

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

**MINISTERE DE L'ENSENGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

Université SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté Des Sciences Agro -Vétérinaires Et Biologique

Département de l'agronomie

**MEMOIRE DE PROJET DE FIN D'ETUDE EN VUE DE
L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER ACADEMIQUE EN
SCIENCES DE LA NATURE ET LA VIE**

Spécialité : Sciences Alimentaires

Thème :

**ETUDE COMPARATIVE ENTRE DEUX COAGULASE
EXTRAITE A PARTIR DES FLEURES D'ARTICHAUT (*Cynara
Sculymus*) ET D'ARTICHAUT SAUVAGE (*Galactites
tomentosa*) POUR LA FABRICATION D'UN FROMAGE
FRAIS**

Présenté par :

M^{lle} TCHANTCHANE Sihem

M^{lle} ZERMANE Wissame

Devant le jury compose de :

M ^{me} BOUTAKRABT L.	Maître de conférences A USDB	présidente de jury
M ^r KADRI.B	Maître de conférences B USDB	promoteur
M ^{me} KOUIDRI A.	Maître de conférences A USDB	Examinatrice
M ^r HADJ SADOK. T	Maître de conférences B USDB	Examinateur

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2010-2011

Dédicaces

Je dédie cette mémoire à mes très chers parents Tchanchane abdelkrim et Tchanchane samia pour tous les sacrifices et les encouragements qu'ils consentirent par amour pour moi.

A mes frères Sidahmed, Mohamed, Azhar et mon adorable petite sœur Hadil.

Spécial dédicace à mon fiancé Ait issad bilhel pour toutes ses orientations aide et conseils

A mon grand Père Tchanchane Mohamed

A mon grand père Tchanchane belkacem pour son attention et ses conseils.

A mes grand mère Safia et Rania et ma cousine Ould Baba Ali radia

A mon binôme Zerman wissem

A tous mes amies au subdivision agricole de oued el alleug

A l'ensemble des étudiants et étudiantes de la promotion 2009-2010.

A tous mes amis

Enfin a toutes les personnes qui nous ont apporté soutien et aide de quelque manière que ce soit, directement ou indirectement.

Tchanchane sihem

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

À mes très chers parents : Ali et Assia, qui je remercie pour leur amour, leur sacrifices, leur aide si précieuse, leur encouragement et leur soutien tout le long de mon parcours car grâce à eux je suis arrivée jusque là.

À mes cher sœurs Samira son marie et enfants : fares, malek et bissal, Asmaa, Khadidja et mes frères Mohamed et Zohir e sa fille mimi.

À mes grand-mères : zohra et khedidja.

À mes tantes et mes oncles.

À mes amies : Khadidja, Imène, Latifa, Saraa, Mohamed, Abd el Djafil., Amine, Soumia, Fatima.

À tous mes amies au district de forets de bougara.

À ma binôme : Siham.

À l'ensemble des étudiants et étudiantes de la promotion 2009-2010.

À toute personne qui m'aime et me connait.

wissame

REMERCIEMENTS

Louange a Dieu, le tout puissant qui sans lui rien de tout cela n'aurait été possible.

Nos remerciement sont d'abord adressés à nos chers parent qui ont beaucoup fait pour nous, et qui nous soutenues tout au long de nos études.

On tient aussi à remercier M^r. KADRI, promoteur de ce travail pour les conseils et les encouragements qu'elle nous a prodiguées tout au long de la réalisation de ce projet.

On voudrait également exprimer notre vive reconnaissance à M^r ALHADJ pour l'aide qu'il n'est pas hésité à nous apporter tout au long de notre expérimentation.

On n'oubliera pas de remercier M^{me} BOUTAKRABT pour nous avoir honoré en acceptant de présider le jury et M^{me} KOUIDRI A et M^r HADJ SADOK d'avoir accepté d'évaluer et de juger ce modestes travail.

Enfin, on ne manquera pas de remercier les membres du personnel de la laiterie de Beni Tamou, pour l'aide précieuse qu'ils nous ont apportée.

Toute nos remerciements à tous qui ont contribuent de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, veuillent trouver l'expression de nos sympathiques et de nos profondes reconnaissances.

Résumé

En technologie fromagère, la coagulation du lait est une étape primordiale assurée par la présure animale. Des extraits d'origine végétale ont la capacité de coaguler le lait, mais ils restent jusqu'à présents à l'étape de l'expérimentation. Parmi ces extraits végétaux, l'extrait des fleures d'artichaut comestible et sauvage.

Notre étude est basée sur la comparaison des deux extraits (artichaut et artichaut sauvage ou chardon) qui présentent respectivement la valeur nutritionnelle (1,81% et 1,51% de protéines, 0, 2% et 0,7% de matière grasse, 0,9% et 0,72% de matière minérale).

L'extrait enzymatique des d'artichaut sauvage caractérise par une température d'activation environ 40°C, une gamme de pH optimale allant de 5 à 6, un taux d'enzyme de 20mL d'extrait d'artichaut et 150mL de chardon pour 1L et 0,04 mol/L du calcium.

L'enzyme d'artichaut coagule le lait en 65 seconds, se qui concerne le chardon il prend 135 seconds et donne un rendement fromager de 18,64% pour l'artichaut et 14,75%pour le chardon.

Mots clés :

Lait, coagulation, présure, extrait d'artichaut, extrait de chardon, fromage, rendement fromager

summary

Technology cheese, milk coagulation is an essential step provided by animal rennet. Extracts of plant origin have the ability to coagulate milk, but they remain present until the stage of experimentation. Among these extracts, the extract of edible flowers and wild artichoke.

Our study is based on the comparison of the two extracts (artichoke and milk thistle or milk thistle), which respectively have the nutritional value (1.81%, 1.51% protein, 0, 2,%, 0.7% fat , 0.9%, 0.72% mineral matter).

The enzymatic extract of artichoke wild characterized by an activation temperature around 40 ° C, an optimum pH range from 5, 6, a rate of 20 ml of enzyme extract of artichoke and thistle to 150mL 1L and 0.04 mol / L of calcium.

The enzyme artichoke coagulates milk in 65 seconds, for thistles it takes 135 seconds and gives a cheese yield of 18.64% to 14.75% for artichoke and thistle.

Keywords:

Milk coagulation, rennet, artichoke extract, milk thistle extract, cheese, cheese yield

ملخص

في تكنولوجيا الجبن ،تخثر الحليب هو الخطوة الأساسية التي تقدمها المنفحة الحيوانية. مستخلصات من أصل نباتي لديها القدرة على تخثير الحليب، لكنها تظل موجودة حتى الآن في مرحلة التجريب. من بين هذه المستخلصات النباتية، ومستخرج من الزهور الصالحة للأكل الخرشوف والبرية.

وتستند الدراسة على المقارنة لدينا من مقتطفات اثنين (الخرشوف والشوك الحليب أو الحليب الشوك)، والتي على التوالي من القيمة الغذائية (1.81 %، 1.51 % بروتين، 0، 2 %، 0.7 % دهن ، 0.9 % ، 0.72 % المسألة المعدنية).

مستخلص الخرشوف الأنزيمية البرية التي تتميز درجة حرارة التشغيل نحو 40 درجة مئوية ، ودرجة الحموضة المثلى مجموعة من 6، 5 ، بمعدل 20 مل من مستخلص الإنزيم من الخرشوف والشوك 150مل لكل 1 لتر من الحليب و 0.04 مول / لتر من الكالسيوم.

الخرشوف إنزيم بتخثر الحليب في 65 ثانية ، لأنه يأخذ الأشواك 135 ثانية ، ويعطي غلة جبن 18.64 % لتصل إلى 14.75 % للخرشوف والشوك.

الكلمات الجوهرية :

تخثر الحليب ، والمنفحة، الخرشوف استخراج الحليب ، استخراج الشوك، والجبن ، والجبن العائد

Liste des abréviations

°D : degré Dornic

°F : Degré Français

AC: activité coagulante

AFNOR : Association Française de Normalisation

DM: Dilution Décimal

EA: Extrait d'Artichaut.

EC: Extrait de Chardon

EST: Extrait Sec Total

FAO: Food and Agriculture Organisation

FBEA: fromage à base de l'extrait des fleures d'artichaut.

FBEC: fromage à base de l'extrait des fleures de chardon.

FBP: fromage à base de la présure.

ISO: International Standard Organization

LSEA: lactosérum de l'extrait d'artichaut

LSEC: lactosérum de l'extrait de chardon

LSP: lactosérum de la présure

MG: Matière Grasse.

MM: Matière Minérale.

OMS : organisation mondiale de la santé

P: Protéines.

pH : potentiel d'Hydrogène

TSE : Tryptone Sel Eau

VBRL : Bouillon Lactose bilié ouvert Brillant

VF : Gélose Viande Foie

Liste des tableaux

Tableau n°1: Composition moyenne des principaux fromages	5
Tableau n°2: Classification des fromages en fonction des opérations de fabrication.....	7
Tableau n°3: Teneur moyenne en minéraux des fromages frais	10
Tableau n°4: Classification botanique de l'artichaut.....	18
Tableau n°5 : La teneur en différents composés de l'artichaut.....	20
Tableau n°6 : Origine de quelques enzymes utilisées pour coaguler le lait.....	21
Tableau n°7: Résultats des analyses physicochimiques de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon.....	42
Tableau n°8: Détermination de la force et l'activité coagulante des extraits enzymatiques.....	42
Tableau n°9: les résultats des analyses physicochimiques du lait reconstitué.....	47
Tableau n°10: les résultats des analyses physicochimiques des lactosérums.....	47
Tableau n°11: les résultats des analyses physicochimiques du fromage.....	48
Tableau n°12: Le rendement fromager.....	48
Tableau n°13: Résultats d'analyses bactériologiques du lait.....	49
Tableau n°14 : Résultats des analyses microbiologiques des fromages.....	49

Liste des figures

Figure 1: Phases du processus de coagulation enzymatique du lait	12
Figure2 : Fleur de <i>Galactites tomentosa</i>	22
Figure 3 : Principales étapes de l'extraction du système enzymatique des fleurs de <i>Cynara scolymus</i> et <i>Galactites tomentosa</i>	27
Figure 4 : Les étapes de fabrication du fromage.....	34
Figure 5 : Effet de la température sur l'activité coagulante de l'extrait des fleures d'artichaut et de chardon.....	43
Figure 6: Effet de pH sur l'activité coagulante de l'extrait des fleures d'artichaut et de chardon	44
Figure 7: Effet de la concentration en calcium sur l'activité coagulante de l'extrait des fleures d'artichaut et de chardon.....	45
Figure 8 : Effet de la quantité enzymatique sur l'activité coagulante de l'extrait des fleures d'artichaut et de chardon.....	46
Figure 9 : l'essai de fabrication de fromage	46
Figure 10 : Etuve avec une température à 37°C	
Figure.11 : Centrifugeuse GERBER à 1500tr/mn fixe	
Figure 12 : Balance à précision	
Figure 13 : La soude à N/9.	
Figure 14 : Bain Marie	

INTRODUCTION

Introduction

En Algérie, le fromage a été connu sous différentes formes de conservation (humide et sèche) telles que : El djben et Elklila qui ont été produit depuis longtemps par les algériens.

La transformation du lait en fromage est une forme ancestrale de conservation des protéines, de la matière grasse ainsi que d'une partie du calcium et du phosphore, dont les qualités nutritionnelles et organoleptiques sont appréciées par l'homme dans presque toutes les régions du globe. Donc les fromages sont des aliments nobles, qui confèrent une valeur gustative et biologique extrêmement élevée.

En technologie fromagère, la coagulation du lait est une étape essentielle dans laquelle l'utilisation d'une enzyme protéolytique est indispensable (**Alais, 1975**) ; traditionnellement l'enzyme employé est la présure.

La présure obtenu à partir de la caillette de veau nourri au lait, dont l'usage est le plus ancien, reste l'agent coagulant le mieux adapté et le plus utilisé en industrie fromagère, grâce à sa forte activité coagulante et son activité protéolytique réduite (**Lenoir et al., 1985**).

De nos jours, son utilisation est confrontée à la contrainte majeure de sacrifice de jeunes veaux, ce qui risque de provoquer une crise dans le marché de la viande.

Suite à cette pénurie, à une forte demande en produits fromagers et pour des raisons religieuses ou philosophique qui font que certains pays exigent des enzymes provenant d'animaux licites ou d'origine autre qu'animale (**Alais, 1971**). De nombreuses recherches ont été faites pour obtenir d'autres enzymes d'origines différentes (animale, végétale ou microbienne ou synthétique) (**Scriban, 1993**), qui pourrait être utilisé comme alternatif à la présure animale et susceptible de remplir certains conditions dont les principales sont :

- Disponibilité totale sans risque de concurrence par d'autres secteurs de production ;
- Prix de revient moins élevé par rapport à la présure ;
- Le fromage obtenu doit conserver les mêmes propriétés rhéologique et physico-chimiques que celui obtenu avec la présure ;
- Absence de toxicité ou tous autres phénomènes anormaux.

Les enzymes d'origine animale existent dans la plupart des sous produits de l'abattage et restent donc tributaires des fluctuations du marché de la viande.

Les principaux obstacles de l'utilisation des enzymes microbiennes résident dans leur éventuelle toxicité ainsi que leurs prix de revient élevés.

C'est dans ce contexte que les chercheurs s'intéressent de plus en plus à l'étude des extraits coagulants d'origine végétale dont les principaux avantages sont la disponibilité de la matière végétale et leur forte stabilité à la chaleur.

Dans notre recherche, nous avons étudié une nouvelle source d'enzyme de coagulation d'origine végétale issue des fleurs d'artichaut, ces dernières sont des déchets de l'artichaut et le chardon (spontané) qui ont un avantage d'être une matière qui ne concurrence aucun secteur de production.

De ce fait, son utilisation comme source d'enzyme sera une valorisation de cette matière.

L'utilisation de cette dernière en industrie fromagère constituerait une nouvelle source d'obtention d'enzyme coagulante du lait à partir d'une matière première qui a fait l'objet de travaux effectués par **Berkowitz-Hunder** en 1964.

Notre objectif est d'extraire l'agent coagulant des fleurs d'artichaut et de chardon, faire un essai de fabrication du fromage frais traditionnel « El djben » et enfin le comparer avec un fromage à base de présure animale.

PARTIE : 1
ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE 1 :

LE FROMAGE

1. Le fromage

1.1. Définition du fromage

La dénomination « fromage » est réservée selon le décret n° 88-1206 du 30 décembre 1988, au produit fermenté ou non, obtenu à partir de matière d'origine exclusivement laitière (lait entier, lait partiellement ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre), utilisées seule ou en mélange, et coagulée en tout ou en partie avant égouttage ou après élimination partielle de leur eau. La teneur minimale en matière sèche du produit ainsi défini doit être de 23 grammes pour 100 grammes de fromage (**Jeantet et al., 2007**).

Le fromage vient du latin *Forma* ou *Forme* qui a donné par la suite le mot Formage puis Fromage (**Follet, 1989**).

Au plan technologique, le fromage est de la caséine plus ou moins débarrassée des autres constituants du lait et plus ou moins transformée. La norme FAO/OMS n°A-6 (1978, modifiée en 1990) donne la définition suivante :

« Le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi solide, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine n'exécède pas celui du lait obtenu :

- Par coagulation du lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, crème de lactosérum ou babeurre, seul ou en combinaisons, grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés, et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation.
- Par l'emploi de technique de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des matières obtenues à partir de lait, présentant des caractères physiques, chimiques et organoleptiques similaires à ceux du produit défini plus haut » (**FAO, 1995**).

1.2. Composition des fromages

1.2.1. L'eau

La teneur en humidité des fromages peut être un moyen de classer les fromages. Une pâte molle peut contenir plus de 50 % (g/100g) d'eau, une pâte semi-ferme, entre 45 et 50 %, tandis qu'une pâte ferme en aura entre 35 et 45 %. Cette eau est essentielle aux microorganismes et influence leur croissance et, par le fait même, la vitesse de fermentation et d'affinage (**Vignola, 2002**).

1.2.2. Les protéines

Les fromages contiennent de 10 à 30 % de protéines. Ce sont les aliments les plus riches en protéines, en particulier les fromages à pâte pressées dont la

teneur en protéines de 30 % dépasse celle de la viande (20%). Ces protéines proviennent de la caséine modifiée dont au cours de l'affinage, une partie importante (20 à 30%) se trouve dégradée et solubilisée en oligopeptides et en acides aminés sous l'influence d'une série d'enzymes (**Eck et Gillis, 1997**).

1.2.3. Les lipides

Les lipides conditionnent l'onctuosité de la pâte du fromage. Au cours de la maturation se produit sous l'influence de lipases microbiennes, une lipolyse limitée avec formation d'acides gras libres qui va de 0,25% de la matière grasse dans le camembert frais à 6,4% dans le camembert très affiné. Certains de ces acides gras sont volatils et interviennent dans la formation de l'arôme. Les lipides du lait (triglycérides, phosphoglycériques et sphingosides) se trouvent dans le fromage sous forme émulsionnée, ce qui le rend plus digestibles (**Dillon et al., 1997**).

1.2.4. Les glucides

Les fromages affinés sont dépourvus de glucides car la faible quantité de lactose restant dans le caillé après égouttage est transformée en acide lactique au cours de l'affinage. Par contre, les fromages frais, incomplets égouttés, peu ou non fermentés, contiennent des quantités non négligeables de lactose, d'acide lactique et d'acide citrique (**Favier, 1986**).

1.2.5. Les minéraux

Le fromage comme tous les produits laitiers, bénéficie dans l'opinion d'une bonne connotation nutritionnelle pour le calcium et le phosphore. Ces éléments majeurs forment des sels avec les acides (protéine, acide citrique, phosphate et chlore). Une partie des éléments minéraux se retrouve sous forme colloïdale en association avec les caséines ; c'est le cas des phosphates, des citrates de calcium et de magnésium (**Vignola, 2002**).

1.2.6. Les vitamines

La teneur en vitamines liposolubles, essentiellement vitamines A et D, accessoirement vitamine E, est directement fonction de la richesse du produit en lipides, laquelle peut varier de 0% dans certains fromages frais à 70% dans les produits enrichis en crème. La teneur en vitamines hydrosolubles varie, considérablement selon les fromages, elle est le résultat de deux facteurs opposés : la perte qui survient au moment de l'égouttage, et l'enrichissement qui survient en cours d'affinage.

C'est ainsi que les vitamines du groupe B sont en grande partie éliminées avec le lactosérum au cours de l'égouttage (25% étant retenu dans le caillé) (**Dillon et al., 1997**).

Tableau n°01 : Composition moyenne des principaux fromages.

Source : (Eck et Gillis, 1997)

1.3. Principe de fabrication des fromages

La transformation du lait en fromage comporte, pour la plus grande partie des fromages, trois étapes principales :

La coagulation, l'égouttage, et l'affinage (**ST-Gelais et al., 2002**).

1.3.1. La coagulation

C'est une modification physico-chimique et protéolytique des caséines natives du lait sous l'action d'enzymes protéolytiques le plus souvent la présure et/ou d'un acide, généralement l'acide lactique, entraînant la formation d'un réseau protéique appelé coagulum ou gel (**Lenoir et al., 1985 ; Eck, 1990**).

1.3.2. L'égouttage

Cette phase consiste à l'élimination plus ou moins grande de lactosérum, emprisonné dans la maille du gel formé. Cette élimination du lactosérum sera plus ou moins rapide selon la nature du coagulum, l'égouttage commence dans les cuves de coagulation, se poursuit dans les moules puis dans les hachoirs (**Mahaut et al., 2000**).

1.3.3. L'affinage

C'est le procédé du vieillissement du fromage. Ce dernier est placé pendant une durée variable dans des cuves spéciales où la température et l'humidité sont contrôlées. Pendant ce temps le fromage peut être lavé, retourné, brossé ou déplacé.

C'est au cours de l'affinage que le fromage devient plus compact, que la croûte se forme et son goût se développe (**Eck, 1990**).

1.4. Classification des fromages

La classification des fromages peut être basée sur le mode de fabrication, la nature de la pâte ou autres facteurs.

En fonction des opérations de fabrication, on distingue quatre classes de fromage.

1.5. El Djben

1.5.1. Définition

El Djben est un fromage frais connu et consommé dans plusieurs régions d'Algérie essentiellement au nord depuis fort longtemps. Cependant, au cours de la dernière décennie (les années 80), la consommation des produits laitiers

traditionnels en général, et du fromage frais en particulier, s'est accrue suite à l'installation dans les villes d'un grand nombre de laitiers traditionnels qui préparent El Djben selon des procédures souvent artisanales à partir du lait cru mais actuellement il fabriqué avec du lait pasteurisé vu l'indisponibilité et les coûts élevés des laits de vache et de chèvre.

A coté de ce secteur traditionnel, certaines unité laitières semi-industrielles se sont aussi intéressés à la fabrication d'El Djben, utilisant du lait soit cru, soit pasteurisé, et des procédures de préparation plus ou moins améliorées.

De ce fait, il existe aujourd'hui de nombreuses méthodes de préparation d'El Djben, et par conséquent, plusieurs variétés de fromage frais sont commercialisées sous différentes dénominations (**El Marrakchi, 1990**).

1.5.2. Caractéristique d'El Djben

C'est un fromage a pâte onctueuse, légèrement acide, non affiné, leur taux d'humidité est généralement supérieur à 60 % et un pH bas (4.3 à 4.5) Un caillé non pressé et une teneur élevée en eau,

- ❖ Une faible sensation acide,
- ❖ Une durée de conservation courte,
- ❖ Un produit à consommation sans période de maturation (**Ennahdi, 1980 ; Hamama et Bayi, 1990**).

1.6. Défauts de la fabrication du fromage frais

1.6.1. Défauts de la matière première

Les défauts du produit fini sont liés à la mauvaise qualité de la matière première et/ou à un mauvais traitement de celle-ci. Ces défauts proviennent de :

- **Matière première** : Un lait pauvre en caséine sera plus long à coaguler ainsi un lait pauvre en matière grasse donne un fromage avec une texture trop élastique.
- **Activité fermentaire** : activité enzymatique insuffisante et déséquilibre entre les différentes souches.
- **Facteurs d'inhibition** : présence de résidus d'antibiotique et de désinfectants.
- **Entreposage du lait** : à basse température entraine une mauvaise coagulation, un égouttage imparfait et il favorise le développement des bactéries psychotrophes (**Carole, 2002**).

1.6.2. Défauts liés à la coagulation et à l'égouttage

- **Défauts de caillage**

- Coagulation imparfaite : absence de lactosérum et un pH élevé d'où une mauvaise fermentation,
- Caillé gélatineux : un caillé prédominant de présure, donne un fromage insuffisamment friable,
- Caillé spongieux : fermentation hétéro-fermentaire due au développement des bactéries coliformes.

- **Défauts d'humidité et d'acidité de caillebotte**

- Qualité de la caillebotte : un mauvais processus de fabrication influe sur l'égouttage et entraîne une caillebotte trop humide ou trop sèche à l'origine de rendements insuffisants.
- Acidité finale de la caillebotte : une forte acidité entraîne la déminéralisation de la pâte, un égouttage plus prononcé, un développement plus lent des microorganismes et des saveurs acides ou amères (**Carole, 2002**).

1.6.3. Valeur nutritionnelle du fromage frais

L'intérêt alimentaire des fromages présente de nombreux points communs avec celui du lait. Toutefois, leur fabrication s'accompagne de modifications de compositions et de valeur nutritionnelle (**Fredot, 2006**).

- **Valeur énergétique**

La teneur calorique est de 100Kcal pour 100g de fromage frais (**Fredot, 2006**). La valeur énergétique est due aux lipides, protéines, et éventuellement glucides, acide lactique et acide citrique (**Luquet, 1985**).

- **Les protéines**

La moyenne de la teneur protéique des fromages frais est de 8g pour 100g de fromage (**Fredot, 2006**). Ces protéines proviennent de la caséine modifiée et des acides aminés (**Eck et Gillis, 1997**).

- **Les lipides**

La teneur en lipides pour les fromages frais est très variable par rapport aux autres fromages car ils sont fabriqués avec du lait additionné de crème (**Fredot, 2006**).

Les lipides du lait se trouvent dans le fromage sous forme émulsionné, ce qui les rend plus digestibles (**Eck et Gillis, 1997**).

- **Les glucides**

La quasi-totalité du lactose s'est transformée en acide lactique au cours du caillage ou est éliminé avec le lactosérum au cours de l'égouttage. La teneur en lactose est ainsi de

- **3,5%** dans les fromages frais non sucrés.
- **18%** dans les fromages frais sucrés ou aux fruits (**Fredot, 2006**).

- **Les minéraux et les oligoéléments**

Les fromages constituent d'excellentes sources de calcium et phosphore (**tableau n°03**). Cependant leurs teneurs varient en fonction du mode de fabrication et de la teneur en eau (**Mahaut et al., 2000**). En revanche, ils sont pauvres en fer et en magnésium.

Tableau n°03 : Teneur moyenne en minéraux des fromages frais.

	Fromage frais (mg/100g)
Calcium	100
Phosphor	150
Magnesium	11
Potassium	120
Sodium	50
Zinc	0,5

Source : (Eck et Gillis, 1997)

- **Les vitamines**

- **Les vitamines liposolubles** : leur teneur est en fonction de l'adjonction de crème et de la concentration en matière sèche.
- **Les vitamines hydrosolubles** : elles sont en partie éliminées avec le lactosérum (**Fredot, 2006**).

CHAPITRE 2 :

LA COAGULATION DE LAIT

2. La coagulation du lait

2.1. Définition

La coagulation de lait correspond à la floculation des micelles de caséine en aboutissant à la formation d'un gel compacte emprisonnant le lactosérum. Cette opération est le résultat de l'action de la présure, de l'acide lactique des ferments ou l'action combinée des deux.

2.2. Les types de coagulation

2.2.1. Coagulation par voie enzymatique

Elle consiste à transformer le lait de l'état de gel par action d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétale ou microbienne qui ont la propriété de coaguler le lait (**Collet et Gelais, 2002**).

La coagulation du lait par la présure peut se décomposer en trois étapes :

➤ **La phase primaire : Protéolyse de la caséine K.**

Correspondant à l'hydrolyse de la caséine k au niveau de la liaison peptidique phe105-met106, qui conduit à la formation de paracaseines k (1-105) et de caséinomacropeptide (CMP106-169). Lors de la libération du CMP, il se produit une diminution importante de la charge électrique des micelles et de leur degré d'hydratation (**Thouvenot, 1997**).

➤ **La phase secondaire : Coagulation du lait.**

Cette étape nécessite la présence d'ions calcium et phosphate qui interviennent dans la formation du gel par polymérisation des paracaseines, les ions calcium initient la polymérisation en formant des ponts salins entre les molécules de paracaseines k, alors que les phosphates conduisent à la polymérisation (**Mahaut et al., 2000**).

➤ **La phase tertiaire : Protéolyse générale.**

Les micelles agrégées subissent de profondes réorganisation des liaisons de nature variée s'établissent entre les micelles (électrostatique, hydrophobes et salines) pour former un gel constitué par un réseau lâche emprisonnant le lactosérum et la matière grasse (**Mahaut et al., 2000**).

Le réseau forme à pH 6, 6 est fortement minéralisé compte tenu des interactions entre le calcium et les caséines ; ce type de coagulum a tendance à

se rétracter ce qui se manifeste par une expulsion de sérum (Jeantet et al., 2007).

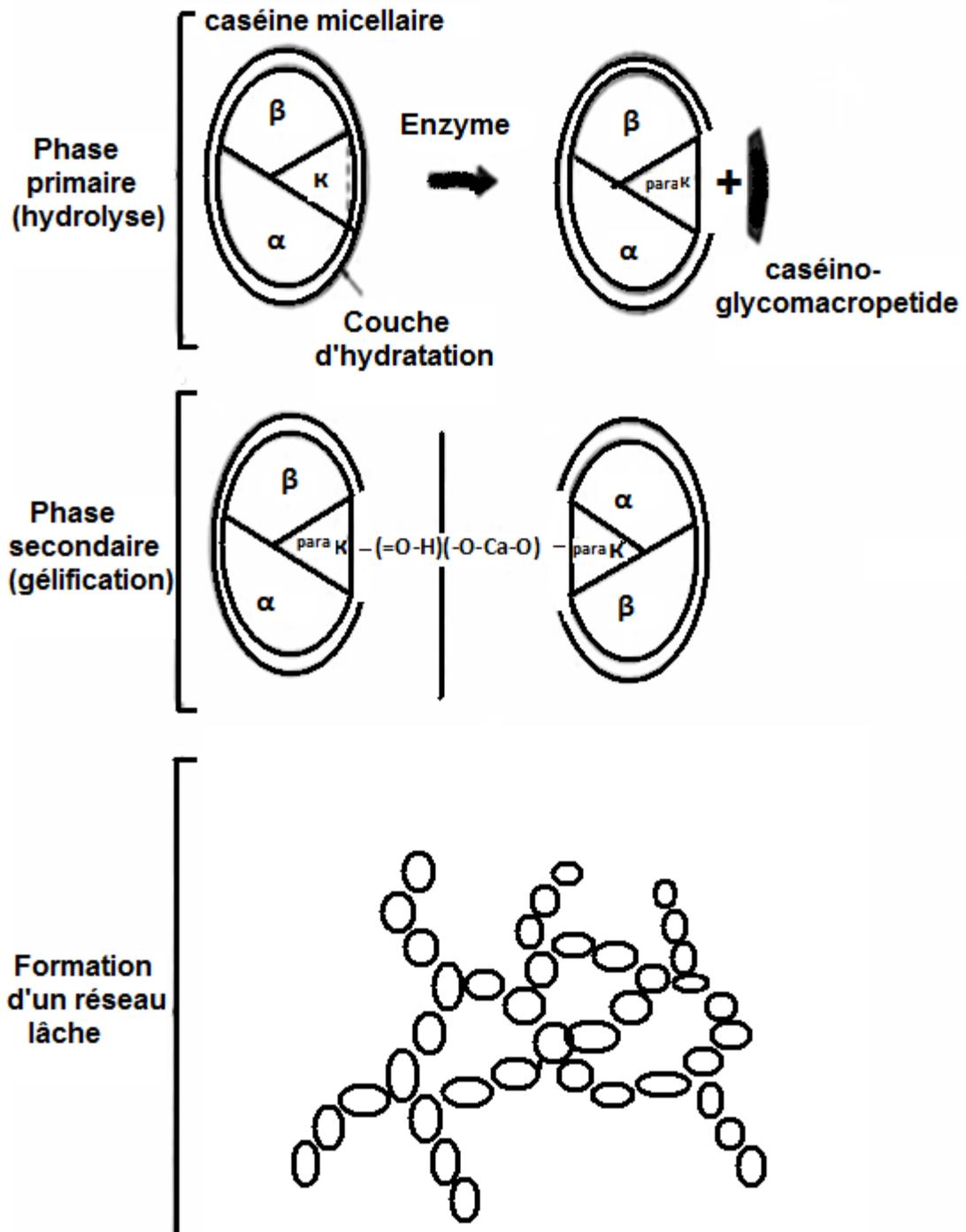


Fig.1 : Phases du processus de coagulation enzymatique du lait (ST-Gelais et Tirard-Collet, 2002).

2.2.2. La coagulation par voie acide

La coagulation par acidification est de nature électrochimique. Elle est consécutive à l'abaissement du pH, qui a pour effet de réduire l'ionisation des fonctions acides des caséines. Il en résulte une réduction de la charge des molécules protéiques avec solubilisation du phosphate de calcium micellaire conduisant à la précipitation des caséines à leurs pH isoélectrique voisin de 4,65. Ce mode de coagulation est observé par l'addition d'un acide minérale ou organique qui assure la transformation du lactose en acide lactique (**Scriban, 1993**).

Le gel ainsi formé, présente des caractères mécaniques et rhéologiques particuliers à savoir : une bonne perméabilité mais une friabilité élevée.

2.2.3. La coagulation par voie mixte

Elle résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification. La multitude de combinaisons conduisant à différents états d'équilibre spécifiques est à l'origine de la grande diversité des fromages à pâte molle et à pâte pressée non cuite.

Il existe deux méthodes différentes pour obtenir un caillé à coagulation mixte :

- Ajouter la présure après l'acidification du lait ;
- Acidifier un lait déjà emprésuré, cette dernière méthode étant la plus utilisée (**Jeantet et al., 2007**).

2.3. Les facteurs de la coagulation du lait

Plusieurs paramètres peuvent influencer les caractéristiques du caillé. Le contrôle de ces paramètres permet d'obtenir un caillé approprié à la transformation fromagère.

2.3.1. Nature et concentration en enzyme

Selon la règle de **Stock et Segelke** le temps de prise est inversement proportionnel à la dose d'enzymes utilisée. La nature des préparations enzymatiques, et dans le cas de présure, le rapport chymosine / pepsine ont aussi une incidence sur la vitesse de coagulation et sur les caractéristiques rhéologiques du gel (**Brule et al., 1997**).

2.3.2. Influence de la température

Le phénomène de la coagulation est fortement dépendant de la température. Au dessus de 10°C, la vitesse de coagulation est lent, au dessus de 20°C, elle augmente progressivement jusqu'à 40-42°C ; elle diminue ensuite et au dessus de 65°C, il n'y a plus de coagulation, l'enzyme est inactivée (**Brule et al., 1997**).

2.3.3. Influence du pH

Le pH d'emprésurage joue un rôle important sur les caractéristiques du gel et l'abaissement du pH entraîne une augmentation de la vitesse de raffermissement réduisant ainsi le temps. La fermeté est significativement accrue de pH 6,6 à pH 6,0, ce qui est du à une plus grande disponibilité du calcium ionisé, au-dessus de pH 6,0, la caséine se déminéralise et la désagrégation de la structure micellaire est accrue jusqu'à devenir total à pH 5,2 (**Mahaut et al., 2000**).

2.3.4. Teneur en calcium

La réticulation du gel lors de la coagulation du lait par la présure impliquant des liaisons phosphocalciques, est particulièrement influencée par la teneur et la nature du calcium présent.

L'addition de CaCl₂ entraîne une augmentation du calcium ionisé et du calcium colloïdal, ayant pour conséquence, une augmentation de la taille des micelles et un abaissement du pH par dissociation des groupements phosphorique et carboxylique des protéines, le temps de prise est plus court et la fermeté du gel est plus élevée (**Mahaut et al., 2000**).

2.3.5. La composition de lait

L'aptitude de la coagulation dépend essentiellement en kappa caséine qui est un des quatre éléments composant la caséine. Celle-ci représente près de 80% de la protéine du lait et constitue la base de chaque fromage. Un lait riche en caséine se coagule rapidement et donne un bon rendement fromager (**Jakob, 2006**).

Ainsi le diamètre des micelles de caséine joue un rôle dans la coagulation du lait, plus ce diamètre est grand, plus le temps de prise est long, plus le taux de raffermissement est faible et moins ferme sera le gel (**Collet et Gelais, 2002**).

CHAPITRE 3 :
LA PRESURE ET LES
SUCCEDANES
D'EMPRESURAGE

3. La présure et les succédanés d'emprésurage

3.1. La présure

3.1.1. Définition

La présure est l'enzyme extraite de la caillette du pré ruminant (veau). La solution obtenue contient deux enzymes : la chymosine et la pepsine bovine en proportions variables. Les solutions sont mises en vente en exprimant la force coagulante selon SOXHLET qui correspond au volume de lait à 35 °C coagulé par 1 litre de présure en 40 min. Ainsi un litre de présure de force 10 000 doit coaguler 10 000 litres de lait à 35 °C en 40 min (**Goursaud et Cuvellier, 1999**).

3.1.2. Composition

- **La chymosine (E C 3.4.23.4)** : C'est une holoprotéine de 35 000 daltons, appartenant au groupe des protéases acides (5,3 à 6,3), inactive dès 50°C. (**Goursaud et al., 1999**), la chymosine est la protéase majeure responsable d'au moins 85% de l'activité coagulante totale (**Ramet, 1997**).

La chymosine est sécrétée inactive sous forme de prochymosine dans la caillette, et elle activée en chymosine en présence de l'acidité d'ion H_3O^+ sécrété par cette organe.

En tant que enzyme protéolytique, la chymosine a une double action :

Une action coagulante par hydrolyse de la liaison Phe-Met (105-106) de la caséine k d'une part, et une action protéolytique générale capable de se manifester sur toutes les protéines au cours de l'affinage du fromage d'autre part (**Mahaut, Jeantet et al., 2000**).

- quantité importante après le sevrage des bovidés, alors que la chymosine disparaît. Son action protéolytique est voisine de celle de la chymosine mais les conditions d'action sont différentes. L'activité la plus marquée de la pepsine bovine est à pH acide (**Goursaud et al., 1999**).

3.1.3. Extraction de la présure commerciale

Industriellement la présure est extraite par la macération de morceaux de caillette sèches provenant de veau non sevrés ; dans une saumure à 10% de NaCl et contenant des additifs nécessaires à la préparation (Na_2HPO_4 ...), à la conservation (antiseptique et antifongique, à la dose maximale de 1%, par exemple : l'acide benzoïque et ses sels de Na, K ou Ca), et à la coloration par du caramel.

Le jus brut est ensuite purifié par voie physique et chimique. Il faut de 1 à 2 caillettes de 60 g pour obtenir 1l d'extrait commercial à 1/10 000 ; cette activité coagulante étant réglée par dilution avec de saumure. L'extrait commercial à force de 1/10 000 contient alors 10 à 16 % de NaCl et il est naturellement jaune d'or. Le mélange contient les deux enzymes chymosine et pepsine bovine (**GOURSAUD et al., 1999**).

3.2. Les succédanés de la présure

De nombreuses protéases de différentes origines sont capables de provoquer la coagulation du lait (tableau 09) mais toutes ne sont pas pour autant aptes à la fabrication fromagère car elles ne présentent pas les propriétés biochimiques et technologiques requises.

Selon (**Ramet, 1997 ; FAO, 1998**), l'enzyme coagulante doit répondre à certaines conditions résumées en :

- L'enzyme ne possède pas une activité protéolytique trop élevée,
- Une activité coagulante bonne dans les conditions physico-chimiques rencontrées dans le lait soumis à la transformation (pH, température, force ionique ...),
- Le comportement rhéologique du gel après floculation doit permettre d'effectuer les traitements de l'égouttage dans un délai acceptable,
- Obtenir un fromage présentant les caractéristiques de composition et de rendement souhaitées.

3.2.1. Les enzymes coagulantes d'origine animale

- **La trypsine et la chymosine** : Elles sont extraites de pancréas présentant une activité protéolytique élevée mais trop peu spécifique pour coaguler le lait dans des bonnes conditions.
- **La pepsine bovine** : Le poids moléculaire de la pepsine est de 35 000 Daltons, Elle comprend trois fractions A (E.C.3, 4 .23.1), B (E.C.3, 4 .23.2) et C (E.C.3 ,4.23.3) ou gastricin.
La pepsine bovine, provenant de l'estomac d'animaux adultes, a une activité protéolytique assez voisine de celle de la chymosine

Son activité enzymatique varie selon la nature de substrat, elle est plus élevée entre pH 1 et 4 avec un maximum vers 1,8. La pepsine est thermosensible en solution après 55 °C. ce qui limite son utilisation en Technologie (**Ramet, 1997**).

- **La pepsine de morue** : Celle-ci a été extraite de l'estomac de la morue de l'atlantique à froid 15 °C., cette pepsine a coagulé le lait plus efficacement que la Chymosine de veau.
- **La pepsine du poulet** : Elle est extraite du proventricule du poulet permettrait la fabrication de "Cheddar" mais si la maturation n'excède pas à trois mois. En 1973 à 1974, 50% des fromages en Israël étaient préparés à partir de pepsine de poulet (**Cuvelier et al., 1999**).

3.2.2. Les enzymes coagulantes d'origine microbienne

Le développement de l'industrie fermentaire permet une large production des protéases susceptible de remplacer la présure. Ces protéases sont soit d'origine bactérienne surtout de genre *Bacillus* ou fongique qui regroupe trois principales variétés :

-*Endothia parasitica* : C'est une moisissure parasite de châtaignier sécrétant de la protéase acide utilisée pour la fabrication de fromage avec le lait de vache seulement et ne bénéficiant pas d'une appellation d'origine (**Goursaud, 1999**).

-*Mucor pusillus* : D'après PIEN, (1974), l'enzyme prévenante de ce moisissure mésophile du sol a permis l'obtention de plusieurs types de fromages de bonne qualité. Cependant, il a été constaté qu'une des causes possibles d'une faible perte de rendement peut être la fragilité un peu plus grande des caillés obtenus avec cette enzyme (**Desmazeaud, 1985**).

-*Mucor miehei* : C'est une moisissure thermophile du sol sa culture à lieu en milieu liquide de composition adaptée, submergé et en aérobiose. L'enzyme en solution est séparée de mécylium par divers procédés physiques, puis purifiée. L'activité coagulante est ensuite standardisée pour la commercialisation.

C'est une protéase fongique acide de 38 000 Daltons de composition aminée voisine de celle de la présure. Seules les liaisons comportant un acide aminé

aromatique sont lysées et le comportement de cette protéase est voisin de celui de la présure (**Goursaud et al., 1999**).

Les méthodes modernes du génie génétique ont été récemment appliquées à la production de Chymosine par des micro-organismes clonés par le gène induisant l'expression de la prochymosine (**Ramet, 1997**) parmi ces micro-organismes on trouve :

Escherichia coli k₂ renfermant un gène de prochymosine A de veau et *Aspergillus niger* var *awamori*, renfermant un gène de prochymosine B de veau. (**Goursaud et al., 1999**).

3.2.3. Les enzymes d'origine végétale

De puis longtemps l'utilisation de quelques plantes qui ont un effet coagulant est traditionnellement utilisée pour la fabrication de fromage artisanale.

Parmi les plantes les plus utilisées on trouve, les fleurs du chardon et de l'artichaut, les feuilles et les tiges du gaillet, la tige d'ananas, le papayer, le melon et le figuier.

Malgré certain usage locaux répandus dans la méditerranée tel que l'utilisation de la ficine de figuier à la région Kabyle en Algérie pour la préparation de fromage frais traditionnelle (Djben) ; l'utilisation des cynarases de chardon est lentement employé pour la fabrication traditionnelle de plusieurs fromages Espagnols et Portugais.

En Bénin et Nigeria la pomme de Sodome (*Calotropis procera*), un arbuste très utilisé comme coagulant dans la fabrication du fromage par les éleveurs Peulh. (**Dossou et Hounzangbe, 2006**)

L'utilisation de ces plantes ne donnent pas des résultats très satisfaisants en comparaison avec ceux de la présure ; l'activité protéolytique généralement très élevée, se traduit par l'apparition d'un ensemble d'inconvénient technologique tels que l'amertume, la friabilité du caillé et le rendement fromager faible (**Cuvelier, 1999**).

3.2.4. L'artichaut

3.2.4.1. Définition et classification

L'observation du cycle naturel montre que l'artichaut est une espèce typiquement méditerranéenne à croissance végétative automno-printanière plus ou moins ralentie en hiver.

La partie consommable est un petit capitule de 80 à 90 g contenant des jeunes fleurs centrales inférieure ou égale 2 mm, un cœur ovoïde à longues bractées centrales, aussi charnues que possible et très peu anthocyanées (substrat d'oxydation).

L'artichaut (*Cynara scolymus*) est une plante dicotylédone de la famille des Astéracées ou composées (tableau 07) c'est un chardon domestique et cultivé ; de l'espèce (*Cynara cardunculus*), dont la variété sauvage est *Cynara cardunculus sylvestris* (**Chaux et Foury, 1994**).

Tableau n°4 : Classification botanique de l'artichaut

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Asterales
Famille	Asteraceae
Genre	Cynara
Nom binominal	<i>Cynara scolymus</i>

Source : Chaux Et Foury, (1994)

3.2.4.2. La valeur nutritionnelle et curative

L'artichaut est une légume très riches en divers composés nutritives et curatives, surtout en ce qui concerne : les polyphénols, où l'artichaut occupe la première place par un taux de 321,3 mg / 100 g (**Robin, 2009**).

Les composés phénoliques sont des éléments des qualités sensorielles (couleur, astringence) et nutritionnelles des végétaux que consomme l'homme et leur intervention dans la santé est maintenant reconnue dans des domaines variés : lutte contre l'athérosclérose, action antioxydante permet de lutter contre le vieillissement cellulaire (**Macheix, 2006**).

Selon **Arts Et Hollman, (2005)** une récente compilation d'études prospectives met en avant un effet protecteur probable d'un plus grand apport en flavonoïdes vis-à-vis des maladies cardiovasculaires ; cette protection est liée essentiellement à leur effet antioxydant (en particulier l'effet protecteur sur la peroxydase des lipoprotéines).

Une grande variété d'antioxydants ont été retrouvés dans les parties comestibles, tels que certains composés phénoliques (acide chlorogénique, narirutine et la cynarine) et d'anthocyanines (cyanidine, delphinidine).

L'artichaut est une source élevée de fibres avec 4,7 g pour un artichaut de taille moyenne, ils sont constituées de substances qui ne sont pas dégradées par l'organisme. Une alimentation riche en fibres variées est associée à un plus faible risque de cancer du côlon et peut aider à contrôler l'appétit, les fibres solubles (27%) peuvent contribuer à la prévention des maladies cardiovasculaires.

Les effets bénéfiques de l'artichaut sur le foie et la vésicule biliaire sont connus depuis longtemps, ils sont dus en particulier à :

- La cynarine, principe amer contenu dans les bractées à été synthétisée et utilisée dans les années 1980 comme stimulant du foie et de la vésicule biliaire, et pour réduire le cholestérol sanguin.
- La nectarine qui est cholagogue (facilite l'évacuation de la bile par le foie)
- La lutéoline, inhibiteur de la synthèse du cholestérol. (**VANIER, 2006**).

3.2.4.3. La composition

L'artichaut est une plante potagère dont on consomme le bourgeon floral très riche en protéines, en polyphénols, en macro et oligo-éléments (Cuivre, Magnésium, Fer, Manganèse, Calcium, Phosphore, Potassium et le zinc).

La plante est une bonne source de diverses vitamines indispensables à l'organisme tel que la vitamine C, K et les vitamines de groupe B (tableau 08).

Tableau n°5 : La teneur en différents composés de l'artichaut.

100 g d'Artichaut cuit dans l'eau bouillante et salée	
Fibre	8,6 g
Calorie	220 KJ
Protéine	2,89 g
Lipides	0,34 g
Sucres dont :	0,99 g
-glucose	0,24 g
-fructose	0,02 g
Polyphénols	321 mg
Fer	0,61 mg
Zinc	0,4 mg
Manganèse	0,225 mg
Calcium	
Magnésium	21 mg
Phosphore	42 mg
Potassium	73 mg
Vitamine C	7,4 mg
Vitamine B ₆	0,081 mg
Folates B ₉	89 µg

Source : Bedard, (2006).

3.2.4.4. L'utilisation des protéases d'artichaut comme agent coagulant

Des protéinases aspartiques des fleurs de *Cynara cardunculus* ont été intensivement étudiées et longtemps employées comme coagulants dans la fabrication de plusieurs

fromages Espagnols et Portugais traditionnels, ces endopeptidases s'appellent les Cardosins ou les cynarases.

Cependant, les protéinases d'une autre plante de genre *Cynara*, l'artichaut (*Cynara scolymus*) sont moins connus probablement parce que la fleur est habituellement consommée comme légume (**Sidrach, Garcia-Canovas et al., 2004**).

Les fleurs d'artichaut ont été étudiées comme source des enzymes à employer dans la production de fromage comme alternative ou en plus de la présure de veau (**Chazarra et al., 2007**).

Trois protéinases (cynarases A, B et C) ont la propriété de coaguler le lait sont épurées du foin de l'artichaut, chaque une des trois protéinases est une glycoprotéine et composée d'une grande et d'une petite sous unité.

L'extrait de l'artichaut pouvait également être employé dans l'industrie du lait comme l'extrait obtenu à partir de la fleur du *Cynara cardunculus*.

(Sidrach, Garcia-Canovas et al., 2004).

Tableau n °6 : Origine de quelques enzymes utilisées pour coaguler le lait

		Origine	Enzymes
Végétale		<ul style="list-style-type: none"> • Papayer (<i>Carica papaya</i>) • L'artichaut (<i>Cynara scolymus</i>) • Cardon (<i>Cynara cardunculus</i>) • Figuiers (<i>Ficus carica</i>) • Ananas (<i>Ananas comosus</i> merre) 	Papaïne Cynarases Cynarases Ficin Broméline
		<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de pancréas • Estomac des animaux adulte • Extrait estomac poulet • Caillettes des veaux pré ruminants • Extrait de l'estomac de la morue de l'atlantique 	Trypsine+chymosie Pepsine bovine A.B.C Pepsine Chymosine+pepsine Pepsine
Microbienne	Fongique	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Endothia parasitica</i> • <i>Mucor pusillus</i> lindt • <i>Mucor miehei</i> 	Protéase acide Protéase acide Protéase acide
	Micro-organismes génétiquement modifiés	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Aspergillus oryzae</i> • <i>Aspergillus niger</i> var <i>awamori</i> 	Aspartyl protéase Chymosine

Source : Goursaud et cuvellier,(1999).

3.5. Le chardon

3.5.1. Définition

Le chardon ou l'artichaut sauvage est une espèce vivace, avec un très fort pouvoir de dissémination et une très grande capacité de développement de l'appareil souterrain.

3.5.2. Biologie

- Un chardon produit de 4000 à 5000 graines par an.
- Un fragment de racine de 3 mm peut donner une nouvelle plante.
- Un chardon peut progresser latéralement de 2 m par an.
- Les racines peuvent descendre jusqu'à 6 m de profondeur.
- Un chardon peut coloniser jusqu'à 250 m en 3 ans environ.

3.5.3. Classification

Règne : Plantae

Division : Magnolio

Classe : Magnoliopsida

Ordre : Asterales

Famille : Asteraceae

Genre : Galactites

Nom binominal : *Galactites tomentosa*



Fig.2.Fleur de *Galactites tomentosa*

3.5.4. La valeur curative L'artichaut sauvage est la plante médicinale la plus utilisée pour traiter les maladies du foie.

PARTIE : 2
EXPERIMENTATION ET
RESULTATS

CHAPITRE : 1

MATERIELES ET METHODES

1. Matériels et méthodes

1.1. Présentation du lieu de stage

La Laiterie de Béni Tamou est une unité de production et de commercialisation du lait et de ses dérivés ainsi que la production et la commercialisation des fromages.

La Laiterie de Béni Tamou est située dans une zone d'activité à 10 kilomètres au nord ouest de la ville de Blida.

Le site de l'usine s'étale sur une superficie d'environ 6 hectares, plus une station d'épuration des eaux usées (eaux de process) située à environ 1 kilomètre au nord de l'usine d'une superficie d'environ 1 hectare.

L'usine a été réalisée par la firme italienne "intercoop", et son exploitation a démarré en 1989, avec la dénomination de l'UPL 04 (unité de production laitière 04), rattachée à la Direction Générale ORLAC (office régionale du lait centre).

Dans le cadre de la réorganisation, et en Octobre 1997, et à l'instar de l'ensemble des unités de production laitière du territoire national, l'UPL 04 s'est constituée en filiale avec une nouvelle appellation « Laiterie de Béni Tamou », disposant de son propre conseil d'administration, et avec un nouveau registre de commerce, avec un capital social de 200.000.000 DA, et ayant comme tutelle le Groupe GIPLAIT (Groupe industriel des productions laitières).

Le nouveau propriétaire a procédé à un important investissement à savoir le lancement de la production et la commercialisation des fromages de tous types.

1.2. Matériels biologiques ou matière première

Le matériel biologique utilisé dans ce travail est :

❖ Le lait

- Le lait utilisé pour la fabrication de fromage frais «El djeben» est un lait de reconstitué de 0% MG.
- Poudre de lait à 0% matière grasse de type «low Heat».

❖ L'artichaut *Cynara Sculymus*

L'artichaut utilisé pour la préparation de l'extrait coagulant est un artichaut commercial fourni par le marché de la région de Blida.

❖ Le chardon *Galactites tomentosa*

Le chardon utilisé pour la préparation de l'extrait coagulant est un chardon récolté de la région de Blida.

1.3. Matériels de laboratoire et réactifs

1.3.1. Matériels de laboratoire

Le matériel de laboratoires utilisé (pH mètre, dessiccateur, verrerie ...) (Annexe 1).

1.3.2. Les réactifs

- Alcool.
- Alun de fer.
- Sulfite de sodium.

1.3.3. Les milieux de cultures

Les milieux de culture utilisés dans notre travail sont :

- Gelose vinde foie(VF)
- Baird Parker (BP)

1.4. Extraction des enzymes coagulantes

1.4.1. Obtention et conservation des fleurs d'artichaut et de chardon

Notre travail a porté sur une coagulase extraite d'artichaut d'espèce de *Cynara scolymus* et de chardon d'espèce *Galactites tomentosa*.

Les fleurs récupérées sont conservées selon une méthode traditionnelle par plusieurs auteurs : (**Christen et Virasoro, 1935 ; Tsouli, 1974 ; Martin et al., 1996**).

Son principe est basée sur le séchage des fleurs à température ambiante et à l'abrit des rayons solaires, pendant environ 2 semaines pour le chardon et 3 semaines pour l'artichaut, après leur étalement sur une toile sèche absorbant l'humidité ou sur un papier ce qui leur permettra de conserver pendant longtemps leurs activités.

1.4.2. Extraction du complexe enzymatique

100g de fleurs séchées sont broyées dans un mixeur à température ambiante, dans 500ml de la solution tampon d'acétate de sodium 0,1M à pH 5 (Annexe 4).

Afin d'évité toute prolifération de microorganisme, 0,2% d'acide borique ont été ajouté à la solution.

Une congélation de la préparation est effectuée pendant 24h à (-18°C), suivi d'une décongélation à température ambiante. Ce refroidissement brusque de notre mélange provoque des cassures dans les membranes facilitant ainsi la libération de leur contenu (**Laurent, 1974**).

Après décongélation, la préparation subit une macération avec une agitation douce à température ambiante pendant 1h.

Ces opérations servent à augmenter la pression osmotique de la solution et permettent de favoriser le passage de l'enzyme contenue dans les cellules végétales vers la solution (**Tsouli, 1974**).

Après macération, les solutions sont filtrées sur une toile, afin d'éliminer les particules solides. Le filtrat ainsi obtenu est centrifugé à 3000 trs /min pendant 30min.

Le surnageant ainsi récupéré subit une première filtration sur papier filtre, la solution obtenue subit encore une autre filtration sous vide sur une membrane de 0,4µm.

On obtient ainsi notre extrait enzymatique brut limpide, qui après ajustement de pH à 5 est conservé par congélation à -4°C (**fig. :03**).

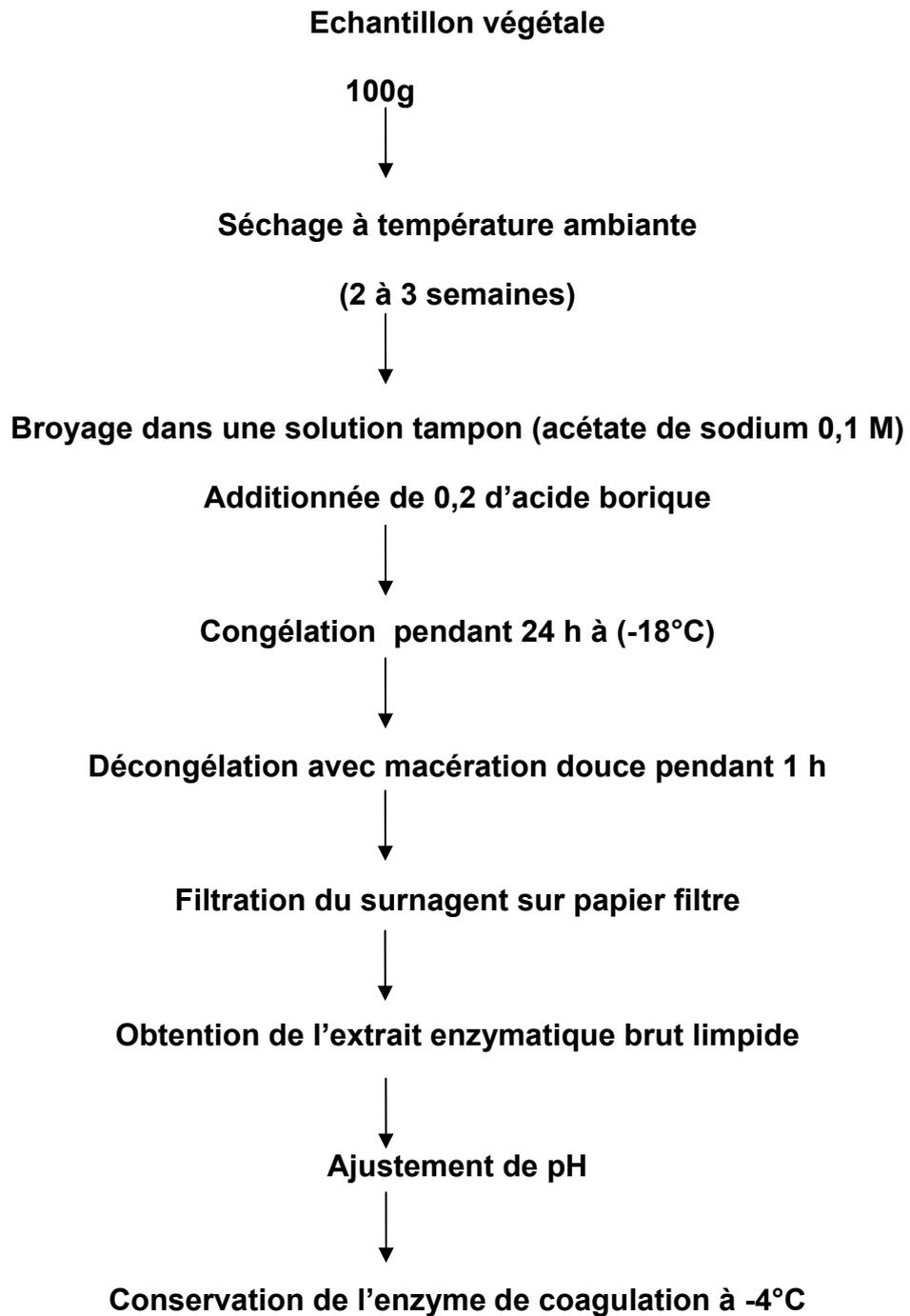


Fig.3 : Principales étapes de l'extraction du système enzymatique des fleurs de *Cynara scolymus* et *Galactites tomentosa*.(Laurent,1974).

1.5. Analyses physico-chimiques de l'extrait

1.5.1. Détermination de la teneur en extrait sec

La teneur en extrait sec (matière sèche) est déterminée par la méthode de référence (AOAC, 1999).

➤ Principe

Le principe est basé sur la dessiccation de la prise d'essai à une température de 105 °C, dans une étuve isothermique ventilée, à la pression atmosphérique jusqu'à l'obtention d'un poids pratiquement constant.

➤ Mode opératoire

L'extrait est pesé et séché dans une étuve à circulation d'air de marque « Heraeus » réglée à 105 °C, laisser durant 24 h, refroidir au dessiccateur pendant 30 min, peser, remettre une heure à l'étuve et précéder à une nouvelle pesée, continuer l'opération jusqu'à l'obtention d'un poids fixe.

➤ Expression des résultats

La teneur en matière sèche est donnée par la relation suivante :

$$\text{MS \%} = \frac{P_1}{P_0} \times 100$$

MS : matière sèche en %

P₀ : poids d'échantillon après dessiccation en gramme.

P₁ : poids d'échantillon avant dessiccation en gramme

1.5.2. Détermination de la matière minérale

La teneur en matière minérale est déterminé par la méthode de référence (AFNOR NFV 03-760)

➤ Principe

La teneur en matière minérale d'une substance alimentaire est conventionnellement le résidu de la substance après destruction de la matière organique après l'incinération du produit à 550 °C et le pesé du résidu.

➤ **Mode opératoire**

Porter au four à moufle, la capsule en porcelaine préalablement calcinée et tarée contenant 2 g de l'échantillon finement broyé du résidu qui a servi à la détermination de la matière sèche.

Chauffer progressivement afin d'obtenir une carbonatation (combustion) sans inflammation de la masse, le four est réglée à 200 °C pendant 1 h 30 min puis à 550 °C durant 2 h 30 min.

L'incinération doit être, poursuivie jusqu'à combustion complète du charbon formé et l'obtention des cendres blanches ; grise claires ou rougeâtres, durant un heur et procéder à la pesée.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en cendres exprimée en pourcentage massique de l'échantillon rapportée à la matière telle qu'elle est donnée par la relation suivante :

$$\text{Teneur en cendre / MF} = [(P_2 - P_0) / P_1] \times 100$$

P₀ : poids de la capsule vide ; en gramme.

P₁ : poids de la prise d'essai ; en gramme.

P₂ : poids de la capsula après incinération ; en gramme.

La teneur en matière minérale est exprimée en pourcentage massique rapportée à la matière sèche (MM% MS) est égale à :

$$\text{MM / MS} = \left[\frac{P_2 - P_0}{P_1} \right] \times 100 \left[\frac{100}{(100 - H)} \right]$$

MM / MS: matière minérale par rapport à la matière sèche

P₀ : poids, en gramme, de la capsule vide ;

P₁ : poids, en gramme, de la prise d'essai ;

P₂ : poids, en gramme, de la capsule après incinération ;

H : la teneur, en pourcentage, en eau de la poudre végétale.

1.5.3. Dosage de protéines totales selon la méthode de KJELDAHL (AFNOR, 1986)

- **Mode opératoire**

➤ **Minéralisation**

Dans un matras KJELDAHL, introduire 5 mL d'échantillon. Ajouter 15 à 20 mL d'acide sulfurique concentré, environ 2 g de catalyseur composé de 100 g de sulfate de potassium pur, 10 g de sulfate de cuivre pur et 1 g de sélénium en poudre pur, après homogénéisation laisser pendant 3 heures dans le minéralisateur jusqu'à obtention d'une solution limpide et ceux-ci par chauffage modéré, puis fort en évitant de surchauffer les parois du matras.

➤ **Distillation et dosage de l'ammoniac**

Après refroidissement, le minéralisât est récupéré avec précaution dans une fiole de 100 mL avec l'eau distillée. Transvaser 20 mL du minéralisât dilué dans un ballon additionné de 20 mL de lessive de soude à 33% (d = 1,33), plus 80 mL d'eau distillée.

- ☞ Placer le ballon dans le dispositif de distillation.
- ☞ Placer l'allonge qui termine le dispositif dans un bûcher de 200 ml contenant 20 mL d'acide borique à 4% et 2 gouttes d'indicateur (TASHIRO).
- ☞ Après distillation ; tirer le distillat avec l'acide sulfurique à N/50 (d = 1,83).

• **Expression des résultats**

Les résultats sont exprimés en pourcentage de matière sèche (M.S) de façon suivante :

$$N (g) = X. 0,0008. (100/Y). (100/A)$$

N (g) : La teneur en azote totale (g).

X : Descente de la burette (mL).

Y : Prise d'essai (5 mL lait ou 2 g fromage).

A : Volume du minéralisât 20 mL.

$$\text{Teneur en protéines \%} = N (g). 6,25$$

1.6. Mesure de l'activité coagulante selon la méthode de Bridge

1.6.1 Préparation de substrat de Bridge

Peser 12 g du lait écrémé en poudre 0% de matière grasse (fourni par LFB) qu'il faut dissoudre dans 100 mL de solution de CaCl_2 à 0,01 mol et suivre une agitation lente pendant 20 minutes, le substrat est réparti dans des tubes à essai à raison de 10mL pour chacun et maintenir 30 minutes dans un bain Marie à 35 °C (pH 6,5).

1.6.2. Mesure du temps de prise par la méthode visuelle de Bridge

Cette méthode consiste à déterminer visuellement, à l'aide d'un chronomètre, à partir du moment de l'addition de la solution enzymatique coagulante (1 mL de la solution enzymatique dans 10 mL du lait) le temps d'apparition des premiers flocons des micelles de caséine (taille de $2 \cdot 10^{-4}$ m) qui corresponde au temps de prise. Le temps de coagulation est trois fois le temps de prise.

1.6.3. Calcul de l'activité coagulante AC

Dés 1877, **SOXHLET** avait défini la force des présures commerciales comme le nombre de volume du lait frais de mélange coagulé par un volume de présure en 40 min à 35 °C.

$$F = \frac{2400 \times V_1}{t \times V_2}$$

F : force coagulante (sans unité).

v_1 : le volume du lait utilisé (mL).

v_2 : le volume de l'extrait enzymatique coagulant (mL).

t : le temps de prise en seconde.

En 1945 Bridge définie l'unité de présure (UP) comme la quantité d'enzyme active qui coagule 10 mL de substrat standard (**Desmazeaud, 1985**).

Cette activité coagulante est calculée selon la formule suivante :

$$AC = \frac{10 \times V_1}{t \times V_2}$$

AC : l'activité coagulante (UP).

v_1 : le volume du lait utilisé (mL).

v_2 : le volume de l'extrait enzymatique coagulant (mL).

t : le temps de prise en seconde.

1.7. Caractérisation de la solution enzymatique

Plusieurs facteurs peuvent influencer l'activité coagulante des extraits enzymatiques.

L'étude de leur impact sur la coagulation permet d'optimiser les conditions de cette dernière.

1.7.1. Influence de la température du lait

L'activité coagulante est déterminée en faisant varier la température du lait de 20 °C à 80°C par un intervalle de 10 °C utilisant un bain-marie (pH du lait 6,5 et la concentration en CaCl_2 est de 0,01 mol).

1.7.2. Influence du pH

Pour déterminer l'influence du pH du lait sur l'activité coagulante de l'extrait de l'artichaut comparé à celle de la présure, en faisant varier le pH du lait de 5,2 à 7 par un intervalle de 0,4, (température de 35 °C. et concentration en CaCl_2 de 0,01 mol).

L'ajustement du pH s'effectue par l'addition sous agitation d'acide chlorhydrique (12,5%) et la soude (1N).

1.7.3. Influence de la concentration en CaCl_2

La concentration du lait en CaCl_2 est variée de 0,005 mol à 0,07 mol par un intervalle de 0,002 mol pour vérifier l'influence de cette concentration sur l'activité coagulante des enzymes coagulantes.

1.7.4. Influence de la concentration de l'enzyme coagulante

Pour tester l'effet de l'augmentation de volume des enzymes sur leur activité coagulantes on a changé la quantité de la présure et de l'extrait des ((artchaut et artichaut sauvage)0,5 à 2 ml dans 10 ml du lait.

1.8. Essai de fabrication de fromage frais traditionnel « El djeben »

1.8.1. Préparation du lait

Les 3 litres du lait cru utilisés pour la fabrication d'El djben sont préparés sur le plan microbiologique par pasteurisation à 75 °C pendant 30 minutes pour détruire les microorganismes pathogènes.

1.8.2. Emprésurage

La quantité du lait est divisée en trois parties (1 litres pour chaque une), une partie pour la fabrication de fromage témoin emprésuré par la présure bovine commerciale 1/10000 à raison de 0,08 g.

La deuxième partie est emprésurée par l'extrait d'artichaut utilisant un volume de 20 mL.

La troisième partie emprésurée par l'extrait de chardon utilisant un volume de 150 mL.

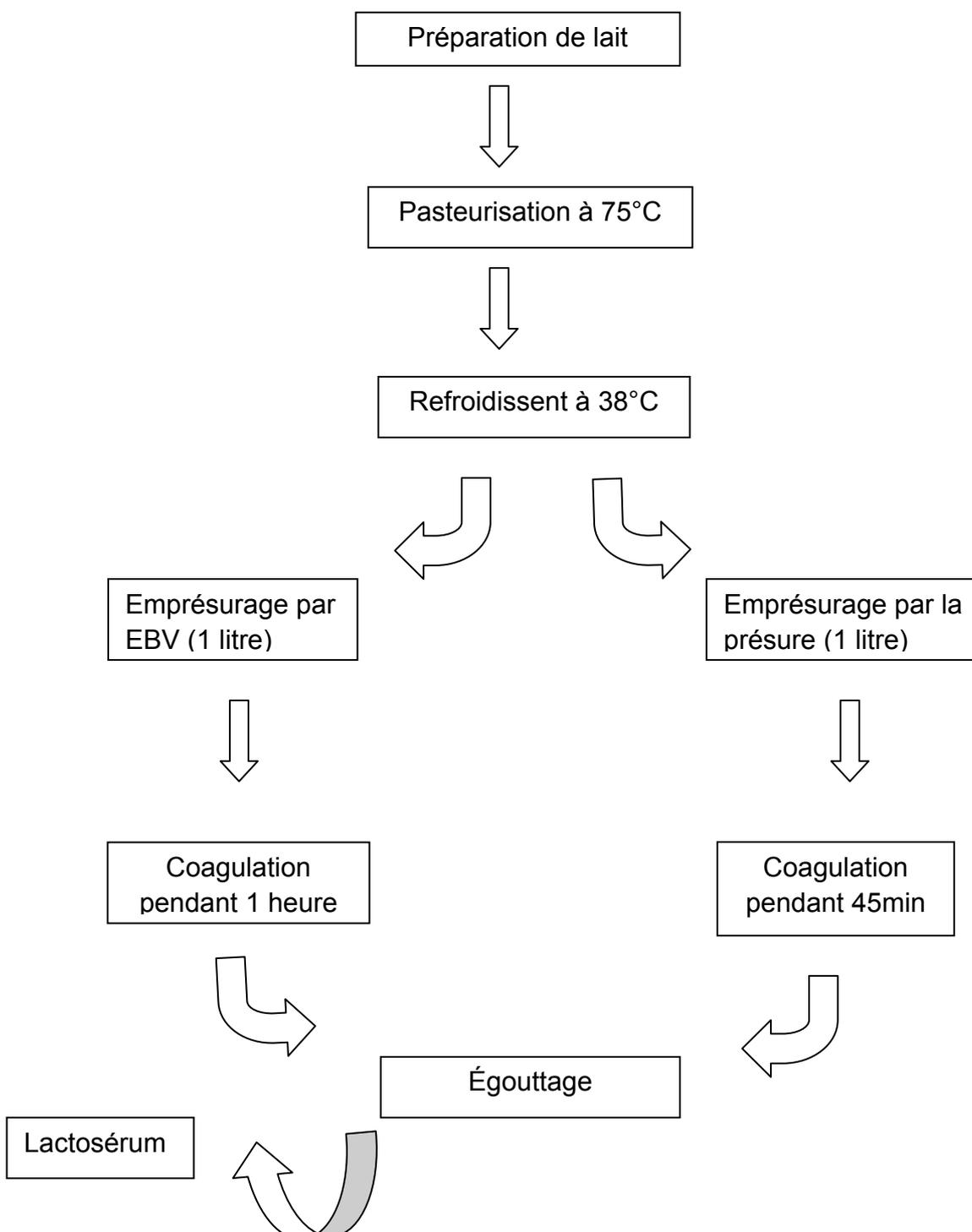
1.8.3. Egouttage et moulage

Des que la coagulation est réalisée, le caille découpe est récupère à la louche et mis dans une toile stérile dans un moule en plastique perforée pour facilite la séparation du lactosérum et du caille ; une fois ce dernier est débarrasse de son sérum, il devient donc fromage frais.

1.8.4. Saumurage

Les boules de fromage sont démoulées et immergées dans un bain de saumure (350 à 400 g de NaCl /litre d'eau) à une température de 12 à 14 °C pendant 2 heures.

Cette opération a pour but de saler le fromage, favoriser l'exsudation de sérum par une réaction d'osmose.



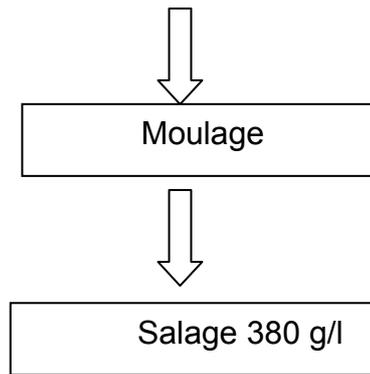


Fig. 4: Les étapes de fabrication du fromage

1.9. Analyses physico-chimiques du lait pasteurisé, du lactosérum et du fromage

Nous avons suivis les mêmes méthodes d'analyses physico-chimiques quotidiennement effectuées par le laboratoire de laiterie et fromagerie de Bni Tamou. Ces méthodes sont adaptées aux normes AFNOR, 1986.

1.9.1. Détermination de la densité

➤ Principe

La densité du lait est déterminée comme étant le rapport entre la masse d'un volume déterminé du lait et la masse d'un même volume d'eau à une même température, utilisant un thermo-lacto-densimètre (**Charprenet, 1982**).

➤ Mode opératoire

Verser le lait dans une éprouvette de 250 mL jusqu'aux rebords, en évitant la formation de la mousse, introduire le thermo-lacto-densimètre, après l'équilibre de celui-ci lire la densité et la température.

➤ Expression des résultats

- Si la température du lait est supérieure à 20 °C. : $D = D_0 + 0,2 (T^0 - 15)$
- Si la température du lait est inférieure à 20 °C. : $D = D_0 - 0,2 (T^0 - 15)$

D : la densité réelle du lait.

D_0 : la densité du lait lue sur l'échelle de thermo-lacto-densimètre.

T^0 : la température lue sur le thermo-lacto-densimètre.

1.9.2. Mesure de l'acidité titrable

➤ Principe

Il s'agit de titrage de l'acidité par une solution de la soude en présence d'un indicateur coloré (**Guiraud, 1998**).

➤ Mode opératoire

A l'aide d'une pipette on introduit 10 mL du lait, du lactosérum ou du fromage dilué (10 g de fromage dans 100 mL d'eau distillée) dans un bêcher puis on ajoute 3 gouttes de phénolphaléine (1 %), on titre avec la soude (N/9) jusqu'à le virage de la couleur au rose pâle.

Le résultat correspond la chute de burette.

➤ **Expression des résultats**

L'acidité est exprimée en degré Dornic (°D), sachant que 0,9 g d'acide lactique correspond à 0,1 mL de NaOH (N/9).

$1 \text{ } ^\circ\text{D.} = 0,1 \text{ g d'acide lactique par litre du lait}$

1.9.3. Détermination de la teneur en matière grasse

Cas du lait et du lactosérum

➤ **Principe**

Cette méthode est basée sur la dissolution des éléments de l'échantillon sec, matière grasse exceptée, par l'acide sulfurique, sous l'influence de la force centrifuge et grâce à l'adjonction d'une quantité d'alcool iso amylique la matière grasse se sépare (**Godon et Loisel, 1991**).

➤ **Mode opératoire**

On met dans un butyromètre 10 mL d'acide sulfurique H_2SO_4 de densité $D=1,825$. On verse 11 mL du lait ou du lactosérum sur la paroi interne du butyromètre puis on ajoute 1ml d'alcool iso amylique ($d= 0,813$).

On ferme le butyromètre avec soin à l'aide d'un bouchon en caoutchouc, agitant à la main ensuite on le met dans une centrifugeuse de 1200 trs/min pendant 5 minutes.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en matière grasse exprimée en pourcentage est lue directement sur le butyromètre.

Cas du fromage

➤ **Principe**

La teneur en matière grasse est déterminée selon la méthode acidobutyrométrique dite de VANGULET qui consiste à la dissolution des protéines du fromage par l'acide sulfurique et la séparation par centrifugation en présence d'une quantité d'alcool iso amylique.

➤ **Mode opératoire**

On pèse 3 g du fromage, l'introduire dans le butyromètre et on ajoute de l'acide sulfurique ($d=1,82$) jusqu'au 2/3 de la chambre de butyromètre.

On le met dans un bain Marie à 65 °C, l'agiter toutes les 5 à 10 minutes, jusqu'à dissolution complète, on le retire et on ajoute 1 mL d'alcool iso amylique, on ferme bien le bouchon et on place le butyromètre dans la centrifugeuse pendant 5 minutes.

➤ **Expression des résultats**

La teneur en matière grasse est exprimée par rapport à 100 g du fromage.

$$\% \text{ MG} = \text{B} - \text{A}$$

MG : la matière grasse.

A : niveau du liquide à l'extrémité inférieure de la colonne de butyromètre.

B : niveau du liquide à l'extrémité supérieure de la colonne de butyromètre.

1.9.4. Détermination du pH

➤ **Principe**

Le pH est déterminé à l'aide d'un pH mètre, il consiste à introduire l'électrode dans le produit à analyser.

➤ **Mode opératoire**

On introduit l'électrode du pH mètre directement dans le produit à analyser et on le laisse stabiliser.

➤ **Expression des résultats**

La valeur du pH est affichée directement sur le pH mètre.

1.9.5. Détermination de l'extrait sec total (EST)

➤ **Principe**

C'est une dessiccation jusqu'à poids constant de l'échantillon.

➤ **Mode opératoire**

Introduire dans le dessiccateur une prise d'essai de 1,2 à 1,5 g, régler la température selon la nature de l'échantillon qui est de 95 °C le lait, le lactosérum et le fromage.

➤ **Expression des résultats**

Le résultat est lu directement en pourcentage sur l'afficheur du dessiccateur.

1.9.6. Détermination de l'humidité

Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage par rapport à la masse de produit, il est déterminé selon la relation :

$$H\% = 100 - EST$$

H : l'humidité en pourcentage.

EST : l'extrait sec total.

1.10. Le rendement fromager

Selon **Jeantet et al., (2002)** ; le rendement fromager est défini comme étant la quantité de fromage obtenue à partir d'une quantité du lait mis en œuvre.

Il s'exprime par la formule suivante :

$$R_F = M_F / M_L \cdot 100$$

R_F : le rendement fromager (sans dimension).

M_F : la masse du fromage en Kg.

M_L : la masse du lait en Kg.

1.11. Les analyses microbiologiques

L'appréciation de la qualité microbiologique du lait et des produits laitiers constitue un outil essentiel à l'évaluation de l'application des règles de bon pratique, au respect des règles d'hygiène générales aussi bien à la ferme qu'à l'usine, cela afin d'établir la conformité aux normes (**Lamontagne et al., 2002**).

Les analyses microbiologiques du lait et du fromage sont les mêmes sauf qu'il faut préparer une solution mère pour le fromage comme suit :

A l'aide d'une sonde métallique stérile, on va prélever 25 g de fromage, l'introduire aseptiquement dans un flacon stérile contenant 9 ml d'eau physiologique. Après une bonne homogénéisation la solution obtenue correspond à la solution mère de dilution 1/10 soit 10^{-1} . A l'aide d'une nouvelle pipette pasteur stérile, prélever 1 ml de la dilution 10^{-1} précédente et l'introduire dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique. Le tube est agité manuellement pour rendre la dilution homogène et on obtient une dilution de $1/100^{\text{ème}}$ ou 10^{-2} , de la même manière on obtient la 10^{-3} , en changeant la pipette à chaque fois.

1.11.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux

➤ **Principe :**

Ce sont des Entérobactéries, non sporulés, aérobies ou anaérobies facultatifs, caractérisées par leur capacité de fermenter le lactose avec production de gaz après 48 h d'incubation à 37 °C. Leur recherche est effectuée sur des milieux riches en lactose avec les sels biliaires comme agent sélectif (**Leclerc. 1996**).

➤ **Technique**

A l'aide d'une pipette stérile, on porte 1 mL de chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}), on l'ensemence dans des boîtes de pétries stériles puis on complète avec environ 20 ml de gélose deoxycholate fondu et refroidi. On fait ensuite des mouvements circulaires pour permettre de mélanger l'inoculum avec la gélose. Après refroidissement, incuber les boîtes a 37°C pendant 24 h.

➤ **Lecture**

Les coliformes totaux apparaissent en masse sous formes de petites colonies de couleur rouge et de 0,5 mm de diamètre. Le nombre de colonies trouvé sera multiplié par l'inverse de la dilution correspondante. Le nombre des colonies doit être compris entre 30 et 300 (**Giraud et Galzy, 1980**).

Les résultats sont exprimés en nombre de germes par « ml » ou « g » de produit selon la formule suivante :

$$X = N. 1/D .1/V$$

X : nombre de germe par ml ou g de produit

N : nombre de colonies.

V : volume de l'inoculum.

D : facteur de dilution ou la dilution considérée

1.11.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux

Les coliformes fécaux (*Echerichia coli*) sont des bacilles Gram- aéro-anaérobie facultatif, thermo-tolérants, fermentent le lactose et produisent de l'indole à 44C° (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

➤ **Technique**

On suit les mêmes étapes pour le dénombrement des coliformes totaux sauf dans ce cas les boîtes sont incubées à 44°C pendant 24 heures.

➤ **Lecture**

Après incubation ils apparaissent sous forme de colonies, de couleur rouge cerise. On retient les boîtes contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300.

1.11.3. Recherche et dénombrement de *Clostridium sulfito-réducteur*

➤ Principe

Les clostridies sont des bactéries sulfite-réductrice, anaérobies strictes, à gram positif, immobiles, sporulées, thermorésistantes et fermentent le lactose avec production de gaz.

Leur recherche est réalisée sur gélose VF additionnée de sulfite de sodium et d'alun de fer. La présence de ces germes se manifeste par la réduction du sulfite de sodium en présence d'alun de fer en sulfure et en donnant des colonies noires.

➤ Technique

Introduire 2x5 ml de la suspension mère dans 2 tubes vides et stériles et également 1 ml de cette dernière qui va être complétée par la suite avec 4 mL d'eau physiologique stérile.

Ces 3 tubes sont portés au bain-marie à 80°C pendant 10 minutes, afin d'éliminer les formes végétatives et des de ne laisser que les spores. Les tubes sont aussi tôt refroidis à l'eau du robinet avant de faire couler aseptiquement la gélose VF fondue et refroidie à 45°C additionnée de sulfite de sodium(5 ml) et d'alun de fer (2 mL) les tubes sont à nouveau refroidis à l'air ambiant et incubés à 37°C pendant 72°C.

➤ Lecture

Les colonies de *Clostridium sulfito-réducteur* apparaissent de couleur noire le résultat s'exprime par le nombre de spore par « ml » ou « g » de produit.

1.11.4. Recherche et dénombrement des *Staphylocoques pathogènes (Staphylococcus aureus)*

➤ Principe

Le milieu utilisé est le milieu gélosé Baird-Parker qui contient du chlorure tellurite et une concentration en glycine pour inhiber la flore secondaire. Par contre le pyruvate et la glycine agissent comme accélérateurs sélectifs de croissance pour les Staphylocoques. Dans ce milieu opaque par la suite de la teneur en jaune d'œuf, les colonies de Staphylocoques présentent deux caractéristiques diagnostiques :

- Elles donnent naissance par lipolyse et protéolyse à des halos clairs caractéristiques.
- La réduction du tellurite en tellure développe une coloration noire.

➤ Technique

Transférer à l'aide d'une pipette stérile, 0,1 mL de la dilution décimale 10^{-1} , à la surface d'une plaque de la gélose BP. Étaler soigneusement l'inoculum à la surface de la gélose en essayant de ne pas toucher les bords de la boîte avec un étaleur stérile. La boîte sera incubée à 37°C pendant 48 heures.

➤ Lecture

L'apparition de colonies noires, brillantes, convexes et entourées d'une zone transparente indique la présence de *S. aureus*.

Les résultats sont exprimés en nombre de germe par ml de produit analysé.

1.11.5. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

➤ Principe

Il repose sur l'emploi d'un milieu de culture solide rendu sélectif par acidification et/ou avec l'addition d'un antibiotique (oxytétracycline pour l'OGA) et (chloramphénicol pour Saboureaud) qui inhibe le développement de la flore bactérienne.

➤ Technique

A partir de la dilution décimale 10^{-1} , porter aseptiquement 2 gouttes dans une boîte de pétris contenant de la gélose Saboureaud au chloramphénicol. Étaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile, puis incubé à 25°C pendant 5 jours. Dans le souci de ne pas se trouver face de boîte envahies soit par les levures soit par les moisissures, on doit effectuer des dénombrements tout les jours.

➤ Lecture

Les colonies des levures ressemblent à celles des bactéries, elles sont brillantes rondes et bombées, de couleurs différentes alors que celles des moisissures ont un aspect velouté et sont plus grandes de couleur blanche ou pigmentées. Par ailleurs, étant donné qu'on a travaillé avec la dilution 10^{-1} , il faut multiplier le nombre de colonies trouvées par l'inverse de la dilution correspondante. Les résultats sont exprimés en nombre de germes par « ml » ou « g » de produit.

CAPITRE : 2

RESULTATS ET DISCUSSION

2. Résultats et discussion

2.1. Les analyses physicochimiques de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon

Les résultats des analyses physicochimiques faites sur l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon sont consignés dans le tableau n°7.

Tableau n°7: Résultats des analyses physicochimiques de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon

Paramètre	viscosité	odeur	couleur	pH	EST(%)	P(%)	MM(%)	MG(%)
Extrait d'Artichaut	Non visqueux	Du végétal prononcé	Brune foncé	5	4,70	1,81	0,9	0,2
Extrait de Chardon	Non visqueux	Du végétal prononcé	Brune foncé	5	3,98	1,51	0,72	0,7

P : Protéines. MM : Matière Minérale. MG : Matière Grasse.

D'après les résultats d'analyses physico-chimiques de l'extrait enzymatique, nous constatons qu'il présente une très bonne valeur nutritionnelle, surtout en taux de protéines et en matière minérale ce qui enrichisse par avantage le fromage à base de cet extrait.

2.2. Détermination de la force et l'activité coagulante des extraits enzymatiques

Tableau n°8: Détermination de la force et l'activité coagulante des extraits enzymatiques

	Matière première (g)	Volume de tampon	Volume d'extrait obtenu	Temps de coagulation (sec)	Force de coagulation	Activité Coagulante (UP)
--	----------------------	------------------	-------------------------	----------------------------	----------------------	--------------------------

		(mL)	(mL)		(UP)	
Extrait d'Artichaut	100	500	390	65	370	1,53
Extrait de Chardon	100	500	410	135	118	0,5

2.3. Caractérisation de l'extrait enzymatique

Comme toutes les enzymes, l'activité coagulante de notre extrait est fortement influencée par les facteurs du milieu qui conditionnent à la fois l'état du substrat et son environnement.

La mesure du temps de coagulation permet de mettre en évidence les principaux facteurs de coagulation.

2.3.1. Effet de la température

Pour vérifier l'effet de la température sur l'activité coagulante, nous avons fait varier la température du lait employé dans le test de la coagulation de 30 à 80°C.

Les résultats obtenus sont éclairés par la figure suivante.

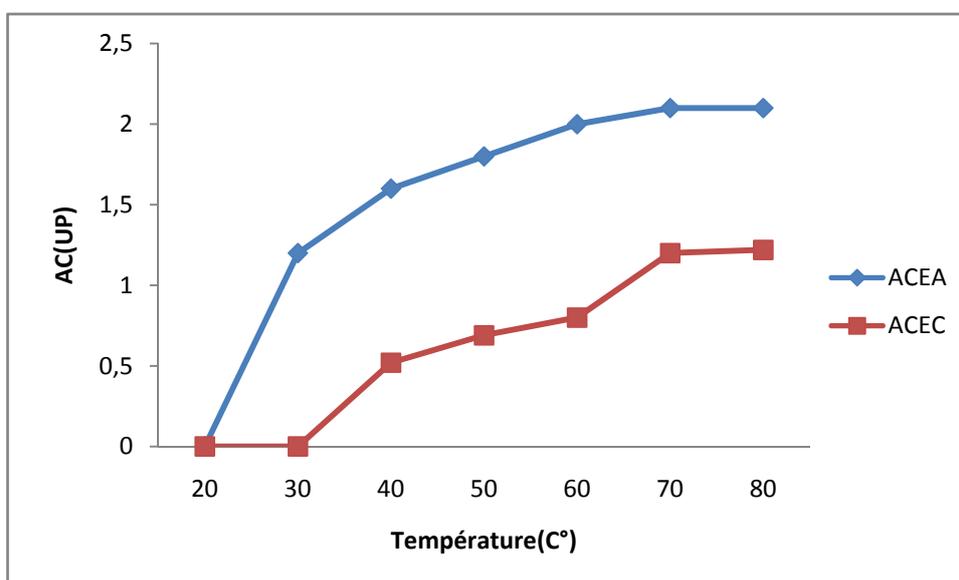


Fig.5: Effet de la température sur l'activité coagulante de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon.

AC : activité coagulante

AC EA : activité coagulante Extrait d'Artichaut.

AC EC : activité coagulante Extrait de Chardon

Le graphe montre l'évolution croissante de l'activité coagulante pour les extraits d'artichaut et de chardon en fonction de la température.

D'une façon générale, les enzymes d'origine végétale se caractérisent par des températures optimum d'activité et des températures létales bien supérieures par rapports à des enzymes d'origine animale (la présure en particulier). Ce qui confirmé par plusieurs travaux ultérieurs : **(Alais et Lagrange, 1972 ;Eskin et al.,1975)** .

1.3.2. Effet du pH

Pour vérifier l'influence du pH sur l'activité coagulante, nous avons fait varier le pH du lait de 5,2 à 7,2 et nous avons enregistré les résultats indiqués dans la figure en dessous.

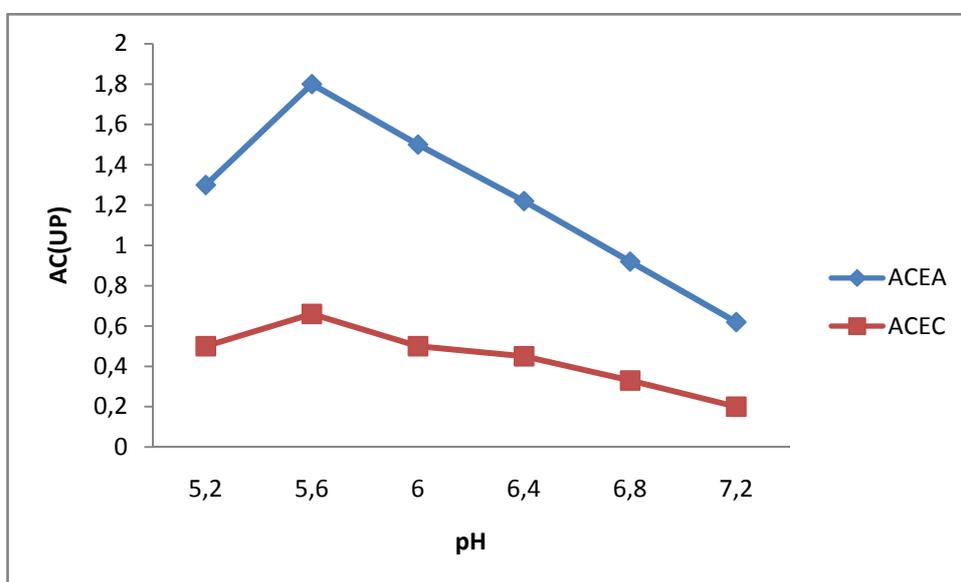


Fig.6 : Effet de pH sur l'activité coagulante de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon.

L'activité coagulante diminuée au fur et à mesure avec l'élévation de pH. Le pH joue un rôle très important dans la coagulation de lait, lorsque le PH diminue, le temps de prise devient plus court donc l'activité coagulante augmente **ST-Gailais et al., 2002.**

L'activité coagulante élevée de l'extrait d'artichaut et de chardon peut être expliquée selon **Sidrache et al.,(2004)** par l'activité intense de l'agent coagulant qui présente un maximum à pH d'extraction égale à 5 donc les Cynarases sont plus actives à des pH plus bas.

2.3.3. Effet de la concentration en calcium

L'influence de la concentration en calcium sur l'activité coagulante de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon comparée à celle de la présure a été étudiée en faisant

varier la concentration de CaCl_2 dans le lait de 0,008 à 0,07 mol/L.

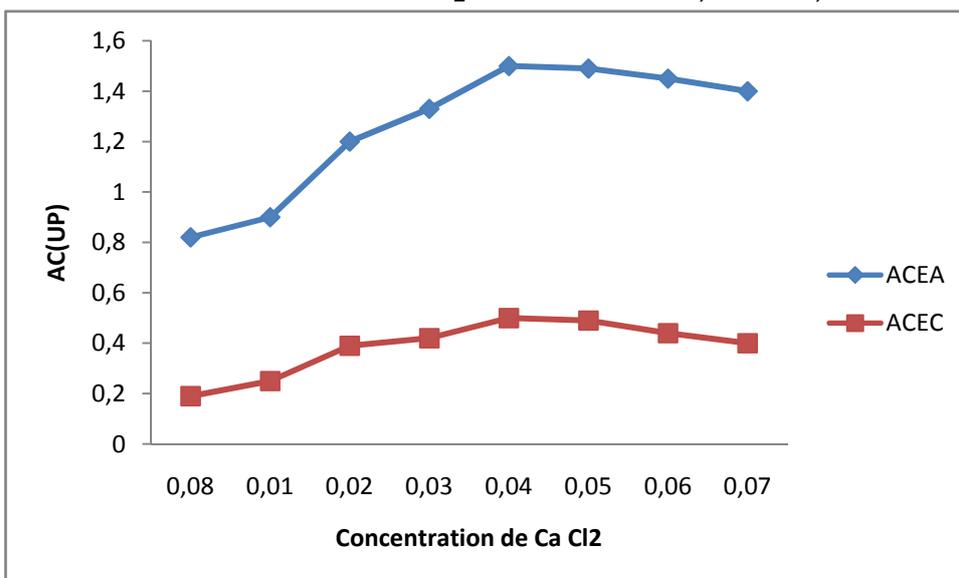


Fig.6: Effet de la concentration en calcium sur l'activité coagulante de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon.

L'étude de l'effet de la concentration de CaCl_2 a donnée la même tendance que ce de la littérature : **Morsli (1985)** ; **Famelart (2004)**; avec un maximum environ 0,04 mol/L

Selon **Bengana(2001)**, l'influence de la concentration en CaCl_2 résulte à la fois de l'augmentation de la teneur en calcium ionique, de l'abaissement de pH (du à la libération des ions H^+ par transformation des ions Ca_3Po_4 phosphate tricalcique et de l'augmentation des teneurs en calcium micellaire qui est un facteur déterminant de l'aptitude du lait à la coagulation.

2.3.4. Effet de la quantité enzymatique

Pour vérifier l'effet de la quantité enzymatique sur l'activité coagulante, nous avons fait varier ce volume de 0,5 à 2,5 mL d'extrait brut des fleurs d'artichaut et de chardon et de la présure. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure suivante.

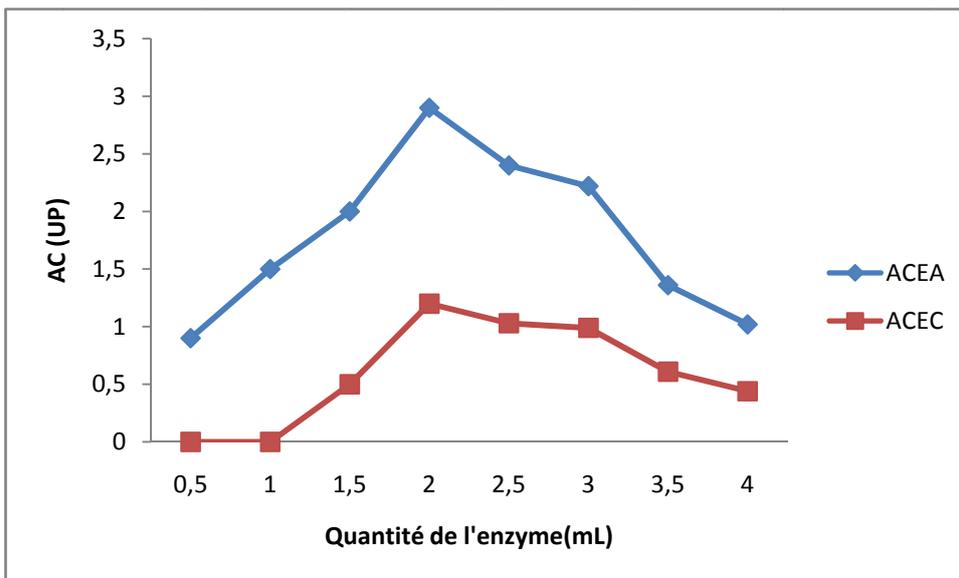


Fig.7: Effet de la quantité enzymatique sur l'activité coagulante de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon.

Nous remarquons une augmentation progressive de l'activité coagulante avec l'augmentation de la quantité enzymatique, l'activité coagulante de l'extrait enzymatique de chardon est inférieure à celle d'artichaut, cette variation est probablement due à la concentration enzymatique des deux extraits.

2.4. Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel « DJBEN »

Cette partie du travail consiste à la fabrication des fromages frais traditionnels «El djben », qui basent sur l'utilisation d'extrait enzymatique issu des fleurs d'artichaut, de chardon et comparés à celle de la présure commerciale.



Fig.9 :l'essai de fabrication de fromage

2.4.1. Les résultats d'analyses physicochimiques de lait reconstitué

Les analyses physicochimiques du lait pasteurisé à 0% de MG utilisé dans l'essai de fabrication des fromages sont représentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau n° 9: les résultats des analyses physicochimiques du lait reconstitué.

	Densité	Acidité (°D)	pH	MG (%)	EST (%)
Lait pasteurisé	34,2	16,5	6,55	0	9,06
Normes AFNOR	33-35	16-18	6,5-6,6	0	8-10

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que la densité du lait utilisé pour la fabrication des fromages est conforme aux normes (33-35).

L'acidité du lait pasteurisé utilisé pour la fabrication des fromages est conforme aux normes (16-18).

La mesure du pH renseigne sur l'état de fraîcheur du lait pasteurisé, d'après le tableau n°9, nous constatons que le pH du lait répond aux normes fixées entre 6,5-6,6.

La teneur en extrait sec total (8-10%) est légèrement supérieure aux normes citées ci-dessus, ce qui constituera un avantage lors de la coagulation du lait.

2.4.2. Les résultats d'analyses physicochimiques du lactosérum

Le tableau n°10 regroupe les résultats des analyses physicochimiques effectuées sur les lactosérums exsudés de chaque fabrication fromagère.

Tableau n°10 : les résultats des analyses physicochimiques des lactosérums.

	pH	Acidité (°D)	MG (%)	EST (%)	Protéines(%)
LSP	6,53	12	0,03	6,34	0,48
LSEA	5,52	12,5	0,04	5,93	0,51
LSEC	5,37	13	0,5	5,29	0,02

LSP : lactosérum de la présure

LSEA : lactosérum de l'extrait d'artichaut

LSEC : lactosérum de l'extrait de chardon

2.4.3. Les résultats d'analyses physicochimiques du fromage

Les résultats d'analyse physicochimique des trois pâtes fromagères sont mentionnés dans le tableau n°11.

Tableau n° 11: les résultats des analyses physicochimiques du fromage.

	pH	MG (%)	EST (%)	Protéines(%)
Normes de LBT	6-6,2	0	15-17	-
FBP	6,04	0,09	16,18	10,62
FBEA	6,09	0	15,74	9,91
FBEC	5,9	0,04	16,59	7,81

FBP : fromage à base de la présure.

FBEBA : fromage à base de l'extrait des fleures d'artichaut.

FBEB : fromage à base de l'extrait des fleures de chardon.

D'après les résultats présents dans le tableau n°12, On constat que le pH des trois pates fromagères sont proches aux normes.

2.4.4. Le rendement fromager

Tableau n°12: Le rendement fromager

	Volume de lait en (L)	Le rendement fromager(%)
FBP	1	23,33
FBEA	1	18,64
FBEC	1	14,75

Le rendement fromager obtenu a partir des deux extraits (artichaut et chardon) sont légèrement inférieure a celle obtenue par la présure commercial, les fromages fabriqué a partir de coagulase d'origine végétales présentent une baisse de rendement fromager, due a une fort attaque des caséines par les coagulase , avec libération de substances peptidique soluble qui provoque une diminution de l'extrait sec total dans le coagulum (Alais,1984).

2.4.5. Les résultats d'analyses bactériologiques du lait

Le lait et les produits laitier sont des milieux favorable pour le développement des différents microorganismes pathogène ou non, c'est pour ca la recherche de certains germes est indispensable.

Tableau n°13: Résultats d'analyses bactériologiques du lait

	Coliformes totaux	Coliformes fécaux	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium sulfito-reducteur</i>	Levures et moisissures
Lait pasteurisé	Abs	abs	abs	Abs	5

La bonne qualité du lait implique bien sur l'absence des germes pathogènes et un nombre limite de bactéries indicatrices de contamination.

Le tableau n° 13 récapitule les résultats d'analyse microbiologique de lait pasteurisé qui montrent une absence totale des germes pathogènes à savoir Coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfito-reducteur* ce qui signifie une bonne pasteurisation de lait.

Pour les Levures et moisissures, ne sont pas présente en nombre importante dans le lait, cela probablement du à la condition de stockage de poudre de lait.

2.4.6. Les résultats des analyses microbiologiques des fromages

Tableau n°14 : Résultats des analyses microbiologiques des fromages

Germes	Echantillon			Normes AFNOR 2003
	FBP	FBEA	FBEC	
Coliformes totaux/g (mL)	abs	10	20	Abs
Coliformes fécaux/g (mL)	abs	abs	abs	Abs
<i>Staphylococcus aureus</i>	abs	abs	abs	102(abs)
<i>Clostridium sulfito-reducteur</i>	abs	abs	abs	abs
Levures et moisissures	abs	22	40	abs

L'analyse bactériologique du produit fini est d'une importance particulière, puisqu'elle nous renseigne sur le processus et les conditions de fabrication.

Les résultats obtenus pour le produit fini à base de présure animale, relèvent une absence totale des germes pathogènes en ce qui concerne *Coliformes fécaux*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium sulfite-réducteur*

Pour les fromages à base de l'extrait enzymatique, présentent une charge microbienne élevée en ce qui concerne les levures et moisissures, cette charge peut avoir comme origine la flore microbienne de l'extrait enzymatique.

CONCLUSION

Conclusion

En industrie fromagère, la coagulation du lait est une étape essentielle dans la quelle l'utilisation d'un enzyme protéolytique est indispensable.

L'utilisation de la présure avec les aléas de sa préparation et les contraintes financières liées aux recours à son importation, fait que cette enzyme pose un problème réel à notre industrie laitière.

C'est dans ce contexte que les chercheurs s'intéressent de plus en plus à l'étude des coagulases d'origine microbienne et végétale.

L'étude que nous avons menée nous a permis dans une première étape de procéder à :

L'extraction de l'agent coagulant à partir des fleurs d'artichaut comestible «*Cynara scolymus* » et à partir des fleurs d'artichaut sauvage

« *Galactites tomentosa* » et la détermination de la composition de l'extrait brut

L'étude de l'effet des paramètres physico-chimique sur l'activité coagulant et la comparaison entre l'extrait brut de l'artichaut comestible et l'artichaut sauvage a montré que l'extrait brut de l'artichaut comestible a un effet comparable à celui de l'extrait brut de l'artichaut sauvage (température, pH....)

Les résultats obtenus montrent que :

- L'activité coagulante augmente avec l'augmentation de la température et l'abaissement du Ph jusqu'à 5,6
- L'augmentation de la dose injecter des deux extrait brut jusqu'à 3.5 ml/10ml pour l'artichaut sauvage ainsi que celui de calcium jusqu'à 0.04 mol/l améliorent l'activité coagulante des deux extrait brut

L'essai de fabrication d'un fromage frais nous a permis de constater que dans les mêmes conditions de fabrication (qualité du lait, température, Ph) le temps de coagulation par l'enzyme de l'extrait de l'artichaut comestible 65 sec et 135 sec pour l'artichaut sauvage

Cette faible coagulation pour l'artichaut sauvage peut être due à la faible concentration de l'enzyme coagulase ou l'exigence des autres conditions de fabrication

Ces résultats confirment que l'artichaut possède des principes actifs à activité coagulante très prometteuses

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

ADRIAN J., POTUS J et FRANGE R. 1995 «Science des aliments de A à Z» ; 2^{ème} édition TECH & Doc, Lavoisier, [477].

ALAIS CH .et LINDEN G. 1997 «Abrégé de biochimie alimentaire» 4^{ème} édition .MILAN, Barcelone, [284].

AMARIGLIO S. 1986 «Recueil de normes français AFNOR, Contrôles de qualité des produits laitiers», [1030].

AMIOT J., FOURNIER S., LIBEUF Y, PAQUIN P. et SIMPSON R .2002 «Composition, propriétés physico-chimique, valeur nutritif qualité technologique et technique d'analyse du lait » In : VIGNOLA. C. «Sciences et technologie du lait : Transformation du lait » Édition ; Presse Internationale Polytechnique Québec (canada) [600].

ANONYMOUS, 2005 .statistiques du Ministère du commerce.

ARTS et HOLLMAN. 2005 «Les fruits et légumes dans l'alimentation», Art INRA, consulté 2007

BELLIARD S. N BRASSIER J. CL. , Et TRACARD H. 1985 «Le fromage à Pâte pressé demi-cuite et non cuite, In LUQUET F M., lait et produit laitère vache, brebis, chèvre : les produits laitiers transformation st technologie, Vol 2. Edition TECH & DOC, Lavoisier [633].

BENGANA M. 2001 «caractérisation des enzymes protéolytiques pepsine / chymosine isolées à partir des caillettes des bovins adultes» thèse de magister en sciences alimentaires, Institut national d'agronomie (INA El Harrach), [72].

BERGERE J-L. et LENOIR J.1997 «les accidents et défaut de fromage»

IN **ANDRE E, LE FROMAGE, 3^{ème}** édition, TECH & DOC, Lavoisier [874].

BIMBENET, J. J., DUQUENOY, et al. (1993). Génie des procédés alimentaires des bases aux applications. Paris. Tel – 00399131, version 1- 25Juin 2009

BRULE G., LENOIR J. et RENEUF F.1997 « La micelle de caséine et la coagulation du lait». Ln : ANDRE E, Le fromage, 3^{ème} édition TECH & DOC, Lavoisier [874].

CHAUX CL., et FOURY CL. 1994 «production légumières légumes, feuilles, tiges, fleurs, racine et bulle, tom 2^{ème} édition, TECH & DOC, Lavoisier, Paris Londres, New York [548].

CHAZARRA S., SIDRACH L., DOROTEA L-M & JOSE NEPTUNO

R-L.2007 « characterized of milk property of coagulation of extract of the artichoke (Cynara Scolymus, L) flowers « the international newspaper of dairy , volume 17 , muricia, Espagne [2-6].

CHEFTEL J-P et CHEFTEL H 1992 « Introduction à la biochimie et à la technologie alimentaire », VOL 1, édition TECH & DOC, Lavoisier, Paris [381].

CHARFAOUI M, OUCHER .2006 Extraction ; purification et caractérisation d'une coagulase extraite à partir des fleurs d'artichaut (Cynara Scolymus) et essai de fabrication d'un fromage type pate molle « camembert » mémoire d'ingénieur . INA, Alger. 85 p.

CUVELLIER G-F . 199 « Production des enzymatiques ». In : RENE S , biotechnologie . 5^{ème} édition . , Lavoisier, Paris [1042].

DE BUYSER M L. 1996 « Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments » Tom 1 , édition TECH & DOC Lavoisier, Paris, Londres , New York . [672].

DESMEZEAUD M. 1985 « les enzymes utilisés en industries laitière ». In LQET F M. ? Lait et produits vaches, Brebis, chèvre, les produits laitiers transformation et technologie. Vol 2, édition TECH & DOC. Lavoisier, [633].

DIBERT, K. (1989). Contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile et de l'acide chlorogénique du café vert. LYON, Claude Bernard LYON I.

DILLON J C. et BERTHIER A M.1997 « Le fromage dan l'alimentation ». In :

ANDRE E. et GILIS J-C., le fromage, 3^{ème} édition TECH & DOC Lavoisier [874].

DOSSOU J. et HOUNZANGBE A. 2006 « Production et transformation du lait frais en fromage Peulh en Benin » université d'Abomcycalvi . Faculté de la Science agronomique groupe de recherche et d'échanges technologique (GRET) [16].

DUBEUF J-P. 1999 « l'utilisation de la présure végétale en transformation fromage » Action de recherches, développement sur Cynara cardunculus en transformation fermière

DUBOZ G. 2004 « En faire du fromage ». INRA.

DUNAND.G et MONSAN.P (1998) les enzymes : production et utilisation.

FAO.1995 « le lait et le produit laitier dans la nutrition humaine ». Article Archive de la FAO, département de l'agriculture.

FAVIER J.C 1985 « Élément de composition des fromages » .In LUQUET F.M

« Lait et produit laitiers vache, brebis, chèvre. VOL 3, édition TECH & DOC Lavoisier, Paris [445].

FRMELART MH. 2004 « Environnement minéral et propriété de gélification des caséines » In : GAUCHERON. F « Minéraux et produit laitiers » édition TECH & DOC Lavoisier, Paris, , New York, Londres. [922].

GERIN, M. (2002). Solvants Industriels : Santé, Sécurité, Substitution .Paris ; Ed. Masson.

GERMIN P.et LINDEN G 1981 « Activité enzymatique « » In : DEYMIE.B ; MULTO. J-L. « Technique d'analyse et de contrôle dans l'industrie agro- alimentaire, analyse de constituants alimentaire ». VOL4.Edition TECH & DOC Lavoisier, Apria, Paris [395].

GOURSAUD, J. ETCUVELLIER G-F.1999 « Réacteur enzymatique à enzyme libre ».In : RENE S, biotechnologie. 5^{ème} édition, Lavoisier, Paris [885].

GROUBER, A. (1984). Technique d'extraction végétale, Montpellier, pharmacie.

GUIRAUD J-P.1998 « Microbiologie alimentaire » édition DUNDO .Paris. [652].

GUARDIA MERTEOS J-A. et VITA BURNAT A.2003 « Les vitamines dans le lait ». In BOUEGEOIS CL, les vitamines dans l'industrie agro alimentaires, édition TECH & DOC, VOL2, Londres, Paris, New York, [692].

R. CROGUENNEC TH. SCHUCK P. et BRULE G.2007 « science des Aliments » édition TECH & DOC, VOL2, Londres, Paris, New York, [456].

JAKO E.2008 « Signification de la kappa caséine pour le lait de fromagerie.

Laboratoire qualités », l'amertume dans le fromage, N° 12F, édition Agro scope, Bielefeld – poisieux LAP.

KOSIKOWSKI et MOCQUOT. 1958 In: RENEUF F. COSSIN V.,

DERVIN C. et LENOIR J. 1991 « Relation entre les caractéristiques physico-chimique des laits et leur aptitude fromagère ». INRA.

LAMONTAGNE M. CHAMPAGNE C-P. REITZ-AUSSEUR J et MOINEAU S.2002 « Microbiologie du lait ». In VIGNLA. Science et technologie du lait : transformation du lait. Polytechnique Canada. p [600].

MOURSLI A . 1996. Recherche sur les activités protéasiques des extraits de Cynara Scolymus, de latex de Ficus carica et du pro ventricule de Gallus gallus Magistère, INA, Alger, p 181

PAULETTE V. 2006 « L'artichaut au fil du temps, usage culinaires, conservation, jardinage ».

POINTURIER H. MITTON B. DEVOYOD J-J. MILLET L. BELLIARD S.N. te MEYER H 1985 « Les fromage à partir de lait de vache » In : LUQUET F. M « Lait et produit laitiers vaches, brebis, chèvre, les produit laitiers transformation et technologie, Vol2, édition TECH & DOC, Lavoisier [630].

POUGHEON S.et GOURSAUD J.2001 « Les sels minéraux » In : DERBY. G « Lait nutrition et santé » édition, Lavoisier, TECH & DOC, VOL2, Londres, Paris, New York, [566].

RAMET J.P et SCHER J.1997 « Technologie de comparée de différentes type de caille » In ANDRE E. et GILIS J-C Le fromage ; 3^{ème} édition TECH & DOC Lavoisier [874].

RAMET J.P 1997 « Les agents de transformation du lait ».In (ANDRE E et GILLIS J-C). « Le fromage » 3^{ème} édition TECH & DOC Lavoisier ; Paris [874].

RENEUF F . COSSIN V ? DERVIN C et LENOIR J .1991 « Relation entre les caractéristiques physicochimique des laits et leur aptitude de fromagère ». INRA

ROBIN JM .2009 « Les fruits et légumes les plus riche en poly phénols ». Art

SIDRACH L . GARCIA CANOVAS F. DOROTEA L M et JOSE NEPTUNO R-L .2004 « Purification of the cynarases of the artichoke (Scolymus l of Cynara) enzymatic properly of cynarase A [on line]. November 25.

STGELAIS D ? TIRARDCOLLET P. 2002 g « le fromage » In : Carole, L.

Vignola « Science et technologie du lait : transformation du lait » Edition presse Internationale polytechnique Québec (canada) [600].

SYNDIFRAIS .1984 « Application des Bactéries lactiques dans les produits laitiers : fromage frais et effets probiotique » In : LUQUET FM . CORRIEA G

« Bactéries lactique et probiotique », édition TECH & DOC Lavoisier ; [633].

TSOULI J ,1974 . Etude compare de l'activité de trois variétés d'artichaut du genre cynara scolymus sur la coagulation de lait, Vol. 537, p.p. 415-421

TSOULI J ,1979 Etude D'une protéase coagulante extraite de Cynara sculymus et de Cynara cardinulu, adaptation à la fabrication de la méthode conductirimetrique pour la détermination du temps de coagulation du lait et le contrôle de la fabrication.

LARPENT P J. 1996 « Lait et produits laitiers non ferments » In BOURGOIS C.M ; ZUCCA J. MESCLE J-F . » microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments « . Tom 1 .édition TECH & DOC, Lavoisier, Paris, Londres, New York, [672].

LARPENT J.P. 1999 « Microbiologie alimentaire » Tom 2. « Aliments fermentes et fermentation alimentaire », 2^{ème} Lavoisier, Paris, [320-329].

LEOINL J. MARCHIN S . HENRY G . JOUNNEAU D. et PUTAUX J-P. 2007 « La caséine k : quel rôle dans la structure de la micelle de caséine ». INRA.GRENOBLE.

LEYBRO. J AND P . FREMEAUX (1990) . « Extraction Solide-liquide aspects théorique. » Techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J1 07706

LUQUEDE CASTRO, M. D. AND L. E. GARCIA-AYUSO (1998). « Soxhlet extraction of solidmaterials : An outdated technique with a promising innovative future. « analytica chimica acta 369 : 1-10

MACHEIX J-J. FEURIET A. et SARINI MANCHADO P. 2006 « composé poly phénolique dans la plante structure , biosynthèse répartition et roles « , In SARINIMANCHADO P et CHEYNIER V « les polyphénols en agroalimentaire » .édition TECH & DOC, Lavoisier , Paris , New York ,Londres, [398].

MAFART , P. AND E. BELIARD (1993). Génie Industrial Alimentaire techniques séparatives. Paris , Techniques et documentation- Lavoisier.

MARTIN N ; SAVINTTO S ; MOLOMAR P , BERGER C , BROOSE H , SPINLER H , 1999 . Flavor generation in cheese curd by co culturing with selected yeast mold and bacteria. journal of daily sciences , VOL.82. p. p. 1027-1080.

8MOHAMMA MOUNIR , S. (2007) . Département Génie des procédés Industriels. La Rochelle, Université de la Rochelle .

MAHAUT M., JEANTET R . et BRULE G. 2000 « » Initiation à technologie fromager. Edition Lavoisier .Paris, [194].

MATHIEU J. 1998 « Initiation la physicochimie du lait ». TECH & DOC, New York, Paris, [220].

MIETTON B. GRAUCHERON F .et SALAIIN- MF. 2004 « Minéraux et transformation fromagères ». In : GAUCHERON F « minéraux et produit laitières » TECH & DOC, Lavoisier, Paris, New York, Londres, [922].

MOLL J 2008 « Meilleures rendement grâce au lait de la race brune », Kappa caséine, FSEB , N 8 [-1-3].

ANNEXE

Annexe 1

Matériel utilise au laboratoire

➤ **Equipement**

- ❖ Etuve
- ❖ Etuve avec une température allant jusqu'à 130°C
- ❖ Agitateur
- ❖ Bain marie
- ❖ Balance à précision
- ❖ pH mètre
- ❖ Four Pasteur
- ❖ Autoclave
- ❖ Centrifugeuse GERBER à 1500tr/mn fixe
- ❖ Butyromètre.

➤ **Verreries et autres matériels**

- ❖ Becher, éprouvette
- ❖ Flacons en verre
- ❖ Boite de Pétri
- ❖ Ballon a fond plat
- ❖ Fiole, portoirs
- ❖ Pipettes pasteur
- ❖ pipettes graduées
- ❖ Bec bunsen
- ❖ Anse à platine
- ❖ Spatule
- ❖ Coupelles
- ❖ Pincés

➤ **Les réactifs**

- ⚠ Acide sulfirique (H_2SO_4)
- ⚠ Alcool isoamylique $d=0,813g/ml$
- ⚠ La soudfe1N
- ⚠ Solution acide chlore hydrique (Hcl) 12%''
- ⚠ Acide citrique

- ✚ L'eau distillée
- ✚ Chlorure de calcium ($\text{CaCl}_2, 2\text{H}_2\text{O}$)
- ✚ Solution phénolphaléine

➤ **Les milieux utilisés**

- ✚ Gélose Baidier Parker
- ✚ BLMT
- ✚ Gélose desoxycholate
- ✚ Gélose sabouraud
- ✚ Gélose PCA
- ✚ Gélose Viande fois

Annexe2



**Fig.10 : Etuve avec une température 37°C
1500tr/mn fixe**



**Fig.11 : Centrifugeuse GERBER à
1500tr/mn fixe**



Fig.12: Balance à précision



Fig.13 : La soude à N/9.



Fig.14 : Bain Marie

Annexe 3

Table de MAC -GRADY

Nombre Caractéristique	Nombre de Micro-organismes
000	0.0
001	0.3
010	0.3
011	0.6
020	0.6
100	0.4
101	0.7
102	1.1
110	0.7
111	1.1
120	1.1
121	1.5
130	1.6
200	0.9
201	1.4
202	2.0
210	1.5
211	2.0
212	3.0
220	2.0
221	3.0
222	3.5
223	4.0
230	3.0
231	3.5
232	4.0
300	2.5
301	4.0
302	6.5
310	4.5
311	7.5
312	11.5
313	16.0
320	9.5
321	15.0
322	20.0
323	30.0
330	25.0
331	45.0
332	110.0
333	140.0

Annexe 4

Préparation des solutions

+ Solution tampon acétate de sodium 1M pH=5

- ✓ Solution1 : Acétate sodique ($C_2H_3O_2Na$) 0,1,8,2047 g/L
 - ✓ Solution2 : Acide acétique (C_3COOH) 0,14 N, 6,005 g/L
- Mélange 67,8/ mL de 1 + (100-67,8) mL de 2

+ Solution 0,01 M de $CaCl_2$

14,11 g de $CaCl_2$ /1000 mL d'eau distillé

+ Solution de NaOH 6N

24g de NaOH dans 100ml d'eau distillé

+ Solution d'Hcl

Hcl12% :5ml Hcl 37%+mL H_2O_2

Sommaire

Introduction.....	1
Partie 1 : Etude bibliographique.....	3
Chapitre 1 : le fromage.....	3
1.1. Définition du fromage	3
1.2. Composition des fromages	3
1.2.1. L'eau.....	3
1.2.2. Les protéines.....	3
1.2.3. Les lipides.....	4
1.2.4. Les glucides.....	4
1.2.5. Les minéraux.....	4
1.2.6. Les vitamines.....	4
1.3. Principe de fabrication des fromages.....	5
1.3.1. La coagulation.....	5
1.3.2. L'égouttage.....	5
1.3.3. L'affinage.....	6
1.4. Classification des fromages.....	6
1.5. El Djben8.....	8
1.5.1. Définition.....	8
1.5.2. Caractéristique d'El Djben.....	8
1.6. Défauts de la fabrication du fromage frais.....	8
1.6.1. Défauts de la matière première.....	8
• Matière première.....	8
• Activité fermentaire.....	8
• Facteurs d'inhibition.....	8
• Entreposage du lait	9
1.6.2. Défauts liés à la coagulation et à l'égouttage.....	9
1.6.3. Valeur nutritionnelle du fromage frais.....	9
• Valeur énergétique.....	9
• Les protéines.....	9
• Les lipides.....	10
• Les glucides.....	10
• Les minéraux et les oligoéléments.....	10
• Les vitamines.....	10
Chapitre 2 : La coagulation du lait.....	11
2.1. Définition.....	11
2.2. Les types de coagulation.....	11
2.2.1. Coagulation par voie enzymatique.....	11
2.2.2. La coagulation par voie acide.....	13
2.2.3. La coagulation par voie mixte.....	13
2.3. Les facteurs de la coagulation du lait.....	13
2.3.1. Nature et concentration en enzyme.....	13
2.3.2. Influence de la température.....	13
2.3.3. Influence du pH.....	14
2.3.4. Teneur en calcium.....	14
2.3.5. La composition de lait.....	14

Chapitre3 : La présure et les succédanés d'emprésurage.....	15
3.1. La présure.....	15
3.1.1. Définition.....	15
3.1.2. Composition.....	15
3.1.3. Extraction de la présure commerciale.....	15
3.2. Les succédanés de la présure	16
3.2.1. Les enzymes coagulantes d'origine animale.....	16
3.2.2. Les enzymes coagulantes d'origine microbienne.....	16
3.2.3. Les enzymes d'origine végétale.....	17
3.2.4. L'artichaut.....	18
3.2.4.1. Définition et classification.....	18
3.2.4.2. La valeur nutritionnelle et curative.....	18
3.2.4.3. La composition.....	19
3.2.4.4L'utilisation des protéines d'artichaut comme agent coagulant.....	20
5.3. Le chardon.....	22
3.5.1. Définition.....	22
3.5.2. Biologie.....	22
3.5.3. Classification.....	22
3.5.4. La valeur curative.....	23
Partie 2 :Expérimentation et résultats.....	24
Chapitre 1: Matériels et méthodes.....	24
1.1. Présentation du lieu de stage.....	24
1.2. Matériels biologiques.....	24
❖ Le lait.....	24
❖ L'artichaut.....	24
❖ Le chardon.....	25
1.3. Matériels de laboratoire et réactifs	25
1.3.1. Matériels de laboratoire.....	25
1.3.2. Les réactifs	25
1.3.3. Les milieux de cultures.....	25
1.4. Extraction des enzymes coagulantes	25
1.4.1. Obtention et conservation des fleurs d'artichaut et de chardon.....	25
1.4.2. Extraction du complexe enzymatique.....	26
1.5. Analyses physico-chimiques de l'extrait	28
1.5.1. Détermination de la teneur en extrait sec	28
1.5.2. Détermination de la matière minérale	28
1.5.3. Dosage de protéines totales selon la méthode de KJELDAHL	30
1.6. Mesure de l'activité coagulante selon la méthode de Bridge	31
1.6.1 Préparation de substrat de Bridge	31
1.6.2. Mesure du temps de prise par la méthode visuelle de Bridge	31
1.6.3. Calcul de l'activité coagulante AC	32
1.7. Caractérisation de la solution enzymatique	32
1.7.1. Influence de la température du lait	32
1.7.2. Influence du pH	32
1.7.3. Influence de la concentration en CaCl ₂	32
1.7.4. Influence de la concentration de l'enzyme coagulante	32
1.8. Essai de fabrication de fromage frais traditionnel « El djeben »	32
1.8.1. Préparation du lait	32
1.8.2. Emprésurage	33
1.8.3. Egouttage et moulage.....	33
1.8.4. Saumurage	33

1.9. Analyses physico-chimiques du lait pasteurisé, du lactosérum et du fromage	35
1.9.1. Détermination de la densité	35
1.9.2. Mesure de l'acidité titrable	35
1.9.3. Détermination de la teneur en matière grasse	36
1.9.4. Détermination du pH	37
1.9.5. Détermination de l'extrait sec total (EST)	37
1.9.6. Détermination de l'humidité	38
1.10. Le rendement fromager	38
1.11. Les analyses microbiologiques.....	38
1.11.1. Recherche et dénombrement des coliformes totaux	39
1.11.2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux	39
1.11.3. Recherche et dénombrement de <i>Clostridium sulfito-réducteur</i>	40
1.11.4. Recherche et dénombrement des Staphylocoques pathogènes (<i>Staphylococcus aureus</i>).....	40
1.11.5. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	41
Chapitre 2: Résultats et discussion.....	42
2.1. Les analyses physicochimiques de l'extrait des fleurs d'artichaut et de chardon...42	42
2.2. Détermination de la force et l'activité coagulante des extraits enzymatiques.....42	42
2.3. Caractérisation de l'extrait enzymatique.....43	43
2.3.1. Effet de la température.....43	43
2.3.2. Effet du pH.....44	44
2.3.3. Effet de la concentration en calcium.....44	44
2.3.4. Effet de la quantité enzymatique.....45	45
2.4. Essai de fabrication d'un fromage frais traditionnel « DJBEN ».....46	46
2.4.1. Les résultats d'analyses physicochimiques de lait reconstitué.....46	46
2.4.2. Les résultats d'analyses physicochimiques du lactosérum.....47	47
2.4.3. Les résultats d'analyses physicochimiques du fromage.....47	47
2.4.4. Le rendement fromager.....48	48
2.4.5. Les résultats d'analyses bactériologiques du lait.....48	48
2.4.6. Les résultats des analyses microbiologiques des fromages.....49	49
Conclusion.....	50
Références bibliographiques.....	53
Annexe.....	