

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

UNIVERSITE SAAD DAHLAB-BLIDA

FACULTE DES SCIENCES AGRO-VETERINAIRES
DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



MEMOIRE DE MASTER

En vue de l'obtention du diplôme de Master (LMD)

En Sciences de la nature et de la vie.

Option : *Nutrition et contrôle des aliments*

THEME

**EFFET DE L'INCORPORATION DE LA BETA-CAROTENE SUR LA
VALEUR NUTRITIONNELLE DU FROMAGE FONDU EN PORTION**

OKID'S

Présenter par :

ZOUAOUI MOHAMED

Devant le jury composé de :

- | | | | |
|--------------------------------|-----|------|--------------------|
| - M ^{me} ABDALLAOUI Z | MAA | USDB | Président du jury. |
| - M ^{me} KEBOUR DJ | MCA | USDB | Promotrice. |
| - M ^{me} FERNANE S | MAA | USDB | Examinatrice. |
| - M ^{me} FELIDJ M | MCA | USDB | Examinatrice. |

Année universitaire 2012/2013.

REMERCIEMENTS

Je remercie **ALLAH** le tout puissant de m'avoir donné le courage, la volonté et patience durant toutes mes années d'étude pour arriver à ce stade de formation et d'achever ce modeste travail.

A mes chers parents, pour tous ce qu'il fait pour moi et surtout pour mes études, ainsi qu'il trouvent ce modeste travail le fruit de ces longues années de leurs sacrifices.

Mes remerciements les plus profonds et toute ma reconnaissance ma promotrice **M^{me} KABOUR. DJ**, qui m'a fait l'honneur d'encadrer mon travail, pour son sérieux, sa disponibilité, ses précieux conseils et ses efforts exceptionnels.

Je remercie les membres de jury,.... Pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

A tous les enseignants qui ont contribué a ma formation, qu'ils trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

A **Melle IBTISEM**, le chef laboratoire du groupe **GOUIMDI**, qui m'a proposé ce sujet de fin d'étude. Et toute l'équipe de groupe **GOUIMDI** (**MOURAD, SARA** et **KHALED** qui aider de faire les analyses) pour leur disponibilité et leur bienveillance.

A mes amis : **FERGANI A, MU LOUM H, OUNNAR DJ, MERAGA H, ZEKKARI A, MOULOUD A, AMINA** et **NEILA** pour leur aide précieuse dans la rédaction de ce mémoire, Merci pour tous les bons moments passés ensemble.

On tient aussi à remercier le personnel de la bibliothèque de notre faculté, pour leur aide et leur compréhension, Merci.

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail que je n'ai pas pu les citer. Merci infiniment.

DEDICACE

«Louange à Dieu le tout puissant»

Je dédie ce modeste travail :

-A mes parents

Merci pour tous que vous avez fait pour moi

-A mes Frère : Yousef, Hamza, Sofiane et A ma petit sœur : Mouna

Merci pour Le courage qui m'a aidé de finir ce travail.

-A toute ma grande famille

Merci pour La Confiance qui m'a donné l'énergie de finir ce travail.

-A tous mes chers amis et toutes mes amies de la promotion

2012-2013 surtout « AMINA ET NEILA ».

Résumé

Notre travail se concentre premièrement à la caractérisation de fromage fondu **OKID'S**, afin de montrer leur qualité physico-chimiques et microbiologique, et deuxièmement ; on a fait le dosage de la Vitamine A sur la valeur nutritionnelle de fromage fondu et à examiner les résultats de notre étude par une machine appelé **HPLC**.

Dans un souci de mettre à la disposition du consommateur un fromage de bonne qualité nous sommes intéressés à étudier l'effet de dosage de la Vitamine A sur la valeur nutritionnelle de fromage fondu Okid's et on a effectué des analyses physico-chimiques et microbiologiques telle que : Le pH, l'acidité, la matière grasse, l'extrait sec total. La recherche et le dénombrement des germes totaux, les coliformes fécaux et totaux.

Les résultats des analyses physico-chimiques des matières premières caractériser par un PH varie entre **4 à 4,9**, pour le beurre est **4,62**, pour le caeddar est **5,7**, pour la poudre de lait est **6,73**.

EST vari de **83%** pour le Beurre, **64,34%** pour Ceddar, **95%** pour la Poudre de lait et **40,53%** pour le produit fini.

Les résultats des analyses microbiologiques des matières premières et des produits finis montrent une absence totale de germes pathogènes et d'altération, ce qui confirme l'utilisation d'une matière première de bonne qualité hygiénique et le respect des conditions de fabrication, du stockage ainsi qu'une bonne manipulation lors du travail.

Grâce aux résultats de dosage, nous avons constaté que fromage fondu a une valeur nutritionnelle particulière.

Mots clés:

dosage, la valeur nutritive, fromage fondu, l'incorporation, Béta-carotène.

Summary

Our work is focused primarily on identifying the soft cheese Okid's properties, in order to show the value of physico-chemical, microbiological and Second calibration vitamin A through integration into the nutritional value of soft cheese and examine the results of our calibration for the machine **HPLC**.

In order to make the consumer a cheese of good quality we are interested in studying the impact of UHT on the nutritional value of processed cheese Okid's and conducted physical chemical and microbiological analysis talc: The pH, acidity, fat, total solids. The detection and enumeration of total bacteria, fecal and total coliforms.

The results of physico-chemical analysis of raw materials characterized by a pH varies between **4 à 4.9** for butter (acid) and **4.62** for cheddar and **6,73** milk powder.

IS that the vari de **83%** for butter, **64,34%** for Cheddar, **95%** for milk powder and **40,53%** for the finished product.

The results of microbiological analyzes of raw materials and finished products show a complete absence of pathogens and spoilage, which confirms the use of a raw material of good hygienic quality and the conditions of manufacture and storage and a good handling when working.

Through the calibration results, we found that soft cheese has a distinctive nutritional value.

Key words:

Calibration, nutritional value, spread cheese, combination, Beta carotene.

Listes des Figures

Figure n°1 : Structure chimique du Béta-Carotène.

Figure n°2 : les étapes de fabrication de fromage fondu en portion (selon Goumidi).

Figure n° 3 : instrumentation de l'HPLC.

Figure n° 04 : Résultat microbiologique de l'eau de Process.

Figure n° 05 : Résultat microbiologique de la poudre de lait.

Figure n° 06 : Résultat microbiologique du beurre.

Figure n° 07 : Résultat microbiologique de Cheddar.

Figure n° 08 : Résultat microbiologique de produit semi-fini.

Figure n° 09 : Résultat microbiologique de produit fini.

Figure n° 10 : valeurs de PH des 04 échantillons de fromage fondu.

Figure n° 11 : valeurs de l'EST des 04 échantillons de fromage fondu.

Figure n° 12 : valeurs de la MG des 04 échantillons de fromage fondu.

Figure n° 13 : valeurs de l'humidité des 04 échantillons de fromage fondu.

Figure n° 14 : Résultat de dosage de la vitamine A.

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Valeur nutritionnel des fromages.

Tableau n°2 : Quantité des produits laitiers conseillés par jour (g).

Tableau n°3 : Préparation du lait ou standardisation.

Tableau n°4 : Classification officielle des fromages.

Tableau n°5 : Composition moyenne des éléments constitutifs pour 100 g de fromage fondu.

Tableau n°6 : Classification des fromages fondus.

Tableau n°7 : Montre les défauts de fabrication du fromage fondu au moment de la fonte.

Tableau n°8: Défauts au cours du stockage.

Tableau n°9 : Représentent quelques propriétés de Béta-Carotène.

Tableau n°10 : Composition en Béta-Carotène de quelques fruits et légumes pour 100 g d'aliment.

Tableau n°11: les analyses microbiologiques effectuées sur les différents prélèvements.

Tableau n°12: les analyses physicochimiques effectuées sur les différents prélèvements.

Tableau n°13 : les analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau.

Tableau n°14 : Germes recherchés dans les différents échantillons, milieux utilisés et conditions d'incubation.

Tableau N°15: Résultat et interprétation microbiologique de l'eau de Process.

Tableau N°16 : Résultat et interprétation microbiologique de la poudre de lait.

Tableau N° 17: Résultat et interprétation microbiologique du beurre.

Tableau N°18: Résultat et interprétation microbiologique du cheddar.

Tableau N° 19: Résultat et interprétation microbiologique du produit semi-fini.

Tableau N° 20 : Résultat et interprétation microbiologique du produit fini.

Tableau N° 21: Résultat et interprétation physico-chimique de l'eau de Process.

Tableau N° 22: Résultat et interprétation physico-chimique de la poudre de lait.

Tableau N° 23: Résultat et interprétation physico-chimique du beurre.

Tableau N° 24: Résultat et interprétation physico-chimique du cheddar.

Tableau N° 25: Résultat et interprétation physico-chimique du produit semi-fini.

Tableau N° 26: Résultat et interprétation physico-chimique du produit fini.

Tableau n°27 : Résultat de l'analyse de la variance du PH.

Tableau n°28 : Résultat de l'analyse de la variance du l'EST.

Tableau n°29 : Résultat de l'analyse de la variance de la MG.

Tableau n°30 : Résultat de l'analyse de la variance de l'Humidité.

Tableau N° 31 : Résultat des analyses organoleptiques de produit fini.

Tableau N° 32: Résultat et interprétation de Dosage de la Vitamine A.

Tableau n°33 : Résultat de l'analyse de la variance de dosage de la vitamine A.

Liste des abréviations

°C : degré Celsius.

°F : Degré Français.

Abs : Absence.

AFNOR : Association Française de Normalisation

CSR : Clostridium Sulfito-réducteur.

D/C: Double concentration.

d: densité.

DM: Dilution mère.

E.Coli: Escherichia coli.

EST : Extrait sec totale.

FAO: Food and Agriculture Organisation "Organisation des Nation Unies pour l'alimentation Et l'agriculture".

G/S: Grasse sur sec.

H : Humidité.

JORA : Journal Officiel République Algérienne.

Kg : kilogramme.

MG : Matière grasse.

ml : millilitre.

N: normalité.

NPP : nombre le plus probable.

PH : potentiel d'hydrogène.

Saureus: Staphylococcus aureus.

S/C: Simple concentration.

SM: Suspension mère.

TA : Titre alcalimétrique.

TAC : Titre alcalimétrique complet.

TH : Titre hydrométrique.

UFC : unité formant colonies.

UHT : ultra haut température.

HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance.

mg : milligramme.

µg : microgramme.

SM : solution Mère.

V : volume.

VRBL : gélose lactosée bilié et au rouge neutre.

VF : viande de foie.

A : acidité.

Ca : calcium.

Cl⁻ : chlorure.

E : essai.

FES : sulfure de fer.

GMT : germes totaux.

h : heure.

ISO : organisation internationale de normalisation.

Min : minute.

% : pourcentage.

CV : coefficient de variation.

P : probabilité.

DD : dilution décimale.

HFD : fromage dégraissé.

Aw : activité de l'eau.

β : béta.

ER : équivalent rétinol.

AJR : apport journalière recommandé.

DMLA : dégénérescence moléculaire lié à l'âge.

S.T : Coliforme Totaux.

S.F : Coliforme Fécaux.

Lev et Moi : Levure et moisissure.

LISTE DES ANNEXES

-ANNEXE 1 : Les analyses microbiologiques.

-ANNEXE 2: Tableau des différents constituants de fromage fondu « MG/MS : 45% ».

-ANNEXE 3: Tableau représentant le matériel de laboratoire physicochimique et microbiologique de l'entreprise G.I.G.

-ANNEXE 4 : Tableau représente les milieux de cultures utilisées et leurs compositions.

-ANNEXE 5 : Table de Mac Grady pour les coliformes des eaux.

-ANNEXE 6: Table de Mac Grady pour les Streptocoques fécaux.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

SOMMAIRE

➤ **Introduction..... 1**

➤ **Première partie : « Partie Bibliographique ».**

Chapitre 1 : « le Fromage ».

1-1-Généralité.....	4
1-2-Définition.....	4
1-3-Composition et intérêt nutritionnel des fromages.....	4
1-4- Fabrication des Fromages.....	6
1-4-1- la standardisation (préparation du lait).....	6
1-4-2- Le Caillage.....	7
1-4-3- L'égouttage.....	8
1-4-4- L'affinage.....	9
1-5- Classification des fromages.....	10
1-5-1-Classification Officielle.....	10
1-5-2-Classification Technologique.....	11

Chapitre 2 : « le Fromage Fondu ».

2-1- Définition.....	13
2-2-Historique.....	13
2-3-Présentation du fromage fondu.....	14
2-4- Composition Du Fromage Fondu.....	14
2-4-1- L'eau.....	14
2-4-2- Protéine.....	14
2-4-3- Glucide.....	15
2-4-4- Lipide.....	15
2-4-5-Les Vitamines.....	15
2-4-6- Composition Minérale.....	15
2-5- Ingrédients Utilisés En Fabrication De Fromage Fondu.....	16
2-5-1- Matière Première : Fromage.....	16
2-5-2- Autres Ingrédients.....	17
2-5-3- Sels De Fonte.....	19
2-5-3-1 Définition.....	19
2-5-3-2 Les Rôles Des Sels de Fonte.....	19

2-6- Les Etapes De Fabrication.....	19
2-6-1- Préparation De Matière Première.....	19
2-6-2- Préparation De La Formule.....	20
2-6-3- La Cuisson.....	20
2-6-3-1- La Peptisation.....	20
2-6-3-2- Le Crémage.....	20
2-6-3-3- Facteurs Importants Favorisants La Fonte.....	21
2-6-4- Conditionnement.....	21
2-6-5- Refroidissement.....	21
2-6-6- Stockage De Produit Finis.....	21
2-7- Différente Type Du Fromage Fondu.....	22
2-7-1- Fromage Fondu Type Bloc.....	22
2-7-2- Fromage Fondu Type Coupe.....	22
2-7-3- Fromage Fondu Type Pour Refonte.....	22
2-7-4- Fromage Fondu De Type Thermostable.....	22
2-7-5-Fromage Fondu Tartinable.....	23
2-8- Traitement à Ultra Haute Température (UHT) Du Fromage Fondu.....	23
2-8-1- Définition D'UHT.....	23
2-8-2- Principe De Traitement.....	23
2-9- Les Défauts De Fabrication Du Fromage Fondu.....	24

Chapitre 3 : « Le Béta Carotène ».

3-1- Définition Du Béta Carotène.....	29
3-2-Rôle Physiologique.....	30
3-3- Source Alimentaire Et Quantité Associés.....	31
3-4- Apport Nutritionnelle Conseillées.....	32
3-5- Statut Nutritionnelle.....	33
3-6- Carence Et Signe De Carence.....	33
3-7- Supplémentation En Béta Carotène.....	33
3-8- Béta Carotène Utilisée Comme Additif Alimentaire (E160a).....	33

➤ **Deuxième Partie « Partie Expérimentale ».**

Chapitre 1 : « Matériel Et Méthode ».

1-Présentation de l'unité.....	36
2-Les étapes de fabrication du fromage fondu en portion (selon Goumidi).....	37
3-Matériel.....	38
4-Méthode.....	38
4-1-Echantillonnage.....	39
4-1-1-Prélèvement des matières premières.....	39
4-1-2-Prélèvement du produit en cour de fabrication.....	40
4-1-3-Prélèvement du produit fini.....	40
4-2-Préparation des dilutions.....	40
4-2-1-Objectif.....	40
4-2-2-Mode opératoire.....	40
4-3-Analyses microbiologiques.....	42
1-Recherche et dénombrement des germes totaux mésophiles.....	44
2-Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux.....	45
3-Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus.....	46
4-Recherche et dénombrement des Clostridium Sulfito-réducteur.....	47
5-Recherche et dénombrement des salmonella.....	47
6-Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	48
7-Recherche et Dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux dans l'eau de procès.....	49
8-Recherche et dénombrement des conformes totaux et fécaux dans l'eau de procès.....	50
9- Recherche des Streptocoques fécaux dans l'eau.....	51
10-Recherche et dénombrement des spores de Clostridium Sulfito-réducteurs dans l'eau de procès.....	52

4-4-Analyses physicochimiques.....	53
<u>A-Matière Première et Produit Fini</u>	53
1-Détermination de l'extrait sec.....	53
2-Détermination de l'humidité.....	54
3-Détermination de matière grasse.....	55
4-Détermination du PH.....	57
<u>B- Les analyses physico-chimiques de l'eau</u>	58
1-Détermination du titre alcalimétrique.....	58
2-Détermination du titre alcalimétrique complet (TAC).....	58
3-Détermination du titre hydrométrique (TH).....	59
4-Détermination de chlorure Cl^-	60
5-Détermination du chlore libre.....	60
6-Détermination de PH.....	61
<u>C-analyse organoleptique</u>	61
4-5-Dosage de la vitamine A par HPLC.....	62
4-5-1-Laboratoire et Equipement.....	62
4-5-2 -objet et champ d'application.....	62
4-5-3 - Principe De La Méthode.....	62
4-5-4 - procédure d'analyse.....	62
4-5-4 -1 - Les produits chimiques et réactif.....	62
4-5-4 -2- Test d'aptitude du système.....	63
4 5-4 -3 Préparations standard.....	63
4 5-4 -4 Préparation des échantillons.....	64

4-5-4-5 L'analyse par HPLC.....	64
4-5-5 –Mode de calcul.....	67
4-5-5-1- Calcul de la teneur en vitamine A.....	67
4-5-6– Analyse statistique.....	67

Chapitre 2 : « Résultat Et Discussion ».

2-1-Résultat et interprétation des analyses microbiologique.....	69
2-2-1 L'eau de Process.....	69
2-2.2- Poudre de lait.....	70
2-2-3-Beurre.....	71
2-2-4. Cheddar.....	72
2-2-5. Produit semi-fini : (après UHT).....	73
2-2-6. Produit fini.....	74
2-2- Résultat et interprétation des analyses physicochimique.....	75
2-2-1-L'eau de Process.....	75
2-2-2-Poudre de lait.....	77
2-2-3-Beurre.....	79
2-2-4. Cheddar.....	81
2-2-5. Produit Semi-fini : (après crémage).....	83
2-2-6. Produit fini.....	84
2-3- Résultat et interprétation des analyses organoleptique.....	89
2-4- Résultat et interprétation de dosage de la vitamine A.....	90

- **Conclusion Générale**
- **Référence bibliographique**
- **Annexes**

INTRODUCTION

Le lait et les produits laitiers, dont le rôle nutritionnel concerne en premier lieu leur grande valeur en tant qu'aliments équilibrés, fournissent au corps humain le plus d'éléments nutritifs que n'importe quel autre aliment

Le fromage a toujours été une valeur sûre de l'alimentation humaine, c'est le résultat d'une transformation du lait et d'anciens écrits témoignent de sa fabrication quelque trois mille ans avant notre ère en basse Mésopotamie (**BOUTONNER, 2000**).

En Algérie, le fromage le plus consommé est le fromage fondu. Les algériens en consomment plus de 20 000 tonnes par an. Le fromage en portions se taille la part du lion. Ce qui explique cette tendance à la consommation, c'est le facteur de conservation de longue durée de fromage fondu ; est également le prix moins cher (**BOUTOUX G, 1993**).

Le fromage fondu comporte toutes les caractéristiques nutritionnelles des produits laitiers qui le composent. Il apporte à l'organisme la majorité des nutriments essentiels à un bon équilibre alimentaire. Ne nécessitant aucune préparation, c'est un excellent moyen d'apporter à notre corps les éléments énergétiques et bâtisseurs nécessaires à son fonctionnement (lipides, glucides, protéines, minéraux et vitamines).

Du fait de sa conservation et des facilités d'exportation qu'il permet, il peut être un aliment de première importance pour les populations des pays non laitiers.

En vue de l'intérêt nutritionnel et le prix abordable avec le pouvoir d'achat du consommateur, le fromage fondu est le plus consommé d'où une concurrence apparaît entre les industries fromagères pour la production du fromage de bonne qualité, mais la qualité est liée au degré d'application des normes de production et d'hygiène.

Pour voir le degré d'application des normes, nous avons réalisé un travail au niveau de l'industrie fromagère « **GOUMIDI** » qui produit le fromage fondu en portions « **OKID'S** ».

Le but de notre travail est de voir le degré d'application des normes de cette unité, et pour cela nous avons réalisé une étude et suivi la démarche suivante :

- ✚ Un contrôle microbiologique et physico-chimique de la matière première et le produit fini.
- ✚ Un dosage de la Vitamine A sur la valeur nutritionnel du fromage fondu en portion (produit fini) et interpréter les résultats obtenus.

1-1-Généralité :

Le fromage est l'un des produits laitiers d'où ils sont des aliments essentiellement à base de lait, conçus pour apporter les qualités nutritionnelles de base du lait (**LUQUET, 1987**).

Le lait est un élément de base de notre alimentation, il a été considéré dans toute civilisation comme un produit noble en raison de son adaptation parfaite aux besoins nutritionnels et physiologiques des mammifères (**JEANT, 2001**).

1-2-Définitions :

▪ Aux termes de la réglementation française (décrit 30 Décembre 1988) :

La dénomination « Fromage » est réservée à un produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir de matière d'origine exclusivement laitière (lait, lait partiellement écrémé ou totalement écrémé, crème, matière grasse, babeurre) utilisées seules ou en mélanges et coagulées en tout ou partie avant égouttage ou après élimination partielle de phase aqueuse (**MIETTON, 1994**).

- Dans la conception traditionnelle, le fromage est le résultat de la coagulation du lait par ensemble d'enzymes coagulantes, connu sous le nom de présure, suivie de l'élimination partielle du lactosérum (l'égouttage), ce qui laisse subsister un caillé, lequel est à l'origine du fromage (**ECK, 1989**).
- Selon **LAMBRECHS, (2005)** : Le fromage est un produit fermenté ou non, obtenu par égouttage après coagulation du lait, tous les laits des mammifères sont susceptibles à donner des fromages sauf le lait de chamelle, qui ne caille pas spontanément.
- Les fromages sont coagulés par la présure, ensuite l'égouttage de fromage pour la séparation du lactosérum liquide de la caille solide. Après c'est le salage et enfin c'est l'affinage pour que le fromage acquière son identité et sa saveur.

1-3-Composition et intérêt nutritionnel des fromages :

La composition générale du fromage est : protéine, lipides, glucides, calcium, riboflavine et vitamines A et D (**DILLON ET BERTHIER, 1997**).

La teneur en protéine varie de 10 à 30 % dans les fromages, c'est donc un aliment protéique par excellence. Les fromages sont les aliments les plus riches en protéines, notamment les pâtes pressés dont la teneur en protéine (30%) dépasse celle de la viande (20%).

La valeur énergétique des différents fromages varie de 2000 à 17500 j/kg de fromage, l'essentiel provient des lipides : un emmental à 45% de matière grasse contient 300g de lipides qui apportent 11300Kj, les protéines et les glucides ne représentent que 5000Kj.

Les fromages constituent d'excellentes sources de calcium et phosphore, cependant leur teneur varie en fonction du mode de fabrication et la teneur en eau (Tab 1).

D'après MAHAUT, 2000 ; les vitamines sont en qualités variables :

- Les vitamines liposolubles (essentiellement A et D) sont apportées par les lipides.
- Les vitamines hydrosolubles (B₂, PP, acide pantothénique).

Tableau n°1 : Valeur nutritionnel des fromages.

	Protéine(%)	Lipide (%)	Calcium (mg/kg)	Valeur énergétique (KJ/100g)
Fromage frais	10	0 à 9	1 à 1,6	2000 à 6500
Pâte molle	20	20 à 28	1,5 à 3,8	11000 à 15000
Pâte pressé non cuite	24 à 27	24 à 29	6,5 à 8,6	13500 à 16000
Pâte pressée cuite	27 à 29	28 à 30	9,0 à 11	16500 à 17000
Pâte persillée	20	27 à 32	7,2 à 8,7	17500

(MAHAUT, 2000)

Le tableau 1- établie par MAHAUT, 2000 montre que le fromage est riche en constituants énergétiques, c'est pour cela il est recommandé de le consommer par tous les âges, sauf que la quantité consommée est variable selon l'âge et l'état de consommateur.

Tableau n°2 : Quantité des produits laitiers conseillés par jour (g).

	Lait (ou fromage frais)	Fromage
Enfant de 2 à 6 ans	50 à 60	20 à 30
Enfant de 7 à 11 ans	50 à 60	30
Adolescent de 12 à 15 ans	50	50
Adolescent de 15 à 20 ans	50	50 à 80
Adulte	35	30 à 50
Femme enceinte	50	50
Personne âgées	50	30

(MAHAUT, 2000)

1-4-Fabrication des fromages :

La fabrication du fromage se fait principalement en deux étapes: le caillage ou coagulation du lait et la déshydratation du coagulum. Pour certains fromages, on doit avoir recours à un 3ème étape, celle de l'affinage, aux cours de laquelle l'action des micro-organismes et des enzymes apporte les modifications voulues selon les variétés.

1-4-1-la standardisation (préparation du lait) :

Le lait présente une grande variabilité dans sa composition selon l'espèce, la race, l'individu, le stade de lactation, le moment de la traite, la saison, l'alimentation. (MURIELLE, 2009)

Dés lors, tous les laits n'offrent pas la même aptitude à la transformation fromagère ; car ils présentent des caractéristiques différents telles la richesse et la composition en caséine, la teneur en lactose, l'équilibre minérale, la qualité hygiénique. (MURIELLE, 2009)

Tableau n°3 : Préparation du lait ou standardisation.

Préparation du lait	Variation rencontré(lait)	Solution	Méthode utilisé
Standardisation physicochimique	Teneur en protéine	-Fixation du taux protéique des laits entre 35 et 40g/l.	-élimination d'eau par évaporation ; Enrichissement en caséine.
	Teneur en Matière grasse.(MG)	-Fixation du taux en MG : -Lait entier : 36 g/l. -Lait écrémé : 3,09 g/l.	-Passage de lait dans une écrémeuse-centrifugeuse puis incorporation de la crème.
	Teneur en Calcium.	Rééquilibrage du taux de Calcium.	utilisation de CaCl ₂ à une dose varie entre 50-200 mg/l de lait.
	Valeur du PH	Ajustement du PH d'emprésurage.	-Addition d'un composé hydrolysé en acide gluconique. -Injection de CO ₂ .
Standardisation Biologique.	Nature et Quantité de la flore lactique.	Contrôle et sélection de la flore.	Traitement thermique suivi de l'addition d'une flore contrôlée.

(MURIELLE, 2009)

1-4-2-le caillage du lait :

La première étape de fabrication d'un fromage est le caillage du lait. Elle consiste à solidifier le lait par acidification naturelle de ses propres ferments afin qu'il en découle un passage du lait de l'état liquide à l'état solide. On aboutit au caillage du lait par coagulation de ce dernier.

Cette coagulation est provoquée par la dénaturation de la caséine, qui est la principale protéine du lait (80%). Les différentes caséines sont en fait organisées en micelles qui sont

des agrégats de plusieurs molécules de caséine stabilisant le calcium. Elles forment un complexe de protéine phosphorées précipitant à un $\text{PH}=4,6$ ou sous l'action d'enzyme spécifique comme la chymosine, un extrait de macération de la caillette du veau qui, en présence d'un autre enzyme, la pepsine, forment la présure. (REMEUF et al., 1989.)

C'est pourquoi, dans le domaine fromager, on distingue deux types de coagulation :

- a. Coagulation par acidification.
- b. Coagulation de la présure.

a-Coagulation par acidification :

Au de cette coagulation, il se produit la solubilisation des phosphates de calcium, entraînant la désorganisation de l'état micellaire en libérant des caséines insolubles qui vont flocculer et se réorganisent en un réseau mal structuré correspondant au gel lactique.

b-coagulation de la présure :

Cette coagulation est provoqué par l'addition d'un enzyme protéolytique appelée présure (chymosine) dans un lait peu acide. La coagulation est initié par le clivage de la caséine K e un fragment de para-caséine K hydrophobe et à caractère basique associé à la micelle et en un fragment hydrophile acide. Dans ce type de coagulation, le changement à la surface des micelles a pour conséquence leur agrégation conduisant à un réseau constituant le gel présure, ce coagulant est élastique, souple et fortement minéralisée alors que le coagulant apporté par acidification est faible, les protéines sont très hydratés.

1-4-3-Egouttage du caillé :

L'égouttage est l'étape de séparation du caillé, la phase solide, et du lactosérum ou petit lait, la phase liquide composé d'eau et de matière soluble telle que le Lactose (75%), des minéraux (essentiellement du calcium), des vitamines et des protéines (10%) et d'évacuation de ce dernier.

Durant cette phase, ce sont 80% de l'eau contenue dans le caillé qui est extraits. Cette étape est importante puisque la nature du fromage fabriqué dépend de la méthode d'égouttage pratiqué. Il faut notamment savoir que la capacité à s'égoutter d'un caillé est directement en relation avec sa coagulation que l'égouttage commence dès coagulation du lait. (RAMET, 1985)

Lors de cette étape, différents facteurs interviennent :

a-facteur physique : (pour les caillées lactiques)

Il s'agit de la fermentation lactique qui génère des pores dans le caillé du lait (perméable), on parle de phénomène passif.

b-facteur biologique : (pour les caillées présures)

Il s'agit de la synérèse, contraction spontanée du grain sous l'action de la présure, de l'acidité ou de la température située entre 20 et 40°C qui participe à l'évacuation de sérum.

c-facteur mécanique : il se déroule en 4 étapes :

1-le chauffage : est une phase important d'égouttage puisque à une température se situant entre 32°C et 50°C, la vitesse des réactions augmentent. Par ailleurs, les hausses de température vont diminuer les viscosités et de la sorte, favoriser la sortie du sérum. Le chauffage est indispensable pour optimiser l'égouttage.

2-Décaillage : cette phase à découper le coagulum en portion égale d'environ 3 à 4 Cm afin d'accroître la surface d'exsudation et ainsi favorise l'écoulement du lactosérum.

3-Brassage : vient compléter l'action de décaillage dans la mesure. On peut ajouter que cette étape est indispensable pour les gels présures mais n'est pas pour les gels lactiques.

4-Pressage : consiste à évaluer les dernières portions du sérum contenu dans les grains de caillé et à donner au fromage sa forme définitive.

1-4-4-L'Affinage :

L'affinage est la période de maturation pendant laquelle le fromage reçoit de nombreux soins en cave. Il y est régulièrement frotté et retourné. Plus la période est longue, plus le fromage sera corsé. Il existe une grande différence de goût entre un fromage dont la croûte à été laissée sèche et un autre dont la croûte à été régulièrement humidifiée.

Un fromage dit **frais** lorsqu'il vient juste d'être fabriqué et entre ou pourrait entrer en cave d'affinage.

Un fromage dit **affiner** lorsqu'il a atteint sa maturation optimale au terme de sa période d'affinage.

Affiner un fromage c'est laisser s'opérer naturellement. Ses transformations sous la double action d'un enzyme (Diastase) et des micro-organismes logeant à la surface et à l'intérieur du fromage. Le sel migre dans la pâte et la croûte commence à se former. La caséine va subir des fermentations qui vont modifier la saveur la texture du fromage. (ECK et GILLIS, 1997)

L'affinage dépend de très nombreux facteurs dont tous agissant sur les micro-organismes et l'activité enzymatique :

- L'humidité du fromage, qui relève de l'intensité de l'égouttage et hygrométrie de la cave.
- Le taux de sel.
- La température du fromage et donc de la cave.
- La ventilation ambiante.
- L'activité du fromage.
- Les soins apportés.

1-5-Classification des fromages :

Il existe plusieurs classifications des fromages :

1-5-1-Classification officielle :

La norme internationale A-6(1978-FAO/OMS), permet de classer les fromages en fonction de leur teneur en eau dans fromage dégraissé (HFD), leur teneur en matière grasse (G/S) et les principales caractéristiques d'affinage, dont ils sont résumés dans le Tableau-4- (MAHAUT, 2000)

Tableau n°4 : Classification officielle des fromages.

Formule 1		Formule 2		Formule 3
HFD	Le 1 ^{er} élément de la dénomination sera	G/EST	Le 2 ^{ème} élément de la dénomination sera	D'après les principales caractéristiques d'affinage.
<51	Pâte extra dure	>60	A-Extra gras	1-Affiné principalement en surface Principalement dans la masse.
49-56	Pâte dure	45-60	B-Tout gras	
54-63	Pâte demi dure	25-45	C-Mi gras	
61-69	Pâte demi molle	10-25	D-Quart gras	2-Affiné aux moisissures
>67	Pâte molle	<10	E-Maigre	3- Frais

(MAHAUT, 2000)

1-5-2-Classification technologique :

MIETTON ; (1991); propose une classification fondée sur les dynamiques de la fabrication fromagère. Elle est basée sur les caractéristiques d'HFD et Calcium du fromage qui dépendent du PH d'emprésurage et du PH au démoulage ainsi que des cinétiques d'égouttages et d'acidification.

D'après toutes ces classifications, on remarque qu'il y'a un type de fromage pas classé ; malgré qu'il est trop consommé dans le monde. Ce type de fromage est le **fromage fondu** dont nous sommes intéressés dans ce travail.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

2-1-Définition :

La dénomination « fromage fondu » est réservée au produit de la fonte du fromage ou d'un mélange de fromages, éventuellement additionné d'autres produits laitiers (**BOUTONNIER, 2001 ; LUQUET, 1985**), notamment du Lait Liquide ou en poudre, crème, beurre, caséine, Lactosérum, avec ou sans addition d'épice ou d'arômes (**LUQUET, 1985**). Sa teneur minimale en matière sèche est de 43g pour 100g de produit fini, et sa teneur en gras sur sec (masse en grammes de matière grasse pour 100g de produit après complète dessiccation) est de 40g (**BOUTONNIER, 2000**).

En réalité, il s'agit plus d'une dissolution suivie d'une dispersion de protéines dans l'eau que d'une fonte que, correspond au sens physico-chimique du terme, à la désintégration d'une structure solide cristalline par l'apport d'énergie thermique ou l'exercice d'une pression (**BOUTONNIER, 2000**).

2-2-Historique :

Le fromage est un aliment connu depuis de très longues années. C'est à la fin du 19^e siècle que s'est développée sa production industrielle en Europe Occidentale, en Amérique du Nord et en Australie.

Sa richesse en protéine fait de lui très demandée, mais à cette époque son exportation dans les zones chaudes et plus ou moins éloignées n'était pas évidente à cause des problèmes de conservation.

En 1900, une partie de ce problème a été résolue par des industries Allemands et Hollandais qui ont préconisé l'utilisation de la pasteurisation sur les fromages à pâte molle et à pâte demi dure. Cependant, pour le fromage à pâte dure, l'application de ce procédé a provoqué une rupture de la structure, et une exsudation de l'eau et de la matière grasse.

En 1911, deux fromages suisses, **W. GERBER** et **F. STETLER** ont soigneusement divisé l'emmental puis chauffé à 80°C sous agitation avec une solution de citrate de sodium. Le fromage a formé « un sol » qui a pu être emballé à chaud dans une feuille métallique et a donné par refroidissement « un gel » de consommation agréable sans croûte et bien conservé : le fromage fondu était né.

En 1930, l'utilisation de polyphosphates de sodium linéaires sur les fromages à pâte pressée cuite a apportée un grand progrès dans la conception du fromage fondu. (**CHAMBRE ET DAURELLES, 1997**).

Actuellement le fromage fondu est fabriqué dans le monde entier, dont environ la moitié aux USA.

Au sein de l'Union Européenne, 70 établissements produisent avec des techniques ultra modernes, 500 000 Tonnes de fromage fondu. La France pour sa part assure près du quart de cette production Européenne, soit 100 000 T. elle en exporte environ 50% vers 150 pays : au Moyen-Orient, en Afrique et en Asie (**ECK et GILLIS, 1997**).

2-3-Présentation du fromage fondu :

Le fromage fondu représente actuellement le fromage le plus pratique et le plus moderne. Sa diversité en poids et en emballage permet de lui conférer un nombre important de présentations et une multiplicité d'usages.

La plus grande part du marché mondial du fromage est représenté par des tranches notamment aux USA. Par contre, En France ; on note une prédominance des portions sous Aluminium Laqué de format triangulaire, carré, rond ; les blocs et les barquettes.

Certaines présentations ont été développées pour répondre à la restauration collective ou aux habitudes de consommation de certains pays. Les gammes d'usages de fromage fondu est très large : à froid, il peut être dégusté à tout moment de la journée, ou étalé sous une tranche de pain ou de toast, à chaud le fromage fondu agrémenté les toasts, les Hamburgers, il est utilisé dans des préparations culinaires sous forme râpée ou tel qu'il se présente. (**ECK ET GILLIS, 1997**).

2-4-La composition du fromage fondu :

Selon **ECK et GILLIS (1997)**, les fromages fondu sont de vrais bâtisseurs de l'organisme avec leurs protéines, sels minéraux et matières grasses. La composition moyenne du 100g du fromage fondu, d'après (**LUQUET, 1985**), est présentée dans le tableau n°5.

2-4-1-L'eau :

L'activité biologique de l'eau est primordiale en alimentation, puisqu'elle permet de mettre en œuvre une stratégie de protection des aliments en contrôlant les détériorations physicochimique, les activités enzymatiques et la multiplication des populations microbiennes.

L'activité de l'eau (A_w) d'un aliment est indicateur de sa stabilité, sûreté, et durée de conservation. (A_w) de fromage est autour 0,87 et 0,98 ; par rapport à l'eau presque à 1. (**RAMESH, 2011**).

2-4-2-Les protéines:

Les fromages fondus sont des aliments très riches en protéines qui proviennent de la caséine,

c'est le constituant principal de fromage qui établit la structure et donne le caractère élastique de fromage, modifiée dont une partie importante se trouve dégradé et solubilisé en oligopeptides et acides aminés sont l'influence d'une série d'enzyme différents. La teneur en acides aminés du fromage lui confère une valeur biologique extrêmement élevée.

(MEHMET, 2003).

2-4-3-Les glucides :

Le lait de bovin contient le lactose environ 4,8%, sa concentration dans le lait est indépendant de la race. **(GERRIT, 2003).**

Les fromages affinés sont pratiquement 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.

2-4-4-Les lipides :

Les graisses existent dans le lait comme des petits globules entourés par des protéines, sa quantité dépend de race, stade de lactation et régime alimentaire de la vache. **(FREDOT, 2006).**

2-4-5-Les vitamines :

Les produits laitiers sont des sources riches en vitamines, notamment, certains produits laitiers fermentés, comme les fromages, sont une source valable de la vitamine K. les vitamines liposolubles telles que les vitamines A, D, E et K.

La teneur des fromages en vitamines liposolubles essentiellement vitamines A et D accessoirement vitamine E est directement liée à la richesse de ces derniers en lipides.

2-4-6-La composition minérale :

a) sodium :

Il apporte au fromage sous forme de chlorure de sodium. Ce dernier intervient pour relever la saveur du fromage. On l'utilise aussi pour limiter la prolifération de certaines moisissures indésirable et pour régler l'humidité.

Une partie du sodium du fromage fondu provient des sels de fonte, notamment des polyphosphates de sodium. **(ECK ET GILLIS, 1997).**

b) calcium, phosphore :

Les fromages fondus constituent d'excellentes sources de calcium et de phosphore qui sont bien assimilés par l'organisme. Ils sont aussi une source intéressante de potassium, de zinc, d'iode et sélénium. En revanche ils sont pauvres en fer et en magnésium.

Le Taux de calcium varie en fonction de la teneur en eau et du mode de fabrication (le fromage fondu < 150mg pour 100 g de produit). **(FREDOT, 2006).**

Le calcium des fromages est bien assimilé par l'organisme humain en raison des proportions respectives de calcium et de phosphore qu'ils apportent et de la présence concomitante de protéine qui en favorisant l'absorption intestinale.

Le phosphore est présent dans beaucoup d'aliment généralement riches en protéines et en calciums comme le lait et les fromages surtout le fondu.

Une partie du phosphore (un cinquième) se maintient dans la phase soluble du fromage, seul le fromage fondu additionné et quelques rares pâtes fraîches contiennent plus de phosphore que de sodium. En fin, le rapport calcium / phosphore du fromage est élevée et donc satisfaisant au plan nutritionnel. **(FAO, 1995).**

Le potassium, le magnésium et les oligo-éléments se trouvent dans le fromage particulièrement le fondu sous forme de traces. Sa teneur est en générale inférieure à 150 g. Ce qui correspond à la teneur du lait. **(FREDOT, 2006).**

Le chlorure de sodium : dans l'alimentation humaine, deux fonctions principales lui sont attribuées, il intervient dans l'acceptation sensorielle des aliments par son goût salé caractéristique, par sa propriété d'exalter ou de masquer certains autres substances, et par son rôle sur certaines caractéristiques texturales des matières alimentaires, il s'agit aussi comme conservateur en limitant le développement des micro-organismes.

Tableau n°5 : Composition moyenne des éléments constitutifs pour 100 g de fromage fondu

Elément	Teneur
Eau(%)	50
Energie(Kcal)	330
Glucides(g)	2,5
Lipides(g)	30
Protéines(g)	17
Calcium (mg)	150
Phosphore (mg)	645
Magnésium (mg)	18
Potassiums (mg)	100
Sodium (mg)	1100
Zinc (mg)	7

(FREDOT, 2006).

2-5-Ingédients utilisés en fabrication :**2-5-1-Matières premières :**

Le fromage fondu est un produit de seconde transformation dans la mesure où il est issu du fromage, Lui-même issu du lait. La principale matière première des fromages fondus est le fromage auquel on associe souvent d'autres produits laitiers. Les fromages appartiennent généralement aux pâtes cuites ou non cuites. Tout l'art du maître fondeur se trouve dans la sélection et le dosage harmonieux des matières premières.

Les matières premières mises en œuvre sont soumises à de stricts contrôles tant du point de vue chimique que bactériologique et organoleptique. Les fromages sont sélectionnés notamment sur le degré d'affinage qui renseigne sur la proportion des protéines natives et sur le potentiel aromatique. La formulation consistera à partir des matières premières choisies, à fabriquer un produit à teneur définie en protéine, matière grasse, lactose, minéraux et oligo-élément. Toutefois le choix de ses matières premières est lié aux contraintes suivant :

-La matière grasse : elle est dispersée au sein du réseau protéique et émulsionnée plus ou moins finement.

-Les protéines totales dont la majeure partie doit être constituée de caséine apportée par les fromages et les poudres : elles sont associées au calcium natif qui constitue un élément

favorable à la structuration du gel ; un taux supérieur à 10% doit être apporté sous forme non dégradée par la formation du gel.

-Le Lactose : ce composant a un effet favorable sur la plastification et la structuration du gel, ce qui favorise la tartinabilité du fondu, le taux d'incorporation ne doit pas être trop élevé pour éviter l'apparition de goût sucré est de réaction de Maillard. (AMADOU et SAID AMER, 2002).

D'autres matières premières laitières sont utilisées pour la fabrication du fromage fondu. On peut citer, les concentrés protéiques laitiers, les poudres de lait écrémé, lactosérum, lactose, caséines-caséinate, coprécipités, crème, beurre et matière grasse laitière anhydre. (FOX et al, 2000).

2-5-2-Autre ingrédients

2-5-2-1-Concentrés et poudres de lait et de lactosérum

Ils apportent des protéines et du lactose qui permettent un excellent pouvoir de liaison aqueuse. Le lactose ne doit cependant pas être supérieur à 4% en masse du produit fini, sous peine d'entraîner des défauts de couleur, de goût et de consistance. En outre, il doit être absent des formules destinées à la fabrication de fromage fondu en blocs

2-5-2-2-Caséines et caséinate

Dans la pratique, ce sont surtout les caséines présure et acide ainsi que le caséinate de sodium qui sont présents dans les formulations, afin d'augmenter la teneur en caséine intacte du mélange à fondre. Du fait de leur pauvreté en calcium, la caséine acide et le caséinate de sodium sont peu structurants mais jouissent d'un excellent pouvoir émulsifiant

2-5-2-3-Crème, beurre et matière grasse laitière anhydre :

Ils sont utilisés pour équilibrer les formulations en matière grasse ou pour fabriquer des fromages fondus à fort gras sur extrait sec

2-5-2-4-Eau :

L'humidité des fromages étant généralement faible et puisque l'on incorpore des poudres, il est absolument nécessaire d'apporter de l'eau au mélange .celle-ci permet de solubiliser et de disperser les protéines et d'émulsionner par conséquent la matière grasse libre.

Cette humidité joue un rôle essentiel pour la croissance et les activités micro-organismes, la quantité de l'eau restante donne la saveur au fromage et influence sur produit, corps, texture, couleur, et aspect du produit fini. (RAMESH, 2008).

2-5-3-Sels de fonte :

2-5-3-1-Définition des sels de fonte :

Se sont les seuls additifs dans la fabrication des fromages fondus, et agissent comme émulsifiants permettant de donner au produit fini une texture homogène. Sans eux les différents composants : caséine, matière grasse et l'eau se sépareraient, après arrêt du brassage. (LUQUET, 1990).

2-5-3-2-Les rôles des sels de fonte :

D'une façon générale, les sels de fonte vont en priorité jouer un rôle important au niveau de l'échange d'ions, mais on leur demande également d'intervenir à d'autres niveaux de fabrication allant même jusqu'à la conservation du produit fini. Tout d'abord, en tant qu'échange anionique, le sel doit cumuler les propriétés et les capacités suivantes :

- ❖ Forte aptitude à lier les ions calcium.
- ❖ Efficacité importante pour une faible masse de façon à limiter les taux d'incorporation et être ainsi conforme aux doses maximales définies par la réglementation.
- ❖ Grande hydro-solubilité pour faciliter les réactions d'échange d'ions avec les micelles et les submicelles.
- ❖ Masse molaire limitée afin de ne pas trop ralentir le processus d'échange d'ions.

(BOUTONNIER, 2002).

2-6-Etapes de fabrication du fromage fondu :

Le fromage fondu est un produit de seconde transformation dans la mesure où il est issu du fromage, lui-même issu du lait. Sa fabrication comprend trois étapes principales :

2-6-1-La préparation :

A-Sélection et préparation des matières premières :

La sélection de matière premières est en relation avec la formule du produit à fabriquer, toutes les matière premières sélectionnées feront l'objet d'un contrôle microbiologique, organoleptique et physico-chimique rigoureux avant utilisation (BERGER ET AL, 1989).

Les fromages, particulièrement ceux à pâte dure ou demi dure, sont écroutés traditionnellement par raclage ou brossage ou un jet d'eau chaud sous pression et sont soumis à un broyage qui est une étape importante du traitement des matières premières, car il est indispensable de dissocier finement les fromages, pour obtenir un fromage fondu homogène (ECK ET GILLIS, 2006). Le fromage le mieux adapté à toutes ces exigences est le cheddar (BOUTONNIER, 2002).

2-6-2-Préparation de la formule :

Cette opération consiste à un mélange des différents types de fromages et autres produits laitiers (LUQUET, 1990 ; GAUCHERON, 2004).

Donc, les fromages et les autres produits sont incorporés avec les sels de fonte dans des grands mélangeurs conçus, ce qui permet une première action des sels de fonte (LUQUET, 1990).

2-6-3-La cuisson :

La cuisson est une opération essentielle, elle permet non seulement d'obtenir une masse fondue homogène, mais aussi de favoriser l'action des sels de fonte. En fonction du produit fini désiré, cette étape est réalisée par plusieurs techniques.

- Pétrins traditionnels à simple ou double cuves et chauffage par injection directe de vapeur pour une simple pasteurisation à 90-95°C ;
- Pétrins du même types mais conçu pour une stérilisation à 120-125°C ;
- La cuisson pour certains types du fromage fondu peut être effectuée sous une ultra haute température (135-145°) (GAUCHERON, 2004).

2-6-3-1-La peptisation :

Sous l'effet du traitement thermique, les sels de fonte et l'eau, les polyphosphates de sodium chélatent le calcium lié aux protéines en transformant les paracaséinates de calcium insolubles en paracaséinates de sodium solubles aboutissant à une masse homogène et fluide (LUQUET, 1985)

2-6-3-2-Le crémage :

Le crémage est un phénomène physico-chimique correspond à un épaississement ou un gonflement de la pâte fromagère ; au cours du crémage deux phénomènes peuvent être observés : (ECK ET GILLIS, 2006)

A-Hydratation : est expliquée par la fixation des anions polyvalents des sels de fonte sur les substances protéiques au cours de la peptisation augmentant ainsi leur caractère hydrophile , donc d'autres liaisons se forment en présence des molécules qui grossissent , en absorbant des quantités importantes des protéines en fait augmenter leur solubilité ;

B-Emulsification : la formation des liaisons ioniques inter et intra-protéiques entraîne la gélification du réseau protéique.

2-2-3-3-Facteurs importants favorisant la fonte:

❖ Effet de l'affinage des fromages :

Plus le fromage est affiné, plus les protéines sont hydrolysées, plus elles perdent leurs propriétés émulsifiants d'où la nécessité de garder une quantité de caséines intactes.

❖ Effet du PH :

Les phases de peptisation (déstructuration) et de restructuration ne sont possibles que dans une gamme de PH comprise entre 5,2 et 6,2 vers des PH =5, la capacité émulsifiants des caséines est altérée et ne permet plus d'avoir l'émulsion.

❖ Effet des sels de fonte :

Une peptisation suffisante n'apparaît qu'avec la présence de poly phosphates dont le taux de polymérisation est au moins égal au tripolyphosphates dans le mélange des sels de fonte.

❖ Effet de la préfonte :

Elle permet d'accélérer la cinétique de réaction et stabilise l'émulsion en favorisant les interactions protéines/lipides ; elle est utilisée pour améliorer la texture et la stabilité des fromages fondu. (ECK ET GILLIS, 1997)

2-6-4-Le conditionnement :

Le conditionnement se fait directement sans refroidissement et la forme du produit est donnée par l'emballage. IL est réalisé sur lignes automatisées, il doit être conduit dans les bonnes conditions d'hygiène pour éviter toute contaminations de fromage par le matériel (BERGER ET AL, 1989).

2-6-5-Le refroidissement :

Le mode de refroidissement du fromage fondu varie selon le format et le type du produit. Dans la majorité des cas, le fromage fondu conditionné à chaud doit être refroidi rapidement afin d'éviter les risques de brunissement enzymatique de la pâte. dans le cas du fromage fondu tartinable un refroidissement rapide s'impose de manière à interrompre le processus de crémage plus ou moins intenses et conserver au produit une structure courte indispensable à l'obtention des produits sur des tapis à l'air ambiant mais les meilleurs résultats sont obtenus dans des tunnels de refroidissement (BOUTONNIER, 2002).

2-6-6-Le stockage du produit :

La conservation se fait dans des entrepôts dont la température se situant autour de 10-15°C s'avère suffisante pour éviter la poursuite du crémage, mais pas assez basse pour entraîner la formation de condensats sur les emballages (ECK ET GILLIS, 2006).

Certains précautions doivent être prises au cours de la conservation de fromages fondus, l'écrasement par surcharge et le mouillage surtout lorsqu'il s'agit de boîtes en cartons doit être évité ainsi les changements de température brusques notamment par le passage du froid à chaud ce que provoque détérioration particulièrement des emballages en cartons (LUQUET, 1990).

Le respect des conditions optimales au cours de différentes étapes de fabrication et celles de conservation permet d'obtenir un produit de bonne qualité (ECK ET GILLIS, 2006).

2-7-Les différent types des fromages fondus :

D'après BOUTENNIER (2002), les produits issus de la fonte des fromages peuvent être regroupés en cinq familles classées par ordre chronologique d'apparition sur le marché mondial.

2-7-1-Fromage fondu type « bloc » :

Le traitement thermique subi et modéré de manière à conserver au produits finis une élasticité et une bonne traçabilité , comparable à celle du fromage classique.

Pour assurer sa stabilité, sa teneur en matière sèches est élevée et il est fondu partiellement ou totalement à partir de citrate du sodium. L'objectif est de retrouver l'aspect d'un fromage à pâte pressée bien que celui-ci ait fait l'objectif d'un chauffage

2-7-2-Fromage fondu type « coupe »

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

2-7-3-Fromage fondu toastable « pour refont » :

Originaire d'Amérique du nord, il se présente généralement sous forme de tranches adaptées à une utilisation dans les cheeseburgers et les croque-monsieur ce produits doit refondre rapidement sans carbonisation superficielle, comme une tranche d'emmental par exemple, ce qui exige une préservation importante de la structure protéiques des matières premières.

2-7-4-Fromage fondu thermostable :

Issu d'une demande extrême –originale, à l'inverse du précédent. C'est un fromage fondu qui ne doit pas fondre lorsqu'on le soumet à une nouvelle source de chaleur.

Il subit un crémage très poussé et les blocs obtenus sont découpés au Japon puis incorporé dans des plats cuisinés à base de légumes ou de poissons.

Ces préparations peuvent être appertisées à des températures élevées. Les cubes de fromage fondu doivent rester intacts après la stérilisation.

2-7-5-Fromage fondu tartinable :

C'est le processus de crémage qui permet en partie de régler la consistance du produit fini et de lui conférer une certaine tartinabilité. Ces produits peuvent être aromatisés et conditionnés en emballages souples (portion) ou rigides (pots, barquettes, tubes).

Tableau n°6 : Classification des fromages fondus.

Dénomination	Teneur en matière sèche	Teneur en matière Grasses
Fromage fondu	≥43%	≥40%
Fromage fondu allégé	≥31%	Entre 20 et 30%
Crémé de fromage fondu	≥43%	Entre 50 et 60%

(FREDOT, 2006).

2-8-Le traitement à ultra température (UHT) du fromage fondu :

2-8-1-Définition du traitement à ultra température(UHT) :

C'est une technique permettant de conserver les produits alimentaires liquides en les soumettant à un chauffage bref et intense, habituellement à des températures de l'ordre de 135°C à 140°C pendant 3 à 5 secondes. Ce procédé garantit la destruction totale de microorganismes et respecte les valeurs nutritives des aliments (GOSTA, 1995).

2-8-2-Principe du traitement à ultra haute température :

Le traitement UHT consiste à injecter de la vapeur sèche et chaude sous une pression de 2,5 jusqu'à 3,2 bars dans la masse du fromage préalablement cuit à une température de 90° par conséquent la température de ce dernier augmente à 135-145°C. Cette température doit être maintenue pendant un laps de temps qui varie entre 3 et 5 secondes (le chambrage). L'étape qui suit consiste à refroidir le produit dans un flash tank par absorption de la vapeur sous vide ce qui diminue la température jusqu'à 90° à la sortie de l'UHT.

Ce procédé doit être effectué dans un circuit fermé pour empêcher toute contamination du produit par les microorganismes en suspension dans l'air (GOSTA, 1995).

2-9-Les défauts de fabrication du fromage fondu :

Ceux qui connaissent la fabrication du fromage fondu savent qu'elle est influencée par de nombreux facteurs tels que la nature de matière, le choix des autres ingrédients. Ainsi, un très léger écart par rapport aux normes peut engendrer des défauts que l'on peut observer au cours de différents stades de la chaîne de fabrication. **(BERGER ET AL., 1989)**

Tableau n°7 : Montre les défauts de fabrication du fromage fondu au moment de la fonte.

Aspect de la pâte	Origine possible	Remède
La pâte de fromage reste liquide	<ul style="list-style-type: none"> -la matière première est trop affinée, trop décomposée et ne peut constituer une structure stable. -la teneur en eau est trop élevée. -la durée de la fonte est trop courte. 	<ul style="list-style-type: none"> -mélanger la matière première avec des fromages plus jeunes présentant une structure protéique plus stable. -diminuer la quantité d'eau ajoutée. -prolonger la durée de la fonte.
La pâte forme des fils	<ul style="list-style-type: none"> -la matière première est trop jeune. -le sel de fonte est trop ou peu crémant. -la quantité du sel de fonte est insuffisante. 	<ul style="list-style-type: none"> -ajouter du fromage plus affiné à la matière première. -utiliser un sel de fonte plus crémant. -augmenter la quantité du sel de fonte.
La pâte prend une coloration brun à brun foncé.	<ul style="list-style-type: none"> -la température de la fonte est trop élevée. -le temps de chauffage est long et la température est supérieure à 100°C. 	<ul style="list-style-type: none"> -diminution de la température de chauffage pour les fromages contenant du lactose même en cas du traitement UHT.

(BERGER ET AL, 1989)

Au cours du stockage du fromage fondu, des problèmes concernant la qualité organoleptique du produit peuvent surgir.

Tableau n°8: Défauts au cours du stockage

Aspect de la pâte	Origine possible	Remède
Le fromage colle à la feuille d'aluminium.	<ul style="list-style-type: none"> -feuille d'aluminium insuffisamment laquée. -quantité d'eau élevée. -la matière première est trop jeune et insuffisamment crémée. 	<ul style="list-style-type: none"> -utiliser une feuille d'aluminium approprié. -ajouter moins d'eau selon la recette et le produit fini voulu. -ajouter des fromages plus affinés.
Le fromage présente un goût instable.	<ul style="list-style-type: none"> -goût fade, nul « du carton » dû à des fromages jeunes. - goût amer dû à une matière première de mauvaise fabrication. 	<ul style="list-style-type: none"> -Ajouter des fromages plus vieux. -vérification sensorielle approfondie des matières premières.
Le fromage est caoutchouteux.	<ul style="list-style-type: none"> - goût alcalin dû à un PH trop élevé, généralement supérieur à 6,2. -aucun apport de préfonte. -eau ajoutée en une seule fois. -vitesse de rotation du brasseur est trop lente. 	<ul style="list-style-type: none"> -abaisser le PH par un apport de fromage plus jeune ou un sel de fonte approprié. -ajouté une fonte bien crémée. -ajouter l'eau en deux fois.

(BERGER ET AL., 1989).

Les provitamines sont, en générale, des composés qui sont transformés en vitamines une fois dans le corps. Les caroténoïdes sont des pigments présents dans de nombreuses plantes et légumes ; Environ 600 caroténoïdes ont été identifiés, mais peu ont une activité Vitamine A. les caroténoïdes à activité provitamine A contiennent un cycle bêta-ionone (cyclohexyle) à l'une ou aux deux extrémités de la chaîne pollen et environ 50 d'entre eux pourraient avoir une activité provitamine A. parmi ceux-ci, le plus important est le **Bêta-Carotène**. **(CLAUDE BOURGEOIS, 2003)**.

Le Bêta-Carotène, précurseur de la vitamine A se retrouve essentiellement dans les fruits et les légumes orangé (carotte, orange, Clémentine,...). Sa transformation en vitamine A ne se déroulera que se l'organisme en a besoin ; possèdent principalement les mêmes actions que la vitamine A. Le bêta-carotène assure donc l'intégrité de la peau et des muqueuses ainsi que de la vision ; elle doit être consommée à hauteur de 4,2 mg par jour. Les signes des carences affectent principalement les yeux et la peau. **(CLAUDE BOURGEOIS, 2003)**.

3-1-Définition :

L'organisme peut transformer en vitamine A certains caroténoïdes provenant des végétaux. On qualifie ces caroténoïdes de provitamine A ; parmi eux, le Bêta-Carotène est loin la provitamine A le plus importante. Cela s'explique par son abondance dans les aliments et le fait qu'elle est celle dont la conversion en vitamine A est plus efficace. **(HENRI DUPIN, 1992)**.

Le Bêta-Carotène est caractérisé par une couleur jaune-orangé, il possède également ; en dehors de son rôle de provitamine A, des caractéristiques qui lui sont propres. La dose maximale autorisée en France dans les compléments alimentaires est de 4,8 mg / jour. **(CLAUDE BOURGEOIS, 2003)**.

Le Bêta-Carotène est un précurseur de la vitamine A qui possède des qualités antioxydants et formé de deux molécule de Vitamine A. Sous l'action d'une enzyme ; le Bêta-Carotène libéré une molécule active et une molécule inactive de vitamine A. **(HENRI DUPIN, 1992)**.

Mais, il ne résiste pas à la chaleur ni à la lumière, donc ; penser à les consommer le plus frais possible. A la cuisson ; les pertes vont de 15% à 30% et il est mieux assimilé par l'organisme lors d'un repas qui possède des corps gras.

Tableau n°9 : Représentent quelques propriétés de Béta-Carotène

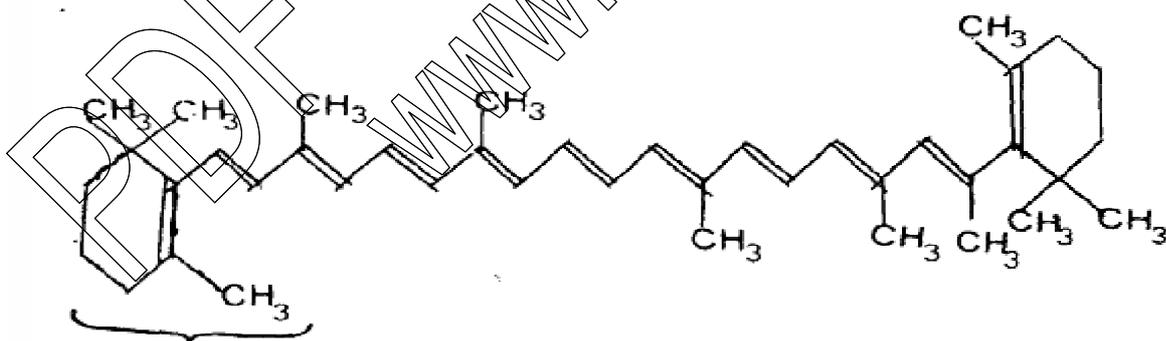
Vitamine	Noms	Solubilité	Synthèse et stockage	Sensibilité
Béta-carotène	-caroténoïdes. -provitamine A.	-liposoluble. -hydrophobe.	-pas de synthèse. -stockage Foie et tissu adipeux.	-chaleur. -lumière. -oxydant. -acide.

(CLAUDE BOURGEOIS, 2003).

Il se présente sous forme d'une poudre cristalline brun-rouge ou violet foncé, insoluble dans l'eau, le glycérol ; très difficilement soluble dans l'alcool, soluble dans l'Hexane. Il est sensible à la lumière, à l'oxygène et aux acides (Claude Bourgeois, 2003)

Figure n°1 : Structure chimique du Béta-Carotène

(CLAUDE BOURGEOIS, 2003)



Noyau β ionone

béta Carotene

3-2-Rôle physiologique :

L'absorption du Béta-Carotène se fait dans l'intestin grêle proximal par transport actif (par voie lymphatique sous forme de micelles). N'étant pas synthétisé par l'organisme, il doit obligatoirement être fourni par l'alimentation ; se transforme en vitamine A quand l'organisme en ressent le besoin. Par conséquent, il en possède les mêmes actions sur l'organisme. De plus ; il joue deux autres rôles opposés suivant la concentration à laquelle il se trouve : **(GUILLARD ET LEQUEU, 2009)**

a-Béta-Carotène et agent antioxydant à faible concentration :

Le Béta-Carotène possède des propriétés antioxydantes. En effet, il peut neutraliser des radicaux libres et des formes très réactives de l'oxygène, impliqués dans le vieillissement des cellules.

b-Béta-carotène et agent antioxydant à forte concentration :

Le Béta-Carotène, en trop forte concentration ; peut avoir des effets pro-oxydatifs. Il stimule la production d'espèces réactives de l'oxygène, composées de structures destructrices pour les cellules. De plus ; le Béta-Carotène et les caroténoïdes présents en trop grande quantité peuvent diminuer la teneur en vitamine E (Antioxydant majeur) présent dans les cellules. **(GUILLARD ET LEQUEU, 2009)**

3-3-Source alimentaire et Quantité associées :

Les meilleures sources de Béta-Carotène sont les légumes jaunes et oranges (par exemple : carotte, patate douce, potiron...) et les fruits (par exemple : Abricot, Melon, Cantaloup, Papaye, Mangue...) et les légumes feuilles verts foncés (par exemple : Epinard, Brocolis, Choux frisé, Cresson...).

Une série de facteurs influe sur la proportion de Béta-Carotène absorbable, transportable et utilisable par l'organisme une fois consommée (Biodisponibilité). Le Béta-Carotène provenant des compléments alimentaires est mieux absorbé que le bêta-carotène des aliments. Par ailleurs ; le broyage, homogénéisation mécanique et la cuisson améliorant la biodisponibilité du bêta-carotène des aliments et la présence de matière grasse dans le tube digestif est nécessaire à l'absorption du bêta-carotène. **(GUILLARD ET LEQUEU, 2009)**

Pour favoriser l'absorption des caroténoïdes l'ajout de matière grasse est vraiment conseillé. Il faut également souligner que 6 µg de bêta-carotène sont utiles à la formation d'1 µg de rétinoïdes.

Tableau suivant représente la composition en Béta-carotène de quelques fruits et légumes.

Tableau n°10 : Composition en Béta-Carotène de quelques fruits et légumes pour 100 g d'aliment.

Aliment	Béta-Carotène (mg / 100g)
Carotte crue	10,0
Carotte cuits	8,8
Epinard cuits	4,5
Poivron rouge cuit	3,3
Melon	1,8
Abricot frais	1,5
Tomate crue	0,6
Pêche	0,5
Haricot vert	0,3
Concombre	0,4
Pamplemousse	0,02

(FAVIER ET AL, 1995)

3-4-Apport Nutritionnel Conseillés :

Le Béta-Carotène n'étant pas synthétisé par l'organisme. Il doit être apporté en quantité suffisante par notre alimentation et notamment par la consommation des produits riches en Béta-Carotène. Les besoins en cette provitamine A varient légèrement en fonction des variations climatiques, Habitudes Alimentaires et du mode de vie ; ils ne sont pas spécifiquement définis mais on sait que 6 µg de Béta-Carotène sont nécessaires à la formation de 1 µg de vitamine A. la conversion ne se réalisant que lorsque l'organisme se trouve en déficit de vitamine A, Donc ; l'apport nutritionnel conseillés en Béta-Carotène est **1,8 mg / jour.**

La dose quotidienne recommandée en Béta-Carotène est exprimé en équivalent rétinol (**ER**) qui correspond à la forme active de la vitamine A, les caroténoïdes sont en fait 6 fois moins actifs que le rétinol. Cela ; donne pour le Béta-Carotène un apport journalier recommandé

(AJR) de 2,1 mg ou 350 ER. L'on conseille que l'apport en vitamine A soit fourni pour 60% par des caroténoïdes provitamines A.

3-5-Statut nutritionnel :

On relève quelques facteurs pouvant dans certains cas ; amène à une médication visant à compléter l'individu en bêta-carotène ; femme enceintes et allaitants, enfants et individus réalisant des efforts physiques intenses et régulières. (GUILLARD ET LEQUEU, 2009)

3-6-Carence et signes de carence :

❖ Carence

Chez les populations qui consomment des faibles quantités en Vitamine A, surtout présente dans les produits d'origine animale comme le foie, un apport suffisant en bêta-carotène en tant que caroténoïdes provitamine A est essentiel pour prévenir une carence en Vitamine A. Un apport supérieur à la moyenne en bêta-carotène peut avoir des vertus sur la santé (GUILLARD ET LEQUEU, 2009)

Les carences en bêta-carotène se manifestent de la même manière que lors d'une carence en vitamine A :

❖ Signes oculaires : plusieurs atteintes différentes de l'œil peuvent apparaître. Une atteinte fonctionnelle de la Rétine peut être observée, entraînant une diminution de la vision à l'obscurité. Une atteinte cornéenne, se manifestent par une sécheresse pouvant évoluer vers une opacification de la cornée ou une destruction de la cristalline peut également survenir.

❖ Signes cutanés : un dessèchement de la peau dû à une réduction des glandes sébacées et des muqueuses est un signe clinique de la carence. Ces perturbations retrouvent principalement au niveau du visage et des membres inférieurs.

❖ Sensibilité à certaines infections : Certaines infections virales comme la rougeole ou certaines complications pulmonaires. En effet, elle entraîne des modifications anormales de la muqueuse respiratoire, favorisant ainsi la colonisation microbienne à l'origine de ces infections (GUILLARD ET LEQUEU, 2009)

3-7-Supplémentation en bêta-carotène :

Le bêta-carotène agit principalement sur la santé de la peau et des muqueuses.

❖ Cancer du poumon :

Des études indiquent que l'apport accru en légumes et en fruits riches en bêta-carotène peut réduire le risque de cancer du poumon, il n'est pas clair ces effets peuvent être attribués au bêta-carotène seul, car le rôle des autres caroténoïdes ou vitamines provenant des légumes et

des fruites, ainsi que les modes alimentaires et de vie associés n'ont pas adéquatement explorés dans ces études.

❖ **Maladies cardiovasculaires :**

Différentes études associent de haute concentration de β -carotène et autres caroténoïdes alimentaire dans le sang à un risque réduit de développer des maladies touchant le cœur ou les vaisseaux sanguins (par ex. : crise cardiaque et athérosclérose)

❖ **santé de la peau :**

Il a été démontré que le β -carotène seul et en combinaison avec d'autres caroténoïdes ou vitamines antioxydants peut protéger la peau des dommages causés par le soleil. La supplémentation orale en β -carotène a été utilisée avec succès comme protecteur solaire en combinaison avec des écrans solaires dans la prévention des coups de soleil

❖ **Troubles de la vue liés à l'âge :**

Les résultats d'études épidémiologiques suggèrent que les régimes riches en β -carotène et autres caroténoïdes peuvent aider à freiner le développement de la dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA) (détérioration de la macula, partie de la rétine responsable de la vision centrale) et des cataractes (opacification du cristallin, lentille intraoculaire) entraînant une perte de la vue en cas d'absence de traitement.

❖ **Fonction immunitaire :**

Différentes études ont montré que la supplémentation en β -carotène et autres caroténoïdes renforce certaines réponses immunitaires susceptibles de prévenir certaines infections.

❖ **Sensibilité au soleil :**

Des études montrent que de fortes doses de β -carotène peuvent réduire la sensibilité au soleil. Les personnes atteintes de « protoporphyrine érythropoïétique, maladie génétique rare à l'origine d'une sensibilité douloureuse au soleil, sont souvent traitées avec du β -carotène afin de réduire leur sensibilité au soleil. (HENRI DUPIN ET AL, 1992).

3-8-béta-carotène utilisé comme additifs alimentaires :

Béta-carotène utilisée comme additif alimentaire (**E160 a**) et portes 4 numéros E : (**HENRI DUPIN ET AL, 1992**).

- ❖ **E160a(1)** : béta-carotène synthétique ; il comporte l'isomère tout trans avec de faible proportion d'autre caroténoïdes.
- ❖ **E160a(2)** : carotène extrait de végétaux comme les carottes (**Daucus Carotta**), huile de palme(**Elaeis guineensis**) ou la patate douce (**Ipomoea batatas**) à l'aide de solvant comme l'acétone, le méthanol, éthanol, hexane, dioxyde de carbone et les huiles végétales
- ❖ **E160a(3)** : obtenu par fermentation de « *Blakeslea trispora* »
Il contact majoritairement du béta-carotène trans avec des proportions variable d'isoméris cis et de faible quantités de γ -carotène. Les seuls solvants utilisés pour l'extraction sont l'éthanol, isopropanol, acétate d'éthyle, acétate d'isobutyl.
- ❖ **E160a(4)** : carotène extraite d'algue, ils sont extraits de *Donatella salina*. Ils contiennent des β -carotène trans et cis avec faible proportion d' α -carotène et de xanthophylles.

Notre travail a été effectué dans l'entreprise **Goumidi** durant un période allant de 02 Février 2013 jusqu'à pour faire un travail sur l'effet d'incorporation de β -Carotène sur la valeur nutritionnelle du fromage fondu en portion **Okid's**.

1-Présentation de l'unité :

Le groupe **Goumidi** (GIG spa) est une entreprise des produits laitiers et dérivés, crée en 1998 dont l'objet est la commercialisation des produits conditionnés (Gouda, Edam et Emmental) ainsi que des produits destinés à l'industrie du fromage fondu. Elle est située dans la zone industrielle d'Ouled-Yaich à Blida.

En 2000, l'entreprise a été orienté vers la production et la commercialisation du fromage fondu (portion, barre) et de la poudre de lait instantanée de marque **OKID'S**.

La technologie adoptée pour la production de fromage correspond à la technologie internationale, avec les équipements modernes et performants d'origine Allemande. La société fabrique la variété de fromage classé sous l'appellation fromage fondu à tartiner.

Dans le but de garantir la salubrité et la qualité de ses produits, l'entreprise (GIG spa) a développé, avec l'assistance de l'Organisation des Nations Unies pour le Développement industriel (ONUDI) un programme HACCP qui respect les exigences du Codex Alimentarius.

Notre travail comporte les étapes suivantes :

- Des analyses microbiologiques.
- Des analyses physico-chimiques.
- Dosage de vitamine A.

Pour voir le degré d'application des normes nationales du JORA 27 Mai 1998.

2-les étapes de fabrication de fromage fondu en portion :

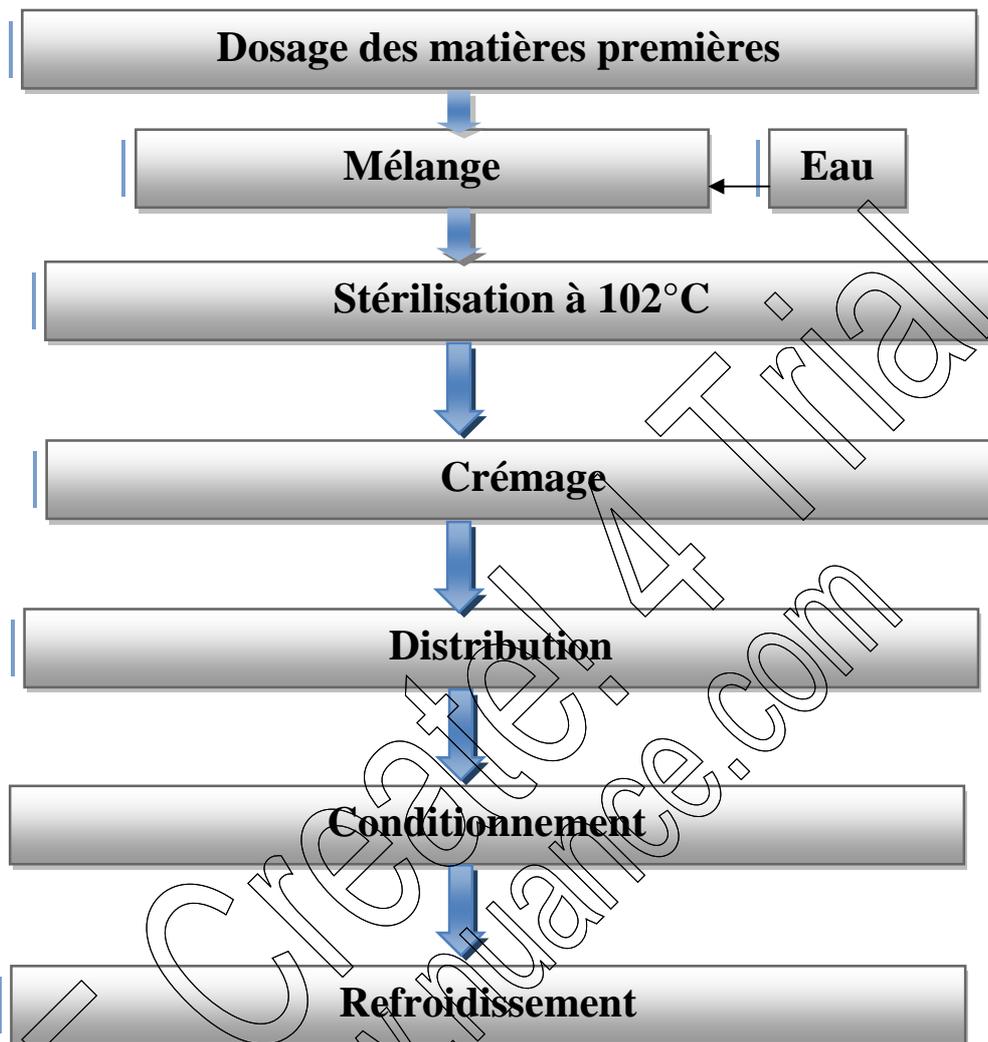


Figure n°2 : les étapes de fabrication de fromage fondu en portion (selon Goumidi).

Les machines utilisées dans la fabrication de fromage fondu en portion au niveau de l'industrie "Goumidi" est en contact dans toutes les étapes, c'est un procédé continu, le contact est réalisé par des conduites en métal ce qui limite les sources de contamination durant la chaîne de fabrication.

3-Matériels :

L'ensemble du matériel et les appareils de mesure, ainsi que les milieux de culture et les réactifs utilisés lors des analyses microbiologiques, physico-chimiques et dosage de vitamine A sont représentées dans l'annexe 3.

4-Méthodes :

Les analyses sur les matières premières et le produit fini sont représentées dans les tableaux suivants :

Tableau n°11 : les analyses microbiologiques effectuées sur les différents prélèvements

	Poudre de lait	Cheddar	Beurre	Eau de process	Produit en cours de fabrication
Germes totaux	+	+	+	+	+
Coliformes totaux	+	+	+	+	+
Coliformes fécaux	+	+	+	+	+
S. aureus	+	+	+	+	+
Spores thermophiles	+	+	+	+	+
Levures et moisissures	+	+	+	-	+
Streptocoque fécaux		-	-	+	-
Salmonelles	+	+	+	+	+

Tableau n°12: les analyses physicochimiques effectuées sur les différents prélèvements.

Echantillons	Acidité	PH	MG (%)	EST (%)
Poudre de lait	+	+	+	+
Cheddar	-	+	+	+
Beurre	-	-	+	+
Fromage	-	+	+	+
Fondu en portion (produit fini)	+	+	+	+

Tableau n°13 : les analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau.

	TA (°F)	TAC (°F)	TH (°F)	Chlorure(%)	Cl ⁻	PH
Eau de Process	+	+	+	+	+	+

+ : analyse effectué.

- : analyse non effectué.

Afin d'effectuer une analyse, il convient de procéder à une série d'opération très importante dont dépend en grande partie la qualité du résultat de l'analyse. Il faut choisir des échantillons et définir le lieu et les conditions de prélèvement et les transmettre dans des conditions au laboratoire d'analyse. (GUIRAUD, 1998).

4-1-L'échantillonnage :

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

4-1-1-Prélèvement des matières premières :

A/-La poudre de lait :

La poudre de lait est conditionné dans des sacs polyéthylènes de 25Kg, qui sont doublés ou triplets avec du papier Kraft et fermés hermétiquement. Ils sont entreposés dans un magasin à température ambiante, sur des palettes en bois pour éviter le contact direct avec le sol.

On fait choisir des sacs au hasard, les nettoyer avec l'eau de Javel et on réalisé le prélèvement.

Le prélèvement s'effectue à l'aide d'une sonde de prélèvement stérile. On prélève environ 100g de poudre de lait dont on prélève à partir de la surface, milieu et fond du sac.

B/-Le Cheddar :

Le prélèvement s'effectue dès l'arrive du Cheddar, dans les mêmes conditions du prélèvement de la poudre de lait et à l'aide d'une sonde de fromage à partir de la surface, milieu et fond. L'échantillon prélevé est préservé dans un sachet stérile.

C/-Beurre :

Dés l'arrive du dépôt on fait notre prélèvement, dans des conditions de stérilisation à l'aide d'une sonde à beurre stérile, on fait prélevé notre échantillon et le transporter dans un sachet stérile de la même façon que le Cheddar.

D/-Eau de Process :

La première étape consiste évidemment à nettoyer le robinet, le désinfecter de préférence à la flamme et laisser couler une certaine quantité de liquide avant de faire le prélèvement, ce dernier s'effectue en tirant une quantité suffisante de liquide de un flacon stérile. (BOURGEOIS ET LEVEAU, 1991).

4-1-2-Prélèvement du produit en cour de fabrication :

Le prélèvement s'effectue dans les endroits suivants :

- Bec de lancement.
- Produit après stérilisation.
- Bec de crémage.
- Chariot de distribution.

Dans des conditions de stérilisation et à l'aide d'une flamme et matériel stériles.

4-1-3-Prélèvement du produit fini :

Les prélèvements s'effectuent au niveau de la conditionneuse, dont on prélève plusieurs boites de 3 à 6. Les boites sont choisies aléatoirement, ces boites servent à l'analyse microbiologique, physico-chimique et ainsi le dosage de vitamine A.

4-2-Préparation des dilutions :**4-2-1-Objectif :**

Cette méthode a un double objectif, d'une part elle définit les modalités de la prise d'essai concernant les denrées alimentaires générale, qu'elles soient sous forme liquide ou solide et d'autre part, elle définit les modalités des dilutions décimales.

Les dilutions sont toujours effectuées dans des conditions aseptiques.

- Le but de cette dilution est pour faciliter la lecture en diminuant la charge microbienne dans une boite contenant un milieu de culture.

- Entre le moment de la préparation de la suspension, ses dilutions et leurs mises en culture, il ne doit pas s'écouler plus de 45 minutes.

4-2-2-Mode opératoire :

Elle s'effectue généralement dans une hotte à flux laminaire décontaminée et atmosphère contrôlé.

La consistance et la texture des produits font la différence entre produits liquides et produits solides, les produits liquides constitueront d'emblée donc une solution mère égal à 1.

Les produits solides feront l'objet d'une dilution mère au 1/10ème appelée également dilution mère. Dans les deux cas nous sommes amenés à effectuer des dilutions décimales, les prises d'essai sont effectuées sur l'échantillon homogénéisé en tenant compte de 2 facteurs essentiels à savoir :

- ❖ Nombre d'unités soumises à l'analyse, d'une part
- ❖ Les opérations analytiques à conduire d'autre part.

A)- Cas de produit solide :

Pour le cas de cheddar, beurre, poudre de lait et produit fini.

- ✚ Introduire 25g de produit dans un flacon stérile contenant de 225 ml d'eau physiologique, après homogénéisation on obtient la dilution 10^{-1} considérée comme la dilution mère.
- ✚ A partir de la dilution 10^{-1} on prélève 1 ml (20 gouttes) à l'aide d'une pipette pasteur stérile qu'on introduit dans un autre tube stérile contenant 9 ml de l'eau physiologique. C'est la dilution 10^{-2} .
- ✚ De la même façon on procède pour obtenir la dilution 10^{-3} .

Remarque : entre chaque dilution décimale, il est impérativement recommandé de changer les pipettes pasteur et les pipettes graduées.

Contrairement à cela, lors de l'ensemencement il est recommandé de commencer par la plus haute dilution à savoir 10^{-3} dans le but justement de ne pas changer les pipettes.

B)- Cas de produit liquide :

Dans le cas de produit liquide, le mélange de 3 à 5 échantillons de produit liquide constituera la suspension mère (SM= 1).

- ✚ Introduire à l'aide d'une pipette stérile en verre graduée ou à l'aide d'une pipette automatique stérile 1ml de la SM dans un tube à vis stérile au préalable 9ml de diluant TSE, cette dilution constitue alors la dilution du 1/10 ou 10^{-1} , mélanger soigneusement et doucement.
- ✚ Changer de pipette et prendre toujours aseptiquement 1ml de dilution 10^{-1} , à introduire dans un tube stérile contenant au préalable 9ml de même diluant TSE, cette dilution est alors 1/100 ou 10^{-2} , mélanger soigneusement et doucement (voir annexe 3).

Normes :

- **Norme NF V 08-010** : Règles générales pour les préparations des dilutions en vue de l'examen microbiologique.
- **Norme NF EN ISO 6887-1** : Suspension mère et dilutions décimales, en règles générales.
- **Norme NF V 08-057-2** : Microbiologie alimentaire directives générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.
- **Norme XP V 08-102** : Règles générales par le comptage des colonies et l'expression des résultats.
- **Norme NF ISO 7218** : Règles générales pour les examens microbiologiques.
- **Norme NF ISO 17025** : Relative aux prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essai.

4-3-Analyses microbiologiques :

Nous avons réalisé des analyses microbiologiques sur 08 fabrications de fromage fondu en portion "OKID'S".

Le contrôle microbiologique est indispensable pour garantir à la fois une bonne qualité hygiénique et bonne qualité marchande de produit fabriqué. De plus, le contrôle permettra de minimiser les pertes (améliorer la rentabilité de la production) dues à des mauvaises conditions de fabrication et donc minimiser les produits non conformes. (MULTON, 1995).

On a effectué l'analyse microbiologique au sein du laboratoire de l'entreprise "GOUMIDI".

Le tableau suivant représente les germes recherchés dans les produits analysés selon J.O.R.A n°35 du 27-07-1998.

Tableau n°14 : Germes recherchés dans les différents échantillons, milieux utilisés et conditions d'incubation.

	Poudre de lait	Cheddar	Beurre	Eau de procès	Produit en cours de fabrication	Milieux	Conditions d'incubation
Germes totaux	+	+	+	+	+	PCA	30°C/72h
Coliformes Totaux	+	+	+	+	+	VBL Desoxy-Cholate	37°C/48h
						BCPL	37°C/24h
Coliformes fécaux	+	+	+	+	+	VBL Desoxy-cholate Schubert	44°C/24h à 48h
S. aureus	+	+	+	+	+	Chapman	37°C/48h à 72h
Spore thermophile	+	+	+	+	+	PCA	37°C/72h
Levure et moisissure	+	+	+	-	+	Sabouraud	22°C/5j
Streptocoque Fécaux	-	-	-	+	-	Roth + Evalitsky	37°C/24h
Salmonelles	+	+	+	+	+	EPT, Hektoen, bouillon selinite	37°C/24h

+ : analyse effectuées.

- : analyse non effectuées.

1-Recherche et dénombrement des germes totaux mésophiles :**❖ But :**

Il s'agit de compter les micro-organismes appâtes à se multiplier à l'air, dont la température optimale de croissance est entre 25 et 40°C.

Cet ensemble englobe les micro-organismes pathogènes d'une part, et divers organismes d'altération d'autre part, le dénombrement permet d'apprécier la pollution microbienne du produit (**BOURGOIS ET LEVEAU, 1980**).

❖ Principe :

Le dénombrement est réalisé sur gélose PCA, par ensemencement en profondeur ou en masse et comptage des colonies lenticulaires obtenues (**JOFFIN ET JOFFIN, 1985**).

❖ Mode Opérateur :

A partir des dilutions décimales allant de 1/100 et 1/1000, on introduit aseptiquement 1ml dans une boîte pétri, compléter ensuite avec environ 15ml de gélose PCA fondu puis refroidie à 47°C, homogénéiser par des mouvements circulaires, laisser solidifier, puis incuber les boîtes inversées à 30°C pendant 72h (Figure 7).

❖ Lecture :

Retenir les boîtes contenant moins de 300 colonies et plus de 30 (ou 15) au niveau de deux dilutions successives. Les colonies sont des colonies lenticulaires en masse. Le résultat final est exprimé en UFC/g du produit analysé (Unité Formant Colonie/ml).

❖ Normes :

Normes NF V 08-051 : relative au dénombrement des micro-organismes par méthode de comptage des colonies obtenues à 30°C.

Normes XP V 08-102 : relative aux règles générales pour le comptage des colonies et l'expression des résultats.

Normes NF V 08-002 : microbiologie alimentaire directives générales par les examens microbiologiques.

Normes NF V 057-2 : microbiologie alimentaire directives générales pour la préparation des dilutions en vue de l'examen microbiologique.

Normes NF ISO 7218 : règles générales pour les examens microbiologiques.

Normes NF ISO 17025 : relative aux prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnage et d'essais.

2-Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux « NF V 08-052 » :**❖ But :**

L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes fécaux et totaux est de déterminer pour le produit testé une contamination fécale. Notons que, E. coli représente un indice de contamination récente (**JOFFIN ET JOFFIN, 1985**).

❖ Principe :

Les coliformes sont des bacilles à Gram⁻, non sporulés, aéro/anaérobies facultatives, capables de se multiplier en présence de sels biliaires et capables de fermenter le lactose, avec production d'acide et de gaz en 48h et à 35 et 37°C. (**HASSLEY ET LECLERE, 1993**).

Cependant, les coliformes fécaux sont caractérisés par la fermentation du lactose avec production de gaz à 44°C, produisent de l'indole à partir du tryptophane (**LARPENT, 1997**).

L'ensemencement par un milieu solide par la technique en boîtes sur géloses DCLA ou sur milieu liquide par la technique du NPP sur VRBL (Bouillant lactose brique au Vert Brillant). Répartir à raison de 1 ml par tube muni au préalable d'une cloche de Durham.

❖ Mode opératoire :

- Préparer 2 séries de boîtes de Pétri.
- A partir des dilutions décimales allant de 10⁺¹ à 10⁺⁵ porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans 2 séries de boîte de Pétri vides.
- Couler ensuite avec environ 15 ml de gélose DCLA et homogénéiser bien par des mouvements circulaires et en forme de « 8 »
- Laisser solidifier sur paillasse puis ajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose (pour éviter la contamination).
 - **La série 1** : à 37°C pendant 24-48h pour rechercher des coliformes totaux.
 - **La série 2** : à 44°C pendant 24-48h pour rechercher des coliformes fécaux.

❖ Lecture :

Pour le dénombrement que les boites contenant entre 15-300 colonies de couleur rouge foncée, brillantes de 0,5 mm de diamètre.

❖ Remarque :

Etant donné que les coliformes fécaux font partie de coliformes totaux, il est pratiquement impossible de trouver plus de coliformes fécaux que coliformes totaux.

❖ Normes :

Méthodes officielles.

3-Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus « NF ISO 6888 » :**❖ But :**

La recherche et le dénombrement des Staphylococcus aureus, les seules à produire éventuellement une enterotoxine cause d'intoxication alimentaire, permet donc de savoir si le produit à analyser présente des risques pour le consommateur (GUIRAUD, 1998).

Les Staphylocoques appartiennent à la famille des micro-coccaceae, ce sont des germes cocci à Gram (+). Ils sont aérobies et anaérobies facultatifs, ils sont plus virulents.

❖ Principe :

Selon la disponibilité des milieux de cultures, trois techniques sont recommandées pour la recherche des Staphylococcus aureus à savoir :

- Méthode de Baird Parker.
- Méthode d'enrichissement sur milieu Giolitti Cantoni.
- Méthode d'enrichissement sur milieu Chapman.

Dans notre cas, on a utilisé la méthode d'enrichissement sur milieu Giolitti Cantoni.

L'enrichissement sur Giolitti Cantoni, additionné de tellurite de potassium est basé sur le principe de l'inhibition par tellurite de potassium est le chlorure de lithium (le tellurite de potassium qui est un agent sélectif et un indicateur de réduction noircissement des colonies).

❖ Mode Opérateur :

- Enrichissement dans un milieu Giolitti Cantoni Tellurite de Potassium.
- L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48h.
- Les tubes considérés comme positifs sont les tubes noirs.
- A partir des tubes positifs, on va faire un isolement sur milieu Chapman par étalement en stries, on utilisant une anse.
- Incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48h.

❖ Lecture :

Après incubation il y'a apparition des colonies lisses légèrement bombées jaunâtres.

❖ Normes :

Méthodes Officielles.

4-Recherche et dénombrement des Clostridium Sulfito-réducteur « NF T 90-415 » :**❖ But :**

Détermination de l'existence ou non d'une contamination fécale ancienne car les spores de *Clostridium Sulfito-réducteurs* sont très résistante, ce qui permet de savoir si l'aliment présente un risque pour la santé du consommateur (**JOFFIN ET JOFFIN, 1985**).

❖ Mode opératoire :

La recherche et le dénombrement des spores de *Clostridium Sulfito-réducteur* sont effectués à partir des dilutions 10^{-1} et 10^{-2} .

- On prélève aseptiquement 1ml de chaque dilution dans un tube à vis stérile.
- Porter les quatre tubes à 80°C pendant 10min et refroidir brutalement sous l'eau de robinet.
- Ajouter environ 15ml de gélose viande fois préalablement fondu et refroidie à 45°C, additionné d'une ampoule de Fer ainsi que d'une ampoule de sulfite de sodium.

❖ Lecture :

Les colonies noires de spores qui se développent en anaérobiose sont des colonies des bactéries de *Clostridium Sulfito-réducteur* produisant à partir des sulfites, des sulfites qui ont précipité avec les ions de fer (**JOFFIN ET JOFFIN, 1999**).

❖ Norme :

Méthodes officielles.

5-Recherche et dénombrement des salmonella : « NFV 08-052 ».

Salmonelle sont des entérobactéries qui présentent sous formes de bacilles gram (-), mobile par ciliature péritriche ou immobile, non sporulé, aéro-anaérobie facultatifs, ferment le glucose avec production du gaz et de H₂S, réduire le nitrate au nitrite.

❖ But :

La recherche des salmonella s'effectue dans le but de montrer le produit et dangereux à consommer ou non, car les Salmonelles sont des bactéries pathogènes. (**JOFFIN ET JOFFIN, 1985**)

❖ Principe :

- Etant donné que le nombre de salmonella est généralement absent dans des produits alimentaires.
- Faire un pré-enrichissement qui est suivi d'un enrichissement sur milieu sélectif et d'un isolement sur milieu Hektoen pour pouvoir passer la lecture ;

❖ Mode opératoire :

Cette recherche nécessite la réalisation des étapes suivantes :

1er jour : Pré-enrichissement.

- Introduire 25g d'échantillon à analysé dans un flacon stérile contenant 225 ml de TSE ou l'eau physiologique, homogène bien et incubé à 37°C pendant 18h.

2ème jour : Enrichissement

- Porter 10 ml du pré-enrichissement sur SFB (Bouillon sélénite, cystéine) simple concentration (S/C) et 100 ml dans un flacon SFB (D/C) double concentration et incubé à 37°C pendant 18 à 24h.

3ème jour : L'isolement.

- Un ensemencement en surface et en strie pour l'isolement sur gélose Hektoen + additifs Hektoen, coulé en boîte (avant l'ensemencement) et incubé à 37°C pendant 24h.

❖ Lecture :

Les colonies sur l'Hektoen sont des colonies grises bleu à centre noir indique la présence de salmonelles.

6-Recherche et dénombrement des levures et moisissures :**❖ But :**

Cette méthode consiste à la recherche et le dénombrement des levures et moisissures dans toutes les catégories de denrées alimentaires. La recherche et le dénombrement réalisés pour deux causes :

-Leur aptitude à provoquer des altérations d'ordre organoleptique importantes au niveau de l'aliment.

-La propriété qu'ont certaines moisissures à produire des mycotoxines notamment les altérations peuvent nuire à la santé du consommateur (GUIRAUD, 2003).

❖ Mode opératoire :

Les levures et les moisissures sont recherchées et dénombrés dans toutes les catégories de denrée alimentaire selon le protocole suivant :

-A partir de chaque dilution, on transfère 1ml dans une boîte de pétri déjà préparé qui contient la gélose Sabouraud coule et refroidie, on forme de râteau et on homogène le milieu.

-On fait une incubation à 22°C pendant 5 jours.

❖ Lecture :

Après la période d'incubation, on peut également compter toutes les colonies de deux dilutions successives présentent entre 15 et 150 colonies par boîte.

❖ Normes :

« **XP V 08-059** » ; Dénombrement des micro-organismes par comptage des colonies à 22°C.

7-Recherche et Dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux dans l'eau de procès :**❖ But:**

Le tube de dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux présent dans l'eau de procès à 22°C et à 37°C, c'est l'estimation du nombre totale des germes présente dans cette eau.

- A température 37°C, pour le développement des germes provenant de l'homme ou des animaux à usage chaude.

- A température 22°C, pour le développement des germes Saprophytes de l'eau. (**BONTOUX, 1993**)

❖ Principe :

La recherche et le dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux se réalisent à 2°C différents afin de cibler à la fois les M.O à tendance psychrophiles soit à 20°C et ceux franchement mésophiles soit 37°C.

❖ Mode opératoire :

A partir de l'eau à analyser porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans 2 boîtes de pétri vides, préparées à cet usage et numérotées.

Compléter ensuite chacune des boîtes avec environ 20 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à 45± 1°C.

Faire en suite des mouvements circulaires et de va et vient en forme de 8 pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose. Laisser solidifier sur la paillasse, puis rajouter une 2ème couche d'environ 5 ml de la même gélose ; cette double couche à un rôle protecteur contre les contaminations diverses.

❖ Incubation :

- La première boîte sera incubée à 22 °C.

- La seconde boîte sera incubée à 37°C, Pendant 72 heures.

➤ Première lecture à 24 heures.

➤ Deuxième lecture à 48 heures.

➤ Troisième lecture à 72 heures.

❖ **Lecture :**

Les germes se présentent dans les deux cas sous forme des colonies lenticulaires poussant en masse de couleur transparente.

❖ **Dénombrement :**

Il s'agit de dénombrement toutes les colonies, en tenant compte 2 remarque suivantes :

- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 300 colonies.
- Le résultat sera exprimé en germes (ml d'eau ou germe/g).

❖ **Normes :**

« **NF V 08-051** » ; Relative au dénombrement des micro-organismes par méthode de comptage des colonies.

8-Recherche et dénombrement des conformés totaux et fécaux dans l'eau de procès :

❖ **Principe :**

Cette recherche fait appelle à deux testes consécutifs à savoir :

- *Les testes présomption* : réservé à la recherche des coliformes totaux.
- *Les testes de confirmation* : appelé encore test de Mac Kenzie et réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du teste de présomption.

❖ **Mode opératoire :**

Selon **GUIRAUD (1998) ET RODIER (1996)**, la technique de la recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans l'eau est la suivant :

✚ **Test de présomption :**

- Introduire 50 ml d'eau à analyser dans un flacon contenant 50 ml de BCPL (Bouillons lactose au propre de bromocrésolé) double concentration (D/C) et une cloche de Durham.
- Mettre 10ml d'eau dans 5 tubes contenant le BCPL (D/C).
- Mettre 1ml d'eau dans 5 tubes contenant le BCPL simple concentration (S/C).
- Bien mélanger en agitant le flacon et les tubes et incuber l'ensemble à 37°C pendant 24 à 48h.

✚ **Lecture :**

Le flacon et les tubes considérés comme positifs sont ceux qui sont présent :

- Un trouble du milieu accompagné d'un virage au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- Dégagement de gaz (1/10 de volume de la cloche).

L'expression des résultats s'effectue par la méthode NPP (nombre le plus probable) par l'utilisation de la table de MAC GRADY pour obtenir le nombre de coliformes totaux présent dans 100 ml d'eau.

✚ Test de confirmation :

Prélever aseptiquement à partir des tubes BCPL positifs, 3 à 4 gouttes qui sont repiqués sur milieu Schubert pourvu d'une cloche de Durham après homogénéisation, les tubes sont incubés à 44°C pendant 24h.

✚ Lecture :

Après incubation, on sélectionne les tubes présentant un trouble du milieu et dégagement de gaz qu'on additionne de 3-4 gouttes de réactif de Kovacs.

- Lorsqu'un anneau rouge apparaît, le test est considéré comme positif, traduisant l'existence de coliformes fécaux, précisément E.Coli.

- Le dénombrement se fait selon la table de NPP qui correspond au nombre des germes dans 100ml.

✚ Remarque :

Etant donné que les coliformes fécaux font des coliformes totaux, il est pratiquement impossible de trouver plus de coliformes fécaux que des coliformes totaux.

❖ Normes :

Méthode officielle.

9- Recherche des Streptocoques fécaux dans l'eau :

❖ But :

La recherche et le dénombrement des *streptocoques fécaux* dans l'eau à pour but de destiner une contamination fécale de l'eau.

❖ Mode opératoire :

D'après « **RODIER, 1996** » ; la recherche et le dénombrement sont réalisés en deux tests :

✚ Test de présomption :

Ensemencer successivement :

- un flacon de milieu Rothe (50ml), D/C par 50ml d'eau à analyser.
- 5 flacons de milieu Rothe, D/C par 10ml d'eau à analyser.

Incuber les tubes à 37°C pendant 24h.

- **Lecture :**

Les tubes présentent un trouble microbien après l'incubation, sont considérés comme positifs.

- **Test de confirmation :**

A partir des tubes positifs, on transfère à l'aide d'une pipette stérile 3 à 4 gouttes sur milieu Eva litsky.

Incuber les tubes à 44°C pendant 24h.

- **Lecture :**

Les tubes présentent une pastille violette au fond de tube avec un trouble microbien ; sont considérés comme positifs, donc présence des *streptocoques fécaux*.

- **Normes :**

Méthode officielle.

10-Recherche et dénombrement des spores de Clostridium Sulfite-réducteurs dans l'eau de procès :

- **But :**

Déterminer la qualité microbiologique d'une eau de procès, les C.S.R sont souvent considérés comme témoins d'une pollution fécale. La forme spore beaucoup plus résistante que les formes végétatives des coliformes fécaux et les streptocoques fécaux permettraient ainsi, de détecter une pollution fécale ancienne. (RODIER, 1996)

- **Principe:**

Ce sont des bactéries rencontrées dans le sol, les eaux d'égouts et l'intestin, elles peuvent contaminer et dégrader le sulfite en sulfure dans les produits alimentaires. (GUIRAUD, 1998).

- **Mode opératoire :**

- **Préparation du milieu :**

- Faire fondre un flacon de gélose viande - foie (VF).
- Le refroidir à 45°C.
- Ajouter aseptiquement une ampoule de fer et une ampoule de sulfite de Sodium dans les mêmes conditions.
- Mélanger bien.
- Puis maintenir le flacon dans une étuve 45°C jusqu'au moment d'utilisation.

- **Ensemencement :**

- Introduire un flacon de 180 ml d'eau (stériles)
- Chauffer à 80°C pendant 10 mn.
- Refroidir brutalement sous l'eau de robinet.
- Répartir dans 04 tubes à raison de 5 ml par tube et dans un tube 1 ml.
- Ajouter environ 15 ml de gélose VF liquéfiée et refroidie à 45°C.
- Laisser solidifier.
- Puis incuber à 37°C pendant 24-48 h.

- ❖ **Lecture :**

Sont considérés comme positifs, les tubes qui renferment des colonies noires de spores de C.S.R, on compte des colonies dans chaque tube et la somme des colonies présente le nombre finale de spores de CSR/20 ml et CSR/1 ml.

- ❖ **Normes :**

Méthodes officielle.

4-4- Analyses Physico-chimiques :

A-Matière Première et Produit Fini :

Chaque prélèvement doit comporter trois échantillons dont les paramètres suivants ont été déterminés :

1-Détermination de l'extrait sec :

- ❖ **Définition :**

L'extrait sec c'est la proportion de matière sèche entrent dans la composition des aliments et qui subsister après totale dessiccation à l'étuve ($103^{\circ} \pm 1$ pendant plusieurs heures). Sert à définir différents types de fromage. (LUQUET, 1981)

- ❖ **Principe :**

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

- ❖ **Mode opératoire :**

- ✚ **Pour la poudre de lait :**

Dans la coupelle d'aluminium stérile sèche et taré, on pèse 2g de poudre de lait puis l'introduire dans l'étuve à 103°C pendant 3heures.

✚ Pour le fromage :

Dans la coupelle d'aluminium stérile sèche et taré, on pèse 3g de fromage et étuvé à 103°C pendant 5 heures.

✚ Pour le beurre :

✚ Dans la coupelle d'aluminium stérile sèche et taré, on pèse 5g de fromage et étuvé à 103°C pendant 5 heures.

On met ensuite la coupelle dans le dessiccateur en verre pendant 45min afin qu'il se refroidisse et pour l'absorption des traces d'eau par le gel de silice.

❖ Calcule et expression des résultats :

L'extrait sec est exprimé en % massique, est égale à :

$$\frac{(M_1 - M_0)}{(M_2 - M_0)} \cdot 100$$

M_0 : masse en gramme de la coupelle.

M_1 : masse en gramme de la coupelle et du résidu après dessiccation.

M_2 : masse en gramme de la prise d'essai.

❖ Normes :

« V 04-207 septembre 1970 ».

2-Détermination de l'humidité :

La teneur en eau, appelée aussi **taux d'humidité** ; s'exprime en pourcentage de masse de produit, elle est déterminée selon la réaction suivant :

$$H\% = 100 - EST$$

3-Détermination de matière grasse :

❖ Définition :

La matière grasse proprement dite, ou lipides neutres, constituée de glycéride ou acylglycérols est très prédominant : 98%, elle est solide à température ambiante (c'est une grasse) ; elle est presque entièrement libre et se trouve en fin dispersion dans les globules grasse (CHARLES ALAIS, 2003).

❖ Principe :

Son principe est l'attaque par l'acide sulfurique, les matières grasses qui sont dissoutes libérant, et la séparation par centrifugation (1110tours/min) en présence d'alcool iso-amylque.

❖ Mode opératoire :

✚ Pour la poudre de lait :

- Dans un Butyromètre, on introduit 10ml d'acide sulfurique de densité 1,825.
- Ajouter 10ml d'eau distillé, 2,5g de poudre de lait, et 1ml d'alcool iso-amylque.
- Fermer le Butyromètre avec un bouchon sec et propre.
- Le Butyromètre est ensuite déposé dans un Bain Marie à température 65°C pendant 5min.
- Centrifuger à 1110tours/min pendant 10min.
- Après centrifugation, on plonge le Butyromètre verticalement, bouchon en Bas dans le Bain Marie (65°C) et on laisse 5min.
- Lire la valeur de la MG sur le tube de Butyromètre.

✚ Pour le fromage :

- Dans un Butyromètre, on introduit 10ml d'acide sulfurique de densité 1,522.
- On ajoute 3g de fromage, par la suite on agit le Butyromètre avec précaution mais énergiquement et rapidement.
- Mettre le Butyromètre dans le Bain Marie à 65°C pendant 45min jusqu'à avoir un fondu de fromage.
- On ajoute 1ml d'acide sulfurique jusqu'à atteindre 40% du Butyromètre et 1ml d'alcool iso-amylque.

- Le remettre dans le Bain Marie pendant 5min après une bonne agitation.
- On centrifuge 10min à une vitesse de 1030tours/Seconde.
- Remet dans le Bain Marie à 65°C pendant 5min et on fait la lecture.

✚ Pour le beurre :

- Peser dans un godet de Butyromètre préalablement taré 5g de beurre.
- Introduire le godet contenant la prise d'essai dans le Butyromètre et fixe le bouchon.
- Ajouter délicatement et dans l'ordre (pour éviter l'attaque rapide) : 10ml d'acide sulfurique de densité 1,820 ; puis 1ml d'alcool iso-amylque.
- Ajuster le niveau par l'eau distillé jusqu'à la graduation 85 (cette opération dépend du modèle du Butyromètre).
- Boucher le Butyromètre et opérer des retournements successifs (toujours délicatement) jusqu'à dissolution complète de beurre.
- Centrifuger le Butyromètre pendant 10min dans Centrifugeuse Gerber.
- Sertir le Butyromètre, faire si nécessaire un première ajustement de la colonne de la matière grasse et le placer au Bain Marie à 65°C.
- Après 5min, on procède à la lecture (le plus rapidement que possible, 10secondes), si non plonger le Butyromètre dans le Bain Marie et attendre de nouveau 5min.

❖ Calcule et expression des résultats :

On maintien le Butyromètre verticalement et on fait la lecture rapidement : (le résultat est exprimé en % massique).

$$MG = B - A$$

B : la valeur de MG lue sur l'extrémité supérieur de Butyromètre.

A : la valeur de MG lue sur l'extrémité inférieur de Butyromètre.

❖ Calcule du rapport G/S :

La teneur en matière grasse dans la matière sèche exprimé en gramme, pour 100g de matière sèche est donnée la formule suivante :

S : matière sèche

$$R = G/S \times 100$$

R : rapport.

G : matière grasse.

❖ Normes :

-AFNOR V 04-210 Décembre 1971, pour la poudre de lait.

-AFNOR 2706-1992 pour les fromages.

4-Détermination du PH :

❖ Définition :

C'est le potentielle chimique des ions dans une solution, il est mesuré à l'aide d'une PH-mètre, il est équipé par une sonde de température et une sonde de PH.

❖ Principe :

Le principe repose sur la différence de potentielle chimique entre une électrode de verre et une électrode de référence plongeant dans une même solution, le potentielle de l'électrode est lie à l'activité des ions H.

❖ Mode opératoire :

Etalonner le PH-mètre en plongeant l'électrode dans une solution tampon, puis l'introduire dans l'échantillon à analyser, attendre jusqu'à la stabilité du PH et lire la valeur affichée.

❖ Préparation de la matière première :

-Pour la poudre de lait, on pèse 3g dans 30ml d'eau distillé.

-Pour le Cheddar, on pèse 10g dans 50ml d'eau distillé.

❖ Normes : « Méthode Officielle ».

B- Les analyses physico-chimiques de l'eau :**1-Détermination du titre alcalimétrique :****❖ Norme :**

« AFNOR T 90-501 et T 90-506 ».

❖ Définition :

Le titre alcalimétrique ou TA mesure la teneur de l'eau en alcalis libre et en carbonates alcalins caustiques (**RODIER, 2005**).

❖ Mode opératoire :

Dans un bêcher de 200ml versés 100ml d'eau à analyser, ajouter 2 gouttes de phénophtaléine, une coloration rose doit se développer.

Dans le cas contraire (pas de coloration) TA=0, ce produit en général pour les eaux naturelles dont le PH est inférieur à 8,3.

Verser ensuite doucement l'acide à l'aide d'une burette, en agitant constamment et ceci jusqu'à décoloration complète de la solution.

❖ Expression des résultats :

-Si on n'a pas coloration : TA=0.

-Si non V exprime le titre alcalimétrique en degré français (°F), avec V : le volume nécessaire pour décoloration de la solution.

-On à $V/5$ exprime le titre alcalimétrique en milliéquivalent g/l.

2-Détermination du titre alcalimétrique complet (TAC) :**❖ Norme :**

« AFNOR T 90-501 et T 90-506 ».

❖ Définition :

Le titre alcalimétrique complet ou TAC correspond à la teneur de l'eau en alcalis libéré, carbonates et hydrogénocarbonates (**RODIER, 2005**).

❖ Mode opératoire :

Utiliser l'échantillon traité précédemment, ou s'il n'y a pas eu coloration, ajouter 2 gouttes de méthylorange de nouveau avec le même acide, vous titrez jusqu'à virage du jaune au jaune orange (PH=4,3). S'assurer qu'une goutte d'acide provoque le passage du jaune orange au rouge orange (PH=4).

3-Détermination du titre hydrométrique (TH) :**❖ Norme :**

« AFNOR T 90-501 et T 90-506 ».

❖ Définition :

Le titre hydrométrique est sur le titrage par complexométrie du Ca et Mg avec une solution aqueuse de sel désodique d'acide éthylène-diamine tétra-acétique (EDTA), solution de PH= 10, indicateur coloré noir donne une couleur rouge foncée ou violette en présence des ions de Calcium et de Magnésium.

Lors de titrage, l'EDTA réagit d'abord avec les ions Ca et Mg libérées en solution, puis au point d'équivalent avec les ions Ca et Mg combinés. Ce dernier est libéré et provoque un changement de couleur de violet au bleu.

Pour manipuler, on a besoin d'une solution tampon PH=10, EDTA : 0,02N est un indicateur coloré (noir erichrome).

❖ Mode opératoire :

Dans un bêcher de 200ml, on introduit 100ml d'eau d'analyser puis on ajoute 10ml de solution tampon (K10) et 2 gouttes de l'indicateur coloré noir erichrome. La solution se colore en violet, on titre ensuite avec l'EDTA tout en agitant constamment jusqu'au virage du violet au bleu.

❖ Expression des résultats :

$$\text{TAC} = V \text{ (}^\circ\text{F)}$$

Soit **V** : le volume nécessaire à la titration, donc la dureté totale est exprimé en degrés français (°F).

4-Détermination de chlorure Cl^- :

❖ **Norme :**

« AFNOR T 90-501 et T 90-506 ».

❖ **Définition :**

On entend par le chlorure l'ensemble de chlore sous la forme Cl^- ou Na Cl en solution.

❖ **Mode opératoire :**

Dans un bêcher, on introduit 100ml d'eau à analyser puis on ajoute 10 gouttes de bichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_4$) à 10%, on titre avec la solution de nitrate d'argent (Ag NO_3). À 0,1 jusqu'au virage du jaune au rouge brique.

❖ **Expression des résultats :**

Pour la prise d'essai de 100ml.

$$\text{Cl}^- = V \times 10 \times 35,5$$

V : le volume nécessaire pour le titrage.

Les chlorures sont exprimés en mg Cl^- /L d'eau (mg).

5-Détermination du chlore libre

❖ **Norme :**

« AFNOR T 90-501 et T 90-506 ».

❖ **Définition :**

Le chlore libre Cl_2 est l'association de deux molécules de chlore Cl pour donner une substance active de chlore.

❖ **Mode opératoire :**

-Remplir les tubes avec l'échantillon jusqu'à la marche adéquate 10ml, on ajoute après les partis de DPD.

-On place le tub traité sur le coté droit du compartiment, puis on place un deuxième tube ne contenant l'eau à analyser sur le coté gauche afin de tenir compte de la couleur éventuelle de l'échantillon.

-En position face à une de lumière blanche et on fait tourner le disque jusqu'à l'obtention de deux couleurs identiques.

❖ **Expression des résultats :**

Le résultat est apparait directement dans le trou sur le devant de la boîte.

6-Détermination de PH :

❖ **Mode opératoire :**

La détermination de PH se fait à l'aide d'un PH-mètre électronique.

C-analyse organoleptique :

❖ **Objectif:**

L'objet de cette analyse organoleptique est de pouvoir compléter les résultats des analyses physico-chimiques et microbiologiques afin de mieux apprécier la qualité du produit étudié (produit semi-fini et fini).

✚ Il faut noter que notre produit doit présenter les caractéristiques suivantes :

- Couleur (crème).
- Odeur (moyen).
- Goût (doux)
- Langueur en bouche (moyenne).
- Texture (consistant)

✚ Cette étape de notre expérimentation a été effectuée au niveau de l'entreprise, nous avons présenté nos échantillons au jury de consommation composé de 08 personnes.

-Pour l'expression des résultats, nous sommes basés sur la fiche de dégustation établie par l'unité.

4-5-Détermination de dosage de la vitamine A (par HPLC):

4-5-1-Laboratoire et Equipement :

La plus part des vitamines sont sensibles à la lumière et certains s'oxydent très rapidement. Par conséquent, il faut éviter la lumière directe ou une lumière intense. La meilleure lumière artificielle est fournir par les tubes fluorescents jaune doré.

Dans certains cas, les différents étapes d'un protocole doivent être exécutées en utilisant de la « **Verrerie Ambrée** » pour éviter la dégradation. Puisque la chaleur favorise l'isomérisation ou une modification supplémentaire des vitamines ; il faut donc faire attention à ce que l'évaporation des solvants soit effectuée de la manière la plus douce possible, en utilisant un équipement adéquat tel un évaporateur rotatif, un bon contrôle de la température du bain marie, un refroidissement adéquat, des réfrigérants efficaces et un vide optimal. (**CLAUDE BOURGEOIS, 2003**).

4-5-2 –objet et champ d'application:

La présente méthode a pour objet de doser le rétinol (vitamine A) dans les aliments secs ou humides pour la détermination de la vitamine A en vitamine A sous-produits. La vitamine A doit être extractible sans la nécessité d'une saponification.

4-5-3 - principe de la méthode:

La vitamine A est libérée de la matrice dans de l'eau au moyen de chaleur. Par la suite, la vitamine A est extraite avec du n-heptane pendant que la matrice est précipitée par l'éthanol. L'extrait est analysé par HPLC en phase normale.

4-5-4 - procédure d'analyse:

4-5-4 -1 - Les produits chimiques et réactifs:

- La vitamine A standard.
- Ethanol 99, 9%.
- n-Heptane, de qualité HPLC.
- BHT.
- Amylique.
- 7-déhydrocholestérol (sigma).
- Norme CRS-performance.

4-5-4 -2- Test d'aptitude du système:**Solution A:**

Peser environ 0,030 g 7-déhydrocholestérol, dans une fiole jaugée de 250 ml et diluer le volume avec du n-heptane. Remuer sur un agitateur magnétique pendant 60min. Transfert 3 ml de la solution à une fiole jaugée de 25 ml et diluer au volume avec du n-heptane.

Solution B:

Norme 1mL CRS performance dans 5 ml d'heptane. Cette solution est chauffée au bain de sable en 45 minutes avec le reflux.

Solution C:

Le solvant organique dans la solution B est évaporé sous un flux de N_2 et le résidu est redissolvé dans 7 ml de la solution A (7-déhydrocholestérol). Solution C est SST-solution.

4 5-4 -3 Préparations standard:**Solution D-Stock:**

Peser environ 0,0750 g de vitamine A standard de 100 fiole jaugée ml et ajouter une pincée de BHT. Diluer dans le n-heptane et ajouter n-heptane de volume. La solution D-Stock doit être fraîchement préparée chaque fois.

Solution intermédiaire:

Transférer 6,0 ml solution D dans une fiole jaugée de 50 ml et diluer au volume avec du n-heptane. La solution intermédiaire doit être fraîchement préparée chaque fois.

Solution standard:

Transférer la solution intermédiaire de 5,0 ml à une fiole jaugée de 25 ml et diluer au volume avec du n-heptane. Transférer l'ensemble de cette solution dans un Erlenmeyer avec bouchon et ajouter 10 ml d'eau et 15 ml de 99,9% d'éthanol purifié. Remuer sur un agitateur magnétique pendant 10 minutes.

4 5-4 -4 Préparation des échantillons:

Peser l'échantillon (voir tableau ci-dessous) dans une fiole Erlenmeyer de 100 ml avec un bouchon. Ajouter de l'eau purifiée 10ml, appliquer bouchon et de la chaleur sur le bain d'eau à 40 ° C pendant 10 minutes. Refroidir et ajouter 25,0 ml de n-heptane, quelques grains de BHT et 15ml 99, l'éthanol de 9%. Remuer sur un agitateur magnétique pendant 10 minutes (800 rpm).

Si L'émulsification se produit dans le prolongement de ce qui précède, ajouter 1,0 ml de NaCl saturé solution et remuer pendant 5 minutes. Sur un agitateur magnétique. Normes restent inchangées. Laisser le ballon en attente jusqu'à ce que les phases de séparation et ensuite tirer un échantillon pour CLHP de la phase heptane.

Teneur en vitamine A de l'échantillon (UI / g)	<15,000	15-50,000	50-500,000	>500,000
Poids de l'échantillon	0,8000g	0,5000g	0,2000g	0,1000g

4 5-4 -5 L'analyse par HPLC:

Gel de silice sphérique de la colonne.	3 µm 250mm × 4,6 mm. par exemple Grom-Sil
Phase Mobile	0,5% (v / v) d'alcool amylique mobile dans le n-heptane
Débit	2,0 ml / min
Détection	UV 265 nm, PDA-scan
Injection	vol 50 pi
Durée	20min, pour la vitamine A
Chromatogramme	voir l'annexe A et B, C

Une analyse HPLC permet la séparation de composés en solution élués à travers une colonne chromatographique à l'aide d'une phase mobile liquide, elle-même percolée grâce à une pression élevée. Il existe une réelle interaction triple entre L'analyte, la phase stationnaire et la phase mobile basée sur l'affinité physicochimique entre les trois (MARCOZ, 2003).

A/ -Principe

La phase mobile parcourt un tube appelé colonne, cette colonne peut contenir des granules poreux (colonne remplie) ou être recouverte à l'intérieur d'un film mince (colonne capillaire). Dans les deux cas, la colonne est appelée phase stationnaire (ANONYME. C, 2006).

Le mélange à séparer est injecté à l'entrée de la colonne où il se dilue dans la phase Mobile qui l'entraîne à travers la colonne, ce mélange doit être poussé à haute pression afin d'assurer un débit constant dans la colonne et y éviter toute perte de charges (ANONYME. F, 2007).

Si la phase stationnaire a été bien choisie, les constituants du mélange appelés Généralement les solutés, sont inégalement retenus lors de la traversée de la Colonne (ANONYME. C, 2006).

De ce phénomène appelé rétention il résulte que les constituants du mélange injectés se déplacent tous moins vite que la phase mobile et que leurs vitesses de Déplacement sont différentes. Ils sont ainsi élués de la colonne les uns après les autres et donc séparés (ANONYME. C, 2006). Chaque soluté est donc soumis à une force de rétention (exercée par la phase stationnaire) et une force de mobilité (due à la phase mobile) (ANONYME. C, 2006), (PANAIVA, 2006).

Un détecteur placé à la sortie de la colonne couplé à un enregistreur permet d'obtenir un tracé appelé chromatogramme, en effet, il dirige sur un enregistreur un signal constant appelé ligne de base en présence du fluide porteur seul ; au passage de chaque soluté séparé, il conduit dans le temps à l'enregistrement d'un pic (ANONYME. C, 2006).

Dans des conditions chromatographiques données, le "temps de rétention" (temps au bout duquel un composé est élué de la colonne et détecté), caractérise Qualitativement une substance. L'amplitude de ces pics, ou encore l'aire limitée par ces pics et la prolongation de la ligne de base permet de mesurer la concentration de chaque soluté dans le mélange injecté (ANONYME. C, 2006).

Le principe est donc d'exploiter les interactions entre les solutés et les deux phases (mobile et stationnaire) pour séparer ces solutés en fonction de leurs affinités et ainsi de les identifier et ou de les doser (PANAIVA, 2006).

La chromatographie liquide haute performance classique fait intervenir des Mécanismes d'échange soluté, phase mobile et phase stationnaire, basés sur les Coefficients de partage ou d'adsorption selon la nature des phases en présence (ANONYME. F, 2007), (MARCOZ, 2003).

B/- Instrumentation

SELON ANONYME. E (2007), dans tous les appareils de chromatographie liquide haute performance, on retrouve un ensemble de modules reliés entre eux par des tubes de faible diamètre :

- un ou plusieurs réservoirs de phase mobile
- une ou plusieurs pompes
- un système d'injecteur
- des colonnes
- un ou plusieurs détecteurs
- et un ordinateur (enregistreur)

Ces modules sont illustrés sur la figure 4.

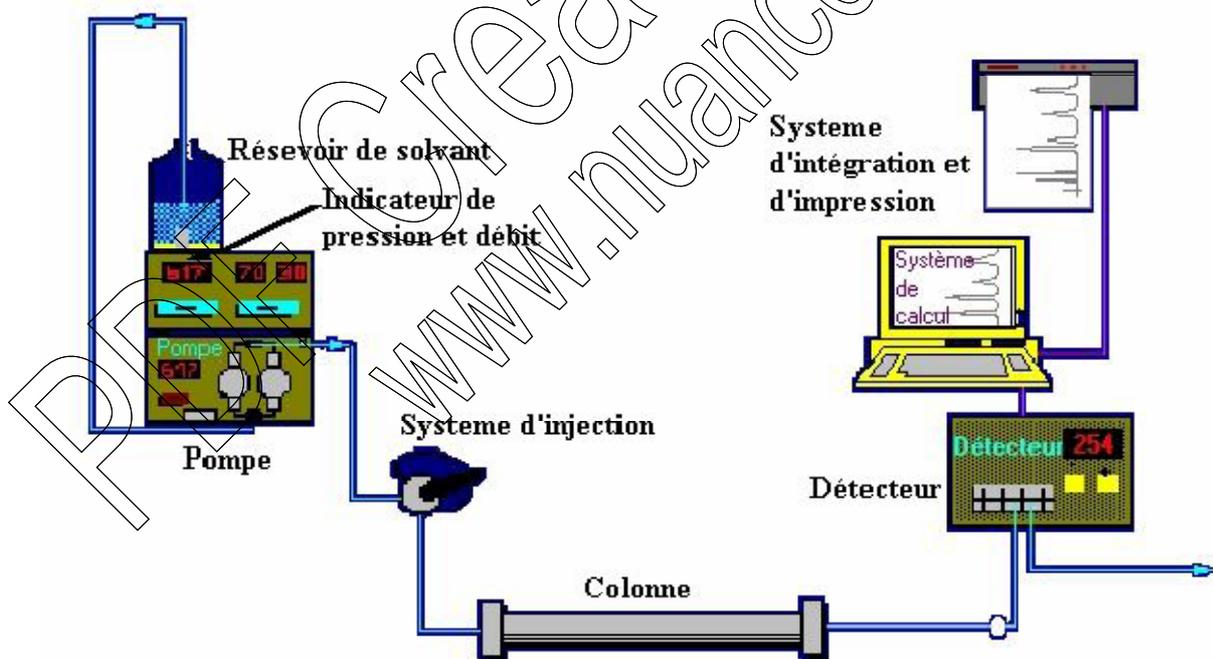


Figure n° 3 : instrumentation de l'HPLC (ANONYME. D, 2007)

4-5-5 – Mode de calcul :**4-5-5 -1- Calcul de la teneur en vitamine A:**

La teneur en vitamine A dans l'échantillon est calculé selon l'équation ci dessous:

$$\frac{(A_s \times W_{st} \times V_s \times C)}{(A_{st} \times W_s \times V_{st})} \quad \text{(IU de vitamine A / g)}$$

.**As** = aire du pic de la vitamine A (A pré-facteur de conversion x + cis-A) dans l'échantillon.

.**Ast** = aire du pic de la vitamine A (A pré-facteur de conversion x + cis-A) dans la norme.

.**Ws** = poids de l'échantillon en grammes.

.**Vst** = poids de l'échantillon en grammes.

.**Vs** = volume final (ml) de l'échantillon. **Vst** = volume final (ml) de la norme (facteur de dilution).

.**C** = Puissance de la norme en IU de vitamine A / g.

4-5-6– Analyse statistique :

Chaque analyse est effectuée en 02 répétitions. Les résultats sont exprimés par les tableaux des analyses des variances. Le Logiciel utilisé est STAT ITCF version 4.

Les résultats ont été comparés par le test de NEWMAN-KEULS, avec un seuil de signification de $\alpha = 0.05$.

I-Résultats et interprétations des analyses microbiologiques:

1. L'eau de Process :

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

Tableau N°15: Résultat et interprétation microbiologique de l'eau de Process.

Germe recherché	Echa					Norme de JORA 27-05-1998
	1	2	3	4	5	
Germe aérobie à 37°	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	≤ 20
Germe aérobie à 22°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	≤ 10 ²
Coliforme Totaux à 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	≤ 10
Coliformes fécaux à 44°	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
Streptocoques fécaux à 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
C.S.R.à37°C/1 ml	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
C.S.R.à37°C/20ml	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Abs : Absence

Interprétation :

On remarque l'absence totale de tous les germes recherchés et ces résultats sont conformes aux normes établies par le J.O.R.A (1998), donc l'eau utilisée dans la fabrication du fromage fondu est de bonne qualité microbiologique, ce qui nous permet de constater que l'eau de Process :

- Subit des traitements efficaces.
- Présence d'une station de traitement des eaux qui répond aux critères d'hygiène

2. Poudre de lait :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N°16 : Résultat et interprétation microbiologique de la poudre de lait.

Echa Germe Recherché	1	2	3	4	5	Norme du JORA 27-05-1998
Germe aérobies totaux à 30°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	2x10 ⁵
Coliforme Totaux à 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	≤ 01
Coliformes fécaux à 44°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	≤ 05
C.S.R à 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Abs : Absence.

Interprétation :

D'après les résultats illustrés dans le tableau ci-dessus on remarque l'absence totale de tout les germes donc on conclue que la qualité de poudre de lait utilisée par l'unité « Groupe Industrielle Goumidi » est satisfaisante et cela est due à la maîtrise des conditions de stockage par des personnels compétents ce qui a conduit à une bonne conservation des matières premières.

3- Beurre :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° 17: Résultat et interprétation microbiologique du beurre.

Echa Germe Recherché	1	2	3	4	5	Norme du JORA 27-05-1998
Germe aérobies totaux à 30°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ²
Coliforme Totaux à 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Coliformes fécaux à 44°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
S. aureus à 37°	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Levure et moisissures à 22°	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Abs. Absence.

Interprétation :

D'après les résultats mentionnés dans le tableau ci-dessus on remarque l'absence totale de tout les germes ce qui reflète la bonne qualité microbiologique du beurre utilisé dans la fabrication de notre fromage ce qui montre que cette matière première est bien conservée au niveau de l'unité.

4. Cheddar :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N°18: Résultat et interprétation microbiologique du cheddar.

Germe Recherché	Echa	1	2	3	4	5	Norme du JORA 27-05-1998
Germe aérobies totaux à 30°C		Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	< 3000g
Coliforme Totaux à 37°C		Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	< 10 ³
Coliformes fécaux à 44°C		Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
S. aureus à 37°		Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ²
Levure et moisissures à 22°		Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ³
C.S.Rà37°C		Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	01

Abs : Absence.

Interprétation :

D'après les résultats obtenus on remarque l'absence de tous les germes responsable d'altération et de la contamination du cheddar. Donc on conclue que le cheddar représente une bonne qualité microbiologique, ce qui explique que cette matière première a été bien stockée et conservée au niveau de l'entreprise.

5. Produit semi-fini : (après UHT)

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° 19: Résultat et interprétation microbiologique du produit semi-fini.

Echa Germe Recherché	1	2	3	4	5	Norme du JORA 27-05-1998
Germe aérobies totaux à 30°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	< 3000g
Coliforme Totaux à 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ²
Coliformes fécaux à 44°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
S. aureus à 37°	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ²
Levure et moisissures à 22°	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ³
C.S.Rà37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	01

Abs : Absence.

Interprétation :

D'après les résultats notés dans le tableau ci-dessus et comparés avec les normes du J.O.RA (1998), on remarque l'absence totale de tous les germes dans l'échantillon a analysé.

Donc le produit semi-fini est de bonne qualité microbiologique, ce qui explique que les matières première utilisés par l'entreprise est de bonne qualité microbiologique et le travail a été fait dans de bonnes conditions d'hygiènes et même le cuiteur il est bien nettoyé et cela due encore à l'efficacité du traitement utilisé (UHT).

6. Produit fini :

Tableau N° 20 : Résultat et interprétation microbiologique du produit fini.

Echa Germe Recherché	1	2	3	4	5	Norme du JORA 27-05-1998
Germe aérobies totaux à 30°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	< 3000g
Coliforme Totaux à 37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ²
Coliformes fécaux à 44°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
S. aureus à 37°	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Levure et moisissures à 22°	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10 ³
C.S.Rà37°C	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	01

Abs: Absence.

Interprétation :

D'après les résultats d'analyse présente dans le tableau ci-dessus on remarque l'absence totale des germes dans les 05 échantillons.

Donc le produit fini (fromage fondu) est de bonne qualité microbiologique, donc l'entreprise à respecter toutes les règles et conditions de fabrication.

II. Résultats et interprétations des analyses physico-chimiques :

1. L'eau de Process :

Tableau N° 21: Résultat et interprétation physico-chimique de l'eau de Process.

Echa Paramètre	1	2	3	4	Moyenne	Norme de l'entreprise
PH	7,24	7,29	7,41	7,32	7,31	6-8
TA (F°)	00	00	00	00	00	00
TAC (F°)	26	25,8	22,3	29	25,77	<50
TH (F°)	27	30	35	32	31	>60
Chlorure (mg/l)	57	60	55	51	55,75	Max 200 mg/l

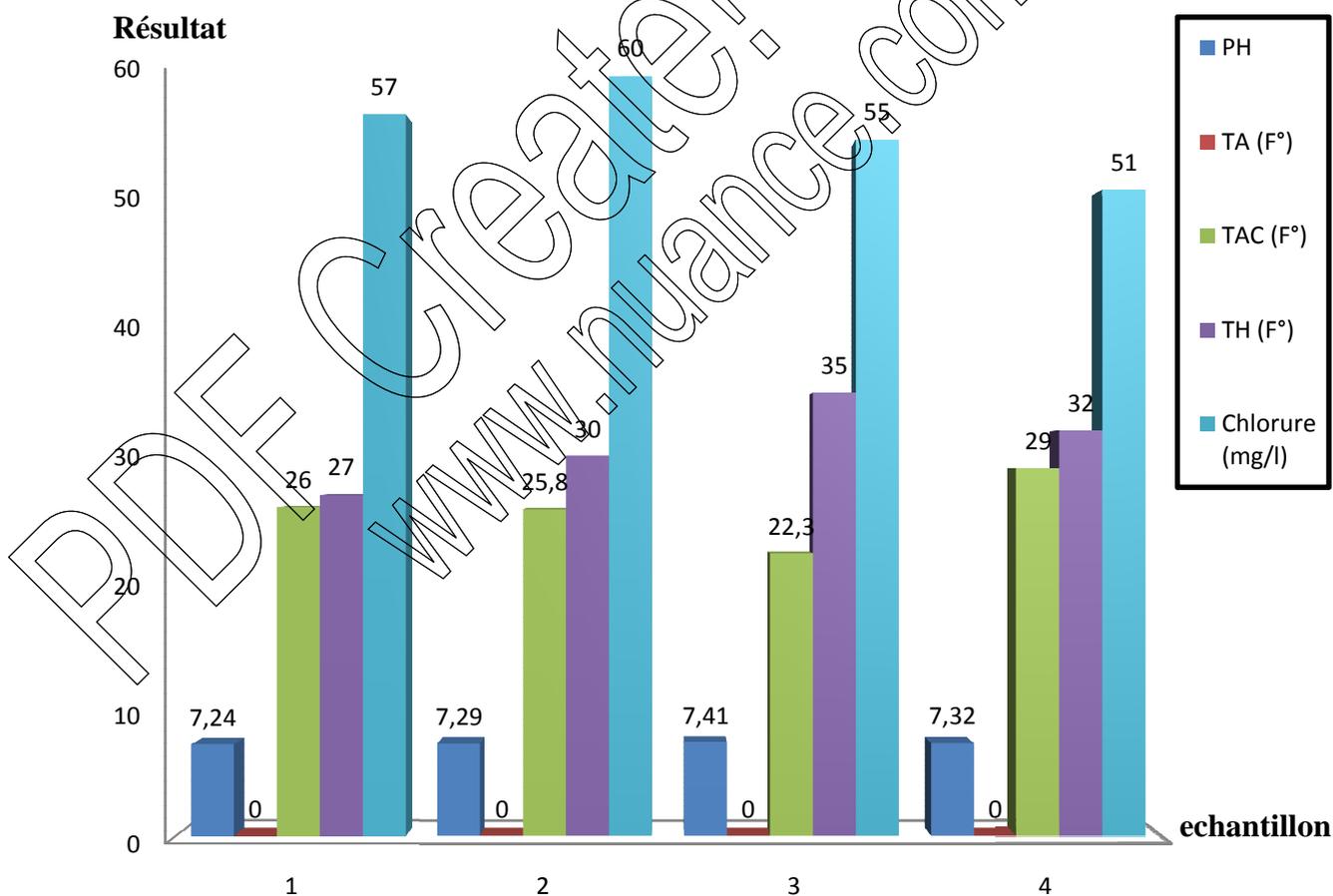


Figure n°4 :Résultat Physicochimique de l'eau de process.

Interprétation :

D'après les résultats des analyses physico-chimique de l'eau de fabrication on remarque que :

- Le pH de l'eau de fabrication est légèrement alcalin (pH=7.31), il est conforme aux normes.
- Le (titre alcalimétrique) TA = OF° est conforme aux normes édictées par l'entreprise (absence de hydrates et des carbonates).
- TAC (titre alcalimétrique complet) < aux normes et cela indique que la teneur de bicarbonate est faible donc l'eau légère ou douce.
- TH (titre hydrométrique) est conformes aux normes donc le TH et TAC jouent un rôle important dans la qualité organoleptique de l'eau).
- Le chlorure est conforme aux normes ce qui explique que cette eau a été bien traité (chloration. Décoloration) donc l'eau utilisée est de bonne qualité physico-chimique.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

2. Poudre de lait :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° 22: Résultat et interprétation physico-chimique de la poudre de lait.

Paramètre	1	2	3	4	Moyenne	Norme de l'entreprise
PH	6,82	6,75	6,66	6,71	6,73	6.15-6.9
Humidité (%)	2,50	2,42	2,67	2,55	2,53	2-5
M.G (%)	26,65	27,45	26,82	25,88	26,7	26-28

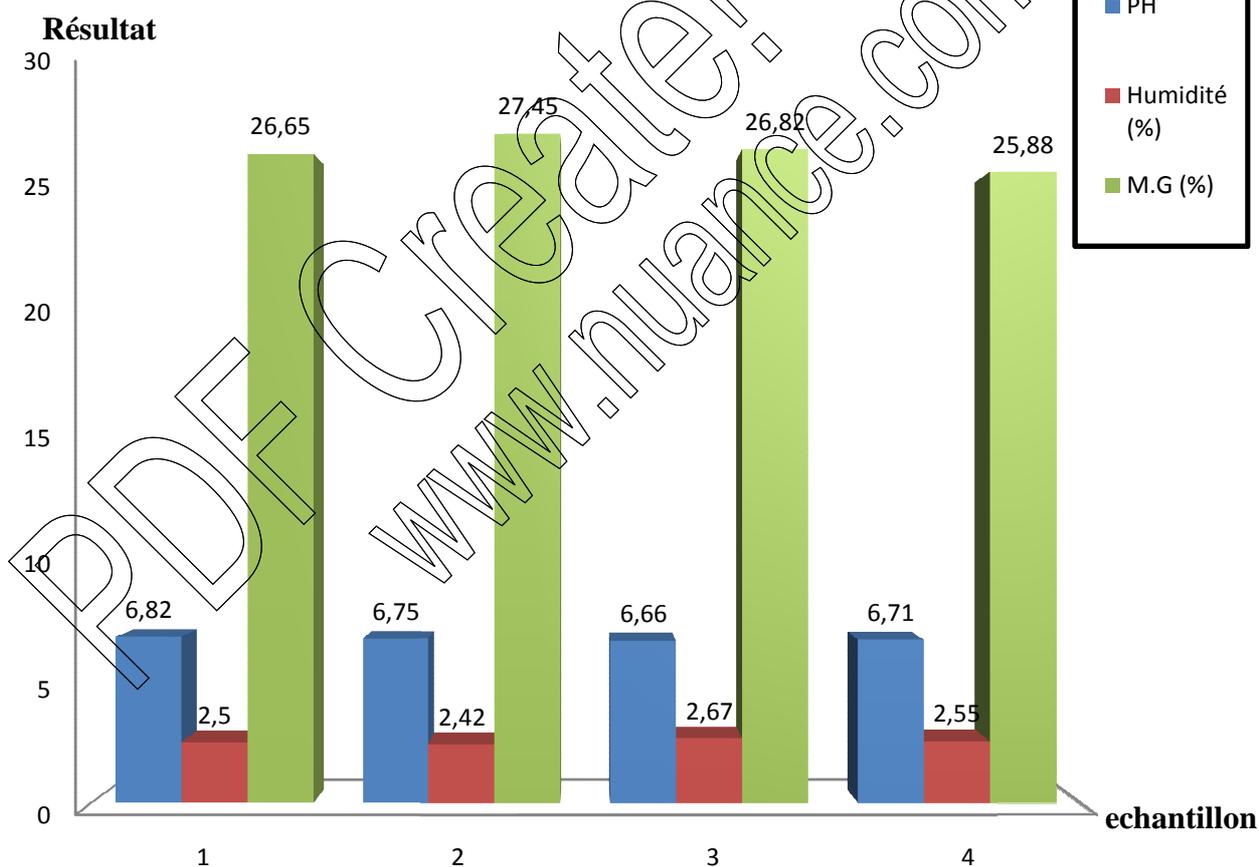


Figure n° 5: Résultat Physicochimique de la poudre de lait.

Interprétation :

Pour la poudre de lait utilisée pour la fabrication de fromage fondu OKID'S, on voit qu'il a un PH moyennement basique. La teneur en MG est de 26.7%, cela peut être dû probablement à l'utilisation d'un lait demi-écrémé pour la fabrication de cette poudre et le même trouvé par **DIMITRELI ET THOMAREIS, (2007)**.

D'après les résultats obtenus on remarque que le pH est conforme aux normes édictées par l'entreprise :

-L'humidité de la poudre de lait est conforme aux normes donc l'entreprise à respecter les conditions de stockage (20°C).

-M.G est conformes aux normes, donc on constate que la poudre de lait est de bonne qualité physico-chimique.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

3-Beurre :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° 23: Résultat et interprétation physico-chimique du beurre.

Echa Paramètre	1	2	3	4	Moyenne	Norme de l'entreprise
PH	4,7	4,6	4,9	4,3	4,62	Max 6
Humidité (%)	14,25	14,59	14,32	15,12	14,57	16%
M.G (%)	84,5	84,5	84,5	84,5	84,5	82%

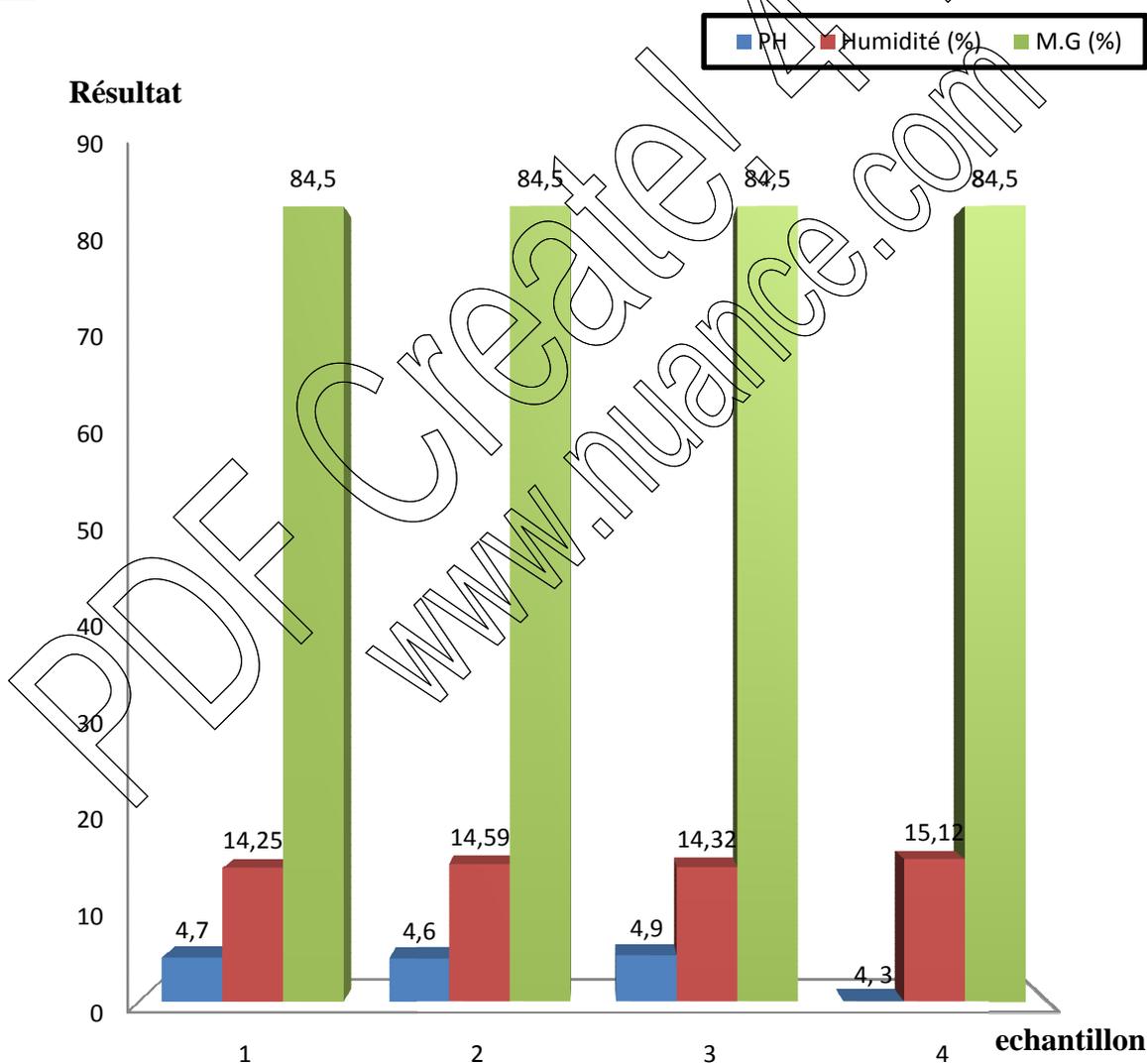


Figure n°6 :Résultat Physicochimique du Beurre

Interprétation :

Le beurre utilisée pour la fabrication de fromage fondu OKID'S, a un PH acide. La teneur en matière grasse et l'EST sont les obtenus pour le beurre utilisée **Buika et al, (2009)** pour la fabrication de fromage fondu.

D'après les résultats présent dans le tableau ci-dessus on remarque que la valeur du pH et d'humidité sont conformes aux normes ce qui reflète :

- le respect des conditions de stockage.
- La teneur en M.G est légèrement supérieure à la norme ce qui peut être expliqué par des erreurs de manipulation lors de barbage du beurre.

Remarque :

Le beurre et le cheddar utilisé par l'entreprise présentent les même caractéristiquement représentées par la fiche technique qui accompagne et cela veut dire que l'entreprise à respecter les bonnes conditions de stockage (4°C) ainsi qu'il n'a pas provoqué de changement au fil du temps.

4. Cheddar :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° 24: Résultat et interprétation physico-chimique du cheddar.

Echa Paramètre	1	2	3	4	Moyenne	Norme de l'entreprise
PH	5.82	5.72	5.70	5.74	5,74	5.2-6.2
Humidité (%)	37.6	38,9	38.4	39.1	38,50	36-40
M.G (%)	35.4	34.9	36.2	35.5	33,75	30-37
EST(%)	63,45	64.34	65.40	64.20	64,34	60-66

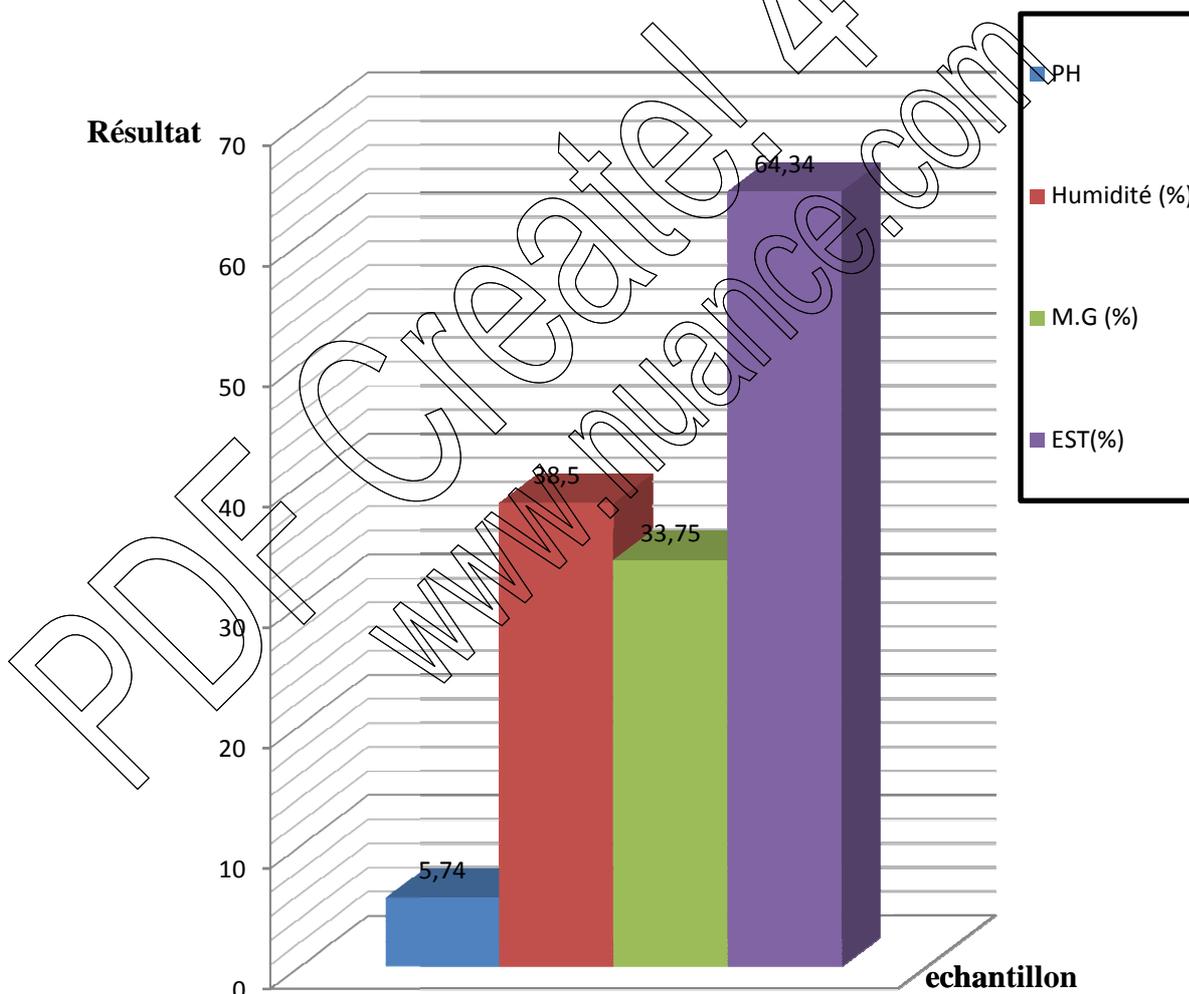


Figure n°7 :Résultat physicochimique du Cheddar

Interprétation :

Le Cheddar utilisée pour la fabrication de fromage fondu OKID'S, a un PH proche de la neutralité. Les résultats obtenus pour l'EST et la MG du Cheddar sont respectivement 64%, 33% par contre on voit que le Cheddar utilisé par **DIMITRELI ET THOMAREIS, (2007)** pour la fabrication de fromage fondu.

D'après les résultats présent dans le tableau, en remarque que les valeurs de pH, EST ; MG et H% sont conformes aux normes édictés par l'entreprise.

- La teneur en M.G est conforme aux normes, ce qui explique que le fromage de cheddar est riche en lipides ce qui favorise le goût et la fonte pendant la fabrication donc le cheddar utilisé par l'entreprise est de bonne qualité physico-chimique.

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

5. Produit Semi-fini : (après crémage)

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° 25: Résultat et interprétation physico-chimique du produit semi-fini.

Echa Paramètre	1	2	3	4	Moyenne	Norme de l'entreprise
PH	5,65	5,71	5,72	5,68	5,69	5,60-5,70
Humidité (%)	37,34	37,00	38,12	39,08	38,88	50
M.G (%)	16,10	16,50	16,18	16,12	16,22	16-17
EST(%)	40,60	40,38	40,80	41,44	40,80	40-41

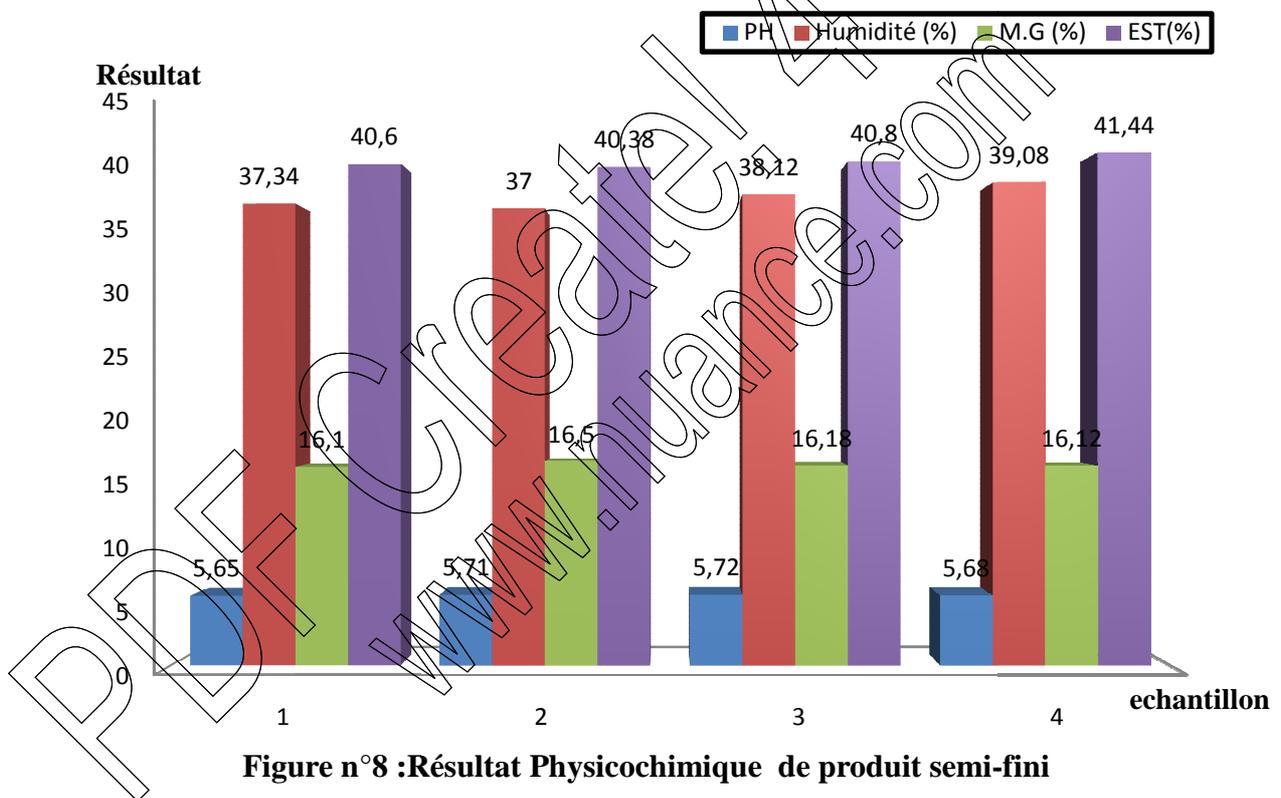


Figure n°8 :Résultat Physicochimique de produit semi-fini

Interprétation :

D'après les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus on remarque que le pH, EST ; MG sont conformes aux normes fixées par l'entreprise.

Donc le produit semi fini est de bonne qualité physico-chimique, ce qui explique que les matières premières utilisées ont de bonne qualité physico-chimique.

6. Produit fini :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° 26: Résultat et interprétation physico-chimique du produit fini.

Echa Paramètre	1	2	3	4	Moyenne	Norme de l'entreprise
PH	5,62	5,70	5,72	5,61	5,66	5,60-5,70
Humidité (%)	37,84	37,50	38,22	39,10	38,16	50
M.G (%)	16,23	16,44	16,15	16,01	16,20	16-17
EST(%)	40,09	40,55	40,86	40,64	40,53	40-41

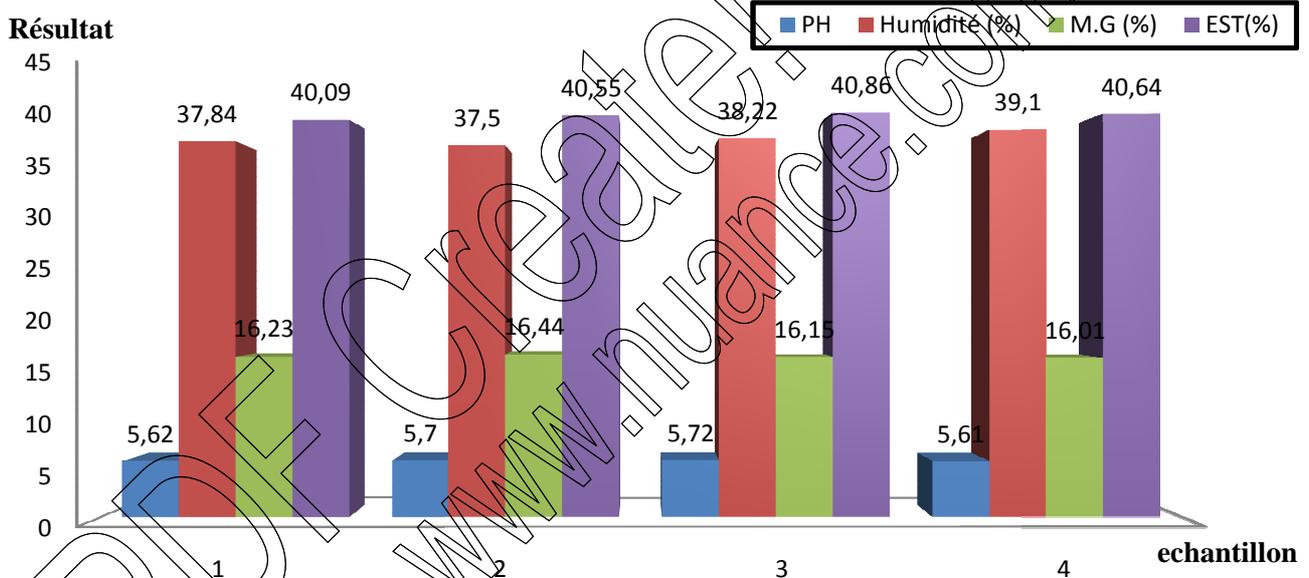


Figure n°9 :Résultat Physicochimique du produit fini

Interprétation :

D'après les résultats présent dans le tableau en remarque que les valeurs de pH, EST ; MG, H% sont conformes aux normes fixées par l'entreprise.

Ce qui explique que les matières premières sont utilisées avec des teneurs bien défini et le respect des bonnes conditions de fabrication donne de bonne qualité physico-chimique de fromage fondu (Produit fini).

a- Estimation de PH :

Les résultats du PH des quatre échantillons de fromage sont présentés par le graphe suivant :

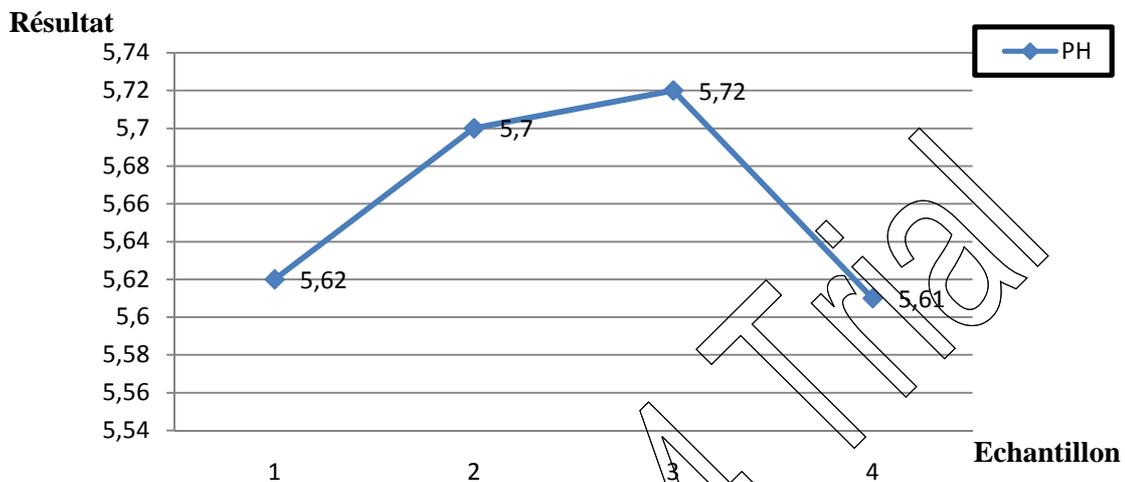


Figure n°10 : Valeurs de PH des quatre échantillons de fromage fondu.

Les Résultats de l’analyse de la variance du PH des quatre échantillons de fromage fondu sont présentés par le tableau suivant :

Tableau n°27 : Résultat de l’analyse de la variance du PH.

	S.C.E	DDL	C.MOY	Test F	PROB	E.T	C.V
Var. total	9.09	7	1.30				
Var. facteur	0.01	3	0.00	0.00	0.0100	1.51	26.5%
Var. résiduel	9.08	4	1.30				

Le graphe montre que les valeurs de PH varient d’une façon significative, ces valeurs restent conformes à la norme AFNOR.

Les valeurs de PH des 04 échantillons de fromage fondu sont variées d’une façon significative (prob=0.01), ces résultats corroborent avec ceux qui ont été trouvés par **DJEDJELLI ET KLAALI (2010)**.

Selon **LU ET AL. (2007)**, le PH optimum pour l’obtention d’un fromage fondu avec une structure et propriété sensorielle est devrait être comprise entre 5.60-5.70.

L’analyse de variance a abouti à l’obtention des 04 échantillons qui sont Hétérogènes (CV) =26.5% (>16%).

b- Estimation de l'extrait sec total (EST) :

Les résultats du l'EST des quatre échantillons de fromage sont présentés par le graphe suivant :

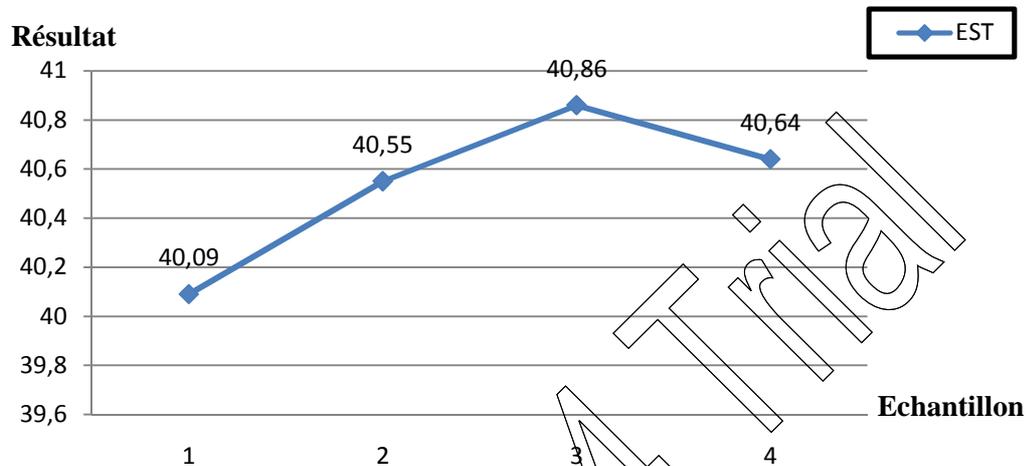


Figure n°11 : valeurs de l'EST des 04 échantillons de fromage fondu

Les Résultats de l'analyse de la variance du l'EST des quatre échantillons de fromage fondu sont présentés par le tableau suivant :

Tableau n°28 : Résultat de l'analyse de la variance du l'EST.

	S.C.E	DDI	C.MOY	Test F	PROB	E.T	C.V
Var. total	14.42	7	2.35				
Var. facteur	0.63	3	0.21	0.05	0.0016	1.99	4.9%
Var. résiduel	15.79	4	3.95				

Le graphe montre que les valeurs de l'EST varient entre 40.09 et 40.86%, a un moyen de 40.53% correspond à celui exigé par la norme AFNOR.

L'analyse de Variance de l'EST des 04 échantillons est Significative « Probabilité =0.0016 », (Pr=0.001-0.05). C'est-à-dire, la moyenne observé (40.53%) conforme a la moyenne de l'échantillon (Norme de l'entreprise=40-41%) ».

L'analyse de la variance a abouti à l'obtention des 04 échantillons sont homogènes (CV) égal 4.9% (< 16%).

c- Estimation de la MG :

Les résultats de la MG des quatre échantillons de fromage sont présentés par le graphe suivant :

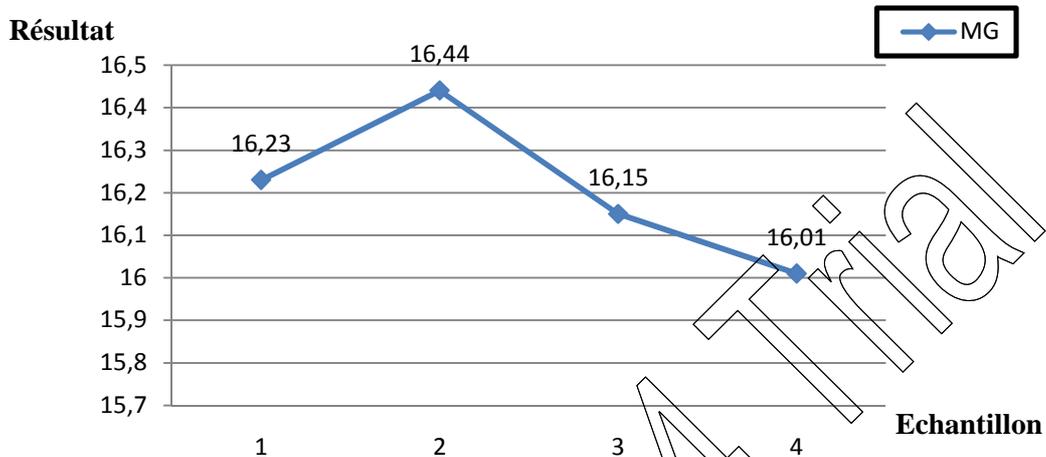


Figure n°12 : Valeurs de la MG des 04 échantillons.

Les Résultats de l’analyse de la variance de la MG des quatre échantillons de fromage fondu sont présentés par le tableau suivant :

Tableau n°29 : Résultat de l’analyse de la variance de la MG.

	S.C.E	DDL	C.MOY	Test F	PROB	E.T	C.V
Var. total	14.85	7	2.12				
Var. facteur	0.15	3	0.05	0.01	0.0100	1.92	11.8%
Var. résiduel	14.70	4	3.67				

Le graphe montre que les valeurs de la MG varient entre 16.01 et 16.44%, a un moyen de 16.20% correspond à celui exigé par la norme AFNOR.

L’analyse de Variance de la MG des 04 échantillons est Significative « Probabilité =0.01 », (Pr=0.001-0.05). C’est-à-dire, la moyenne observé (16.20%) conforme a la moyenne de l’échantillon (Norme de l’entreprise=16-17 ».

L’analyse de la variance a abouti à l’obtention des 04 échantillons sont homogènes (CV) égal 11,8% (< 16%).

d- Estimation de l'humidité :

Les résultats de l'humidité des quatre échantillons de fromage sont présentés par le graphe suivant :

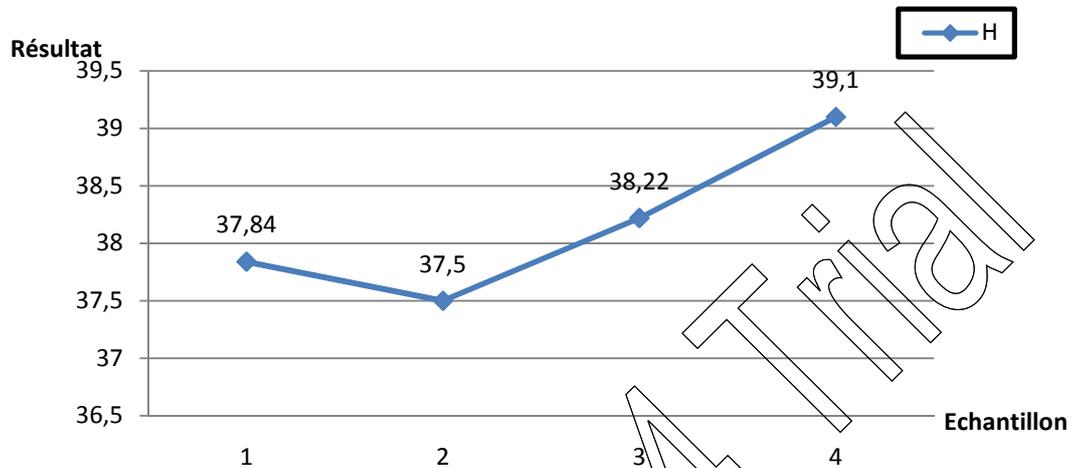


Figure n°13 : valeurs de l'Humidité des 04 échantillons.

Les Résultats de l'analyse de la variance de la MG des quatre échantillons de fromage fondu sont présentés par le tableau suivant :

Tableau n°30 : Résultat de l'analyse de la variance de l'Humidité.

	S.C.E	DDC	C.MOY	Test F	PROB	E.T	C.V
Var. total	111.63	7	15.95				
Var. facteur	2.85	3	0.95	0.03	0.0100	5.21	13.7%
Var. résiduel	108.78	4	27.19				

Le graphe montre que les valeurs de l'humidité varient entre 37,50 et 39,10%, a un moyen de 38,16% correspond à celui exigé par la norme AFNOR.

L'analyse de Variance de la MG des 04 échantillons est Significative « Probabilité =0.01 », (Pr=0.001-0.05). C'est-à-dire, la moyenne observé (38,16%) conforme a la moyenne de l'échantillon (Norme de l'entreprise=50 ».

L'analyse de la variance a abouti à l'obtention des 04 échantillons sont homogènes (CV) égal 13.7% (< 16%).

III. Résultat et interprétation organoleptiques :**1. Les résultats d'analyse organoleptique du Produit fini :****🚩 Interprétation :**

D'après les résultats des jurys de consommation on trouve les valeurs suivantes :

• Couleur :

Jaune : 1/8, 12.5%.

Blanc : 0/8, 0%.

Crème : 6/8, 75%.

Blanc à crème : 1/8, 12.5%.

• Odeur :

Prononcé : 0/8, 0%.

Moyenne : 8/8, 100%.

Faible : 0/8, 0%.

• Goût:

Doux : 5/8, 62.5 %.

Salé; 3/8, 37.5%

Acidité : 0/8, 0%.

Amère : 0/8, 0%.

• Longueur:

Longue : 0/8, 0%.

Moyenne : 8/8, 100%.

Courte : 0/8, 0%.

• Texture :

Consistant : 6/8, 75%.

Sableux; 0/8, 100%.

Moyen : 2/8, 25%.

On remarque que la majorité des dégustateurs ont trouvé le produit fini conformes aux critères organoleptiques dictés par l'entreprise, donc on distingue que le produit fini a une qualité organoleptique satisfaisantes, ce qui explique les matières premières utilisées on de bonne qualité physico-chimique et que l'entreprise à respecter les conditions de fabrications.

IV. Résultat et interprétation de Dosage de la Vitamine A :

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau N° 32: Résultat et interprétation de Dosage de la Vitamine A.

Echa	Résultat	Unité	Norme
1	660	µg/ Kg	90,93 mg/Kg
2	1090	µg/ Kg	90,93 mg/Kg

❖ **Echa (1-2) :** Fromage fondu à Tartiner en portion.

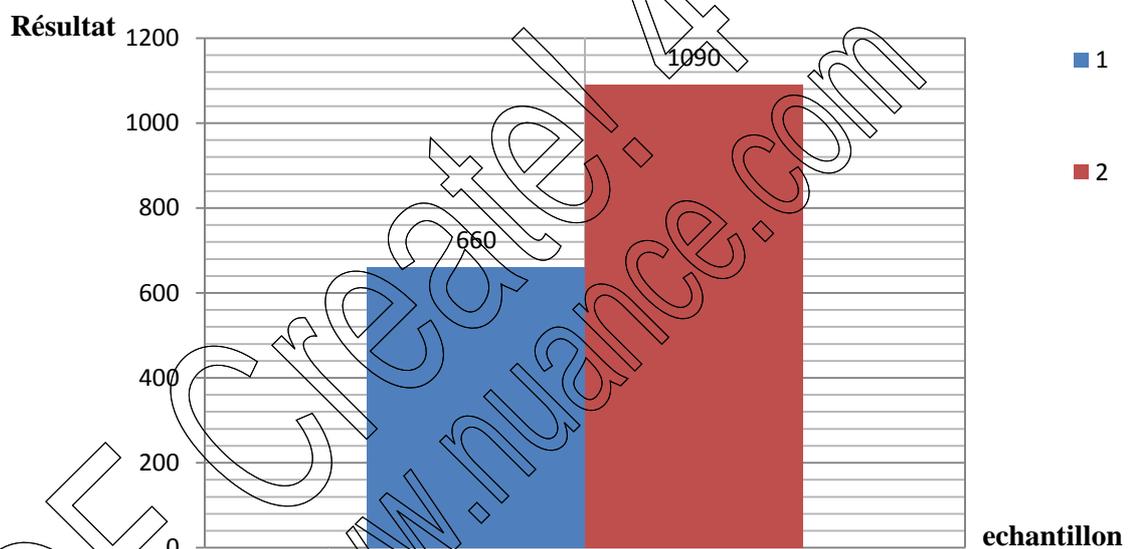


Figure n°14 : Résultat de dosage de la vitamine A

Les Résultats de l'analyse de la variance de dosage de la vitamine A des 02 échantillons de fromage fondu sont présentés par le tableau suivant :

Tableau n°33 : Résultat de l'analyse de la variance de dosage de la vitamine A.

	S.C.E	DDL	C.MOY	Test F	PROB	E.T	C.V
Var. total	73475.00	3	24491.67	3.39	0.0077	116.73	26.7%
Var. facteur	46225.00	1	46225.00				
Var. résiduel	27250.00	2	13625.00				

Le graphe montre que les valeurs de dosage de la vitamine A varient significativement correspond à celui exigé par la norme AFNOR.

L'analyse de Variance de dosage de la vitamine A des 02 échantillons est Significative « Probabilité =0.0077», (Pr=0.001-0.05). C'est-à-dire, la moyenne observé conforme a la moyenne de l'échantillon (Norme de l'entreprise=90,93 mg/Kg ».

L'analyse de la variance a abouti à l'obtention des 02 échantillons sont Hétérogènes (CV) égal 26,7%(> 16%).

D'après les résultats présents dans le tableau en remarque que les valeurs de Dosage sont conformes aux normes fixées par l'entreprise (Norme : ISO 12090-1 et ISO 12090-2).

Ce qui explique que le dosage de la Vitamine A (produit fini) est donne un fromage riche en vitamine A bénéfique pour la santé.

Donc, les matières premières sont utilisées avec des teneurs bien définis et le respect des bonnes conditions de fabrication donne un bon fromage fondu riche en Vitamine A (Produit fini).

III. Résultat et interprétation organoleptiques :

1. Les résultats d'analyse organoleptique du Produit fini :

Tableau N° 31: Résultat des analyses organoleptiques de produit fini.

N° et sexe du dégustateur	couleur				Odeur			Goût				Longueur en bouche			Texture		
	J N	BC	CM	BC à CM	P	M	F	D	S	AC	A	C	M	L	C	S*	M
F 01			X			X		X					X		X		
H 02			X			X		X					X		X		
F 03			X			X			X				X		X		
H 04			X			X		X					X			X	
F 05			X			X		X					X			X	
H 06	X					X			X				X		X		
F 07				X		X			X				X		X		
H 08			X			X		X					X		X		

H : Homme.

F : Femme.

Couleur

JN : jaune.

BC : Blanc.

CM : Crème.

BC à CM : Blanc à Crème.

Odeur

P : prononcé.

M : Moyenne.

F : faible.

Goût

S : Salé.

AC : Acidulé.

A : Amère.

Longueur

L : Longue.

C : Courte.

M : Moyenne.

Texture

C : Consistant.

S* : Sableux

M : Moyen

DOUX

La technologie alimentaire est l'application de science alimentaire et des techniques scientifique à la sélection : la conservation, la transformation, le conditionnement, la distribution et l'utilisation des aliments en vue d'une alimentation saine, de bonne valeur nutritionnelle et qualité organoleptique.

Le contrôle impératif des matières premières, produit fini et la maîtrise du Process de fabrication notamment les barèmes de stérilisation permettent d'assurer aux consommateurs un fromage fondu riche en vitamine A de bonne qualité, tout en lui gardant ses qualités nutritionnelles et organoleptiques et en détruisant la majorité des germes éventuellement présents.

Au cours de ce travail réalisé au niveau de l'unité **Goumidi (Ouled Yaich - Blida)**, les résultats obtenus concernant le contrôle et les analyses physico-chimiques et microbiologiques et le dosage de la vitamine A effectuées tout au long de la chaîne de production de la matière première au produit fini révèlent que :

- ✚ Les analyses physico-chimiques et microbiologiques montrent tous les points critiques ont été maîtrisés et que du point de vue stabilité et hygiène, le fromage fondu produit par l'entreprise susnommée sont de bonne qualité.
- ✚ Le dosage de la Vitamine A donne des résultats acceptables aux normes de l'entreprise ; ce qui explique que la valeur nutritionnel de fromage fondu est riche en vitamine A qui bénéficie la santé de consommateur et la marchandise de ce produit.

Pour les nutritionnistes le fromage joue un rôle capital dans l'équilibre du régime alimentaire c'est un fromage de la faible quantité en glucides et de faible quantité en lipides par rapport aux autres type de fromage (Camembert, Roquefort, Cantal...etc.)

En perspectives il serait intéressant de réaliser les étapes suivantes :

- ✓ Un dosage de vitamine A avant et après traitement thermique.
- ✓ Un dosage des sels minéraux (calcium, phosphore).
- ✓ Le destiné aux enfants qui ne mange pas les aliments riche en Vitamine A.
- ✓ Proposition de nouvelles techniques rapides pour obtenus des résultats plus exactes au niveau des entreprises (surtout ; le dosage des vitamines).

Références bibliographiques

-A-

-ANDRE ECK ET JEAN-CLAUDE GILLIS., 1997. Le fromage de la science à l'assurance qualité 3ème, Technique et documentation, p.693-694-702-705.

-ANONYME, COMMISSION CODEX ALIMENTARIUS, 2004, Programme mixte fao/oms sur les normes alimentaires comité du codex sur le lait et les produits laitiers sixième session Auckland, Nouvelle-Zélande, 26 – 30 avril 2004 avant-projet de norme pour le fromage fondu observations à l'étape 3 p3.

-ANONYME. B, 2006. La chromatographie

Cour : Chimie physique expérimentale, université Paris Diderot UFR de Chimie

<http://www.chimie7.jussieu.fr/spip/IMG/pdf/Cours-L2-Spectro-Chap4a-3.pdf>

-ANONYME. C, 2006. La chromatographie liquide haute performance

Cours de chimie organique, minérale et structurale, Académie de Nancy, Metz

<http://www.ac-nancy-metz.fr/enseign/Physique/HPLC.htm>

-ANONYME, 2007. Statistique de consommation et de production de fromage fondu dans le monde.

-ANONYME. E, 2007. Introduction à la chromatographie

<http://www.rocler.qc.ca/pdubreu/ chromatographie/HPLC/chroma4.html>

-ANONYME. F, 2007. La chromatographie liquide haute performance

http://www.culture.gouv.fr/culture/conservation/fr/methodes/chrom_08.htm

-AMADOU. A ET SAÏD AMER. F, 2002. Contribution à l'étude de la stabilité du fromage fondu : Mémoire (DEUA). Université M'HAMED BOUGUERA- BOUMERDES. ALGERIE. Pp= 9-28.

-B-

-BERGER ET AL, 1989. La fabrication du fromage fondu. Edition : BK Laden bing, Pp=233.

-BOUTONNIER J.L., 2000. Fabrication du fromage fondu. Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire, F 6 310-1, 14 p

-BOUTONNIER J.L, 2001. Fabrication du fromage fondu. Technique d'ingénieur. Pp =1-14.

-BOUTONNIER J.L, 2002. Fabrication du fromage fondu. Technique d'ingénieur. Pp =16-34.

-BOURGEOIS. M ET LEVEAU. K, 1980. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire volume 3 : le contrôle microbiologique, 2ème édition, Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris, Pp=93.

-BOURGEOIS. M ET LEVEAU. K, 1991. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire volume 3 : le contrôle microbiologique, 2ème édition, Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris, Pp=330

-BOUTOUX G, 1993. Introduction à l'étude des eaux douces ; qualité et santé. Ed : Tec et Doc. Lavoisier, 2ème édition.

-BUKA F, KRIZ O, VELICKOVA A, BUNKOVA L, KRACMAR S, 2009. Effet of acid hydrolysis time on amino acid determination in casein and processed cheeses with different fat content. Journal of food composition and analysis, 22, 224-232 pp.

-C-

-CHAMBRE. M et DAURELLES. J, 1997, Le fromage fondu. In: Eck A. et Gillis, Le fromage de la science à l'assurance qualité, Ed. Lavoisier, p. 691-708.

-CHARLES ALAIS, 2003. Etude biochimique des fromages : lait, vol=6, Pp=257.

-CLAUDE BOURGEOIS, 2003. Les Vitamines dans les industries agro-alimentaires. Lavoisier, Tec et Doc. Pp=103-108.

-D-

-DILLON. F ET BERTHIER. S, 1997. In le fromage de la science a l'assurance qualité Edition. Tec et Doc. Lavoisier. 3ème édition. P=713.

-DJEDJELLI. M ET KLAAI. N, 2010. Etude des paramètres de fromage fondu. Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie, spécialité: sciences alimentaires. Université SAAD DAHLEB, pp=97.

-DIMITRELI G ET THOMAREIS A.S, 2007. Texture evaluation of block-type processed cheese as a function of chemical composition and in relation to its apparent viscosity. Journal of food engineering, 79, pp= 368-374.

-E-

-ECK A, 1989. Le fromage. Tec et Doc. Lavoisier, Paris. Pp=385-409.

-ECK A. ET GILLIS J-C., 1997, le fromage de la science à l'assurance qualité , Ed. Tec et Doc ; Lavoisier (3^{ème} édition), Paris, p.711.

-ECK. A ET GILLIS. J-C, 2006, Le fromage ; de la science à l'assurance-qualité. 3ème édition. Pp=691-707.

-F-

-FAO., 1995. Le lait et produit laitier dans la nutrition humain. Italie. Vol, 28. Pp=192-193

-J.C. Favier, J. Ireland-Ripert, C. Toque, M. Feinberg., 1995. Elément de composition des fromages, *In* Luquet F. « Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Vol 3. Ed tec & doc. Lavoisier, Paris, P633.»

-FOX P.F., GUINEE T.P., Cogan T.M., MCSWEENEY P.L.H, 2000. Fundamentals of cheese science. Mary-land; Aspen Publishers Inc. pp=431-434. 638p.

-FREDOT. R, 2006. Connaissance des aliments. Bases alimentaire et nutritionnelle de la diététique. Tec et Doc, Lavoisier, Paris. Pp=59-87.

-G-

-GAUCHERON. D, 2004. Minéraux et produits laitiers. Ed : Tec et Doc, Lavoisier, Paris. Pp=566-582.

-GERRIT. L, 2003. Dairy processing Improving Quality, CRC press, USA. Pp=22.

-GOSTA. A ,1995. Le tout sur le lait. Paris, Ed: Tetra pack. Pp=223-227.

-GUIRAUD. B, 1998. Microbiologie Alimentaire. Tome 2. Edition : Dunod, paris. Pp=343.

-GUIRAUD. B, 2003. Microbiologie Alimentaire. Tome 2. Edition : Dunod, paris. Pp=136.

-GUILLARD. J-C. ET LEQUEU. B, 2009. Encyclopédie des vitamines, Volume 1, 2,3. Lavoisier.

-H-

-HASSLEY. G ET LECLERE. K, 1993. Microbiologie des eaux d'alimentation. Edition Tec et Doc, Lavoisier. 2ème édition. Pp=101

-HENRI DUPIN, 1992. Alimentation et nutrition humaine. ESF éditeur. Pp=355-373.

-J-

-JEANT. T, 2001. génie et procédés appliqués à l'industrie laitière. Paris, Lavoisier. Pp=80-144.

-JOFFIN. C ET JOFFIN. J-N, 1985, Microbiologie alimentaire, Edition centre régional de documentation, 2005. Pp=80-144.

-JOFFIN. C ET JOFFIN. J-N, 1999, Microbiologie alimentaire, Edition centre régional de documentation. Pp=139-143.

-JORF (JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE FRANÇAISE)., 2007, Décret n. 2007-628 du 27 avril 2007 relatif aux fromages et spécialités fromagères, 10 p.

-L-

-LAMBRECHS M, 2005. l'encyclopédie nomade. Paris : Larousse, 2005, P=1392.

-LARPENT J.P, 1997. Technique de laboratoire, Edition Tec et Doc. Lavoisier, paris. Pp=17, 29, 211.

-LUQUET F.M, 1981. Dictionnaire laitier. Edition : Tec et Doc, Lavoisier, 2ème édition. Paris, P= 219.

-LUQUET F.M, 1985, Laits et produits laitiers, Vache, Brebis, Chèvre, Tome 1 : les laits, de la mamelle à la laiterie, 212 p.

-LUQUET F.M, 1987, Laits et produits laitiers, Vache, Brebis, Chèvre, Tome 1 : les laits, de la mamelle à la laiterie, 397 p.

-LUQUET F.M, 1990. Lait et produit Laitiers. Tec et Doc, Lavoisier. Paris. Pp=656.

-LU ET AL, 2007. Rheological, textural and melting properties of commercial samples of some of the different types of pasteurized processed cheese. International journal of dairy technology, 60, pp= 74-80.

-M-

-MAHAUT. D, 2000. Initiation à la technologie fromagère, Lavoisier : p=32-35.

-MARCOZ. N, 2003. Étude de stabilité des solutions injectable d'amiodarone
Mémoire pour le travail de diplôme d'analyse pharmaceutique, université de Genève, p. 10-11.

-MEHMET. A-K, 2003. Cheese Rheology and Texture, CRC Press, USA. Pp= 145-223.

-MEITTON. C, 1991. Transformation du lait en fromage. In : Bactéries lactiques De Roissart et Luquet). Edition Lorica. P=88-100.

-MEITTON. C, 1994. Transformation du lait en fromage. In : Bactéries lactiques De Roissart et Luquet). Edition Lorica. Tome1. P=55-57, 74, 80, 131.

-MULTON. R, 1995. Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Tec et Doc, Lavoisier. Paris. Pp=92.

-MURIELLE. M, 2009. Nutrition humaine et sécurité alimentaire, Lavoisier. Pp=175-193.

-P-

-PANAIVA. L, 2006. Techniques chromatographiques orientées sur les matériaux composites. Conférence Eurocopter, 1er Juin 2006, Marseille, France.

-R-

-RAMESH C, 2008. Dairy processing ET Quality Assurance. US Library of Congress. USA. Pp=79.

-RAMESH. C, 2011. Dairy Ingredients for food processing. Wiley-Blackwell, USA. Pp=225-226.

-RAMET J-P., 1985. La fromagerie et les variétés de fromage du bassin méditerranéen. pp=42-60.

-REMEUF .F, LENOIR. J ET DUBY.C ., 1989. LE LAIT .pp= 499-518.

-RODIER. N, 1996. L'analyse de l'eau, chimie, physicochimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats, édition : Dunod, paris, 8ème édition. P=53

-RODIER. N, 2005. L'analyse de l'eau, chimie, physicochimie, microbiologie, biologie, interprétation des résultats, édition : Dunod, paris, 8ème édition. P=113-801.

-S-

-SERVEILLE, 2003. Manuel d'alimentation humaine. Tome 2. Les aliments. Edition ESF. P=196-516.

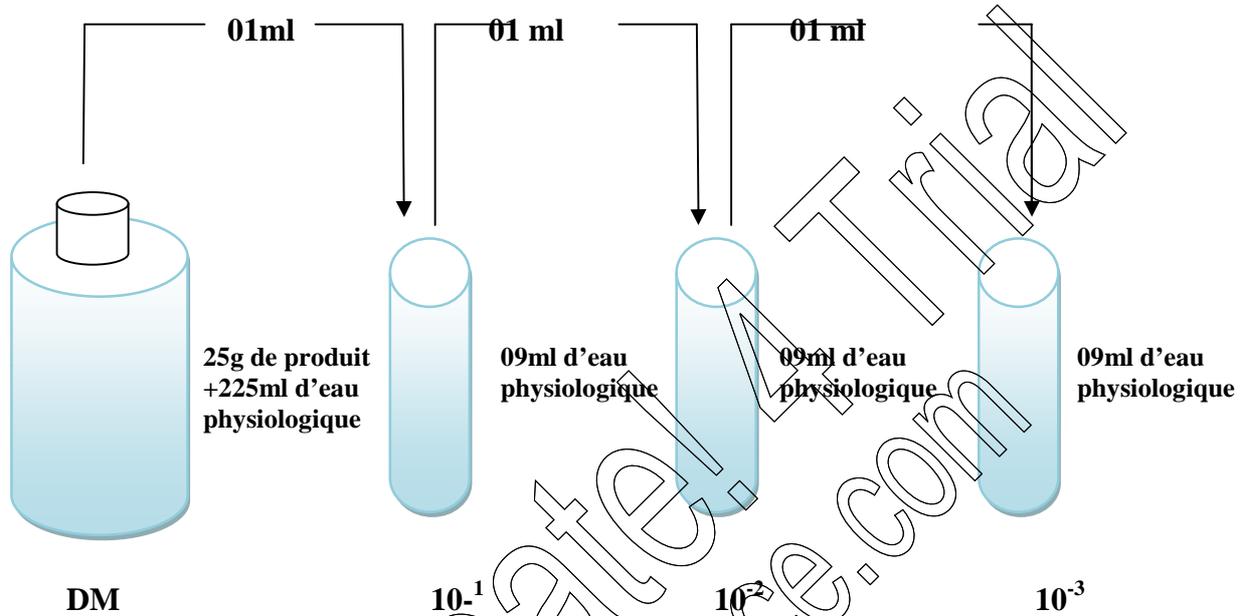
-SHIMADZU CORPORATION. 2002, High performance thin-layer chromatography-bioautography for multiple. Review: journal of chromatography, n°784, Pp=315-322.

-T-

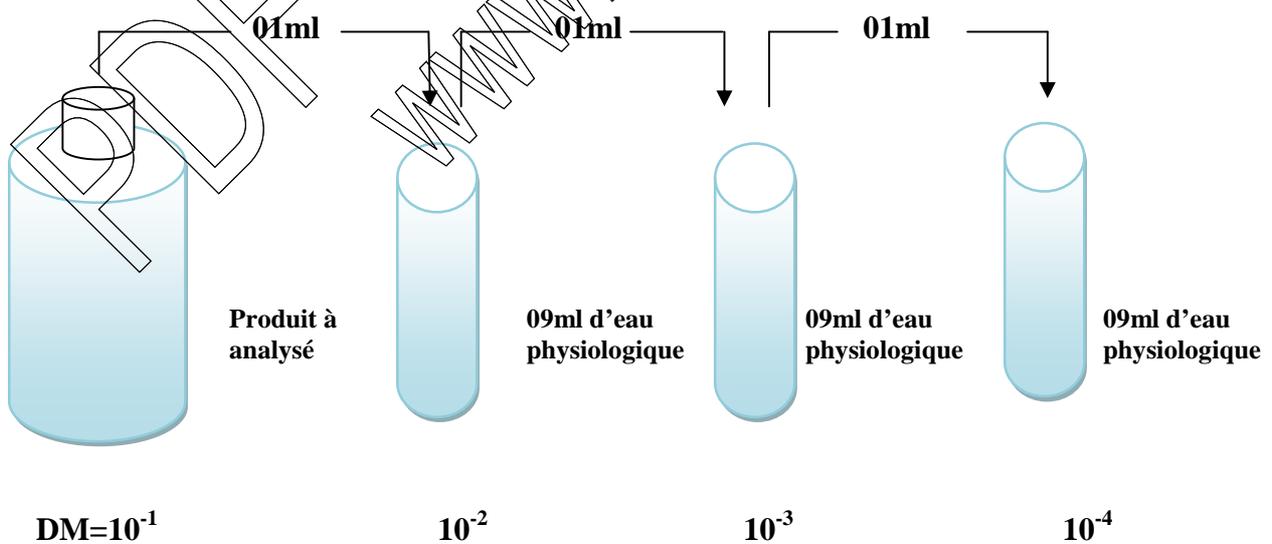
-TABARD J.M, 1997. Le fromage, Pp=585-610.

PDF Create! 4
www.nuance.com

ANNEXE N° 01



Cas de produit solide



Cas de produits liquides
Schéma n°1 : préparation des dilutions.

Dilution décimale

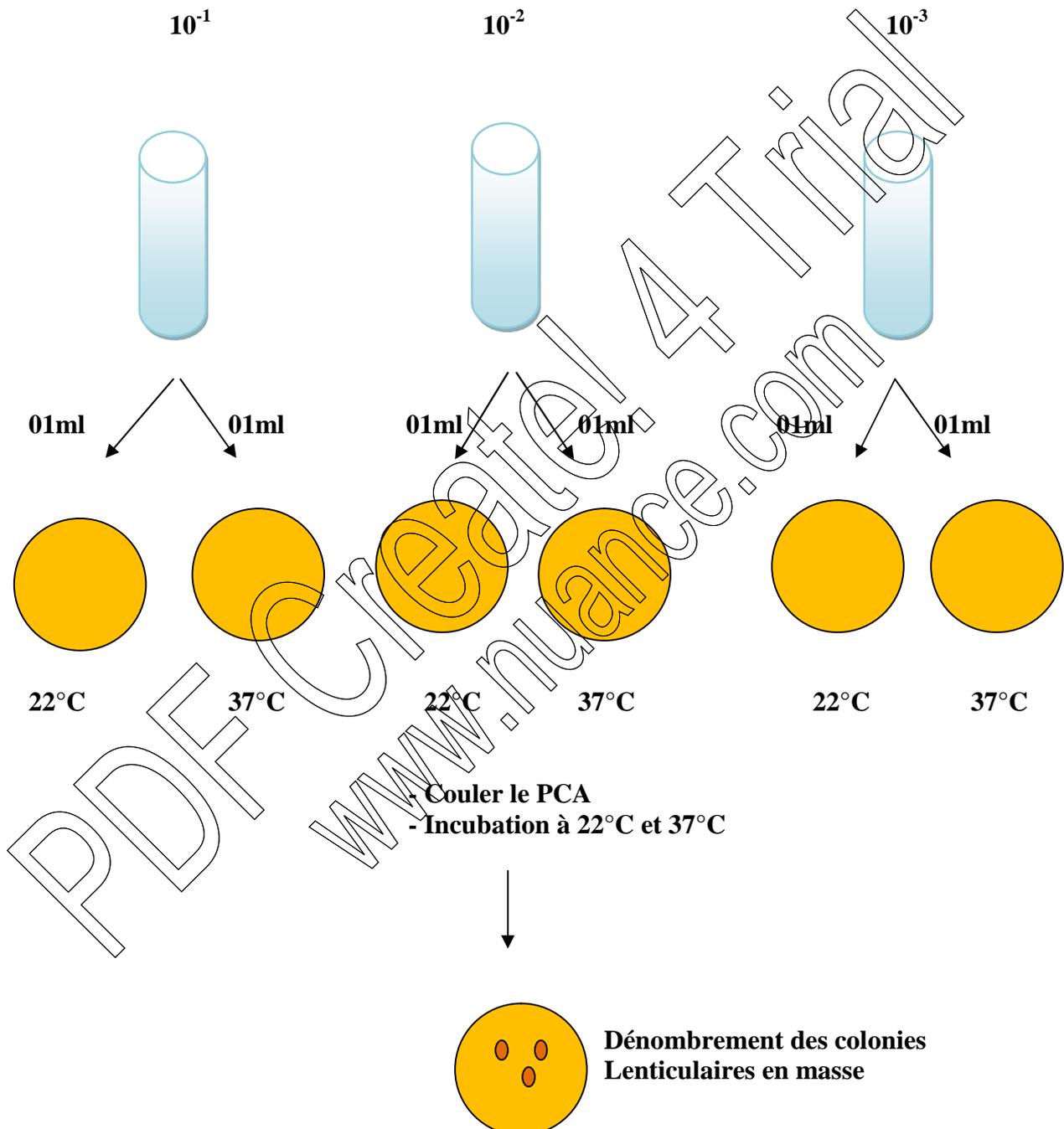


Schéma N°02 : Recherche et dénombrement des germes totaux dans l'eau.

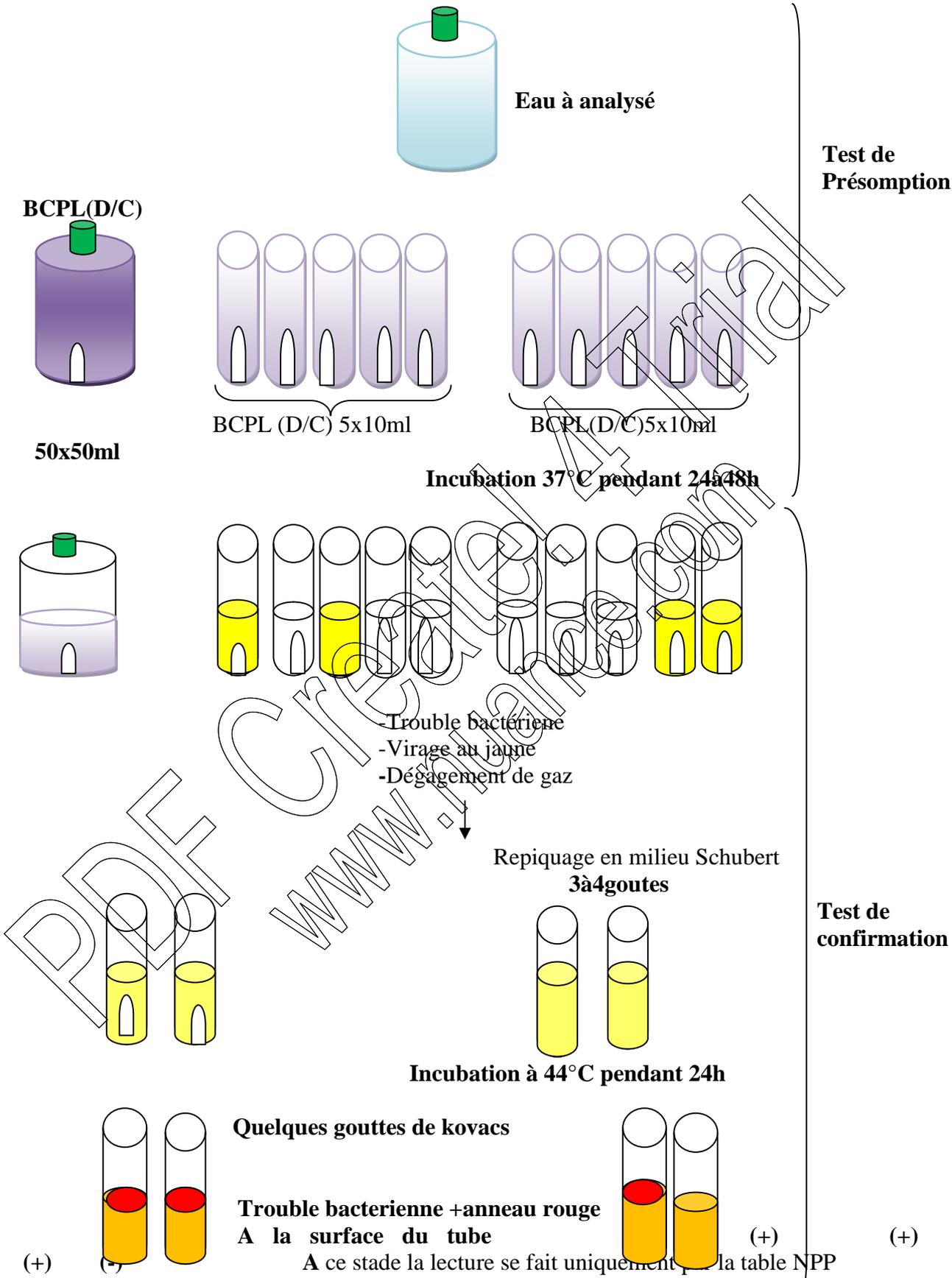
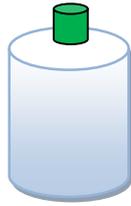


Schéma N°03 : recherche et dénombrement des coliformes dans l'eau.

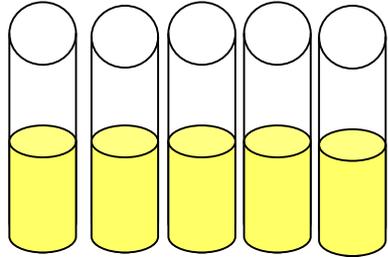
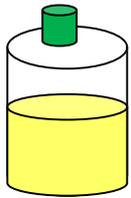
Rothe (D/C) 50X50 ml



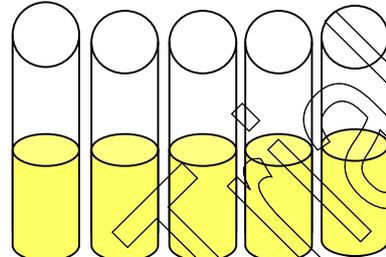
Eau à analyser

Test de
Présomption

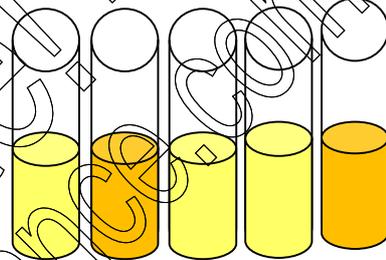
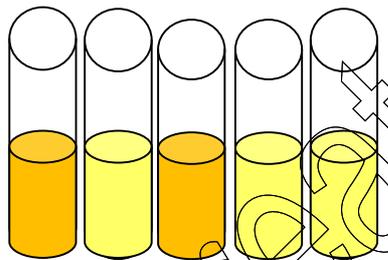
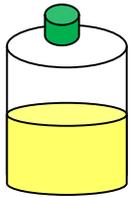
Rothe (D/C) 5X 10ml



Rothe (S/C) 5X1ml



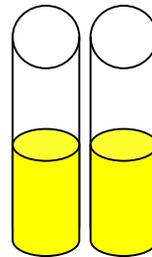
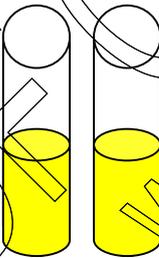
Incubation 37°C pendant 24-48h



Test confirmation (on trouble)

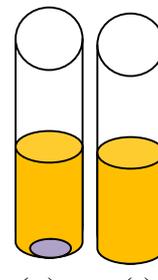
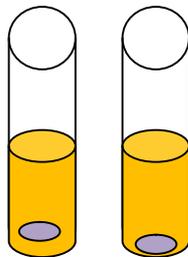
Test de
confirmation

Repiquage en milieu
Evañsky 3 à 4 gouttes



Incubation

Trouble Bien+ pastille
Violette au fond de tube



(+) (+)

(+) (-)

A ce stade la lecture se fait uniquement par la table des NPP

Schéma N°04 : recherche et dénombrement des streptocoques fécaux dans l'eau.

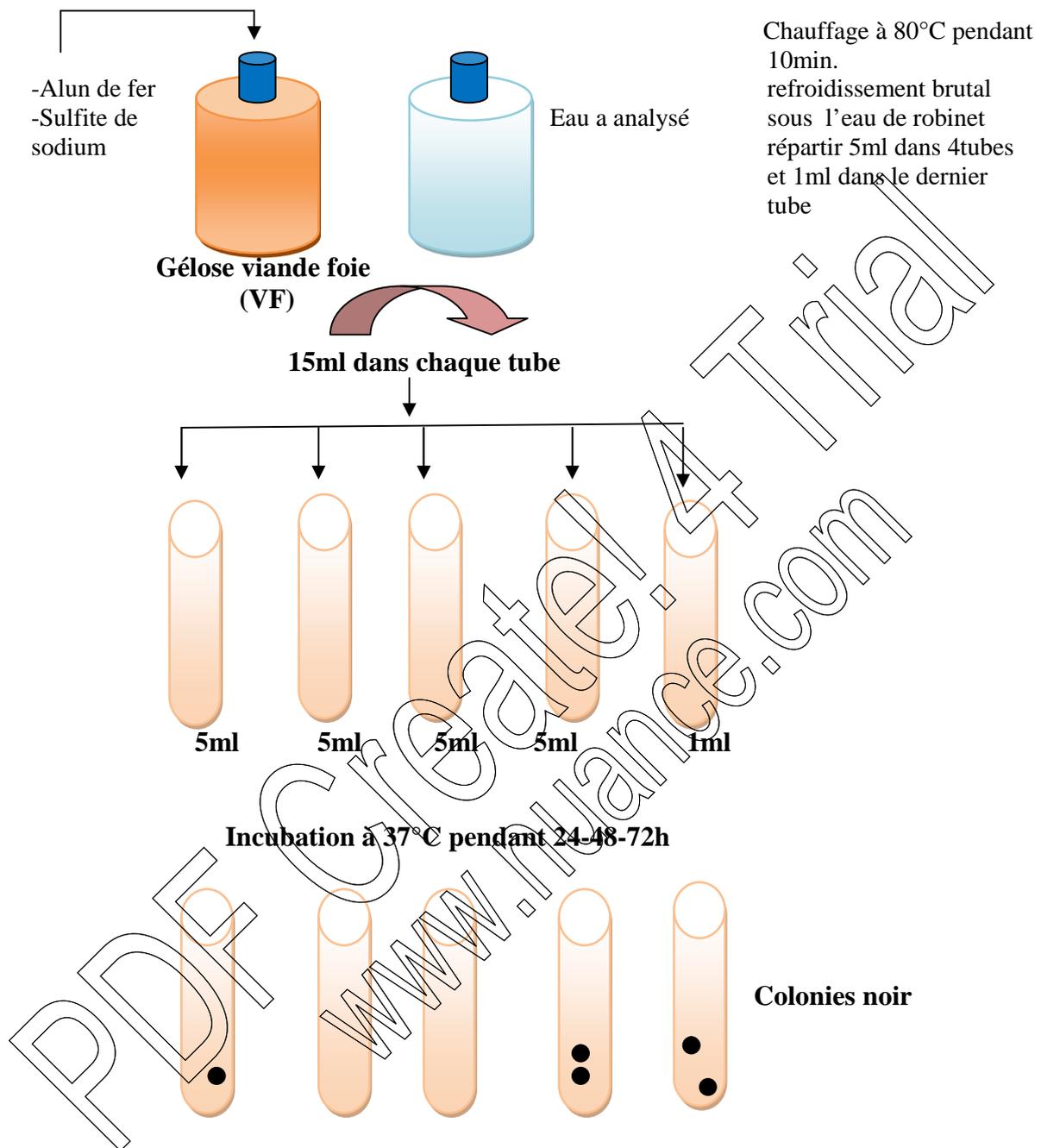


Schéma N°05 : recherche et dénombrement des clostridium sulfite réducteur dans l'eau.

Dilution décimale

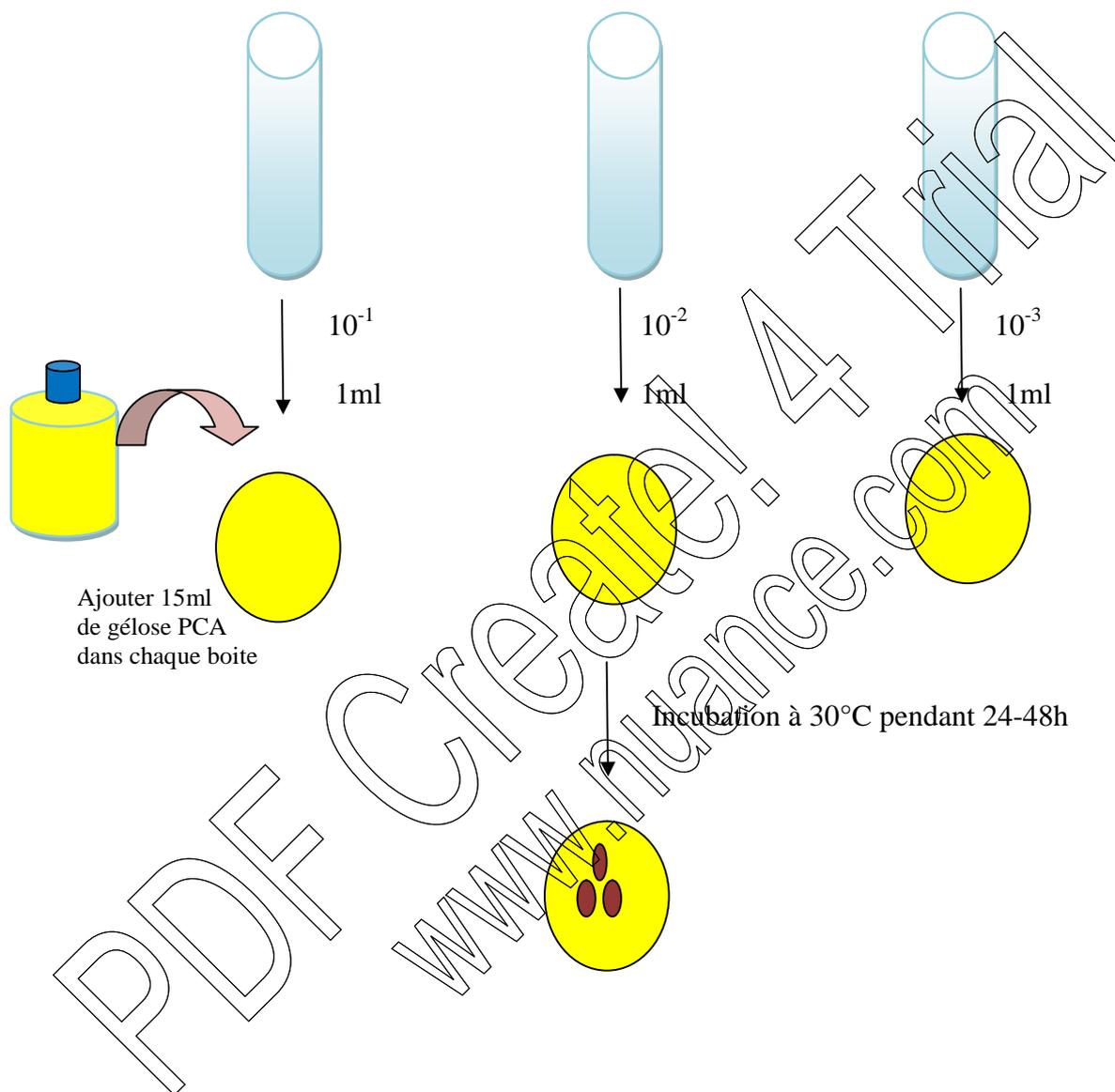
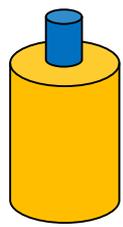


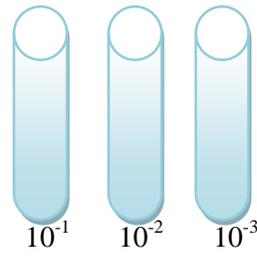
Schéma N°06 : recherche et dénombrement des GMT .



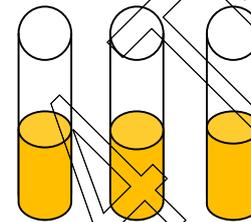
15ml de tellurite de potassium

Milieu liquide de giolliti contoni

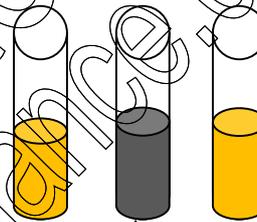
Dilution décimale



1ml 1ml 1ml

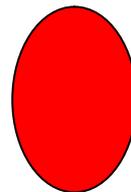


Incubation à 37°C pendant 24-48h



Noircissement

Isolément sur milieu Chapman
Étalement en strie



Incubation à 37°C pendant 24-48h



Après incubation : colonies lisses légèrement
Bombées, jaunâtres

Schéma N°07 : recherche et dénombrement du staphylocoque .

Dilution décimale

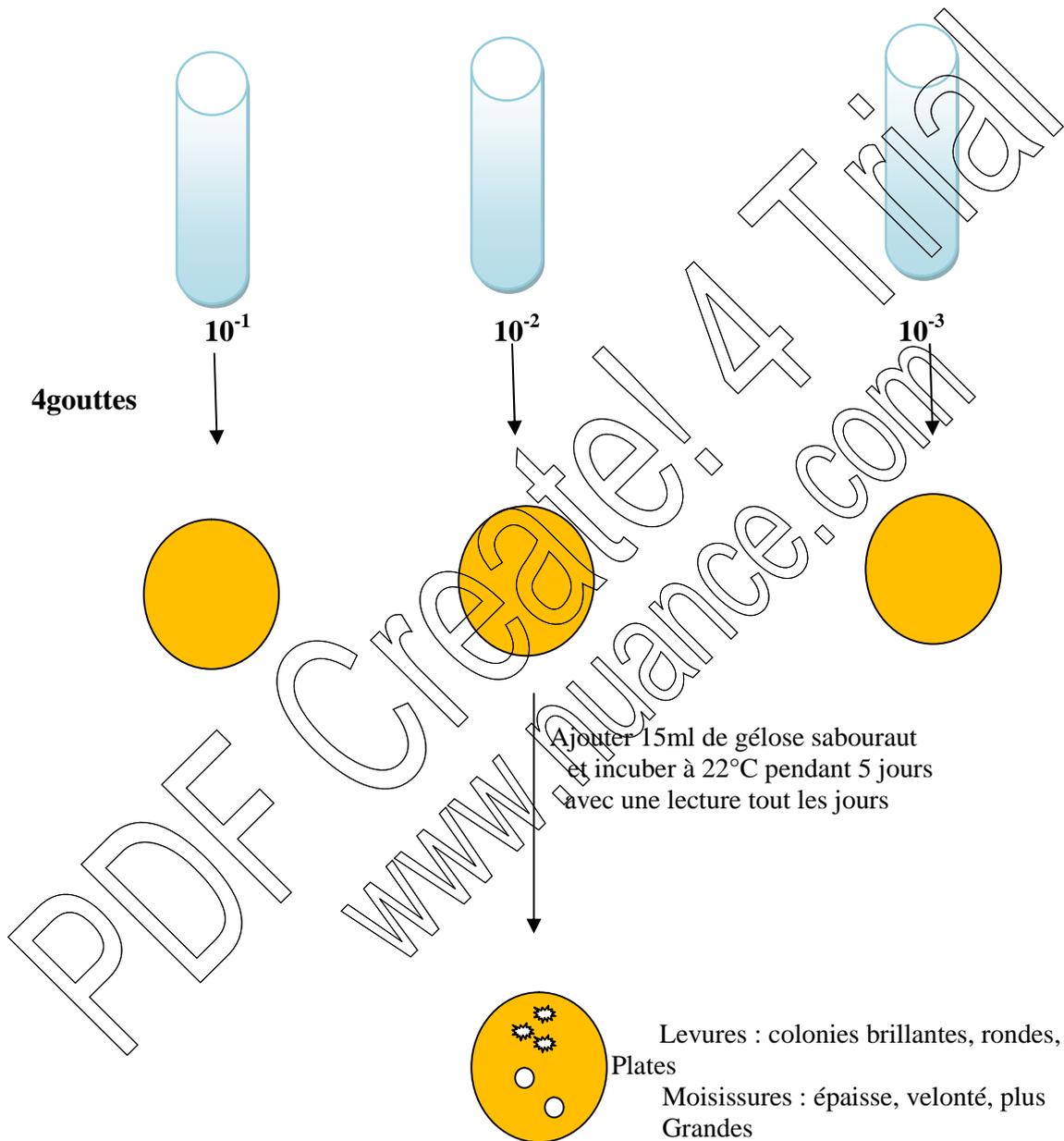


Schéma N°08 : recherche et dénombrement des levures et moisissure.

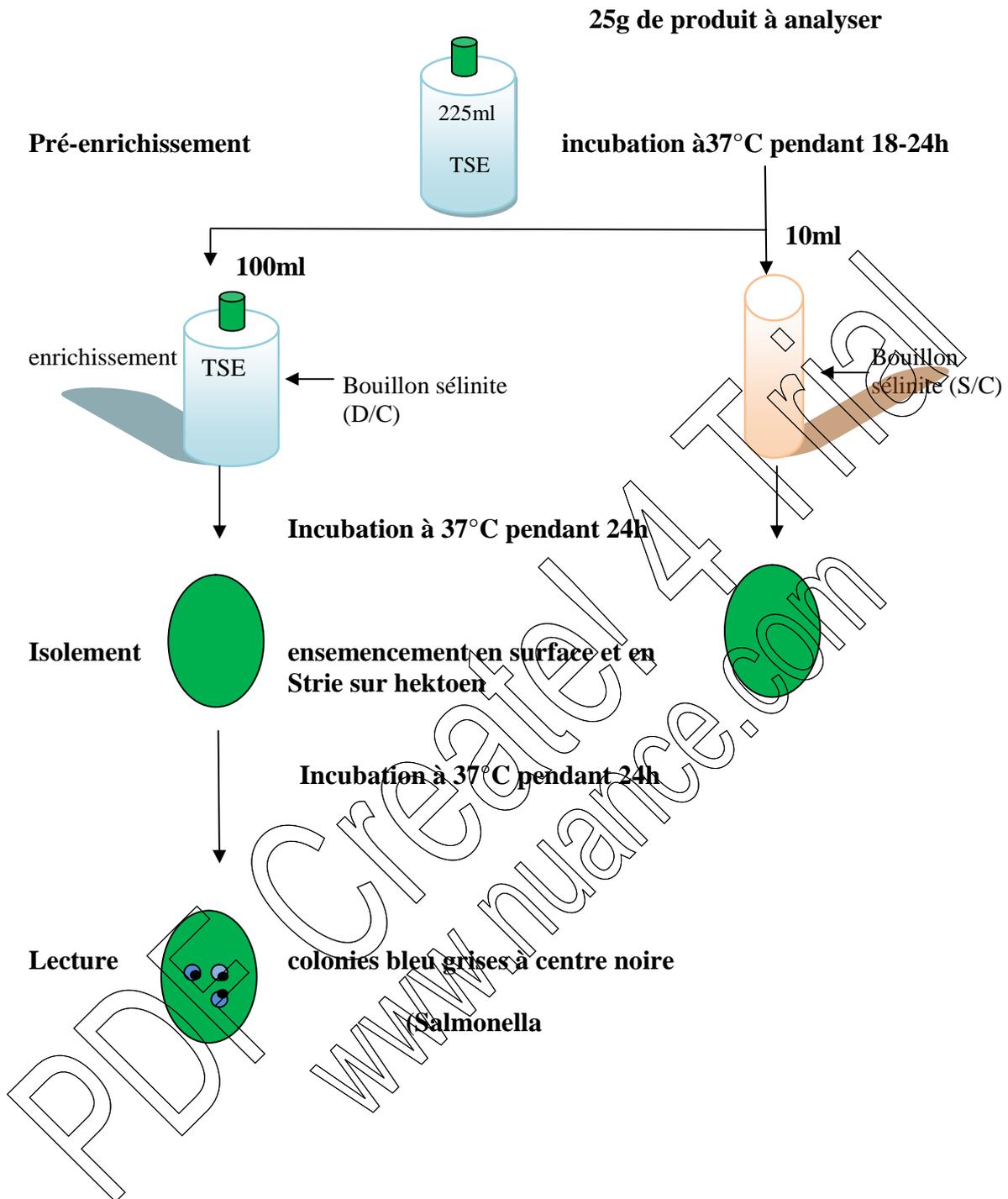
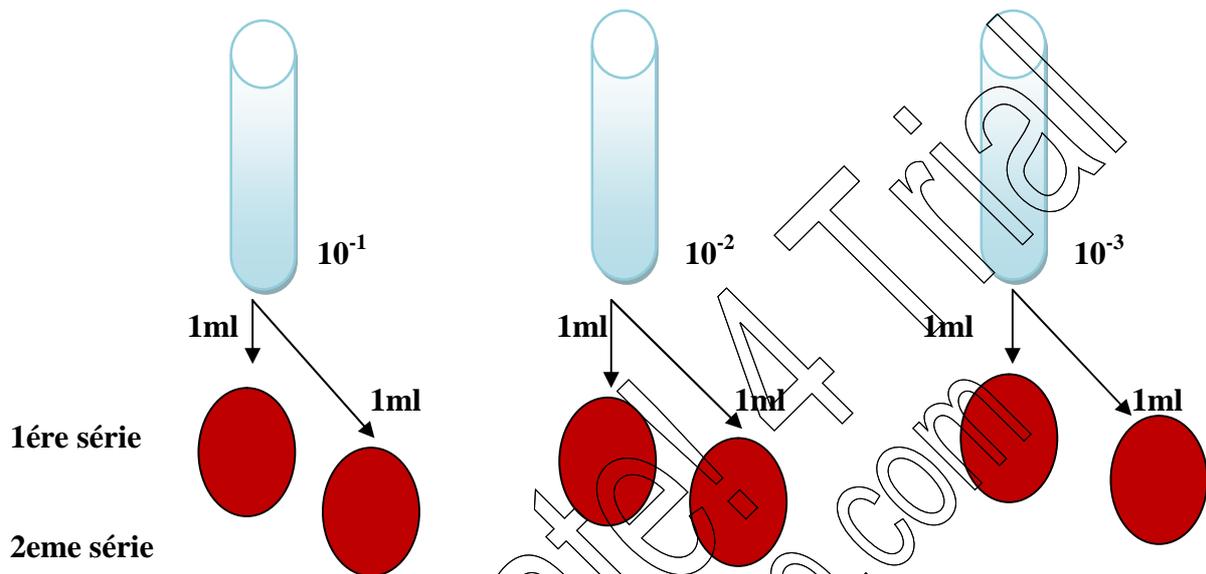


Schéma N°09 : recherche de salmonella.

Dilution décimale

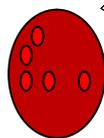


Ajouter 15ml de DCLA

Laisser solidifier

Incuber : 1ère série à 37°C pendant 24-48h

2ème série à 44°C pendant 24-48h



Colonies rouges foncées, bril

Schéma N°10 : recherche et dénombrement des coliformes fécaux et totaux .

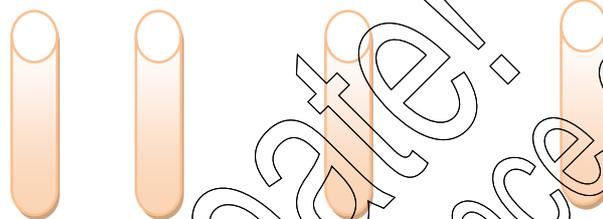
25g de produit
à analyser



Alun de fer
sulfite de sodium

viande foie (VF)

- chauffer à 80°C pendant 10min
- refroidissement sous l'eau de robinet
- répartir les 5ml à raison de 5ml par tube



Ajouter 15ml de VF
Laisser solidifier, puis incuber à 46°C pendant 24 à 72h

Spoires noires

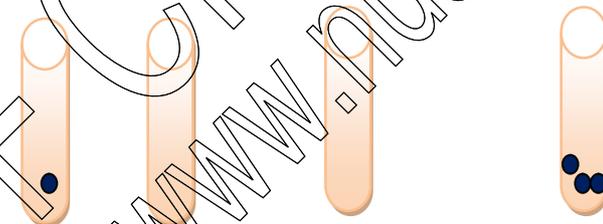


Schéma N°11 : recherche et dénombrement des clostridium sulfito réducteurs .

ANNEXE 2: Tableau des différents constituants de fromage fondu « MG/MS : 45% »

constituant	unité	Moy/Med	constituant	unité	Moy/Med	
énergie	Kcal/100g	282	acides gras 14:1(myristoléique)	% AGT	Tr	
énergie	kJ/100g	1168	acides gras 15:1		0	
eau	g/100g	52,7	acides gras 15:0(penta décylrique)		2,21	
matières sèches		47,3	acides gras 16:0(palmitique)		29,49	
azote total		2,2	acides gras 16:0(palmitoléique)		2,79	
protéines		16,5	acides gras 17:0(margarique)		0,6	
glucides		2,8	acides gras 17:1		0,32	
fibres alimentaires		0	acides gras 18:0(stéarique)		12,2	
lipides totaux		22,7	acides gras 18:1 n-9 cis(oléique)		26,12	
lipides totaux/MS		g/100gMS	48		acides gras 18:2 n-6 (linoléique)	1,63
Sucres lipides totaux		g/100g	2,8		acides gras 18:3 sans spécification	1,11
amidon total			0		acides gras 18:3 n-3 cis (alpha-linolénique)	0,92
acides gras saturés totaux	% AGT	62,8	acides gras 18:4 n-3(parinarique)		0	
acides gras mono-saturés totaux		32,2	acides gras 20:1 Sand autre spécification		0,09	
acides gras polyinsaturés totaux		2,9	acides gras 20:3 n-6 (homo-gamma-linolénique)		0	
acides gras 4:0(butyriques)		3,22	acides gras 20:4 n-6 (arachidonique)		0	
acides gras 6:0(caproïque)		2,12	acides gras 20:5 n-3 (EPA,timmodonique)	0		
acides gras 8:0(caprylique)		1,29	acides gras 20:0(arachidique)	0,18		
acides gras 10:0(caprylique)		6,62	acides gras 22:0(béhénique)	0,18		
acides gras 12:0(laurique)		3,31	acides gras 22:1 sans autre spécification	0,09		

constituant	unité	moy/med	constituant	unité	moy/med
acides gras 22:4 n-6	% AGT	0	acides gras 18:0(stéarique)	g/100g	2,61
acides gras 22:5 n-3		0	acides gras 18:1 n-9 cis(oléique)		5,6
acides gras 22:6 n-3		0	acides gras 18:3 n-3 cis (alpha-linolénique)		0,21
acides gras 24:0(lignocérique)		0,09	acides gras 18:4 n-3(parinarique)		0
acides gras 24:1		0	acides 20:1 sans autre spécification		0,02
acides gras 24:1 n-9 cis (nervonique)		0	acides gras 20:3 n-6 (homo-gamma-linolénique)		0
acides gras polyinsaturés totaux		0,62	acides gras 20:4 n-6 (arachidonique)		0
acides gras 4:0(buyriques)	g/100g	0,69	acides gras 20:5 n-3 (EPA, timmodonique)	0	
acides gras 6:0(caproïque)		0,45	acides gras 20:0(arachidique)	0,04	
acides gras 8:0(caprylique)		0,28	acides gras 22:0(béhénique)	0,04	
acides gras 10:0(caproliéque)		0,56	acides gras 22:1 sans autre spécification	0,02	
acides gras 12:0(laurique)		0	acides gras 22:1 n-9 cis (éricique)	0,04	
acides gras 12:1(lauroliéque)		0,71	acides gras 22:1 n-11	0	
acides gras 14:0(myristique)		Tr	acides gras 22:4 n-6	0	
acides gras 14:1(myristoliéque)		2,33	acides gras 22:5 n-3	0	
acides gras 15:1		Tr	acides gras 22:6 n-3	0	
acides gras 15:0(pentadécylique)		0,47	acides gras 24:0(lignocérique)	0,02	
acides gras 16:0(palmitique)		0	acides gras 24:1	0	
acides gras 16:1(palmitoliéque)		6,33	acides gras 24:1 n-9 cis (nervonique)	0	
acides gras 17:0(margarique)		0,6			

constituant	unité	moy/med	constituant	unité	moy/med
isoleucine	mg/100g	927	sodiuim	mg/100g	1167
leucine		1646	magnésuim		22
lysine		1300	phosphore		756
méthionine		429	potosuim		143
cystine		143	calcuim		300
phénylalanine		850	fer total		0,8
tyrosine		788	cuivrre		0,5
thréonine		757	zinc		8
tryptophane		231	rétinol		226
valine		1097	béta-carotène		120
arginine		595	vitamine-D	0,15	
histidine		455	activité vitaminiqueE	0,5	
alanine		588	vitamine-C	0	
acide aspartique		1321	thiamine "VB1"	0,08	
acide glutamique		3640	biboflavine"VB2"	0,51	
glycocolle		359	niacine"VB3"	0,2	
proline		1591	acide pantothémique"vB5"	0,5	
sérine		939	vitamine B-6	0,07	
acide citrique		450	vitamine B-12	0,8	
cholestérol	70	vitamineb-9	16		
acide lactique	g/100g	2,2	acide folique libre	6	
			vitamine B-8	ug/100g	3,3

ANNEXE 3: Tableau représentant le matériel de laboratoire physicochimique et microbiologique de l'entreprise G.I.G

1- Matériel des analyses microbiologique :



Plaques chauffante



Bain marie



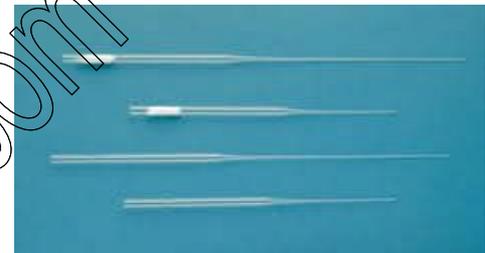
Homogénéisateur type Stomacher



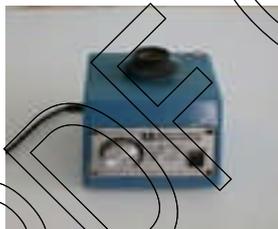
Boites pétres



Bec benzène



Pipette pasteur



Agitateur



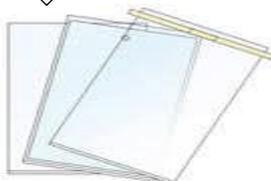
Flacon



tubes d'essais



pipette râteau



Sachet stomacher

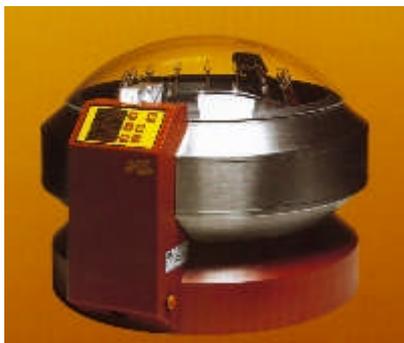


écouvillon



pH mètre

2- Matériel des analyses physico-chimiques :



Centrifugeuse



Dessiccateur



Balance



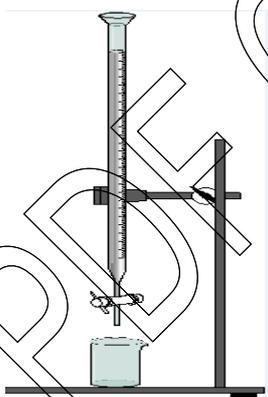
Etuve



Bain marie



Butyromètre



Burette



Bêcher



Spatule

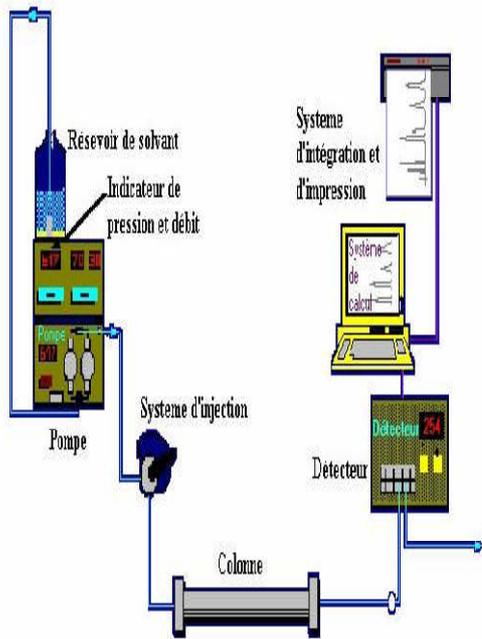


flacon de prélèvement



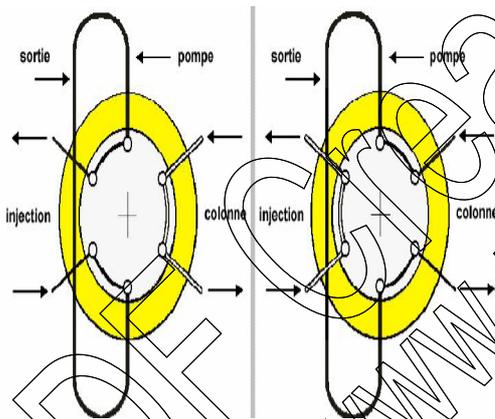
Capsule

3- Matériel de dosage (par HPLC)



Centrifugeuse

Instrumentation de l'HPLC



Injecteur à boucle à gauche.



Dispositif de filtration (photo personnelle)



Seringue d'injection



HPLC de l'étude (photo personnelle)



la balance analytique



Pipette (photo personnelle)



Vortex (photo personnelle)

PDF Create! 4 Trial
www.nuance.com

4-Tableau représentant l'appareillage et réactifs utilisé au laboratoire.

Appareillage	Réactifs
<p>-Etuves (37, 44°C) -Bain-marie (63-66) -Balance analytique de précision -pH mètre -Pipettes graduées -Eprouvette-burette-bécher -Spatule -Thermomètres -Dessiccateur halogène -Centrifugeuse -Butyromètre Van Gulik -Système de pesage adaptable au gros bouchon du butyromètre, une capsule ou une feuille de matière plastique peut également être utilisé. -HPLC.</p>	<p>- Acide sulfurique - Alcool iso-amylque - Méthyle orange - Phénophtaléine - HCL - Solution tampon de référence à pH=7,00 - Solution tampon de référence acide connu (entre 4et5) - Solution de nettoyage (électrode pH mètre) - Solution de stockage (électrode pH mètre) - Eau distillée - Tampon k10 - Noir d'Enochrome T - Nitrate d'argent (AgNO₃) - Chromate de potassium (K₂CrO₄). - Carbonate de chaux NaHCO₃ - liqueur complexométrique. -La vitamine A standard. -Ethanol 99, 9%. - n-Heptane, de qualité HPLC. - BHT. -Amylique. - 7-déhydrocholestérol (sigma). -Norme CRS-performance.</p>

ANNEXE 4 : Tableau représente les milieux de cultures utilisées et leurs compositions

Milieu	Composition		pH
Milieu de Chapman	Tryptone Peptone de viande Extrait de viande Mannitol : Chlorure de sodium Rouge de phénol Agar agar	5,0. 5,0. 1,0. 10,0. 75,0. 0,025. 15.	7,4 ± 0,2
Milieu de Giolitti cantoni	Tryptone Extrait de viande Extrait autolytique de levure Glycine Mannitol Pyruvate de sodium Chlorure de sodium Chlorure de lithium Tween 80	10,0 5,0 5,0 1,2. 20,0. 3,0 5,0 5,0. 1,0.	6,9 ± 0,2.
Plate Count Agar (PCA)	Tryptone Extrait autolytique de levure Glucose Agar-agar	5,0 2,5 1,0 12,0	7,0 ± 0,2.
Milieu de Rothe	Polypeptone Glucose Sodium chlorure Phosphate monopotassique Phosphate dipotassique Azide de sodium	20,0. 5,0 5,0. 2,7. 2,7. 0,2.	6,8 ± 0,2.
Eau peptonée tamponnée	Peptone Sodium chlorure Phosphate disodique hydraté Phosphate monopotassique Phosphate dipotassique Phosphate disodique anhydre	10,0. 5,0. 9,0 1,5. 3,5 3,56	7,2 ± 0,2
Gélose Viande-Foie	Peptone viande-foie Glucose : Amidon soluble Sulfite de sodium Citrate ferrique	30,0. 2,0. 2,0. 2,5 0,5	7,6 ± 0,2.

Milieu	Composition		PH
Tryptone sel eau (TSE)	Tryptone Chlorure de sodium	1,0. 8,5	7,0 ± 0,2.
Gélose Hektoen	Protéose peptone Extrait de levure Chlorure de sodium Thiosulfate de sodium Sels biliaires Citrate de fer ammoniacal Salicine Lactose Saccharose Fuchsine acide Fuchsine acide Bleu de bromothymol Agar agar	12,0 3,0 5,0 5,0 9,0 1,5 2,0 12,0 12,0 0,1 0,04 0,065 13,0	7,5 ± 0,2
VRBL (Cristal violet et au rouge neutre) Violet red bile lactose agar	Peptone pépsique de viande Extrait autolytique de levure Lactose Sels biliaires Chlorure de sodium Rouge neutre Cristal violet	7,0 3,0 10,0 1,5 5,0 0,030 0,002.	7,4 ± 0,2.
Oxytétracycline (base OGA)	Extrait de levure D(+) glucose Agar agar	5,0 20,0 15,0	6,6 ± 0,2
Milieu BCPL : Bouillon lactosé au pourpe de bromocrésol	Peptone Extrait de viande lactose Pourpre de bromocrésol	5 3 10 0.025	7

Annexe 5 : Table de Mac Grady pour les coliformes des eaux. (GUIRAUD, 1998)

Nombre des tubes donnant une réaction positive sur			NPP dans 100 ml
1 tube de 50 ml	5 tubes de 10 ml	5 tubes de 1 ml	
0	0	1	1
0	0	2	2
0	1	0	1
0	1	1	2
0	1	2	3
0	2	0	2
0	2	1	3
0	2	2	4
0	3	0	3
0	3	1	5
0	4	0	5
1	0	0	1
1	0	1	3
1	0	2	4
1	0	3	6
1	1	0	3
1	1	1	5
1	1	2	7
1	1	3	9
1	2	0	5
1	2	1	7
1	2	2	10
1	2	3	12
1	3	0	8
1	3	1	11
1	3	2	14
1	3	3	18
1	3	4	21
1	4	0	13
1	4	1	17
1	4	2	22
1	4	3	28
1	4	4	35
1	4	5	43
1	5	0	24
1	5	1	35
1	5	2	54
1	5	3	92
1	5	4	161

Annexe 6: Table de Mac Grady pour les Streptocoques fécaux. (GUIRAUD, 1998)

Nombre caractéristique	Indice NPP : nombre de germes par 100 ml
000	0.00
001	0.30
010	0.30
011	0.61
020	0.62
030	0.94
100	0.36
101	0.72
102	1.10
110	0.74
111	1.10
120	1.10
121	1.5
130	1.6
200	0.92
201	1.40
202	2.00
210	1.50
211	2.00
212	2.70
220	2.10
221	2.80
222	3.5
223	4.00
230	2.9
231	3.6
232	4.00
300	2.3
301	3.8
302	6.4
310	4.30
311	7.50
312	12.0
313	16.0
320	9.3
321	15.0
322	21.0
323	29.0
330	24.0
331	46.0
332	110.0
333	140.0