

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/2022



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV

Filière : Sciences alimentaire

Spécialité : Technologie Agroalimentaire et Contrôle de Qualité

Présenté par :

*Hamrouze Asmahane & Boussaid Fatima Zohra*

Thème :

***Optimisation des conditions de conservation d'un  
fromage frais mariné dans l'huile de pin***

Soutenu le : Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Mr LEBEL FAROUK</i>	<i>MAA</i>	<i>Univ De Bouira</i>	<i>President</i>
<i>Mme DJENADI.K</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. DeBouira</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Mr REMINI.H</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. DeBouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Mme SAHRAOUI.Y</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. DeBoumerdes</i>	<i>Co-promotrice</i>

*Année Universitaire : 2021/2022*

# *Remerciements*

*Nous remercions Allah le tout puissant et miséricordieux de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier notre promoteur M. Rimini, et la co-promotrice, Mme Sahraoui pour son aide précieuse et pour notre orientation tout au long de la période de réalisation de ce travail.*

*Nos sincères remerciements également aux membres de jury qui ont accepté d'examiner notre travail et rehausser sa qualité.*

*Nous tenons à exprimer notre gratitude à l'ensemble de l'équipe pédagogique qui a nous formé tout au long de notre parcours universitaire.*

*Nous adressons aussi nos remerciements à l'ensemble du personnel de l'institut espace Pasteur pour leurs précieuse aide à accomplir notre stage pratique dans les meilleures conditions.*

*En fin, nous remercions chaleureusement tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à la mère la plus merveilleuse du monde, à celle qui a veillé à me rendre heureux pour toujours. Merci pour ta confiance aveugle en moi, rien ne peut compenser tous vos ennuis pour moi..*

*A mon père qui ne me refuse aucune demande.  
Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*À mon petit prince Idris tout les membres de la  
famille Rahmi.*

*À mon frère et mes sœurs: Ibrahim, Kenza, Dalia*

*A ma compagne Radia, à ma chère amie Amal, à  
la douce Amira, merci pour ton aide et ton soutien.*

*A mes amies Drifa, Najat et Meriem*

*A toute ma famille Hamrouze.*

*Et à tous ceux qui contribué de près ou de loin  
pour ce projet soit possible, je vous dis merci.*

*Asmahane*

*Cher Père et chère Mère pour sa confiance, ses encouragements et son soutien à tous ma carrière scolaire de la première étape à ce jour.*

*Cher frère amine et ma sœur, et son mari et à leur fils pour tout le soutien qu'ils m'ont apporté à chaque étape de mon étude.*

*À Sarah et aussi à mon amie amel de nous soutenir et de les aider et tout la famille boussaid*

*A le promoteur monsieur emini et la copromotrice Madame sahraoui pour leur soutien et leur aider*

*Zahra*

# *Table de matière*

**LISTE D'ABRIVIATION**

**LISTE DES FIGURES**

**LISTE DES TABLEAUX**

**INTRODUCTION.....01**

**PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE I : L'OPTIMISATION PAR LES PLANS D'EXPERIENCES**

**I. Les plans d'expériences.....03**

    I.1 Définition.....03

    I.2 Terminologie.....03

    I.3 Notion surface de réponse.....04

**II. L'application des plans d'expérience dans l'industrie agroalimentaire.....06**

**CHAPITRE II : LE PIN D'ALEP**

**I. Description botanique .....07**

**II. Taxonomie.....08**

**III.Composition chimique et activités biologiques de l'huile de pin d'Alep.....08**

**CHAPITRE III : LAIT ET FABRICATION DU FROMAGE**

**I. Généralités sur le lait.....11**

    I.1 Définition.....11

    I.2 Composition de lait.....11

    I.3 Facteurs affectant la composition du lait.....11

    I.4 Qualité microbiologiques du lait.....12

**II. Généralités sur le fromage.....12**

    II.1 Définition.....12

    II.2 Technologie fromagère.....12

    II.3 Classification de fromage.....14

**III.Le fromage frais.....15**

    III.1 Définition.....15

    III.2 Les différents types de fromage frais.....15

**IV.Altération du fromage.....15**



<b>V. Conservation du fromage.....</b>	<b>16</b>
V.1 Par des méthodes conventionnelles.....	16
V.2 Par des méthodes non conventionnelles.....	16

## **PARTIE PRATIQUE**

### **Matériel et méthode**

<b>I. Le contexte de l'étude.....</b>	<b>18</b>
<b>II. Matériels et équipements.....</b>	<b>18</b>
II.2 Matériels biologiques.....	18
II.2 Equipements.....	18
<b>III. Préparation des milieux de cultures.....</b>	<b>19</b>
<b>IV. Analyses physicochimique du lait de vache cru.....</b>	<b>20</b>
IV.1 Mesure de pH.....	20
IV.2 Acidité titrable.....	20
IV.3 Test d'ébullition .....	20
IV.4 Extrait sec totale.....	20
<b>V. Analyses microbiologiques du lait cru.....</b>	<b>21</b>
V.1 Recherche de la flore mésophile aérobie totale à 30 °C.....	21
V.2 Recherche des <i>Escherichia Coli</i> .....	21
V.3 Recherche des <i>Salmonelles</i> .....	22
V.4 Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	23
<b>VI. Fabrication du fromage frais.....</b>	<b>23</b>
<b>VII. La Conservation et la marinade du fromage frais dans l'huile de pin d'Alep ..</b>	<b>25</b>
VII.1 Conduite des essais et traitement des donné.....	25
<b>VIII. Analyses microbiologiques du fromage frais.....</b>	<b>27</b>
VIII.1 Recherche des <i>Escherichia Coli</i> .....	27
VIII.2 Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	28
VIII.3 Recherche des <i>Salmonelles</i> .....	28
VIII.4 Recherche de <i>Listeria</i> .....	28

## **Résultats et discussion**

<b>I. Les analyses de lait cru de vache.....</b>	<b>30</b>
I. Résultats d'analyses physicochimiques du lait cru de vache.....	30
I.2 Résultats d'analyses microbiologiques du lait cru de vache.....	31
<b>II. Résultats d'analyses microbiologiques du fromage à J0.....</b>	<b>33</b>
<b>III. Optimisation des paramètres de la qualité microbiologique du fromage frais mariné dans l'huile de pin lors de la conservation.....</b>	<b>34</b>
III.1 Conception expérimentale et analyse des données.....	34
III.2 Résultats des analyses microbiologiques de fromage témoin (non mariné) lors de la conservation.....	35
<b>IV. Résultats d'analyses de la qualité physique du fromage frais témoin et du fromage frais mariné dans l'huile de pin lors de la conservation.....</b>	<b>37</b>
<b>Conclusion et perspectives.....</b>	<b>41</b>

### **Références Bibliographiques**

### **Annexes**



## Liste des abréviations

**$a_w$**  : activité d'eau

**NaOH** : hydroxyde de sodium

**NaCl** : Chlorure de sodium

**VRBL** : Milieu lactosé biliée au cristal violet et au rouge neutre

**S.F.B** :Sélinite F Broth

**FAMT** : Flore mésophile aérobie totale

***S.aureus*** : *Staphylococcus aureus*

**FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

**OMS** : Organisation mondiale de la santé

**AFNOR** : Association française de la normalisation

**JORA** : Journal Officiel de la République Algérienne

**SNV-ST** : Sciences de la Nature et de la vie et Sciences de la Terre

## Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 01</b>	Domaine de variation du « facteur », constitué de toutes les valeurs comprises entre le niveau bas et le niveau haut ( <b>Goupy, 2016</b> ).	<b>4</b>
<b>Figure 02</b>	Définition de domaine d'étude par l'expérimentateur ( <b>Goupy, 2016</b> ).	<b>4</b>
<b>Figure 03</b>	Représentation graphique explicative d'une surface de réponse ( <b>Goupy, 2006</b> ).	<b>5</b>
<b>Figure 04</b>	Plan de Box Behnken à trois facteurs ( <b>Goupy, 1997</b> ).	<b>5</b>
<b>Figure 05</b>	Photographie de l'arbre du pin d'Alep.	<b>7</b>
<b>Figure 06</b>	Diagramme de fabrication d'un fromage frais	<b>24</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	l'activité biologique de l'huile de pin d'Alep	<b>10</b>
<b>Tableau II</b>	la composition chimique du lait de vache cru	<b>11</b>
<b>Tableau III</b>	Classification fromages en fonction de la consistance, de la teneur en matière grasse et des principales caractéristiques d'affinage <b>A-6 (FAO, 1995)</b> .	<b>14</b>
<b>Tableau IV</b>	L'effet des plantes sur la conservation de fromage	<b>17</b>
<b>Tableau V</b>	Les matériels et les milieux de cultures utilisés durant la partie expérimentale	<b>19</b>
<b>Tableau VI</b>	Niveaux de facteurs dans la conception de Box-Behnken	<b>25</b>
<b>Tableau VII</b>	La matrice du plan Box-Behnken de la méthode MSR (méthode de surface de réponse) pour l'optimisation des conditions de conservation du fromage frais marinée dans l'huile de pin	<b>26</b>
<b>Tableau VIII</b>	Résultats d'analyse physicochimique de lait cru	<b>30</b>
<b>Tableau IX</b>	Résultats d'analyses microbiologiques de lait cru	<b>31</b>
<b>Tableau X</b>	Résultats d'analyses microbiologiques des fromages à J0	<b>33</b>
<b>Tableau XI</b>	Les résultats de la matrice du plan Box-Behnken avec les quatre réponses du suivi de la qualité microbiologique du fromage mariné lors de la conservation	<b>34</b>
<b>Tableau XII</b>	Les résultats du suivi de la qualité microbiologique des fromages témoins (non marinés) lors de la conservation	<b>35</b>
<b>Tableau XIII</b>	Résultats d'analyses de la qualité physique du fromage frais témoin (non mariné) lors de la conservation	<b>37</b>
<b>Tableau XIV</b>	Résultats d'analyses de la qualité physique du fromage frais marinée dans l'huile de pin lors de la conservation	<b>39</b>

# INTRODUCTION

## **Introduction**

Le lait est l'aliment du nouveau né. Sa composition est propre à chaque mammifères et satisfait aux premiers besoins alimentaires comme des protéines, des glucides, des graisses, des vitamines et d'oligo-éléments **(Turck, 2013) (Gouedranche, H et al, 2001)**.

Le lait cru de toutes les espèces a une durée de conservation relativement courte compte tenu de sa composition et sa nature très nutritive, ce qui en fait un excellent milieu pour la croissance des micro-organismes **(Mejares et al, 2022)**. Pour cela, les producteurs laitiers recherchent des formes de produits qui transmettent les éléments nutritifs essentiels du lait tout en réduisant le risque de contamination et ainsi prolonger leur durée de conservation. C'est dans ce contexte que sont apparues il y a plusieurs millénaires les premières transformations laitières (transformations fromagères) **(Jeantet et al, 2017)**.

Progressivement, ces techniques de transformations fromagères se sont développées, souvent autour de pratiques régionales guidées par la nature du lait disponible, les habitudes alimentaires et le contexte socioculturel. L'accumulation des connaissances en science du lait et la maîtrise des procédés de transformation font qu'aujourd'hui on dénombre de très nombreuses variétés de fromages possédant chacune sa propre originalité **(Gouedranche, H et al, 2001)**.

Parmi ces variétés, le fromage frais représente un groupe diversifié de variétés produites par la coagulation du lait, de la crème ou du lactosérum via une acidification par l'ajout d'une petite quantité de présure ou une combinaison d'acide et de chaleur **(Fox et al, 2017)**, ce type contient environ 79% d'humidité ce qu'il peut favoriser la contamination par des micro-organismes indésirables.

Cependant, l'utilisation d'antimicrobiens synthétiques comme conservateurs alimentaires est progressivement limitée par les réglementations de plus en plus strictes en raison de leur toxicité et leurs problèmes croissants d'antibiorésistances **(De Campos et al, 2022)**, cela rend l'utilisation des bioconservateurs de plus en plus appréciée par les consommateurs comme alternative aux produits chimiques qui présentent un risque important



pour la santé humaine (**Zantar et al, 2013**). Au fil du temps, de nombreuses études ont démontrées les propriétés antimicrobiennes et antioxydantes des composés bioactifs présents dans les plantes médicinales (**Bouyahya et al, 2019**) notamment les huiles végétales, les huiles essentielles et d'autres extraits.

En Algérie, la fabrication des fromages traditionnels est une activité ancestrale bien connue, transmise de génération en génération, ce qui représente un aspect important de la culture Algérienne. Cependant, la fabrication de ces fromages traditionnels est limitée par les populations rurales ou elle est destinée à l'autoconsommation et le surplus peut être vendu dans les marchés urbains. Ces fromages méritent d'être produits à petite et grande échelle industriel pour améliorer leurs qualités et leurs commercialisations formelles afin de déminer le risque de leurs disparitions (**Amimour, 2019**).

Afin de protéger et de valoriser ce savoir ancestral et traditionnel de la fabrication du fromage. Une connaissance des paramètres influant la transformation fromagère dans une optique de limiter leur impact sur le mécanisme transformationnel en faisant appel à des techniques de conception expérimentale. Parmi ces techniques, la méthode d'optimisation par les plans d'expériences est une technique statistique efficace largement utilisée dans la modélisation mathématique. Elle permet d'étudier l'effet de plusieurs variables avec leurs interactions mutuelles, de minimiser le nombre d'expériences et donc d'optimiser le processus technologique de transformation fromagère (**Amimour, 2019**).

C'est dans ce contexte que s'inscrit ce travail qui consiste à fabriquer un fromage frais mariné dans l'huile de pin, dans l'optique de prolonger la bioconservation du néo-produit. En tenant compte l'optimisation des paramètres affectant sa bioconservation à savoir la température, le temps, et la quantité d'huile par l'utilisation d'un plan de surface de réponse, et suivi par la réalisation d'analyses microbiologiques tout au long de la durée de conservation.

CHAPITRE I  
L'OPTIMISATION PAR  
LES PLANS  
D'EXPERIENCES

## **I. Les plans d'expériences**

A l'ère actuelle bon nombre de procédés de fabrication ou d'expériences en laboratoire deviennent de plus en plus complexes car ils dépendent d'un grand nombre de variables difficiles à régler intuitivement, par exemple : la détermination des proportions d'un mélange chimique (Tinsson, 2010).

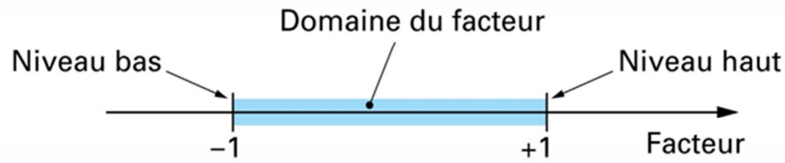
Seule la réalisation d'un plan d'expériences va permettre d'appréhender et de modéliser de tels phénomènes complexes. Si ces expériences sont effectuées sans une méthodologie rigoureuse il est fort probable qu'elles vont soit conduire à des impasses (modèle impossible à ajuster, résultats incohérents, etc...) soit à des résultats de qualité décevante. C'est pourquoi la méthode des plans d'expériences est préconisée afin d'optimiser ce type de démarche (Tinsson, 2010).

### **I.1. Définition d'un plan d'expérience**

Un plan d'expériences peut être défini comme une suite d'essais organisés à l'avance, de manière à déterminer au moyen d'un nombre réduit d'essais et avec un maximum de précision, l'influence de multiples paramètres (facteurs  $x_i$ ) sur une (ou plusieurs) propriété (s) étudiée(s) (réponses  $y$ ) (Chaabouni et al, 2012).

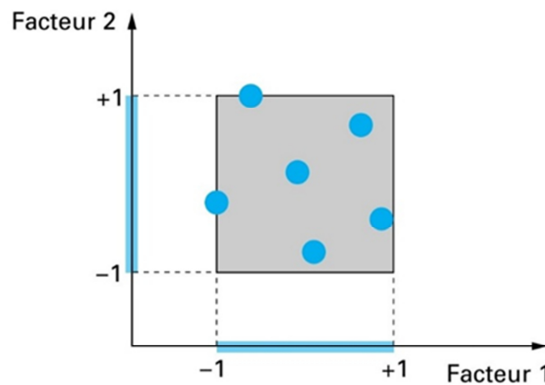
### **I.2. Terminologie**

- **La réponse** : est la grandeur qui est observée pour chaque expérience réalisée (Goupy et Creighton, 2013).
- **Facteur** : est toute variable, obligatoirement contrôlable, susceptible d'influer sur la réponse observée (Goupy et Creighton, 2013).
- **Niveau** : est la valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes. La borne inférieure est le niveau bas (-1). La borne supérieure est le niveau haut (+1) (Goupy et Creighton, 2013).
- **Domaine de facteur** : est la zone entre les deux niveaux. Elle inclut les valeurs qui peuvent être utilisées lors d'essais (Goupy et Creighton, 2013).



**Figure 01** : Domaine de variation du « facteur », constitué de toutes les valeurs comprises entre le niveau bas et le niveau haut (Goupy, 2016).

- **Domaine d'étude** : est la partie de l'espace expérimental retenu par l'expérimentateur pour faire ses essais, ou est la réunion des domaines de chaque facteur (Goupy et Creighton, 2013).



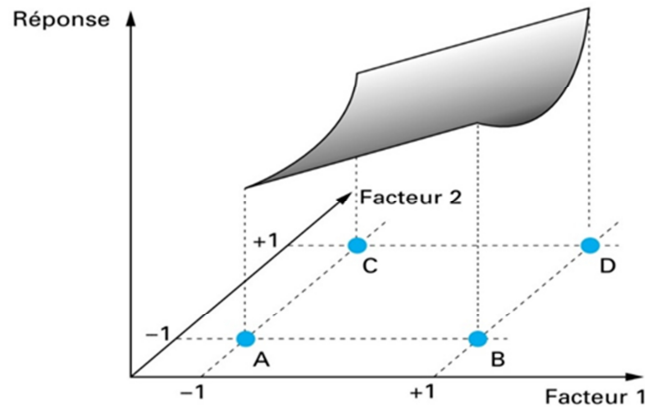
Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude.

**Figure 02** : Définition de domaine d'étude par l'expérimentateur (Goupy, 2016).

### I.3. Notion de surface de réponse

Les niveaux «  $x_i$  » représentent les coordonnées d'un point expérimental qui y est la valeur de la réponse en ce point. On attribue à la réponse un axe orthogonal à l'espace expérimental. Par conséquent la représentation géométrique d'un plan d'expériences et des réponses associées a besoin donc d'un espace ayant une dimension de plus que l'espace expérimental. La représentation géométrique des résultats d'un plan à deux facteurs nécessite un espace à trois dimensions : deux pour les facteurs, et une pour la réponse (Goupy, 2016).

Dans le domaine d'études, chaque point correspond à une réponse. L'ensemble de ces points avec leurs réponses se localisent sur une surface appelée la surface de réponse (Goupy, 2016).

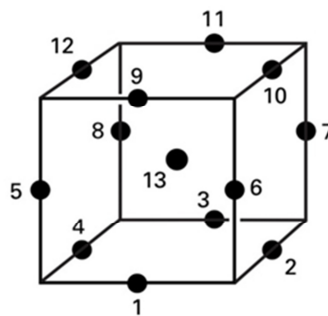


**Figure 03** : Représentation graphique explicative d'une surface de réponse (Goupy, 2006).

Plusieurs plans factoriels sont employés par cette technique pour l'analyse des résultats à savoir le plan Box-Behnken.

- **Plan Box-Behnken :**

Le plus connu des plans de Box-Behnken est celui qui permet d'étudier trois facteurs. Les points expérimentaux sont au milieu des arêtes de chacun des côtés du cube. C'est un plan qui peut comporter jusqu'à douze essais, auxquels on peut ajouter des points au centre. Un plan avec trois facteurs est illustré dans la figure suivante (Goupy, 1997)



**Figure 04** : Plan de Box Behnken à trois facteurs (Goupy, 1997)

#### I.4. Modèle mathématique postulé

Un modèle est, en général, une expression linéaire de la variable réponse en fonction des facteurs et des interactions que l'on suppose avoir un effet sur la réponse. (Sabre, 2007).

Les plans du second degré ou plans pour surfaces de réponse permettent d'établir des modèles mathématiques du second degré. Ils sont utilisés pour les variables continues. Pour deux facteurs, on a :

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_{12}x_1x_2 + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + e$$

$y$ : est la réponse ou la grandeur d'intérêt.

$x_1$  et  $x_2$ : représente le niveau attribué aux facteurs 1 et 2 par l'expérimentateur pour réaliser un essai. Cette valeur est parfaitement connue.

$a_0$   $a_1$   $a_{11}$   $a_{12}$  : sont les coefficients du modèle mathématique.

$e$  : L'erreur.

## **II. L'utilisation des plans d'expériences dans l'agroalimentaire :**

Ces dernières années, l'organisation d'essais expérimentaux a occupé une place importante pour remplacer la démarche traditionnelle notamment dans le domaine de l'industrie agroalimentaire, qui se préoccupe à chaque fois du développement et de la création de nouveaux produits (**Sabre, 2006**).

Cependant, la réalisation des productions de meilleure qualité avec un coût plus bas est de plus en plus une quête universelle pour tous les fabricants, et nécessite une approche scientifiquement rigoureuse qui est le « plan d'expériences » (**Tinsson, 2010**).

Ainsi, une industrie de cake ou de chocolat, par exemple, doit réaliser plusieurs mélanges en variant les composants ou en variant tout simplement leur dosage pour obtenir un produit qui répond à certaines caractéristiques organoleptiques exigées ou une telle texture (**Sabre, 2006**).

L'objectif du plan d'expériences est de répondre à ces questions en proposant des méthodes mathématiques permettant d'organiser un nombre réduit d'essais expérimentaux dont les résultats sont exploitables (**Sabre, 2006**).

# CHAPITRE I

## LE PIN

## **I. Descriptif botanique :**

Le *Pinus* est un genre appartenant à la famille des *Pinaceae* (Nahal, 1962), que l'on retrouve dans la majeure partie de l'hémisphère Nord, résiste à la sécheresse et peu tolérant aux sols peu fertiles, et au climat aride (Boubou, 2016). Il convient de mentionner que le *Pinus Halepensis Mill.*, est l'une des essences forestières les plus grands et les plus importants représentant du ce genre largement réparties dans tout le bassin méditerranéen, et qui comprend environ 800 espèces dans le monde. Ensuite on trouve le *Pinus pinea* et *Pinus pinaster* (Ayaria et Romdhane, 2020).

L'arbre « *Snouber* » est l'arbre le plus répandu en Algérie avec une superficie d'environ 900 000 hectares. On le trouve jusqu'en 2000 m d'altitude de la cote, aux branches étalées (Figure 05).



**Figure 05 : Arbre de pin ( Boutechiche et Boutrigh, 2016).**

Ce genre est généralement caractérisé par :

- **Le tronc:** le pin a un tronc tortueux, irrégulier et branchu, le fut utilisable comme bois d'œuvre dépasse rarement 8 m (Nahal, 1962).
- **L'écorce:** est épaisse et fissurée, elle est généralement lisse et gris argenté pour les jeunes arbres. Chez les adultes, elle forme un rhytidome plus ou moins gerçure en écailles minces, larges et aplaties et de couleur rougeâtre. Elle est très inflammable et contient une grande quantité de tanins (Nahal, 1962).
- **Le cône:** *Pinus* a un cône pédonculé de 6 à 7 cm rassemblant à des chatons dressés. Les cônes, produisent une grande quantité de pollen jaune orangé dispersé par le vent (Dalal et Ismahane, 2020).



- **Les aiguilles** : sont de fausses feuilles fines vertes foncées, persistantes, filiformes, qui poussent par paires (Sadou et al, 2015).
- **La graine** : est de couleur brune grise sur en face et gris moucheté de noir sur l'autre face, à une longueur de 5 à 6 mm (Dalal et Ismahane, 2020), il est très consommé en pâtisserie et longuement utilisée dans la médecine traditionnelle (Kadri et al, 2013).

## II. Taxonomie

La position systématique du taxon selon l'approche morphologique des *PinusHalepensis* Mill., *Pinuspinea* et *Pinuspinaster* est décrite comme suivant (Maire, 1952) (Meullemiestre, 2014) :

Plante Titre	<i>PinusHalepensis</i>	<i>Pinuspinea</i>	<i>Pinuspinaster</i>
Règne	Plantae	Plantae	Plantae
Embranchement	Spermaphytes	Spermaphytes	Pinophyta
Sous- embranchement	Gymnospermes.	Gymnospermes	Gymnospermes
Classe	Pinopsida	Pinopsida	Pinopsida
Ordre	Pinales	Pinales	Pinales
Famille	Pinaceae	Pinaceae	Pinaceae
Genre	<i>Pinus</i>	<i>Pinus</i>	<i>Pinus</i>
Espèce	<i>Halepensis</i> Mill.	<i>Pinea</i> L.	<i>Pinaster</i>

## III. Composition chimique et activités biologiques de l'huile de pin

L'utilisation croissante des plantes comme source d'huile a motivé les chercheurs à exploiter la diversité végétale et à rechercher de nouvelles sources d'huile avec une composition classique et originale en acides gras (Khoudja, 2020). L'étude de Kadri et al, (2015), a montré que les graines de pin d'Algérie sont très riches en huile totale avec respectivement 36,73%, 19,78%, 24,15% pour *PinusHalepensis* Mill., *Pinuspinea* L. et *Pinuspinaster*. Comme tenue de la quantité conséquente de la matière grasse, il est plus rentable d'extraire huile pour bénéficier de ses composants dans divers secteurs, en raison de son rôle important dans la nutrition humaine et la santé.

La composition chimique montre que l'huile de pin varie d'une espèce à l'autre, elle contient environ de 87% d'acides gras essentiels (saturés et insaturés), dont les principaux sont : acide linoléique (59,25, 30,67 et 51,95%), acide oléique (24,55, 34,63 et 18,42%) ; linoléique (4,03, 22,21%), acide palmitique (4,99, 6,84 et 29,61%), acide arachidique (3,89, 1,39%), acide stéarique (3,26, 3,56 et 29,61%) respectivement pour *Pinus Halepensis Mill.*, *Pinus pinea L.* et *Pinus pinaster*. Cette huile est également source d'autres composants dont les plus importants comme les phénols, les tocophérols et les stérols (Ait Atman et al, 2021).

Plusieurs études ont confirmés la présence d'un large éventail d'activités biologiques associées à la composition phytochimique de l'huile de pin comprenant des tocophérols, composés phénoliques, les phytostérols notamment le  $\beta$  systérol, qui sont particulièrement considérés comme les principaux antioxydants d'huiles (Ait Atman et al, 2021).

La consommation des composés antioxydants et des acides gras insaturés de l'huile de pin d'Alep, particulièrement l'acide linoléique ( $\omega$  6) et l'acide linoléique ( $\omega$  3) suscitent un grand intérêt en raison de leurs nombreux bienfaits pour la santé, ce qui le rend un bon candidat comme un aliment fonctionnel, Le tableau I présentent l'activité et l'action de certains de composés d'intérêt (Ait Atman et al, 2021) :

**Tableau I :** l'activité biologique des composés de l'huile de pin

<b>Composé :</b>	<b>Activité :</b>	<b>Action :</b>
Tocophérols	Activitéantioxydante	Inhibent la peroxydation des lipides et piègent les radicaux libres dans les membranes biologiques en éteignant les radicaux peroxydes des acides gras.
$\gamma$ -tocophérol, plutôt que l' $\alpha$ -tocophérol	Activité anti-inflammatoire	Inhibe les eicosanoïdes pro-inflammatoires et réduit ainsi les troubles liés à l'inflammation,notamment le cancer (en particulier de la prostate) et les maladies cardiovasculaires.
Phytostérols : en particulier le $\beta$ -sitostérol	Activité antioxydante Activité anti-inflammatoire	La réduction du cholestérol plasmatique, amélioration des fonctions immunitaires, anticancéreux (poumon, sein, estomac, ovaire)
Flavonoïdes	Activité antiallergique( <b>Marfak, 2003</b> )	Inhibe les enzymes responsables de la sécrétion d'histamine et d'autres substances endogènes qui causent l'asthme.

CHAPITRE  
LAIT ET  
FABRICATION DE  
FROMAGE FRAIS

## **I. Généralité sur le lait cru**

### **I.1. Définition de lait**

Le lait est un aliment liquide complet, blanc, très nutritif, très riche et équilibré. Il constitue l'une des principales sources alimentaires et énergétiques en protéines d'origine animale, en calcium, lipides et vitamine (Lotfi et al, 2021).

Le lait été défini en 1908, au cours du congrès international de la Répression des Fraudes à Genève comme étant « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum » (Levieux, 1999).

Le lait cru est un lait qui n'a subie aucun traitement de conservation sauf la réfrigération (Fredot, 2006).

### **I.2. La composition chimique du lait**

La composition du lait varie en fonction de la race et l'âge et l'alimentation de la vache considérée. Les principaux constituants sont représentés dans le tableau suivant (Beal et Sodini, 2003) :

**Tableau II : la composition chimique du lait de vache cru**

<b>Composant</b>	<b>Teneur exprimé en (g) pour 100g du lait</b>
<b>Eau</b>	87,8
<b>Glucide (lactose)</b>	4,8
<b>Matière grasse</b>	3,9
<b>Matière azotée</b>	3,8
<b>Protides</b>	3,4
<b>Caséine</b>	2,6
<b>Protéines solubles</b>	0,5
<b>Azote non protéique</b>	0,1
<b>Minéraux</b>	0,7

### **I.3. Facteurs affectant la composition du lait :**

Il existe plusieurs facteurs qui affectent la composition de lait qui se répartissent en deux catégories principales ; non alimentaires et alimentaires. Ils sont liés soit à l'animal (facteurs

génétiques, stade de lactation, état sanitaire), soit à l'environnement et de conduite d'élevage (température, saison, climat).

La composition du lait est variable et dépend de la composition génétique de la femelle laitière (race, espèce), l'âge, la saison, stade de lactation, l'alimentation. Tous ces facteurs peuvent avoir des effets importants sur la composition du lait (**Dubuc, 2007**).

#### **I.4. Qualité microbiologique du lait**

Le lait est un aliment dont la durée de vie est très limitée. Il contient peu de micro-organismes même issus d'une traite dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de 5000 germes/mL) (**Larpen, 1997**), dont le développement rapide par la qualité d'air, le matériel de traite, et les pratiques d'éleveurs, glande mammaire (**Menard et al, 2004**). Les micro-organismes du lait sont répartis en :

**Flore originelle** : le lait contient essentiellement des germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques et lactobacilles (**Guiraud, 1998**).

**Flore de contamination** : le lait au cours de traite jusqu'à la consommation est contaminé par grande variété de microorganismes (fèces d'animal, sol, eau, et manipulateur). Elle est composée d'une flore d'altération et flore pathogène (**Guiraud et Rosec, 2004**).

## **II. Généralité sur le fromage**

### **II.1. Définition de fromage**

Selon le Codex Alimentarius (**FAO/OMS**), le fromage est un produit affiné ou non affiné, solide ou semi-solide, dont le rapport protéines caséines/sérique n'est pas supérieure à celui du lait. Il peut être obtenu par coagulation des matières d'origine exclusivement laitière, grâce à l'action de la présure ou par l'ajout d'un coagulant spécifique, suivi d'un égouttage partielle du lactosérum issu du processus précédent, ou par l'emploi de techniques de transformation incluant la coagulation du lait de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physicochimiques et organoleptiques similaires à celle incluses dans la classifications des fromages.

### **I.2 Technologie fromagère**

La transformation du lait en fromage comporte trois étapes principales : la coagulation, l'égouttage et l'affinage. Cette dernière étape n'existe pas dans le cas des fromages frais (**Evette, 1975**).

- **Préparation de lait :**

- **Filtration:** le lait cru est d'abord filtré au travers d'un tissu à mailles très fines afin d'éliminer les impuretés grossières qu'il peut contenir **(FAO, 1995)**.

- **La standardisation:** est un processus utilisé pour produire du lait avec une teneur en matière grasse spécifiée. Soit par remélange direct via des systèmes de standardisation automatisés, soit en mélangeant du lait entier dans des cuves de mélange **(FAO, 1995)**.

- **Pasteurisation:** le lait est soumis à un traitement thermique intense La pasteurisation doit être suffisante pour détruire les bactéries capables d'altérer la qualité du fromage, c'est pourquoi la technique de pasteurisation HTST (High Temperature Short Time) normale, à 72-73°C pendant 15 à 20 secondes, est la plus communément utilisée **(FAO, 1995)**.

- **La coagulation :**

Est la transformation du lait liquide en gel, par une modification physico-chimique des micelles de caséines sous l'influence d'enzymes protéolytiques et (ou) d'acide lactique. Les mécanismes proposés diffèrent dans leur composition tout dépend le type de coagulation **(Herbert et al, 1999)**:

- **Coagulation par voie acide:** consistent à précipiter les caséines à leur point isoélectrique (pH=4,6) par acidification biologique qui transforment le lactose en acide lactique à l'aide des ferments lactiques **(Phadungath, 2005)**.

- **Coagulation par voie enzymatique:** est assurée par un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétale ou microbienne, ayant la propriété de coaguler le lait. L'enzyme la plus fréquente en fromagerie est la présure, secrétée dans la quatrième caillette du jeune veau **(Farkye, 2004)**.

- **Coagulation mixte:** elle résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification. La multitude de combinaison conduisant à différents états d'équilibres spécifiques est à l'origine de la grande diversité des fromages à pâte molle et à pâte pressée non cuite **(Mahaut, 2003)**.

- **L'égouttage:**

Est un phénomène dynamique caractérisé par l'élimination de lactosérum. Il fixe les propriétés physiques (pH et  $a_w$ ) et les propriétés chimiques du caillé. Ce processus est lié à des facteurs directs qui correspondent à des traitements de types mécaniques et thermiques, et des facteurs indirects comme l'acidification ou coagulation enzymatique (**Weber, 1987**).

- **Le salage :**

Il a un triple rôle ; il complète l'égouttage et contribue à la formation de la croûte, il règle l'activité de l'eau ( $a_w$ ) de fromage, et par là favorise, freine ou oriente le développement des microorganismes et les activités enzymatiques au cours de l'affinage, ainsi qu'il relève la saveur de fromage. Les modalités de salage sont par saumurages, salage à sec et salage en masse. La plupart des fromages ont un teneur en sel de 1.5% à 2.5% (**FAO, 1995**).

## **II.2. Classification des fromages**

La norme internationale **A-6 (FAO/OMS, 1987)** permet de classer les fromages en fonction de leur teneur en eau dans le fromage dégraissé (TEFD : teneur en eau dans le fromage dégraissé), leur teneur en matière grasse sur la matière sèche (MGES : matière grasse dans l'extrait sec) et les principales caractéristiques d'affinage (tableau III)



**Tableau III:** Classification fromages en fonction de la consistance, de la teneur en matière grasse et des principales caractéristiques d'affinage **A-6 (FAO, 1995)**.

Terme1		Terme2		Terme3
Si H.R.E.Dest, en%	La 1ère phase de la désignation doit être	Si <b>MG/E.S</b> est, en%	La 2ème phase de la désignation doit être	Désignation d'après les principales caractéristiques de maturation
< 41	Pâte extra dure	> 60	Très gras	1- Muri ou affiné
45 – 56	(Parmesan)	45 – 60	Gras	2- Muri ou affiné aux moisissures
54 – 63	Pâte dure	25 – 45	Demi-gras	3- Non muri ou non affiné
61 – 69	(Gruyère)	10 – 25	¼ gras	
> 67	Pâte demi-dure (Gouda) Pâte demi-molle (Brie) Pâte molle (Fromage Frais)	< 10	Maigre	

### III. Le fromage frais

#### III.1. Définition

Le fromage frais est un fromage à pâte molle non affiné qui, selon la norme FAO/ OMS C 31, possède un goût crémeux ou légèrement acide et l'arôme caractéristique d'un produit laitier issu d'une culture à base d'acide lactique et de bactéries spécifiques. Ce type est facile à tartiner et à mélanger avec d'autres aliments (**FAO, 1995**).

#### III.2. Les différents types de fromage frais

En fonction de diverses opérations, on distingue (**Randoin et Jourdan, 1952**) :

- **Fromage demi-sel** : c'est un fromage frais contenant environ 2% de NaCl, 40% de matière grasse pour 100g de matière sèche, et plus de 30% d'extrait sec total (**Larpen et Larpen, 1985**).
- **Petit-Suisse** : est un fromage blanc frais à extrait sec plus élevé de texture tartinable, il doit être de forme cylindrique avec un poids de 30g ou de 60g (**Veisseyre, 1979**).

- **Fromage blanc** : (sans présure) ou (présure), ou fromage blanc du commerce.

#### **IV. Altération de fromage**

La présence de différents microorganismes dans le fromage peut réduire la durée de conservation et la stabilité du produit et certains entre elles peuvent être pathogènes pour l'homme. Selon le degré de la gravité, on distingue deux catégories des micro-organismes indésirables susceptibles de contaminer le lait et les fromages (**Sindic et al, 2019**):

- Les germes nuisibles à la qualité organoleptique des fromages comme *Escherichia Coli*.
- Les pathogènes, dangereux pour la santé humaine qui ne doivent pas être présents comme *Listeria Monocytogenes* et *Salmonella spp*(**Hermier et al, 1992**).

La présence de ces derniers dépend du degré de contamination et des capacités de développement des germes. Ce sont essentiellement les caractères physico-chimiques du fromage et les conditions d'affinage et de stockage, qui peuvent orienter le développement microbien. Trois critères sont importants (**Eck et Gillis, 2006**) :

- L'activité de l'eau ( $a_w$ ) qui diminue avec le salage et devient inhibitrice à 0,95.
- Le potentiel d'oxydoréduction, élevé en surface (aérobie) et faible dans la pâte (anaérobie) favorise la sélection microbienne.
- Le pH variable dans le temps, en surface et en profondeur d'un fromage à un autre, la gamme 4,5-5,2 est la limite pour l'inhibition des microorganismes.

#### **V. Conservation de fromage**

##### **V.1. Méthodes conventionnelles**

Le fromage est un aliment délicat, vivant, qui nécessite un soin particulier pour être conservé dans de bonnes conditions, ou il doit être stocké dans un endroit frais, sombre et à l'humidité réduite.

En réfrigération, on cherche surtout à éviter la déshydratation, notamment lorsque les fromages sont nus : dans ce cas on les conserve généralement à des températures comprises entre 0° C et + 2° C (**Anquez, 1974**).

Plus rarement, on congèle des fromages, des expériences semblent donner d'excellents résultats, notamment sur les fromages suisses à pâte dure ou à pâte molle (**Anquez, 1974**).

En plus de ces techniques, certains conservateurs alimentaires sont autorisés à être utilisés selon le type de fromage, notamment : l'acide sorbique (E200), sorbate de potassium (E202), propionate de sodium (E281), nitrate de potassium (E252) (**Commission codex alimentarius, 2010**).

## **V.2. Méthodes non conventionnelles**

De nombreuses études ont montré que certaines plantes médicinales contiennent des peptides et/ou des métabolites secondaires qui présentent des propriétés antimicrobiennes contre les agents pathogènes d'origine alimentaire, parmi eux *Thymus vulgaris* (Thymus) ou Extrait de Clou de girofle (**Licon et al, 2020**).

**Tableau IV:** l'effet des plantes sur la conservation de fromage

<b>La plante</b>	<b>L'action</b>
<i>Thymus vulgaris</i> (Thymus)	empêcher le développement de micro-organismes d'altération à la surface du fromage.
Extrait de Clou de girofle ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	- Augmenté la stabilité du fromage contre l'oxydation des lipides. - Effet contre <i>L. monocytogenes</i> , <i>S. aureus</i> et <i>Salmonella enterica</i> dans le fromage à température ambiante.

CHAPITRE  
MATÉRIEL ET  
MÉTHODE

## **I. Contexte de l'étude**

Le travail a été réalisé à divers endroits, les analyses microbiologiques du lait cru de vache a été effectuée dans un laboratoire privé de contrôle de qualité alimentaire sis Ain Bessam-Bouira. Les analyses physicochimiques du lait cru ainsi que la fabrication du fromage a été réalisée dans le laboratoire 09 de la faculté SNV-ST de l'université de Bouira. Le suivi des paramètres microbiologiques du fromage mariné/ou pas dans l'huile de pin lors de la conservation a été effectué à l'institut Pasteur de Dali Brahim.

## **II. Matériel et équipements**

### **II.1. Matériel biologique**

Le bioconservateur d'origine végétale objet de cette étude est l'huile de pin d'Alep, environ 32 flacons de 60 ml ont été achetés au niveau d'une Herboristerie de la Wilaya de Bouira.

Les échantillons du lait cru de vache ont été collectés à partir des vaches saines de la région Ain Turk-Bouira. La traite de la vache est une traite manuelle, ce processus est répété deux fois par jour (le matin et le soir). Après la traite, le lait cru est transporté immédiatement dans une glacière au laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, AkliMouhandOulhadjBouira pour d'éventuelles analyses et travaux.

Les cultures lyophilisées pures « ferments lactiques mésophile » et la présure destinées à la fabrication du fromage frais sont obtenus auprès du fournisseur « Foods Mania » (El-Harrach, Alger) spécialisé dans la vente des matières premières pour la fabrication de différents types de produits laitiers et dérivés. La culture bactérienne a été conservée au congélateur à -4 °C et la présure a été conservée au réfrigérateur à +4 °C.

### **II.2. Equipements**

Le matériel et les équipements utilisés durant le travail pratique sont présents dans le tableau V

**Tableau V** : les matériels et les milieux de cultures utilisés durant la partie expérimentale

---

Matériel	Milieux de cultures et réactifs
- Thermomètre	- Na-OH (0.1 N)
- pH mètre	- alcool à 95°
- Balance de précision	- TSE
- Etuve (30, 37 et 44 °C)	- Additif S.F.B
- Autoclave	- Boillon S.F.B
- Bain-marie	- Additif fraser
- Plaque chauffante agitatrice	- Jaune d'œuf
- Réfrigérateur	- Tellurite de potassium
- Erlenmeyer	- Eau peptone
- Boîte de pétrie	- Gélose nutritive
- Tube à essai	- Milieu Baird Parker
- Sachets stériles	- Milieu VRBL
- Stomacheur	- Milieu Oxford
- Flacon	- Milieu Hektoène
- Bicher	
- Spatule	
- Burette graduée	
- Pipette pasteur	
- Entonnoir	
- Verre de montre	
- Etiquette	
- Bocaux	
- Bandes à gaz	
- Vortex	

---

### **III. Préparation des milieux de culture :**

La préparation des milieux de cultures de croissance des bactéries d'intérêts a été réalisée selon la procédure indiquée sur l'étiquette de chaque boîte de milieux, en fonction des besoins des bactéries à rechercher..

## **IV. Les Analyses physico- chimiques du lait cru de vache :**

### **IV.1. Mesure de pH**

Le pH par définition est la mesure de l'activité des ions H<sup>+</sup> contenus dans une solution. La mesure du pH renseigne sur l'acidité du lait. Ce dernier est considéré comme frais si son pH est compris entre [6,4 à 6,8].

La mesure est réalisée directement en plongeant l'électrode du pH mètre(STARTER2100, OHAUS) dans un bécher contenant 10 ml de lait à analyser.

### **IV.2. L'acidité titrable**

Elle est basée sur le titrage de l'acide lactique par la soude (NaOH) en présence de la phénolphthaléine ou pH mètre (**Lapointe et Québec, 2002**).

#### **Mode opératoire**

- 1- Dans un bécher introduire 3 ml du lait frais bien homogénéisé
- 2- Plonger l'électrode de pH mètre dans bécher
- 3- Titrer avec la soude (NaOH 0,1N) jusqu'au pH = 8,2

### **IV.3. Test d'ébullition**

Un lait qui n'est pas frais présente une structure de caséines particulièrement instables. Dès lors, un simple traitement thermique suffit à les précipiter. Si le lait est frais, le liquide reste uniforme au bout d'un moment, une pellicule blanche ridée (principalement composé de calcium, de protéines et de matières grasses) se forme à la surface, les laits acidifiés se coagulent par ébullition (**Thieulin et Vuillaume ,1967**).

### **IV.4. L'extrait sec**

La matière sèche du lait est le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la norme AFNOR(**1985**), elle est exprimée en (g /l) de lait.

La détermination de l'extrait sec totale nous permet d'évaluer la qualité physicochimique du lait, pour éviter un mouillage excessif du lait.

#### **Mode opératoire**

- 1- Peser la capsule vide
- 2- Tarer la balance et mettre 5 ml du lait dans la capsule
- 3- Placer la capsule dans l'étuve à  $103 \pm 2$  °C pendant 3 heures

- 4- A la sortie de l'étuve, peser à nouveau la capsule.

**Expression des résultats :**

$$\text{Extrait sec (\%)} = \frac{(m_2 - m_0)}{(m_1 - m_0)} \times 100$$

M0 : le poids de la capsule vide

M1 : le poids de la capsule + lait avant séchage.

M2: le poids de la capsule + lait après séchage.

**V. Les analyses microbiologiques du lait cru de vache**

**V.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale à 30 °C**

A partir des dilutions décimales :

- 1- Porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri vide
- 2- Compléter avec 12 à 15 ml de gélose GN.
- 3- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.
- 4- Laisser solidifier sur la paillasse.
- 5- Incubées à 30 °C pendant 72 h.

Les colonies des FAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

**V.2. Recherche et dénombrement des *E. coli***

*Escherichia coli* est une bactérie anaérobie facultative, Gram négatif en forme de bâtonnet. Ce micro-organisme a été décrit pour la première fois par Theodor Escherich en 1885 (**Lim et Hovde, 2010**).

**Mode opératoire**

- 1- Inoculer 1ml de la dilution décimale dans des boîtes pétri vides et stériles.
- 2- Ensemencer en double couche environ 15ml de Gélose VRBL, bien homogénéisé, laisser refroidir sur une surface fraîche et parfaitement horizontale.
- 3- Couler une seconde couche (environ 4 ml) de ce milieu et laisser solidifier à nouveau.
- 4- Incuber les boîtes à 44 °C pendant 48h.



La lecture se fait par un dénombrement des colonies typiques des coliformes en rose rouge sur des boîtes comprenant entre 15 et 150 colonies.

### **V.3. Recherche des *Salmonelles***

Les *Salmonelles* sont des bactéries mobiles à Gram négatif sous forme de bacille de type aérobie-anaérobie facultatif appartenant à la famille des Enterobacteriaceae et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques (dégradation du lactose et production de l'H<sub>2</sub>S), à forte contagiosité, responsable de gastro-entérites, toxi-infection alimentaire (Brisabois et al, 1997).

La détermination de la présence ou de l'absence de ces micro-organismes dans une masse ou un volume est déterminée dans un produit, selon la méthode du JORA n° 42 du 15 juin 2005

- **Jour 1:**

**Pré-enrichissement** : la solution mère du lait est incubée à 37°C pendant 24 heures.

- **Jour 2:**

**Enrichissement**: L'enrichissement proprement dit, se fait à partir du milieu de pré-enrichissement en introduisant 1mL de lait avec 9mL de bouillon au sélénite, l'incubation se fait à 37°C pendant 24 h.

- **Jour 3:**

**Isolement** : Chaque flacon fera l'objet d'un isolement en striés sur milieu gélosé Hektöen et incubé dans l'étuve à 37 °C pendant 24 h.

- **Jour 4:**

Lecture des boîtes et identification : Cinq colonies caractéristiques et distinctes font l'objet d'une identification morphologique et biochimique

### **V.4. Recherche et dénombrement des *Staphylocoques***

Sont des cocci à Gram positif, non sporulés, regroupés en amas, immobiles, anaérobies facultatifs et possédant une catalase et constituent la cause la plus fréquente de lésions suppurées localisées chez l'homme (Ananthanarayan, R, 2006).

1- Inoculer 1ml de la dilution décimale dans des boîtes pétri vides et stériles.

- 2- Ensemencer en surface de la gélose Baird Parker, bien homogénéisé, laisser refroidir sur une surface fraîche et parfaitement horizontale.
- 3- Incuber à 37 °C pendant 24 h et 48 heures.

Après 24 heures et 48 heures d'incubation (**JORA N° 42, 2005**). La lecture et le choix des colonies se fait par un marquage sur le fond des boîtes des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques :

**Colonies caractéristiques:** colonies noires, brillantes convexes, entourées d'une zone transparente qui peut être translucide. Après 24 heures, peut apparaître dans cette zone transparente un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.

**Colonies non caractéristiques:** colonies noires, brillantes, convexes ou gris noirâtre ayant parfois un aspect mat et une texture sèche, dépourvues de zone transparente.

## **VI. Diagramme de fabrication du fromage frais**

Après avoir vérifié la conformité des résultats d'analyses physicochimiques et microbiologiques du lait cru avec les normes, il a été constaté que le ratio de la matière sèche est légèrement faible par rapport au lait cru adéquat à la fabrication du fromage, pour cela, une standardisation de la matière sèche a été réalisée afin d'atteindre 20% de la matière sèche(**Uduwerella et al., 2017**).

La transformation du lait en fromage comporte trois étapes principales : la coagulation, l'égouttage et l'affinage. Cette dernière étape n'existe pas dans le cas des fromages frais (**Evette, 1975**). Les étapes suivies lors de la fabrication du fromage frais mariné/ ou pas dans l'huile de pin est synthétisées dans la figure 07.

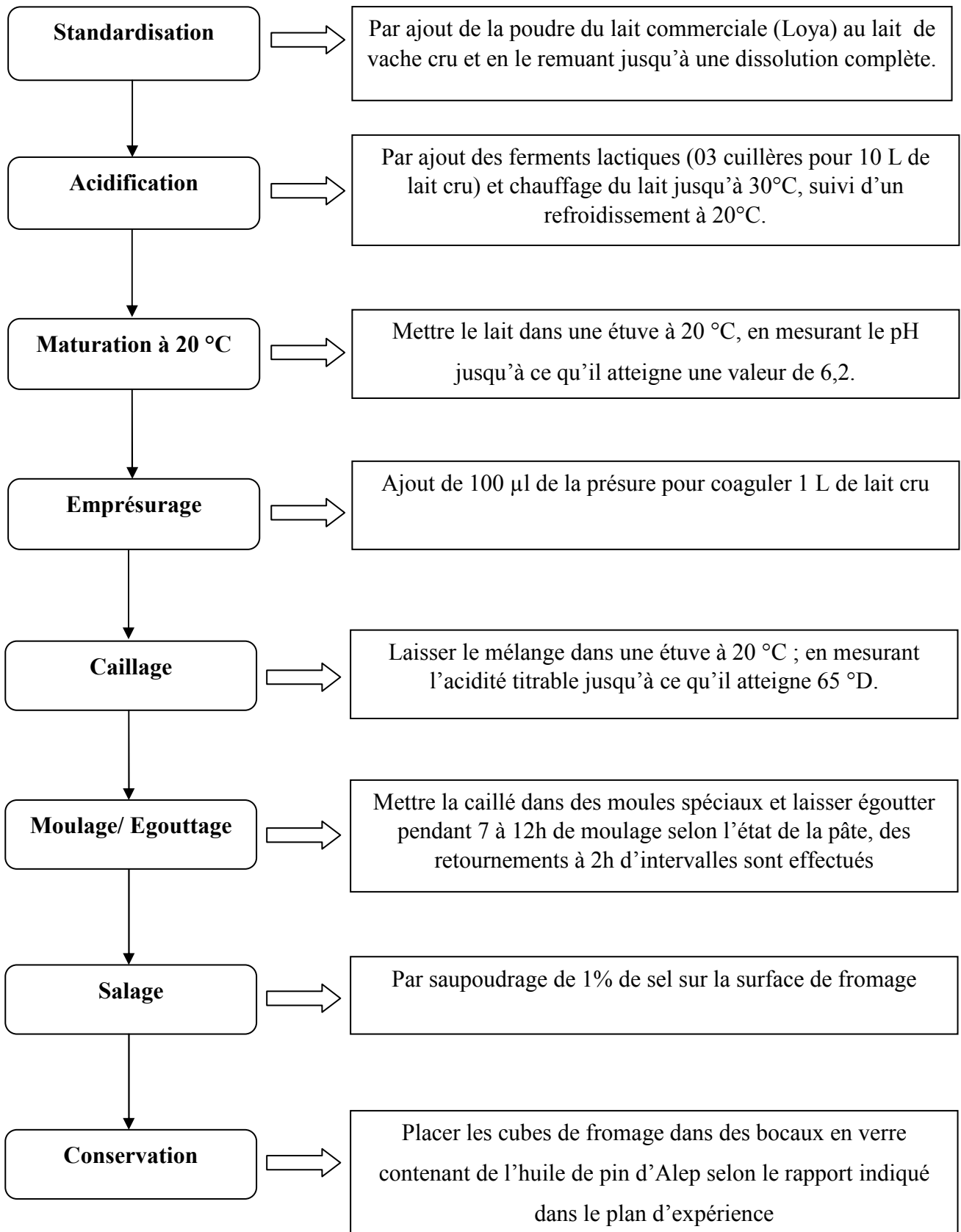


Figure 07 : Diagramme de fabrication d'un fromage frais

Après l'étape de salage ; les analyses microbiologiques du fromage frais non mariné ont été effectuées au J0, pour la recherche des *E. Coli*, *Salmonelles*, *S.aureus*.

## **VII. La Conservation et la marinade du fromage frais dans l'huile de pin**

### **VII.1. Conduite des essais et traitement de données**

L'optimisation de la conservation du fromage frais à base de lait crumariné dans l'huile de pin a été étudiée à l'aide d'un plan factoriel complet à trois facteurs (X1, X2, X3), et à trois niveaux (-1, 0, +1); qui est appliqué pour étudier l'influence de ces paramètres sur la conservation du fromage frais. Les niveaux bas, moyen et haut de chaque variable sont présentés dans le tableau VI:

**Tableau VI** : Niveaux de facteurs dans la conception du plan Box-Behnken

Facteurs	Nom	Unité	Niveaux des facteurs		
			-1	0	+1
<b>X1</b>	Température	(°C)	4	12	20
<b>X2</b>	Temps	(jour)	5	10	15
<b>X3</b>	Quantité d'huile	(mL)	25	50	75

Le modèle mathématique polynomial développé pour l'optimisation est un modèle du second degré et la matrice d'expérience du plan Box-Behnken à l'aide d'un logiciel JMP13, est représenté dans le tableau VII :

**Tableau VII:**La matrice du planBox-Behnken de la MSR (méthode de surface de réponse) pour l'optimisation des conditions de conservation du fromage frais marinée dans l'huile de pin

	Température (°C) <i>X1</i>	Temps (jours) <i>X2</i>	Quantité d'huile (mL) <i>X3</i>
01	4	5	50
02	4	10	25
03	4	10	75
04	4	15	50
05	12	5	25
06	12	5	75
07	12	10	50
08	12	10	50
09	12	10	50
10	12	15	25
11	12	15	75
12	20	5	50
13	20	10	25
14	20	10	75
15	20	15	50

La matrice présentée dans le tableau VII propose la réalisation de 15 expériences (une répétition pour chaque expérience) . Chaque expérience a ses propres valeurs pour chaque variable (*X1*,*X2* et *X3*) qui aura par la suite sa propre réponse pour chaque indicateur microbiologique de conservation (*E. coli*, *S.aureus*, *Salmonelles*, *Listeria*).

Après la fabrication du fromage frais, et afin de respecter les mêmes conditions physiques de conservation, chaque fromage a été divisé en petits cubes d'environ 13 grammes et a été placé dans un bocal cylindrique de 90 mL contenant l'huile de pin à différentes concentrations (25, 50, 75 ml) proposées par le plan d'expérience.

Les bocaux étaient hermétiquement scellés pour éviter toute contamination et oxydation externe, puis conservés dans des chambres froides à différentes températures de stockage (4, 12 et 20°C).

Le suivi microbiologique de ces échantillons a été effectué à intervalle de temps régulier : après 5, 10 et 15 jours.

En plus de la matrice du plan d'expérience précédemment présenté dans le tableau VII. Trois séries du fromage témoin (non mariné) ont été conservés dans les mêmes conditions à savoir 4, 12 et 20 °C durant le même intervalle du temps 5, 10 et 15 jours.

## **VIII. Les analyses microbiologiques de fromage frais**

### **Préparation de la dilution mère**

A chaque prélèvement, une prise d'essai de 10 g de fromage frais a été transférée aseptiquement dans un sachet stérile et dilué dans 90 ml d'une solution TSE. Le mélange a été homogénéisé pendant 30 secondes à l'aide d'un agitateur Stomacher pour obtenir la première dilution  $10^{-1}$  encore appelée dilution mère.

#### **VIII.1. Recherche des *E. Coli***

Les mêmes étapes indiquées dans le titre (V.2) d'analyses microbiologiques du lait cru de vache.

#### **Lecture:**

Dénombrer les colonies typiques coliformes en rose rouge sur des boîtes comprenant entre 15 et 150 colonies.

- **Test de confirmation:**

- 1- Repiquer 5 colonies typiques d'*E.coli* de chaque boîte petri dans des tubes contenant 5ml d'eau peptonée exempte d'indole.
- 2- Incuber les à 44°C pendant 24h.
- 3- Ajouter 2 à 3 gouttes de réactif Kovac, laissez quelques minutes.

#### **Lecture:**

Un test indole positif est indiqué par la formation d'une couleur rose à rouge ("anneau rouge cerise") sur le dessus de tube.

Si une culture est indole négative, la couche de réactif restera jaune ou sera légèrement nuageux.

### **VIII.2. Recherche des *staphylocoques***

- 1- Distribuer 1 ml de la phase aqueuse à la surface de la gélose Baird Parker d'une boîte de Pétri déjà colé.
- 2- Etaler sans tarder à l'aide d'un étaleur en verre stérile. Laisser imprégner pendant 15 minutes à température ambiante. Mettre à incuber à 37° C pendant 24 h. et 48 heures.

### **Lecture des boîtes et choix des colonies**

#### **VIII.3. Recherche des *salmonella***

Détermination de la présence ou de l'absence de ces micro-organismes dans une masse ou un volume déterminé de produit, lorsque l'essai est exécuté selon la présente méthode (**JORA n° 42, 2005**)

- **Jour 1** : Pré-enrichissement: la solution mère est incubée à 37°C pendant 24 heures.
- **Jour 2** : Enrichissement: l'enrichissement proprement dit, se fait à partir du milieu de pré- enrichissement en introduisant 10 ml en double dans des flacons de SFB l'incubation se fait à 37°C pendant 24h.
- **Jour 3** : Isolement:Chaque flacon fera l'objet d'un isolement sur milieu gélosé Hektöen et incuber dans l'étuve à 37 °C pendant 24 h
- **Jour 4** : Lecture des boites et identification :

#### **Lecture:**

Dénombrer les colonies en vert au centre noir.Les colonies vertes n'utilisent aucun des glucides de milieu, par contre les colonies à centre noir sont H<sub>2</sub>S+.

#### **VIII.4. Recherche et dénombrement de *Listeria***

##### **a) L'enrichissement**

##### **✓ Enrichissement primaire**

Peser aseptiquement 01 g de fromage et ajouter 09 ml de bouillon complet Fraser dans un tube à essai ; puis incuber les tubes pendant 24 heures à 30°C.

✓ **Enrichissement secondaire**

Transférer 0,1 ml de l'additif Fraser dans les tubes de la culture issue de l'enrichissement primaire puis incuber les à 37°C pendant 24h.

**b) Isolement des *Listeria***

A partir de l'enrichissement secondaire, après 24 h d'incubation du bouillon de Fraser, ensemercer - avec une pipette pasteur à partir de la culture - la surface d'une gélose Oxford, puis incuber les boîtes petri à 37°C pendant 48h.

**Lecture:**

Dénombrer les colonies typiques grises ou gris-verdâtre, luisantes entourées d'un halo brun-noir, d'un diamètre approximatif de 1 mm.

Après l'émergence de colonies compatibles avec la description de *Listeria*, nous recourons à des tests biochimiques pour la confirmation, qui sont: le test de catalase(+) et test d'oxydase (-).



CHAPITRE  
RÉSULTATS ET  
DISCUSSIONS

## I. Analyses physicochimiques et microbiologiques de lait cru de vache

### I.1. Résultats d'analyses physicochimiques de lait cru

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau VIII

**Tableau VIII:** Résultats d'analyse physicochimique de lait cru.

Paramètres	Acidité titrable (°D)	pH	Ébullition	Matière sèche (%)
Résultat	15	6,67	-	12
Norme JORA	<18	6,6-6,8	Pas de coagulation	11 à 13

(-) réaction négative, °D degré Dornic

#### Le pH

La valeur est comprise entre 6,6 à 6,8. Lorsque le pH est inférieur aux valeurs normales, on peut dire que le lait est stocké longtemps et acidifié en raison de la croissance microbienne (**Branger et al.,2009**). La valeur du pH du lait trouvée est conforme aux normes JORA (**Tableau 10**).

#### L'acidité titrable

L'acidité titrable est parmi les paramètres qui déterminent la qualité et la fraîcheur du lait. A travers les résultats de tableau VIII, une valeur de 15°D a été obtenue pour le lait cru. Cela correspond aux valeurs indiquées dans le J .O.R.A (<18°D).

#### Test d'ébullition

Pour l'échantillon de lait de vache cru. On constate qu'il n'y a pas eu de coagulation donc n'est pas acide, le test est négatif, ce qui renseigne de la stabilité du lait.

#### La matière sèche

En comparaison avec les valeurs de la matière sèche standards dans le lait de vache (11 à 13%) (**JORA, 1993**), on constate que le résultat de l'échantillon du lait cru de vache (12%) est en concordance avec les valeurs standards de matière sèche de la norme JORA.

## **I.2. Résultats des analyses microbiologiques de lait cru**

Les résultats d'analyses microbiologiques du lait et leurs normes sont répertoriés dans le tableau IX.

**Tableau IX** : Résultats des analyses microbiologiques de lait cru

<b>Paramètres</b>	<b>Résultats</b>					<b>Norme</b>		<b>Référence (NA) 1207</b>
	<b>U 01</b>	<b>U 02</b>	<b>U 03</b>	<b>U04</b>	<b>U05</b>	<b>M</b>	<b>M</b>	
<b>Flore totale à 30 °C (Nbr. / 1mL)</b>	$3.10^2$	$2.10^2$	$4.10^2$	$10^2$	$3.2.10^2$	$3.10^5$	$3.10^6$	
<b>Staphylococcus à coagulase +</b>	$10^2$	$2.10^2$	90	95	80	$10^2$	$10^3$	
<b>Coliformes Thermotolérants (Nbr. / 1ml)</b>	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	$3.10^2$	$3.10^3$	
<b>Salmonelles</b>	/	/	/	/	/	absence dans 25 mL		<b>1203</b>

### **La flore mésophile aérobie totale (FMAT)**

C'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques qui nous renseigne toujours sur la qualité hygiénique du lait cru. Les résultats d'analyses du lait cru de vache (tableau IX) montrent la présence des germes de la flore mésophile aérobie totale dans tous les échantillons analysés avec des valeurs qui varient entre  $10^2$  et  $4.10^2$  UFC/mL.

En effet, la norme algérienne (JORA, 2017) des FMAT est fixée entre  $3.10^5$  et  $3.10^6$  UFC/mL. La charge microbienne des FMAT du lait cru est inférieure à  $3.10^5$  UFC/mL, cela prouve que tous les échantillons testés sont conformes à la norme sus-mentionnée.

### **Les coliformes**

Les coliformes sont des indicateurs de contamination d'origine fécale et d'une mauvaise qualité hygiénique du produit. Un bon produit et bien protégé ne devrait pas

contenir de coliformes ; mais leur présence ne constitue pas un risque immédiat pour la santé (Sidnic et al, 2019).

Selon le JORA (2017), les valeurs standards des coliformes sont fixées entre  $5.10^2$  et  $5.10^3$  UFC/mL. La charge microbienne des coliformes du lait cru est inférieure au seuil minimal, donc l'échantillon présente une conformité à la norme.

### **Les *Staphylococcus***

Les *Staphylocoques* sont des germes pathogènes qui vivent sur la peau et les muqueuses de l'animal. S'ils pénètrent dans la mamelle, ils peuvent s'y multiplier et provoquer une mammite et ainsi augmenter le risque de contamination du lait cru. Les sources de contaminations sont multiples, invisibles et cumulables. Elles peuvent être au niveau de l'animal, de la traite, du matériel de la conduite sanitaire du troupeau (absence ou mauvaise conduite des protocoles de traitements des mammites) (Ananthanarayan et Paniker's, 2006).

L'étude microbiologique du lait cru a révélé la présence de *Staphylococcus aureus* avec un taux varie de 77 à 95 spores/mL, ce qui est en concordance avec la norme JORA (2017).

### **Les *Salmonelles***

Les *Salmonelles* sont considérées comme des pathogènes majeurs et font partie des critères microbiologiques de surveillance des produits laitiers en raison de la gravité des symptômes dont elles peuvent être responsables (Guy, 2006). Elles appartiennent aux agents zoonotiques capables de transférer l'infection de l'animal à l'homme, elles sont susceptibles de provoquer chez l'homme deux types d'infections de gastro-entérites et des fièvres typhoïdes (Guy, 2006).

La recherche des *Salmonelles* dans le lait de vache cru étudié a révélé leur absence totale dans tous les échantillons analysés présentés dans le tableau XI (valeur conforme à la norme JORA, 2017). Ce qui prouve le respect des conditions d'hygiène par l'éleveur tout au long du processus de la traite du lait.

## II. Les résultats d'analyses microbiologiques du fromage à J0 :

Tableau X: Résultats d'analyses microbiologiques du fromage à J0

Paramètres	Résultats					Norme		Référence (NA) 1207
	U 01	U 02	U 03	U04	U05	m	M	
<i>Escherichia Coli</i>	< 10	< 10	< 10	< 10	< 10	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	
<i>Staphylococcus</i> à coagulase +	90	70	95	10 <sup>2</sup>	80	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>	
<i>Salmonelles</i>	/	/	/	/	/	absence dans 25 g		1203

Les résultats microbiologiques du fromage frais à J0 cités dans le tableau X ont montré que les coliformes thermotolérants (10 UFC/mL) et les *Staphylocoques* (87 UFC/mL) avaient des valeurs qui ne dépassaient pas le seuil minimal de indiqué dans la norme **JORA N° 39** et une absence totale des *Salmonelles*. En général, ces résultats sont conformes aux normes du **JORA N° 39**. Cela prouve la bonne qualité microbiologique du fromage, suite au respect rigoureux des règles d'hygiène tout au long du procédé de la fabrication.

## III. Optimisation des paramètres de la qualité microbiologique du fromage frais mariné dans l'huile de pin lors de la conservation

### III.1. Conception expérimentale et analyse des données

Une conception Box-Behnken de la MSR a été utilisée pour optimiser trois facteurs impliqués dans le processus de conservation du fromage frais mariné dans de l'huile de pin tel que la température, le temps et la concentration d'huile de pin. Les trois facteurs indépendants ont été étudiés à trois niveaux différents (-1, 0 et + 1) (tableau 1), et le choix du niveau des variables de conservation s'est basé sur la littérature (tableau XI).

**TableauXI:** Les résultats de la matrice du plan Box-Behnken avec les quatre réponses du suivie de la qualité microbiologique du fromage mariné lors de la conservation

N° d'essai	X1	X2	X3	Température (°C) (X <sub>1</sub> )	Temps (jours) (X <sub>2</sub> )	Quantité d'huile (mL) (X <sub>3</sub> )	<i>E. Coli</i> (UFC/g)	<i>Staphylococcus</i> (UFC/g)	<i>Salmonelles</i>	<i>Listeria</i>
01	-1	-1	0	4	5	50	0	0	0	0
02	-1	0	-1	4	10	25	0	0	0	0
03	-1	0	+1	4	10	75	0	0	0	0
04	-1	+1	0	4	15	50	0	0	0	0
05	0	-1	-1	12	5	25	0	0	0	0
06	0	+1	+1	12	5	75	0	0	0	0
07	0	0	0	12	10	50	0	0	0	0
08	0	0	0	12	10	50	0	0	0	0
09	0	0	0	12	10	50	0	0	0	0
10	0	+1	-1	12	15	25	0	0	0	0
11	0	+1	+1	12	15	75	0	0	0	0
12	+1	-1	0	20	5	50	0	0	0	0
13	+1	0	-1	20	10	25	0	0	0	0
14	+1	0	+1	20	10	75	0	0	0	0
15	+1	+1	0	20	15	50	0	0	0	0

Les résultats de la matrice du plan Box-Behnken avec les quatre réponses du suivie de la qualité microbiologique du fromage frais mariné dans l'huile de pin lors de la conservation n'a pas pu donner d'optimum pour la période testée (absence des paramètres de qualité ou de manque d'ajustement «  $R^2$ ,  $R^2_{\text{ajusté}}$ , CV », absence de l'équation polynomial du second degré pour la comparaison des variables indépendantes sur la base des coefficients estimés).

Sur la base des résultats du tableau XI et XII. L'absence d'obtention des conditions optimales peut s'expliquée par le choix très restreint de la période de conservation (15 jours). Pour cela, il sera judicieux de prolonger d'avantage la durée de conservation jusqu'à obtention d'une contamination bactérienne ainsi que de prendre en considération la contamination par les levures et moisissures.

### III.2. Résultats d'analyses de la qualité microbiologique du fromage frais témoin (non mariné) lors de la conservation

Grâce aux résultats présentés dans les tableaux (tableau XI et XII) on constate une absence totale des germes analysés (*E. Coli*, *S.aureus*, *Salmonelles*, *Listeria*).

**TableauXII :** Les résultats du suivi de la qualité microbiologique des fromages témoins (non marinés) lors de la conservation

Temps de conservation (jours)	Température de conservation (°C)	<i>E. Coli</i> (UFC/mL)	<i>S.aureus</i> (UFC/mL)	<i>Salmonelles</i> (UFC/mL)	<i>Listeria</i> (UFC/mL)
5	4	Abs	Abs	Abs	Abs
	12	Abs	Abs	Abs	Abs
	20	Abs	Abs	Abs	Abs
10	4	Abs	Abs	Abs	Abs
	12	Abs	Abs	Abs	Abs
	20	Abs	Abs	Abs	Abs
15	4	Abs	Abs	Abs	Abs
	12	Abs	Abs	Abs	Abs
	20	Abs	Abs	Abs	Abs
<b>Norme (JORA N° 39)</b>		10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	Abs dans 25MI	100

L'absence totale des germes suivis lors de la conservation du fromage frais témoin (non mariné) peut être expliqué par :

- **La bonne qualité de la matière première** : notamment le lait de vache cru qu'il ne contient pas de salmonelles ou de listeria, ainsi que les *E. coli* et *Staphylocoques* étaient en très petite quantité n'atteignant même pas le seuil minimal fixé par le Journal officiel, cela est dû aux soins d'hygiène des mammaires, aux outils usagés et à la désinfection des mains pendant la traite de la vache.

- **Le respect des règles d'hygiène** : tout au long du parcours de fabrication jusqu'à ce que le fromage ait été conservé joue également un rôle important en évitant la contamination externe.

- **Les bactéries lactiques** : dont de nombreuses études ont prouvé leur efficacité dans la conservation du fromage selon (**Sahraoui et al., 2015**) il y'a un genre préféré utilisé comme culture starter pour fabriquer et affiner le fromage et le lait fermenté, c'est les *Lactocoques*. Leur effet conservateur pendant la fermentation est principalement dû à la production d'acide lactique qui a un mécanisme d'inhibition peut être lié à sa solubilité dans la membrane cytoplasmique et à l'absence de lactate solubilisé, entraînant une acidification de la membrane cytoplasmique et une défaillance du dynamisme des protons. Enfin, il affecte le gradient de pH dans la membrane et réduit l'énergie disponible pour la croissance cellulaire et produit d'autres acides organiques, réduisant ainsi le pH de la matrice laitière et la rendant défavorable à la croissance de microorganismes pathogènes ou de changements indésirables (**Reis et al., 2012**).

Cependant, elles peuvent également produire des composés antimicrobiens, notamment du peroxyde d'hydrogène, du diacétyl, de l'acétaldéhyde et des bactériocines ou plusieurs chercheurs démontrent leurs efficacité contre des bactéries pathogènes telles que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonelles*, etc. et *L. monocytogenes* dans un fromage cottage et pour *L. monocytogenes* dans des fromages comme le camembert (**Reis et al., 2012**).

- **Le choix très restreint de la période de conservation** (15 jours).

#### **IV. Résultats d'analyses de la qualité physique du fromage frais témoin et du fromage frais mariné dans l'huile de pin lors de la conservation**

Bien que les analyses de fromage frais mariné/ou non dans l'huile de pin aient été conformes aux normes, des changements notables de la couleur, d'odeur, de texture et d'aspect général ont été constatés (tableau XIII et XIV).



**Tableau XIII:**Résultats d'analyses de la qualité physique du fromage frais témoin (non mariné) lors de la conservation

<b>Temps de conservation (jours)</b>	<b>Température de conservation (°C)</b>	<b>Couleur</b>	<b>Odeur</b>	<b>Texture</b>	<b>Aspect</b>
<b>5</b>	4	Blanche	Bonne	bonne	homogène
	12	Blanche	légèrement indésirable	bonne	homogène
	20	Blanche	Légèrement indésirable	bonne	homogène
<b>10</b>	4	Blanche	Bonne	bonne	homogène
	12	peu jaunâtre	Indésirable	incohérente	présence de moisissure
	20	Blanche	Légèrement indésirable	incohérente	homogène
<b>15</b>	4	Blanche	Bonne	bonne	homogène
	12	peu jaunâtre	Légèrement indésirable	incohérente	présence de moisissure
	20	Blanche	Légèrement indésirable	incohérente	homogène
<b>28</b>	4	peu jaunâtre	Légèrement indésirable	incohérente	homogène
	20	Jaune	Indésirable	incohérente	homogène

Le tableau XIII montre que le fromage frais témoin conservé à 4°C est resté en bon état pendant 28 jours, après quoi il a subi des changements de couleur, d'odeur et de texture.

Le fromage frais conservé à 12 °C pendant 5 jours n'a montré aucun changement sauf une odeur légèrement désagréable par rapport à ce qui a été conservé pendant 10 et 15 jours, qui ont connu un changement important de couleur, d'odeur qui pourra être due à une altération par des moisissures blanchâtres à tendance brunâtre et à texture froissée à la surface de cube du fromage (probablement du genre *Geotrichum*).

D'après **Bailly et Brugere(1999)**, ces moisissures sont appelées poil de chat ou *Mucor*, sont souvent installés dès le moulage des caillés. On le trouve en abondance sur les murs, les plafonds et les carreaux des salles de fabrication. Les *Mucor* apparaissent généralement au bout de 4/5 jours après l'emprésurage causant au fromage un aspect peu engageant, une odeur plus ou moins prononcée de moisi et un goût altéré.

Cette contamination peut se produire aussi bien par les mains que les chaussures des employés qui se déplacent sur le lieu de travail, ou par l'eau utilisée pour nettoyer et rincer l'équipement.

Le fromage frais entreposé à 20 °C a subi un changement d'odeur après 5 jours de conservation, et cela s'est accompagné également de changement de texture à partir de 10 jusqu'à 15 jours de conservation.

**TableauXIV:**Résultats d'analyses de la qualité physique du fromage frais marinée dans l'huile de pin lors de la conservation

<b>Temps de conservation (jours)</b>	<b>Température de conservation (°C)</b>	<b>Quantité d'huile (mL)</b>	<b>Couleur</b>	<b>Odeur</b>	<b>Texture</b>	<b>Aspect</b>
<b>5</b>	4	50	blanche	Bonne	Bonne	homogène
	12	25	blanche	Bonne	Bonne	homogène
		75	peu jaunâtre	Bonne	Bonne	homogène
	20	50	blanche	Bonne	Bonne	homogène
<b>10</b>	4	25	Blanche	Bonne	Bonne	homogène
		75	Blanche	Bonne	Bonne	homogène
	12	50	peu jaunâtre	Bonne	Bonne	homogène
		20	25	peu jaunâtre	Bonne	Bonne
	75	Jaune	Bonne	Bonne	homogène	
<b>15</b>	4	50	Blanche	Bonne	Bonne	homogène
	12	25	Blanche	bonne	Bonne	homogène
		75	peu jaunâtre	bonne	Bonne	homogène
	20	50	peu jaunâtre	bonne	Bonne	homogène
<b>28</b>	4	50	Blanche	bonne	Bonne	homogène
	20	50	peu jaunâtre	indésirable	incohérente	homogène
<b>60</b>	4	50	Blanche	bonne	Bonne	homogène

Le tableau XIV montre généralement que le fromage mariné dans l'huile de pin conservé à 12 et à 20 °C n'a montré aucun changement d'odeur, de texture et d'aspect ; sauf

une légère colorationjaunequi peut être due à la composition de l'huile de pin d'Alep notamment les  $\beta$  carotènes. Les changements notables de la couleur, d'odeur et de texture sont apparus au bout de 28jours de conservation dans le fromage frais marinée dans l'huile de pin entreposé à 20 °C.

Le fromage frais mariné dans 50 mL d'huile de pin conservé à 4°C est resté en bon état sans aucun changement jusqu'à 60 jours. On peut conclure que l'huile de pin a exercer un double effet protecteur contre les contaminations par les moisissures et bactéries. Par conséquent, l'huile de pin a pu doublée au minimum la durée de conservation du fromage frais mariné par rapport au témoin tout en préservant sa qualité dégustatrice.

# CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La période de ce stage a permis de fabriquer du fromage frais au lait cru de vache puis le conservé par marinade dans l'huile de pin en utilisant une stratégie de bioconservation utilisée par les industries agro-alimentaire et on s'appuyant sur une méthode statistique d'optimisation des procédés de fabrication à savoir les plans d'expériences.

Les résultats de ce travail ont montré que la qualité de la matière première et le respect des règles d'hygiène conduiront inévitablement à la production d'un fromage de qualité conforme aux normes et exempt d'agent pathogènes microbiens.

En raison de l'absence totale de contamination bactérienne lors de la conservation, le travail n'était pas en mesure de déterminer les conditions optimales de conservation du fromage frais mariné dans l'huile de pin.

Cependant, d'après la comparaison entre le fromage témoin et le fromage mariné, cette huile a son propre effet protecteur sur le maintien du produit contre la contamination par les moisissures et les bactéries, le changement de propriétés organoleptiques, et l'allongement de la durée de conservation du fromage frais. Cela pourra le placer parmi les bioconservateurs en raison de sa composition riche en antioxydants dotée d'une probable activité antimicrobienne.

A l'avenir, il serait opportun de réussir et de compléter ce présent travail par d'autres études plus approfondies :

- Il sera judicieux de prolonger d'avantage la période de conservation jusqu'à avoir une contamination afin d'étudier l'effet de l'huile sur la conservation.
- La nécessité d'essais préliminaires pour une meilleure détermination des niveaux des paramètres étudiés.
- La nécessité d'ajouter d'autres analyses physicochimiques et microbiologiques (moisissures) aux réponses.
- Nous recommandons également d'étudier la qualité sensorielle du fromage mariné dans l'huile de pin par comparaison au fromage témoin.

## Références Bibliographiques

### A

**Ait Atmane, S., AksoyluÖzbek, Z., GünçErgönül, P. et Khettal, B. (2021).** Valorisation de *Pinushalepensis* Mill. huile de graines : caractéristiques physicochimiques, composés bioactifs et activité antioxydante en fonction de l'emplacement et de la méthode d'extraction. *Journal of Food Processing and Preservation* , 45 (6), e15548.

**Amimour, M. (2019).** Essais d'optimisation de fabrication des fromages traditionnels de qualité (jben et klila) (Doctorat dissertation, Université de Mostaganem-Abdelhalid Ibn Badis).

**Ananthanarayan, R. (2006).** Ananthanarayan and Paniker's textbook of microbiology. Orient Blackswan.

**Anquez, M. (1974).** Le froid en fromagerie. *Le lait*, 54(537), 422-431.

### B

**Bailly, S. L. B. B. J. et Brugere, H. (1999).** Accidents de fabrication dus aux moisissures en fromagerie. *Revue Mdd. Vit*, 5, 413-430.

**Beal C. et Sodini I. (2003).** Fabrication des yaourts et des laits fermentés. In *Technique de l'ingénieur, traité Agroalimentaire*, F6315. p. 2-16

**Bobbou A. (2016).** Contribution à l'étude de inventaire de peuplement de pin d'Alep de la forêt de sig (forêt de Moulay Ismail), mémoire, master en foresterie, univTlemcen 55p.

**Boutechiche, F et Boutrigh, S. (2016).** Caractérisation morphométrique de la chenille processionnaires (*thaumetopoeapityocamps*) et de son hôte au niveau de la wilaya de Tlemcen. *Mém, master en génétique, univ Tlemcen*. 79p.

**Bouyahya, A., Belmehdi, O., Abrini, J., Dakka, N. et Bakri, Y. (2019).** Composition chimique des huiles essentielles de *Menthasuaveolens* et *Pinushalepensis* et leurs activités antibactériennes et antioxydantes. *Journal Asie-Pacifique de médecine tropicale*, 12 (3), 117.

**Brisabois ; A., Lafarge, V., Brouillard, A., De Buyser, M.L., Collette,C., Garin-Bastuji,B., &Thorel, M. F. (1997).** Les germes pathogenes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. *Rev.SCI. TECH. Off. Int. Epiz*, 16(1), 452-471.

**C**

**Chaabouni M, et al. (2012).** Plans d'expériences et traitements de surface - Méthodologie des surfaces de réponses (MSR). Ed Technique de l'ingénieur, Paris, p.2.

**Cimmission Codex Alimentarius, (2010).** Rapport de la quarante-deuxième session du comité du codex sur les additifs alimentaires. Trente-troisième session, Genève (Suisse), 5-9 juillet, CL 2010/FA80 p.

**D**

**Dalal, A. B. L. O. U. L., &Ismahane, L. A. D. J. A. L. (2020).** Les propriétés de PinusHalepensis Mill (Doctoral dissertation).

**De Campos, ACLP, Nandi, RDS, Scandorieiro, S., Gonçalves, MC, Reis, GF, Dibo, M., &Nakazato, G. (2022).** Effet antimicrobien de l'huile essentielle d'Origanumvulgare (L.) comme alternative aux additifs conventionnels dans la fabrication du fromage Minas. LWT , 113063.

**Dubuc, J. (2007).** L'utilisation du prémélange Rumensin chez les vaches laitières : les facteurs influençant son effet sur la production et la composition du lait.

**E**

**Eck, A., et Gillis, JC. (2006).** Le fromage. 3ème Edition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. 891p

**EVETTE J.L., (1975).** La fromagerie.- Paris : Presses universitaires de France, 140 p.

**F**

**FAO. (1995).** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Rome, p.262.

**Fox, PF, Guinée, TP, Cogan, TM et McSweeney, PL (2017).** Produits fromagers frais : Principes de fabrication et aperçu des différentes variétés. Dans Fundamentals of cheese science (pp. 543-588). Springer, Boston, MA.

**Fredot E. (2006).** Connaissance des aliments-bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, lavoisier : 25(397 page).

**G**



**Ghazi, K., & Niar, A. (2011).** Qualité hygiénique du lait cru de vache dans les différents élevages de la Wilaya de Tiaret (Algérie). *Tropicultura*, 29(4)

**Goudédranche, H., Camier-Caudron, B., Gassi, J. Y., & Schuck, P. (2001).** Procédés de transformation fromagère (partie 1). Ed, Technique de l'ingénieur. *Agroalimentaire*, 3(F6305), F6305-1.

**Goupy J. (1997).** Plans d'expériences. Ed Technique de l'ingénieur. Paris, p.22.

**Goupy J. (2016).** Modélisation par les plans d'expériences. Ed, Technique de l'ingénieur, Paris, p.2-3.

**Goupy, J., & Creighton, L. (2013).** Introduction aux plans d'expériences : avec applications. Paris.

**Guiraud J. (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed DUNO, Paris .p4-152. ISBN : 2-10-003666.

**Guiraud J.P. et Rosec J.P. (2004).** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Edition AFNOR. 95p.

**Guy F. I. (2006).** Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contamination par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de production fromagère AOC de Massif Central. Thèse de doctorat d'état ; Université Paul-Sabatier de Toulouse, 175p.

### *H*

**Hermier, J., Lenoir, J & Weber, F, (1992).** Les groupes microbiens d'intérêt laitier. Edition CEPIL, Paris.

### *J*

**Jeantet, R., Croguennec, T., Garric, G., & Brulé, G. (2017).** Initiation à la technologie laitière.

**JORA N° 69, (1993).** Journal officiel de la République algérienne.

**JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 42 8 Joumada El Oula 1426 15 juin 2005.**

**K**

**Kadri, N., Khettal, B., Aid, Y., Kherfellah, S., Sobhi, W. et Barragan-Montero, V. (2015).** Quelques caractéristiques physico-chimiques des graines de pinus (*Pinushalepensis* Mill., *Pinuspinea* L., *Pinuspinaster* et *Pinuscanariensis*) du Nord Algérien, leurs profils lipidiques et leur teneur en matières volatiles. *Chimie alimentaire*, 188, 184-192.

**Kadri, N., Khettal, B., Yahiaoui-Zaidi, R., Barragan-Montero, V., & Montero, J. L. (2013).** Analysis of polar lipid fraction of *Pinushalepensis* Mill. seeds from North Algeria. *Industrial Crops and Products*, 51, 116-122.

**Khouja, M., Taghouti, I., Ayari, A., Elaieb, M. T., Fezzani, T., Souayeh, N., & Khouja, M. L. (2020).** Intérêt forestier et principales caractéristiques biologiques et écologiques du pin d'Alep en Tunisie. *Le Pin d'Alep en Tunisie: Ecologie, Gestion et Usages*, 8, 352.

**L**

**Labioui, H., Elmoualdi, L., Benzakour, A., El Yachioui, M., Berny, E., & Ouhssine, M. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 148(2009), 7-16.

**Lapointe-Vignola, C., Québec, F. de technologie laitière du, (2002).** Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses inter Polytechnique.

**Larpent, J.P, (1997).** Mémento technique de microbiologie .3eme Ed. Technique et Documentation Lavoisier. Paris 3-7 p

**Levieux, D. (1999).** Le colostrum, un lait particulièrement riche en de nombreux composants: peut-on en déceler la présence dans les livraisons de lait de vache?. *Le lait*, 79(5), 465-488.

**Licon, CC, Moro, A., Librán, CM, Molina, AM, Zalacain, A., Berruga, MI et Carmona, M. (2020).** Transfert volatil et activité antimicrobienne des fromages au lait de brebis enrichis en huiles essentielles. *Aliments*, 9 (1), 35.

**Lim, JY, Yoon, JW et Hovde, CJ (2010).** Un bref aperçu d'*Escherichia coli* O157 : H7 et de son plasmide O157. *Journal de microbiologie et de biotechnologie*, 20 (1), 5.

**Lotfi, G. Z., Keltoum, L., & Nacera, M. (2021).** Les résidus d'antibiotiques dans le lait cru devache : état des lieux dans la wilaya d'Oran. *Journal de la Faculté de Médecine*, 5(1), 653-660.

***M***

**Mahaut M., (2003).** Initiation à la technologie fromagerie techniques et documentation Lavoisier, paris, 194p.

**Maire R, (1952).** Flor de l’Afrique de Nord. Ed. Encyclopédie Biologique. Paris. 129-150p.

**Marfak A, (2003).** Radiolyse gamma des flavonoïdes. Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools : formation des depsides. Thèse de doctorat. Université de Limoges.

**Mejares, CT, Huppertz, T., & Chandrapala, J. (2022).** Traitement thermique du lait de bufflonne – Une revue. Journal laitier international , 105311.

**Menard, J.L., Roussel, P., Masselin-Silvin, S., Puthod, R., Hetreau, T., Foret, A., Houssin, B., Aracil, C. and Le Guenic, M., (2004).** Contamination bactérienne d’une litière de stabulation libre paillée : effet de la fréquence de paillage et proposition d’une méthode pour son évaluation. In : Rencontres sur les Recherches autour des Ruminants. Institut de l’Elevage – INRA, Paris, 7p.

***N***

**Nahal, I. (1962).** Le Pin d'Alep (*Fines halepensis* Mill.). Étude taxonomique, phytogéographique, écologique et sylvicole. In Annales de l'école nationale des eaux et forêts et de la station de recherches et expériences. ENEF, Ecole nationale des eaux et forêts, Nancy (FRA).Pp 7- 62.

***P***

**Phadungath, C. (2005).** The mechanism and properties of acid-coagulated milk gels. Songklanakarin J. Sci. Technol, 27(2), 433-448.

***R***

**Reis, JA, Paula, AT, Casarotti, SN et Penna, ALB (2012).** Composés antimicrobiens de bactéries lactiques : caractéristiques et applications. Revues d'ingénierie alimentaire, 4 (2), 124-140.

**S**

**Sabre R. (2006).** Planification expérimentale en agroalimentaire. Ed, Technique de l'ingénieur, Paris, p.1-2.

**Sabre R. (2007).** Plans d'expériences - Méthode de Taguchi. Ed, Technique de l'ingénieur, Paris, p.2.

**Sadou, N., Seridi, R., Djahoudi, A., & Youcef, H. (2015).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle d'aiguilles de *Pinus halepensis* Mill. du nord-est de l'Algérie. *Rev. Sci. Technol. Synthèse* , 30 , 33-39.

**Sahraoui, Y., Fayolle, K., Leriche, F., Flèche-Matéos, L., & Sadoun, D. (2015).** Propriétés antibactériennes et technologiques de *Lactococcus lactis* KJ660075 sélectionnée pour son pouvoir inhibiteur contre *Staphylococcus aureus* pour l'amélioration de la qualité des fromages. *Journal of Food Science and Technology* , 52 (11), 7133-7142.

**Sindic, M., Gérard, A., Massart, S., Daube, G., & Vandebol, M. (2019).** Caractérisation physico-chimique et microbiologique des fromages fermiers.

**T**

**Thieulin et Vuillaume. (1967).** Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : 71-73.388p.

**Tinsson, W. (2010).** Plans d'expérience : constructions et analyses statistiques (Vol. 67). Springer Science & Business Media.

**Turck D. (2013).** Cow's milk and goat's milk. *World Rev Nutr Diet.* 2013;108:56-62. doi : 10.1159/000351485. Epub Sep 6. PMID: 24029787.

**U**

**Uduwerella, G., Chandrapala, J. et Vasiljevic, T. (2017).** Minimiser la génération de lactosérum acide lors de la fabrication du yaourt grec. *Journal of Dairy Research* , 84 (3), 346-354.

**W**

**Weber F, (1987).** L'égouttage du coagulum. Dans le fromage (coord. ECK A), 2emeédition. p122.

**Z**

**Zantar, S., Zerrouk, H. M., Zahar, M., Saidi, B., Notfia, Z., Laglaoui, A., ... & Chentouf, M. (2013).** Effet de l'utilisation des huiles essentielles (du thym, du romarin, de l'origan et du myrte) sur les propriétés physicochimiques, microbiologiques et sensorielles du fromage de chèvre frais et semi-affiné. Opt Médit, 108, 183-190.

# LES ANNEXES

ANNEXE 01 :



c) Standardisation du lait



b) Ac



c) Egouttage / Moulage



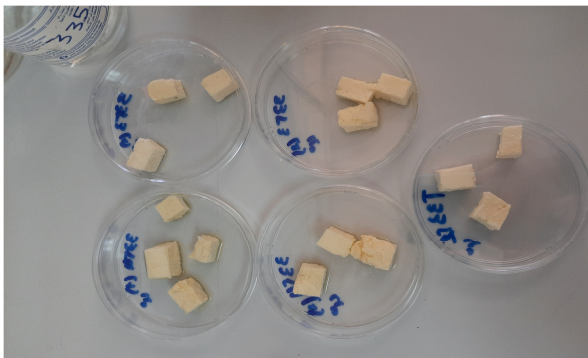
d) Le fromage frais



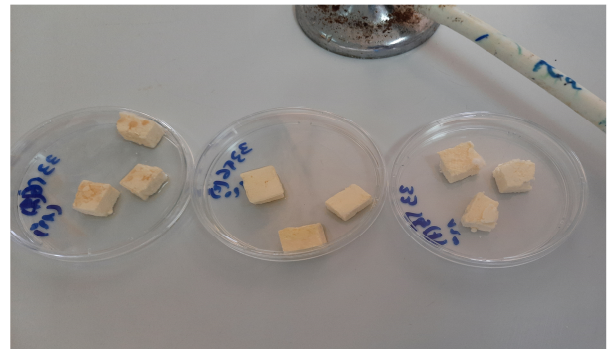
f) Photographie de fromage témoin et fromage conservé dans l'huile de pin

**ANNEXE 02 : Préparation des échantillons aux analyses microbiologique**

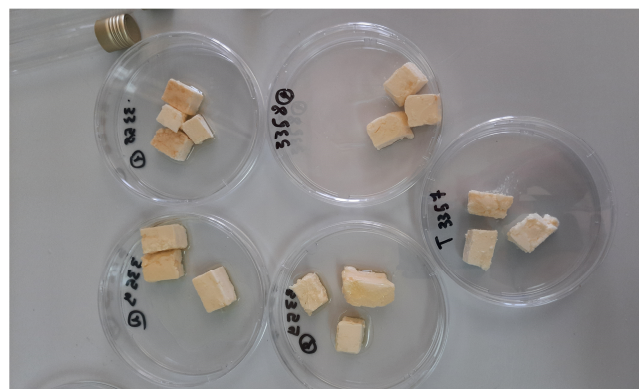
- **Les échantillons conservés pendant 10 jours :**



Fromage conservé à 4°C



Fromage conservé à 12°C



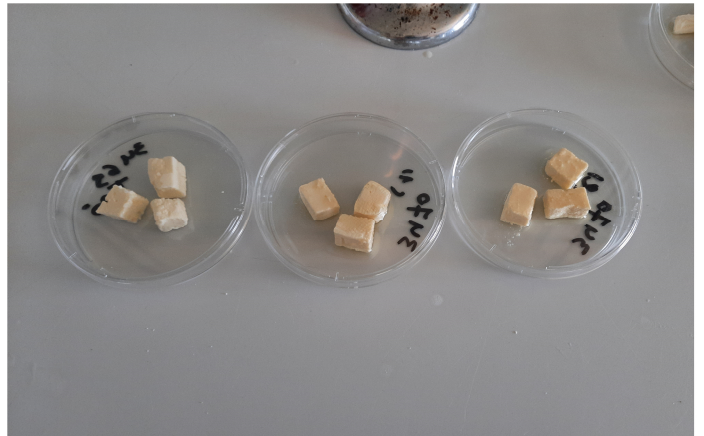
Fromage conservé à 20°C



- Les échantillons conservés pendant 15 jours :



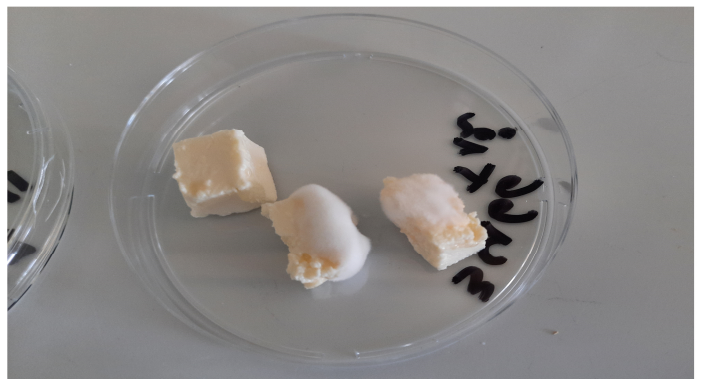
Fromage conservé à 4°C



Fromage conservé à 20°C



Fromage conservé à 12°C



Fromage témoin conservé à 12°C

### Résumé

Ce présent travail porte sur l'étude de l'optimisation des conditions de conservation pendant 15 jours des fromages frais marinés dans l'huile extraite à partir des graines d'une plante appelée « pin » différentes concentrations (25, 50 et 75 mL) et à différentes températures (4, 12 et 20 °C). Le suivi des paramètres physico-chimiques du lait cru de vache ont montré une teneur en matière sèche de 12 %, une acidité de 15 °D et un pH est de 6,79. Le suivi des paramètres de la qualité microbiologique du fromage frais mariné ou pas dans l'huile de graine de pin au cours de conservation montre l'absence totale de *Salmonelles sp*, *Staphylococcus sp*, *E. coli* et de *Listeria monocytogenes* dans tous les échantillons. Par contre, il a été constaté la présence des levures et moisissures dans le fromage témoin. A la lumière de ces résultats, l'huile de pin a conféré une bioprotection et une meilleure bioconservation au fromage frais d'intérêt grâce à l'efficacité des molécules bioactives présentes dans l'huile de Pin qui ont permis d'obtenir un meilleur potentiel antimicrobien favorisant une longue durée de conservation du fromage frais.

**Mots clés:** Optimisation, biconservation, fromage frais, huile de pin.

### Abstract

This present work focuses on the study of the optimization of the storage conditions for 15 days of fresh cheese marinated in oil extracted from pin seeds or investigations followed different concentrations (25, 50 and 75 mL), at different temperatures (4, 12 and 20 °C). Monitoring the physico-chemical parameters of raw cow milk showed a dry matter content around 12%, an acidity of 15°D and a pH equal to 6,79. The microbiological quality parameters of fresh cheese marinated/ or not in pin seeds oil during storage shows the total absence of *Salmonella*, *Staphylococci*, *E. coli* and *Listeria monocytogenes* in all samples. On another side, the presence of yeast and molds was observed in control cheese samples. In the light of these results, the pin oil has conferred a bioprotection and a better biopreservation to the fresh cheese due to the efficiency of the bioactive molecules present in the pin oil thus we may conclude that it's possible to obtain a better antimicrobial potential by promoting a long shelf life of fresh cheese.

**Key words:** optimization, biopreservation; fresh cheese; pin oil.

### الملخص

يركز هذا العمل على تحسين ظروف التخزين لمدة 15 يوماً للجبين الطازج المتبل بالزيت المستخرج من بذور نبات يسمى «الصنوبر» بتركيزات مختلفة (25، 50 و 75 ملل) و في درجات حرارة مختلفة (4 و 12 و 20 درجة مئوية). أظهر رصد المعلمات الفيزيائية والكيميائية لحليب البقر الخام محتوى مادة جافة بنسبة 12٪، وحموضة 15 درجة مئوية ودرجة حموضة للرصد 6,79. للمعلمات الجودة الميكروبيولوجية للجبين المخلل الطازج أو غير المخلل في زيت بذور الصنوبر أثناء التخزين، يظهر الغياب التام للسالمونيلا والعنقوديات والإشريكية القولونية والليستيريا المونتيريية ومع ذلك، تم العثور على الخميرة والعفن في جبن الشاهد. في ضوء هذه النتائج، منح زيت الصنوبر حماية بيولوجية وحفظاً حيويًا أفضل للجبين الطازج محل الاهتمام بفضل كفاءة الجزيئات النشطة بيولوجيًا الموجودة في زيت الصنوبر والتي مكنت من الحصول على إمكانات أفضل لمضادات الميكروبات من خلال تعزيز فترة صلاحية طويلة للجبين الطازج.

**الكلمات المفتاحية:** التحسين، الجبن الطازج، الحفظ البيولوجي، زيت الصنوبر.

**Résumé**

---