^{\circ}\text{C}$ .

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va et vient en forme de (huit) 8 pour permettre à l'inoculum de mélanger à la gélose utilisée.

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

- **Incubation :**

Les boîtes seront incubées, couvercle en bas à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 72 heures avec :

- Première lecture à 24 heures
- Deuxième lecture à 48 heures
- Troisième lecture 72 heures

- **Lecture :**

On effectue l'observation dans les boîtes de pétrie après incubation, les colonies présentent sous forme lenticulaire en masse et de couleur blanchâtre

- **Dénombrement :**

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

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

### **II.1.2. Recherche et Dénombrement Des Coliformes fécaux et totaux :**

- **Mode opératoire :**

-On inocule aseptiquement dans une boîte pétrie stérile 1ml de l'échantillon ou de la dilution primaire, et de même pour les dilutions décimales suivantes et on coule la gélose VRBL en surfusion dans chaque boîte pétrie (ensemencement en masse).

-On homogénéise parfaitement l'ensemble et on laisse solidifier.

-Par la suite on réalise une double couche du milieu VRBL en surface des milieux ensemencés.

-On incube les boîtes à 35°C pendant 24 à 48 h pour les coliformes totaux et à 44°C pendant 24 à 48 h pour les coliformes fécaux.

- **La lecture :**

-Les coliformes fécaux apparaissent sous forme de petites colonies fluorescentes de couleur violacée et parfois entourées d'une zone rougeâtre due à la précipitation de la bile, d'un diamètre de 0,5 cm pour les coliformes et 1mm pour E.COLI, dont le nombre est compris entre 15 et 300, la lecture doit se faire dans une chambre noire et sous une lampe à UV .

-On multiplie le nombre trouvé par l'inverse de la dilution.

### **II.1.3. Recherche et dénombrement de Staphylococcus Aureus :**

#### **Méthode de Baird Parker :**

- **Préparation de milieu :**

-Au moment de l'emploi faire fondre un flacon contenant 225ml de gélose Baird Parker, le refroidir ensuite dans un bain d'eau à 45°C, puis ajouter 15 ml d'une solution de jaune d'œuf au tellurite de potassium (Réf : IPP 54205), mélanger soigneusement et aseptiquement, puis répartir le milieu en boîtes de pétri à raison de 15 à 18 ml par boîte.

-Laisser solidifier les boîtes sur paillasse, puis les sécher en les plaçant retournées couvercle en bas dans des étuve de séchage réglée entre 45 à 55 °C.

- **Ensemencement :**

A partir des dilutions décimales  $10^{-1}$   $10^{-2}$   $10^{-3}$ , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution réparti en surface à raison de 3 fractions sensiblement égales dans trois boîtes contenant le milieu de Baird Parker puis étaler à l'aide d'un même étaleur en commençant par les boîtes de plus haute dilution, comme l'indique le schéma n°10.

- **Incubation :**

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

- **Lecture :**

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

Après 24 heures, peut apparaître dans cette zone transparente, un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.

Pour s'assurer qu'il s'agit bien de colonies de staphylococcus, aureus, effectuer sur 2 à 3 colonies de chaque boîte des tests biochimiques rapides à savoir :

## II.1.4. Recherche des Salmonelles

- **Mode opératoire :**

- Prés enrichissement (1 jour) :

Prélever 25g du produit à analyser dans un flacon stérile contenant au préalable 225 ml d'eau peptones Tamponnée (EPT), bien homogénéiser puis incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures (Résultats positifs : observer de la coloration rouge brique) .

- Enrichissement (2 jour) :

L'enrichissement s'effectue principalement avec le bouillon sélénite-cystéine(SFB), simple ou double concentration, il favorise la multiplication des entérobactéries. Il consiste à porter aseptiquement 10ml du pré-enrichissement sur bouillon Sélénite Cystéine (SFB) (S /C) + additifs (S.F.B) et 100 ml dans un flacon (SFB) (D/C), et incuber à 37°C pendant 18 à 24 heures

- Isolement (3jour) :

Les tubes positifs présentant une coloration rose feront l'objet d'un isolement sur gélose Hektoen+additifhektoen.

Un ensemencement en surface et en strie pour isolement sur gélose hektoen préalablement coulé en boîte, les retourner puis les incuber à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture et identification (4 jour) :**

L'apparition de colonies grises bleu à centre noir dans la boîte de gélose hektoen indique la présence de Salmonella.

L'identification biochimique est indispensable pour éviter toute confusion avec d'autres germes.

On procède d'abord à la coloration de GRAM pour vérifier que ce sont des bacilles gram négatifs.

Ensemencement en piqure central et en strie dans les milieux TSI qui sera incubé à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation en voie un virage du rouge au jaune du culot et de la pente, et une production de gaz se manifeste par la présence des bulles, le découlement de gélose, et une production de H<sub>2</sub>S se manifeste par le noircissement de la pente.

Les résultats final sera exprimé en germes/25g de produit.

## **II.1.5. Recherche et Dénombrement des levures et moisissures :**

- **Préparation du milieu :**

-Dissoudre 0.1 mg d'oxytétracycline dans 100 ml d'eau distillée stérile.

-Porter aseptiquement 15 ml de cette solution dans un flacon contenant de la gélose sabouraud préalablement fondue puis refroidie à 45°C .

-Mélanger soigneusement, puis couler le flacon de sabouraud ainsi préparé en boîtes de pétri.

-Laisser solidifier les boîtes sur pailleuse puis le sécher à l'étuve juste avant leur utilisation.

- **Ensemencement :**

-A partir des dilutions décimales retenus 10<sup>-1</sup> à 10<sup>-3</sup> porter aseptiquement 4 gouttes par dilution sur la boîte de sabouraud correspondante puis les étaler à l'aide d'un râtelier stérile en commençant par la plus haute dilution.

-Faire de la même façon une boîte (Témoin Diluant) T.D à l'aide de 4 gouttes du diluant utilisé et une boîte (Témoin milieu) incubée telle quelle.

- **Incubation :**

L'incubation de ces boîtes se fait à 22°C donc à température ambiante, couvercle en haut pendant 5 jours.

- **Lecture :**

-La première lecture doit se faire à partir de la 48<sup>ème</sup> heure d'incubation ; elle consiste d'abord en la lecture des boîtes témoins car si l'une d'entre elles présente des levures ou des moisissures, l'analyse est à refaire.

-Dans le cas échéant, dénombrer les colonies de levures à part et les colonies de moisissures à part.

# REFERENCES

1. **Aboke C ; Benarou A ; Dolez M ; Guillet K ; Jamet E ; Moreau A ; Moutouviri A ; Bailey A-E , (1974).** -Industrie des corps gras .ED Teintex,pp :270-272
2. **Apfelbaum M ; M.Roman et M. Dubus, (2004)** : -diététique et nutrition, 6 Edition, Masson, 535p.
3. **Alais C, (2003)** -Biochimie alimentaire. Ed. Paris, Dunod , 271p .
4. **ANDERSEN, A. J. C. & WILLIAMS P. N ,(2016).** *Margarine*, Elsevier
5. **Bauer M, (2004)** - Cristallisation et polymorphisme Applications. Dans : Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés. AF 3 642. : 16
6. **Boutonnier J-L , (2007)** : --Matière grasse crème et beurre standard (techniques de volume IV).
7. **Carole, L.Vignola,( 2002 ):** -science et technologie du lait, transformation de lait,proteste internationales polytechnique.171, 222, 225p.
8. **Cheftel J.C et Cheftel H , (1977)** - In : « Oxydation des lipides ». Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Ed .Tec et Doc, paris, 420p.
10. **Faur L, (1992)** - Manuel des corps gras, Transformation des corps gras a des finsalimentaires (Tome 2) .Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris, 1579p.
11. **Feinberg M ; Favier J-Cet Irland-Ripert J , (1987)** -Table de composition descorps gras. Tom. 1, Ed .Tec et Doc Lavoisier, 42p.
12. **Fredot E ,(2005 )**-connaissance des aliments : base alimentaire et nutritionnelles de la diététique. Ed. Tec et Doc Lavoisier, **397p**
13. **Francois R, (1974).**-Industrie des corps gras : biochimie-extraction-raffinage Ed. Technique st documentation,431p.
14. **Graille J,( 2003)**- Lipides et corps gras alimentaires .Ed. Tec et Doc Lavoisier, 469p.
15. **Guiraud J-P, (1998)**- Microbiologie alimentaire .Ed. Dunod, Paris ,652p.
16. **ISO (9001).** International standard organisation, corps d'origine animale et végétale.
17. **Jacotot Bet Campillo. B ,(2003)** - Nutrition humaine .Ed. Elsevier Masson, paris, 315p.
18. **Journal officiel de la république algérienne N 96/23-12-1998)** : arrêt interministériel du 21 chaabane 1419 correspondant au 10 décembre 1998 relatif auxspécifications techniques des beurres et aux modalités de laur mise à la consommation.

19. **Karleskind A, 1992** - Manuel des corps gras. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris, 1579p.
20. **Laurie B ; Mathilde R, (2008)**- La margarine est-elle une bonne alternative au beurre. Heds, haute école de santé Genève, : 1-6.
21. **Morelle J ,(2003)** - oxidation des aliments et la santé Ed : Megastare ,174 .
22. **Naudet M , (1996)** -Corps gras, In : ROBERT C, constantes physico-chimique, 17p.
23. **Oteng-Gyang. K ,(1984)** -Introduction a la microbiologie alimentaire dans les pays chauds ; Ed : Tec et Doc lavoisier , paris,260p
24. **O'Brien R.D ,(2009)**. -Fats and oils: formulating and processing for applications. Ed: CRC Press, CRC Press, Taylor & Francis Group, Boca Raton London New York.
25. **Pagès-Xatart-Parès X , (2008)**. -Technologies des corps gras (huiles et graisses végétales). Dans : Techniques de l'ingénieur, traité de Génie des procédés. F 6 070. 19p. 18p.
26. **Poirier M. et Ranga P, (2008)**. -Le beurre et la margarine : Rapport de rhéologie. Ecole Supérieure de Microbiologie et Sécurité Alimentaire de Brest (ESMISAB), Université de Bretagne Occidentale. 105p.
27. **Padley F-K ,(1994)** . -Le contrôle de la rancidité. In : La rancidité dans les aliments, Ed :Blackie scientifique et professionnel-Glasgow, 230-255p.
28. **Petit J , (1997)**. -Manger avec des enfants : Pour le plaisir et pour la Vie, Ed : Presses Université Laval ,328p
29. **Plank R, (1965)**. Utilisation du froid dans les industries alimentaires. Dunod;642p
30. **Roger F, (1974)**. - Les industries des cors gras. Ed Tec et Doc Lavoisier. Paris ,445p.
31. **Roger V, (1979)**. - science du lait, édition maison rustique.Paris.181p.
32. **Veisseryre R, (1975)**. -technologie du lait, constitution, récolte et transformation du lait, Edition la maison rustique, paris. 713p.
33. **VILLIÈRE.A & GENOT.C ,(2006)**. -Approche physico-chimique et sensorielle del'oxydation des lipides en émulsions. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 13, 152-159.
34. **Vincent . B, (2012)**. - Les matières grasses alimentaires, physiologie, faculté demédecine, université de Bourgogne, 3p.
35. **Veirling E ; Guy L, (2004)** . -Technologie et aspect réglementaire, science des aliments Ed : Delagrave ;P : 285.
36. **Woerfel. J-B ,(1990)** . -Technique de production de l'huile de soja et produits dérivés de haute qualité, Ed ; ASA (American Soybean Association) , 119p.