



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de
la vie
Département des sciences de la nature et de la vie

MÉMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques
Spécialité : Biochimie appliquée

Réf. :

Présenté et soutenu par :
Yamina REFFAS ; Selma SEKKAI

Le : mercredi 10 juillet 2019

Thème

Etude comparative de l'aptitude fromagère du lait de chèvre (race alpine), en utilisant un extrait animal et un extrait végétal.

Jury :

Mme. Selma BENCHARIF	MAA	Université de Biskra	Président
Mme. Fedjeria YAKOUB	MAA	Biskra	Rapporteur
Mme. Asma BOUCIF	MCB	Biskra	Examineur

Année universitaire : 2018 /2019

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de nous avoir donné le courage, la force, la santé et la persistance et de nous avoir permis de finaliser se travail dans de meilleurs conditions.

*Nous tenons à remercier nous promotrice Madame **YAKOUB Fadjeria**, Maître d'assistant A à l'Université Mohamed Kheider Biskra, pour nous avoir suivi durant notre travail dans le cadre de ce mémoire, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.*

Nous tenons a remercier les membres de jury :

- *Selma **BENCHARIF** Maître d'assistant A à l'université de Biskra.*
- *Asma **BOUCIF** maitre de conférences B de l'Université de Biskra.*

*En fin nous rémériions le directeur de l'institue de l'ITDAS pour bonne réception, madame **MOUKRAN Fatima**, madame **TIBERMACHINE**, madame Safia, de l'institue de l'ITDAS.et nous remercions beaucoup Nesrine Bouadjadja ; a Alima laborantine de service de laboratoire de SNV.*

Enfin, nous remercions, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*a mon très chère père **Abd Elhamid** pour tous ses sacrifices pour tous les efforts
fournis afin de nous voir un*

jour réussir nos projets et nos études, et a été toujours présent pour moi

*A la plus chère ma mère **Djamila** qu'elle m'a donné naissance , ma mère **Fadila** qui
s'sacrifie sa vie pour aide moi sur tous qui difficile accédé ou cour mes étude et toujours
m'encouragé durant mes études*

*Je dédie ce modeste travail a mon très chère mes sœurs Houria , Nawel, Abbla , Imene , et
mes petites sœurs Hadil , Chaima , Oumaima. et A mes frère : Salim, Abd Erahmen, Fousi,
Chaker , Mourad , Charef ,El mahdi , Mahrez , Rouchdi.*

A tout la famille Reffas

*A mes chères amies : mon binôme Selma , Djaouida, Chahrazed ,Nadia, Khaoula, Ibtissem ,
Loubna ,Asrir Mouna,Manel.*

*A tout la promotion de 2^{ème} année Master Biologie LMD,
ainsi que tous les étudiants de l'université.*

Yamina Reffas.

Dédicace

Je dédis ce travail :

A mes très chers parents qui m'ont encouragé et guidé durant les moments les plus difficiles de ce long chemin, ma mère Salíha Diafi qui a été à mes coté et ma soutenu durant tout ma vie ; et mon père Madani qui a sacrifié tout sa vie afin de me voire devenir ce qui je suis.

A mon chère et unique frère : Khaled.

A mes chères sœurs : Samra , Wahiba , Nawal , Mounira, Zakia, Maroua et à leurs enfants et leurs maris ,et à ma petite sœur : Samah.

A mon mari : Hani.

A mes grands parents maternels.

A tout le reste de la famille : oncles, tantes, cousines et cousins.

A toutes familles : Diafi, Sekkai, Krim, Soufiene.

A toutes mes chers amies : Yamina, Nadia, Chahrazed, Djaouida, Mdjda ,Ibtissem, Khaoula, Loubna.

Selma Sekkai.

Sommaire

Liste des tableaux	I
Liste des figures	II
Liste des abréviations.....	III
Introduction	1

Partie I : SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 Généralité sur le lait de chèvre

1.1 Définition	3
1.2 Composition de lait	3
1.2.1. Eau.....	3
1.2.2. Les lipides.....	3
1.2.3. Les protéines.....	3
1.2.5 Vitamines et les Enzymes.....	4
1.3. Facteurs influençant la composition du lait	4
1.3.1 Facteurs intrinsèques	5
1.3.1.1 Facteurs génétiques	5
1.3.1.2. Stade de lactation.....	5
1.3.2 Facteurs extrinsèques.....	5
1.3.2.2 Saison et climat	5
1.4 Caractéristiques du lait de chèvre	5
1.4.1.1 Le pH.....	5
1.4.1.2 L'acidité	5
1.4.2 Caractéristiques microbiologiques	6
1.4.2.1 Flore originelle ou indigène.....	6
a) Flores d'altération	6
1.4.2.3 Les flores pathogènes	6

Chapitre 2 Généralité sur le fromage

2.1.Définition	7
2.2 Composition du fromage	7
2.3 Classification du fromage	7
2.4 Fromage frais	7

2.4.1 Définition.....	7
2.4.2 Fabrication du fromage.....	8
2.4.2.1 Maturation	8
2.4.2.2 La coagulation	8
a) Coagulation par voie acide	8
b) Coagulation enzymatique.....	8
2.4.2.3 L'égouttage.....	8
2.5 Microflore du fromage	9
2.5.1. Flore originelle	9
2.5.1.1 Les bactéries lactiques.....	9
2.5.2 Champignons microscopiques.....	9
2.5.2.1. Levures	9
2.5.2.2. Moisissures.....	9
2.5.3 Flore de contamination	9
Chapitre 3 Les enzymes coagulantes utilisées en technologie fromagère	
3.1 Enzymes coagulants le lait	10
3.1.1 Enzymes coagulantes d'origine animale	10
3.1.1.1 La Présure	10
a) La chymosine	10
b) La pepsine.....	10
3.1.2 Enzymes Coagulantes d'origine végétale.....	10
3.1.3 Plante étudiée (Cynara cardunculus).....	11
3.1.3.1 Systématique.....	12
Deuxième partie: ETUDE EXPERIMENTALE	
Chapitre 4 Matériel et Méthodes	
4.1 But de travail.....	13
4.2 Echantillonnage	13
4.2 .1 Source des prélèvements	13
4.2. 2 l'enzyme coagulant.....	13
4 .3 Les analyses physico-chimique et microbiologique du lait de chèvre.....	13
4.3.1 Analyses physico-chimique du lait.....	13
4.3.1.1 Détermination du pH.....	13
4.3.1.2 Détermination de l'acidité titrable.....	14
4.3.1.3 Matières protéiques.....	14

4.3.1.4	Matières grasses par la méthode acido- butyromètre (ISO 488, 1983).....	15
4.3.1.5	Détermination de la teneur en lactose	15
4.3.1.6	Dosage d'urée.....	17
4.3.1.7	Détermination de matière sèche.....	17
4.3.1.8	Détermination de la matière sèche.....	17
4.3.2	Les analyses microbiologiques (J.O.R.A).....	18
4.3.2.1	Préparation de solution mère et des déluitions décimales	18
a)	Recherche des Germes aérobies 30°C.....	18
b)	Recherche des coliformes thermo-tolérants.....	18
c)	Recherche de Salmonella	18
d)	Recherche des Staphylocoques aureus.....	18
4.4	Extraction de l'enzyme brut des fleurs de chardon.....	19
4.4.1	Détermination des conditions optimales de coagulation	20
4.5	Diagramme de fabrication du fromage frais.....	21
4.6	Les analyses physicochimiques et microbiologiques du fromage.....	22
4.6.1	Les analyses physicochimiques.....	22
4.6.1.1.	Détermination du pH :.....	22
4.6.1.2.	Détermination de l'acidité.....	22
4.6.1.3.	Détermination de matière sèche	22
4.6.1.4	Détermination du rendement fromager :.....	23
4.6.1.5	Matières grasses (MG)	23
4.6.2	Analyses microbiologique.....	23
4.6.2.1	Dénombrement des différentes flores.....	24
Chapitre 5 Résultat et Discussion		
5.1	Les analyses du lait de chèvre.....	25
5.1.1	Les analyses physicochimiques.....	25
5.1.1.1	pH	25
5.1.1.2	Acidité.....	25
5.1.1.3	Teneur en protéine.....	26
5.1.1.4	Taux de matière grasse	26
5.1.1.5	Matière sèche.....	26
5.1.1.6	Lactose.....	26
5.1.1.6	l'urée.....	27
5.1.2	Les analyses microbiologiques.....	27

5.1.2.1 Germes aérobies à 30°C	28
5.1.2.2 Staphylocoques aureus	28
5.1.2.3 Coliformes thermo tolérant	28
5.1.2.4 Salmonella	28
5.2 Caractérisation de l'extrait enzymatique	29
5.2.1 L'effet de température du lait sur l'activité coagulante des deux enzymes végétal et animal.	29
5.2.2 L'effet de CaCl ₂ du lait sur l'activité coagulante.....	30
5.2.3 L'influence du pH du lait sur l'activité coagulante des enzymes	31
5.3. Les analyses physicochimiques et microbiologiques du fromage frais fabriqué ..	32
5.3.1 Essai de fabrication du fromage frais à partir l'extrait végétal (fleur de chardon) et l'extrait animal (la présure).....	32
5.3.2 Les analyses physicochimiques.....	33
5.3.1.1 pH	33
5.3.1.2 l'acidité	33
5.3.1.3 Matière grasse.....	33
2.3.1.4 matière sèche.....	33
5.3.1.5 Rendement	34
5.3.1.6 L'humidité.....	34
5.3.1.7 Le rapport MG/MS.....	34
5.3.3 Les analyses microbiologiques.....	35
Conclusion.....	36
Référence.....	38
Annexe	
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau 1. Paramètres physico-chimiques de laits de chèvre.	25
Tableau 2. les analyses microbiologique du lait de chèvre	27
Tableau 3. L'unité d'activité coagulante et la force des enzymes animal et végétal.....	29
Tableau 4. Les analyses physicochimiques de fromage frais fabriqué par l'extrait animal et l'extrait végétal.....	33
Tableau 5. Les analyses microbiologiques de fromage préparé avec l'extrait animal et l'extrait végétal.....	35

Liste des figures

Figure 1. modèle de la micelle de caséine avec sous-unité.(Amiot <i>et al.</i> 2002).	4
Figure 2. Chardon (<i>cynara cardunculus</i>).	11
Figure 3. Diagramme de fabrication du fromage frais	21
Figure 4. L'effet de température du lait sur l'activité coagulante des enzymes.	29
Figure 5. L'influence de concentration de CaCl ₂ sur l'activité coagulante des enzymes.	30
Figure 6. L'influence de pH de lait sur l'activité coagulante des enzymes	31
Figure 7. Fromage obtenue avec l'extrait végétal(fleurs de chardon).....	32
Figure 8. Fromage obtenue avec l'extrait animal(la présure).	32
Figure 9. <i>Germes aerobies</i> à 30C° dans le lait crus.	46
Figure 10. <i>Staphylococcus aureus</i> dans le lait crus.....	46
Figure 11. <i>Staphylococcus aureus</i> dans le fromage fait avec l'extra animal.	47
Figure 12. <i>Staphylococcus aureus</i> dans le fromage fait avec l'extra végétal.	47
Figure 13.L'absence de <i>Escherichia coli</i> dans le fromage fabriqué.	48
Figure 14. Centrifugeuse de Gerber	48

Liste des abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation.

BLBVB : Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant.

BP : Baird Parker

D°: Degré Doronic.

EA : Extrait Animal.

EV: Extrait végétal

FAO: Food and Agriculture Organization.

GA à 30C° : *Germes aérobies* à 30°C.

ISO-LAB : International Standard Organisation laboratory.

ITDAS : Institut Technique de Développement Agriculture Saharienne.

J.O.R.A : Journal Officiel République Algérienne.

MG : Matière grasse.

MS : Matière Sèche.

OMS : Organisation Mondial de la Santé.

PCA : Plant Count Agar.

pH : potentiel des ions d'hydrogène.

UAC : Unité Activité Coagulante.

UFC : Unité Formant Colonie.

UP : unité de présure

Introduction

Introduction

La domestication des ruminants et l'utilisation de leurs laits pour en faire du fromage remontent à plus de 10 000 ans avant Jésus-Christ. Les espèces bovine, ovine, cameline et caprine sont élevées en Algérie et leurs laits sont considérés comme des aliments complets car ils renferment avec des concentrations suffisantes tous les nutriments indispensables pour la croissance et la survie de l'homme. Pourtant ils sont difficiles à conserver si bien que leurs transformations en fromages est l'un des moyens les plus utilisés.

La fabrication du fromage est apparue il y a 8000 ans, peu après la domestication des animaux. A l'origine, l'intérêt majeur de la transformation du lait en fromage était de conserver les principaux constituants du lait. Aujourd'hui, il s'agit plutôt d'un aliment, possédant des qualités nutritionnelles indéniables (Cholet, 2006).

L'étape clé de la réussite d'un fromage quel que soit son type est la coagulation. Elle consiste à la formation d'un gel suite à des modifications physico-chimique intervenant sur les micelles de caséines du lait. L'agent coagulant le plus anciennement utilisé en fromagerie est la présure. Cette enzyme est extraite à partir de la caillette de veau non sevré. D'après Alais (1984), il faut en moyenne deux caillettes de veau pour produire 1 litre de présure, et selon Bauer *et al.*, (2010), il faut environ 2 litres de présure pour produire une tonne de fromage, Autrement dit : « il faut sacrifier 4 jeunes veaux pour produire une tonne de fromage ! ».

L'augmentation de la production et de la consommation du fromage d'une part, et l'impossibilité d'augmenter en parallèle la production de présure d'autre part, ont causé une pénurie mondiale en approvisionnement en cet agent coagulant ce qui a engendré des fluctuations très importantes dans son prix. Ces problèmes sont aggravés notamment dans les pays musulmans, pour des raisons religieuses, dues aux rituelles de l'abattage. (Zikiou, 2013).

Ainsi, cette situation a suscité la recherche de produits de remplacement de la présure, susceptibles de remplir un certain nombre de conditions dont les principales sont l'obtention de produits fromagers comparables à ceux de la présure de veau, garantit d'hygiène et de non toxicité et un - prix de revient inférieur à celui de la présure. .(Zikiou,2013).

L'Algérie ne fait pas l'exception, en 2011, selon l'Office National des Statistiques (O.N.S.), près de 25 mille tonnes de fromages ont été vendu dans le marché Algérien. Soit une consommation de l'ordre de 0,62 Kg/habitant. Et les fromageries Algériennes ont utilisé 1,5

tonne de présure et/ou ses succédanés ; cette quantité totalement importée a coûté une valeur de plus de 102 mille dollars l'équivalent d'environ 7,5 millions de DA.(Zikiou,2013).

Cette grande dépendance de l'Algérie vis-à-vis des fournisseurs étrangers en présure traditionnelle et/ou ses succédanés, Bien que leur nombre puisse être considéré comme faible, a attiré notre attention sur la recherche de sources locales productrices d'agents coagulant le lait. (Zikiou, 2013).

Parmi ces succédanés, les protéases d'origine végétale sont très anciennement utilisées dans des préparations traditionnelles telles que celles provenant de l'artichaut, du chardon et de latex du figuier. D'autres enzymes ont été testées telles que les protéases d'origine fongique synthétisées par diverses espèces. Il existe aussi des succédanés d'origine animale tels que les pepsines porcines, bovines et les pepsines extraites des proventricules des volailles. Bien qu'elle ait un potentiel de production en succédanés capables de subvenir aux besoins en agents coagulants.(Siar,2014).

L'objectif de ce travail est la valorisation des pratiques traditionnelles par la caractérisation de l'extrait du chardon, ainsi que par l'étude de la possibilité de leur utilisation comme succédanés de présure en fromagerie. Pour parvenir à ces objectifs nous avons procédé comme suit :

- les analyses physicochimique et microbiologique de matière primaire
- Extraction des systèmes enzymatiques du fleur de chardon
- Utilisation des extraits étudiés dans la fabrication d'un fromage frais
- les analyses physicochimique et microbiologique de fromage issu.

Partie I :
Synthèse Bibliographique

Chapitre 1
Généralité sur le lait de
chèvre

1.1 Définition

Le lait a 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. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de colostrum» (Pougheon, 2001; Romain *et al.*, 2008).

Le lait de chèvre se présente comme un liquide opaque de couleur blanchâtre mate, dû à l'absence de β -carotène. Il est légèrement sucré, d'une saveur particulière et une odeur assez neutre (Alais, 1984).

1.2 Composition de lait

De manière générale, le lait comprend quatre types de constituants importants que sont : les lipides, les protides, les glucides. Mais de nombreux autres constituants sont présents en quantité minime comme les vitamines, enzymes, dont certains ont une grande importance du fait de leur activité biologique (Larousse, 2002), La composition du lait varie d'une espèce animale à une autre (Jean-paul, 2009).

1.2.1. Eau

L'eau est le constituant le plus important du lait en proportion. Elle forme une solution vraie avec les glucides, les minéraux, une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles, une suspension colloïdale avec les micelles de caséines et une émulsion avec les matières grasses, Le lait de chèvre est constitué de 87% d'eau (Amiot *et al.* 2002).

1.2.2. Les lipides

La matière grasse du lait se compose principalement de triglycérides, phospholipides et une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de β -carotène. (FILQ, 2002). Le lait de chèvre est pauvre en carotène, il est plus riche en acides gras à 10 (C) et présente un pourcentage plus élevé de petits globules gras que le lait de vache, il ne contient pas d'agglutinines et présente une activité lipasique plus faible que le lait de vache (Chilliarde, 1996).

1.2.3. Les protéines

Elles constituent une partie importante du lait et des produits laitiers On les classe en deux catégories, d'après leur solubilité dans l'eau.

-Les caséines : forment près de 80% (α -S1, α -S2, β , κ) qui se regroupent sous forme de micelles précipitent sous l'action de la présure ou lors de l'acidification à pH d'environ 4,6

-Les protéines de sérum, qui représentent environ 20% des protéines totales, se trouve sous forme de solution colloïdale. Les deux principales sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine. (Amiot *et al.*, 2002).

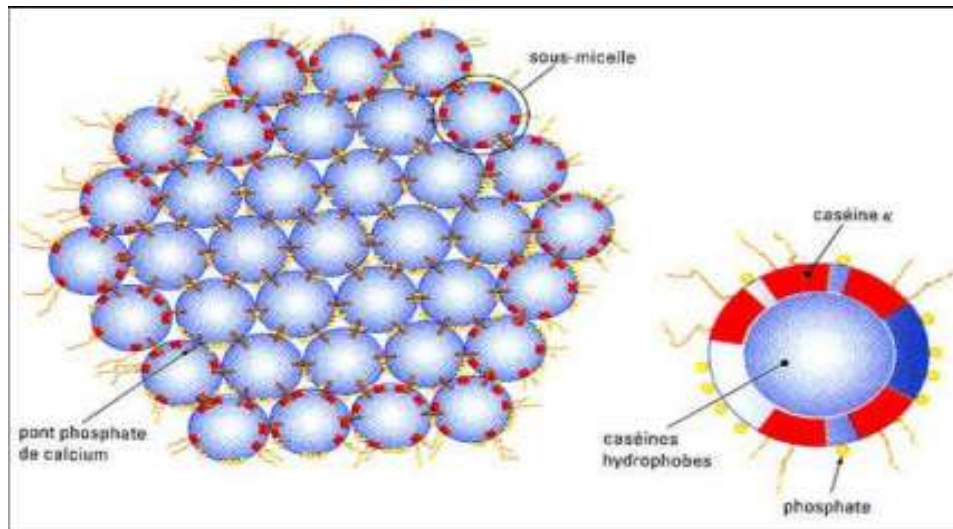


Figure 1. modèle de la micelle de caséine avec sous-unité.(Amiot *et al.*, 2002).

1.2.4 Les glucides

Le lactose est le glucide le plus important du lait. D'autres glucides peuvent provenir de l'hydrolyse du lactose (glucose, galactose). Certains glucides peuvent se combiner et d'autres peuvent rester libre (Amiot *et al.*, 2002). Comparativement au lait de vache (50 g/l), le lait de chèvre est moins riche en lactose, avec une variation allant de 44 à 47 g/l (veinoglou *et al.*, 1982 ; Roudj *et al.*, 2005).

1.2.5 Vitamines et les Enzymes

Selon Vignola (2002), les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. Le lait de chèvre se distingue par l'absence de β -carotène. Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases (Amiot *et al.*, 2002).

1.3. Facteurs influençant la composition du lait

La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs (Stoll, 2003). Ils sont soit intrinsèques liés à l'animal, soit extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage. (Wolter, 1988).

1.3.1 Facteurs intrinsèques

1.3.1.1 Facteurs génétiques

On observe des variations importantes de la composition du lait entre les différentes races laitières et entre les individus d'une même race (Gaillon et Sigwald, 1998).

1.3.1.2. Stade de lactation

Les taux de matière grasse et de matières azotées, élevés à la mise en bas, diminuent au cours du premier mois et se maintiennent à un niveau minimal pendant le deuxième mois (Gaillon et Sigwald, 1998).

1.3.1.3 Etat sanitaire

Lors d'infection, il y a un appel leucocytaire important qui se caractérise par une augmentation de comptage cellulaire induisant des modifications considérables dans la composition du lait. (Badinand, 1994).

1.3.2 Facteurs extrinsèques

1.3.2.1 Alimentation

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines (Coulon et Hoden ,1991).

1.3.2.2 Saison et climat

A partir Coulon *et al.* (1991), il a été montré que la production laitière est maximale au mois de juin et minimale en décembre. A l'inverse, les taux butyreux et protéique du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver.

1.4 Caractéristiques du lait de chèvre

1.4.1 Caractéristiques physico-chimiques

1.4.1.1 Le pH

Le pH de lait de chèvre se caractérise par des valeurs allant de 6,45 à 6,90. avec une moyenne de 6,7 différant peu du pH moyen du lait bovin qui est de 6,6 (Remeuf *et al.*, 1989).

1.4.1.2 L'acidité

L'acidité titrable: indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. L'acidité du lait de chèvre et de vache reste assez stable durant la lactation. Elle oscille entre 0,16 et 0,17 % d'acide lactique (Veinoglou *et al.*, 1982). L'acidité titrable, exprimée en degrés Dornic (D°) est de 15 à 18° D.

1.4.2 Caractéristiques microbiologiques

Le lait est un aliment de choix : il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau. Son pH est de 6,7. Il va être un substrat très favorable au développement des microorganismes.

1.4.2.1 Flore originelle ou indigène

Lorsque le lait provient d'un animal sain et qu'il est prélevé dans des conditions aseptique, il devrait contenir moins de 5000 UFC/ml. Les genres dominant de la flore originelle sont : *Lactobacillus* et *Streptococcus* (Vignola *et al.*, 2002).

1.4.2.2 Flores contaminants

La flore contaminant est l'ensemble des microorganismes ajoutés au lait, de la récolte jusqu'à la consommation (Heuchel *et al.*, 2001 ; Michel, 2012).

a) Flores d'altération

Les germes de l'environnement trouvent dans le lait un excellent milieu de culture (Novel, 1993). La flore d'altération cause des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduit la vie de tablette du produit laitier. (Levures et moisissures).

1.4.2.3 Les flores pathogènes

Les germes pathogènes auxquels on accorde une importance particulière, en raison de la gravité ou de la fréquence des risques qu'ils présentent sont

> Les principales bactériennes infectieuses (*Salmonella sp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* , *agent de la tuberculose*).

> Les principales bactéries toxigènes (*Staphylococcus sp*, *Staphylococcus aureus*) (Vignola, 2002).

Chapitre 2

Généralité sur le fromage

2.1 Fromage

2.1.1 Définition

Le fromage est défini par le décret n° 88-1206 du 30 décembre 1988 de la manière suivante « La dénomination « fromage » est réservée au produit fermenté ou non, affiné ou non, obtenu à partir des matières d'origine exclusivement laitière (Zeller, 1980).

Le fromage, selon la norme codex Alimentaire(2013), est le produit solide ou semi-solide, frais ou affiné, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséines ne dépasse pas celui du lait.

2.2 Composition du fromage

Le fromage est un aliment de base, riche en graisses, protéines, calcium et phosphore, à longue conservation en comparaison de la durée de conservation du lait à partir duquel il est fabriqué (annexe1) .

2.3 Classification du fromage

La diversité des modes de fabrication des fromages et la variété des produits obtenus, ont conduit les spécialistes à des classifications usuelles. La classification la plus explicite est celle de Pernodet(1984). Les fromages sont classés en fonction de la méthode de caillage (lactique ou présure), du mode d'égouttage et du type d'affinage appliqué (annexe2).

2.4 Fromage frais

2.4.1 Définition

Le fromage frais est une pâte très humide, peu minéralisée, c'est le produit d'une coagulation lente à dominance acide, obtenue grâce à l'action des bactéries lactiques combinée ou non à celle d'une faible quantité de présure (1-5 ml/100 l de lait) et un temps d'incubation long (Eck et Gillis, 2006).

2.4.2 Fabrication du fromage

La fabrication de fromages comprend toujours les trois phases initiales suivantes : Maturation , coagulation, égouttage. (Vignola, 2002).

2.4.2.1 Maturation

C'est l'incubation du lait cru à température ambiante pendant un temps variable de façon à favoriser la multiplication d'une flore lactique qui va jouer un rôle important dans l'acidification du lait. Cette maturation peut être spontanée ou provoquée par adjonction de levains. (Randazo *et al.*, 2009).

2.4.2.2 La coagulation

Est l'étape durant laquelle le lait passe de l'état liquide à l'état solide en formant un gel. La coagulation du lait peut se faire selon deux voies :

a) Coagulation par voie acide

Elle consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique ($pH_i=4,6$) par acidification biologique à l'aide de bactéries productrices d'acide lactique (bactéries lactiques contaminant à l'état naturel le lait ou apportées sous forme de levains) (Mahaut *et al.*, 2005)

b) Coagulation enzymatique

Elle est obtenue par l'hydrolyse des caséines par des enzymes protéolytiques de diverses origines. certaines sont d'origine animale comme la présure (composée de 80% de chymosine et 20% de pepsine), d'autres sont d'origine végétale comme la cyprosine et le cardosine (gaillet, figuier et chardon), ou microbienne (*Mucor pusillus*, *Endothia parasitica*) (Bendimerad, 2013).

2.4.2.3 L'égouttage

Se traduit par une élimination progressive du lactosérum qui s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement corrélatif du gel. Il s'agit donc d'une phase essentielle qui conditionne directement la composition du fromage. (Eck et Gillis, 1997).

2.5 Microflore du fromage

2.5.1. Flore originelle

Les microorganismes occupent une place essentielle dans le domaine des produits laitiers et leur importance se situe à trois niveaux : l'élaboration, l'altération et l'hygiène des produits (Hermier *et al.*, 1992).

2.5.1.1 Les bactéries lactiques

Elles appartiennent principalement à trois genres : *Lactobacillus*, *Lactococcus* et *Streptococcus* qui se différencient, entre autre, par leur activité acidifiante. (Hassan et Monier-Dilhan, 2003 ; Chamba, 2008).

2.5.2 Champignons microscopiques

2.5.2.1. Levures

Parmi les nombreuses espèces de levures peuplant le lait, seules certaines espèces peuvent se maintenir dans le caillé. Elles produisent des composés d'arôme (Bouix et Leveau, 1993).

2.5.2.2. Moisissures

Elles jouent un rôle très actif dans l'affinage de certains fromages. Citons *penicillium caseicolum* dans le fromage de Brie, *Penicillium camembertii* et *Geotrichum* dans le Camembert, Ces moisissures ont une activité lipolytique et protéolytique intense. La caséine, les graisses du caillé sont métabolisées en un grand nombre de composés concurrent largement au développement des qualités organoleptiques du fromage. (Ghenem et Mechalikh, 2017).

2.5.3 Flore de contamination

D'après Eck et Gillis(2006) le fromage est un aliment très susceptible aux contaminations, la présence de contaminants varie selon la capacité de leur développement.

Chapitre 3

Les enzymes coagulantes utilisées en technologie fromagère

3.1 Enzymes coagulants le lait

Les enzymes coagulantes sont des enzymes protéolytiques retrouvées chez tous les organismes vivants. Ce sont des endo-peptidases appartenant à la famille des protéinases aspartiques car elles possèdent deux résidus aspartyls dans le site actif impliqués de manière décisive dans la catalyse (Rawlings *et al.*, 2004). Elles sont utilisées de puis très longtemps dans la fabrication de fromage. Actuellement, la présure de veau est la plus largement utilisée en fromagerie (Mahaut *et al.*, 2000 ; Ramet, 2006).

3.1.1 Enzymes coagulantes d'origine animale

3.1.1.1 La Présure

La présure est une enzyme protéolytique, extraite de la quatrième poche de l'estomac (abomasum ou caillette) des jeunes ruminants nourris exclusivement au lait (avant sevrage). (Eck et Gillis, 1997). elle est composée de chymosine et de pepsine.

a) La chymosine

Est la protéase majeure responsable d'au moins 85% de l'activité coagulante totale (Eck et Gillis, 1997). Appartenant au groupe des protéases acides. Elle comporte 323 acides aminés. Elle est stable aux pH (5.3 à 6.3), inactivée aux pH 7 (vers 7.5) et dénaturée à pH 8. L'inactivation thermique à lieu 50 °C, elle est totale à 61°C (Scriban, 1999).

b) La pepsine

Est le constituant mineur de la présure dont la sécrétion gastrique ne devient prépondérante qu'après sevrage (Ramet, 1993). La pepsine est relativement stable à des pH compris entre 5 et 5,5. Son activité enzymatique est plus élevée entre pH 1 et 4 avec un maximum vers 1,8 et varie selon la nature du substrat. C'est une enzyme thermosensible en solution après 55°C. Elle est dénaturée à des températures à 70°C (Graiday, 1978).

3.1.2 Enzymes Coagulantes d'origine végétale

De très nombreuses préparations coagulantes sont issues du règne végétal et sont extraites par macération de différentes parties de plantes supérieures. (Eck et Gillis, 1997) On retrouve la papaïne (feuilles de papaye), la broméline (tige de l'ananas) et la ficine (suc du figuier). (Llorente *et al.*, 2004 ; Low *et al.*, 2006 ; Egito *et al.*, 2007). L'extrait coagulant de *Cynara cardunculus* (une variété de chardon) a été largement utilisé pour la fabrication traditionnelle de fromages de brebis (Roseiro *et al.*, 2003). Trois protéases aspartiques (cynarase 1 à 3) ont été identifiées dans cet extrait (Heimgartner *et al.*, 1990).

3.1.3 Plante étudiée (*Cynara cardunculus*)

Le cardon (cardoon ou Wild thistle en Anglais et Khourchef ou Kernoun Berri en Arabe) (Bonnier, 1927 ; Christen et Virasoro, 1935 ; Grisvard et Chaudun, 1964 ; Campos, 1990), une plante spontanée typique du pourtour méditerranéen (Jahandier, 1931 ; Coste, 1983 ; Roseiro *et al.*, 2003). Le cardon est une plante vivace, robuste, raide, dressée d'une taille de 80 à 150cm, (Coste, 1983). Elle ne forme la première année qu'une rosette de feuilles stériles, (Bayer *et al.*, 1990). Elle diffère de l'artichaut par ses feuilles profondément divisées en lobes qui se terminent par des épines et par les bractées d'involucre finissant par une pointe dure et aigüe (Perrot, 1944).



Figure 2. Chardon (*cynara cardunculus*).

3.1.3.1 Systématique

Selon QUEZEL et SANTA (1963), on peut classier le cardon comme suit :

Groupe : *Dicotylédones*

Sous-groupe : *Claciflores*

Série : *Claciflores Gamopétales*

Famille : *Composées ou Astéracées*

Sous famille : *Carduacées ou Cynarocéphales*

Tribu : *Carduinées*

Genre : *Cynara*

Espèce : *Cynara cardunculus*

Partie expérimentale

Chapitre 4

Matériel et Méthodes

4.1 But de travail

L'ensemble de ce travail a été effectué au niveau des laboratoires de notre Faculté SNV et laboratoire d'essais et d'analyse de qualité (ISO-LAB) Les objectifs de cette étude s'articulent autour des points suivants :

– Etudier la qualité (physicochimique et microbiologique) du lait de chèvre qui sert à la fabrication du fromage.

_l'extraction de l'enzyme coagulant d'origine végétale.

– les étapes de fabrication du fromage frais .

– Effectuer les analyses de notre produit fini (fromage) pour assurer sa Qualité nutritionnelle.

4.2 Echantillonnage

4.2 .1 Source des prélèvements

Dans notre étude on a prélevé le lait crus de chèvre(race alpine) produit dans L'Institut de L'ITDAS

4.2. 2 l'enzyme coagulant

La présure CHY-MAX®Poudre NB elle est fournie par l'ITDAS.

Enzyme extraire par la plante (fleurs de chardon : cynara cardunculus).

4 .3 Les analyses physico-chimique et microbiologique du lait de chèvre

4.3.1 Analyses physico-chimique du lait

4.3.1.1 Détermination du pH

Principe

Repose sur la mesure directe de pH Par pH-mètre à l'aide d'une électrode. (Sbouï *etal.*,2009).

Mode opératoire

on prolongée l'électrode de pH-mètre dans bécher contenant 100 ml du lait. Cette dernière doit être bien homogène à température ambiante.

4.3.1.2 Détermination de l'acidité titrable

Principe

Reposée sur le titrage par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphthaléine comme indicateur (Labioui *et al.*, 2009).

Dans un bécher de 50 ml, introduire :

- 10 ml de lait.
- ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphthaléine à 1% dans l'alcool à 95% titrer avec une solution sodique(0,1) (NaOH) à l'aide d'une burette jusqu'au virage au rose pale.
- lire le volume sur la burette (en millilitre de NaOH titré). La valeur en acidité titrable exprimée en degré Doronic (°D), est donnée par l'expression suivante :

$$\text{Acidité} = V \cdot 10 \cdot (D^\circ)$$

4.3.1.3 Matières protéiques

Principe

Pour le dosage de Matières protéiques on utilise la méthode de titrage au formole Selon (Aoac international, 2002).

- Un échantillon précis de lait liquide frais de 20 ml est versé dans un bécher.
- Ajouter quelques gouttes de solution de phénolphthaléine à 1%.
- Titrer le mélange avec une solution de NaOH 0,1N jusqu'à l'obtention d'une couleur rose.

Stable pendant 30 secondes sans relever le volume de soude.

- Ajouter dans le bécher 4 ml de formaldéhyde préalablement neutralisé avec NaOH 0,1N.
- Le mélange obtenu est homogénéisé et titré à nouveau avec une solution de NaOH 0,1N

Jusqu'à l'apparition de couleur rose, noter le volume de NaOH (V1).

Expression des résultats

$$\% \text{ de protéines} = V1 \times 0,959$$

- 0,959 Est le coefficient de conversion pour les matières protéiques du lait.

4.3.1.4 Matières grasses par la méthode acido- butyromètre (ISO 488, 1983)

Mode opératoire:

Cette méthode est basée sur la dissolution de la matière grasse à doser par l'acide sulfurique. Sous l'influence d'une force centrifuge et grasse à l'adjonction d'une faible quantité d'alcool iso-amylique, la matière grasse se sépare en couche claire dont les graduations du butyromètre révèlent le taux.

Mode opératoire

- Introduire 10ml d'acide sulfurique dans un butyromètre de GERBER - Ajouter 11ml de l'échantillon ont évitant de mélanger les liquides - Ajouter 1,5ml d'alcool iso amylique - On ferme le butyromètre à l'aide d'un bouchon, puis on mélange jusqu'à la dissolution totale du mélange - Centrifuger à 1200 tours pendant 5 min.

Expressions des résultats

Le résultat est exprimé en g/l et la lecture se fait directement sur le butyromètre

4.3.1.5 Détermination de la teneur en lactose

1-Solutions

Solution aqueuse d'hexacyanoferrate II de potassium hydraté

(K₄Fe(CN)₆·3H₂O)150g

- eau distillée (qsp)1000ml

Solution aqueuse d'acétate de zinc hydraté

- (Zn(CH₃COO)₂·2H₂O).....300

- eau distillée (qsp).....1000ml

Solution cuivrique

- sulfate de cuivre II hydraté (CuSO₄·5H₂O) à 4% 5 P/V.....40g

- acide sulfurique (d (20) = 1,83).....2ml

- eau distillée (qsp).....1000ml

Solution tartro-alkaline

- tartre double de sodium et de potassium ($\text{Na K (H}_4\text{C}_4\text{O}_6)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)200g
- hydroxyde de sodium (NaOH)..... 150g
- eau distillée 1000ml

Méthode de liqueur de Fehling selon Medjour

Mode opératoire

1. Défécation

Dans la fiole jaugée de 50 ml, introduire successivement :

5 ml de lait.

0.4 ml de solution d'hexacyanoferrate (II) de potassium (1). Agiter .

0.4 ml de solution d'acétate de zinc (2). Agiter .

Compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée tout en mélangeant. Ajouter alors 0.4 ml d'eau distillée pour tenir compte du volume du précipité. Agiter, laisser reposer 10 à 15 minutes et filtrer ; Introduire ce filtrat (Solution S) dans une burette.

2. Réduction de liqueur de Fehling

Dans une Erlenmeyer, introduire :

10 ml de solution cuivrique (3).

10 ml de solution tartro-alkaline (4).

Agiter et porter le mélange à ébullition.

Verser ensuite goutte à goutte le filtrat (Solution S) à l'aide une burette en maintenant à l'ébullition jusqu'à l'apparition d'un précipité rouge brique.

Lire le volume sur la burette (chute de burette), soit V_2 en ml.

Etalonnage de liqueur de Fehling

L'étalonnage est fait à l'aide une solution étalon de lactose de concentration $C_1 = 5 \text{ g/l}$. Elle correspond à une chute de burette V_1 en ml.

3. Expression des résultats

La concentration en lactose inconnue C_2 , est donnée par la relation suivante

$$C2 = (C1 \times V1 / V2) \times d$$

ou (d) est le coefficient de dilution (10).

4.3.1.6 Dosage d'urée

Ce dosage est déterminé par les kits d'urée-B (SPINREACT).

Le principe

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). Les ions ammonie réagis avec salicylate et hypochlorithe (ClONa) en présence du catalyseur nitroprusiate pour former un indophénol vert.

4.3.1.7 Détermination de la matière sèche

Mode opératoire

- Homogénéiser l'échantillon par agitation légère.
- Introduire 1ml de lait dans une capsule séchée dans une étuve de dessiccation pendant 15min et la laisser refroidir dans dessiccateur.
- Mettre la capsule dans l'étuve de dessiccation à 103±2°C jusqu'à l'obtention d'une couche sèche et blanchâtre.
- Retirer la capsule dans l'étuve de dessiccation, et la mettre dans un dessiccateur.
- Après refroidissement peser les capsules.

Expression des résultats

- La matière sèche exprimée en grammes par litre de lait (g/l) est égale à :

$$MS = (M1 - M0) \times 1000/V$$

M0 : est la masse en grammes de la capsule vide.

M1 : est la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

V : est le volume en millilitres de la prise d'essai 1ml.

4.3.2 Les analyses microbiologiques (J.O.R.A).

4.3.2.1 Préparation de solution mère et des dilutions décimales

Dilution primaire (suspension mère) Suspension, solution ou émulsion obtenue après qu'une quantité pesée ou mesurée du produit à analyser (ou de l'échantillon pour essai préparé à partir de ce produit) ait été mélangée, avec neuf fois la même quantité de diluant en laissant les grosses particules se déposer, et, si nécessaire, des dilutions décimales suivantes en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume, pour faciliter l'examen microbiologique. (JORA N°70. 2016).

a) Recherche des Germes aérobies 30°C

Mode opératoire

Transférer en double 1 ml des dilutions retenues dans des boîtes de Pétri Couler 12 à 15 ml de milieu(PCA), Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu. Laisser solidifier. Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 30°C ± 1 pendant 72h ± 2 h. (JORA N°70. 2016).

b) Recherche des coliformes thermo-tolérants

« Coliforme » s'applique aux bactéries en forme de bacilles Gram négatives, aérobies et facultativement anaérobies, non sporulées fermentant le lactose avec formation de gaz et d'acide (J.O.R.A N°70. 2016). leur identification se fait sur milieu sélectif BLBVB (Bouillon Lactosé Bilié au Vert Brillant).L'incubation des boîtes est faite à 44°C/48h.

c) Recherche de Salmonella

Les salmonella sont des bactéries mésophiles, ayant une température optimale de croissance de 35/37°C, elles apparaissent comme des bâtonnets à Gram négatif.

Mode opératoire

La recherche des salmonella nécessite 4 phases successives telles qu'indiquées (voire annexe 4).

d) Recherche des Staphylocoques aureus

L'étude des Staphylococcus aureus permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur, ils sont les seuls à produire une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (Guiraud, 1998).

Mode opératoire

Un volume de 1 ml de lait est ensemencé en masse dans de la gélose de Baird Parker (BP) puis incubé à 37°C/24-48 h. La gélose Baird Parker est préparée en ajoutant 5 % (v/v) d'une solution de jaune d'œuf préparée à 50 % (m/v) dans de l'eau physiologique et 0,3 % (v/v) de tellurate de potassium.

4.4 Extraction de l'enzyme brut des fleurs de chardon

Les fleurs sont mises à sécher à une température ambiante ne dépassant pas 25 ° C et à l'abri de la lumière. (Laurent, 1974 ; Nouani *et al.*, 2009) 10 g de fleurs sèches est broyer et macérer dans une solution tampon d'acétate de sodium à 0,1M, pH 5 additionne d'acide borique à 0,2%, pendant 24 heures sous agitation douce puis congélation et décongélation, la solution obtenue est centrifugée à 1000 tr/mn pendant 45mn à 4°C. Le surnageant récupéré subit deux filtrations successives, sur papier filtre, puis une filtration sous vide sur membrane de 0,4 microns. L'extrait enzymatique est ajusté au pH 5, pH de stabilité enzymatique. (Nouani *et al.*, 2009) .

Détermination de l'activité coagulante

L'activité coagulante d'un extrait enzymatique est exprimée soit par l'unité d'activité coagulante (U.A.C) nommée aussi unité présure (U.P) selon la méthode de Berridge (Siboukeur, 2005) ou par la notion de force coagulante (Nouani *et al.*, 2009).

L'unité d'activité coagulante est définie comme étant la quantité d'enzyme par millilitre d'extrait enzymatique qui provoque la floculation de 10ml de substrat de Berridge en 100 s à 35°C.

Elle est calculée par la formule $U.A.C = 100V / 10T.V'$ Ou

V : Volume du lait à coaguler (10ml).

V' : Volume de la solution enzymatique (1ml).

T : Temps de floculation en seconds.

100 : 100 seconds.

La force coagulante représente le volume du lait coagulable par unité de volume d'une enzyme ou d'un extrait enzymatique, en 40 min à 35°C et pH égale 6,4. (Alais, 1984).

Elle est exprimée selon la formule

$$F = 2400V / TV' \text{ Ou}$$

F : Force de l'enzyme.

2400 :40 min.

4.4.1 Détermination des conditions optimales de coagulation

1) la température

a pour but de déterminer La température optimale de coagulation du lait par l'extrait enzymatique et la présure en fonction de changement de la température (30C°_70C°).

Mode opératoire

10 ml de lait est versé dans un tube à essai et porté dans un bain marie. Au temps zéro 1ml de la solution enzymatique et 1 ml de la présure sont ajoutés et le chronomètre est déclenché. Temps de coagulation est relevé visuellement dès l'apparition des premiers flocons sur la paroi du tube à essai. L'activité coagulante est mesurée pour chaque valeur de T°(en UAC/ml).

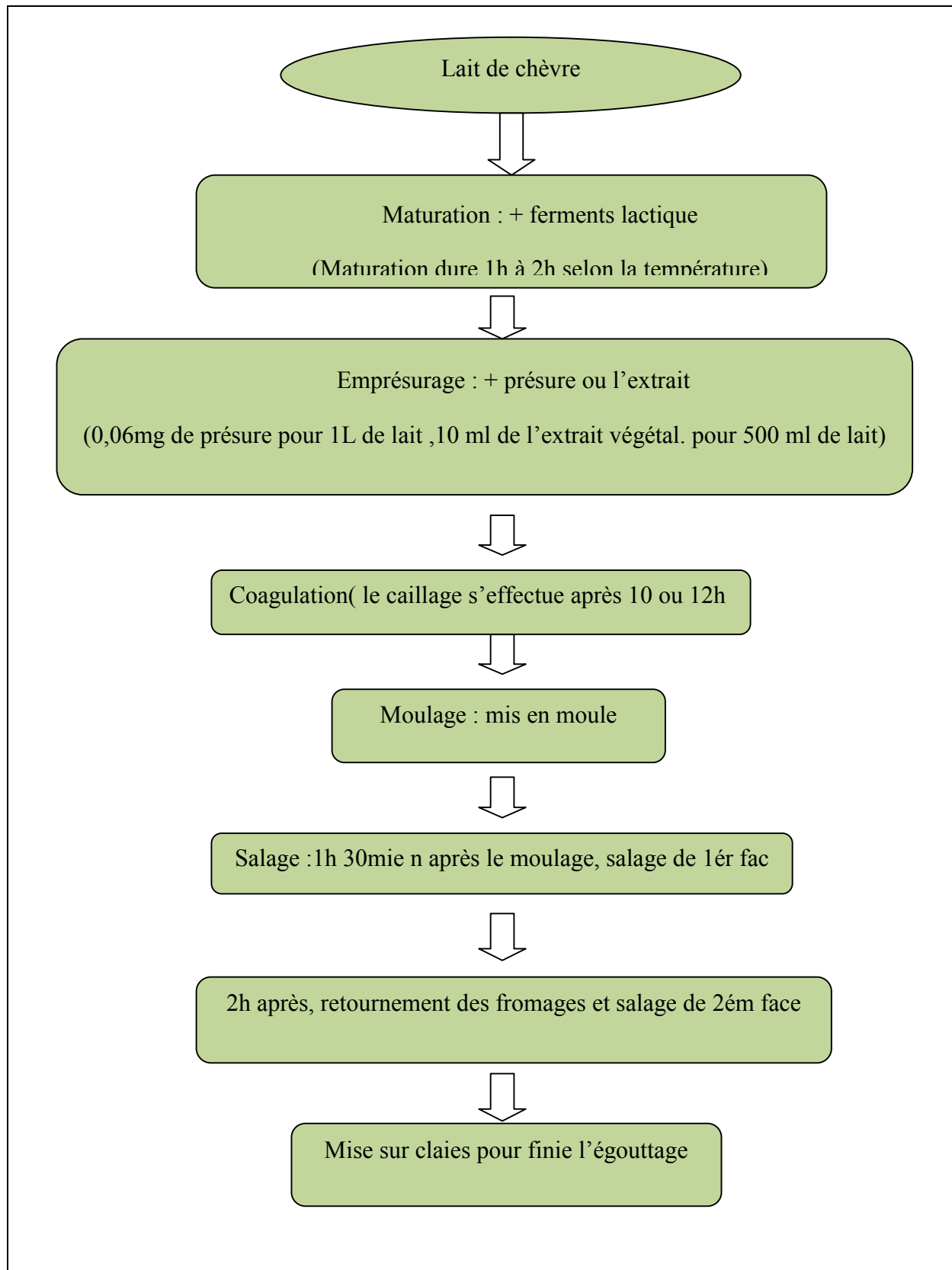
2) Changement de pH

En vue de savoir L'effet du pH du lait sur l'activité coagulante on ajustant aux valeurs de l'intervalle 5 à 8. Le pH est ajusté par addition d'une solution d'HCL ou de NaOH à 0,1N. a été déterminée en mesurant le temps de coagulation du lait porté dans des La température d'incubation est fixée à 35°C. (Nouani *et al.*, 2009).

3) Changement concentration de CaCl₂

pour déterminer l'influence de La concentration de CaCl₂ du lait par l'extrait enzymatique et la présure , a été déterminée en mesurant le temps de coagulation du lait porté dans des concentrations différentes entre 0,01 à 0, 5 mol/l et la température d'incubation est fixée à 35°C, et le pH de lait à 6,4.(Nouani *et al.*, 2009).

4.5 Diagramme de fabrication du fromage frais

**Figure 3.** Diagramme de fabrication du fromage frais

4.6 Les analyses physicochimiques et microbiologiques du fromage

4.6.1 Les analyses physicochimiques

4.6.1.1. Détermination du pH :

Dans le cas du fromage, on disperse 10 grammes de celui-ci dans 100 ml d'eau distillée contenue dans un bécher puis on y plonge l'électrode du pH-mètre.

4.6.1.2. Détermination de l'acidité

10 grammes de fromage dans 100 ml d'eau distillée préalablement chauffée à 80°C. Après refroidissement à 25°C et filtration de la suspension, la mesure de l'acidité est effectuée par titrage avec de la soude en présence de phénolphtaléine (3 à 5 gouttes) jusqu'à l'obtention d'une coloration rose persistante.

4.6.1.3 Détermination de l'extrait sec total

La matière sèche peut être définie comme la masse restante d'un produit après une déshydratation. Elle renferme les protéines, les lipides, les glucides, les minéraux et les vitamines. Donc pour estimer la valeur énergétique d'un aliment, la connaissance de sa quantité est indispensable.

Mode opératoire

Une capsule vide est pesée et sa masse sera notée (m_0). Dans cette capsule, 2 g de fromage sont ajoutés sa masse est notée (m_1). Le tout est porté à l'étuve préalablement chauffée à 150°C pendant 1h et 30 min. Après refroidissement, la capsule est pesée, sa masse est notée (m_2).

Expression des résultats et mode de calcul

La teneur en matière sèche totale de l'échantillon exprimée en gramme pour cent gramme d'échantillon, s'obtient selon la formule ci-après :

$$C = \frac{m_2 - m_0}{m_1} \times 100$$

Cette mesure consiste à évaporer l'eau contenue dans le fromage, elle est basée sur le fait que l'eau s'évapore à une température de 100°C.

4.6.1.4 Détermination du rendement fromager :

Le rendement fromager présente un grand intérêt en industrie fromagère car il reflète globalement comment a été réalisée la répartition quantitative des constituants du lait lors de l'égouttage. Il nécessite un taux élevé en extrait sec et plus précisément en protéines (caséine) et des concentrations élevées en matière grasse (Naoani, 2009). Elle s'obtient selon la formule ci-dessous (Vignola, 2002) :

$$R\% = \frac{F_g}{L + I} \times 100$$

R : signifie le rendement fromager en %.

F_g : signifie le poids du fromage obtenu en kilogrammes.

L : signifie le poids du lait en kilogrammes.

I : signifie le poids des ferments et de présure

4.6.1.5 Matières grasses (MG)

Prise d'essai :

peser 3g dans le godet taré du butyromètre, Fermer le col du butyromètre, ajouter l'acide sulfurique jusqu'à remplissage au 2/3 la chambre du butyromètre, Le placer ensuite après l'avoir fermé de l'autre côté dans le bain d'eau à 65°C pendant 5mn ; Le retirer du bain d'eau et l'agiter 10 secondes, Répéter l'opération de chauffage et d'agitation jusqu'à dissolution totale des protéines. Ajouter ensuite 1ml d'alcool, agiter puis ajouter de l'acide sulfurique par l'ouverture étroite jusqu'à ce que le niveau atteigne les 35% de l'échelle, fermé avec un petit bouchon et faire des retournements, Le placer dans le bain d'eau à 65°C pendant 5mn, centrifuger pendant 10mn et procéder à la lecture après l'avoir replacé dans le bain d'eau pendant 5mn.

4.6.2 Analyses microbiologique

Préparation de la solution mère

Dans des conditions d'asepsie, 10 g de fromage sont homogénéisés dans 90 ml d'eau physiologique stérile, préchauffée à environ 45°C pendant quelques secondes, ce qui forme la solution mère (10⁻¹). Une série de dilutions décimales est réalisée en prélevant 1 ml de la solution mère dans 9 ml d'eau physiologique stérile, ce qui constitue la dilution 10⁻², puis

après homogénéisation de cette dernière, la même opération est répétée pour la préparation du Reste de dilutions. (J.O.R.A, n°70, 2004).

4.6.2.1 Dénombrement des différentes flores

Les méthodes utilisées sont celles décrites dans le cas du lait cru.

Chapitre 5

Résultat et discussion

5.1 Les analyses du lait de chèvre

5.1.1 Les analyses physicochimiques

Le tableau ci-dessous représente les résultats des analyses physico-chimiques du lait de chèvre étudiée.

Tableau 1. Paramètres physico-chimiques du lait de chèvre.

Paramètres	Espèces	Lait de Chèvre (Alpine)
pH		6,58±0,21
Acidité D°		18±1.52
Protéines (g/l)		35±1,5
Matières grasse (g/l)		35±7,07
Matières sèche (g/l)		106±11,54
Lactose (g/l)		38,85±1,62
Urée (mg/l)		391

5.1.1.1 pH

La valeur moyenne du pH du lait analysé est $6,58 \pm 0,21$ (tableau 1), ce qui est reste proche au de Alais (1984), 6,45-6,8. D'autre par le lait de vache est de valeur très proche de notre résultat avec 6.75, selon FAO(1995) la valeur de pH qu'on a trouvée est proche de pH de lait de vache

Le pH n'est pas une valeur constante et peut varier selon le cycle de lactation et sous l'influence de l'alimentation, Dans le cas ou le pH est inférieur à la norme cela indique une acidification du lait, qui peut être dû à un stockage inadéquat (Diao, 2000).

5.1.1.2 Acidité

Le lait de chèvre analysé présente une acidité titrable de $18 \pm 1.52^\circ\text{D}$, ce résultat est supérieur de la norme. L'acidité du lait de chèvre reste assez stable durant la lactation .Elle est entre 16°D et 17°D d'acide lactique (Veinoglou *et al.*, 1989).et aussi elle est supérieure de l'acidité de lait de vache 16.8°D selon (Siboukeur, 2007).

L'acidité du lait peut être un indicateur de la qualité du lait au moment de la livraison car elle permet d'apprécier la quantité d'acide produite par les bactéries (Joffin et Joffin, 2004).

Selon Aggad *et al.*,(2009), Kouniba(2007), l'acidité peuvent être liées au climat, au stade de lactation, à la saison et à la conduite d'élevage notamment l'alimentation et l'apport hydrique.

5.1.1.3 Teneur en protéine

La valeur moyenne relevée pour l'échantillon de lait caprin est 35 ± 1.5 (g/l) .cette valeur est proche au lait de vache qui est 33.3g/l selon Siboukeur(2007).

Par rapport à d'autres études sur le lait de chèvre, Remeuf et Lenoir(1985) avec 27g/l et Vassal *et al.*, (1994)avec 27g/l Raynal-Ljutovac *et al* (2008) avec 26g/l, marque la supériorité de teneur en protéines totale de nos échantillon.

Alors des moyennes telles que 35Gg/l (Decandia *et al.*, 2007) ,37g/l(Berger *et al.*, 2004) et 38g/l(Zahraddeen *et al.*, 2007), confirment légèrement nos résultat en matière protéique.

5.1.1.4 Taux de matière grasse

Le résultat obtenu montre que le lait de chèvre est riche en matière grasse par une teneur de 35 ± 7.07 (g/l) cette dernière est ce rapproche de celle (Voustinas *et al.*, 1990) avec 34.4(g/l) par contre le lait de vache est 30(g/l) selon FAO(1995).

le lait de chèvre est plus riche que le lait de vache en acide gras et plus sujets à la lipolyse, laquelle provoque l'apparition d'une odeur rance. (Chilliard, 1996).

5.1.1.5 Matière sèche

La valeur enregistrée concernant la matière sèche d'échantillons du lait étudié est 106 ± 11.54 (g/l) Cette valeur est supérieur à celle trouvée par Rayanal-Ljutovac *et al.* (2008). avec 116 (g/l) et Zahraddeen *et al.* (2007). à 115,3(g/l).

Mais la valeur élevée en matière sèche enregistrée par Cassinelloc et Pereira (2001), 156,5 (g/l) pour le lait de chèvre est supérieure à nos résultat.

La teneur en matière sèche peut être influencée par des facteurs comme l'alimentation de l'animal et la saison.(Cassinello et Pereira, 2001).

5.1.1.6 Lactose

Le lactose est un sucre spécifique du lait (Hoden *et al.*, 1985).il est entre 48 à 50 g/L, soit environ 5% (4,8 à 5,2% (Fayolle, 2015).

Le résultat obtenu de lait analysé est 38.85 ± 1.62 (g/l). La teneur en lactose est proche à celle rapportée par (Mehaia et ALkanhal, 1992) (41g/l). Mais inférieures a celle présent par (Veinoglou *et al.*,1982; Roudj *et al.*, 2005), présentant une variation allant de 44 à 47 g/l. Ainsi Decandia *et al.*,(2007) rapporte une valeur moyenne de 43,5 g/l, de même que Lefrileux *et al.*(2009), à 43,3 et Curtis(1983) qui avance 42(g/l) pour le lait caprin, en plus de 45.4 (g/l) (Siboukeur, 2007).

5.1.1.7 l'urée

Le taux d'urée est un excellent critère pour évaluer l'équilibre énergie/azote de la ration, rappelle Laurent Laloux (AWE, recherche & développement). Trop d'urée peut signifier une ration trop riche en azote et/ou trop faible en énergie.

Le résultat obtenu montre qu'il y a un taux élevé en urée de 391.20mg/l .Un taux élevé d'urée dans le lait peut être causé par un excès de protéines dégradées dans le rumen ou un excès de protéines non dégradées au niveau de l'intestin, en relation avec l'énergie disponible pour les utiliser. Ce phénomène peut être attribuable à un taux excessif de protéines brutes, à un manque d'énergie fermentescible ou à un mauvais synchronisme des vitesses de dégradation ruminale respectives de la protéine et des glucides.(Wattiaux, 2015).

5.1.2 Les analyses microbiologiques

Tableau 2. les analyses microbiologiques du lait de chèvre

Produit analysée	Micro-organismes recherchées	Résultats obtenue	Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml) (J.O.R.A)	
			M	M
Lait cru	<i>Germes aérobies à 30°C</i>	$8,92.10^2$	3.10^5	3.10^6
	<i>Staphylocoques</i>	$0,516.10^2$	10^2	10^3
	<i>Coliformes thermo tolérants</i>	$8,31.10^2$	5.10^2	5.10^3
	<i>Salmonella</i>	Absence	Absence dans 25 ml	

5.1.2.1 Germes aérobies à 30°C

Dans notre travail on trouve que le nombre de colonies des GA à 30°C dans le lait de chèvres est conforme aux normes (J.O.R.A, 2016). Selon Farris(2009) un lait de chèvre est de très bonne qualité microbiologique quand il contient moins de 10^5 (g/ ml) du lait.

D'après les résultats obtenus on conclure que le lait analysés présents en général une charge microbienne moyenne. cela est probablement dû au respect des règles d'hygiène à savoir le nettoyage des mains, de la mamelle et de matériel de traite.

5.1.2.2 Staphylocoques aureus

Les résultats obtenus présentent un nombre $0,516.10^2$ de *Staphylococcus aureus* dans le lait, cela veut dire que le lait est conforme à la norme (J.O.R.A, 2016).cette conformité est l'œuvre d'une bonne hygiène du personnel chargé à la traite ainsi que la bonne santé de l'animal (la mamelle).

5.1.2.3 Coliformes thermo tolérant

D'après nos résultats le nombre de coliformes thermo-tolérant est $5.10^2 < 8,31.10^2 < 5.10^3$, ce signifie que notre produit analysé est conforme aux normes J.O.R.A(2016).

Selon Labioui et *al.* (2009).sont des indicateurs de contamination d'origine fécale, ils permettent de juger l'état hygiénique d'un produit.

Il s'agit donc plutôt de marqueurs de mauvaise maîtrise d'hygiène ainsi qu'à la mauvaise manipulation.

5.1.2.4 Salmonella

Les résultats des analyses de la recherche de salmonella indiquent leur absence totale dans le lait à analysés. ce qui confirme a produit analysé est conforme aux normes du J.O.R.A (2016). L'absence de ce groupe microbien pathogène montre que notre produit n'est pas contaminé.

Selon GUY(2006).La principale source de contamination serait l'excrétion fécale de salmonelles, dissémination de la bactérie dans l'environnement, puis contamination de la peau des mamelles Donc notre résultat confirme que les animaux producteurs des laits sont en bonne santé et ne représentent pas des mammites.et du matériel de traite.

5.2 Caractérisation de l'extrait enzymatique

Tableau 3. L'unité d'activité coagulante et la force des enzymes animal et végétal.

	L'enzyme animal	L'enzyme végétal
U.A.C (U.P)	20	0,56
F : Force de l'enzyme	1 /4800	2 /136 ,36

Le tableau 3 présente l'unité d'activité coagulante et la force des enzymes on observe que l'enzyme animal a une activité coagulante 20U.A.P et une force de 1/4800ml plus élevé que l'enzyme d'origine végétal 0,56 U.A.P et 2/136,36ml.

Les résultats obtenues est concordent a celle trouvées par Nouani (2009).Force 1/400 et 1/10000 pour l'extrait végétal et l'extrait animal respectivement et une activité coagulante de l'extrait végétal très faible par apport au l'activité coagulante de l'extrait animal.

5.2.1 L'effet de température du lait sur l'activité coagulante des deux enzymes végétal et animal.

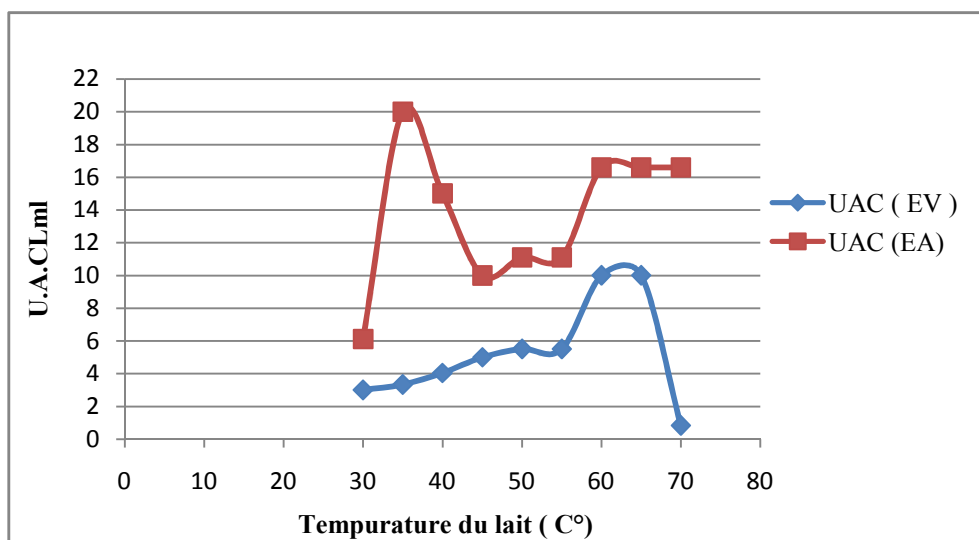


Figure 4. L'effet de température du lait sur l'activité coagulante des enzymes.

Les résultats rapportés dans la (Fig.4) indiquent que l'activité coagulante de l'extrait végétal et de la de l'extrait animal augmente proportionnellement avec l'élévation de température jusqu'à 35°C pour l'extrait animal puis l'activité diminue au de la 40C° , elle

atteint un maximum à 60-65°C pour l'extrait enzymatique végétal, puis diminue au-delà de 65°C (dénaturation des protéines). Les enzymes d'origine végétale se caractérisent par des températures optimums d'activité bien supérieures à celles observées dans le cas de l'extrait animal.

Par contre plusieurs auteurs, qui ont précisé que les protéases d'origine végétales sont très thermostables, et elles ont généralement une température optimum d'activité beaucoup plus élevée que celle des protéases d'origine animale (Roseiro *et al.*, 2003 ; CHAZZARRA *et al.*, (2007) ; Claverie et Hernandez, 2007 ; Nouani , 2009).

5.2.2 L'effet de CaCl₂ du lait sur l'activité coagulante

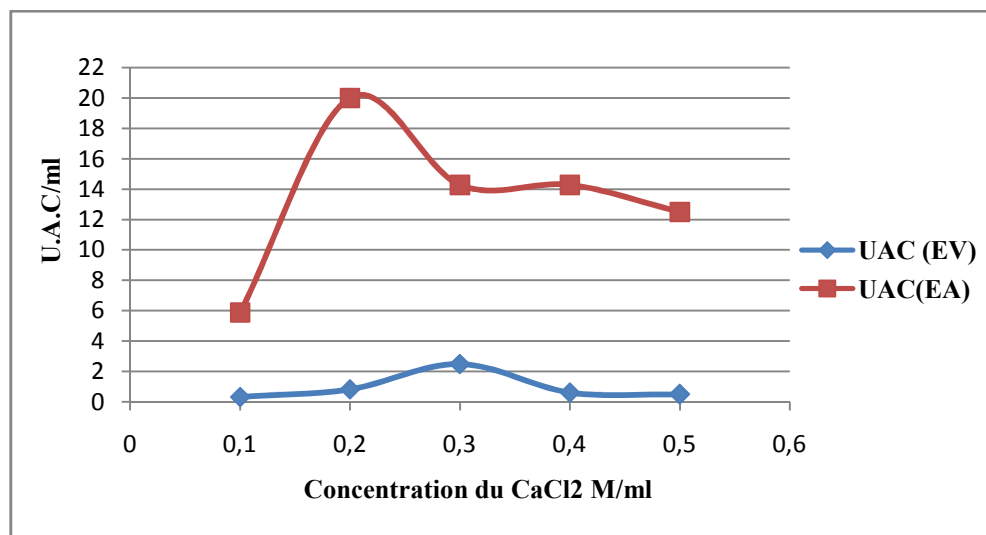


Figure 5. L'influence de concentration de CaCl₂ sur l'activité coagulante des enzymes.

L'addition du chlorure de calcium au lait, pratique courante en fromagerie, a pour effet de réduire le temps de coagulation.

La (Fig.5) montre l'influence de la concentration de CaCl₂ sur l'activité coagulante de l'extrait végétal et celle de l'extrait animal.

On observe que l'activité coagulante augmenté proportionnelle à la concentration de CaCl₂. Elle atteint un maximum de 2U.A.C et 20U.A.C pour l'extrait végétal et de l'extrait animal respectivement.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par plusieurs auteurs qui ont mis en évidence l'effet des ions Ca⁺⁺ dans le processus de coagulation enzymatique des laits

(Najera *et al.*,2003 ; Chazarra *et al.*,2007; Nouani, 2009) contrairement a Lo Piero *et al.*,(2002) qui rapporte que l'addition du CaCl_2 n'affecte pas l'activité catalytique de la lettucine(enzymes) sur la caséine entière. Pour les concentrations supérieures, l'activité baisse par un effet inhibiteur de l'ion calcium. Ceci s'explique par l'inhibition des caséines du lait (Cheftel *et al.*, 1985).

5.2.3 L'influence du pH du lait sur l'activité coagulante des enzymes

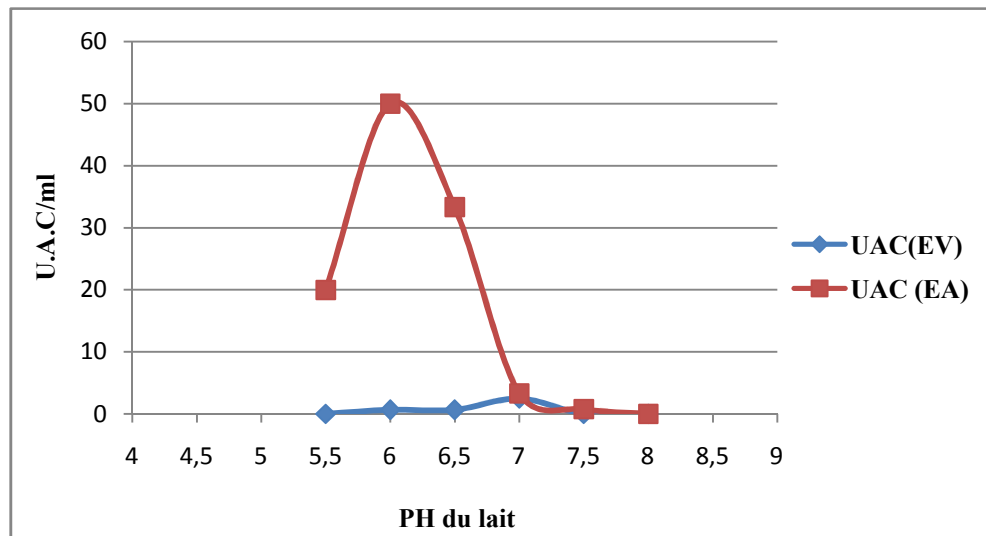


Figure 6. L'influence du pH du lait sur l'activité coagulante des enzymes

La fig6 : montre l'influence de pH sur l'activité coagulante de deux enzymes d'origine animal et de d'origine végétal on observe une activité optimal à pH 6 pour l'enzyme animal par contre l'enzyme végétal a une activité optimal à pH 7.puis une inactivation totale au pH7.5 pour les deux enzymes .

Ces résultats sont différent que celle trouvée par Claverie et Hernandez, (2007); Nouani(2009) qui indiquent que l'extrait enzymatique animal et l'extrait enzymatique végétal sont plus actifs à des pH acides de 3 j' jusqu'a 5.

Selon (Nouani, 2009)., à pH proche de la neutralité, la perte d'activité est très importante (80 a 90%) résultat similaire observé par Chazzara *et al.* (2007) sur la protéase de chardon (*Cynara cardunculus*) . par contre on trouvée que la protéase de l'extrait végétal reste active à pH neutre et perd leur activité a pH7, 5.

5.3. Les analyses physicochimiques et microbiologiques du fromage frais fabriqué

5.3.1 Essai de fabrication du fromage frais à partir l'extrait végétal (fleur de chardon) et l'extrait animal (la présure)

Pour avoir l'influence de l'extrait coagulant de l'extrait végétal (fleurs de cardon) sur la technologie de fabrication, la qualité de fromage comparais avec le fromage obtenue par l'extrait animal (la présure).



Figure 7. Fromage obtenue avec l'extrait végétal(fleurs de chardon).



Figure 8. Fromage obtenue avec l'extrait animal(la présure)

5.3.2 Les analyses physicochimiques

Tableau 4. Les analyses physicochimiques de fromage frais fabriqué par l'extrait animal et l'extrait végétal.

Paramètres	Fromage à extrait animal	Fromage à extrait végétal
pH	4,3±0,3	3,67±0,017
L'acidité (D°)	18±0,1	55±0,00
MG (g /L)	18,5±1,41	12,25±1,06
MS %	53 ,84±0,00	38,88±0,00
Rendement g/l	30,50	35,14
L'humidité %	46,6±0,00	61,12±0,00
MG/MS%	0,34	0,31

5.3.1.1 pH

Les résultats obtenus montrent que pH de deux fromage analysés est acide des valeurs de 4,3 et 3,6 ont été enregistrées pour fromage à l'extrait animal, fromage à l'extrait végétal respectivement .on observe le pH de fromage (EV) légèrement plus acide que fromage à

(EA). notre résultat obtenus est inférieure que celle obtenus par (Oguga,1987 ;Yahia et Yekhou, 2016).avec 5,9 ;6,2 pour l'extrait animal et l'extrait végétal respectivement.

5.3.1.2 l'acidité

D'après les résultats obtenus on observe la valeur de l'acidité de fromage fait avec (EA) est 18D°par contre l'acidité de fromage à (EV) est plus élevé 55D°. L'acidité de fromage à l'extrait végétal obtenue est élevé que trouvée par (Luisa .R *et al.*, 2003).

5.3.1.3 Matière grasse

La matière grasse de fromage à (EA) de valeur 18g /l est élevé par apport au fromage fait avec (EV),12,25 g/l , les valeurs obtenus sont inférieure que les valeurs trouvées par (Oguga *et al.*,1987)avec 29 ;26 pour l'extrait animal et végétal respectivement.

5.3.1.4 Matière sèche

La teneur en matière sèche des fromages fabriqués est 53,84g/l et 38,88g/l pour à l'extrait animal, l'extrait végétal respectivement, on observe que le fromage à (EA) a une valeur plus élève que le fromage à (EV) Cette différence dans l'extrait sec total est due principalement aux types des caillés obtenus. Ces valeurs sont inférieure à celle trouvées par

(Manuela Barbosa *et al.*, 1976). (62,1g/l ; 61,7g/l) pour le fromage gruyère.

L'extrait sec total varie selon le type du fromage. Il est influencé par la composition initiale du lait, le type de coagulation ainsi que le type d'égouttage (les fromages à pâte pressée ont un extrait sec totale nettement supérieur à celui des autres fromages) (Alais, 1984).

5.3.1.5 Rendement

Le rendement est la quantité de fromage obtenu à partir d'une quantité indiquée de lait. C'est le paramètre le plus important du point de vue économique dans l'industrie laitière (Huppertz *et al.*, 2006; Bittante *et al.*, 2013). Il reflète aussi le bon déroulement des conditions de fabrication.

Les rendements obtenus pour les essais réalisés sont 30,50g/l ; 35,14g/l : pour les fromages issus de la coagulation par l'extrait végétal, l'extrait animal respectivement. Les valeurs obtenues sont supérieures à celle trouvée par (Manuela Barbosa *et al.*, 1976). pour le fromage gruyère, et (Oguga *et al.*, 1987).

5.3.1.6 L'humidité

Est une valeur indiquant le taux d'eau présent dans un aliment, à partir de cette valeur on peut déterminer s'il le produit analysé est humide ou semi-humide.

D'après les résultats obtenus la teneur en eau dans les fromages est 46,6% ; 61,12% de l'extrait animal et l'extrait végétal respectivement, donc on peut dire que le fromage préparé avec l'extrait végétal est plus humide que le fromage fait avec l'extrait animal.

Résultat obtenu est similaire à celle trouvée par (Oguga *et al.*, 1987). 44-80,49-70. de fromage préparé avec l'extrait animal et avec l'extrait végétal respectivement.

5.3.1.7 Le rapport MG/MS

Le rapport Gras/ Sec présente la teneur en MG et en EST des caillés, il est plus élevé pour le fromage de l'extrait animal qui est égale 0,35% et 0,31% pour l'extrait végétal.

Selon MSDA(2004) et d'après la teneur en MG/MS obtenus on peut classer notre produit comme fromage trois quart gras.

5.3.3 Les analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique a pour but de vérifier la qualité hygiénique d'un aliment.

Tableau 5. Les analyses microbiologiques de fromage préparé avec l'extrait animal et l'extrait végétal.

Produit analysée	Micro-organismes recherchées	Résultats obtenue	Limites microbiologiques (ufc (1)/g ou ufc/ml) (J.O.R.A)	
			m	M
Fromages à EA	<i>Staphylocoques</i>	0.715 .10 ²	10 ³	10 ⁴
	<i>Escherichia coli</i>	Absence	5.10 ⁴	5.10 ⁵
	<i>Salmonella</i>	Absence	Absence dans 25 g	
Fromages à EV	<i>Staphylocoques</i>	0.645 .10 ²	10 ³	10 ⁴
	<i>Escherichia coli</i>	Absence	5.10 ⁴	5.10 ⁵
	<i>Salmonella</i>	Absence	Absence dans 25 g	

Tableau 5 présent les analyses microbiologiques de deux fromages avec EA et EV respectivement on note :

- L'absence totale de *Escherichia coli* et *Salmonella* dans les deux fromages.
- La présence de *Staphylocoques* dans les deux fromages (à EA et EV) par nombres faibles ne dépasse pas les normes.

Selon Mahaut *et al.* (2000). la production du fromage de chèvre de qualité sanitaire satisfaisante est évidemment possible à condition de respecter les règles d'hygiène applicables au niveau de la production et de la transformation du lait.

L'analyse microbiologique montre que selon les normes fixées par J.O.R.A(2016). Notre fromage de chèvre qui est fabriqué avec EA et EV est satisfait.

Conclusion

Conclusion

Cette étude consiste à la fabrication d'un fromage frais, en utilisant un lait cru de chèvre de race Alpine en présence d'un agent coagulant extrait de fleurs chardon (extrait végétal) et la présure animale. A travers cette étude, nous avons évalué les paramètres physicochimiques et microbiologiques du lait de chèvre (matière première). En se référant aux normes (J.O.R.A, 2016).

Les analyses physico-chimiques a montré que le lait collecté présente globalement une composition satisfaisante. Il est important de signaler à ce niveau que les chèvres produisent un lait plus au moins riche en différents nutriments, avec :

- Un pH de $6,58 \pm 0,21$, une acidité d'une moyenne de $18 \pm 1,52^\circ\text{D}$, un taux de matière grasse estimé en moyenne à $35 \pm 7,07$ g/l; une moyenne d'extrait sec total de $106 \pm 11,54$ g/l, un taux protéique avec une moyenne de $35 \pm 1,5$ g/l, un taux de lactose avec une moyenne de $38,85 \pm 1,62$ g/l, un taux d'urée une moyenne de 391mg/l. Sur le plan bactériologique, on constate la présence de Germes aérobies à 30°C , Staphylocoques, Coliformes thermo tolérants mais les valeurs sont faibles et restent acceptables, $8,92 \cdot 10^2$ ufc/ml, $0,516 \cdot 10^2$ ufc/ml, $8,31 \cdot 10^{22}$ ufc/ml, respectivement. Concernant les Salmonelles on a observé leur absence totale, ce qui indique la bonne qualité du lait.

Concernant le fromage frais fabriqué par les deux extraits, soit animal (présure) ou végétal, les résultats montrent que pour le fromage à présure a un pH de $4,3 \pm 0,3$, l'acidité a une moyenne de $18 \pm 0,1\text{D}^\circ$, matière grasse est de $18 \pm 1,41$ g/l, matière sèche d'une moyenne de $53,84 \pm 0,00$ g/l, et du rendement 30,50g/l.

pour le fromage à extrait de chardon : le pH est de $3,67 \pm 0,017$, l'acidité est d'une moyenne de $55 \pm 0,00\text{D}^\circ$, la matière grasse est de $12 \pm 1,06$ g/l, et du rendement 35,14g/l ce qui dépasse le rendement fromager en utilisant la présure animal.

Sur le plan microbiologique on a remarqué la présence de Staphylocoques dans les deux fromages avec présure et avec l'extrait de chardon ; $0,718 \cdot 10^2$ et $0,645 \cdot 10^2$ respectivement et l'absence totale d'Escherichia coli et de salmonella ; ce qui confirme que la qualité bactériologique des fromages fabriqués est acceptable.

Pour conclure, nous pouvons dire que les résultats obtenus semblent intéressants d'autant plus qu'ils montrent la possibilité d'obtention d'extraits enzymatiques (extrait de

chardon), capables de remplacer la présure dans l'industrie fromagère en partant des pratiques traditionnelles. Ces extraits sont obtenus à partir de matières assez disponibles et inexploitable.

En perspective, cette étude pourrait être enrichie par d'autres essais de production, l'étude des paramètres influençant l'activité de l'enzyme afin d'améliorer la qualité et le rendement, possibilité d'utilisation de l'extrait brut du cardon pour la fabrication d'autres types de fromages et envisager la purification de l'enzyme.

Références

Référence

- Abdoune O. 2003. De Magister en Sciences Alimentaires Option Nutrition Appliquée Qualité du fromage a pâte molle type Camembert fabriqué à la laiterie de Draa Ben Khedda : nature de la matière première et évaluation de l'activité protéolytique au cours de l'affinage e', 88p.
- AFNOR. (1985). Contrôle de la qualité des produits laitiers –Analyses physiques et chimiques, 3ème édition.
- Aggad H., Mahouz F., Ahmed Ammar Y., Kihal M. 2009. Evaluation de la qualité hygiénique du lait dans l'ouest algérien. *Revue Méd. Vét.*, 160, 12. p 590-595.
- Alais C. 1984. Sciences du lait : Principes des techniques laitières- 4e éd- Paris: SEPAIC, 814p.
- Alais C. and Linden G. 1997. Biochimie alimentaire. 4e Ed., Ma. Paris. Available at: www.opu-dz.com.
- Amiot J., Paul A., Laurent B., Jean-Luk B., Britt, Michel, Castaigne and François. 2002. 'Science et technologie du lait, transformation du lait, 2eme Edition. Fondation de technologies laitières inc, Ecole polytechnique de Montréal'. p 600.
- Babo D. 2000. Races ovines et caprines francaises.édition : France Agricole, p 259-270.
- Badinand F. 1994. Maîtrise du taux cellulaire du lait. *Rec. Méd. Vêt*, n°170.
- Bauer W.J., Badoud R., Loliger J.2010. Sciences et technologies des aliments. Ed. ALAIN ETOURNAUD,539-562.
- Bayer E., Buttler K.P., Finkinzeller X., 1990. Guide de la flore méditerranéenne. Caractéristiques, habitat, distribution et particularités de 536 espèces. Ed. Neufchatel, Suisse, 287p.
- Bey D., Laloui S. 2005. Les teneurs en cuivre dans les piols et l'alimentation des chèvres dans la région d'El-Kantra (W. Biskra). Thèse Doc. Vét. (Batna).60 p.
- Bonnier G. 1927. Flore complète de France, Suisse et Belgique. Ed. E.Orlhac, Paris, 675p.
- Bouix D. and Levreau J. 1980. Les levures : Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro -alimentaires, le contrôle microbiologique. Edited by C. S. T. A. Ali.
- Campos R., 1990. Chemical characterization of proteinases extracted from wild thistle *Cynara cardunculus* L. *food chemistry*, 35: 89-97.
- Cassinello J., Pereira S. 2001. La qualité du lait etdu fromage dans cinq exploitations caprines de la serra do caldeirao. CIHEAM, Options Méditerranéennes, Série A, séminaires méditerranéens 46 :157-161.

- Chamba J.F. 2008. Application des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères', in bactéries lactiques lors des fabrication fromagères. In : bactéries lactiques de la génétique aux ferments (Corrieu G et Luquet F.M). Tec&Doc, Lavoisier. Paris. 787–821.
- Chazzara S., Sidrach L., Opez-molina D., Rodriguez-lopez J. N. 2007. Characterization of the milk-clotting properties of extracts from artichoke (*Cynara scolymus*, L.) flowers. *International Dairy Journal* 17 :1393–1400.
- Cheftel C., Cheftel H., Etbesanon P. 1983. 'Qualité et caractères organoleptiques des aliments : introduction à la biochimie et à la technologie des aliments techniques et documentation Lavoisier.' ; p165.
- Chilliard Y. 1996. Caractéristiques biochimiques des lipides du lait de chèvre : comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêts nutritionnel et diététique du lait de chèvre. Actes du colloque : le lait de chèvre, un atout pour la santé, INRA. Niort, France,51-65.
- Chilliard Y. 1996. Caractéristique biochimique des lipides du lait de chèvre. Comparaison avec les laits de vache et humain. Intérêts nutritionnel et diététique du lait de lait de chèvre. INRA. Laboratoire Génétique Biochimique et de Cytogénétique Domaine de Vilvert. Paris, 50-52.
- Cholet O.2006. Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Thèse doctorat, Institut National Agronomique Paris, Grignon, 192 p.
- Christen C., Virasoro E., 1935. Présures végétales. Extraction et propriétés. *Le lait*, 144-145, 354-363.
- Codex Alimentaire, S. (2013) 'Norme Générale Codex Pour Le Fromage'.
- Coulon J-B., Chilliard Y., Remond B. 1991. Effets du stade physiologique et de la saison sur la composition chimique du lait de vache et ses caractéristiques technologiques. Édition : *INRA Prod. Anim.*, 4 (3):219-228.
- Coulon J. B., Hoden A. 1991. Maitrise de la composition du lait. Influence des facteurs nutritionnels sur la quantité et les taux de matières grasses et protéiques. Édition : *INRA Prod. Anim* 4 (5): 361-367.
- Curtis W., Richardson. 1983. Let's compare dairy goats and cows. In MOUALEK I. Caractérisation du lai de chèvre collecté localement, séparations chromatographiques et contrôles électro phorétique des protéines: *Biochimie Appliquée et Biotechnologie*, Mémoire de magister. Université Mouloud Mammeri De Tizi Ouzou. Algérie, p5.
- Decandia M., Cabiddu A ., Molle G., Branc A ., Epifani G., Pintus S ., Travera F., Piedda G ., Pinna G ., Addis M. 2007. Effect of different feeding systems on fatty acid composition and volatile compound content in goat milk. *CIHEAM, Options Méditerranéennes, Série A*, 74:129-134.

- Diao M. 2000. la qualité du lait et produits laitiers. Institut Sénégalais de recherches Agricoles. Edition: GRET/ ENDA-ERAF Dakar. pp. 1-7.
- Eck A et Gillis J.C. 1997. Le fromage. 3eme édition, Lavoisier, Paris, France. 874p.
- Eck A et Gillis JC. 2006. Le fromage. 3ème Edition, Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 891p.
- Egito A.S., Girardet J.M., Laguna I.E., Poirson C., Molle D., Miclo L., Humbert G., Gaillard J.L 2007. Milk clotting activity of enzyme extracts from sunflower and albizia seeds and specific hydrolysis of bovine κ - casein. Int. Dairy J. 17:816–825.
- FAO. 1995. Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO Alimentation et nutrition n°28.
- FAO/OMS., 1999. Norme générale pour le fromage. CODEX STAN A-6- 1978, Rev.1-1999, 6 Pages.
- F.A.O. 2014. Données statistique sur l'élevage.
- Farris M. 2009. Connaissance des aliments : base alimentaires et nutritionnelles de la diététique, 2ème édition Lavoisier Tec & Doc, 18-22.
- Fournier A., 2006. L'élevage des chèvres. Artémis (eds). Slovaquie. P10-22. ISBN : 2844164579-9782844164576.
- FTLQ. 2002. Science et Technologie du lait. Fondation de Technologie Laitière du Québec Inc. Ed, Presses Internationales Polytechnique, Québec, canada, pp. 28-44.
- Gaillon P., Sigwald J.P. 1998. Résultats de contrôle laitier des espèces bovines et caprine France. Institut de l'élevage. Paris, p110.
- Ghenem M.,Mechalikh N .2017. Contribution à la fabrication d'un fromage local à base de lait de chèvre . mémoire de master, Université de Khemis-Miliana, algérie ,86.
- Goudéranche H., Camier-Caudron B., Gassi J.Y., Schuck P. 2001. Procédés de transformation fromagère (partie1), Technique de l'ingénieur, Paris, France, p17.
- Grisvard P. and Chaudun V., 1964. Le bon jardinier 2, encyclopédie horticole, la maison rustique, Paris, 1667p.
- Guiraud J.P., 1998. Microbiologie alimentaire, Edition DUNOD, 79-102.Ed. centre national de la recherche scientifique, Paris, 1170p.
- Guy F.I. 2006. Elaboration d'un guide méthodologique d'intervention lors de contaminations par les salmonelles de produits laitiers au lait cru en zone de productions fromagères AOC du massif central. Thèse doctorat d'état, université Paul-Sabatier de Toulouse, France. 17p.
- Handier E., 1931. Catalogue des plantes du Maroc. Imp. Minevera, Alger, 1181p.

- Hassan D. and Monier-Dilhan S. 2003 'Valorisation des signes de qualité dans l'agroalimentaire : exemple des fromages à pâte persillée. In Séminaire DADP / recherches pour et sur le développement régional. pp. 269-277.
- Heimgartner U., Pietrzak M., Geertsen R., Brodelius P., Dasilva figueiredo A.C., Pais M.S.S.1990. Purification and partial characterization of milk clotting proteases from flowers of *Cynara cardunculus*. *Phytochemistry* 29 :1405–1410.
- Hellal F.1986. Contribution à la connaissance des races caprines algériennes: Etude de l'élevage caprin en système d'élevage extensif dans les différentes zones de l'Algérie du nord, Thèse. Ing. Agro.INA. El Harrach. Alger.
- Hermier J., Lenoir J., Weber F. 1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitier Edition CEPIU, paris, pp. 62-88.
- Hermier J., Lenoir J. and Weber E.1992. Les groupes microbiens d'intérêt laitier .Edition CEPIL, Paris, p.568.
- Heuchel V , Marly J. 2001. Origines, diagnostic et moyens de maîtrise de la contamination du de vache par les salmonelles. Institut de l'élevage, paris, France.
- Hoden A., Coulon J.B., Dulphy J.P., 1985. Influence de l'alimentation sur la qualité du lait. Effet des régimes alimentaires sur les taux butyreux, facteurs généraux). *Bull .teche .CRZV Theix INRA*. N°60, p.13.
- Holmes Pegler H.S.1966. The book of goat. 9th edition, The bazaar, Exchange and Mart, LTD.
- Jacoste H., 1983. Flore descriptive et illustrée de la France, la Corse et des contrées limitrophes. Librairie scientifique et technique A. Blanchard, Paris, 627p.
- Jean-paul M.,Thierry L., dominique A ., Nathalie B ., Jean-claude G ., Franck J., Lionel K., Eric L., Pierre M. , Jacqueline M.P., Frederic T. 2009. Laits et produits laitiers. Groupe d'étude des marchés de restauration collective et de nutrition(GEMRCN). France, p.35.
- Joffin C et Joffin J.N., 1999.Microbiologie alimentaire. Collection biologie et technique.5^{ème} édition, p 11.
- Kouniba A. 2007.Caractérisions physico-chimique du lait de chèvre comparée à celles du lait de vache et de dromadaire et étude de son aptitude fromagère .bulletin de l'institut agronomique et vétérinaire Hassan II.
- Labioui H. L., Elmoualdi A., Benzakour M., et Yachioui E., Berny M.,Ouhssine. 2009. Étude physicochimique et microbiologique de laits crus, *Bulletin de la Société de pharmacie de Bordeaux*, vol.148, pp. 7-16.
- Larousse A. 2002.Science et technologie du lait :transformation du lait. p. 767. Available at: https://books.google.com/books?id=E-rb_Pffl5sC&pgis=1.

- Lefrileux Y., Raynauds M.S., barral J., Gauzerey D.E., Laithier C. 2009. Influence de deux systèmes d'alimentation sur la production et la composition du lait de chèvre hautes productrices et incidences technologiques en fabrication fermière lactique. *Rencontre Recherches Ruminants*. 16:139-142.
- Llorente .B.E., Brutti. C.B and Caffini .N.O. 2004. Purification and characterization of a milk-clotting aspartic proteinase from globe artichoke (*Cynara scolymus* L). *J. Agric. Food Chem.*, 52: 8182–8198.
- Lo Piero A.R., Petrone G., Puglisi I. 2002. Characterization of «lettucine », a serine-like protease from *Lactuca sativa* leaves, as a novel enzyme for milk-clotting. *J. Agric. Food. Chem.*, 50 (8): 2439 – 2443.
- Low Y.H., Agboola S., Zhao H. and Lim M.Y. 2006. Clotting and proteolytic properties of plant coagulants in regular and ultrafiltered bovine skim milk. *Int. Dairy J.*, 16 :335–343.
- Mahaut M., Jeantet R., Brule G. and Schuck P. 2000. *Les produits industriels laitiers*. Tec and Doc, Paris, France, p 41.
- Mahaut M., Jeantet R., et Brule G. 2005. *Initiation a la technologie fromagère*. Tec & Doc, Paris, France. 1-21.
- Medjour A. 2014. *Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques du lait collecté à partir de chamelles (Camelus dromedaris) conduites selon deux systèmes d'élevage (extensif et semi- intensif)*. Thèse de magistère en Biologie appliquée, Université Mohamed KHIDER de Biskra, 74 P.
- Mehaia M.A., AlKanhhal M.A. 1992. Taurine and other free amino acids in milk of camel, goat, cow and man. In. kouniba a., berrada m., el marakchi a. 2007. *étude comparative de la composition chimique du lait de chèvre de la race locale Marocaine et la race alpine et évaluation de leur aptitude fromagère*. *Revue Méd. Vét. Maroc*, 156:152-160.
- Michel V. 2012. *Qualité du lait cru : Impact sur la qualité sanitaire des produits laitiers transformés*. Pole Sanitaire Actilait (l'institut technique du lait et des produits laitiers) Séminaire Franco-Chinois 15 juin, France.
- Mitton B. 1991. *Transformation du lait en fromage : de Rossart H et Luquet F.M (Coord) les bacteries lactiques (vol .II)* Ed Lorica . uriage .FR . pp -55- 133.
- Najera A.I., Renobales M., And Barron L.R. 2003. Effects of pH, temperature, CaCl₂ and enzyme concentrations on the rennet-clotting properties of milk : a multifactorial study. *Food Chem.*, 80 : 345-352.
- Nouani A., Dako E., Morsli A., Belhamiche N., Belbraouet S., Bellal M.M., Dadie A. 2009. Characterization of the purified coagulant extracts derived from artichoke flowers (*Cynara scolymus*) and from the fig tree latex (*Ficus carica*) in light of their use in the manufacture of traditional cheeses in Algeria. *J. Food Technol.* 7(1) : 20-29.

- Novel G.1993. Les bactéries lactiques in " Microbiologie industrielle" Les microorganismes d'intérêt industriel. Ed. Levreau, G.V., Bouix, M. Techniques et documentation Lavoisier. Paris. PP. 171-215.
- Oguga C., Aworh., Muller H.G. 1987. Cheese-making properties of vegetabal rennet from Sodom appel (*Calotropis procera*). 71-79.
- Pernodet G. 1984. Le fromage. Edition: Lavoisier. Paris, France. pp, 219-248.
- Pougheon S.2001. Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. thèse de doctorat , Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France,31(102).
- Quezel P., SANTA S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales, tome.
- Ramet J.P. 1993. La Technologie des Fromages au Lait de Dromadaire (*Camelus dromedarius*). Etude FAO, production et santé animale, 113, Rome.
- Ramet J.P. 2006. Les Agents De La Transformation Du Lait ; in : « Le fromage » éd. Eck et Gillis. Technique et Documentation, 3ème éd., Lavoisier, Paris.
- Randazzo C.L., Caggia C. et Neviani C.L.E. (2009) . Application of molecular approaches to study lactic acid bacteria in artisanal cheeses. *J. Microbiol. Methods*, 78:1–9.
- Rawlings N.D. Tolle D.P. and BARRET A.J. 2004. MEROPS: the peptidase database. *Nucleic Acid Res* 32, Database issue, D160-D164. <http://www.merops.sanger.ac.uk>.
- Raynal-Ljutovac K., Lagriffoul G., Paccard P., Guillet I., Ghilliard Y. 2008. Composition of goat and sheep milk products: An update. *Small ruminant Research*,79 :57-72.
- Remeuf F., Lenoir J., Duby C. 1998. Etude de relation entre les caractéristiques physico-chimique de lait de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure .*lait* ,69: 499-519.
- Robinson R. K., Batt C. A., Patel P. D. 2000. *Encyclopedia of Food Microbiology*.
- Romain J., Thomas G., Jeantet R., Groguenec T., Mahaut M., Schuck P., Brule G. 2008. Les produits laitiers. Edition: Lavoisier. France, p1-2.
- Roseiro I B., Barbosa M., Ames j.M. and Wilbey R.A. 2003. Cheesemaking with vegetable coagulants-the use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses. *Int. J. Dairy Tech.*, 56:76–85.
- Roudj S., Bessadat A., Karam N-E. 2005. Caractérisations physicochimiques et analyse électrophorétique des protéines de lait de chèvre et de lait de vache de l'Ouest algérien. *Rencontres Recherches Ruminants*, p 12_400.

- Sboui A., Khorchani T., Djeghmj M., Belhadj O .2009 .Comparaison de la composition physico-chimique du lait camelin et bovin du Sud Tunisien. Variation du pH et de l'acidité à différentes températures. Edition : Afrique Sciences, p 297.
- Siboukeur O. 2007. Etude du lait camelin collecté localement : Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques ; aptitudes à la coagulation. Thèse de Doctorat, Institut National Agronomique El-Harrach-Alger,135p.
- Siboukeur O., Mati A., Hesses B. 2005. Amélioration de l'aptitude à la coagulation du lait camelin (*Camelus dromedarius*). utilisation d'extraits enzymatiques coagulants gastrique de dromadaire. Cahier d'études et de recherches francophones / Agriculture.14 : 473-483.
- Stoll W. 2003. Vaches laitières. L'alimentation influence la composition du lait. Edition: RAP. Agri. Vol. Suisse, p2.
- Vassal L., Delacroix-Bucheta ., Bouillon J.1994. Influence des variant aa, ee et ff de la caséine α s1 caprine sur le rendement fromager et les caractéristiques sensorielles de fromages traditionnels: premières observations . lait .74: 89-103.
- Veinoglou B., Baltadjieva M., Kalatzopoulos G., Stamenova V et Papadopoulou E.1982 b. la composition du lait de chèvre de la Plovidiv en Bulgarie et d'Ionnina en Grèce. *Lait*, 62 :155-165.
- Vignola C.L., Michel J.C., Laquin P., Moineau M., Ponlioni M et Simpson R., 2002. Science et technologie du lait : transformation du lait. technique et documentation Lavoisier.600p.
- Wolter R. 1988. Alimentation de la vache laitière. 3ème édition. France Agricole. Paris.
- Zahraddeen D., Bustwatis R., Mbap S.T. 2007. Evolution of some factors affecting milk composition of indigenous goats in Nigeria. *Livestock Research for Rural Development*, 19 (11) :1-8
- Zeller B.1980. Le fromage de chèvre: spécificités technologiques et économiques.thèse de doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.,81p.
- Zikiou A.2013. La coagulation du lait par l'extrait des fleurs de chardon (*Cynara cardunculus*). Thèse de magistère, université Constantine -1-,136p.

Annexe

Annexe

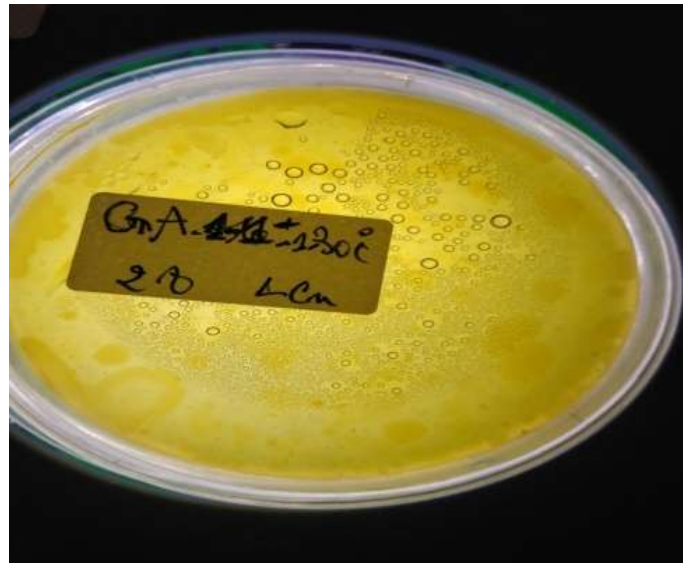


Figure 9. *Germes aerobies* à 30C° dans le lait crus.

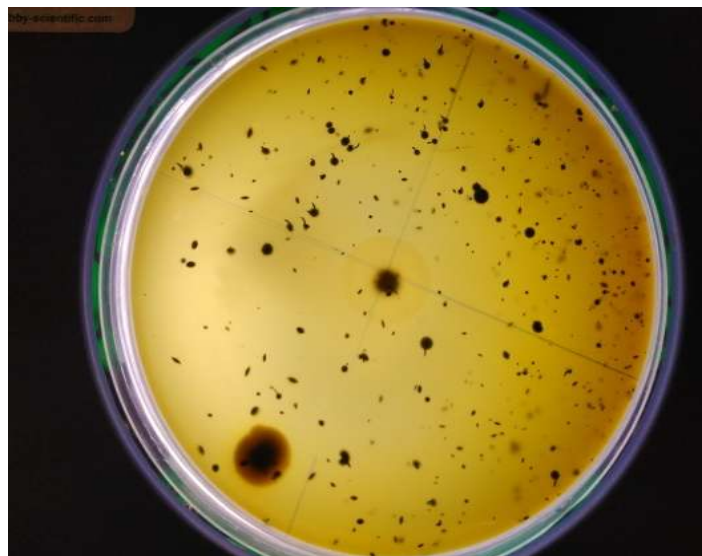


Figure 10. *Staphylococcus aureus* dans le lait crus

Annexe2

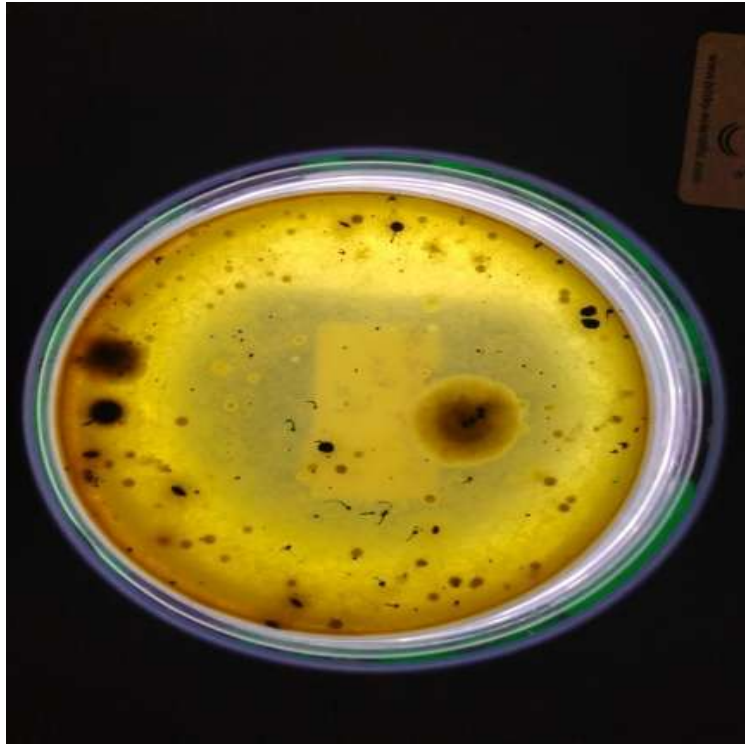


Figure 11. *Staphylococcus aureus* dans le fromage fait avec l'extrait animal.



Figure 12. *Staphylococcus aureus* dans le fromage fait avec l'extrait végétal.



Figure 13. L'absence de *Escherichia coli* dans le fromage fabriqué.



Figure 14. Centrifugeuse de Gerber

Annexe3

Tableau. Classification de fromages (FAO/OMS., (1999)).

Type	Caractéristique	Exemple
Fromages frais à pâte fraîche	Caillé lactique, égouttage peu poussé, pas d'affinage	Fromage blanc, petits suisses
Fromages à pâte molle	pas d'égouttage, affinage	Camembert
Fromages à pâte pressée cuite	Caillé mixte / présure, pressage, affinage	Gouda, cheddar
Fromages à pâte pressée non cuite	Caillé présure, chauffage du caillé, pressage, affinage	Tomme, Comté

Tableau. Composition moyenne des principaux fromages pour 100 g (Eck et Gillis, 2006).

Constituants	Fromage frais	Fromage à pâte molle	Fromage fondu
Eau(g)	80	50	48
Glucides(g)	4	4	2,5
Protéines(g)	7.5	24	22
Lipides(g)	8,5	20	18
Vitamine(UI)	100	400	680
Calcium(mg)	40	700	1650
Sodium(mg)	170	1010	1200

Annexe4

Recherche Des *Salmonella* Selon (J.O.R.A).

Principe

2.1 Pre-enrichissement dans un milieu liquide

Ensemencement de la prise d'essai dans le milieu de pré-enrichissement approprié, puis incubation à 37 ° C durant 16h à 20h.

2.2 Enrichissement dans des milieux liquides sélectifs

— Ensemencement d'un milieu au tétra thionate et d'un milieu sélénite-cystine avec la culture obtenue (2.1)

— Incubation du milieu au tétra thionate à 43 °C et incubation du milieu sélénite cystine à 37 °C durant 2 périodes de 18h à 24h.

2.3 Isolement et identification

A partir des cultures obtenues (2.2), ensemencement des 2 milieux sélectifs solides gélose au rouge de phénol et au vert brillant et gélose au sulfite de bismuth. Incubation à 37 °C et examen après 20h à 24h, et si nécessaire, après 40h à 48h, pour contrôler s'il y a présence de colonies, présumées être des salmonella en raison de leurs caractéristiques.

2.4 Confirmation

Repiquage des colonies présumées de *Salmonella* (2.3) et confirmation au moyen des essais biochimiques et sérologiques appropriés.

Résumé

المخلص

الهدف من هذه الدراسة هو مقارنة الجبن المصنع من حليب الماعز (جبال الألب) باستخدام مستخلص حيواني و مستخلص حيواني استخلاص وتوصيف الإنزيمات من زهور الخرشوف البري (Cynara cardunculus) ودراسة إمكانية استخدامها كبديل عن البريزور (présure) في صناعة الجبن. ركزت الدراسة على استخراج عامل مخثر من زهور الخرشوف البري المقطوف محلياً، وتوصيف المستخلص الذي تم الحصول عليه. و المقارنة بين مستخلص الأزهار و البريزور الحيواني، محاولة صناعة جبن طري من خلال هذين المستخلصين.

النتائج المحصل عليها أظهرت أن مستخلص زهور الخرشوف يمتلك نشاط تخثري يقدر ب 0,56 U.P و قوة تخثر 2 /136 ,36 فيما يخص البريزور فقد سجلنا نشاط تخثري يقدر ب 20 U.P وقوة تخثر 1 /4800.

الجبن الطري الذي تم الحصول عليه بمستخلص زهور الخرشوف ذات بنية قريية بالتالي صنعت ب بريزور . بالإضافة إلى مرددوه الذي لا يختلف كثيراً عن مردود الجبن المصنع بالبريزور وهكذا، فإننا نقترح إمكانية استبدال البريزور الحيواني بمستخلص زهور الخرشوف في صناعة الاجبان، مع النظر في طريقة لتحسين مرددوه.

الكلمات الدالة الخرشوف البري , عامل مخثر , البريزور.

Résumé

L'objectif du présent travail est l'étude comparative de l'aptitude fromagère du lait de chèvre (race alpine), en utilise un extrait animal et un extrait végétal, on réalisant l'extraction et la caractérisation d'enzymes des fleurs de cardon (Cynara cardunculus) et l'étude de la possibilité de leur emploi en industrie fromagère comme succédané de présure. Le travail a porté sur l'extraction de l'agent coagulant à partir de fleurs récoltées localement, et à la caractérisation de l'extrait enzymatique obtenu. enfin, la réalisation d'essais de production de fromages frais.

Les principaux résultats obtenus ont montré que l'extrait de fleur de chardon présente une activité coagulante de 0,56 U.P. et une force coagulante de 2 /136 ,36 Pour la présure l'activité coagulante est de 20 U.P. et la force coagulante de 1 /4800.

Les fromages obtenus avec l'extrait des fleurs de cardon présentent une texture assai proche au celle fabriquée par la présure, le rendement fromager était relativement similaire. Ainsi, nous suggérons la possibilité de substitution de la présure par l'extrait des fleurs de cardon dans la fabrication des fromages, tout en envisageant l'étude des moyens de promouvoir un meilleur rendement fromager.

Mots clés : succédané de présure, chardon, Cynara cardunculus, l'agent coagulant

Abstract

The aim of the present work is the comparative study of cheese making ability of goat's milk (alpine) , using an animal extract and a plant extract, we realize preparation and the characterization of the cardoon flowers (Cynara cardunculus) extract, as well as the study of its potential use as a calf rennet substitute. The work consisted of the coagulant agent extraction from flowers locally harvested, and of the characterization of the enzymatic extract obtained. The comparison between the cardoon floral extract and calf rennet.

The main results obtained have shown that the extract of the cardoon flowers (Cynara cardunculus) coagulant activity of 121,69 UP and a force coagulant 1/42059. For a calf rennet coagulant activity is 18.61 UP and the force coagulant 1/6041.

Soft cheeses obtained with cardoon flowers extract present a stracter simeler to cheeses obtained by a calf rennet and the yield is relatively same as a yield of cheese a calf rennet. Thus, we suggest the possibility of the substitution of calf rennet with cardoon flowers extract in the manufacturing of cheese, meanwhile considering the study

Keywords: Cardoon flowers, coagulant agent, calf rennet substitute, interactions, soft cheese. Of means for promoting a better cheese yield.