

Aptitude des laits de chèvre et de brebis à la coagulation par des protéases d'origine avicole

Poulet (*Gallus gallus*) et aquatique : Limon (*Seriola* sp.)

Par

AIT AMER MEZIANE, Leila

M. BELLAL M.M. Professeur Directeur de thèse
Soutenue le 09/11/2008

devant le jury composé de : AMMOUCHE A. Professeur Président M. YEKHLEF H. M/conférence (INA) Examineur M. NOUANI Chargé de Cours (U. Boumerdes) M. FELIACHI R. Directeur de l'INRAA

Table des matières

Remerciements . .	5
Résumé . .	6
Summary . .	7
ص خ لم . .	8
Liste des abréviations . .	9
Introduction . .	10
Chapitre I: Synthèse Bibliographique . .	12
1- Lait . .	12
1- 1- Aspect économique: . .	12
1-2- Aspect physico-chimique du lait: . .	14
2- Le fromage : . .	20
2-1-Définition : . .	20
2-2- L'aptitude Fromagère: . .	20
2-3- Différentes étapes de fabrication de fromage : . .	21
3-La présure et ses succédanés : . .	28
3-1-La présure : . .	28
3-2-Les succédanés de présure : . .	29
Chapitre II: Matériel et méthodes . .	33
1-Matériel biologique: . .	33
1-1-Obtention des extraits enzymatiques: . .	33
1-2-Clarification des extraits enzymatiques: . .	33
1-3-Essai de purification partielle: précipitation au sulfate d'ammonium: . .	34
1-4-Dialyse: . .	35
2-Mesure de l'activité coagulante et dosage des protéines totales des solutions enzymatiques: . .	35
2-1-Mesure de l'activité coagulante: . .	35
2-2-Dosage des protéines totales: . .	36
3-Caractérisation des extraits enzymatiques et la présure: . .	36
3-1-Variation de la température: . .	36
3-2-Variation du pH: . .	36
3-3-Variation de la concentration en CaCl_2 : . .	37
3-4-Variation en concentration des extraits enzymatiques: . .	37
3-5-Stabilité des extraits enzymatiques et de la présure: . .	37
4- Etude des laits et des fromages: . .	37
4-1-Méthodes analytiques . .	38
4-2-Rendement fromager : . .	45
4-3- Analyse statistiques: . .	45
Chapitre III: Résultats et discussion . .	46
1- Mesure des activités coagulantes et détermination de la concentration en protéines des extraits coagulants: . .	46
1-1-Les activités coagulantes des extraits enzymatiques: . .	46

1-2-Concentration en protéines totales des extraits coagulants : ..	47
2- Caractérisation des extraits coagulants et de la présure: ..	48
2-1- Influence de la variation de la température du lait: ..	48
2-2- Influence du pH du lait : ..	50
2-3- Influence de la concentration en CaCl ₂ : ..	52
2-4- Influence de la concentration en extrait enzymatique : ..	53
2-5- Etude de la stabilité : ..	55
3- Etudes préliminaires à la fabrication fromagère : ..	59
3-1- Temps de coagulation des différents laits coagulés par les extraits enzymatiques étudiés et la présure ..	59
3-2- Effet des traitements thermiques sur la teneur en calcium ..	60
4- Etude des laits et des fromages de chèvre et de brebis ..	64
4.1. Analyses physico-chimiques des laits et des fromages ..	64
4-2- Analyses microbiologiques des laits, fromages et extraits enzymatiques ..	86
Discussion ..	91
4.3. Rendement fromager ..	91
4- 4 - Analyses sensorielles: ..	93
Discussion ..	94
Chapitre IV: CONCLUSION GENERALE ..	96
Références bibliographiques: ..	98
Annexes ..	105
ANNEXE 1 Préparation des solutions: ..	105
ANNEXE 2 ..	106
ANNEXE 3 ..	106
ANNEXE 4 ..	107
ANNEXE 6 ..	108
ANNEXE 7 ..	109
ANNEXE 8 ..	110
ANNEXE 9 ..	111
ANNEXE 10 ..	111
ANNEXE 11 ..	112
ANNEXE 12 ..	113
ANNEXE 13 ..	114
ANNEXE 15 ..	115

Remerciements

Je tiens à exprimer tout d'abord toute ma gratitude à mes très chers parents pour avoir été présents à mes côtés, de m'avoir guidé et orienté toute au long de ma vie. Je les remercie également pour leur patience et pour m'avoir procuré toutes les conditions morales et matérielles qui m'ont permis de réaliser ce travail.

Toute ma reconnaissance va à Monsieur BELLAL M.M., Professeur à l'Institut National Agronomique (INA), pour m'avoir honoré en acceptant d'encadrer ce travail et de m'avoir prodigué conseils et orientations.

Mes remerciements vont également à Monsieur AMMOUCHE A., Professeur à l'Institut National Agronomique pour avoir accepté de présider le jury.

Je remercie également Monsieur NOUANI A., Enseignant Chercheur à l'Université de Boumerdes, ainsi que Mr YEKHLEF H., Maître de Conférence à l'INA, pour avoir accepté de juger mon travail.

Je tiens à remercier le personnel de l'Institut Technique des Elevages de Baba Ali (ITELV) en l'occurrence Messieurs NEKKAB Dj., ZADI A. et BOUYAKOUB pour leur aide et leur gentillesse, tout le personnel de la Laiterie Fromagerie de Boudouaou (L.F.B.) pour leur précieuse collaboration ainsi que le personnel du Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage (CACQE), en particulier Mr ABBAD Djamel, Directeur Général et Mme Boudour Nadia, Chef de la Section Animale.

Je remercie également mes frères Mehdi et Med Karim ainsi que mon oncle Boubekour, pour leur aide et soutien.

Mes remerciements vont également à Mr FELIACHI Kamel, Directeur de l'INRAA et Mme KHALDOUN Saida pour leurs encouragements, à Mlle ADMANE Nawel ainsi qu'au personnel du département de Technologie alimentaire de l'INA en l'occurrence Mina, Baya, Karim, et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Résumé

Dans le présent travail, nous avons étudié l'effet coagulant des pepsines avicole et aquatique sur les différents laits en l'occurrence le lait de brebis et de chèvre. La caractérisation des extraits enzymatiques, le suivi de l'activité protéolytique durant 24 heures ainsi que l'effet du traitement thermique du lait sur la teneur en Calcium ont aussi été réalisés.

Les qualités microbiologique, physico-chimique et organoleptique de six fromages ont été déterminées suite à la réalisation de plusieurs essais de fabrication de fromage frais.

Les résultats ont révélé que le type de lait utilisé, et à un degré moindre, la source d'enzyme, influent significativement sur les caractéristiques physicochimiques des fromages. Ces derniers présentent une bonne qualité hygiénique, et ce quelque soit le type de lait ou la source d'enzyme utilisés.

Les analyses organoleptiques montrent d'une façon générale que le fromage du lait de brebis présente des caractéristiques plus intéressante que celui du lait de chèvre. Les dégustateurs ont trouvés que le fromage issu du lait coagulé avec l'extrait enzymatique du poulet est mieux que celui coagulé avec l'extrait enzymatique du poisson, le fromage présure est quant à lui meilleur.

Les agents coagulants d'origine animale reste prometteur et peuvent se révéler rentable, ils suscitent de ce fait un intérêt particulier et méritent plus d'attention et de recherche.

Mots clés: lait de brebis, Lait de chèvre, Fromage frais, Pepsine avicole, pepsine aquatique, Présure.

Summary

In this study we investigated the effect of coagulant chicken's and fish's pepsins upon sheep's and goat's milk. The characterization of the enzyme extracts, monitoring the proteolytic activity for 24 hours and the effect of heat treatment on Milk Calcium's concentration were also been done.

The results of the microbiological, physico-chemical and organoleptic qualities of the six cheeses revealed that the kind of milk used, variate significantly. They have good hygienic quality, whatever the type of milk or the source of enzyme used.

The taste test shows the cheese made on sheep milk has characteristics more interesting than the one made on goat's milk. In addition to this, the panelist found that the cheese made from milk curdled by chicken enzyme is better than the one clotted with the Fish enzyme, but rennet cheese is the best.

The curdled agent extracted from animal remains promising and can be profitable. They are, therefore deserve a particular interest, more attention and research.

Key Words: Sheep's milk, Goat's milk, Fresh cheese, Chicken's pepsin, Fish's pepsin, pressure.

ص خلص

(limon) # ##### # ##### # #####
#####. ### ##### # ##### # ##### # ##### # ##### 24 # ##### # #####
#####. ### # ##### # #####
(6) ### # ##### # ##### # ##### # ##### # ##### # ##### # #####

#####.

#####.

#####

: ##### # ##### - ##### # ##### - ##### # ##### - ##### #

Liste des abréviations

- **Ac** : Activité coagulante
- **CACQE**: Centre Algérien du Contrôle de la Qualité et de l'Emballage
- **CV**: Coefficient de variation
- **ESD**: Extrait sec dégraissé
- **EST**: Extrait sec total
- **FIL/IDF**: Fédération International de Laiterie / International Dairy Federation
- **GIPLAIT**: Groupe Industriel des Producteurs laitiers
- **ITELV**: Institut Technique de l'Elevage
- **LFB**: Laiterie Froamgerie de Boudouaou.
- **LSD**: Least significant Difference = la plus petite valeur de différence significative.
- **MG**: Matière grasse
- **PNDA** : Plan National de Développement Agricole et rural

Introduction

Le lait est considéré comme un aliment apte à subvenir à la croissance des mammifères.

Le lait de différentes espèces de mammifères ont depuis longtemps étaient exploités. Dans les régions méditerranéennes, c'est traditionnellement le lait de petits ruminants: brebis et chèvres, espèces rustiques adaptées aux zones difficiles, qui est utilisé. Ce dernier est réputé pour être une alternative possible en cas d'allergie aux protéines de lait de vache (absence quasi complète de la caséine α -S 1 dans le lait de petits ruminants) (Anonyme, 2005). Riche en acides gras essentiels, en calcium, en potassium, en sélénium et en vitamines A, le lait de chèvre contient des protéines faciles à digérer, comparable à celles du lait maternel. Quant au lait de brebis, il contient plus de calcium, de protéines, de phosphore et de vitamines D, C, B2 et B6 que le lait de vache (F.A.O., 1995). Cependant, et malgré la qualité des laits ovins et caprins, les bovins ont pris petit à petit de l'importance par l'introduction massive de races améliorées.

Après le lait c'est le fromage qui entre le plus dans l'alimentation de l'homme adulte. En Algérie, les fromages de brebis et de chèvre sont associés aux notions de traditions et de typicité. Ils tiennent une place importante sur les marchés locaux; vendus essentiellement à l'état frais, salé ou demi-salé; ou sont autoconsommés. Ce type de fromage a suscité notre intérêt dans cette étude.

Dans l'industrie fromagère, la coagulation du lait est une étape importante au cours de laquelle l'utilisation d'un agent coagulant est indispensable. La présure obtenue à partir de la caillette de veau avant sevrage, reste l'agent coagulant le plus ancien, le plus utilisé et le mieux adapté à la transformation du lait en fromage. (Lenoir et *al.*, 1985). Toutefois son obtention est relativement coûteuse pour les raisons suivantes:

- Abattage de jeunes veaux affectant lourdement les coûts tant par la faiblesse du rendement en viande que par les dépenses à consentir en alimentation, en soins;
- Processus de reproduction assez long.

De plus, l'accroissement global de la demande en fromage a induit une augmentation importante de la production mondiale, accompagnée par une diversité de produits fromagers et la mise au point de fromages de plus en plus appétissants nécessitant ainsi l'utilisation de quantités de plus en plus importantes pour cet agent coagulant que le marché mondial ne peut facilement satisfaire (Ramet, 1984).

La totale dépendance que connaît notre pays vis à vis de la présure a suscité la recherche de succédanés de la présure de différentes origines (animales, végétales, microbiennes) susceptibles de répondre aux conditions suivantes:

- Un cout nettement inférieur à celui de la présure;
- Des aptitudes fromagères comparables à celles de la présure,
- Qualité hygiénique et de non-toxique.

De nombreuses protéases de différentes origines ont été étudiées. Cependant certaines préparations enzymatiques présentent des inconvénients quant à leurs utilisations. Les principaux obstacles rencontrés sont:

- L'inaptitude technologique des enzymes d'origine végétales à cause de leur activité protéolytique élevée et non spécifique;
- L'inconvénient des enzymes microbiennes lié à leur toxicité éventuelle, ce qui impose une purification et augmente par conséquent leur prix de revient.

Par ailleurs, les enzymes d'origine animale sont, pour la plupart, obtenues à partir de sous-produits d'abattage, disponibles et peu coûteuses. Néanmoins, ces recherches sont restées au stade expérimental et n'ont pu aboutir à une application industrielle.

De nombreuses études ont été réalisées sur l'aptitude des laits à la coagulation par la présure. Cependant, rares sont celles qui ont concerné l'aptitude des laits des petits ruminants. Dans cette optique, notre travail a consisté à examiner les possibilités de substituer des extraits enzymatiques obtenus à partir du proventricule de poulet et de l'estomac du poisson (limon) à la présure traditionnelle et leur efficacité coagulante sur les laits de brebis et de chèvre.

Notre étude comprend deux parties:

- La caractérisation des extraits coagulants bruts comparés à celle de la présure;
- Essais de fabrication de fromages frais et analyse de la qualité des produits obtenus par rapport à ceux obtenus avec la présure traditionnelle.

Chapitre I: Synthèse Bibliographique

1- Lait

1- 1- Aspect économique:

1-1- 1- Production :

Le tableau I ci-dessous représente la situation du cheptel bovin, ovin et caprin ainsi que l'évolution de la production laitière.

Cette dernière couvre près de 50% des besoins du lait frais (Hacini, 2007), et ce malgré les nombreuses contraintes que connaît cette filière:

- les surfaces fourragères très limitées du fait de la faible pluviométrie et des surfaces irriguées,
- l'insuffisance des infrastructures de la collecte du lait,
- les prix administrés appliqués à la production et à la consommation favorisant l'utilisation de la poudre de lait importée au détriment de la collecte de lait local.

La production est passée :

- De 958 en 2000 à 1.339 million de litres en 2005 pour les bovins,
- De 332 en 2000 à 494 million de litres en 2005 pour les ovins,
- De 248 en 2000 à 216 million de litres en 2005 pour les caprins.

La production est concentrée pour l'essentiel dans les zones du littoral et sublittoral où sont implantées les usines de transformation. (Hacini, 2007)

Selon le Ministère de l'Agriculture et du développement Rural (M.A.D.R.), en 2005, le cheptel bovin était estimé de 855.589 têtes, ovins 10.4777.846 têtes pour les ovins et à 2.038.958 têtes pour les caprins.

Tableau I : Evolution des effectifs de la production laitière et de la collecte 2000-2005. (M.A.D.R.)

Effectif, Production, Collecte	2000	2001	2002	2003	2004	2005
Effectif (Tête) Vache laitière	997.060	9.446.027	9.270.489	9.208.601	8.798.380	8.848.869
Brebis	332	357	379	415	428	494
Chèvre	248	270	238	218	216	216
Production laitière (million litres)	958	1.008	1.161	1.225	1.281	1.339
Collecte (million litres) Lait de vache	101	93	129	107	160	164

1-1-2- Evolution des importations :

L'Algérie ne dispose pas d'autosuffisance laitière, et dépend, pour la consommation et la transformation, du marché mondial de la poudre de lait. Le montant des importations est de 128.758,85 et 109.272,42 tonnes pour la poudre de laits et produits laitiers respectivement.

La consommation annuelle, tous produits laitiers confondus, est l'ordre de 100 litres/habitant/an. Le programme de développement passe par l'augmentation de la production et de la collecte de lait cru.

Tableau II : Evolution des importations en poudre de lait (volume en tonne) (M.A.D.R.)

Année	Lait de consommation	Lait de transformation
2000	99 209	71 193
2001	158 647	83 683
2002	74 737,88	151 062,46
2003	53 875,89	150 925,85
2004	123 269,19	139 323,44
2005	154 215,39	75 143,83
2006	128 758,85	109 272,42

1-1-3- Circuit de la filière laitière :

La production laitière nationale est destinée à :

- L'autoconsommation de lait par les éleveurs,
- La vente directe de lait cru à des consommateurs et à des vendeurs et petits transformateurs du circuit informel,
- La vente aux groupes laitiers des secteurs publics (GIPLAIT) et privés qui sont actuellement en partenariat, avec Danone, Yoplait et Candia.

La collecte du lait frais :

La collecte nationale de lait reste faible, les laitiers utilisent actuellement, d'après Hacini (2007), au moins 20% de la production nationale pour leurs besoins. 25% du lait sont vendus comme lait cru ou transformé de manière artisanale, ceci laisse supposer qu'il existe une production potentiellement dangereuse à la consommation répartie entre l'autoconsommation et l'approvisionnement du circuit informel, hors du contrôle sanitaire vétérinaire.

Les laits de collecte sont souvent chargés de bactéries, ce qui est dû aux mauvaises conditions d'hygiène et au respect de la chaîne du froid.

Certains producteurs bénéficiaires du soutien au développement agricole PNDAR, disposent d'équipements modernes relatifs à la traite mécanique et à la collecte dans des camions citernes réfrigérés ou isothermes, dans un délai de 48 heures vers l'unité de transformation.

La transformation :

La transformation du lait est destinée à la fabrication de lait pasteurisé, lait stérilisé type Ultra Haute Température (UHT) et de dérivés de lait (yaourt, lait fermenté, beurre, fromage, desserts lactés, etc.).

Les activités de transformation sont le fait des industries laitières publiques et privées implantées à proximité des grands centres de consommation.

Cependant, la production laitière des petits ruminants reste caractérisée principalement par:

- Le volume relativement peu élevé de lait;

- La durée limitée de lactation de brebis et de chèvre;

Ainsi, il n'est guère possible de développer une industrie importante pour établir une meilleure valorisation et une meilleure compétitivité.

1-2- Aspect physico-chimique du lait:

1- 2- 1-Définition :

Le lait est défini 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 » (Anonyme, 2002).

1- 2- 2-Caractères généraux du lait :

C'est un liquide alimentaire, opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre, à l'odeur peu marquée et au goût douceâtre, sécrété après parturition par la glande mammaire des animaux mammifères femelles, pour nourrir leur(s) nouveau-né(s). (Anonyme ; 2002).

D'un point de vue physique, le lait constitue un système complexe. C'est une suspension colloïdale de particules dans une phase aqueuse dispersante. Les particules sont d'une part des globules de matières grasses (de 3 à 5 μ m de diamètre en général), d'autre part des micelles protéiques (de 0.1 μ m de diamètre), formées par l'interaction de protéines entre elles et avec les sels minéraux présents dans la phase aqueuse. Ce sont les particules en suspension qui sont responsables de la consistance, de l'opalescence et de la teinte blanche du lait; ce dernier caractère étant dû principalement à la dispersion de la lumière par les micelles. (Cheftel et Cheftel, 1980)

1- 2- 3-Caractéristiques physico-chimiques du lait :

Les principales caractéristiques physico-chimiques sont les suivantes (Alais, 1974 ; Veisseyre, 1975 ; Anonyme 2, 1993) :

↳	Apport calorifique:	710 Kcal/ litre
↳	Propriétés physico- chimiques:	
	pH.....	6,5-6,7
	Viscosité à 15°C.....	0,0212-0,0254
	Densité	
	Lait entier à 15°C:	1,030-1,035
	Lait écrémé:.....	1,036
↳	Propriétés thermiques:	
	Chaleur spécifique:.....	0,93
	Point de congélation:.....	0,520 et -0,530°C
	Point d'ébullition:.....	100,5°C
↳	Propriétés de liaison de l'eau:	
	Activité de l'eau (Aw):.....	0,995
	Eau liée:	
	Lait entier :	0,087 à 0,128g d'eau/ g de MS
	Lait écrémé:.....	0,167 à 0,181g d'eau/ g de MS
↳	Tension superficielle :	53 dyne/cm/15°C

1- 2- 4- Composition du lait :

Le terme "lait" sans qualificatif désigne le lait de vache. Sa composition moyenne en constituants principaux est résumée dans le tableau III.

Le lait est un aliment répondant aux besoins physiologiques : l'hydratation en premier lieu. Il est très riche en glucides ; lipides et protides.

Parmi les glucides présents, le lactose se trouve dans le lait de tous les mammifères, c'est l'un des constituants de la matière sèche du lait. Il représente en moyenne 50g/l (Linden et Lorient, 1994), le lactose est l'une des sources essentielles de galactose; élément nécessaire à la construction du système nerveux des mammifères.

Tableau III: Composition globale du lait de vache et état physique de ses constituants (Alais et Linden, 1987)

Constituants	Quantité en (g/l)	Etat physique des constituants
Eau	905	Eau libre (solvant+ eau liée 3,7%)
Glucides: Lactose	49	Solution
Lipides: Matière grasse proprement dite Lécithine (phospholipides) Partie insaponifiable (stéroïls, carotène et tocophérols)	35 34 0,5 0,5	Emulsion des globules gras (3 à 5 microns)
Protides: Caséines Protéines solubles (globulines, albumines) Substances azotées non protéiques.	34 27 5,5 1,5	Suspension micellaire Phosphocaséinate de calcium (0,08 à 0,12 μ) Solution (colloïdale) Solution (vraie)
Sels: De l'acide citrique (en acide) De l'acide phosphorique (P ₂ O ₃) De l'acide chlorhydrique (HCl) Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	9 2 2,6 1,7	Solution ou état colloïdal
Extrait sec (total) Extrait sec non gras	127 92	

La matière grasse assure au jeune mammifère la majorité de l'apport énergétique sous une forme très digestible et lui procure les acides gras nécessaires à son développement.

La matière azotée du lait forme un ensemble de substances complexes qui, dans le lait de vache, sont constitués pour environ 94% par des protéines, et le reste (5-6 %) est représenté par des substances azotées non protéiques : urée, créatine, créatinine, ammoniacque. (De Roissat et *al.*, 1994)

Les protéines, de bonne digestibilité, présentent un équilibre en acides aminés. Outre la caséine intéressant la fromagerie, on trouve des anticorps, des enzymes et des hormones.

Il contient inévitablement des micro-organismes et parfois, accidentellement des antibiotiques et des antiparasitaires; ce qui limite sa durée de conservation car des réactions de dégradations de toutes sortes ont lieu aussitôt après son entreposage (Cheftel et Cheftel; 1980).

Le lait est également une source de minéraux, en particulier de calcium et de phosphore, de vitamines liposolubles et hydrosolubles. Toutefois, la composition du lait varie qualitativement et quantitativement en fonction de l'alimentation, de la période de lactation, de la saison, de l'espèce et de la race de l'animal.

1- 2- 5- Comparaison de la composition des laits de chèvre et de brebis avec le lait de vache:

Les caractéristiques physico-chimiques des différents laits sont regroupées dans le tableau IV.

Tableau IV : Caractéristiques physico-chimiques des laits de diverses espèces (F.A.O., 1995)

Constantes	Vache	Bufflonne	Chamelle	Chèvre	Brebis
Energie (kcal/litre)	705	755-1 425	800	600-750	1 100
Densité du lait entier à 20 °C	1,028-1,033	1,029-1,033	1,025-1,038	1,027-1,035	1,034-1,039
Point de congélation (°C)	-0,520--0,550	-0,544	-0,580	0,550-0,583	-0,570
pH-20°C	6,60-6,80	6,66-6,82	6,20-6,82	6,45-6,60	6,50-6,85
Acidité titrable (°Dornic)	15-17	14-18	-	14-18	22-25
Tension superficielle du lait entier à 15 °C(dynes cm)	50	48,7	-	52	45-49
Conductivité électrique à 25 °C (siemens)	45 x 10 ⁻⁴	66,2 x 10 ⁻⁴	-	43-56 x 10 ⁻⁴	38 x 10 ⁻⁴
Indice de réfraction	1,45-1,46	-	-	1,35-1,46	1,33-1,40
Viscosité du lait entier à 20 °C (centipoises)	2,0-2,2	-	-	1,8-1,9	2,86-3,93

L'analyse des données du tableau IV permet de faire les observations suivantes:

- la **densité** du lait de brebis ainsi que celle des races de chèvre à lait gras est plus élevée que celle du lait de vache. De même, la viscosité du lait de brebis est élevée.
- L'**apport en énergie** d'un litre de lait différencie les espèces animales considérées et est susceptible de larges variations à l'intérieur d'une même espèce (en fonction de la teneur en lipides du lait). L'apport énergétique est en moyenne de 1 100 kcal/litre pour le lait de brebis et plus faible pour celui de chèvre (de 600 à 650 Kcal/ litre).
- Les **teneurs en protéines** totales sont voisines dans les laits de vache et de chèvre. Elles sont en moyenne, plus élevées dans le lait de brebis (de une fois et demie à deux fois plus élevées que dans le lait de vache) (tableau V). Les laits des différentes espèces se classent de la même manière en fonction des caséines.

Le profil en acides aminés totaux du lait de chèvre est proche de celui du lait humain et les acides aminés essentiels s'y trouvent en excès relatif par rapport aux besoins du nourrisson. (FAO., 1995).

Par comparaison avec le lait de vache, les protéines du lait de chèvre contiennent proportionnellement moins de caséines (tableau V) et davantage d'azote non protéique. La teneur proportionnellement moindre en caséines s'explique en partie par une absence quasi complète de l' α -S 1 caséine, ce qui confère à ce type de lait le caractère tolérable par les sujets allergiques à cette protéine. (FAO., 1995).

La β -lactoglobuline, la protéine majeure du lactosérum du lait de chèvre, caractéristique analogue à celle du lait de vache (tableau V). Les compositions aminées de la β -lactoglobuline et de l' α -lactalbumine du lait de chèvre sont très proches de celles du lait de vache.

Le lait de brebis est considéré plus riche en protéines que les autres laits. En effet, il contient beaucoup d' α - caséine. Rappelons que la caséine forme de caséinates phosphocalcique; de caractéristiques physico-chimiques semblables à celles du lait de vache, mais de dimensions légèrement réduites. On trouve davantage de phosphore et de calcium dans la phase colloïdale, autant dans la phase soluble que dans le lait de vache. Ces différences confèrent à ces laits des aptitudes différentes à la coagulation: le lait de brebis coagule plus vite et donne un coagulum plus ferme que celui issu du lait de vache. La richesse du lait de brebis en protéines sériques est surtout marquée par une teneur élevée de la β -lactoglobuline et des immunoglobulines (tableau V).

Tableau V : Composition moyenne en g/litre et distribution des protéines dans le lait de diverses espèces animales. (F.A.O., 1995).

Protéines	Vache	Bufflonne	Jument	Chèvre	Brebis
a-lactalbumine	1,5 (4%)	2,50 (37%)	2,30 (26%)	2,0 (25%)	1,3 (10%)
β -lactoglobuline	2,7 (25)	2,70 (39%)	5,30 (59%)	4,4 (55%)	8,4 (67%)
Albumine sérique	0,3 (5%)	0,20 (3%)	0,20 (2%)	0,6 (7%)	0,6 (5%)
Immunoglobulines	0,7 (12)	1,35 (20%)	1,10 (13%)	0,5 (6%)	2,3 (18%)
Protéose-peptone	0,8 (13)	-	-	0,6 (7%)	-
Total des protéines solubles (100%)	6,0 (100%)	6,75 (100%)	9,00 (100%)	8,10 (100%)	12,6 (100%)
Caséine α -S	12,0 (46%)	9,30 (26%)	-	-	21,0 (47%)
Caséine β	9,0 (36%)	18,20 (51%)	-	-	16,1 (36%)
Caséine α	3,5 (13%)	-	-	-	4,5 (10%)
Caséine κ	1,5 (6%)	8,25 (23%)	-	-	3,0 (6%)
Total des caséines	26,0 (100%)	35,75 (100%)	13,60(100%)	(100%) 26,0	44,6 (100%)
Protides totaux	32,0	42,50	22,60	34,1	57,2

Les laits de brebis sont nettement plus riches en **lipides** que le lait de vache. L'espèce ovine et caprine présente une dimension des globules gras plus réduite que dans le lait de vache. En technologie, la taille des globules gras est une donnée importante car il est plus facile d'homogénéiser un lait ayant des globules gras de petites dimensions.

Dans le lait, les lipides sont distribués en lipides simples (monoglycérides, diglycérides, triglycérides, des acides gras libres) et lipides complexes (phospholipides et de stérols). La composition en acides gras présente des traits communs aux différentes espèces, mais aussi des spécificités à chacune d'entre elles. L'acide palmitique et l'acide oléique constituent les acides représentatifs, même si ceux-ci diffèrent d'une espèce à l'autre. Il y a lieu de noter la présence dans le lait de chèvre des acides gras à chaîne courte, en particulier l'acide caprique dont la teneur est plus importante que dans le lait de vache. C'est ainsi que le dosage de l'acide caprique permet de déceler le coupage frauduleux du lait de chèvre. Les laits des ruminants sont riches en acide gras saturés.

Le tableau VI regroupe les données concernant les **Minéraux et les oligo-éléments**. Dans un ensemble de données relativement homogènes, on peut remarquer la teneur élevée du chlore dans le lait de chèvre (elle est à l'origine d'acidoses hyperchlorémiques observées chez les nourrissons exclusivement alimentés au lait de chèvre), ainsi que la teneur élevée en calcium du lait de brebis.

Il faut remarquer la richesse du lait de brebis, en **vitamines**, par rapport au lait de vache. La faible teneur en folates du lait de chèvre serait à l'origine des anémies mégaloblastiques, elle favorise aussi une faible disponibilité de la cobalamine observées chez des nourrissons ou des jeunes enfants principalement alimentés au lait de chèvre.

Rappelons enfin, que la composition des laits varie en fonction des paramètres en l'occurrence la conduite d'élevage, l'alimentation et la période de lactation.

	Vache	Buffonne	Chamelle	Jument	Chèvre	Brebis
Minéraux						
Sodium	0,5	0,47	0,39	0,19	0,37	0,42
Potassium	1,50	1,39	1,76	0,68	1,55	1,50
Calcium	1,25	2,03	1,16	1,10	1,35	2,0
Magnésium	0,12	0,20	-	0,085	0,14	0,18
Phosphore	0,95	1,29	0,83	0,55	0,92	1,18
Chlore	1,00	0,65	1,99	0,30	2,20	1,08
Acide citrique	1,80	0,49	-	-	1,10	
Oligo-éléments						
Fer	0,20- 0,50	0,80-1,10		0,59	0,55	0,2-1,5
Cuivre	0,10- 0,40	0,18-0,25		0,28	0,40	0,3- 1,76
Zinc	3-6	2,4-6,2		2,00	3,20	1-10
Manganèse	0,010- 0,030	0,050- 0,170		0,05	0,06	0,08- 0,36
Molybdène	0,070	0,022				
Aluminium	0,6-1	0,22		-	-	-
Iode	-	-		0,02		

Tableau VI: Teneurs en minéraux et en oligo-éléments des laits de diverses espèces animales (mg/litre). (F.A.O., 1995).

Tableau VII : Teneurs en vitamines des laits de diverses espèces animales (mg/litre). (F.A.O., 1995).

Vitamines	Vache	Bufflonne	Chamelle	Jument	Chèvre	Vitamines
B ₁	0,42	0,40-0,80	-	0,28	0,41	B ₁
B ₂	1,72	1,07-1,65	-	0,38	1,38	B ₂
B ₆	0,48	0,23-0,70	-	-	0,60	B ₆
B ₁₂	0,0045	0,0004-0,0006	0,0023-0,0039	-	0,0008	B ₁₂
Acide nicotinique	0,92	0,80-1,72	-	0,70	3,28	0,85
Acide folique	0,053	-	-	-	0,006	3,30
C	18	19-25	57-98	145,0	4,20	0,75
A	0,37	0,48-0,69	0,37-1,26	-	0,24	0,006
β-carotènes	0,21	0,00-0,30	0,16-0,46	-	<0,10	0,85

2- Le fromage :

La transformation du lait permet de diversifier les produits et les habitudes de consommation du lait, améliorant ainsi la ration alimentaire du consommateur.

Le fromage est le plus ancien mode de conservation du lait. Né à partir de recettes empiriques utilisées à l'heure actuelle, il renferme des sels minéraux (P, Ca, Na...), des vitamines et des protéines nécessaires, à la vie de nos cellules.

2-1-Définition :

Produit fermenté ou non, élaboré à partir de matières premières d'origine laitière (lait entier ou écrémé, crème, babeurre), et contenant au minimum 23g de matière sèche pour 100g de produit. (Anonyme, 2002).

2-2- L'aptitude Fromagère:

L'aptitude fromagère du lait signifie son aptitude à être transformé en fromage. Cette dernière dépend de plusieurs critères (Haeni J.P. et al, 2004):

La teneur en cellules:

L'aptitude fromagère dépend de la qualité microbiologique d'un lait; un lait de mammite se caractérise par une réduction de l'aptitude fromagère ainsi que le rendement. La teneur en caséine de ce type de lait diminue, des protéines sériques augmente.

Les variants génétiques de la caséine:

Les variants génétiques des protéines du lait, notamment ceux de la caséine k et de la β-lactoglobuline influent sur la composition du lait. Les études réalisées sur la race Holstein ont démontré que la caséine k-CnB se répercute positivement sur la teneur en protéine du lait. Le lait contenant les variants k-CnBB a une teneur en protéine supérieure à 0,07 mg/100mg par rapport au variant k-CnAA.

Les variants génétiques de la β -lactoglobuline influencent beaucoup sur la composition du lait. Le lait β -Lg BB, contient environ 3% de plus que la caséine du lait β -LgAA.

Les trois paramètres de coagulation (durée de coagulation, résistance du caillé et synérèse) sont essentiellement fonction des variants génétiques de la caséines k.

En comparant les laits ayant le variant génétiques B avec des laits du type A de la caséines K, on constate que le premier type coagule 2 fois plus vite et que le lait du deuxième type et donne des caillés environ 50% plus résistants. Il a été constaté aussi que le variant B favoriserait la coagulation en augmentant légèrement le rendement fromager et la synérèse du caillé; caractéristiques recherchées en production de fromage extra dure.

Période de la lactation:

Il a été constaté que la qualité des fromages est moins bonne en début de lactation.

L'aptitude à la coagulation ne diminue que peu, elle est plus longue en fin de lactation.

2-3- Différentes étapes de fabrication de fromage :

La fabrication du fromage passe par trois phases principales : la coagulation, l'égouttage et l'affinage.

2-3-1- La coagulation:

La coagulation du lait est la première étape obligatoire dans le processus de fabrication des fromages. Elle est réalisée en vue d'exploiter une propriété particulière des gels lactés, qui est de s'égoutter spontanément. Cette évolution se traduit par la séparation progressive de la majorité de l'eau constitutive du lait sous forme de lactosérum, et d'un substrat semi solide constituant le fromage. (Anonyme, 1993).

La coagulation correspond à une déstabilisation de l'état micellaire originel de la caséine du lait.

Dans la pratique, cette déstabilisation est réalisée de deux manières :

- Par voie enzymatique à l'aide d'enzymes coagulantes,
- Par voie fermentaire à l'aide de bactéries productrices d'acide lactique.

Les mécanismes d'actions de ces deux agents coagulants au niveau de la micelle sont différents bien qu'ils conduisent tous deux à la formation d'un coagulum occupant tout le volume initial du lait. (Anonyme, 1993).

Le coagulum résulte d'une modification de la structure des caséines du lait. Ces dernières, associées à des minéraux, forment un réseau tridimensionnel spécifique du mode de coagulation, donnant soit un gel lactique soit un gel présure.

Le gel lactique a une tension faible, fragile, friable, perméable et très peu contractile. Par contre, le gel présure est souple, élastique et possède une grande cohésion. Il est imperméable et contractile. (Eck, 1990)

2-3-1-1- Le substrat spécifique de la coagulation :

Le substrat spécifique impliqué dans le phénomène de coagulation du lait est constitué par les protéines, essentiellement représentées par les caséines sous forme de micelle qui constituent la phase colloïdale.

Les caséines comprennent plusieurs types de molécules, on distingue trois fractions : alpha, bêta et gamma. La fraction alpha est elle-même subdivisée en caséines alpha s et Kappa caséine. (Cheftel et Cheftel, 1980).

Les proportions des différents constituants de la micelle sont groupées dans le tableau VIII. Il s'agit d'une composition moyenne; toutes les micelles n'ayant pas les même dimensions ni la même composition. (Brule et Lenoir in Eck A., 1990).

Tableau VIII : Composition moyenne de la micelle de caséine exprimée en g/mg (Eck, 1990)

Caséines	Composants salins
α S1.....	Calcium .
33 α S2.....2.9 Magnésium.....0.2 Phosphate
11 β.....	inorganique....4.3 Citrate.....0.5 Total
33 κ.....11 γ.....	composants salins.....8.0
caséines.....924 Total

Selon Eck (1990), la structure de la micelle résulte d'une association complexe de sous unités, sub-micelles, de nature exclusivement protéique et de composition variable, associées les unes aux autres par les éléments minéraux (Ca, P).

La sub-micelle est de forme sphérique d'un diamètre moyen de 15 à 20nm et d'un poids moléculaire proche de 25.000 Dalton. Leur structure n'est pas uniforme. La Figure 1 montre qu'elle aurait un centre hydrophobe, formé par les parties apolaires des caséines, et une enveloppe hydrophile de nature polaire, formée de segments de chaînes hautement chargés avec, d'une part les résidus phosphoryls des caséines α₁, α₂ et β et d'autre part, la partie COOH terminale de la caséine K. (Eck, 1990). Celle-ci se distingue des autres caséines par :

- son pouvoir stabilisant vis-à-vis du calcium, pour les autres caséines; elle permet la formation de micelles.
- La molécule contient une liaison Phe-Met très labile; elle constitue le substrat spécifique de la présure au cours de la réaction primaire dans le phénomène de coagulation.

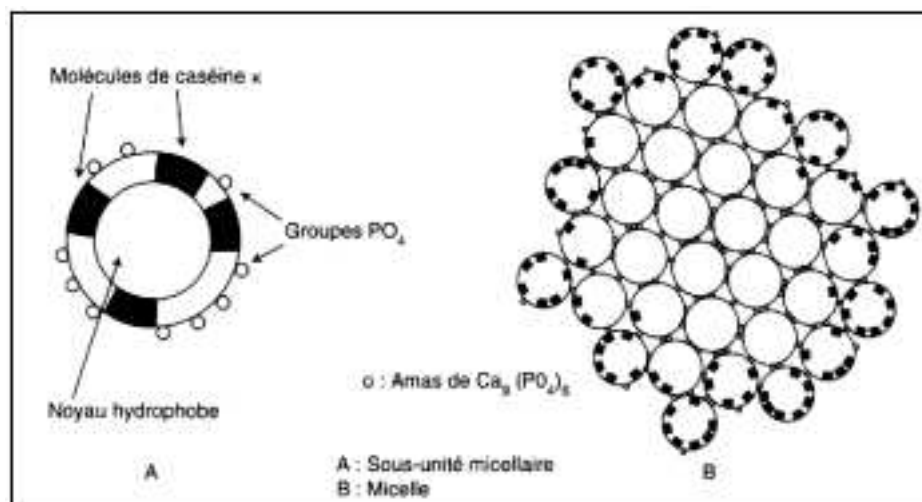


Fig.1: Structure de la micelle de caséine (modèle de Schmidt). (Alais et Linden, 1987)

Par ailleurs, la stabilité des micelles dépend de plusieurs facteurs entres autres:

- La charge électrique des caséines ;
- Leur degré d'hydratation élevé ;
- La composition saline.

On distingue trois types de coagulation :

2-3-1-2-Coagulation par voie acide :

A température ambiante, et à pH 5.2 les caséines s'agrègent. Lorsque le pH isoélectrique de la caséine est atteint (pH4.6), il y a floculation totale.

L'acidification du lait peut être obtenue de différentes manières (Morsli, 1997):

- Par acidification spontanée du lait résultant de la fermentation lactique sous l'effet de la flore lactique à des températures comprises entre 25 et 40°C.
- Par addition d'un acide lactique.

Le coagulum obtenu par voie lactique ou acide, est caractérisé par une pauvreté en éléments minéraux notamment en phosphate de calcium (Cheftel et Cheftel, 1980)

En effet, les ions H^+ libérés par l'acidification neutralisent progressivement les charges électro-négatives des micelles : La répulsion électrostatique diminue au fur et à mesure de l'enrichissement du milieu en ions H^+ , puis disparaît. Ceci s'accompagne par une déminéralisation de la micelle. Au point isoélectrique, la charge minérale de la caséine devient nulle.

2-3-1-3- Coagulation par voie enzymatique :

Un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origines animale, végétale, ou microbienne, ont la propriété de coaguler le complexe caséinique. La présure est l'enzyme coagulante la plus connue. Son mécanisme d'action a été préconisé par Eck (1990).

Selon cet auteur, la coagulation se déroule en deux phases:

- Une **phase primaire** dite " **enzymatique** " correspondant à une action spécifique de l'enzyme sur la caséine K.
- Une **phase secondaire, phase de coagulation**, qui correspond à la formation du gel par association des micelles modifiées sous l'action de l'enzyme, cette phase est purement chimique.

La réaction primaire ou phase enzymatique :

Elle correspond à la protéolyse de la caséine K au niveau d'une seule liaison peptidique : la liaison Phe₁₀₅-Met₁₀₆. Ainsi la chaîne K se trouve coupée en deux segments inégaux: Le segment 1-105 est la « paracaséine K » et le segment 106-169, le « caséinomacropeptide (CMP) ».

La paracaséine K, liée aux caséines α_s et β , reste intégrée à la micelle. Elle a un caractère basique et hydrophobe. Le caséinomacropeptide appelé également « glycopeptide » porte tous les glucides éventuellement présents, est libéré et passe dans le sérum. Il a un caractère acide et hydrophile. (Eck, 1990).

Cette réaction n'exige pas la présence de calcium ionisé et se déroule à des températures proches de 0°C, mais plus rapidement à des températures supérieures.

On peut résumer ce phénomène comme suit :

Phosphocaseinate de calcium □ Paracaséine K + caséinomacropeptide (CMP)
(soluble) (insoluble) (soluble)

La phase secondaire :

C'est la floculation proprement dite. Cette phase correspond à la formation d'un gel par agrégation des micelles modifiées. En effet des liaisons intermicellaires peuvent s'établir puisque les facteurs de stabilité sont atteints.

Elle démarre lorsque le taux d'hydrolyse est de 85 à 90%, et atteint sa vitesse maximale lorsque la totalité de la caséine K est dégradée (Lenoir et *al.*, 1985).

Par ailleurs, la présence des ions calcium et d'ions phosphates est indispensable à l'accomplissement de cette phase (figure 2).

Alais (1984), cite une troisième phase dans le mécanisme de coagulation du lait : c'est la **réaction tertiaire**, qui correspond à une protéolyse générale et proportionnelle à la concentration en enzyme. C'est une réaction lente et non spécifique, car elle concerne toutes les caséines. Celle-ci débute très lentement, en même temps que la réaction primaire et se poursuit durant l'affinage.

La protéolyse se fait par l'intermédiaire d'enzymes naturelles du lait, enzymes coagulantes, et principalement d'enzymes produites par divers micro-organismes se développant dans et/ou sur les fromages. (Ramet, 1993).

2-3-1-4- La coagulation mixte :

Elle résulte de l'action conjuguée de l'acidification et de la présure; la multitude de combinaisons conduisant à différents produits. C'est une méthode utilisant les deux principes ci-dessus, l'acidité du lait et l'addition de l'enzyme coagulant le lait. Cette méthode se pratique pour les fromages frais (petit suisse, demi-sel, etc.) et les fromages à pâte mole (camembert, brie, etc.). (Cheftel et Cheftel, 1980).

Le coagulum obtenu, présente des caractères intermédiaires entre ceux des gels lactiques et de la présure. Il est caractérisé par une souplesse et une contractibilité moins grande, de fermeté et friabilité plus accentuées que celles des gels de présure. (Veisseyre, 1975).

2- 3-1-5- les facteurs influençant la coagulation du lait par la présure :

Il faut signaler que le phénomène de coagulation du lait est influencé par différents facteurs à savoir:

a) Effet de la concentration de la matière sèche du lait :

La concentration du lait effectuée préalablement à l'emprésurage a pour but de retirer une partie plus ou moins importante de la phase aqueuse. L'équilibre initial entre formes solubles et formes insolubles se trouve modifié, il en résulte une augmentation des formes colloïdales du phosphate de calcium d'où accroissement de la taille des micelles. De plus, le degré

d'hydratation des micelles diminue. Ce double effet diminue la stabilité des micelles, ainsi la coagulation par la présure se trouve favorisée.

b) Prétraitement du lait après traite:

Les variations de températures auxquelles a été soumis le lait avant addition de la présure modifient son aptitude à la coagulation. Les effets du refroidissement et de la pasteurisation au niveau de ses constituants sont importants. En effet, le refroidissement du lait entraîne une solubilisation de la caséine et un accroissement de la couche d'eau liée. La stabilité de la micelle augmente, il s'ensuit que l'action de la présure est défavorisée, ce qui explique le temps de coagulation élevé avec ces laits en fromagerie. (Luquet, 1985)

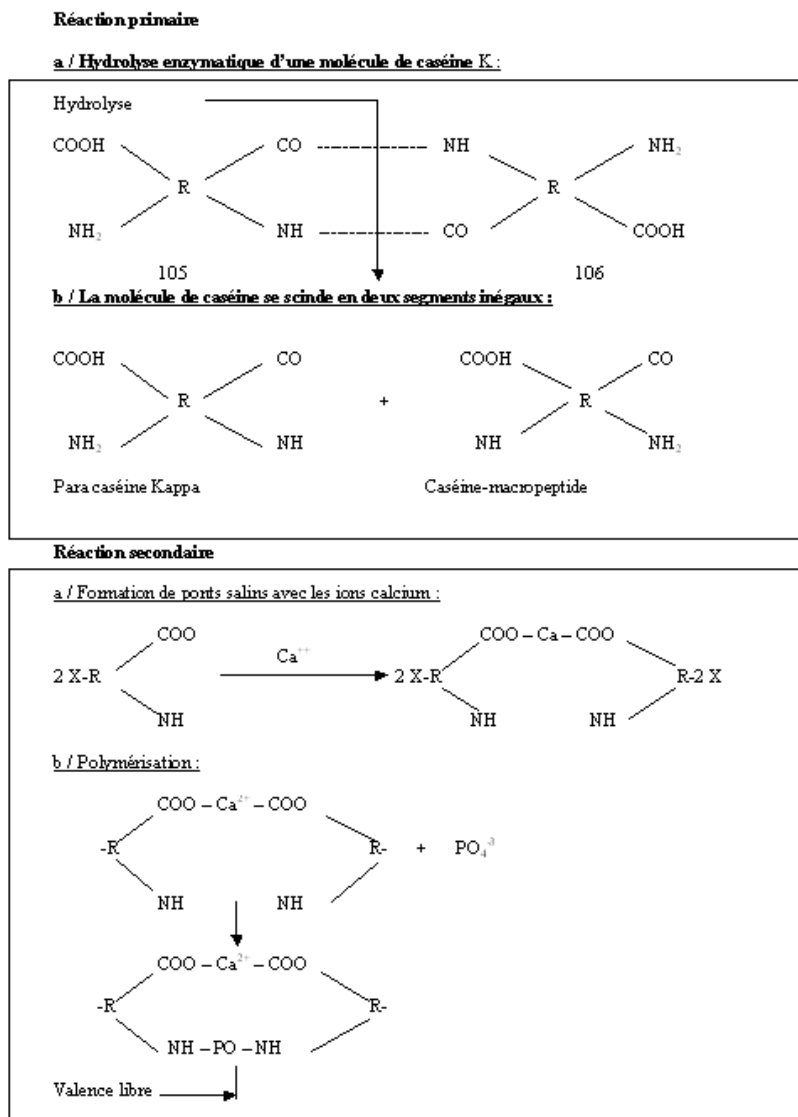


Fig.2: Mécanisme de la coagulation du lait par la présure (Garnier et al, 1968)

Un traitement thermique modéré, entraîne une modification des équilibres salins croit ainsi la taille de la micelle. Il s'ensuit une baisse de la stabilité favorisant l'action de la présure. Cet effet est réversible par refroidissement et l'ajustement des équilibres salins (entre formes solubles et insolubles).

Un traitement thermique sévère entraîne trois modifications principales:

- Une augmentation de la dispersion des micelles,
- La formation d'un complexe entre β lactoglobuline et la caséine K (complexe à effet protecteur sur la micelle envers la présure).
- Et une réduction du degré d'hydratation de la micelle d'où baisse de stabilité.
- Les deux premiers effets sont défavorables à l'action de la présure, par contre la troisième à un effet contraire (Ramet et Hardy, 1972).

La résultante des trois effets diminue l'aptitude à la coagulation des laits chauffés par rapport à celle des laits crus.

c) Nature et concentration en enzyme :

La vitesse de coagulation et les caractéristiques rhéologiques du gel varient suivant la nature des enzymes, et dans le cas de la présure, suivant le rapport chymosine/pepsine.

Par ailleurs, on sait que le temps de coagulation est inversement proportionnel à la quantité d'enzyme utilisée. (Eck, 1990).

d) Effet de la température :

Le phénomène de coagulation est fortement dépendant de la température. Au dessous de 10°C, la coagulation du lait ne se produit pas. Dans l'intervalle 10-20°C, la vitesse de coagulation est lente. Au-dessus de 20°C elle augmente progressivement jusqu'à 40-42°C. Elle diminue ensuite et au dessus de 65°C, il n'y a plus de coagulation; l'enzyme est inactivée (Ramet et Hardy, 1972).

Selon Mietton et *al.*, (1994), l'influence de la température sur le temps de coagulation résulte de trois effets:

- La thermo sensibilité de l'enzyme ;
- La vitesse d'agrégation ;
- La vitesse de raffermissement du gel.

e) Effet du pH :

D'une manière générale, l'abaissement du pH réduit le temps de coagulation, augmente la vitesse de raffermissement du gel et de la fermeté maximale, sauf si l'on se situe à un pH inférieur à 6, pH à partir duquel on observe une déminéralisation et une désagrégation des micelles qui donnent lieu à la formation d'un coagulum moins souple.

En revanche, il n'y a plus de coagulation à des pH élevés, supérieurs à 7; l'enzyme étant rapidement inactivée. (Eck, 1990).

L'influence de l'acidification sur le temps de coagulation résulte de son effet sur l'activité de l'enzyme coagulante (augmentation de la vitesse d'hydrolyse de la caséine K), mais elle influe aussi sur la phase de coagulation par la déstabilisation des micelles (neutralisation des charges négatives et libération d'ions Ca^{++}).

f) Effet du chlorure de calcium :

La présence d'ions Ca^{++} en quantité suffisante est indispensable au déroulement de la phase secondaire. En effet le phénomène de coagulation ne se produit que si le lait contient

au moins 0.0015 à 0.002 moles de Ca^{++} ; c'est pour cette raison que les laits pauvres en calcium coagulent lentement et le gel obtenu est mou, l'addition de chlorure de calcium peut restaurer l'aptitude du lait à la coagulation (Lenoir, 1985; Balcone et *al.*, 1996).

Le chlorure de calcium provoque un léger abaissement du pH résultant d'un échange entre les ions H^+ fixés sur les protéines et le calcium incorporé, qui réduit la stabilité des micelles et accélère la phase enzymatique. Il augmente à la fois les teneurs en calcium et en phosphate de calcium colloïdal, provoquant ainsi un accroissement de la dimension des micelles (Lenoir, 1985), cette observation est en faveur d'une action de surface de la présure (plus la dimension des micelles est grande, plus le temps de coagulation est court. (Alais, 1974).

2- 3- 2- L'égouttage :

L'égouttage constitue une phase essentielle qui conditionne directement la composition du fromage.

Il se traduit par une élimination importante de lactosérum et s'accompagne d'une rétraction et d'un durcissement du gel.

En général, le phénomène résulte à la fois d'un processus actif "synérèse" et d'un phénomène passif résultant de la porosité et de la perméabilité du coagulum.

En réalité, L'égouttage peut être accompagné de découpage ou "décaillage", de brassage, de pressage ou de cuisson selon les types de fromage facilitant ainsi l'égouttage du caillé. Par contre le moulage et le salage préparent ce dernier à l'affinage.

Le **décaillage** consiste à couper le gel en portions égales afin d'accroître la surface d'exsudation.

Le **brassage** consiste à agiter modérément dans le lactosérum les grains de caillé obtenus lors du tranchage, afin de maintenir libres les surfaces d'exsudation créées par le découpage.

A l'état statique, ces grains ont une tendance à se ressouder spontanément d'où une inhibition de l'expulsion du lactosérum. Cette étape peut être facultative dans certain cas.

Le **salage** agit comme antiseptique. Il freine le développement des micro-organismes, favorise la bonne conservation du fromage et accélère le séchage et la formation d'une croûte. Il peut être fait en surface (salage à sec) ou par bain de saumure. L'étape du salage dure en moyenne de deux à quatre jours; La pâte est ensuite affinée.

2- 3- 3- L'affinage :

L'affinage (ou maturation) est la période pendant laquelle la pâte se transforme sous l'action biochimique de la flore bactérienne contenue dans le fromage. C'est l'étape cruciale où se développent la consistance, l'odeur, la saveur si désirée, et la croûte. Le lactose est transformé en acide lactique et les protéines sont hydrolysées en acides aminés. Un certain nombre de conditions sont nécessaires afin que le fromage mûrisse convenablement.

Il se fait dans des hâloirs bien conditionnés à température et humidité variant selon le type de fromage. La température a un effet direct sur l'activité microbienne et enzymatique. Ainsi, il existe des températures optimales de maturation pour chaque type de fromage:

entre 8 et 10 °C pour les pâtes molles,

- 10 et 12 °C pour les pâtes demi-fermes
- jusqu'à 20 °C pour les pâtes fermes.

L'affinage peut être plus ou moins long (de 24 heures à 3 ans). En général, plus l'affinage est long moins la pâte a conservé l'humidité, et plus le fromage est dur et de saveur prononcée.

Après toutes les opérations citées, le fromage est prêt à être consommé et est ensuite conditionné et commercialisé.

3-La présure et ses succédanés :

3-1-La présure :

La présure est une protéase extraite de la quatrième caillette des jeunes ruminants non sevrés. Elle est utilisée traditionnellement comme agent coagulant principal dans la plupart des fabrications fromagères.

Cette protéase doit son pouvoir coagulant à une enzyme particulière : la *chymosine* qu'elle renferme (80%). Celle-ci est souvent accompagnée d'une autre enzyme : la *pepsine* (20%). (Pien, 1974).

La chymosine et la pepsine ont l'une et l'autre la propriété de faire cailler le lait et de protéolyser le coagulum. Cependant, la chymosine est surtout coagulante et la pepsine est surtout protéolytante.

La chymosine **E.C.3.4.23.4** est synthétisée sous forme de prochymosine, activée sous l'action du suc gastrique; elle subit alors une conversion en chymosine active.

C'est une endopeptidase appartenant, comme la pepsine, au groupe des protéases acides (protéase à aspartate). C'est une holoprotéine, de poids moléculaire voisin de 30.000 daltons. (Scriban R., 1993). Elle possède une double activité (Ramet, 1987):

- Une activité élevée sur la caséine K qui conduit à la déstabilisation micellaire
- Une activité faible de protéolyse générale sur les différentes fractions caséiniques qui interviennent essentiellement pendant l'affinage du fromage.

L'inactivation thermique de la chymosine a lieu dès 50°C, et est totale à 61°C.

Selon Goursaud (1993) elle est :

- Stable à pH acide 5.3-6.3,
- Inactivée à pH 7.5,
- Dénaturée à pH 8.

D'après Eck (1990) la chymosine est une protéase responsable d'au moins 85% de l'activité coagulante totale.

La pepsine **E.C.3.4.23.3** quant à elle, est le constituant mineur de la présure dont la sécrétion ne devient prépondérante qu'après le sevrage (Ramet J.P., 1987). Elle est produite sous forme d'un précurseur inactif, le *pepsinogène*, d'un poids moléculaire de 42.000 daltons, il passe, par acidification, sous la forme active: la *pepsine* de poids moléculaire 35000 daltons. L'activation a lieu à un pH inférieur à 6 (Alais, 1974).

La pepsine est une protéase dont le pH d'action est très bas. Son activité enzymatique est plus élevée à pH compris entre 1 et 4, avec un maximum vers pH 1.8 et varie selon le substrat. Elle est caractérisée par une stabilité maximale à pH compris entre 5 et 5.5 (Reed, 1966), son pHi est inférieur à 1, elle est inhibée à pH supérieur à 6.6.

Elle est thermosensible au dessus de 55°C. Elle est dénaturée à une température de 70°C. Les températures basses l'inhibent également.

3-2-Les succédanés de présure :

De nombreuses protéines possèdent une activité protéasique capable d'hydrolyser la caséine K et provoquer ainsi la coagulation du lait. Cependant, cette condition n'est pas suffisante pour une utilisation en industrie fromagère. En effet, un succédané doit présenter un certain nombre de propriétés physico-chimiques et technologiques indispensables qui définissent son activité fromagère.

3-2-1- Propriétés:

3-2-1-1-Propriétés physico-chimiques :

- Bonne solubilité dans l'eau : Celle-ci conditionne la répartition du produit permettant l'obtention d'une coagulation homogène dans toute la masse du lait ;
- L'odeur et la couleur : faibles ou nulles de façon à ne pas modifier l'aspect et la qualité organoleptique du fromage;
- Le degré de pureté élevé : ce dernier est indispensable pour éviter divers accidents dus à la prolifération de microorganismes indésirables ou à l'activité d'enzymes contaminantes ;
- Absence de toxicité pour le consommateur ;
- Activité antibiotique nulle de façon à ne pas perturber le développement des ferments lactiques au cours du processus d'élaboration du fromage, ainsi que les équilibres de la flore intestinale du consommateur ;
- Activité protéolytique et lipolytique faibles : la première conditionne directement la tension du coagulum formé et par conséquent, son aptitude au travail mécanique.

Une activité protéolytique trop intense se traduit par une solubilisation importante des protéines; les fragments libérés étant éliminés avec le lactosérum ; il s'ensuit une baisse du rendement fromager.

Une activité lipolytique intense se traduit par l'apparition de goûts de rance plus ou moins prononcés; la qualité organoleptique des produits finis est donc altérée.

3-2-1-2- Propriétés technologiques :

L'emploi de toute enzyme en industrie fromagère doit respecter les modalités habituelles du déroulement des différentes phases de la fabrication. Les succédanés de présure doivent donc avoir les propriétés suivantes:

- Avoir une bonne activité coagulante dans les conditions de transformations du lait;
- Les propriétés rhéologiques des coagulums doivent évoluer après la floculation de façon à permettre le travail mécanique du gel dans les délais habituels;

- La synérèse du coagulum au cours de la phase d'égouttage doit permettre d'obtenir un fromage d'extrait sec et de composition chimique caractéristiques, dans un délai proche ou égal à celui observé avec la présure;
- Les rendements fromagers, exprimés en poids sec de fromage, doivent être plus ou moins égaux à ceux obtenus par l'emploi de la présure.

3-2-2- Autres coagulases d'origine animale :

L'appareil digestif de certains mammifères sécrète diverses protéases autres que la présure notamment la trypsine, la chymotrypsine, la chymosine et la pepsine.

Cependant, seules les pepsines porcines et bovines présentent un intérêt industriel. La première a permis des résultats plus que satisfaisants ; c'est une protéase à caractère plus acide que la chymosine. Son activité est meilleure en milieu acide que dans le lait frais ou la coagulation ne se fait que lentement. Mélangée à la présure, la pepsine porcine est largement utilisée dans les pays anglo-saxons pour la fabrication de fromages frais (Ramet, 1987). Toutefois pour des raisons religieuses son utilisation est exclue dans les pays musulmans.

La pepsine bovine est un des constituants mineurs de la présure, mais dont la sécrétion devient prépondérante après sevrage. Elle apparaît proche de la présure et son activité est moins dépendante du pH que celle de la pepsine porcine.

La pepsine d'origine avicole, extraite du proventricule de poulet, a été également expérimentée en Israël pour la fabrication de fromages locaux (Ramet, 1984).

La pepsine a été extraite récemment d'estomac d'autres animaux et ses propriétés étudiées à partir de la paroi interne de l'estomac de la morue de l'atlantique. A 15°C cette pepsine a coagulé le lait plus efficacement que la chymosine de veau (Brewer et al, 1984 cité par Scriban, 1993).

Au Canada, la pepsine A isolée de la muqueuse gastrique du phoque est similaire à la chymosine de veau; donnant un bon résultat dans la fabrication de Cheddar (Shamsuzzaman et al. 1985 in Scriban, 1993).

Certains succédanés d'origine animale peuvent donc être considérés comme des produits de remplacement acceptables de la présure de veau. Il convient toutefois de remarquer que comme pour la présure, leur disponibilité reste tributaire du marché de la viande.

3-2-3-- Les enzymes coagulantes d'origine végétale :

On connaît de nombreuses préparations coagulantes provenant du règne végétal. Elles sont extraites par macération de divers organes de plantes supérieures. Parmi les espèces végétales utilisées on peut citer le gaillet, l'artichaut, le chardon sont encore utilisés dans des fabrications de fromages traditionnels.

D'autres extraits coagulants ont été obtenus à partir de plantes tropicales : les plus connus sont:

- Les ficines ; extraites du latex du figuier,
- La papaine ; extraite des feuilles du papayer,
- La broméline ; extraite de l'ananas. Certaines études ont été menées pour trouver d'autres coagulases dans les plantes locales tel que : le melon, la courge, etc.

En général, les préparations coagulantes d'origine végétale sont rarement utilisées en fromagerie industrielle, en raison d'une part de leur activité protéolytique très élevée, qui se traduit par l'apparition des inconvénients technologiques tels que :

- La baisse du rendement fromager,
- La mauvaise fermeté des caillés obtenus, avec apparition d'amertume (Alais, 1984).

L'activité coagulante est d'autre part très variable car elle est fortement influencée par l'état de maturité de la plante et par les conditions de collecte et de stockage. De ce fait, l'emploi de ces protéases coagulantes est toujours resté limité aux aires locales de production (Soussa et Malcata, 1997).

3-2-4-Les enzymes coagulantes d'origine microbienne :

Une puissante industrie de transformation s'est développée dans le monde produisant des substances variées, dont une grande quantité d'enzymes qui trouvent de nombreuses applications dans divers secteurs industriels, et en particulier des protéases susceptibles de remplacer la présure. (Scriban, 1993).

Les principaux avantages des enzymes de fermentation par rapport aux autres protéases sont les suivants :

- Une production indépendante des contraintes saisonnières et géographiques ;
- Une possibilité d'utilisation de matière première bon marché ;
- Des rendements de production pouvant être augmentés de façon importante par l'amélioration génétique des souches microbiennes et l'optimisation des conditions de fermentation ;
- Une utilisation dans des pays où des raisons religieuses interdisent l'utilisation d'enzymes provenant de certains animaux.

On distingue deux catégories de protéases microbiennes : les succédanés d'origine bactérienne et les succédanés d'origine fongique.

3-2-4-1- Les protéases d'origine bactérienne :

Ce sont les genres *Bacillus* (*B.subtilis*, *B.cereus*, *B.polymexa* et *B.coagulans*) et *Pseudomonas* qui ont été plus particulièrement explorés. Les résultats obtenus à partir des préparations enzymatiques testées dans des fabrications fromagères ont été décevants en raison de l'activité protéolytique généralement très élevée par rapport à celle de la présure (Eck, 1987).

Cependant, récemment, Matoub, (2000) ; a mis en évidence la possibilité d'obtenir une coagulase à partir d'une souche locale de *Bacillus subtilis* sélectionnée (Lc33), dont les caractéristiques cinétiques sont relativement analogues à celles de la présure traditionnelle.

Mais leur utilisation n'a pas dépassé le stade expérimental en raison de leur prix de revient d'une part, et de la réglementation stricte (Alais, 1984; Mahon et Brown, 1985).

D'autre part Aucune préparation n'est commercialisée (Eck, 1987).

3-2-4-2- Les protéases d'origine fongique:

Ces enzymes ont donné des résultats meilleurs, souvent comparables et parfois supérieurs à ceux obtenus avec la présure.

Les espèces les plus étudiées sont :

- Endothia parasitica
- Mucor pusillus L.
- Mucor miehei

D'après Reignier (1980) in Scriban (1993), il est possible grâce à l'utilisation d'enzyme extraite de *Mucor miehei*, de fabriquer des fromages d'excellentes qualités.

Chapitre II: Matériel et méthodes

1-Matériel biologique:

Pour notre expérimentation nous avons utilisé le proventricule du poulet (*Gallus gallus*) et l'estomac du poisson (*Seriola sp.*) fournis respectivement par un vendeur de volaille et un poissonnier. La quantité utilisée pour l'extraction de l'enzyme est d'environ 800g dans chaque cas.

Les matières premières ont subi les mêmes prétraitements et traitements. Elles ont été récupérées à l'état frais, nettoyées, dégraissées, lavées et découpées en petits morceaux (pour faciliter leur broyage).

1-1-Obtention des extraits enzymatiques:

Une quantité de matière prétraitée est broyée dans une solution tampon d'acétate de sodium (0,1 M, pH 5) à raison de 1/3 (P/V). La préparation est mise à congeler pendant 24 heures, décongelée puis macérée pendant 2 heures sous agitation douce et filtrée à travers une gaze. La solution récupérée est centrifugée à 4.500 tours/minute pendant 30 minutes. Le surnageant, contenant du pepsinogène, est filtré à travers un papier et subit une activation par abaissement du pH jusqu'à 3 pendant 30 minutes par addition de l'acide chlorhydrique fumant puis réajusté à pH 5 par l'ajout de la soude NaOH.

Les différentes étapes d'extraction sont résumées dans la figure3.

1-2-Clarification des extraits enzymatiques:

Les extraits obtenus sont clarifiés par l'addition de 1% de sulfate d'aluminium $Al_2(SO_4)_3$ 1M et 5% d'une solution de sulfate dissodique Na_2SO_4 1M, chauffé préalablement pendant 5minutes dans un bain marie à 35°C.

Le mélange est laissé au repos pendant quelques minutes puis centrifugé à 4.500 tr/minutes pendant 30 minutes. Après filtration, Le surnageant constitue l'extrait enzymatique brut clarifié.

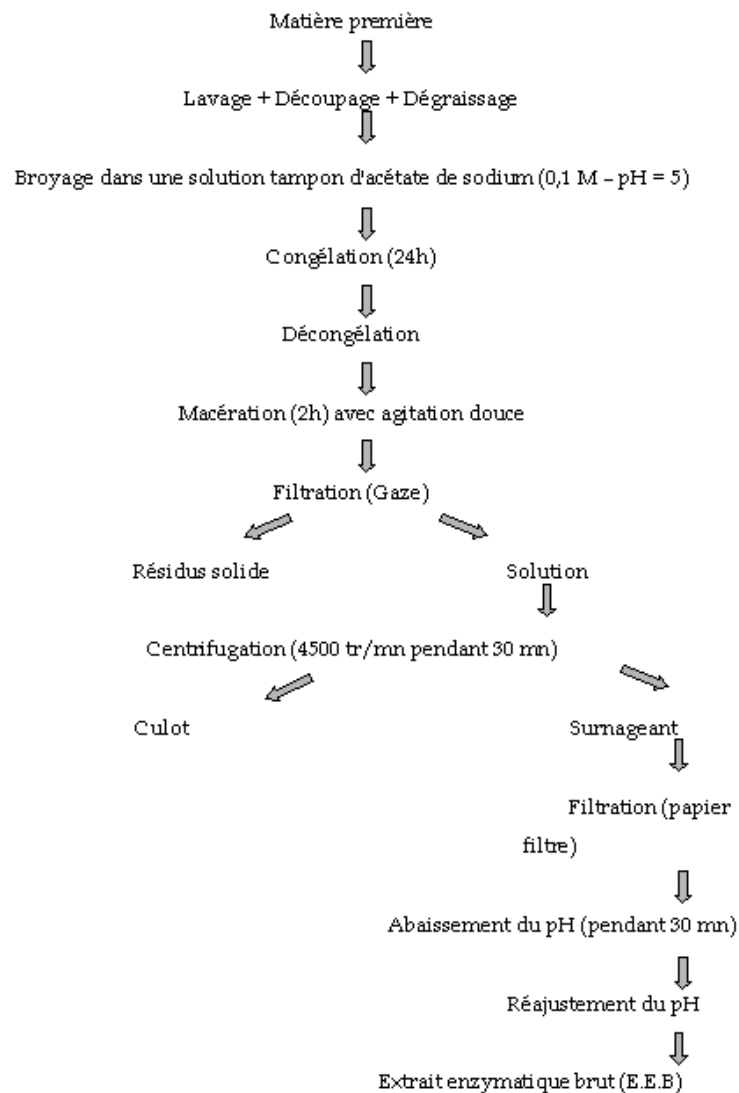


Fig. 3: Résumé des différentes étapes de l'extraction des enzymes.

1-3-Essai de purification partielle: précipitation au sulfate d'ammonium:

L'addition du sulfate d'ammonium à une solution protéique provoque une déshydratation et une précipitation des protéines; induisant ainsi le phénomène de relargage.

L'avantage du relargage est que les protéines conservent leur conformation native et peuvent être dissoutes habituellement sans dénaturation.

Les extraits enzymatiques bruts du poisson et du poulet sont soumis à une précipitation au sulfate d'ammonium respective de 50% et 80% selon la table de précipitation au sulfate d'ammonium (annexe 2). Après précipitation, les solutions sont mises à décanter pendant 24heures à +4°C, puis centrifugées à 10000tr/mn pendant 30mn séparant ainsi le précipitât de protéines, qui sera récupéré dans un minimum de solution tampon d'acétate de sodium 0,1M et pH 5.

1-4-Dialyse:

C'est une technique de séparation permettant d'éliminer d'une solution macromoléculaire des ions ou petites molécules, par leur passage à travers une membrane semi-perméable sous forme de boudin.

La membrane semi-perméable (boudin) contenant les protéines précipitées par le sulfate d'ammonium est fermée à ces deux extrémités. La dialyse est effectuée contre de l'eau distillée à +4°C et sous agitation moyenne. Cette eau est régulièrement renouvelée. Après 48 heures de dialyse, le culôt est récupéré pour la suite de notre étude.

2-Mesure de l'activité coagulante et dosage des protéines totales des solutions enzymatiques:

2-1-Mesure de l'activité coagulante:

L'activité coagulante des extraits enzymatiques a été déterminée selon la méthode de Soxhlet décrites par Tsouli (1979). Cette méthode exprime l'activité de l'enzyme ou de l'extrait enzymatique en force coagulante. La force coagulante d'un extrait enzymatique représente le volume de lait coagulé par unité de volume de l'extrait enzymatique, en 40 minutes, à 35°C et pH 6,4.

Les conditions standards pour cette mesure sont:

Volume de la solution enzymatique: 1ml

Volume du lait à coaguler : 10ml

Température du lait : 35°C

pH du lait : 6,4

La force coagulante est exprimée par :

$$F = \frac{2400 \times V}{T \times v}$$

F: force de l'enzyme.

V: volume du lait ajusté.

v: volume de la solution enzymatique.

T: temps de coagulation du lait en secondes (2400 s).

Le test d'activité est réalisé selon la méthode de Berridge. Le substrat est constitué de 12g de lait écrémé en poudre dissout dans 100 ml de solution de CaCl₂ 0,01M, pH 6,4 sous agitation douce pendant 30 mn.

Essai de mesure :

Un volume de 10 ml de substrat est introduit dans un tube à essai, emprésuré avec 1ml d'extrait enzymatique, et est incubé à 35°C pendant 30mn.

La rotation du tube immergé permet la formation d'un film sur la paroi. Le temps de prise correspond à la période qui sépare le moment de l'emprésurage et l'apparition des premiers flocons de caséine, quant au temps de coagulation, c'est la période séparant le moment de l'emprésurage et l'instant où le caillé est complet (séparation totale entre le coagulum et le lactosérum).

2-2-Dosage des protéines totales:

Le dosage des protéines totales des extraits enzymatiques a été déterminé selon la méthode classique de **Lowry**. (Anonyme, 2004).

Cette méthode est basée sur une technique colorimétrique par référence à une courbe étalon (annexe 3) établie à partir d'une solution standard de sérum albumine bovine (BSA). Elle consiste à additionner à la solution protéique diluée, un sel de cuivre en milieu alcalin puis le réactif de FOLIN-CIOCALTEU. Une réaction entre ce dernier et les acides aminés (tyrosine, tryptophane, cystéine et l'histidine) donne une coloration bleue. La densité optique est mesurée à 750nm au spectrophotomètre.

3-Caractérisation des extraits enzymatiques et la présure:

L'activité coagulante du lait est fonction de plusieurs paramètres en particuliers: la température, le pH, la concentration en CaCl_2 , la concentration en extrait enzymatique. La mesure de l'activité coagulante sous ces différents paramètres est déterminée en observant le temps de coagulation du lait additionné de l'extrait coagulant dans les conditions standard définies précédemment.

L'activité enzymatique des extraits est exprimée en pourcentage (activité coagulante relative) par rapport à la plus forte activité obtenue (temps de coagulation le plus court).

Durant toute la caractérisation; les extraits enzymatiques ainsi que la présure sont ajustés de façon à donner un temps de coagulation du lait voisin à 5 minutes (Anonyme, 1981).

3-1-Variation de la température:

La température optimale de coagulation du lait est déterminée en mesurant le temps de coagulation le plus court dans un intervalle de température allant de 30 à 70 °C avec un pas de 5°C.

3-2-Variation du pH:

Le pH optimal de coagulation du lait est évalué en observant le temps de coagulation le plus court dans un intervalle de pH allant de 5 à 8 avec un pas de 0,5, en utilisant du HCl 0,1N et du NaOH 1N.

3-3-Variation de la concentration en CaCl₂:

La concentration optimum de coagulation du lait en CaCl₂ est déterminée en observant le temps de coagulation le plus court dans un intervalle de concentration en CaCl₂ allant de 0,01M à 0,1M avec un pas de 0,01M.

3-4-Variation en concentration des extraits enzymatiques:

La concentration optimale en extrait enzymatique coagulant est déterminée en observant le temps de coagulation le plus court à différentes concentrations en extrait enzymatiques, allant de 25 à 200 µl.

3-5-Stabilité des extraits enzymatiques et de la présure:

L'évaluation de la stabilité des extraits enzymatiques consiste à exposer les enzymes à différents paramètres (température, pH et conservation).

L'activité optimale est exprimée en pourcentage (activité résiduelle) par rapport au temps de coagulation le plus court.

3-5-1-Stabilité thermique des enzymes:

L'étude de la thermo-résistance des extraits coagulants est effectuée en plaçant une même quantité d'extrait enzymatique en solution dans un bain marie à différentes températures de 30 à 70°C pendant une durée de 40 minutes.

3-5-2-Stabilité des enzymes vis à vis du pH:

Le pH de stabilité des extraits enzymatiques est déterminé par la mesure de l'activité résiduelle des extraits maintenus à différents pH: 2 à 8 à + 4°C pendant 24 heures.

3-5-3-Stabilité des enzymes au cours de la conservation:

Les extraits coagulants sont entreposés à différentes températures de congélation (-18°C) et de réfrigération (+ 4°C) pendant une période de trois (03) mois.

L'activité résiduelle est mesurée périodiquement (une fois par semaine) selon les conditions standards.

4- Etude des laits et des fromages:

Les laits crus de petits ruminants (la race « Arabia » pour les caprins et la race « Hamra » pour les ovins) ont été recueillis au niveau de la station expérimentale de l'ITELV.

L'alimentation du cheptel se composait d'un mélange de foin d'orge et d'avoine (1 kg 500) en plus de l'orge en grain (300 gr).

Pour les essais de fabrications de fromage, nous avons suivi les différentes étapes du diagramme développé par Luquet (1985), dont les étapes sont résumées dans la figure 4.

L'obtention de résultats satisfaisants lors d'une étude précédente relative à la fabrication de fromage type EDAM à partir du lait de vache coagulé avec l'extrait enzymatique du poisson nous a encouragé à poursuivre dans le même axe de recherche. Nous avons orienté notre étude sur le comportement des extraits coagulants du poisson et du poulet sur les laits de chèvre et de brebis.

La température choisie lors de nos essais est de 30°C à 35°C pour le lait de chèvre et 35 à 40°C pour le lait de brebis, ces températures permettent selon Alais (1984), l'accélération du développement de la microflore du lait.

4-1-Méthodes analytiques

Les analyses physico-chimiques et microbiologiques sont effectuées selon les méthodes d'analyse régulièrement utilisées par la L.F.B.

4-1-1-Analyses physico-chimiques: (AFNOR, 1986)

Détermination pH:

Cette méthode décrit la mesure électrométrique du pH. Elle s'applique sur tous les types de fromages.

Principe: Elle consiste à introduire délicatement l'électrode du pH-mètre dans le fromage et le lait. La valeur du pH est directement affichée dans le pH-mètre.

Détermination de la densité du lait:

Elle est déterminée à l'aide d'un lactodensimètre. Le principe consiste à remplir une éprouvette de lait, d'y plonger le lactodensimètre, puis d'attendre la stabilité de ce dernier pour effectuer la lecture. Cette lecture se fait directement sur le lactodensimètre si la température est de 15°C. Pour des températures supérieures ou inférieures à 15°C; il serait nécessaire d'effectuer des corrections (on ajoute (03) à la densité lorsque la température est inférieure à 15°C et on retranche trois (03) de la valeur de la densité si la température du lait est supérieure à 15°C).

Détermination de la teneur en matière grasse (Méthode acido-butyrométrique):

Principe: La détermination de la matière grasse est basée sur la dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique et la séparation de la matière grasse par centrifugation dans un butyromètre. La séparation est favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool amylique.

1. Fromage frais de Chèvre

1. Préparation du lait:

- Pasteurisation/ thermisation
63 – 65°C
- Refroidissement
21- 22°C
- Ferment (1 à 1,5%)
- Minéralisation (0,1 g/l de CaCl₂)

2. Fromage frais de brebis

1. Préparation du lait:

- Pasteurisation/ thermisation
80- 85°C
- Refroidissement
44- 48°C
- Ferment (2 à 4%)
- Minéralisation (0,1 g/l de CaCl₂)

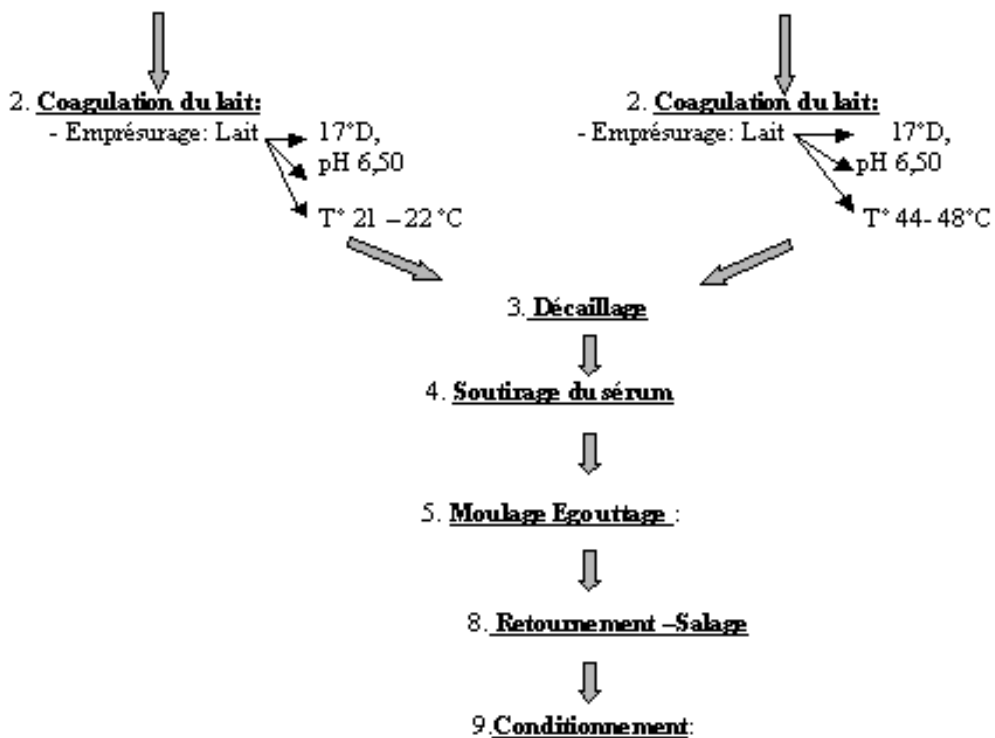


Fig.4:Diagramme de fabrication du fromage frais

(Luquet, 1985)

Détermination de l'extrait sec total:

L'extrait sec est la fraction massique restante obtenue par l'application d'une dessiccation complète de l'échantillon. Une quantité de laits, lactosérum ou de fromages est desséchée à l'aide d'un dessiccateur, lequel, après réglage (100% d'humidité, 95°C), affichera la valeur correspondante au taux d'humidité.

La matière sèche se calcul ainsi de la manière suivante:

$$MS = 100 - \text{humidité.}$$

Calcul de la matière grasse dans la matière sèche:

But: Vérification de la conformité de la teneur en matière grasse aux dispositions réglementaires de l'étiquetage.

La teneur en matière grasse dans la matière sèche correspond au pourcentage en masse de la matière grasse contenue dans la matière sèche du fromage. Elle est exprimée en gramme pour 100g de matière sèche selon la formule suivante:

$$\frac{MG}{MS} \times 100$$

MS

MG: teneur en matière grasse.

MS: teneur en matière sèche.

Détermination de l'acidité:

L'acidité titrable exprime le nombre de grammes d'acide lactique présent dans un (01) litre de lait ou de lactosérum. Son principe est basé sur le titrage de l'acidité par hydroxyde de sodium (NaOH), en présence de phénol phtaléine comme indicateur coloré. Elle est exprimé en degrés DORNIC et donnée par la lecture directe du nombre de ml de soude versée.

Dosage des protéines (Méthode KJELDHAL):

Principe du dosage:

L'azote total est dosé par titrimétrie, après minéralisation selon la méthode Kjeldahl.

Expression des résultats :

· Le lait

La teneur en azote total exprimée en gramme d'azote par litre de lait est donnée par la formule :

$$\text{Azote total} = V_1 \times 0,0014 \times \frac{100}{V_0}$$

Où :

V_0 : est le volume en millilitres de la prise d'essai

V_1 : est le volume en millilitres de la solution d'acide sulfurique 0,1N

· Le fromage

La teneur en azote est exprimée en g/kg de fromage, elle est égale à:

$$\frac{1,4 V_1}{E}$$

V_1 : volume en millilitres de la solution d'acide sulfurique 0,1N

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

Le taux protéique total est exprimé comme suit:

Taux Protéique = azote total x 6,39

6,38: coefficient utilisé pour le lait et les produits laitiers.

Dosage du Calcium: (Méthode FIL/ IDF 36, 1966)

Une étude préalable a été menée dans le but d'étudier l'effet des traitements thermique et correctionnel du calcium sur le lait. Pour cela, un échantillon de lait a été traité avec une petite quantité de bichromate de potassium afin de pouvoir être conservés à 12°C pendant 04 jours sans développement bactérien et sans protéolyse notable. Le lait conservé à 12°C est utilisé comme lait témoin et sert de référence.

Les pastilles pèsent 0,25 g qu'on ajoute directement au lait à conserver, à raison d'une pastille pour 200cm³ de lait (une partie d'amidon de blé pour partie de bichromate). Les pastilles se dissolvent facilement dans le lait, et n'exercent aucune influence sur la détermination de la teneur en matière grasse.

a). Traitements thermique et correctionnel:

Un système de chauffage constitué de tubes en verre plongés dans un bain-marie a été utilisé. Une température de 65°C et 80°C a été appliquée pendant 10 minutes, au lait de chèvre et de brebis (températures choisies en fonction du diagramme de fabrication).

Selon Raynal et Rameuf (1998) une température de 80°C pendant 10 minutes provoque une dénaturation totale des protéines solubles à 100%.

Un traitement de correction qui consiste en l'addition du calcium à différentes doses (0,1g/l et 0,05 g/l) aux laits chauffés préalablement a été effectué.

Après addition de calcium, le pH est ajusté à 6,5 par ajout de NaOH 0,1 N.

Le lait est maintenu par la suite à une température ambiante pendant une heure pour permettre aux équilibres physico-chimique de s'établir.

En outre, un essai de maintien des laits à 25°C pendant 24 heures, visant à évaluer la réversibilité des modifications observées après chauffage à été réalisés.

b) Analyse physicochimique:

Les teneurs en calcium ont été déterminés par la méthode FIL/IDF (1966) et la méthode complexométrique d'AFNOR (1986).

Teneur en calcium du lait :

Définition de la teneur en calcium du lait :

La teneur en calcium du lait est la quantité totale de calcium exprimée en pourcentage pondéral.

Principe de la méthode FIL/IDF (1966) :

La totalité en calcium du lait est mise en solution et les matières protéiques sont précipitées par l'acide trichloracétique. Le calcium contenu dans le filtrat est précipité sous forme d'oxalates de calcium, qui est séparé par centrifugation et titré à l'aide de permanganate de potassium.

Expression des résultats :

Calculer la teneur en calcium à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Teneur en calcium \%} = 0,0004 \times (V - v) \times \frac{1000}{P} \times K = 0,4 \times (V - v) \times \frac{K}{P}$$

Avec:

- V : nombre de ml de KMnO₄ (0,02 N) utilisés dans le titrage de la prise d'essai.
- v : nombre de ml de KMnO₄ (0,02 N) utilisés dans le titrage dans l'essai à blanc.
- P : poids en grammes de la prise d'essai initiale.
- K : Coefficient de correction pour le volume du précipité résultant de la défécation trichloracétique ; K = 0,972 Pour le lait entier à 3,5 à 4,5 % de matière grasse.

Dosage du Phosphore (AFNOR, 1986) :

Effectuer pour le lait et le fromage, le principe du dosage repose sur la minéralisation par voie sèche, puis dissociation des cendres dans une solution d'acide chlorhydrique (cas du lait), et d'acide sulfurique "minéralisation humide" (cas du fromage).

L'addition d'une solution de molybdate de sodium- acide ascorbique permet la mesure spectrométrique de l'absorbance à une longueur d'onde de 750nm.

Expression des résultats:

La teneur en phosphore est exprimé en pourcentage en masse qui es égale à:

- Pour le Lait:

$$\frac{M_1}{20 M_0}$$

M₀ : Masse en gramme de la prise d'essai

M₁ : Masse en phosphore en µg sur la courbe étalon

- Pour le fromage:

$$\frac{m_1}{100 m_0}$$

m₀ : Masse en micro-gramme de phosphore lue sur la prise d'essai

m₁ : Masse en micro-gramme de phosphore en µg sur la courbe étalon

Détermination de la teneur en chlorure (AFNOR, 1980):

Principe : La destruction de la matière organique du fromage au moyen du permanganate de potassium et de l'acide nitrique, puis la détermination des chlorures par titrage argentimétrique dans une solution d'acide nitrique en présence de sulfate double d'ammonium et de fer comme indicateur.

Expression des résultats:

La teneur en chlorure s'exprime comme suit:

$$\frac{(V_1 - V_2) \cdot f \cdot T}{m}$$

V₁ : volume en ml de la solution de thiocyanate utilisé pour l'essai à blanc.

V₂ : volume en ml de la solution de thiocyanate utilisé pour la prise d'essai.

T : titre de la solution de thiocyanate.

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

F : facteur permettant d'exprimer le résultat en pourcentage de chlorure, il est de **5,85**.

4-1-2-Analyses microbiologiques: (Petranxiene, et Lapied, 1981)

Ces analyses sont réalisées dans le but d'assurer une bonne qualité hygiénique. Les tests habituellement effectués pour ce type de fromage sont la recherche et le dénombrement sur milieu sélectifs des germes suivants : les coliformes, les Staphylocoques, les Salmonelles, les Clostridium, les levures et les moisissures.

Pour ce type d'analyse; on pèse d'abord un volume de l'échantillon à analyser qu'on mélange à neuf (9) volumes d'eau physiologique puis on laisse le mélange sous agitation jusqu'à la dissolution du fromage. Ceci constituera la solution mère.

· La recherche des coliformes :

Cette recherche s'effectue sur le bouillon lactosé au vert brillant (B.L.B.V.B) avec une cloche de DURHAM dans des tubes à essai. On introduit aseptiquement dans trois séries de deux tubes 1 ml des dilutions 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} . On dégaze, puis on incube à 37°C pendant 24heures.

La lecture : les tubes positifs présentent un trouble homogène le long du tube et du gaz dans la cloche. L'expression des résultats se fait par la méthode NPP (nombre le plus probable) en utilisant la table de Mac CRADY(Annexe).

· **La recherche des coliformes fécaux (*Escherichia coli*) :**

On introduit dans des tubes contenant le milieu d'eau peptonée exempte d'indole 1ml de solution qu'on prélève de chaque tube de B.L.B.V.B noté positif.

On incube à 44°C pendant 24heures.

La lecture : la recherche d'indole s'effectue en ajoutant 3 à 4gouttes de réactif de KOVACS. S'il y a apparition d'un anneau rouge cerise, cela indique la production de l'indole par *E.coli*.

Les résultats s'expriment selon le nombre le plus probable.

· La recherche de Staphylocoques:

La présence de staphylocoques et plus précisément *Staphylococcus aureus* peut déterminer de graves intoxications parfois mortelles chez le nourrisson.

Cette recherche n'aboutit pas à une identification de l'espèce mais à un simple dénombrement des colonies suspectes.

Le principe : est basé sur l'emploi du milieu d'isolement ou de dénombrement : gélose de Braid Parker (BP), puis une incubation à 37°C pendant 48 heures.

Lecture : Les colonies apparaissent sur le milieu, noires corbeau, brillantes, convexes et entourées d'un halo clair.

- La recherche de salmonelles:

Le nombre de ces bactéries est très faible, il faut donc absolument faire un pré-enrichissement, un enrichissement et ensuite un isolement.

- **Pré-enrichissement:** dans un bouillon lactosémannitolé tamponé (BLMT) pendant 24 heures.
- **Enrichissement:** Il s'effectue après transfert d'un volume de 1ml du milieu de pré-enrichissement dans un milieu sélectif (SFB) et de son additif.
- **Isolement:** Il se fait sur milieu sélectif solide (HEKTOEN) à partir du milieu d'enrichissement sélectif liquide.

Lecture : les colonies suspectées d'être des salmonelles sont petites, vertes, à centre noir et à contour régulier.

- La recherche de Clostridium :

La recherche de Clostridium sulfito-réducteurs peut s'effectuer par dénombrement des formes sporulées. Elle est basée sur :

- Une croissance dans les milieux contenant du sulfite de sodium.
- Leur pouvoir de réduire le sulfite de sodium et en présence d'alum de fer d'où coloration noire.

Mode opératoire : trois (03) tubes contenant 20ml de gélose de viande foie (VF) à laquelle on a préalablement additionnée de sulfite de sodium et d'alum de fer et 5 ml de la solution mère. Ils sont portés dans un bain-marie à 85°C pendant 10 minutes. Les tubes sont ensuite refroidis à l'eau de robinet. Ce test de thermo-résistance permet la destruction des cellules végétatives. Les spores bactériennes persistent. Puis on incube à 37°C pendant 72 heures.

Lecture : les colonies de clostridiums sulfito-réducteurs apparaissent entourées d'un halot noir.

- La recherche de levure et de moisissures :

Le dénombrement de cette flore permet d'évaluer la qualité de conservation du produit.

Mode opératoire : on ensemence 0,1ml de la dilution 1/10 du produit à la surface d'une boîte de Petri contenant la gélose: oxytétracycline (OGA).

Lecture : les levures présentent des colonies semblables à celles des bactéries. Cependant, les moisissures se présentent sous forme de colonies toujours pigmentées, à aspect velouté.

Les résultats sont exprimés par le nombre de colonies par ml de produit.

4-1-3-Tests organoleptiques :

Après analyse microbiologique; le fromage est présenté à un jury de dégustation composé principalement du personnel de la fromagerie, et des étudiants stagiaires.

Le dégustateur doit se référer aux caractéristiques du fromage en question pour évaluer le produit en remplissant un questionnaire (annexe).

4-2-Rendement fromager :

La matière sèche d'un litre de lait est répartie pour la moitié dans le fromage, l'autre moitié se trouve dans le lactosérum. Cette répartition des composants se trouve sensiblement constante pour un fromage donné, elle se définit en pratique fromagère par la notion de **rendement fromager**.

Le rendement fromager ou le rendement de la transformation est l'expression mathématique de la quantité de fromage obtenu à partir d'une quantité donnée de lait (100 l ou 100Kg).

Cette notion présente un grand intérêt en industrie fromagère car elle reflète globalement comment a été réalisé la répartition lors de l'égouttage ; elle permet donc de juger pour un type de fromage donné si la fabrication a été menée dans de bonnes conditions.

Le principe est basé sur la mesure de l'extrait sec dégraissé (ESD) retrouvé dans le fromage. Selon Eck (1990), le rendement fromager s'exprime par la formule suivante :

$$\text{Coefficient} = \frac{10 \times \text{ESD} \times \text{P.}}{\text{V}}$$

Avec :

P : poids de fromage obtenu en Kg.

V : quantité de lait mise en œuvre en l

ESD : extrait sec dégraissé du fromage (ESD= EST-MG)

4-3- Analyse statistiques:

Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel GENSTAT. Ed. 9, l'évolution des différents paramètres ont été appréciées par l'analyse de la variance.

Chapitre III: Résultats et discussion

1- Mesure des activités coagulantes et détermination de la concentration en protéines des extraits coagulants:

1-1-Les activités coagulantes des extraits enzymatiques:

Les tests d'activités ont révélé une force coagulante de l'ordre de: 1/ 4800 et 1/ 960 respectivement pour l'extrait enzymatique du poulet et celui du poisson. (Figure 5).

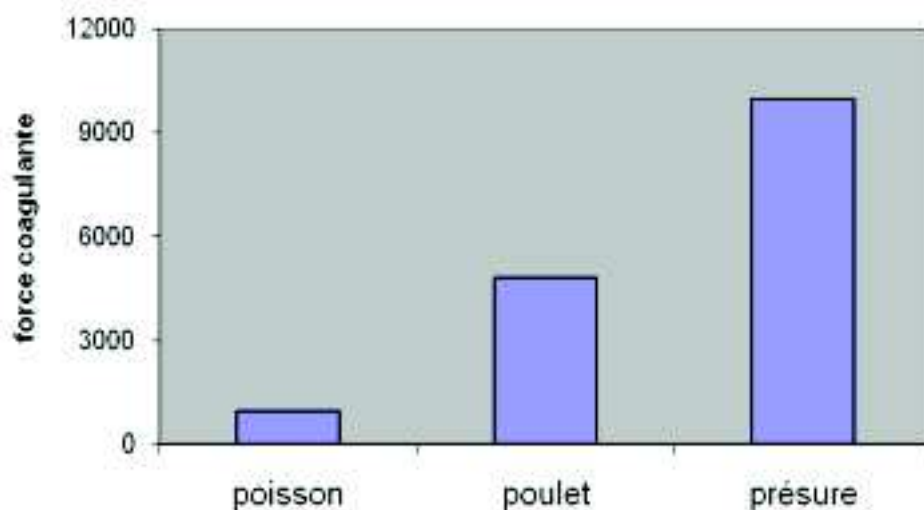


Fig.5: Activité coagulante comparée des extraits enzymatiques après précipitation au Sulfate d'Ammonium EEBP

Ces valeurs sont relativement faibles par rapport à la présure de référence dont la force est de 1/10.000 c'est à dire qu'un volume de présure coagule 10.000 volumes de lait dans les conditions définies. La présure commerciale est la plus employée actuellement en technologie fromagère.

Cette comparaison n'est cependant pas significative du fait que nos préparations sont à l'état brut, alors que la présure est à l'état pur; on ne pourra ainsi parler d'activité coagulante proprement dite qu'après une étape de purification des extraits.

A titre de comparaison, Morsli (1997) a obtenu une activité coagulante du proventricule du poulet de 1/ 3200; valeur inférieure à la notre. Par contre Maachou (2004) a trouvé une activité de la pepsine du poisson (LIMON) supérieure à la notre avec une valeur de l'ordre de 1/1200.

L'ensemble de ces résultats laisse suggérer que l'activité coagulante varie selon l'origine de l'enzyme. En effet, le permet d'illustrer cette hypothèse.

Extraits enzymatiques bruts	Force coagulante	Références
Poulet	1/ 3200	MORSLI A. (1997)
Poulet	1/ 1043,5	BENALI M. (2001)
Poisson	1/ 1200	MAACHOU D.(2004)
<i>Mucor pusillus</i>	1/ 2400	BELHAMICHE N. (2000)
<i>Bacillus subtilis</i> (LC33)	1/1250	MATOUB L. (2000)
graine de melon	1/ 800	FERNANI L. (2003)
latex du Figuier	1/ 35.000	BALL I.K. (2000)
	1/ 45.000	

Tableau IX : Activités coagulantes des différents extraits enzymatiques bruts de différentes origines:

1-2-Concentration en protéines totales des extraits coagulants :

La concentration en protéines totales des extraits coagulants bruts du poulet, du poisson et de la présure a été déterminée selon la méthode classique de Lowry (matériel et méthodes).

A l'état brut; la teneur en protéines totales de l'extrait du poulet est de **11,06** mg/ml qui est relativement plus élevée par rapport à celle obtenue pour le poisson qui n'est que de **5,93** mg/ml.

Après précipitation au sulfate d'ammonium (50% et 80% pour les extraits enzymatiques du poisson et du poulet respectivement), on note une réduction des taux de protéines totales. La teneur en protéines enregistrée est de: **6,80** mg/ml pour l'extrait du poulet et **4,41**mg/ml pour celui du poisson soit une perte respective de 38,51% et de 25,63%. Cette réduction résulte de l'élimination d'une proportion importante de protéines à faible poids moléculaire et une perte probablement d'une quantité d'enzyme coagulante.

La faible teneur en en protéines est probablement due aux différentes opérations subies par la matière première pouvant réduire la concentration en protéines : la dilution lors du broyage et la filtration séparent les déchets solides mais retiennent une partie relativement importante des protéines (Morsli, 1997).

Cependant les concentrations en protéines obtenues sont élevées par rapport à celles de la présure commerciale sous forme liquide, dont la concentration est de l'ordre de **1,23** mg/ml. (Dehove, 1990).

D'un point de vue enzymatique, les concentrations obtenues ne reflètent pas exactement le taux de protéase composant l'extrait enzymatique, car les protéines des extraits bruts ont, en plus des protéases recherchées, toutes les protéines non enzymatiques.

Comme le montre la **figure 6**, bien que la concentration en protéines de la présure soit inférieure, son activité coagulante est supérieure aux extraits enzymatiques du poulet et poisson.

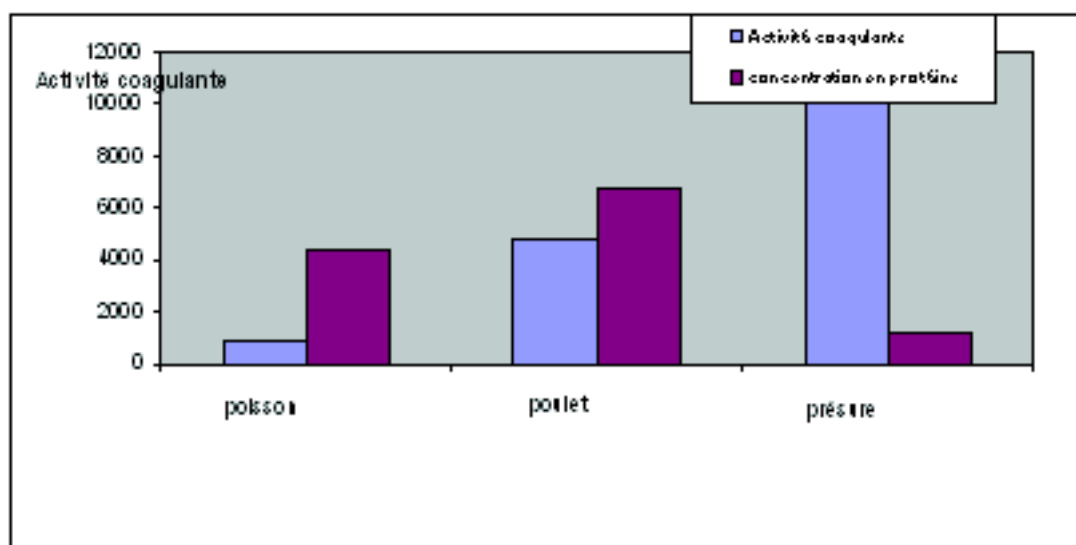


Fig. 6: Relation entre l'activité coagulante et la concentration en protéines des extraits enzymatiques

Gordin et al (1976) cités par Morsli (1997), ont obtenu une concentration du proventricule du poulet de 0,6 %. Kopelman et Cogan (1978) selon la même source ont trouvé une concentration en protéines de 0,9 % pour le même extrait.

La concentration que nous avons trouvée (1,1 %) est supérieure à celles indiquée par ces résultats mais légèrement inférieure à celles rapportée par Morsli (1997) qui est de 1,6 %.

Maachou (2004), a obtenu une concentration en protéines du poisson de **43,75 mg/ml** qui est très élevée par rapport à nos résultats. Ceci pourrait s'expliquer par des différences dans les étapes d'extraction de l'enzyme.

2- Caractérisation des extraits coagulants et de la présure:

L'influence de certains paramètres sur l'activité coagulante des extraits enzymatiques du poulet, du poisson et de la présure a été étudiée afin de déterminer d'une part les conditions optimales d'activité et d'autre part d'établir une comparaison entre les différentes enzymes.

Pour cette raison, les extraits ont été dilués préalablement dans le tampon acétate de sodium 0,1M de telle manière à obtenir un même temps de coagulation (en général, le temps de coagulation est compris entre 5 et 10 minutes).

2-1- Influence de la variation de la température du lait:

L'influence de la température du lait sur le temps de coagulation des l'extraits enzymatiques a été étudiée dans un intervalle de température de 30 à 70 °C. Les résultats indiqués par la **figure 7** font apparaître a priori que les extraits étudiés se comportent de façon analogue mais ayant des températures optimales différentes. En effet; la pepsine du poulet présente

une température semblable à celle de la présure, par contre l'optimum de l'extrait du poisson est légèrement décalé par rapport aux deux autres extraits enzymatiques.

Les variations du temps de coagulation illustrées par la même figure ont permis d'observer une augmentation progressive des activités relatives des extraits jusqu'à atteindre une zone de températures pour laquelle l'activité est maximale. L'optimum enregistré pour l'extrait enzymatique du poulet est le même que celui de la présure commerciale (45°C) mais il n'est que de 35°C pour l'extrait de poisson.

Aux températures inférieures à 45°C l'activité baisse; à 30°C elle n'est que de 50 % pour la présure commerciale et de 20% pour la pepsine du poulet. Concernant l'extrait enzymatique du poisson; à 30°C l'activité coagulante relative est de 70%. Elle est plus élevée comparée à celles des deux extraits. Au delà des températures optimales, on observe une baisse rapide des activités pour les trois extraits. Ceci résulte d'une dénaturation thermique de l'enzyme, phénomène bien connu. L'inactivation se

produit à 45°C pour l'extrait enzymatique du poisson avec une activité relative de 14,42%; Elle devient nulle à 50°C.

A 60°C, l'activité coagulante résiduelle pour l'extrait du poulet et la présure sont de l'ordre de 19% et 10% respectivement. Elle devient nulle à 70°C pour les deux extraits.

L'analyse de la variance par l'application du logiciel Genstat Ed. 9 a montré que l'activité coagulante varie significativement, non seulement en fonction de la température, mais aussi en fonction de la source d'enzyme. Cette différence a été confirmée par les valeurs des différences des moyennes qui étaient supérieures à la valeur de la LSD qui est de 12,88. Cependant pour les températures de 40, 45, 50, 55 et 60°C, l'extrait enzymatique du poulet et la présure se comportent de la même manière vu que la différence des moyennes est inférieure à la LSD ; Le coefficient de variation est de 14,42.

Les résultats obtenus par cette analyse statistique peuvent être résumés par les équations suivantes:

$$Ac \% (\text{Poulet}) = -575.3 + 30.79 X - 0.35 X^2$$

$$Ac \% (\text{Présure}) = (-575.3 + 30.79 X - 0.35 X^2) + (91.6 - 2.72 X + 0.02 X^2) = -191.1 - 13.63X - 0.16 X^2$$

$$Ac \% (\text{Poisson}) = (-575.3 + 30.79 X - 0.35 X^2) + (-806 + 52.43 X - 0.801 X^2) = -918.3 + 57.89X - 0,82 X^2$$

Il est souvent établi que la température optimale de l'activité de la présure se situe à 40-42°C. En dessous de 30°C, elle devient faible. L'inactivation thermique totale de l'enzyme se produit à 65°C. Morsli (1997) a montré un optimum d'activité à 40°C avec une inactivation à 60°C pour l'extrait du poulet. Ce qui est en concordance avec nos résultats.

Par contre, nos résultats ne confirment pas ceux obtenus par Maachou (2004) concernant l'extrait du poisson, qui ont indiqué une température optimale à 55°C et une inactivation totale à 60°C.

En général, les extraits enzymatiques d'origine animale ont une activité importante à des températures modérées et sont inactivées à des températures élevées. Ces dernières sont par contre favorables aux extraits enzymes d'origine végétale qui exhibent une activité forte: l'optimum d'activité obtenu pour l'extrait enzymatique du figuier a été enregistré à

85°C, puis baisse vers 95°C (Ball I.K., 2000). Pour l'artichaut, l'optimum est de 72°C et perd son activité à 80°C. (Morsli, 1997)

En revanche les extraits enzymatiques d'origine microbienne, se comportent de la même manière que ceux d'origine animale. En effet ces extraits sont thermosensibles et sont inactivés à des températures supérieures. Matoub (2000) a obtenu une inhibition totale de la coagulase extraite de *Bacillus subtilis* LC33 à partir de 85°C.

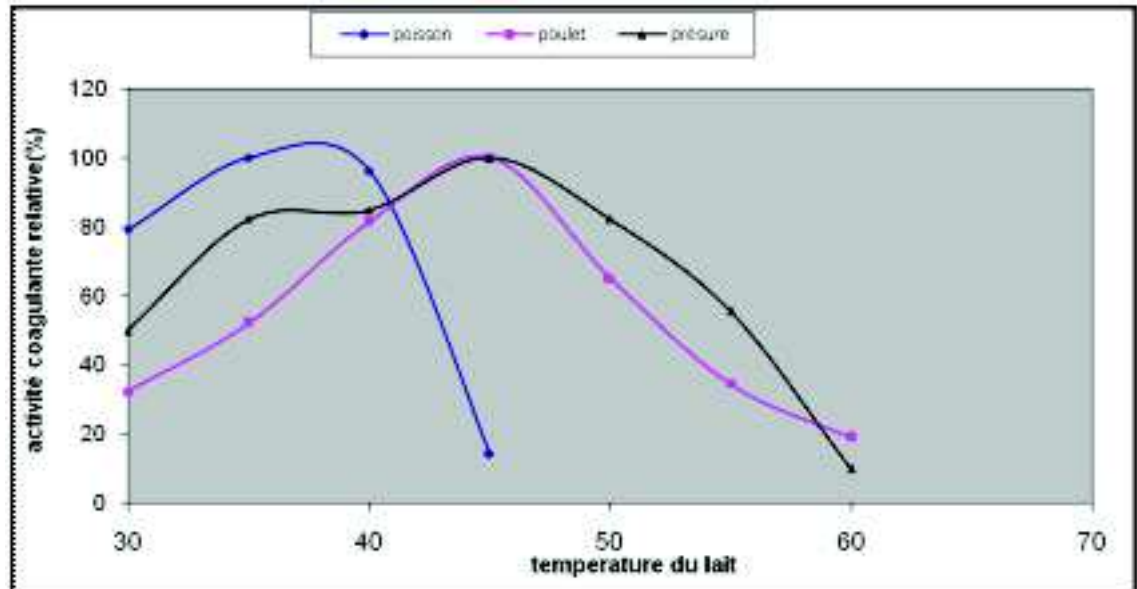


Fig. 7: Activité coagulante des extraits enzymatiques et de la présure en fonction de la température

2-2- Influence du pH du lait :

Tous les extraits enzymatiques sont sensibles aux variations du pH du milieu. Il existe une zone de pH pour laquelle l'activité enzymatique est maximale.

Les variations de l'activité coagulante des extraits enzymatiques en fonctions du pH du lait illustrées par la **figure 8** montrent que l'activité optimale est enregistrée à pH 5. On note ensuite une baisse progressive de l'activité au delà de ce pH qui est de l'ordre de 95,67%, 96,88% et 95,32% à pH de 6,5 pour l'extrait du poisson, celui du poulet et la présure respectivement. A pH 7 on observe une dénaturation totale pour les trois extraits enzymatiques.

Aux pH inférieurs à 5,5 les trois extraits enzymatiques présentent une activité relativement élevée. Cependant; l'activité de l'extrait du proventricule du poulet est plus élevée, suivie de la présure commerciale puis de l'extrait enzymatique du poisson.

Aux pH supérieurs à 5,5; les activités les plus élevées sont observées respectivement chez la présure, l'extrait du poisson et celui du poulet.

L'analyse de la variance a montré que l'activité coagulante varie significativement non seulement en fonction du pH mais aussi en fonction de la source d'enzyme. Cette différence a été confirmée par les valeurs des différences des moyennes qui étaient supérieures à la valeur de la LSD qui est de 1,49. Cependant pour le pH 6,5, l'extrait enzymatique du poisson

et la présure se comportent de la même manière vu que la différence des moyennes est inférieure au LSD. Le CV est de 4,1%.

En général, on peut dire que les pH optimums se trouvent en dessous du pH de 5,5.

Le logiciel GENSTAT.9 nous a permis d'obtenir les équations suivantes:

$$Ac (\text{Poulet}) = 1489 - 444,3X + 33,21 X^2$$

$$Ac (\text{Présure}) = 1489 - 444,3X + 33,21 X^2 + 3.33 = 1492,33 - 444,3X + 33,21 X^2$$

$$Ac (\text{Poisson}) = 1489 - 444,3X + 33,21 X^2 - 1.66 = 1487,34 - 444,3X + 33,21 X^2$$

Cependant les valeurs exactes du pH optimum d'activité de chaque extrait ne peuvent être mesurées avec précision dans le lait, substrat instable aux variations des paramètres étudiés (précipitation au pH isoélectrique de la caséine, changement physico-chimique aux températures élevées).

Selon Carnot et Martin (1980), le pH d'activité de la présure est compris entre 5,3 et 6,3. Son optimum d'action est à pH 5,8. Elle est inactivée à pH 7,5 et est dénaturée à pH 8.

La vitesse d'action de la présure et de la pepsine bovine croit en fonction de l'abaissement du pH. A pH 6,8, l'activité de ces deux enzymes est minimale.

Par ailleurs, Morsli (1997) indique un optimum d'activité aux pH 6,2 à 6,3 et une inactivation à pH 6,5. L'optimum de l'activité coagulante enregistré par Maachou (2004) se situe à pH 5,5. Elle chute à des pH supérieurs mais l'extrait enzymatique reste actif dans l'intervalle de pH 6 et 6,5, pour s'annuler complètement à pH 7. Selon la même source, l'activité relative à 6,5 pour la présure commerciale et l'extrait du poisson est respectivement de 18% et 5% ; dans nos conditions on observe des activités de 4,68% et 4,33% dans le même ordre.

Contrairement aux extraits enzymatiques d'origine animale, ceux d'origine végétale supportent des pH plus élevés (Morsli, 1997). Ces derniers gardent une bonne activité coagulante puisqu'on note l'optimum d'activité pour le latex du figuier et l'extrait de l'artichaut au pH 6,5 pour lequel l'activité de la présure et des deux extraits enzymatiques étudiés est très faible.

Haard et al., (1981) et Haard et al.(1982) cités par Maachou (2004), rapportent que le pH maximal de coagulation des protéases gastriques des poissons et des mammifères marins se situe dans l'intervalle de pH 6,4-6,6. Par ailleurs Matoub (2000) note un pH optimum de 6,2 pour la coagulase de *Bacillus subtilis* (LC33).

On remarque que toutes ces valeurs se rapprochent plus ou moins entre elles et de celles habituellement utilisées en technologie fromagère. Elles se situent dans ce cas dans l'intervalle de pH de 6,3 à 6,5; voisin d'un lait frais (pH 6,6) ou légèrement acidifié (6,4). Cependant, les valeurs optimales du pH demeurent variables en fonction de leur origine.

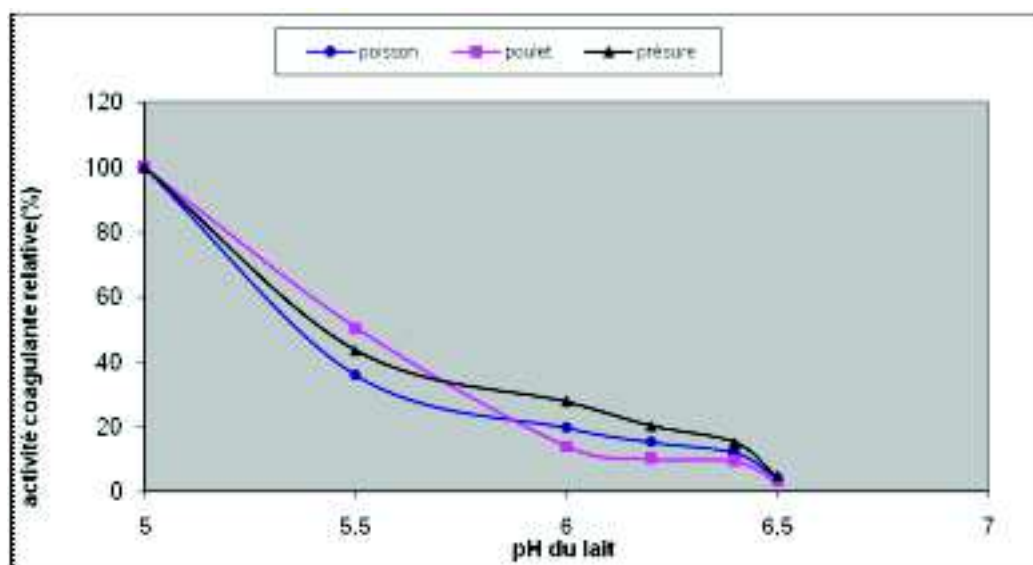


Fig. 8: Activité coagulante des extraits enzymatiques et de la présure en fonction du pH

2-3- Influence de la concentration en CaCl_2 :

La variation de la concentration en CaCl_2 du lait est obtenue par addition de doses croissantes d'une solution dans un intervalle de 0,01M à 0,1M de CaCl_2 dans le but de situer l'optimum de l'activité coagulante des extraits enzymatiques.

Les résultats de l'analyse de la variance ont montré que l'activité coagulante varie significativement non seulement en fonction de la concentration mais aussi en fonction de la source d'enzyme. Cette différence a été confirmée par les valeurs des différences des moyennes qui étaient supérieures à la valeur de la LSD qui est de 2,32. Le coefficient de variation est de 14,42.

Les résultats présentés dans la figure 9 montrent que l'activité coagulante des extraits enzymatiques augmente progressivement en fonction des concentrations croissantes en CaCl_2 dans l'intervalle de 0,01 M jusqu'à une certaine concentration où l'on note l'optimum : **0,04M** pour la pepsine du poisson et la présure commerciale, **0,05M** pour l'enzyme du poulet.

D'après Lenoir (1985), l'ion calcium est un activateur des protéases, il est donc indispensable pour réaliser la coagulation du lait en associant ainsi les micelles des caséines afin de former un gel plus ferme. Cette coagulation se produit par l'agrégation des molécules en présence du calcium après hydrolyse de la caséine K par la protéase coagulante.

Par ailleurs il a été observé une baisse de l'activité coagulante relative pour des concentrations supérieures à l'optimum. Selon Cheftel et Cheftel (1977), la baisse d'activité est due à l'effet inhibiteur du calcium; inhibition qui peut être expliquée en partie par la précipitation d'une partie des caséines du lait.

Aux concentrations élevées, et plus exactement à la concentration de 0,07 M pour la pepsine du poulet et la présure commerciale et 0,08 M pour l'extrait enzymatique du poisson, on remarque la formation d'un plateau qui résulterait d'une forte précipitation des caséines.

Nous pouvons résumer les résultats précédents sous forme d'équations :

$$Ac \%(Poulet) = 49.80 + (10.55 - 181.8 X) / (1 - 37.33 X + 358.5 X^2)$$

$$Ac \%(Présure) = 38.05 + (10.02 + 130.X) / (1 - 40.13 X + 533.8 X^2)$$

$$Ac \%(Poisson) = 53.29 + (3 - 18.4 X) / (1 - 46.59 X + 570.3 X^2)$$

Avec un CV estimé à 87.3

Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par Morsli (1997) qui enregistre une activité à 0,01 M de l'ordre de 60 %, alors que les nôtres sont respectivement de 57,72% et 51,29% pour l'extrait du poulet et la présure. Par contre l'optimum qu'il a obtenu est de 0,02M pour la présure et 0,023 M pour l'extrait du poulet. Benali (2001) dans une étude similaire a cependant obtenu un optimum confirmant le nôtre (0,05 M pour l'extrait enzymatique du poulet).

Par ailleurs, nos résultats ne confirment pas ceux obtenus par Maachou (2004) qui note une activité coagulante assez lente de l'extrait du poisson dans l'intervalle 0,01 M à 0,06 M avec un optimum à 0,08 M.

En général, les extraits enzymatiques d'origine animale sont moins sensibles à la baisse de la concentration en $CaCl_2$ du lait, contrairement à ceux d'origine végétale qui nécessitent une concentration plus importante (Morsli, 1997).

L'addition du chlorure de calcium au lait est une pratique courante en fromagerie ; les concentrations habituellement utilisées en technologie fromagère se situant dans l'intervalle de 0,01 à 0,02 M de $CaCl_2$ pour la présure.

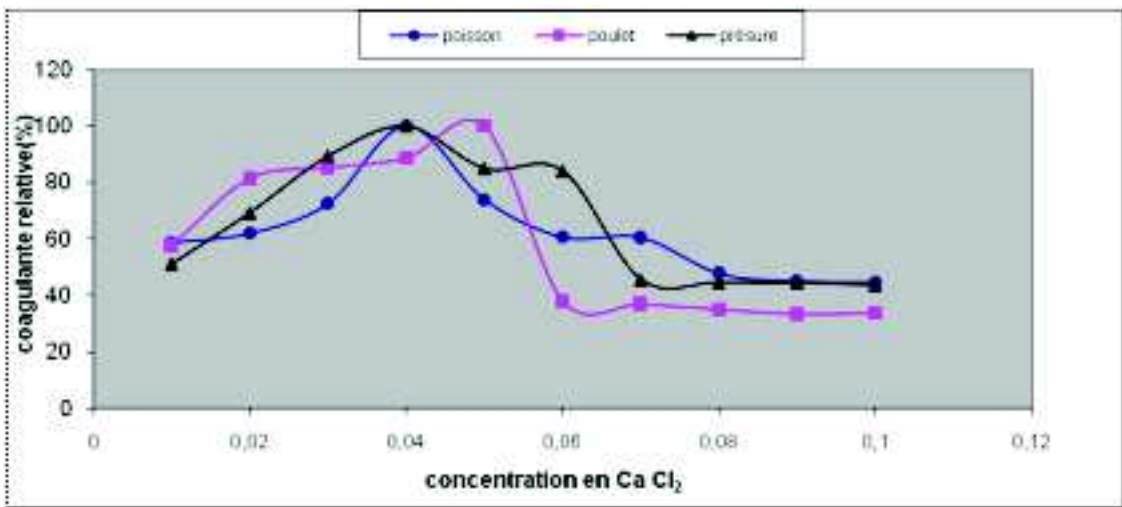


Fig. 9: Activité coagulante des extraits enzymatiques et de la présure en fonction de la concentration en $CaCl_2$

2-4- Influence de la concentration en extrait enzymatique :

L'effet de la concentration en extrait enzymatique sur l'activité coagulante est défini en faisant varier la quantité d'extrait de 20 à 200 μ l.

Les résultats présentés dans la figure 10 indiquent une augmentation de l'activité coagulante jusqu'à atteindre un maximum pour une concentration de 200 µl correspondant aux concentrations de 0,882µg/µl, 1,36µg/µl, et 0,246 µg/µl pour l'extrait du poisson, celui du poulet et la présure respectivement.

Selon Garnot et Martin (1979), l'activité de la présure croit linéairement en fonction de sa concentration lorsque celle-ci est faible, Ceci confirme nos résultats concernant le comportement de la présure.

La règle de proportionnalité entre la dose d'enzyme et l'inverse du temps de coagulation est confirmée pour les trois types d'enzymes. Cependant on remarque une légère différence au niveau de l'activité relative; l'activité de l'extrait enzymatique du poisson est plus faible comparée à celui de la présure dans un intervalle de concentration de 20 à 120 µl. La pepsine du poulet quant à elle, se conduit de la même façon que la présure sauf que son activité est un peu plus inférieure dans le même intervalle.

Au delà de cet intervalle; l'activité des deux extraits enzymatiques étudiées dépasse celle de la présure jusqu'à atteindre le maximum (bien que la pepsine du poulet se conduise de la même façon que celle du poisson, son activité est plus importante).

Cependant on ne note pas de palier correspondant à une concentration saturante en extrait enzymatiques dans l'intervalle testé comme l'a signalé Matoub L. (2000) dans une étude similaire réalisée sur la coagulase d'origine microbienne *Bacillus subtilis* (LC33) .

Les équations suivantes obtenues par le logiciel GENSTAT.9, nous permettent de résumer les résultats comme suit :

$$Ac\% (\text{Poulet}) = 9.28 + 0.5086 X - 0.000187 X^2$$

$$Ac\% (\text{Présure}) = 9.28 + 0.5086 X - 0.000187 X^2 + 2.48 = 11.76 + 0.5086 X - 0.000187 X^2$$

$$Ac\% (\text{Poisson}) = 9.28 + 0.5086 X - 0.000187 X^2 - 4.87 = 4.41 + 0.5086 X - 0.000187 X^2$$

Les résultats de l'analyse de la variance indiquent que l'activité coagulante varie significativement non seulement en fonction de la concentration mais aussi en fonction de la source d'enzyme. Cette différence confirme ce qui a été déjà dit par le fait que les valeurs des différences des moyennes sont supérieures à la valeur de la LSD qui est de 2,41. Cependant, aux concentrations 20 et 160 µl, l'extrait enzymatique du poulet se comporte de la même manière vu que la différence est inférieure à la LSD ; Le coefficient de variation est de 7,2.

Nos résultats confirment une partie des résultats obtenus par Morsli A.(1997) concernant l'extrait enzymatique du poulet et la présure commerciale. Selon la même source; l'activité coagulante des extraits d'origine animale et de ceux d'origine végétale se comportent différemment en fonction de leur concentration en solution.

En effet; selon la même source, l'activité de l'extrait enzymatique du figuier monte très rapidement à des concentrations faibles, puis baisse et tend vers une limite pour des concentrations plus élevées. Par contre, l'activité de l'extrait de l'artichaut ne débute qu'à partir d'une dose plus forte et augmente de façon très lente en fonction de la concentration.

En ce qui concerne l'extrait du poisson, nos résultats sont similaires avec ceux de Maachou (2004) qui signale une faible activité de la pepsine du poisson à de faibles concentrations puis croit d'une façon presque linéaire.

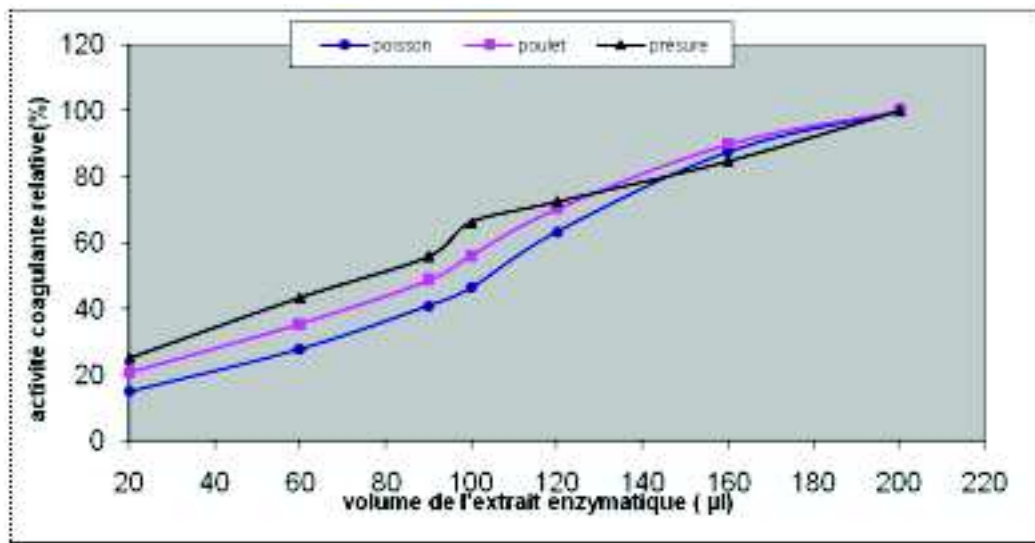


Fig. 10: Influence du volume des extraits enzymatiques sur l'activité coagulante des extraits enzymatiques et de la présure

2-5- Etude de la stabilité :

2-5-1-Stabilité à la température :

La stabilité thermique de l'extrait enzymatique a été étudiée en maintenant les extraits à des températures variant de 30°C à 70°C pendant 40 minutes. Après refroidissement, l'activité coagulante des deux préparations est déterminée dans les conditions standards.

Les résultats de l'analyse de la variance ont montré que l'activité coagulante varie significativement non seulement en fonction de la température mais aussi en fonction de la source d'enzyme. Cette différence a été confirmée par les valeurs des différences des moyennes qui étaient supérieures à la valeur de la LSD qui est de 7,55. Cependant, aux températures de 30 et 50°C, les extraits enzymatiques du poulet et celui du poisson se comportent de la même manière, la température de 35°C indique que l'extrait enzymatique du poulet se comporte de la même manière que la présure, vu que les différences sont inférieures à la LSD ; Le coefficient de variation est de 8,17.

La figure 11 présente les résultats obtenus. Globalement, les trois extraits enzymatiques étudiés sont sensibles aux températures élevées. En effet; elles perdent progressivement leurs activités avec l'augmentation de la température. Elles ne présentent pas une bonne stabilité.

A 30°C, tous les extraits enzymatiques activent. L'activité enregistrée est de 63,64 % et de 53,76 % pour l'extrait du poisson et celui du poulet respectivement. Par contre il est important de signaler qu'à cette température, l'activité de la présure est à son maximum. La stabilité de cette dernière est faible puisque plus on augmente la température et plus l'activité résiduelle diminue jusqu'à ce qu'elle atteigne 27,76 % à 50°C; l'inactivation ayant lieu à 55°C.

Les extraits du poulet et du poisson ont une évolution de leurs activités qui se rapproche, puisqu'à la température de 30°C, elles sont de 53,76 % et 63,64 % puis atteignent 100% à 45°C. Au delà de cette température, elles baissent jusqu'à dénaturation à 55°C pour l'extrait du poisson et à 75°C pour celui du poulet.

Les résultats obtenus peuvent être résumés par les équations suivantes:

$$Ac (\text{Poulet}) = -1099 + 76.1 X - 1.55 X^2 + 0.013 X^3$$

$$Ac (\text{Présure}) = (-1099 + 76.1 X - 1.55 X^2 + 0.013 X^3) + (104 + 13.8 X - 1.05 X^2 + 0.0125 X^3)$$

$$=-995 + 94.4 X - 2.60 X^2 + 0.022 X^3$$

$$Ac(\text{Poisson}) = (-1099 + 76.1 X - 1.55 X^2 + 0.013 X^3) + (4225 - 323.2 X + 8.08 X^2 - 0.066 X^3)$$

$$=3126 - 247.1 X + 6.523 X^2 - 0.05 X^3$$

Selon Maachou (2004), l'extrait du poisson (limon) indique un optimum à 55°C, puis chute brutalement pour s'annuler complètement à 60°C.

Benali (2001), montre que l'extrait du poulet est relativement stable pour des températures inférieures à 60°C. L'inactivation thermique a lieu vers 60°C et elle est totale à 70°C.

Selon les travaux réalisés antérieurement, tous les extraits enzymatiques sont sensibles aux températures élevées. Ainsi, Matoub L.(2000) indique une stabilité thermique de *Bacillus subtilis* (LC33) comprise entre 30°C et 50°C. Par ailleurs Morsli A.(1997) montre que les extraits enzymatiques d'origine végétale (artichaut, figuier) sont plus stables à des températures plus élevées.

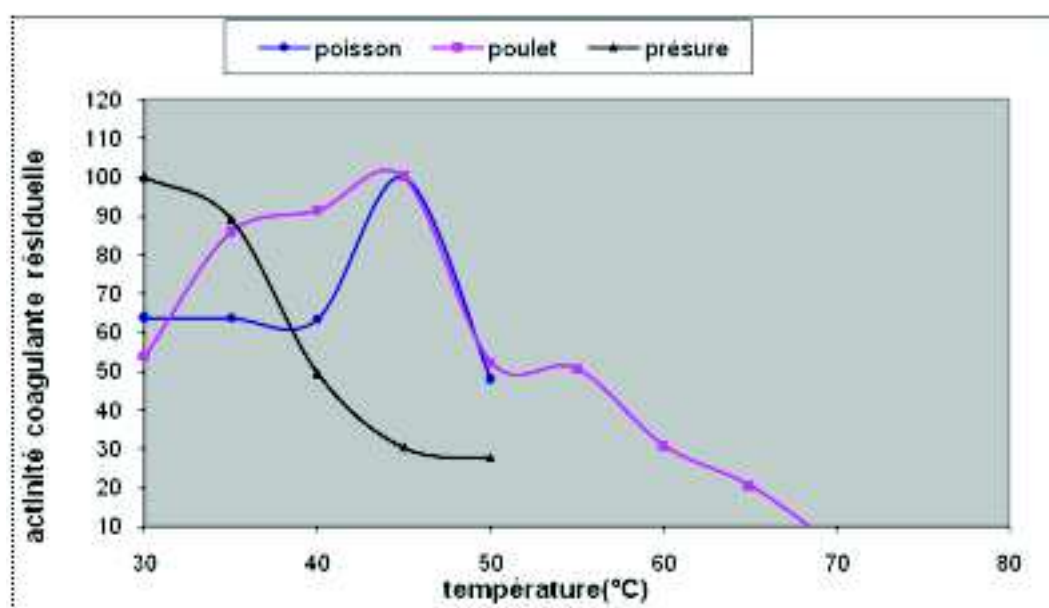


Fig. 11: Etude de la stabilité thermique des extraits coagulants et de la présure

2-5-2-Stabilité au pH :

La stabilité vis à vis du pH est déterminée en mesurant l'activité résiduelle des extraits enzymatiques mis dans des solutions tampons à différents pH variant de 2 à 8 à +4°C pendant 24 heures. Les autres paramètres sont fixés selon les conditions standards.

D'après les résultats présentés dans la figure 12, nous constatons une très bonne activité de l'extrait enzymatique du poulet dans l'intervalle de pH 3-4 - 5-6 puisque l'activité résiduelle enregistrée est de : 96%, 96,73%, 100 %, 93,67% respectivement.

Au delà, on note une baisse progressive de l'activité, mais l'extrait enzymatique conserve tout de même une assez bonne activité (73 % et 70% à pH 7 et 8). En revanche; à pH 2, l'activité n'est que de 12,92%, ce qui indique que l'enzyme du poulet est dénaturée à pH trop acide.

A ces mêmes pH, l'extrait du poisson n'est pas dénaturé. Son activité résiduelle est de 62% et 68% pour les pH 2 et 3. On enregistre ensuite une augmentation de l'activité où on note l'optimum à pH 5, puis une baisse progressive à pH 7 mais elle reste relativement élevée (73,63%). Par contre à pH 8, l'extrait est dénaturé.

La présure quant à elle, ne présente pas une grande stabilité à pH acide puisqu'à pH 2; l'activité n'est que de 9,66 %. Elle augmente ensuite légèrement à 34 % à pH 3, mais elle reste relativement faible. Dans l'intervalle de pH 4 – 6 l'extrait enzymatique est très stable avec un optimum enregistré à pH 6; l'inactivation de l'extrait ayant lieu à pH 7 et la dénaturation à pH 8.

Les résultats obtenus peuvent être résumés par les équations suivantes:

$$Ac (\text{Poulet}) = -209.9 + 171.9 X - 31.17 X^2 + 1.73 X^3$$

$$Ac (\text{Présure}) = (-209.9 + 171.9X - 31.17 X^2 + 1.73 X^3) + (326.5 - 280.7 X - 67.82X^2 - 4.981 X^3)$$

$$= 116.6 - 108.8 X + 36.65 X^2 - 3.25 X^3$$

$$Ac (\text{Poisson}) = (-209.9 + 171.9X - 31.17 X^2 + 1.73 X^3) + (190.4 - 127.2X + 25.29X^2 - 1.557 X^3)$$

$$= -19.5 + 44.7 X - 5.88 X^2 + 0.17 X^3$$

Selon Benali (2001), l'activité résiduelle de l'extrait du poulet est plus importante dans l'intervalle de pH 2 à 5,5. Au delà, une légère baisse est enregistrée puis elle devient plus prononcée à pH 8.

Garnot et Martin (1979) indiquent que la présure est stable à pH acides de 5,3 à 6,3, inactive à pH basique 7,5 et dénaturée à pH 8.

Maachou (2004) enregistre une activité maximale à pH 2,2, puis une baisse importante avec l'augmentation du pH. La stabilité de l'extrait enzymatique du poisson est enregistrée dans l'intervalle de pH 5 et 5,2, puis est dénaturée à pH 7. Ces résultats confirment ceux qu'on a obtenus.

Gildberg (1988) cité par Maachou (2004), rapporte que les pepsines des poissons possèdent des pH optimum plus élevés et sont moins stables dans les milieux de forte acidité que les pepsines des mammifères.

Fernani (2002) enregistre une stabilité de 100 % dans l'intervalle compris entre 4,5 et 5,5 puis une baisse de stabilité à 30 % à pH 8,5 et 9,5 pour l'extrait enzymatique du melon. Maatoub L.(2000), a montré un pH de stabilité maximale de l'ordre de 6,4 pour le *Bacillus subtilis* (LC33), les pH acides 4 et 5 dénaturent fortement cette souche.

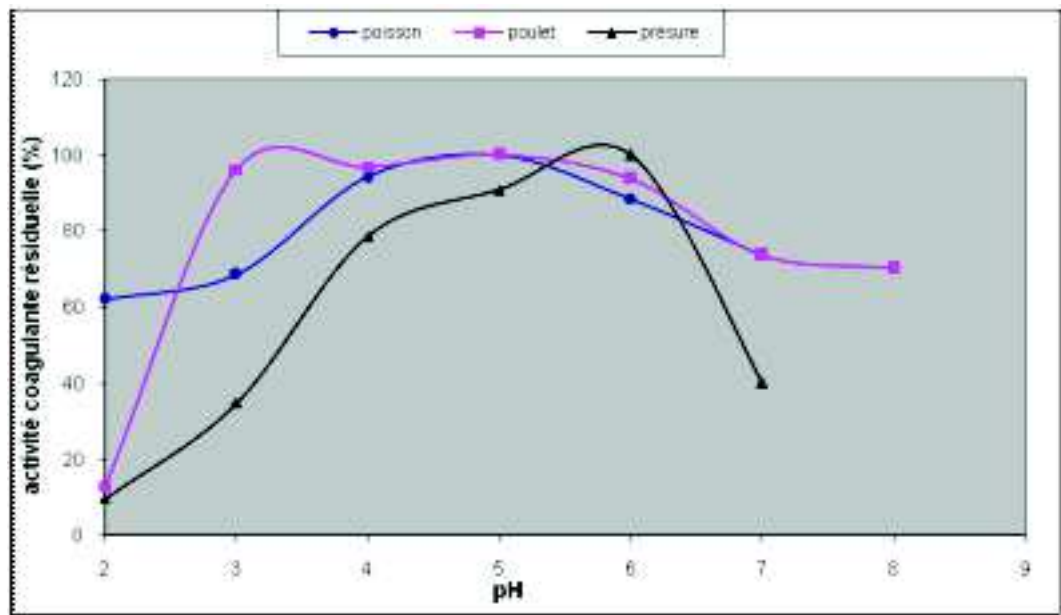


Fig. 12: Stabilité des extraits enzymatiques et de la présure vis-à-vis du pH

2-5-3-Stabilité au cours de la conservation à + 4 °C et à – 18 °C

L'estimation de la stabilité au cours de la conservation a été déterminée par l'entreposage des extraits enzymatiques à +4°C et –18°C pendant trois mois, où l'activité coagulante résiduelle est évaluée périodiquement chaque semaine.

Les résultats présentés dans les figures 13 et 14 montrent une légère baisse de 20 % de l'activité résiduelle des extraits enzymatiques conservées à –18 °C.

En effet, les extraits conservent une activité résiduelle relativement élevée (92 %, 85 %, 100 % pour l'extrait du poisson, celui du poulet et la présure respectivement) après la quatrième semaine. L'activité commence ensuite à baisser, mais elle reste supérieure à 80 %, 60 % et 72% vers la fin de la conservation respectivement pour l'extrait du poisson, celui du poulet et la présure.

Benali (2001) enregistre une activité résiduelle de la pepsine du poulet similaire à la notre (60 % après trois mois de conservation). Par contre Morsli (1997), signale une perte d'activité de l'ordre de 5 % à 10 % pour le même extrait enzymatique. Pour la même période, la présure traditionnelle reste stable.

Maachou (2004) indique quant à elle, une baisse de l'activité coagulante (50 %) au bout de 45 jours et qui continue à baisser au delà pour l'extrait du poisson.

La coagulase *Bacillus subtilis* (LC33) étudiée par Matoub (2000), et l'enzyme extraite de la fleur de cardon étudiée par Mouzali (2001) ont également montré une bonne conservation dans les mêmes conditions, selon les résultats qu'ils ont obtenus.

Cependant, la baisse de l'activité résiduelle des extraits coagulants au cours de la conservation à +4 °C est plus importante. Après le premiers mois, les extraits enzymatiques gardent 62 %, 40 % et 66 % de leurs activités résiduelles pour le poisson, le poulet et la présure respectivement. Cependant; la perte totale d'activité n'est enregistré que pour l'extrait enzymatique du poisson au bout de la septième semaine, les deux autres extraits gardent leurs activités quoique très faibles : de l'ordre de 6,46 % et 16 %. En général, les

protéases étudiées peuvent être conservées plus de trois (03) mois à l'état congelé et moins d'un (01) mois en réfrigération.

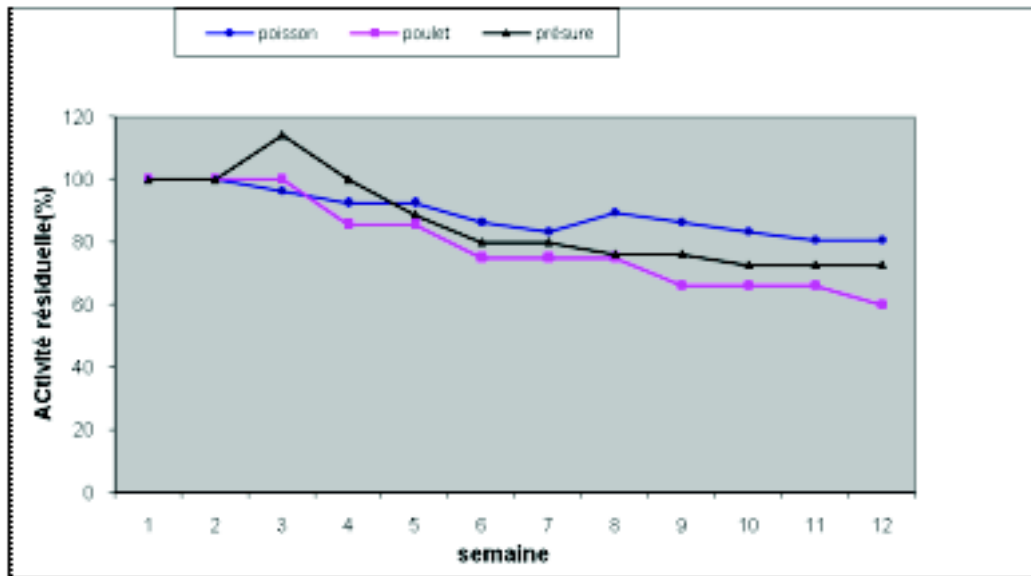


Fig. 13: Stabilité des extraits enzymatiques et de la présure au cours de la onservation à -18°C

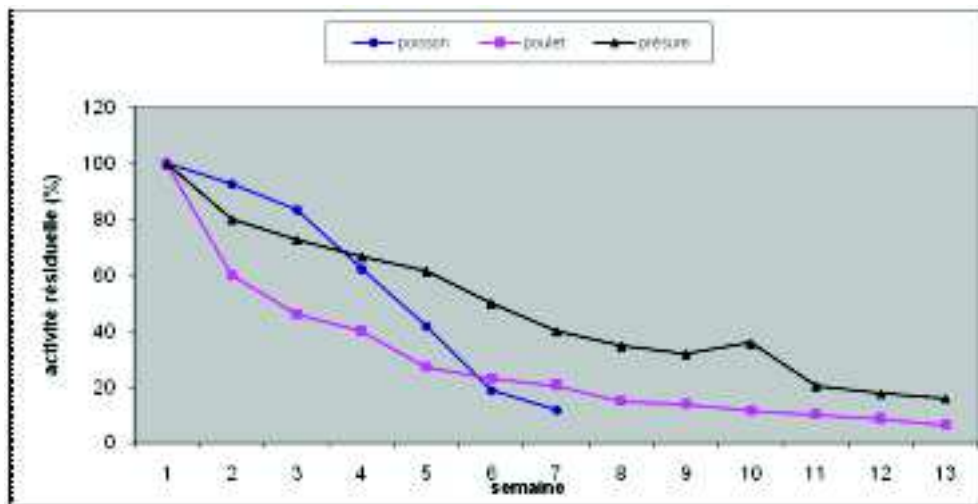


Fig. 14: Stabilité des extraits enzymatiques et de la présure au cours de la conservation à +4°C

3- Etudes préliminaires à la fabrication fromagère :

3-1- Temps de coagulation des différents laits coagulés par les extraits enzymatiques étudiés et la présure

Le tableau suivant résume les différents temps de coagulation obtenus lors des essais de coagulation des deux types de lait (Chèvre et brebis) avec les différents extraits enzymatiques étudiés.

Tableau X : Temps de coagulation exprimé en seconde des deux laits étudiés coagulés avec les extraits enzymatiques du poulet, du poisson et de la présure

	Brebis	Chèvre
Présure	12	19
Poulet	17	21
Poisson	28	35

Ces résultats confirment les résultats déjà obtenus précédemment à savoir que pour un même lait, la présure enregistre un temps de coagulation inférieur par rapport à l'extrait enzymatique du poulet, le temps de coagulation de ce dernier est inférieur à celui du poisson.

Nous pouvons remarquer aussi qu'il y a une différence du temps de coagulation entre les différents types de lait. En effet, on note que les temps de coagulation enregistrés pour le lait de brebis est inférieur à celui du lait de chèvre. Remeuf (1991), explique d'une part cette différence par l'existence d'une relation entre le temps de coagulation et la concentration en caséine totale (44,6% pour le lait de brebis et 26% pour le lait de chèvre), le temps de coagulation diminue avec l'augmentation du taux de la caséine β qui est d'une valeur de 36 % des caséines totales pour le lait de brebis, pourcentage supérieur à celui du lait de chèvre.

D'autre part, Remeuf et al. (1989) attribuent ces différences aux concentrations en calcium. En effet, le temps de coagulation diminue lorsque les concentrations de cet élément sont élevées, cas des présents laits où les taux de Calcium totaux sont de 162-259 mg/100g pour le lait de brebis et de 102-203 mg/100g pour le lait de chèvre.

Le temps de coagulation n'est pas influencé par le traitement thermique que subissent les laits. En effet, d'après Remeuf et Raynal (1998), les laits de brebis et de chèvre ne subissent qu'une faible augmentation du temps de prise sous l'effet du chauffage qui apparaît efficacement corrigée par l'apport de calcium.

L'établissement de ponts calciques inters micellaires est probablement favorisé par l'augmentation de la concentration en ions Ca^{++} .

3-2- Effet des traitements thermiques sur la teneur en calcium

Très souvent, le lait subit, au cours de la fabrication, un traitement thermique dans le but de réduire la charge microbienne, ce qui engendre des modifications structurales des micelles de caséine entraînant ainsi la diminution de l'aptitude à la coagulation par emprésurage des laits.

La conséquence majeure du chauffage est la dénaturation des protéines solubles. La β -lactoglobuline dénaturée se fixe à la surface des micelles, par l'établissement d'un pont disulfure avec la caséine k (Dalgleish, 1990). Il en résulte une réduction de l'accessibilité de la chymosine au site de l'hydrolyse de la caséine k, mais aussi le ralentissement de l'agrégation des micelles, aboutissant à la formation d'un gel mou (VAN HOOYDONK et al., 1986).

Pour pallier au manque de fermeté des gels présure issus des laits chauffés, la concentration protéique (caséines) peut être augmentée. Selon Remeuf (1991), la fermeté des gels est corrélée positivement avec la concentration en protéines.

Il est établi également que le chauffage engendre une précipitation du calcium soluble sous forme de phosphate de calcium (Pouliot et al., 1989) dont la nature ne serait pas identique à celle du phosphate de calcium colloïdal initialement présent dans la micelle (VAN HOOYDONK et al., 1987). Or il a été montré que les deux formes de calcium (soluble et colloïdal) jouent un rôle dans la coagulation présure et par conséquent toute modification de l'équilibre calcique peut nuire à la formation et au raffermissement du gel (Zoon et al., 1988).

Par effet de réversibilité lors du refroidissement des laits chauffés (Pouliot et al., 1989), une fraction du calcium colloïdal se solubilise. Pour des intensités de chauffage modérées, à une température inférieure à 90°C, la restauration des équilibres calciques est quasiment complète après quelques heures de maintien à basse température (Holt, 1995).

En pratique, la concentration en calcium soluble peut être artificiellement augmentée par l'ajout de chlorure de calcium (Marshall, 1986).

Néanmoins, Les effets du chauffage sont moins marqués pour les laits de chèvre et de brebis que pour le lait de vache (Raynal et Rameuf, 1998).

Dans cette étude, nous avons comparé les comportements des laits de brebis et de chèvre chauffés à 65 et 80°C pendant 10 minutes, et traités par l'ajout de calcium. Nous avons également évalué le degré de réversibilité des modifications liées au chauffage lors d'un stockage à 25°C pendant 24h.

3-2-1- Les Perte en Calcium soluble

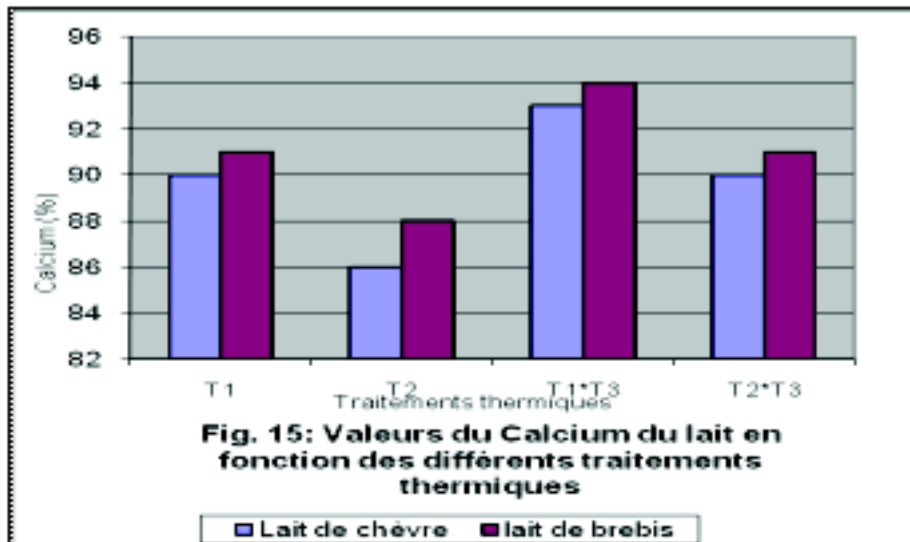


Fig. 15: Valeurs du Calcium du lait en fonction de différents traitements thermiques

T1 : Traitement thermique à 65°C

T2 : Traitement thermique à 80°C

T3 : Période de maintien à 25°C

Il semblerait d'après nos résultats, que le traitement thermique affecte la teneur en Calcium, puisque après un traitement de 65°C on note une perte de 10% et 9% pour le lait

de chèvre et de brebis respectivement. Une perte respective de 14% et 12% est enregistrée pour les mêmes laits à un traitement thermique de 80°C.

Nos pouvons aussi remarquer qu'une période de maintien à 25°C ne permet pas de compenser complètement la modification des équilibres calciques des laits due aux traitements thermiques. En effet, la restitution du Ca ne représente que 93% et 94 % pour les laits traités à 65°C et 90%, 91% pour les laits traités à 80°C pour les laits de chèvre et de brebis respectivement.

Or, Un maintien des laits à 25°C pendant 24h, après un traitement thermique, a comme effet premier de restaurer partiellement les équilibres calciques par solubilisation du calcium micellaire. Selon Mahaia et El Khadragy (1998), les modifications des équilibres salins induits par un chauffage modéré du lait (inférieur à 90°C) présentent des réversibilités quasi-totales au bout de plusieurs heures de conservation à température ambiante. De ce fait, nos résultats diffèrent par rapport à la littérature, la réversibilité est donc partielle.

Tarodo de la Fuente et al. (1999), rapportent qu'une conservation à 25°C des laits chauffés a un effet négatif sur le temps de prise, donc la vitesse de raffermissement et la fermeté des gels par voie de conséquence. Le phosphate de calcium micellaire jouerait un rôle direct dans la formation de ponts entre micelles au sein du gel présure. Il pourrait être responsable du maintien d'une structure micellaire rigide nécessaire à l'établissement des liaisons des différentes natures hydrophobes en l'occurrence, qui conduisent à la gélification par voie enzymatique. On peut concevoir ainsi que la dissociation d'une partie du phosphate de calcium natif conduit à un ralentissement des cinétiques d'agrégation et de formation des gels.

3-2-2- Correction de la concentration du Calcium par addition du CaCl₂:

L'addition de la dose de 0,05 g/l aux laits traités préalablement à 65°C pendant 10 minutes permet d'obtenir une concentration en calcium soluble légèrement inférieure par rapport à la référence. En effet, le taux de calcium est de 96% et 98%, soit 6% et 7% de calcium restitué pour les laits de chèvre et de brebis respectivement. L'addition de 0,1 g/l de Calcium permet aux laits qui ont subi le même traitement thermique de restituer 8% et 10% de calcium perdu lors du chauffage. Une combinaison de traitement thermique de 80°C avec une correction de 0,05 g/l permet une augmentation de 7% et 9% de calcium contre une augmentation de 10% et 12% pour une correction de 0,1 g/l pour le lait e chèvre et de brebis respectivement.

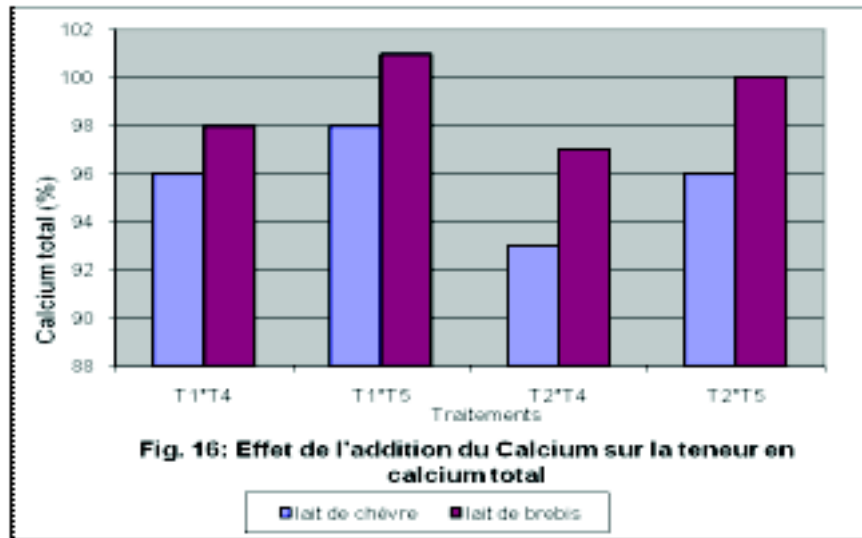


Fig. 16: Effet de l'addition du Calcium sur la teneur en Calcium total

T1 : Traitement thermique à 65°C

T2 : Traitement thermique à 80°C

T4 : Addition de 0,05g/l de CaCl₂

T5 : Addition de 0,1g/l de CaCl₂

En général, l'effet le plus marqué de l'addition de calcium est observé sur le lait de brebis pour les 02 intensités.

En ce qui concerne le lait de chèvre traité à 65°C, la dose de 0,1g/l semble être adéquate par rapport à celle de 0,05 g/l. En effet, le lait retrouve une concentration en calcium soluble pratiquement identique à celle du lait frais. Pour celui de brebis, le traitement additionnel qui semble être approprié au traitement de 80°C est de 0,1 g/l.

L'addition de la dose de 0,05 g/l aux laits traités préalablement à 65°C pendant 10 minutes permet d'obtenir une concentration en calcium soluble légèrement inférieure par rapport à la référence. En effet, le taux de calcium est de 96% et 98%, soit 6% et 7% de calcium restitué pour les laits de chèvre et de brebis respectivement. L'addition de 0,1 g/l de Calcium permet aux laits qui ont subi le même traitement thermique de restituer 8% et 10% de calcium perdu lors du chauffage. Une combinaison de traitement thermique de 80°C avec une correction de 0,05 g/l permet une augmentation de 7% et 9% de calcium contre une augmentation de 10% et 12% pour une correction de 0,1 g/l pour le lait de chèvre et de brebis respectivement.

Nous pouvons constater que l'ajout de chlorure de calcium aux laits chauffés augmente leur concentration en calcium soluble. Nous pouvons aussi remarquer que la dose de calcium n'est pas directement proportionnelle à la teneur en calcium soluble du lait.

Selon Raynal et Rameuf (2001), l'addition de calcium raccourcit les temps de prise mais à des degrés divers; pour les laits caprin et ovin chauffés, il est plus limité et efficacement corrigée par addition de calcium. L'addition de calcium permet aussi d'accroître la fermeté des gels en général ; cette fermeté demeure largement inférieure à celle d'un gel issu de lait cru.

4- Etude des laits et des fromages de chèvre et de brebis

4.1. Analyses physico-chimiques des laits et des fromages

4.1.1. Les laits

A première vue, le tableau XI, récapitulatif de la composition des laits utilisés indique un profil physico-chimique qui se rapproche de la composition décrite par la bibliographie (Tableau 4).

Analyses	Type de lait	Résultats	Normes (FAO, 1995)
pH	Chèvre	6,60 ± 0,02	6,45-6,60
	Brebis	6,81 ± 0,031	6,50-6,85
Acidité	Chèvre	16,33 ± 0,542	14-18°D
	Brebis	21,83 ± 0,626	22-25°D
Densité	Chèvre	1030,54 ± 0,260	1027-1035
	Brebis	1038,14 ± 0,3	1034-1039
Matière grasse	Chèvre	33,88 ± 0,441	43 g/l
	Brebis	37,56 ± 0,510	75 g/l
Extrait Sec Total	Chèvre	121,17 ± 0,763	136-140 g/l
	Brebis	148,82 ± 0,881	193 g/l
Protéine totale	Chèvre	33,03 ± 0,250	28-35 g/l
	Brebis	56,81 ± 0,289	55,15 g/l
Calcium	Chèvre	1,34 ± 0,085	1,35 mg/l
	Brebis	1,92 ± 0,098	2 mg/l
Phosphore	Chèvre	0,91 ± 0,014	0,92 mg/l
	Brebis	1,21 ± 0,016	1,18 mg/l

Tableau XI : Résultats des analyses physico-chimiques des laits étudiés

Les histogrammes suivants illustrent la composition des différents laits utilisés, les lactosérums ainsi que les fromages obtenus.

- pH et acidité :

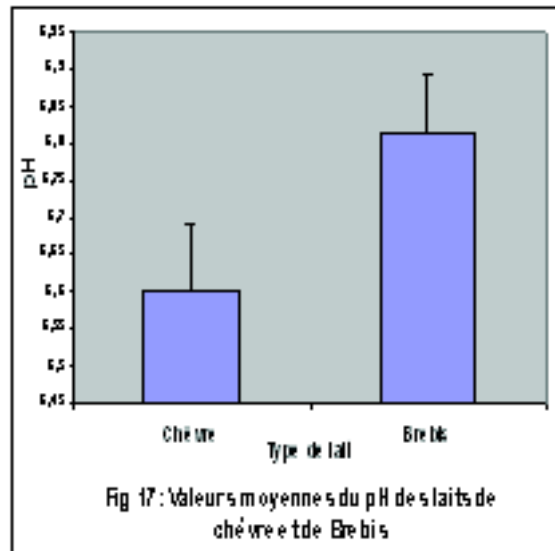


Fig. 17: Valeurs moyennes de pH et de l'Acidité des laits de chèvre et de Brebis

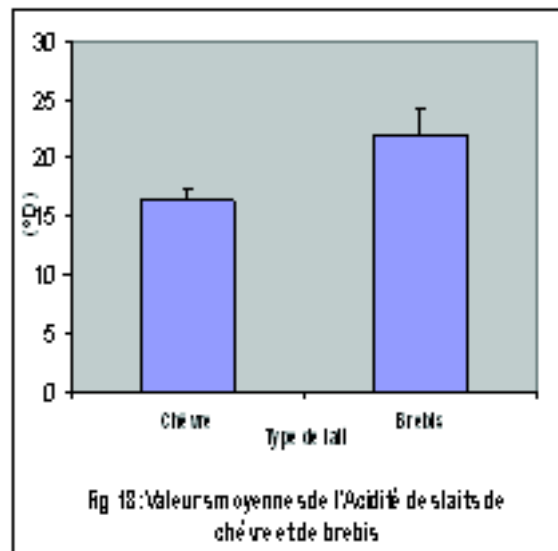


Fig. 18: Valeurs moyennes de l'Acidité des laits de chèvre et de Brebis

L'acidité du lait est la résultante de l'acidité naturelle du lait et de l'acidité développée (acide lactique et acides provenant de la dégradation microbienne du lactose dans le lait (Alais, 1984).

A première vue, nous pouvons constater, d'après les histogrammes (fig. 17 et 18), qu'il y a une différence entre les valeurs du pH et la densité des laits de chèvre et de brebis. En effet les valeurs moyennes du pH des laits sont de $6,60 \pm 0,02$ et de $6,81 \pm 0,031$; les valeurs de l'acidité quant à elles sont de $16,33 \pm 0,542^{\circ}\text{D}$ et de $21,83 \pm 0,626^{\circ}\text{D}$ respectivement pour les laits de chèvre et de brebis, ce qui rejoint les valeurs rapportées par la FAO (1995), qui varient de 6,45- 6,60 et 6,50- 6,85 pour les pH et de 14 -18 et 22 - 25 °D pour l'acidité.

Lemens (1987) et Pirisi (1994), rapportent des valeurs du pH entre 6.5 et 6.8 pour lait de brebis, et 6,3 à 6,7 pour le lait de chèvre.

Singh (1972) explique ces variations par le stade de lactation. En effet, le pH diminue vers la fin du cycle suite à l'augmentation du taux des caséines et des phosphates.

La mesure de l'acidité nous permet de juger l'état d'altération du lait, cependant, le mouillage du lait provoque une diminution de son acidité qui se situe normalement entre 15 et 18°D pour les laits frais (Hamama, 2002).

Lors de l'analyse de la variance, la différence entre les moyennes a donné une valeur supérieure à la LSD confirmant ainsi la différence significative entre les laits utilisés. Le coefficient de variation est quant à lui de 1,4% pour le pH et de 10% pour l'acidité, valeurs jugées très intéressantes, reflétant la répétitivité des essais.

Densité:

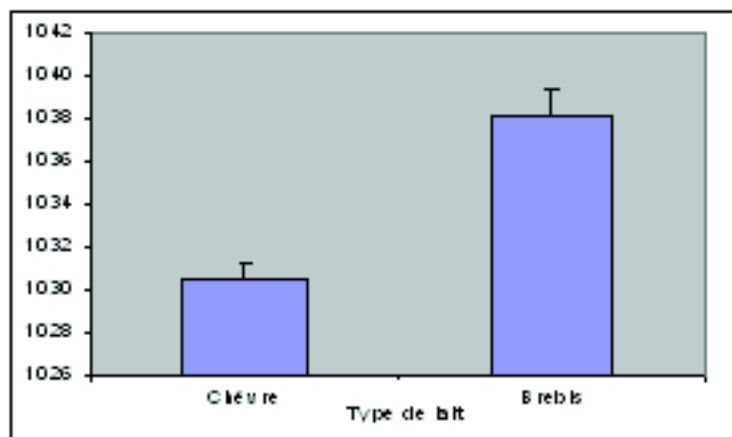


Fig. 19: Valeurs moyennes de la Densité en fonction du type de lait

La densité du lait est exprimée par le rapport du poids d'un volume de lait à une température donnée sur le poids d'un volume identique d'eau à la même température. Cependant la méthode la plus rapide et la plus utilisée est celle obtenue à l'aide d'un thermo-lactodensimètre.

Les résultats que nous avons obtenus lors de nos différents essais indiquent une différence entre les densités des laits ; avec des valeurs moyennes de densité des laits obtenus de $(1030,54 \pm 0,260)$ pour le lait de chèvre et de $(1038,14 \pm 0,300)$ pour le lait de brebis.

Ces résultats concordent parfaitement avec ceux cités par la FAO (1995) qui sont entre 1027 -1035 et 1034 -1039 pour les laits de chèvre et de brebis respectivement.

Selon Le Mens (1985), la densité d'un lait de chèvre varie de 1026 à 1042. Barbosa et al. (1986) notent une densité moyenne de 1030, comparable à celle rapportée par Hardy, (1987) pour le lait de vache: 1030 à 1035. Pirisi (1994), quant à lui a estimé cette valeur à 1034,7 pour le lait de brebis.

D'après Alais (1984), la densité du lait est un paramètre qui varie selon l'espèce, mais aussi au sein d'une même espèce selon deux facteurs: La concentration des éléments dissous et en suspension et la proportion en matière grasse. Une faible densité reflète la richesse en matière grasse des laits mise en œuvre.

Lors de l'analyse de la variance, la différence entre les moyennes a donné une valeur supérieure à la LSD confirmant ainsi la différence significative entre les laits utilisés.

Matière Grasse:

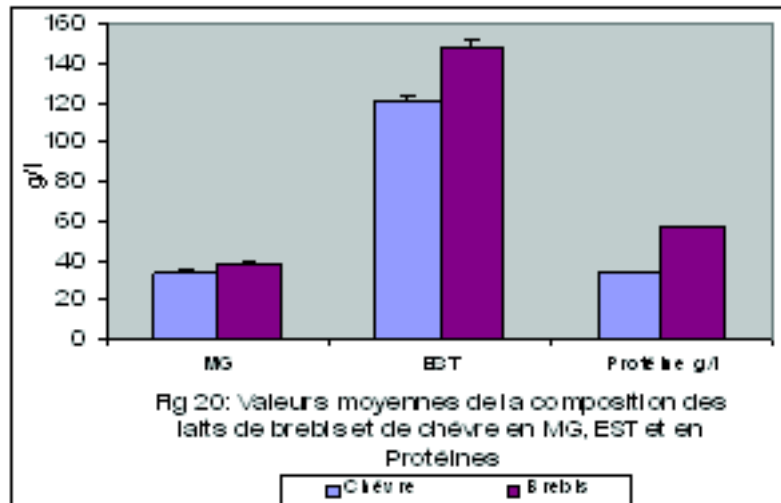


Fig 20: Valeurs moyennes de la composition des laits de brebis et de chèvre en MG, EST et en Protéines

La matière grasse constitue le facteur majeur contrôlant le rendement du fromage (Banks, 1990). C'est aussi le constituant le plus variable en proportion. La détermination de la teneur en matière grasse dans le lait nous permet d'apprécier sa valeur énergétique et nutritionnelle.

Les valeurs obtenues: $33,88 \pm 0,441$ g/l, et $37,56 \pm 0,510$ g/l, pour les laits de chèvre et de brebis respectivement, sont en dessous des proportions citées par Paccalin et Gallantier (1985). Ces dernières sont de 43 g/l pour le lait de chèvre et 75 g/l pour le lait de Brebis (Alais, 1984).

Le lait de brebis contient des taux considérablement plus élevés en protéines et en matière grasse qui ont une grande importance en fabrication fromagère (Sousa et Malcata, 1997).

L'alimentation peut influencer le taux butyreux. En effet, un apport énergétique très pauvre fait baisser le taux butyreux par l'immobilisation des réserves corporelles (Journet et Chilliard, 1985).

La nature des glucides de la ration a aussi une influence. Les concentrés riches en amidon (blé, orge, maïs) favorisent plus le taux butyreux en favorisant les fermentations butyriques au détriment des fermentations acétiques que les concentrés riches en pulpe sèche (betterave, etc) (Michalet et al, 1985).

Lors de l'analyse de la variance, les différences entre les moyennes ont donné des valeurs supérieures à la LSD confirmant ainsi la différence significative entre les laits utilisés. Le coefficient de variation est de 4,3%.

Extrait Sec Total:

L'extrait sec total représente l'ensemble des constituants du lait à l'exclusion de l'eau. La mesure de ce dernier nous permet d'apprécier d'une façon globale la richesse du lait (Alais, 1984).

La mesure des extraits secs totaux obtenus lors des essais a donné les valeurs suivantes: $121,17 \pm 0,763$ g/l et $148,82 \pm 0,881$ g/l pour le lait de Chèvre et de Brebis respectivement. Ces résultats ne concordent pas avec ceux rapportés par différents auteurs.

En effet, Assenat (1985) rapporte une teneur moyenne de 193 g/l pour le lait de brebis. Le Jouaen (1977) quant à lui, rapporte des valeurs entre 136 à 140 g/l pour le lait de chèvre.

Ces différences peuvent être dues: à l'alimentation, la race (performances spécifiques de chaque espèce), la période de lactation, la richesse en matière grasse des laits mis en œuvre (Lenoir et Scheid, 1987).

L'EST est souvent remplacé par l'ESD qui est considéré comme étant une valeur plus régulière que l'EST du fait qu'on élimine le facteur variable qui est la matière grasse.

ESD= EST – MG

Lors de l'analyse de la variance, les différences entre les moyennes ont donné des valeurs supérieures à la LSD confirmant ainsi la différence significative entre les laits utilisés. Le coefficient de variation est quant à lui de 2%.

Protéines:

Les substances azotées forment à la fois la partie la plus importante, la plus abondante et la plus complexe du lait. Leur détermination s'avère indispensable vu leur importance du point de vue physico-chimique et nutritionnel du lait.

Les teneurs des différents laits obtenus lors des essais sont de $33,03 \pm 0,250$ et $56,81 \pm 0,289$ respectivement pour le lait de chèvre et de brebis. Ces résultats concordent parfaitement à ceux rapportés par la littérature. Le Jaouen (1977) rapporte une valeur de 28 à 35 g/l pour le lait de chèvre et de 55.15g/l pour le lait de brebis. Cependant ils diffèrent de ceux rapportés par FAO (1995): 34,1 et 57,2 g/l pour le lait de chèvre et de brebis respectivement. Brochet (1982) attribue ces variations soit à l'individu, la race, à l'alimentation (proportion en fourrages et en aliments concentrés), à la période de lactation ou à l'état de santé de l'animal.

Assenat (1985) rapporte que l'accroissement de l'apport énergétique provoque une augmentation de la production de protéines dans le lait.

Lors de l'analyse de la variance, les différences entre les moyennes ont donné des valeurs supérieures à la LSD confirmant ainsi la différence significative entre les laits utilisés. Le coefficient de variation est quant à lui de 2%; valeur jugée très intéressante, reflétant la répétitivité des essais.

Calcium et Phosphore:

Le calcium et le phosphore sont des éléments essentiels dans l'édifice salin du lait, et font principalement partie du complexe phospho-caseinate de calcium, ils jouent aussi un rôle important au niveau de la stabilité micellaire (Alais, 1984).

Les teneurs obtenues lors de nos essais sont de $1,349 \pm 0,085$ et $1,920 \pm 0,098$ pour le calcium et de $0,910 \pm 0,014$ et $1,213 \pm 0,016$ pour le phosphore pour le lait de chèvre et de brebis respectivement. Ces valeurs concordent parfaitement avec celles rapportées par la FAO (1995) qui sont de 1,35 et 2 mg/l pour la teneur en Calcium et 0,92 e 1,18 mg/l pour la teneur en phosphore pour les laits de chèvre de brebis respectivement.

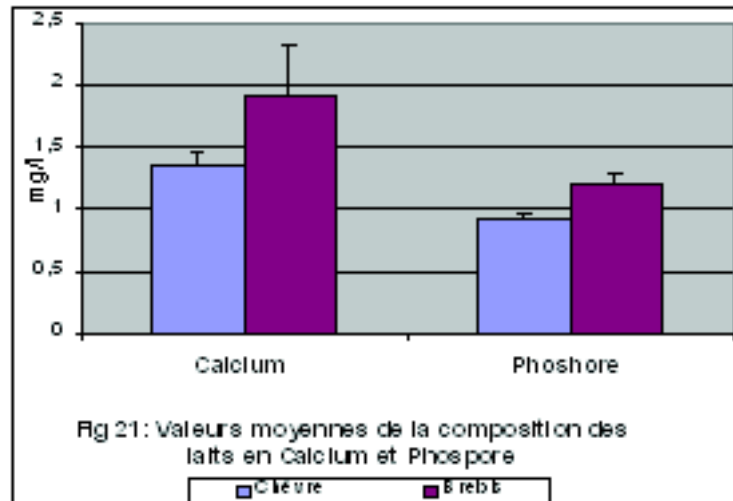


Fig. 21: Valeurs moyennes de la composition des laits en Calcium et Phosphore

Cependant, Brule (1987) rapporte une valeur de 1,5 mg/l de Phosphore pour le lait de brebis qui est supérieure à la notre. Alais (1984), rapporte une teneur en calcium de 1,30 mg/l pour le lait de chèvre.

La variation de ces éléments est fonction de l'alimentation et de la race de la femelle. En effet, Alais (1984) précise que ces deux facteurs influents directement sur la teneur en minéraux du lait. Brule et Lenoir (1987) quant à eux, expliquent les variations du phosphore et du calcium par le stade de lactation; ils diminuent les premières semaines de lactation et remontent vers la fin.

Lors de l'analyse de la variance, les différences entre les moyennes ont donné des valeurs relatives aux teneurs en Calcium et en Phosphore supérieures à la LSD, confirmant ainsi la différence significative entre les laits utilisés. Le coefficient de variation est quant à lui de 18,5% et 4,9 % pour la teneur en Calcium et en Phosphore respectivement.

4.1.2. Les fromages:

La composition des fromages est fonction de la qualité du lait cru et du processus de transformation de ce dernier en fromage. La variation de la composition des différents fromages peut être attribuée au fait que le lait cru ne soit pas standardisé pour la fabrication de fromage (Macedo et al, 1993); cette différence est d'autant plus importante si on utilise différents types de laits crus.

Selon Macedo et al. (1997), les caillés des différentes variétés de fromages sont reconnus à la fin de la coagulation, principalement en raison des différences de composition et de texture qui en résultent ainsi que les facteurs de process.

Le tableau suivant résume les résultats physico-chimique obtenus lors de nos essais de fabrication.

Paramètres	Source de l'extrait enzymatique	Résultats	
		Chèvre	Brebis
pH	Poulet	4,95	5,24
	Poisson	4,5	5,04
	Présure	4,63	5,19
Matière grasse (g/100g)	Poulet	12,32	12,20
	Poisson	13,12	16,83
	Présure	12,27	16,53
Extrait Sec Total (g/kg)	Poulet	331	395
	Poisson	327	416
	Présure	337	401
Protéine totale (%)	Poulet	37,4%	34,4
	Poisson	36,2	30,5
	Présure	34,6	34,4
Calcium (mg/100g)	Poulet	0,595	0,73
	Poisson	0,55	0,72
	Présure	0,66	0,95
Phosphore (mg/100g)	Poulet	1,52	1,75
	Poisson	1,23	1,88
	Présure	1,6	1,96
NaCl (g/100g)	Poulet	1,7	1,56
	Poisson	2,12	2,26
	Présure	1,58	1,46
Rendement (g)	Poulet	16,17	18,97
	Poisson	15,88	17,34
	Présure	16,38	19,79

Tableau XII : Résultats des analyses physico-chimiques des fromages obtenus.

pH:

Les valeurs moyennes du pH des fromages des essais sont résumées ci dessous:

Pour le lait de chèvre:

Coagulé avec l'extrait enzymatique du poulet : $4,95 \pm 0,089$; la présure : $4,63 \pm 0,089$ et l'extrait enzymatique du poisson : $4,50 \pm 0,089$.

Pour le lait de brebis:

Coagulé avec l'extrait enzymatique du Poulet : $5,24 \pm 0,103$; la présure : $5,19 \pm 0,103$ et l'extrait enzymatique du poisson : $5,04 \pm 0,103$.

Ce sont des valeurs qui ne sont pas aussi proches de celles mesurées sur les fromages de type Serra faits à partir des laits de chèvre et de brebis coagulé avec la présure traditionnelle qui sont respectivement de 6 et 6,5; le pH des fromages avait diminué sensiblement par rapport au lait, probablement en conséquence de l'utilisation des ferments lactiques (Sousa et Malcata, 1997).

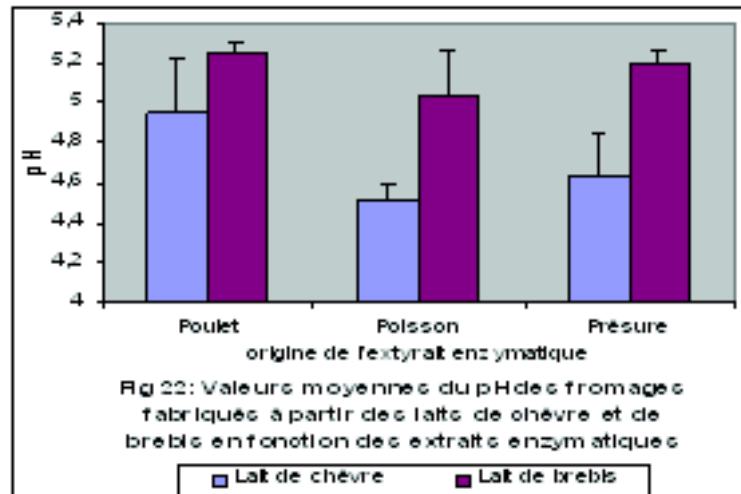


Fig. 22: Valeurs moyennes du pH des fromages fabriqués à partir des laits de chèvre et de brebis en fonction des extraits enzymatiques

En outre, Ramet (1987) rapporte des valeurs du pH d'un fromage frais obtenu à partir d'une acidification lactique qui varient entre 4,3 à 4,5, fourchette qui n'est pas très loin de celle de nos fromages préparés à partir du lait de chèvre.

L'analyse de la variance nous indique qu'il y a une différence significative selon le type de lait et la source d'enzyme, cependant les deux variables réunies, n'influent pas sur le pH. La valeur de la différence entre les moyennes et la LSD révèle les observations suivantes:

Pour le lait de chèvre : l'extrait enzymatique du poisson et la présure ont le même effet sur le pH, la différence de leur moyenne est inférieure à la LSD.

Par contre l'extrait enzymatique du poulet agit différemment par rapport aux deux enzymes. En effet, la différence de la moyenne entre cet extrait et les deux autres extraits indique une valeur supérieure à la LSD.

Pour le lait de brebis:

Les trois (03) extraits enzymatiques agissent de la même façon sur le pH puisque les différences des moyennes sont toutes inférieures à la LSD. Le Coefficient de variation est de 30,6%.

Extrait sec total:

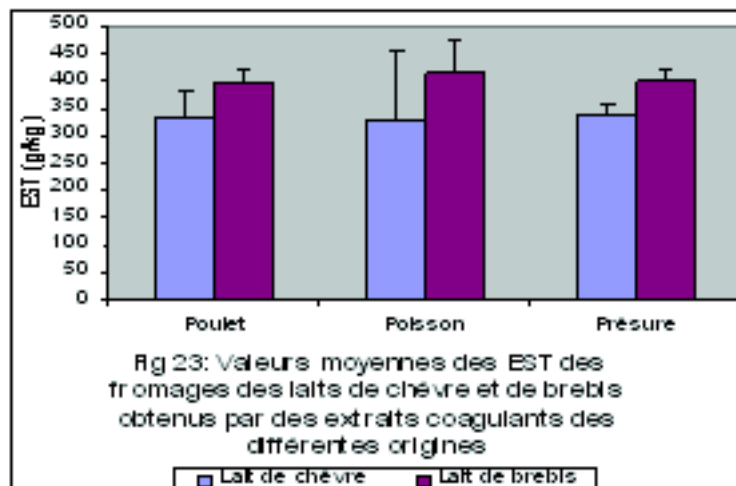


Fig. 23: Valeurs moyennes de la Matière grasse des fromages des laits de chèvre et de brebis obtenus par les extraits coagulants de différentes origines

D'après les résultats, le taux d'humidité de tous les fromages frais obtenus à partir du lait de chèvre est supérieur à celui des fromages obtenus à partir du lait de brebis. En effet, la moyenne des pourcentages d'humidité des fromages est de 66,83% et 59,6% pour le lait de chèvre et de brebis respectivement.

Les valeurs moyennes des EST des fromages frais obtenus à partir du lait de chèvre sont de: 331 ± 33,2 g/kg ; 327 ± 33,2 g/kg et 331 ± 33,2 g/kg pour les extraits enzymatiques du poulet; de la présure et du poisson respectivement. En ce qui concerne les fromages frais obtenus à partir du lait de brebis, ces valeurs sont de: 395 ± 38,4 g/kg; 401 ± 38,4 g/kg et 416 ± 38,4 g/kg.

Selon Alais (1984), Le taux de l'extrait sec varie d'un fromage à l'autre. Il est fonction de trois paramètres :

- la composition initiale du lait et la manière dont sont effectués;
- la coagulation;
- l'égouttage.

Les fromages obtenus à partir du lait de chèvre présentent des valeurs des Extrait sec totaux (EST) relativement basses par rapport à celles des fromages obtenus à partir du lait de brebis.

Selon Lablee (1987), le taux de l'extrait sec total d'un fromage est normalement faible mais ne doit pas surprendre puisqu'il s'agit d'un fromage relativement humide et par conséquent il a conservé le maximum de son eau. Il explique aussi que les teneurs fortes en l'extrait sec total résultent de la vitesse de l'égouttage. Cette dernière est particulièrement rapide lors de nos différentes fabrications, provoquant ainsi la formation de grains de caillé de taille plus ou moins réduite des laits de brebis par rapport à ceux du caillé du lait de chèvre, la quantité de sérum soutiré est de ce fait plus grande, c'est ce qui explique la forte teneur en extrait sec des fromages obtenus à partir du lait de brebis.

Nos résultats se rapprochent de ceux cités par Sousa et al (1997) qui rapportent une teneur de 350 g/kg pour le fromage de brebis. Ces derniers soulignent que s'il ya une différence dans la valeur de l'EST entre différents essais d'un même type de fromage, celle-ci est due à la composition initiale des types de laits.

Renner (1987) rapporte un pourcentage de 21% d' l'extrait sec total pour le fromage frais, alors que Jelen et Renz-Shaven (1989) rapportent une valeur de 18% pour le Quarg.

L'analyse de la variance nous indique qu'il y a une différence significative selon le type de lait ; cependant la source d'enzyme ne semble pas influencer sur la teneur en extrait sec. La valeur de la différence entre les moyennes avec la LSD révèle les observations suivantes:

pour le lait de chèvre :

L'extrait enzymatique du poisson, de la présure et du poulet ont le même effet sur l' l'extrait sec total, la différence de leurs moyennes est inférieure à la LSD.

pour le lait de brebis:

Les trois (03) extraits enzymatiques agissent de la même façon sur l' l'extrait sec total puisque les différences des moyennes sont toutes inférieures à la LSD. Le Coefficient de variation est de 18,3%.

Matière grasse:

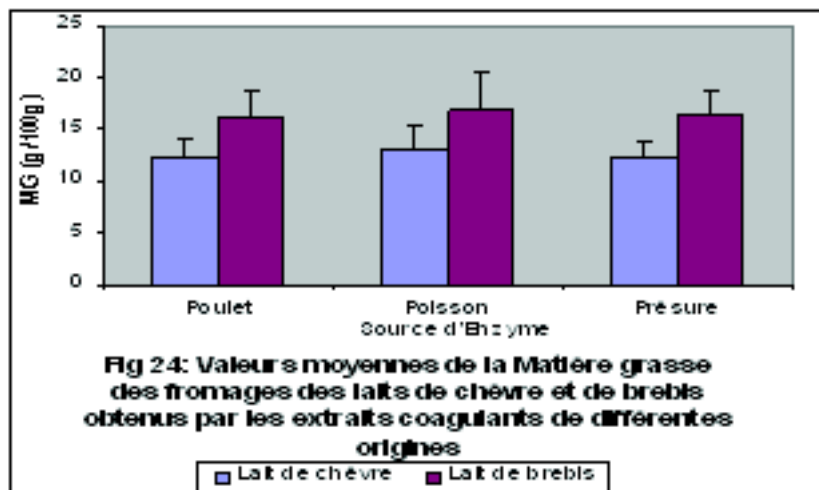


Fig. 24: Valeurs moyennes des EST des fromages des laits de chèvre et de brebis obtenus par des extraits coagulants des différentes origines

Les valeurs des teneurs en matière grasse des fromages obtenus à partir du lait de chèvre sont de: 12,32 ±1,165g/100g; 12,27 ±1,165 g/100g et 13,12 ±1,165 g/100g pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement. Dans le même ordre, ceux des fromages obtenus à partir du lait de brebis sont de : 16,20 ± 1,345 g/100g; 16,53 ± 1,345 g/100g et de 16,83 ± 1,345 g/100g.

Le taux de la matière grasse du fromage dépend de la composition du lait utilisé et de la technologie appliquée.

L'analyse de la variance nous indique qu'il y a une différence significative selon le type de lait ; cependant la source d'enzyme ne semble pas influencer sur la teneur en matière grasse. Les valeurs des différences entre les moyennes et la LSD révèlent les observations suivantes:

Pour le lait de chèvre:

L'extrait enzymatique du poisson, de la présure et du poulet ont le même effet sur la MG. Il n'y a pas de différence significative entre le type d'enzyme et la teneur en matière grasse du fromage et la différence de leurs moyennes est inférieure à la LSD.

Pour le lait de brebis:

Les trois (03) extraits enzymatiques agissent de la même façon sur la MG puisque les différences des moyennes sont toutes inférieures à la LSD. Il n'y a pas de différences significatives entre le type d'enzyme et la teneur en matière grasse du fromage. Le Coefficient de variation est de CV 16,3%

Le rapport **Matière Grasse/ Extrait sec total**, caractéristique importante des fromages, permet d'apprécier d'une façon précise la teneur en MG dans 100g d'extrait sec total (Veisseyer, 1975). Selon Alais (1984), pour avoir ledit rapport de 40%, il faut que le lait ait 30 à 35 g/l de MG.

Le tableau suivant résume les différentes valeurs du rapport sus cité des différents fromages obtenus:

Tableau XIII : Les valeurs du rapport de la Matière Grasse/ Extrait sec total des fromages obtenus

	Fromage de chèvre	Fromage de brebis
Poulet	37,2	46,28
Présure	36,4	41,22
Poisson	40,12	40,45

Nous pouvons remarquer que ce rapport est beaucoup plus élevé chez les fromages du lait de brebis par rapport à celui des fromages du lait de chèvre. Ceci traduit par la richesse en MG du lait de départ. Cependant ces résultats restent faibles par rapport à la valeur rapportée par Soussa et al. (1997) pour les fromages frais de brebis qui est de 68 %.

Abdelaziz et Ait Kaci (1992) rapportent une valeur de 53% pour le djben du lait de chèvre. La faible valeur du rapport de nos essais est due à la faible teneur en MG du lait de fabrication.

Protéines:

La structure des pâtes fromagères est formée essentiellement par un réseau de paracésinates du lait de fabrication (ECK, 1990).

Les valeurs des protéines obtenues lors de nos différents essais révèlent les teneurs suivantes : Pour les fromages faits à partir du lait de chèvre: $12,40 \pm 0,797\text{g}/100\text{g}$; $13,08 \pm 0,797\text{g}/100\text{g}$ et de $11,84 \pm 0,797 \text{ g}/100\text{g}$ soit 37,4%, 34,6% et 36,2%.

Pour les fromages obtenus à partir du lait de brebis : $13,60 \pm 0,920 \text{ g}/100\text{g}$ et $13,81 \pm 0,920 \text{ g}/100\text{g}$ et de $12,70 \pm 0,920 \text{ g}/100\text{g}$ soit: 34,4%, 34,4% et 30,5% pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement.

Sousa et Malcata (1997), dans une étude sur les fromages faits à partir de laits de brebis et de chèvre, rapportent des teneurs en protéines (% de MS) pour ces fromages à l'état frais de:

- 38% pour le fromage Serra fait à partir du lait de brebis;
- 43% pour le fromage Serra fait à partir du lait de chèvre.
- 45% pour le fromage Serra fait à partir du lait de brebis (Nunez et al., 1991).
- 13,8 % pour le djeben marocain. (Hammama et Bayi, 1991)
- 10 à 18 % pour les fromages frais (Renner, 1987)

Nos résultats sont assez proches l'un de l'autre, cependant ils diffèrent avec certaines valeurs rapportées par la littérature, ceci soit est dû à la composition initiale du lait ou alors

aux différentes étapes que subi le lait lors de la transformation. Une perte de protéines au niveau du lactosérum a cependant été notée.

La figure 25 illustre les résultats obtenus.

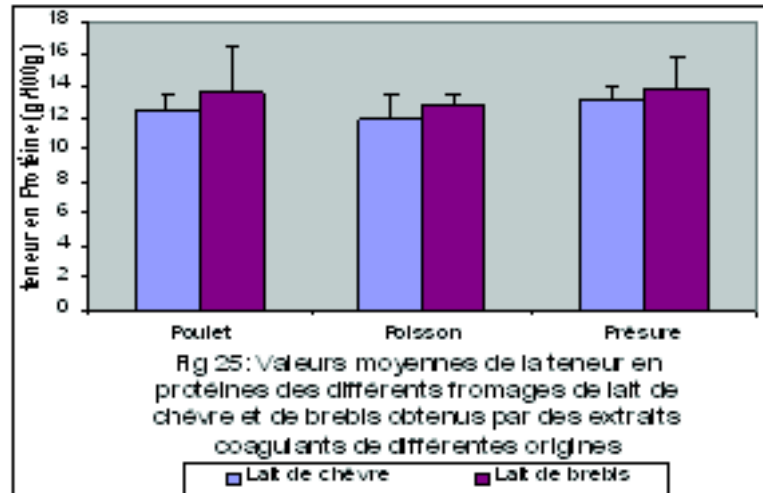


Fig. 25: Valeurs moyennes de la teneur en protéines des différents fromages de lait de chèvre et de brebis obtenus par des extraits coagulants de différentes origines

L'analyse de la variance nous indique qu'il n'y pas de différence significative ni en fonction du type de lait, ni par rapport à la source d'enzyme. Ces deux variables ne semblent pas influencer sur la teneur en protéines.

La valeur de la différence entre les moyennes avec la LSD révèle les observations suivantes:

Pour le lait de chèvre :

L'extrait enzymatique du poisson, de la présure et du poulet ont le même effet sur les protéines, il n'y a pas de différence significative entre le type d'enzyme et la teneur en protéines des fromages ; la différence de leurs moyennes est inférieure à la LSD.

Pour le lait de brebis :

Les trois (03) extraits enzymatiques agissent de la même façon sur les protéines puisque les différences des moyennes sont toutes inférieures à la LSD. Il n'y a pas de différence significative entre le type d'enzyme et la teneur en protéines du fromage. Le Coefficient de variation est de 12,4%

Calcium et Phosphore:

La fraction minérale joue un rôle important en technologie. Toutes les modifications de cette fraction se répercutent sur le comportement technologique des laits et les propriétés rhéologiques des coagulum (Alais, 1984).

Divers travaux, notamment ceux de Lenoir et Veisseyre (1987), ont montré que la présence d'ion calcium est indispensable à la floculation des micelles modifiées par l'action de la présure.

Selon Brule et Lenoir (1987), environ 65% de calcium à l'état micellaire contribue à la formation du caillé.

Les graphes ci-dessous font ressortir les valeurs moyennes des teneurs en Calcium et en phosphore des fromages frais obtenus à partir des laits de chèvre et de brebis. Nous pouvons dire à première vue que les teneurs en phosphore pour tous les fromages frais obtenus sont supérieures par rapport aux teneurs en calcium.

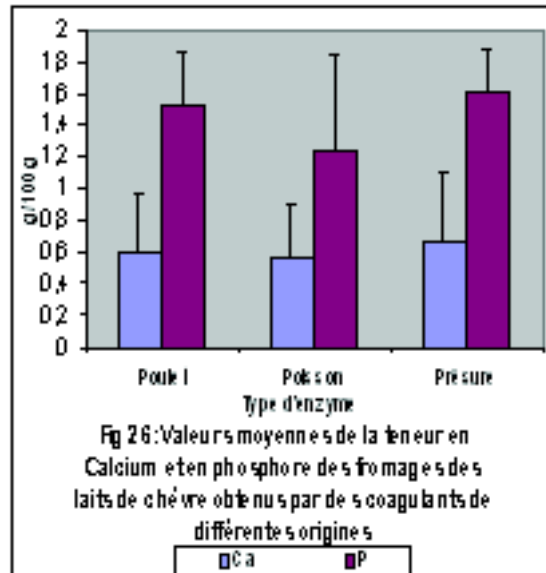


Fig. 26: Valeurs moyennes de la teneur en Calcium et en phosphore des fromages des laits de chèvre obtenus par des coagulants de différentes origines

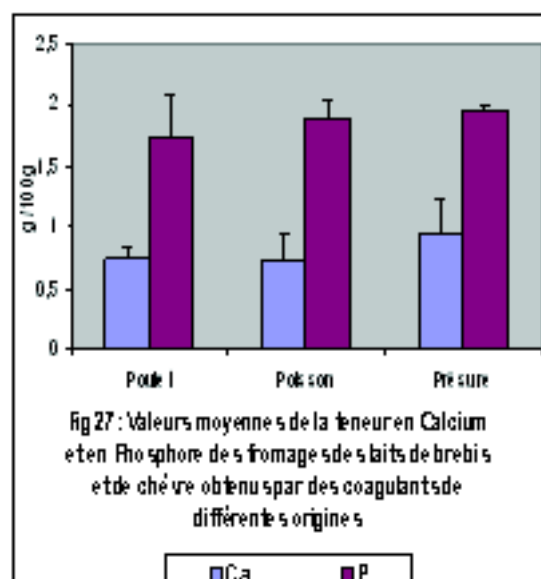


Fig. 27: Valeurs moyennes de la teneur en Calcium et en Phosphore des fromages des laits de brebis et de chèvre obtenus par des coagulants de différentes origines

Les résultats diffèrent de très peu pour un type de fromage obtenu à partir d'un même lait.

La teneur en Ca des fromages obtenus à partir du lait de Chèvre est de: $0,595 \pm 0,165$ mg/100g ; $0,66 \pm 0,165$ mg/100g et $0,55 \pm 0,165$ mg/100g. Celle des fromages obtenus à partir du lait de brebis est de: $0,73 \pm 0,190$ mg/100g; $0,95 \pm 0,190$ mg/100g et de $0,72$

$\pm 0,190$ mg/100g pour respectivement les extraits enzymatiques du poulet, présure et du poisson.

En ce qui concerne la teneur en phosphore, les valeurs moyennes des fromages frais obtenus à partir du lait de chèvre sont de : $1,52 \pm 0,182$ mg/100g; $1,60 \pm 0,182$ mg/100g; $1,23 \pm 0,182$ mg/100g . Celles des fromages frais de brebis sont de $1,75 \pm 0,210$ mg/100g; $1,96 \pm 0,210$ mg/100g et $1,88 \pm 0,210$ mg/100g pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement.

Certaines de ces valeurs ne concordent pas avec celles rapportées par la FAO (1995) qui sont de 0,7 et 1,5 mg/100g pour le calcium et le phosphore respectivement; cette différence pourrait être attribuée au fait que ces résultats concerne un fromage frais fait à partir du lait de vache qui, comme nous l'avons déjà vu, a une composition qui diffère des autres laits étudiés. Feinberg et al (1987), rapportent une teneur en phosphore entre 0.950 et 1.940 mg/100g et une teneur en Ca de 0,5-1,3 mg/100g pour les fromages frais industriels.

L'analyse de la variance nous indique qu'il n'y a pas de différence significative pour la teneur en calcium, ni le type de lait, ni la source d'enzyme ne semblent influencer sur la teneur en Ca. De même la source d'enzyme n'influe pas sur la teneur en phosphore mais sur le type de lait. L'analyse des différences entre les moyennes et la LSD révèle les observations suivantes:

Pour le lait de chèvre :

Les extraits enzymatiques du poisson, de la présure et du poulet ont le même effet sur la teneur en calcium ainsi que sur celle du phosphore. Il n'y a pas de différence significative entre le type d'enzyme et les teneurs en Ca et P du fromage. La différence de leurs moyennes est inférieure à la LSD.

Pour le lait de brebis:

Les trois extraits enzymatiques agissent de la même façon sur les teneurs en Ca et en P puisque les différences des moyennes sont toutes des valeurs inférieures à la LSD. Il n'y a pas de différence significative entre le type d'enzyme et les teneurs en Ca et en P du fromage. Le Coefficient de variation est de 48%. Le CV de la teneur en phosphore qui est de 22,3%.

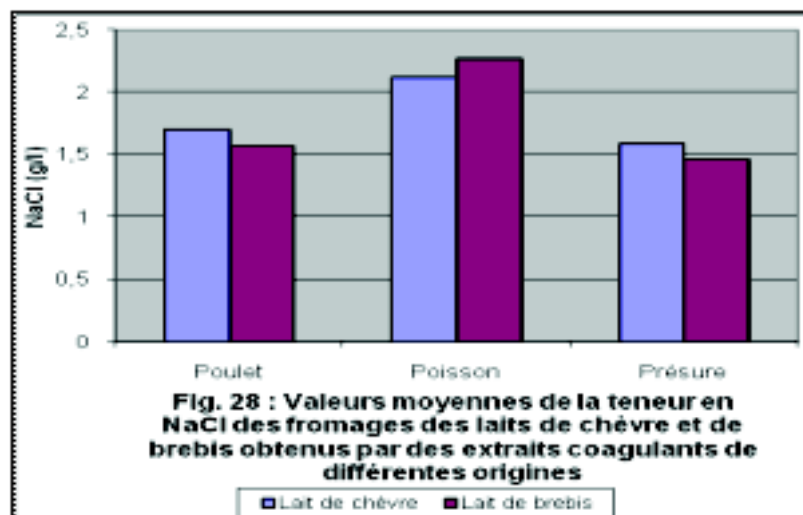


Fig. 28: Valeurs moyennes de la teneur en NaCl des fromages des laits de brebis et de chèvre obtenus par des coagulants de différentes origines

4-1-3- Evolution de la protéolyse, pendant la transformation des laits de brebis et de chèvre:

Le taux de tyrosine indique le degré de l'étendue de la protéolyse. Il est relié au taux de l'azote soluble pour les deux types de présure animale et végétale (Fernandez- Salguero et Sanjuan, 1999).

Il a été établi qu'un traitement thermique appliqué au lait provoquerait une variation de tyrosine. En effet, dans une étude sur le fromage de Serra; Macedo et Malcata (1997); ont rapporté que l'activité de la plasmine dans le lait est augmentée par la pasteurisation ; effet attribué à l'inactivation de ses inhibiteurs ou par l'augmentation de la vitesse d'activation du plasminogène en plasmine.

Les figures 29 et 30 résument l'évolution de la protéolyse lors des fabrications des différents fromages obtenus à partir des laits de chèvre et de brebis coagulés avec la pepsine du poulet et celle du poisson et de la présure.

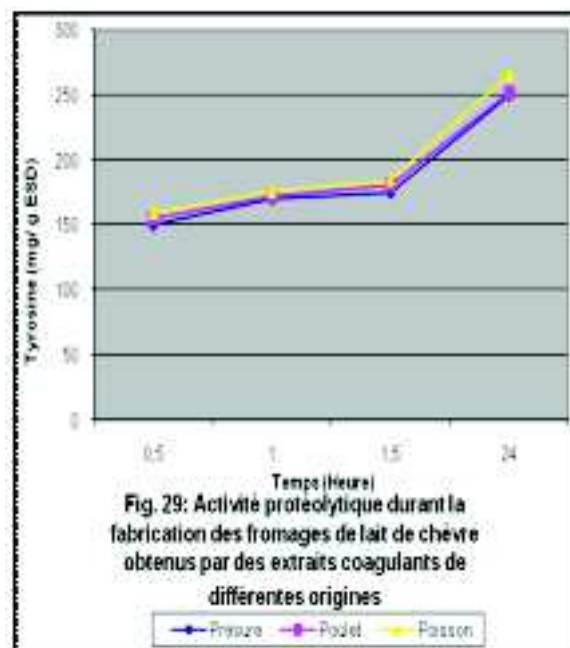


Fig. 29: *Activité protéolytique durant la fabrication des fromages de lait de brebis obtenus par des extraits enzymatiques de différentes origines*

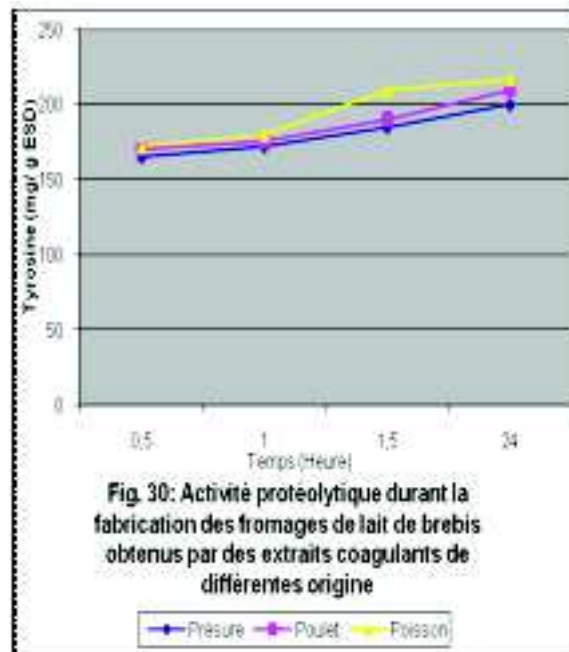


Fig. 30: *Activité protéolytique durant la fabrication des fromages de lait de chèvre obtenus par des extraits enzymatiques de différentes origines*

On note, d'une manière générale, que la présure et les succédanés de présure utilisés se conduisent de la même manière. Une évolution croissante du taux de tyrosine a été remarquée, et ce à partir de la 30^{ème} minute.

Le gel de lait de chèvre présente un taux plus important de tyrosine que celui du lait de brebis pour les trois sources enzymes.

Le taux de tyrosine du caillé de lait de chèvre augmente progressivement, dépassant celui du caillé de lait de brebis pour les (02) extraits enzymatique et de la présure.

Au bout de 24 heures, le fromage de brebis se retrouve avec un taux de tyrosine plus bas (200mg/g ESD, 205mg/g ESD et 210mg/g ESD pour la présure et les extraits enzymatiques du poisson et du poulet respectivement) que celui dans le fromage frais de chèvre (250 mg/g ESD, 266 mg/g ESD et 252mg/g ESD pour la présure et les extraits enzymatiques du poisson et du poulet respectivement).

Il a été aussi constaté que pour un même lait, le taux de tyrosine des fromages coagulés avec la pepsine du poisson est supérieur à celui coagulé avec la pepsine du poulet. Le fromage coagulé par la présure représente le taux le plus faible de tyrosine.

L'évolution du taux de tyrosine est assimilée à celle de l'azote soluble. D'après Sousa et Malcata (1997), l'analyse des fromages de type Serra fabriqués avec les laits de brebis et de chèvre a révélé des taux plus élevés d'azote soluble.

La protéolyse dans le lait de brebis évolue plus lentement que dans le lait de chèvre. Cependant, il a été établi que le lait fraîchement sécrété contient de petites quantités de peptides et d'acides aminés qui ne sont pas nécessairement le résultat d'une protéolyse (Macedo et al., 1996).

Le taux de tyrosine final mesuré dans le fromage frais de brebis est de 207,6 mg/g ESD (Fernandez-Salguero et Sanjuan,1999). Macedo et al. (1996), ont rapporté un taux de tyrosine du fromage serra, à l'état frais non affiné, de 200 mg/g ESD.

4-1-4- Les Pertes des matières dans les lactosérums:

Le soutirage du lactosérum a pour but de:

- Stopper l'acidification,
- Limiter la déminéralisation,
- Obtenir un caillé souple.

Le volume du sérum soutiré est de couleur jaune clair pour le lait de brebis et trouble pour le lait de chèvre, effet dû d'une part à la mauvaise homogénéisation de la matière grasse et d'autre part au mauvais décaillage ; la matière grasse remontant ainsi en surface. Une perte de matière grasse a été notée.

Selon certains auteurs, les pertes de la matière grasse augmentent avec la richesse du lait en cette matière et avec l'intensité du travail mécanique avant et après coagulation. (Anonyme, 1993).

Les caractéristiques physico-chimiques des lactosérums sont illustrées dans les histogrammes suivants:

- pH et Acidité :

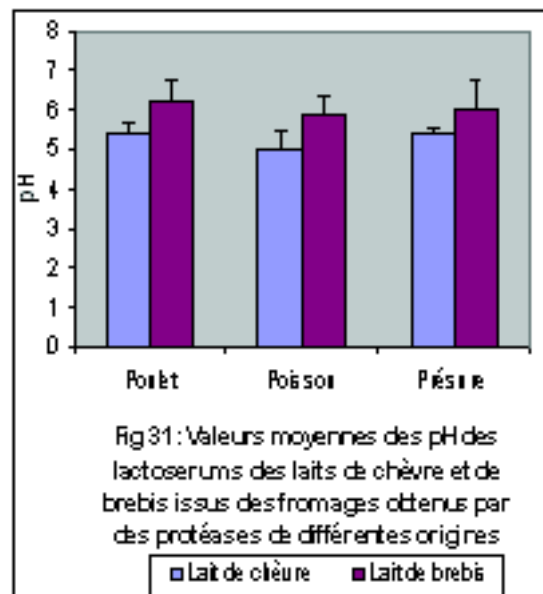


Fig. 31: Valeurs moyennes des pH des lactosérums des laits de chèvre et de brebis issus des fromages obtenus par des protéases de différentes origines

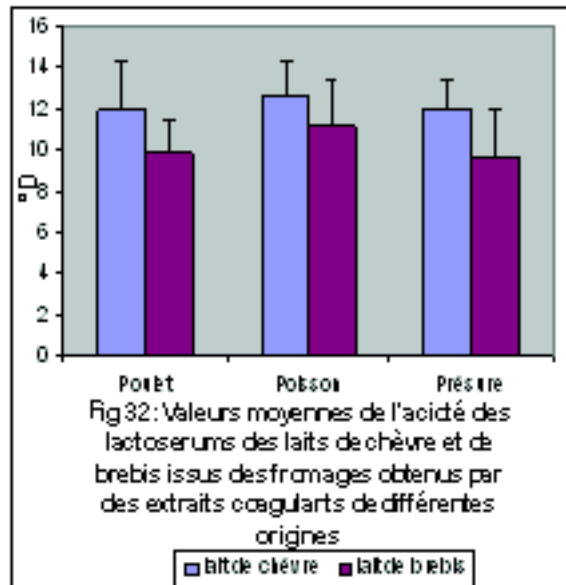


Fig. 32: Valeurs moyennes de l'acidité des lactosérums des laits de chèvre et de brebis issus des fromages obtenus par des extraits coagulants de différentes origines

Les histogrammes ci-dessus résument les valeurs du pH et de l'acidité des différents lactosérums soutirés lors des essais de fabrication fromagère à partir des laits de chèvre et de brebis.

Nous pouvons remarquer que tous les lactosérums de chèvre ont une acidité plus élevée que celles des lactosérums de brebis, ce qui explique que la valeur du pH des premiers est plus basse que celle des lactosérums de brebis, ceci explique aussi le pH bas des fromages de chèvre.

Les pH des lactosérums soutirés au cours des fabrications varient de 4,99 à 6,23. L'acidité quant à elle, évolue de 9,67 à 12,62°D. Ces valeurs se rapprochent de celles rapportées par Alais (1984) concernant un lactosérum doux.

L'analyse statistique des pH et de l'acidité confirme la caractéristique acide des lactosérums de chèvre par rapport à ceux de brebis. Effectivement, le pH et l'acidité varient significativement en fonction du type de lait. La source d'enzyme quant à elle, n'a pas d'influence sur ces paramètres.

Les moyennes des **pH** sont:

Pour les lactosérums de chèvre : $5,40 \pm 0,223$; $5,36 \pm 0,223$ et $4,99 \pm 0,223$.

Pour ceux de la brebis : $6,23 \pm 0,258$; $6,03 \pm 0,258$ et de $5,87 \pm 0,258$.

Pour la pepsine du poulet, la présure et la pepsine du poisson respectivement.

Le CV est de 8%.

Les moyennes de l'**acidité** sont:

Les lactosérums de chèvre : $11,88 \pm 0,982$; $12,00 \pm 0,982$ et $12,62 \pm 0,982$.

Pour ceux de la brebis : $9,83 \pm 1,134$; $9,67 \pm 1,134$ et de $11,17 \pm 1,134$, pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement.

Le CV est de 17,3%.

Densité

Du fait de leurs humidités élevées, les lactosérums présentent une densité plus faible que les laits.

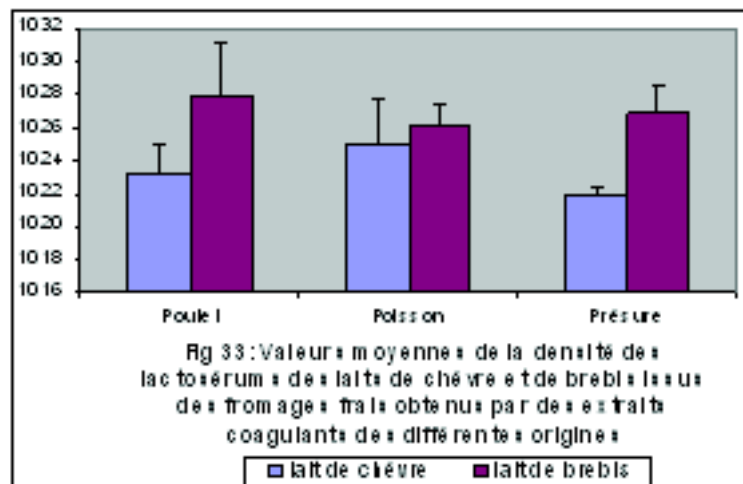


Fig. 33: Valeurs moyennes de la densité des lactosérums des laits de chèvre et de brebis issus des fromages frais obtenus par des extraits coagulants de différentes origines

Les pertes enregistrées lors de nos essais de fabrication ont révélé les moyennes suivantes: **Pour les lactosérums de chèvre** : $1023,18 \pm 1$; $1021,82 \pm 1$ et $1025,05 \pm 1$.

Pour ceux de la brebis : $1027,93 \pm 1,155$; $1026,87 \pm 1,155$ et de $1026,20 \pm 1,155$, pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement.

Contrairement à la source d'enzyme, le type de lait influe significativement sur l'acidité.

Le CV est de 2%, pourcentage relativement bon.

MG

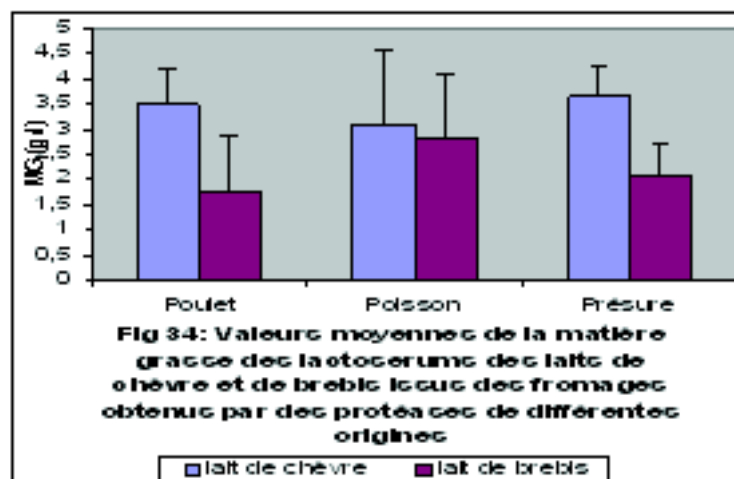


Fig. 34: Valeurs moyennes de la matière grasse des lactosérums des laits de chèvre et de brebis issus des fromages obtenus par des protéases de différentes origines

L'analyse de la variance nous indique que la matière grasse est influencée significativement par le type de lait. La source d'enzyme, quant à elle, ne fait pas varier significativement la matière grasse.

Les pertes enregistrées lors de nos essais de fabrication ont révélé les moyennes suivantes:

Pour les lactosérums de chèvre : $3,50 \pm 0,508$ g/l; $3,64 \pm 0,508$ g/l et de $3,12 \pm 0,508$ g/l;

Pour ceux de la brebis : $1,75 \pm 0,587$ g/l; $2,10 \pm 0,587$ g/l et de $2,83 \pm 0,587$ g/l pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement.

Le CV est de 34,9%

EST

Les différentes pertes enregistrées lors des essais de fabrication sont illustrées dans la figure 35.

A première vue, les extraits secs varient en fonction du type de lait mais aussi au sein d'un même lait en fonction de la source d'enzyme.

Les moyennes des EST sont résumées ci après:

Pour les lactosérums de chèvre : $92,5 \pm 2,94$ g/l; $91,1 \pm 2,94$ g/l et de $94,1 \pm 2,94$ g/l,

Pour ceux de la brebis : $90,9 \pm 3,39$ g/l; $87,8 \pm 3,39$ g/l et de $82,5 \pm 3,39$ g/l pour les extraits enzymatiques du poulet, présure et poisson respectivement.

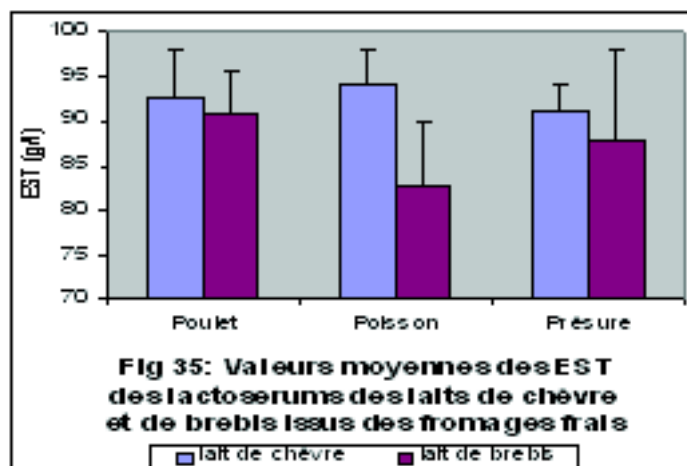


Fig. 35: Valeurs moyennes des EST des lactosérums des laits de chèvre et de brebis issus des fromages frais

Cependant l'analyse de la variance nous a révélé qu'il n'y a que le type de lait qui influe significativement sur l'EST. Le CV est de 6,5%.

Veisseyre (1975), rapporte que la teneur en matière sèche d'un lactosérum doux varie de 63 à 70 g/l. Selon la même source, les variations de la composition des lactosérums sont fonction de deux facteurs:

- la richesse en matière sèche du lait de départ,
- le mode de fabrication essentiellement l'égouttage qui favorise le passage de la matière grasse vers les lactosérums.

Nunez et al. (1991), rapportent des valeurs de 10,4% pour la matière sèche et 2,54% pour la matière grasse pour le sérum du fromage Serra. Ces valeurs se rapprochent de celles enregistrées lors de nos essais de fabrication.

Il est à noter qu'en principe, c'est le lactosérum du lait de chèvre qui est moins riche en EST par rapport à celui du lait de brebis. Dans nos essais, nous avons enregistré le contraire. Ceci pourrait être attribué au temps de coagulation du lait de chèvre qui est plus lent que celui du lait de brebis, induisant une hydrolyse du réseau caséolytique plus lente et donc une perte plus élevée. En effet, Selon Nunez et al. (1991), l'hydrolyse de ce dernier provoque des pertes importantes en matière grasse et solides totaux dans le sérum du lait coagulé.

Protéines

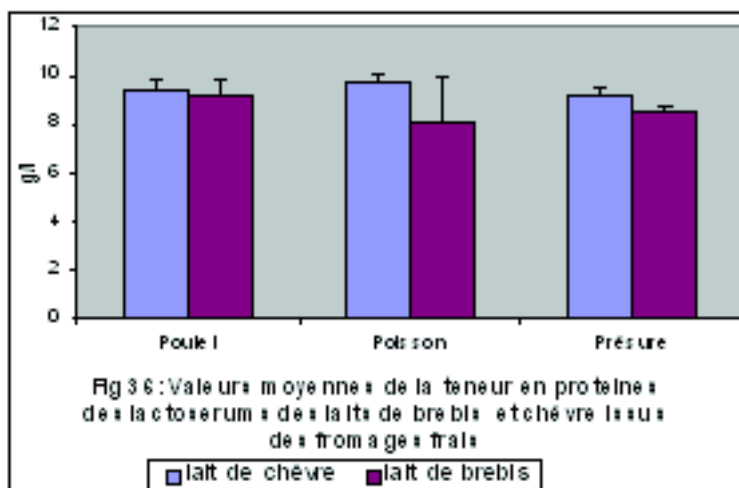


Fig. 36: Valeurs moyennes de la teneur en protéines des lactosérums des laits de brebis et chèvre issus des fromages frais

Les différentes valeurs des protéines du sérum sont:

Pour les lactosérums de chèvre : 9,41 ± 0,38 g/kg; 9,19 ± 0,38 g/kg et de 9,80 ± 0,38 g/kg

Pour ceux de la brebis : 9,12 ± 0,44 g/kg; 8,54 ± 0,44 g/kg et de 8,10 ± 0,44 g/kg pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement. Le CV est de 8,4%.

L'analyse de la variance a révélé que le taux de protéines des lactosérums soutirés varie significativement en fonction du type de lait mais ne varie pas en fonction de la source d'enzyme.

En effet, les différences entre les moyennes des taux de protéines d'un même lait coagulé avec les extraits enzymatiques étudiés sont toutes inférieures à la valeur de la LSD.

Il est à noter que la teneur des protéines rapportée par FAO (1995) est de 8g/kg pour les lactosérums soutirés à partir du fromage frais de vache.

Les protéines des lactosérums sont constituées essentiellement de protéines hydrosolubles du lait (Lactoglobuline, lactalbumines, etc.). On pourrait supposer qu'une petite fraction de caséine est passée dans le lactosérum lors de l'égouttage provoquant ainsi l'augmentation des teneurs en protéines de ces produits.

D'une manière générale, Les pertes de MG et des protéines peuvent être dues au manque de maîtrise des conditions de fabrication mais aussi aux caractéristiques des différents réseaux protéiques des fromages.

Calcium et Phosphore :

Il apparaît, d'après les graphes 37 et 38, que les teneurs en calcium et en phosphore ne varient pas en fonction de la source d'enzyme mais plutôt en fonction du type de lait.

Les teneurs en calcium et en phosphore sont variables d'un lactosérum à l'autre. En effet, la teneur en calcium du lactosérum issu du lait de chèvre est supérieure à celle du lait de brebis. Pour tous les types de lactosérums, on note cependant une teneur très élevée pour les lactosérums obtenus par coagulation avec la pepsine du poisson.

Les moyennes des teneurs de calcium et phosphore sont résumées comme suit:

Pour les lactosérums obtenus à partir du lait de chèvre:

Ca : $1,86 \pm 0,16$; $9,19 \pm 0,16$ et de $9,80 \pm 0,16$ mg/l;

P : $0,61 \pm 0,04$; $8,54 \pm 0,04$ et de $8,10 \pm 0,04$ mg/l.

Pour les lactosérums obtenus à partir du lait de brebis:

Ca : $1,23 \pm 0,19$; $1,14 \pm 0,19$ et de $0,98 \pm 0,19$ mg/l;

P : $0,71 \pm 0,04$; $0,65 \pm 0,04$ et de $0,59 \pm 0,04$ mg/l.

Pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement.

L'analyse statistique confirme donc ce qui a été déjà dit. En effet la différence des moyennes des lactosérums issus d'un même lait donne une valeur inférieure à la LSD. Le CV est de 20 et 13,1% respectivement pour la teneur en Ca et en P.

Il est à noter que les valeurs de Calcium et de Phosphore rapportées par la FAO (1995) sont respectivement entre 0,5 et 1 mg/l pour les lactosérums soutirés à partir du fromage frais de vache.

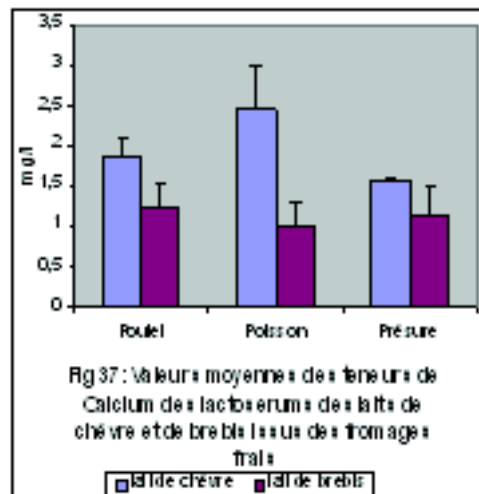


Fig. 37: Valeurs moyennes des teneurs de Calcium des lactoserums des laits de chèvre et de brebis issus des fromages frais

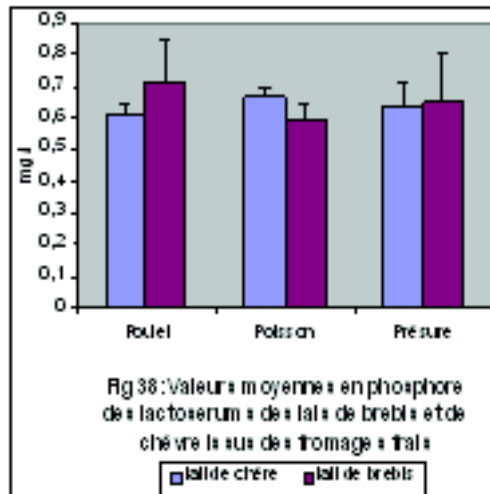


Fig. 38: Valeurs moyennes en phosphore des lactoserums des laits de brebis et de chèvre issus des fromages frais

4-2- Analyses microbiologiques des laits, fromages et extraits enzymatiques

La microflore native du lait, renferme des lactobacilles et certains micro organismes psychrotrophes (protéolytiques et lipolytiques) qui ont une incidence technologique sur la transformation du lait cru (Mohammad et Byong, 1996). Cependant, la protéolyse et à un degré moindre la lipolyse sont relativement faible dans les fromages de type frais même après 68 jours d'affinage (Soussa et al., 1997).

D'une façon générale, le traitement thermique appliqué aux laits permet l'obtention de fromages d'une qualité microbiologique acceptable. Cependant, il est important de signaler que l'ajout des extraits coagulants d'origines aquatique et avicole entraîne une charge microbienne supplémentaire au fromage, bien que minime dans notre cas.

Le dénombrement des germes des laits et fromages des différents essais effectués, sont résumés dans les tableaux suivants.

Germe	Nombre de germes		Normes
	Lait de Chèvre	Lait de Brebis	
Coliformes	110	70	< 100 germes/ml
E. Coli	70	20	10 germes/ml
Germe aérobie	$12 \cdot 10^3$	$7 \cdot 10^3$	10^3
Staphylocoque	Absence	Absence	Absence/ 10 germes/ml
Salmonelle	Absence	Absence	Absence
Clostridium	Absence	Absence	Absence dans 50ml de lait
Levure	52	70	Tolérance de 1000 levures et moisissure à condition de ne pas dépasser 300 moisissures
Moisissure	Absence	Absence	

Tableau XIV: Résultats des analyses microbiologiques des laits de chèvre et de brebis.

Germe	Source de l'extrait enzymatique	Nombre de germes		Normes
		Lait de Chèvre	Lait de Brebis	
Coliformes	Poulet	20	110	10 coliformes/g de fromage frais
	Poisson	70	70	
	Présure	20	110	
E. Coli	Poulet	20	Absence	1 germe/g
	Poisson	70	Absence	
	Présure	13	Absence	
Germe aérobie	Poulet	$1.2 \cdot 10^4$	$4 \cdot 10^2$	10^5 Pour le lait pasteurisé destiné à la fabrication fromagère
	Poisson	$3.9 \cdot 10^4$	10^3	
	Présure	$2.5 \cdot 10^3$	$3.5 \cdot 10^2$	
Staphylocoque	Poulet	Absence	Absence	Absence dans 0.1 g
	Poisson	Absence	Absence	
	Présure	Absence	Absence	
Salmonelle	Poulet	Absence	Absence	Absence totale dans 25 g de produit
	Poisson	Absence	Absence	
	Présure	Absence	Absence	
Clostridium	Poulet	Absence	Absence	Absence
	Poisson	Absence	Absence	
	Présure	Absence	Absence	
Levure	Poulet	150	149	/
	Poisson	350	140	
	Présure	201	100	
Moisissure	Poulet	Absence	Absence	/
	Poisson	Absence	Absence	
	Présure	Absence	Absence	

Tableau XV : Résultats des analyses microbiologiques des fromages de chèvre et de brebis

4.2.1. Flore totale

Le peuplement microbien du lait révèle un important capital pour sa transformation en fromage (Le Jouen, 1977). La charge microbienne d'un lait donne un bon indice du degré de contamination. Pour le lait cru, elle ne doit pas dépasser 10^6 germes par millilitre (Joffin, 1985).

L'analyse microbiologique des laits révèle une charge microbienne des deux types de laits inférieure à celle rapportée par J.O.R.A. (1998), qui est de 10^5 pour les laits crus. Joffin (1985) rapporte une valeur légèrement supérieure qui est de $2 \cdot 10^5$ germes /ml pour les laits pasteurisés.

Selon Guiraud et Galzy (1980), un lait pasteurisé destiné à la production fromagère doit renfermer moins de 10^5 germes/ml ; ce qui est notre cas.

Les fromages présentent une charge légèrement inférieure qui pourrait être due à une bonne conduite de l'ensemble des fabrications. Ceci pourrait être expliqué aussi par le fait que le pH relativement bas des fromages ne constitue pas un terrain propice au développement de beaucoup de microorganismes.

4.2.2. Coliformes

Les bactéries coliformes indiquent le plus souvent une pollution d'origine fécale (Petranxiene et Lapiéd, 1981). Appartenant à la famille des Enterobactériaceae. Elles ont la faculté de fermenter le lactose avec une production d'acide et de gaz (ECK, 1987).

Le nombre des coliformes obtenu est inférieur pour le lait de chèvre et est supérieur pour le lait de brebis par rapport à la valeur rapportée par Joffin (1985) qui selon lui, doit être inférieure à 100 germes/ml pour les laits crus.

Le lait pasteurisé quant à lui, doit renfermer moins de 10 coliformes/ml selon Joffin (1985).

Les fromages obtenus renferment un nombre relativement élevé de coliformes, ce qui ne correspond pas aux normes fixées par Rezier et al (1985) et J.O.R.A (1998) de 10 coliformes par gramme de fromage frais, car le lait de départ contenait déjà des coliformes, or selon Guiraud et Galzy, (1980), le lait destiné à la transformation devant présenter une absence de coliformes dans un millilitre.

4.2.3. Escherichia Coli

E. coli, qui appartient à la famille des entérobactéries, existe naturellement dans l'intestin, mais qui en l'ingérant, provoque des toxi-infections alimentaires sévères du fait de son haut degré pathogène (Joffin 1985).

Les nombres d'E coli des laits étudiés ont une valeur supérieure aux normes, fixées par les différents auteurs, ceci est sûrement dû à la charge microbienne importante et un traitement thermique insuffisant lors de la pasteurisation, puisque ces germes (E Coli) sont thermolabiles (ECK, 1987). Pour ce qui du fromage, le pH bas pourrait être la cause de l'absence d'E coli.

Les normes fixées indiquent la présence de 1 coliforme fécale ou E Coli par ml de lait pasteurisé (Joffin, 1985) et moins de 10 coliformes fécaux par gramme de fromage frais pasteurisé (Rozier et Coll 1985), J.O.R.A (1998) et Bourgeois et al (1988), rapporte des valeurs de 10 germes/ml pour les laits frais, et d'un (01) coliforme fécale par gramme pour le fromage frais.

Un lait collecté dans de bonnes conditions hygiéniques lors de la traite se traduira par l'absence totale de coliformes.

4.2.4. les Salmonelles

Les Salmonelles sont des bactéries hautement pathogènes provoquant de gastro-entérites. Leur présence rare n'exclue pas leur recherche dans les produits laitiers pour lesquels, les normes requises exigent une absence totale dans 25 g de produit (Joffin, 1985).

Les résultats sont conformes aux normes puisque aucun germe n'a été décelé ni au niveau des laits, ni au niveau des fromages. Ceci est lié au respect de l'hygiène, du stade de la traite jusqu'à celui de la transformation. Le traitement thermique a aussi été suffisant. En effet, Oteng et Cyang (1984), indique qu'une température de 60°C inhiberait

les germes thermophiles, mais leur absence est probablement liée au pH puisque tel qu'il a été rapporté par Alais (1984), les bactéries lactiques présentes dans les produits frais entraînent l'inhibition des salmonelles par la production d'acide.

4.2.5. Streptocoques fécaux

La présence de ces germes dans les produits alimentaires témoigne d'une contamination fécale. Il est toléré la présence de 1 g/ml pour le lait et une absence totale pour les produits infantiles et diététiques.

L'absence des germes est liée aux bonnes conditions de traite et de transformation du lait.

Le pH bas des fromages explique l'absence de ces germes. La croissance des bactéries pathogènes diminue de façon significative en s'éloignant du pH neutre (ECK, 1987).

D'après Alais (1984) la majorité des germes pathogènes du lait passe dans le caillé, l'élimination par le sérum est minime.

Une mauvaise conduite du traitement thermique peut expliquer leur présence, car d'après Oteng et Gyang (1984) ces germes peuvent même résister à la pasteurisation.

4.2.6. Staphylocoques

Les germes de ce genre sont parfois rencontrés dans les laits. Ils se manifestent surtout par des cas d'intoxications (Joffin, 1985). Pour cela, leur nombre ne doit pas dépasser 10 g/ml dans le lait frais ou pasteurisé et par gramme de fromage frais (Bourgeois et al, 1979). Pour le fromage frais pasteurisé, Guiraud et Galzy (1980) rapportent des normes exigeant l'absence de Staphylocoques pathogènes dans 0,1g.

En ce qui concerne les résultats de nos fabrications, il a été noté une absence totale des staphylocoques dans les laits utilisés et les fromages obtenus.

L'absence des germes dans ces produits pourrait s'expliquer par l'inhibition des bactéries lactiques, tel qu'il a été rapporté par Alais (1984), selon la même source, ces germes peuvent se développer dans une large gamme de pH allant de 4,9 à 9,3.

4.2.7. Clostridium sulfitoréducteur

La présence de ces germes anaérobies sulfito-réducteurs peut être responsable d'intoxication alimentaire. La présence de *Clostridium perfringens* est la preuve d'une contamination fécale déjà existante car les spores sont très résistantes (Joffin, 1985).

Les spécialistes exigent une absence de Clostridiiums dans 50 ml de lait (Guiraud et Galy, 1980).

Il a été noté l'absence totale de ces germes dans nos produits ceci est dû au seul fait que les produits de base étaient de bonne qualité hygiénique car le traitement thermique suivis (65°C et 80°C) ne suffisait pas pour éliminer ces germes qui sont thermorésistants.

4.2.8. Levures et moisissures

Dans des conditions normales, les levures et les moisissures n'ont pratiquement pas d'importance dans le lait liquide, par contre elles sont en nombre élevé dans les autres produits laitiers (Alais, 1984).

Les normes françaises tolèrent 1000 levures et moisissures par gramme de poudre de lait à condition que le nombre de moisissures ne dépasse pas 300.

Dans le cas des fromages frais, leur présence est indésirable, car ils ont tendance à alcaliniser le milieu en utilisant de l'acide lactique, ce qui a pour effet d'augmenter le pH et de rendre le milieu favorable au développement de bactéries pathogènes (Alais, 1984).

D'une façon générale, la matière première utilisée ainsi que les produits obtenus présentent des paramètres microbiologiques satisfaisants.

Discussion

Les traitements thermique qu'ont subi les laits ont réduit la charge microbienne ce qui a permis d'avoir des fromages d'assez bonne qualité hygiénique malgré l'utilisation d'autres sources de contamination en l'occurrence les extraits coagulants.

En effet, l'analyse microbiologique de nos essais donne des valeurs inférieures par rapport à celles citées par la littérature; ce qui confirme cette bonne qualité. Cependant on note le nombre de flore totale et d'E coli plus élevé dans les fromages obtenus à partir du lait de chèvre par rapport à ceux du lait de brebis, où l'on remarque l'absence d'E coli.

Selon Macedo et al. (1993), la présence des contaminants dans les laits contribue à la charge microbienne des fromages. Les laits crus relativement chargés au départ, et surtout ceux qui n'ont pas subi de traitement thermique sévère, affectent fortement le profil microbien des fromages.

Le temps de coagulation et d'égouttage relativement long par rapport à la présure, engendré par l'utilisation des pepsines avicole et aquatique favorisent la croissance microbienne.

Durant le processus de fabrication des fromages, le lait ou le caillé peuvent être sujets à des contaminations extérieures.

Ces fromages, fabriqués par addition de ferments, coagulés avec une solution enzymatique déjà contaminée, et dont le caillé présente un pH initial et un taux d'humidité élevé, favorisent la survie de différentes flores microbiennes.

L'absence des Streptocoques, des Staphylococcus aureus, des Clostridium sulfitoréducteurs et des Salmonelles dans la totalité des laits utilisés et des fromages fabriqués.

4.3. 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. Appelé aussi « **Rendement de transformation du lait en fromage** », il est l'expression mathématique de la qualité du fromage obtenue (ECK, 1990).

$$\text{Coefficient G} = \frac{10 \times \text{ESD} \times \text{P.}}{v}$$

Durant notre expérimentation, nous avons utilisé, à chaque essai, une quantité moyenne de 05 litres de lait (obtention de 4 à 5 boules de fromage frais).

Les différents rendements fromagers, obtenus lors de nos essais, sont résumés dans le tableau XIV.

Tableau XVI : Valeurs moyennes des rendements des fromages frais obtenus.

	Fromage de chèvre	Fromage de brebis
Poulet	16,17	18,97
Présure	16,38	19,79
Poisson	15,88	17,34

L'ordre des valeurs des rendements fromagers obtenus lors de la réalisation des essais, est comme suit: fromage brebis-présure> fromage brebis-poulet> fromage brebis-Poisson> fromage chèvre-présure> fromage chèvre-poulet> fromage chèvre -Poisson.

On remarque qu'il y a une différence ; celle-ci pourrait être expliquée par :

- **La qualité du lait** : en général, toute altération du lait par voie microbienne ou enzymatique entraîne une solubilisation des protéines et une dégradation de la matière grasse induisant ainsi une diminution de la teneur en matière sèche du produit fini.
- Un bon rendement nécessite un taux élevé en extrait sec et plus précisément en protéines (caséine) et des concentrations élevées en matière grasse (Macedo et al., 1993) ; cas du lait de brebis qui présente des concentrations en EST et en protéines plus élevées que celles du lait chèvre .

Cependant, malgré que le rendement potentiel du fromage obtenu à partir du lait soit clairement relié aux concentrations en caséines et en matière grasse, les rendements dépendent aussi de l'efficacité avec laquelle ces composants du lait sont incorporés dans le caillé et du taux de solides retenus dans le sérum (Storry et al., 1983).

- Les modalités de transformation du lait au fromage : toute opération de type physique pratiquée trop brutalement engendre une pulvérisation des grains de caillé. Les fines particules de ces dernières, issues d'une fragmentation excessive, ne sont pas récupérables; elles se retrouvent dans le lactosérum augmentant ainsi les pertes en matière sèche et par conséquent une baisse du rendement fromager.

En général, le coagulum doit être traité avec la plus grande précaution en raison de sa friabilité. Celle-ci dépend d'autre part des facteurs technologiques variés; un excès d'acidification et une activité protéolytique élevée accroissent les pertes dans le lactosérum.

Nunez et al. (1991), affirme que le rendement fromager du lait de brebis dépasse d'une manière significative celui du lait de chèvre; ce dernier donnant des rendements fromagers bas. (Alichanidis et Polychroniadou, 1996). A cet effet, et afin d'améliorer le rendement fromager, il faudrait prendre certaines précautions à savoir:

- Eviter l'utilisation des laits fortement contaminés en microorganismes à la suite de pratiques non hygiéniques et de conservation de longue durée à une température propice au développement microbien ;
- Transformer le lait aussitôt après sa récolte ;
- Suivre les étapes de fabrication appropriées pour un fromage donné, en utilisant un matériel correctement réglé et en respectant la durée de chaque étape.

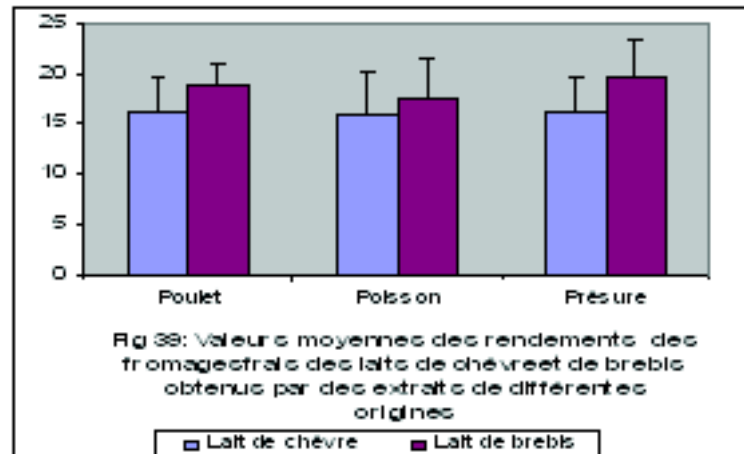


Fig. 39: Valeurs moyennes des rendements des fromages frais des laits de chèvre et de brebis obtenus par des extraits de différentes origines

Les résultats des rendements obtenus sont résumés comme suit :

- Pour les fromages frais de chèvre: $16,17 \pm 1,778$; $16,38 \pm 1,778$ et de $15,88 \pm 1,778$
- Pour les fromages frais de brebis: $18,97 \pm 2,054$; $19,79 \pm 2,054$ et de $17,34 \pm 2,054$ pour les extraits enzymatiques du poulet, de la présure et du poisson respectivement.

L'analyse de la variance des rendements nous indique qu'il n'y a pas de différence significative en fonction de la source d'enzyme, ni en fonction du type de lait. La valeur de la différence entre les moyennes avec la LSD révèle les observations suivantes:

Pour le lait de chèvre:

L'extrait enzymatique du poisson, de la présure et du poulet ont le même effet sur le rendement ; il n'y a pas de différence significative entre le type d'enzyme et le rendement du fromage, la différence de leurs moyennes est inférieure à la LSD.

Pour le lait de brebis:

Les trois (03) extraits enzymatiques agissent de la même façon sur le rendement puisque les différences des moyennes sont toutes inférieures à la LSD. Il n'y a pas de différence significative entre le type d'enzyme et le rendement du fromage. Le Coefficient de variation est de 20,6%.

4- 4 - Analyses sensorielles:

Les fromages des laits de brebis et de chèvre ont été présentés de façon anonyme à un jury de dégustation, interrogé sur les caractères de la pâte : l'aspect, la texture, la couleur et le goût des six (06) types de fromages :

Les trois (03) fromages obtenus à partir du lait de Chèvre présentent une surface fissurée, hétérogène à caractère friable. La couleur blanchâtre de ce fromage est due à l'absence de la β carotène responsable de la couleur jaunâtre chez le lait de vache.

Fromage coagulé avec l'extrait enzymatique du poulet :

80% des membres du jury de dégustation ont jugé ce fromage amer, 50% d'entre eux l'ont trouvé friable, rêche et salé avec un goût de chèvre prononcé et 40% l'ont qualifié de très dur et d'acide.

Fromage coagulé avec l'extrait enzymatique du poisson :

80% des dégustateurs ont jugé le fromage amer. 70% l'ont trouvé moyennement salé. 50% des membres du jury lui ont attribué les caractères suivants : pâte dur, texture friable, moyennement acide, très granuleux et donc rêche et un goût prononcé de l'animal.

Fromage coagulé avec la présure:

Ce fromage se caractérise par une croûte qui est légèrement lisse (80% du jury). 60 % des membres du jury lui ont attribué les caractères suivants : acidité élevée, granuleux, texture friable. 50% d'entre eux, l'ont trouvé amer avec une présence d'un goût caractéristique de l'animal. 40% l'ont trouvé moyennement salé, rêche et dur.

Les trois fromages de brebis ont été évalués par le jury comme suit :

Fromage coagulé avec l'extrait enzymatique du poulet:

70% des membres du jury ont trouvé que ce type de fromage avait un léger goût d'amertume, d'acidité et moyennement salé. 60% d'entre eux ont jugé que sa surface était plus ou moins ridée et plus ou moins bien structurée avec un léger goût de laitage et une odeur intense. 50% l'ont qualifié ayant une texture moyennement ferme, rêche avec la présence d'un goût de gras.

Fromage coagulé avec l'extrait enzymatique du poisson:

70% des membres du jury ont trouvé que le fromage avait un léger goût d'amertume et d'acidité avec une légère saveur de laitage frais. 60% ont trouvé que le fromage était légèrement dur et moyennement friable. 50% d'entre eux l'ont qualifié de moyennement gras donc glissant et moyennement salé. Ce fromage présente une surface moins lisse que son précédent et une texture plus ou moins ferme et uniforme.

Fromage coagulé avec la présure:

70% des membres du jury lui ont attribué une texture ferme et un léger goût de laitage frais. 60% ont ressenti un très léger goût d'amertume, d'acidité et une concentration moyenne en NaCl et de gras rendant le fromage plus ou moins glissant. Dans la même proportion, le jury a jugé la pâte moyennement friable et granuleuse.

Discussion

En général, les fromages de brebis se caractérisent par : une surface plus ou moins lisse, uniforme et bien structurée, et sont de couleur jaune pâle. Le fromage présente un arôme de laitage frais et une texture plus ferme. Selon Barbosa (1985), le fromage de brebis, à l'état frais non affiné, doit être homogène avec des surfaces lisses et exemptes de trous à l'intérieur. C'est ce que nous avons constaté dans nos essais.

Les fromages de chèvre présentent une surface plus ou moins ridée, une pâte hétérogène à caractère friable. Il a été remarqué lors de certains essais, que l'acidité un peu élevée à l'emprésurage induisait une grande friabilité de la pâte alors que lorsqu'on

emprésure à pH modèle, la pâte apparaît moins friable. D'après Vassal et al. (1994), le caractère de friabilité des fromages de chèvre est lié au rapport gras/sec et à la teneur en caséine α S1. La texture du réseau protéique diffère en fonction de la proportion de caséine α S1 dans le caillé. Il est bien établi que le ramollissement de la pâte est dû en premier lieu à la dégradation de la caséine α S1 par la présure qui libère en particulier le peptide 1-23, or la caséine α S1 caprine se différencie de celle ovine par la présence d'un résidu valine en position 24 de la chaîne peptidique et de ce fait l'aptitude à l'hydrolyse de cette protéine par la chymosine pourrait être modifiée. Selon Rameuf et al. (1989) un gel ferme provient en général d'un lait riche en protéine ce qui explique la différence de fermeté entre le fromage de brebis et celui de chèvre.

- L'acidité moins prononcée pour les fromages de brebis de même que la légère sensation d'amertume notée n'a pas dérangé les dégustateurs.
- L'aspect lisse et uniforme de la surface du fromage est plus présent dans les fromages de brebis que dans les fromages de chèvre.
- Les fromages de chèvre sont plus blancs que ceux du lait de brebis.
- Le fromage de brebis a une texture ferme d'après le jury alors que celle des fromages de chèvre a été considérée comme étant légèrement ferme. D'après Macedo et al. (1993) la texture comme la flaveur et l'arôme du fromage sont directement dépendants de leur composition (Humidité, protéines, matière grasse, et éléments minéraux).
- L'amertume des produits laitiers est due à la présence de peptides amers. Une fois isolés, ces derniers ne peuvent être identifiés comme étant amers ou non qu'après identification de leurs acides aminés terminaux. Les peptides hydrophobes sont moins présents dans les fromages de lait de brebis que dans le lait de chèvre (Carrera et al., 1995). Du moment que la caséine α S est toujours productrice de plus d'amertume que la β , le taux relativement bas de la première dans le lait de brebis peut expliquer pourquoi les fromages obtenus à partir de ce type de lait sont moins amers que ceux faits à partir du lait de chèvre (Lemieux et Simard, 1992). De plus, le suivi de l'activité protéolytique du lait de brebis au cours de la fabrication fromagère, nous a permis de noter une évolution moins importante que celle enregistrée pour le lait de chèvre.

Chapitre IV: CONCLUSION GENERALE

Le premier objectif fixé pour notre travail était de contribuer à une meilleure connaissance des enzymes d'origine animale; avicole (*Gallus gallus*) et aquatique (*Seriola dumerili* (LIMON)) coagulants le lait par une caractérisation. Une comparaison a été faite par la suite entre les résultats obtenus et les résultats issus de la caractérisation de la présure commerciale, habituellement utilisée comme enzyme coagulante dans l'industrie fromagère.

La caractérisation ne révèle pas une grande différence entre les enzymes étudiées et la présure commerciale; elle nous a permis de déterminer les conditions d'action optimale des enzymes.

Le deuxième objectif de notre étude a consisté en la comparaison de l'aptitude à la coagulation des laits de brebis et de chèvre par les succédanés sus cités, ainsi que l'évaluation de l'influence des extraits enzymatiques du poulet et celui du poisson sur la qualité fromagère. Les résultats obtenus ont été comparés avec ceux de la présure commerciale.

Nous sommes arrivés aux résultats suivants:

- Influence de la coagulation des laits de chèvre et de brebis par les extraits enzymatiques:
 - Le temps de coagulation de la présure est inférieur à celui de l'extrait enzymatique du poulet, lui-même inférieur à l'extrait enzymatique du poisson.
 - Le type de lait influe également sur le temps de coagulation. En effet, le lait de brebis présente un temps de coagulation inférieur à celui du lait de chèvre (sans prendre en considération l'extrait enzymatique utilisé).
- Effet du chauffage et de l'addition du calcium sur les laits :
 - Le traitement thermique affecte la teneur en Calcium pour les deux types de lait utilisé.
 - Une période de maintien à une température ambiante après un chauffage ne permet pas de rétablir complètement les équilibres calciques.
 - L'ajout de Chlorure de Calcium aux laits chauffés augmente leur concentration en Calcium soluble. Mais la dose ajoutée n'est pas directement proportionnelle à la teneur en Calcium soluble du lait.
- Influence du type de lait sur la qualité:
 - La composition des laits utilisés lors de nos essais en composants fromagers, en l'occurrence les protéines et la matière grasse, n'est pas différente de celle rapportée par la bibliographie.
 - la composition chimique des laits varie significativement en fonction du type de lait et des fromages aussi par voie de conséquence ; en effet l'analyse statistique a révélé des différences significatives.

- Le type de lait n'influe pas sur la qualité microbienne. Cette dernière est jugée satisfaisante et conforme à l'hygiène alimentaire.
- Le lait influe sur la qualité sensorielle des fromages puisque d'après les dégustateurs, les fromages fabriqués à partir du lait de brebis présentent des caractéristiques agréables comparées à celles des fromages à base de lait de chèvre et ce, sans prendre en considération la source du coagulant.
- Le taux de tyrosine des fromages coagulés avec l'extrait enzymatique du poisson est supérieur à ceux coagulés avec l'extrait enzymatique du poulet. Celui de la présure présente un taux plus faible.
- Le résultat du suivi de l'activité protéolytique du lait de chèvre, au cours de la fabrication fromagère, montre une évolution plus importante que celle enregistrée pour le lait de brebis.

Les résultats statistiques ont révélé que le rendement fromager ne varie ni en fonction du type de lait ni en fonction de la source d'enzyme utilisée.

A l'avenir, il serait opportun de compléter notre présent travail par d'autres études plus approfondies notamment pour :

- La détermination des temps de raffermissement et de la consistance du coagulum à l'aide du formagraphe ; ceux ci représentent, avec le temps de coagulation, les indices principaux de l'attitude du lait lors de la caséification.
- L'étude des propriétés rhéologiques du coagulum, exprimées par la valeur de résistance à la compression et par la valeur de résistance au découpage, indiquent le degré de fermeté et d'élasticité du caillé.
- L'identification des profils caséiques des laits des différentes races ovines et caprines algériennes, et de déterminer ainsi la meilleure race qui présente une bonne aptitude à la coagulation.

Références bibliographiques:

- ADELAZIZ A., AIT KACI F.(1992)** Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir de lait de vache et de chèvre : « Le Djen », Mémoire d'Ingénieur. I.N.A. EL Harrach. Alger (Algérie).
- AFNOR., (1986)**, Association Française de Normalisation. Contrôle de la qualité des produits laitiers. Recueil de normes françaises, 3^{ème} édition, 286 p.
- ALAIS C., (1974)** Science du lait. Principes des techniques laitières. Ed. Sepaic. Paris. 162-164; 618-619.
- ALAIS C., (1984)** Science du lait, principes des techniques laitières. Ed. Sepaic. Paris. 68p.
- ALAIS C. et LINDEN G., (1987)
- Abrégé de la biochimie alimentaire. Ed. MASSON, 3^{ème} édition, Paris, 142-169.
- ALICHANIDIS E. et POLYCHRONIADOU A., (1996)** Special features of dairy products from ewe and goat milk from the physicochemical and organoleptical point of view. Production and utilization of ewe and goat milk. Brussels. International Dairy Fédération, 21-43.
- ANONYME, (1981)**. Journal officiel de la république française, Méthode officielle pour la détermination de la teneur en chymosine et en pepsine bovine.
- ANONYME, (1993)**. Le lait matière première de l'industrie laitière. C.E.P.I.L. I.N.R.A.- Paris. 394 p.
- ANONYME, (2002)**, Larousse agricole. (09), 374-375.
- ASSENAT L., (1985)** Le lait de brebis. In "laites et produits laitiers vache-brebis-chèvre. Tome 1. Les laits de la mamelle à la laiterie ». Luquet F.M. Ed. Technique et documentation. Lavoisier, 1-93.
- BARBOSA M., (1985)** Serra Da Estrela cheese. Production and utilization of ewe and goat milk. FIL/IDF, 133-134.
- BALCONE.G., OLANO.F., CALVO S., (1996)** Factors affecting the rennet clotting properties of ewe's milk. Journal of agricultural food chemistry., (44). 1993-1996.
- BALL I.K.,(2000)** Caractérisation de la coagulase extraite du latex de figuier *Ficus carica L* . Mem. Ingénieur. I.N.A. EL Harrach. Alger (Algérie).
- BELHAMICHE N., (2000)** Extraction et caractérisation d'une portion d'une protéase coagulante de *Mucor pusillus* . Mem. Ingénieur. I.N.A. EL Harrach. Alger (Algérie).
- BENGANA M., (2000)** Caractérisation des enzymes protéolytiques (Pepsine/ Chymosine) isolées à partir des caillettes de bovins adultes. Thèse magister. I.N.A. EL Harrach. Alger (Algérie).
- BENALI M., (2001)** Caractérisation des protéases coagulantes extraites du proventricule du poulet *Gallus gallus* . Mem. ingénieur. I.N.A. EL Harrach. Alger(Algérie).

- BREWER P., HELBIG N., HAARD N.D. (1984)** Atlantic cod pepsine characterisation and use as rennet substitute. In: Biotechnologie. Coord. Scriban R. Ed. Tec. et doc. Lavoisier. 4^{ème} Ed. pp. 355-356.
- BRULE G. ET LENOIR J., (1987)** Les mécanismes généraux de transfert du lait. In: le Fromage. Coord. Eck A. Ed. Tech. Et doc. Lavoisier. Paris. pp. 1-21.
- BRULE G., (1987)** Les minéraux. In « le lait matière première de l'industrie laitière ». Jacquet J. Ed. Technique et documentation. Lavoisier, 87-98.
- CARRERA E., GAYA P. MEDINA M. et NUNEZ M., (1995)** Formation of hydrophobic peptides during the manufacture of cheese from ewe, goat and cow milk. Production and utilization of ewe and goat milk. Proceeding of the IDF. CIRVAL Seminar. Greece, 19-21 october, 191-193.
- CHEFTEL J.C. et CHEFTEL H., (1977)** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Vol. 1, Ed tech. Doc. Lavoisier. Paris. 35-62.
- CHEFTEL J.C. et CHEFTEL H., (1980)** Introduction à la biologie des aliments. Tome 2. Ed. tech. Doc. Lavoisier. 54-60.
- DEHOVE R.A., (1990)** La réglementation des produits, qualité et répression des fraudes. Ed. Lamy. France. 550-560.
- DALGLEISH D.G., (1990)** The effect of denaturation β -lactoglobulin on renneting. A quantitative study, *Milchwissenschaft* (45). 491-494.
- DE ROISSAT H., MIETTON B., DESMAZEAUD M. ET WEBER F.:(1994)** Transformation du lait en fromagerie. In bactéries lactiques. DE ROISSAT H. ET LUQUET F.M. Ed. Loriga. Tome 2, 55-780.
- ECK A., (1987)** Le fromage. 2^{ème} ed. Technique et Documentation, 36-45.
- ECK A., (1990)** Le fromage. Ed. tech. Doc. Lavoisier. 2^{ème} édition, p.539.
- FAO, (1995)** Lait et produits laitiers dans la nutrition humaine. www.fao.org.
- FERNANI L., (2002)** Obtention et caractérisation d'une protéase coagulant le lait à partir de graines de melon *Cucumis melo*. Thèse magister. Univ. Boumerdès (Algérie).
- FERNANDEZ – SAGUERO J. ET SANJUAN E., (1999)** Influence of vegetable rennet on proteolysis during ripening. *J. Dairy Res.*, 177-183.
- FIL/ IDF 36, 1966** Détermination de la teneur en calcium du lait. Fédération Internationale de Laiterie/ International Dairy Federation. n° 42.
- GARNOT P. et MARTIN P., (1979)** Présure, composition, activité, son rôle en fromagerie. *La technique Laitière*. 930(3). 27-29.
- GARNIER J., MUCQUOT G., RIBADEAU S. B. et MAUBOIS J.B., (1968)** Coagulation du lait par la présure: aspect scientifique et technologique. *Ann. Nutr. Alim.* 22.
- GILDBERG A., (1988)** Aspartic protéases in fishes and aquatic invertebrates. In: Extraction et purification de protéase coagulant le lait en vue de leur substitution à la présure traditionnelle: essai d'obtention d'une protéase issue d'estomac de poisson (*Seriola dumerili*). Coord. Maachou D., 2004.

- GOURSAUD J. (1993)** Réacteurs traditionnels à enzymes libres: cas de l'industrie laitière. In Biotechnologie. Coord. Scriban R. 4^{ème} Ed. 391-419.
- GORDIN S., ROSENTHAL I., BERNSTEIN S. et NAVROT C., (1976)** Pepsine de poulet utilisée comme succédané de la présure de veau dans la production du fromage. In: Recherche sur les activités protéasiques des extraits de *Cynara scolymus*, du latex de *Ficus carica* et du proventricule de *Gallus gallus* en vue de leur utilisation en technologie fromagère. Coord. Morsli A., 1997.
- GUIRAUD et GALZY., 1980.** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Ed. l'usine nouvelle. Paris, 237p.
- HAARD N.P., HELBIG R. et FELTHAM L. A. V., (1981)** Porc. Workshop of the laborador coastal and offshore region. In: Extraction et purification de protéase coagulant le lait en vue de leur substitution à la présure traditionnelle: essai d'obtention d'une protéase issue d'estomac de poisson (*Seriola dumerili*). Coord. Maachou D., 2004.
- HAARD N.F., SHAMSSUZAMAN K., BREWER P. et ARUNCHALAM K., (1982)** Enzymes from marine organisms as rennet substitutes. In: Extraction et purification de protéase coagulant le lait en vue de leur substitution à la présure traditionnelle: essai d'obtention d'une protéase issue d'estomac de poisson (*Seriola dumerili*). Coord. Maachou D., 2004.
- HACINI N., (2007)** Filière lait et risques alimentaires. Magvet : Magasine de la production et de la santé animales, 7^{ème} Salon International de l'élevage et du machinisme agricole . 13-15 mai 2007. 22-29.
- HAENI J.P., FRAGNIERE C., (2004)** La Fromageabilité du lait. Agroscope Liebefeld-Posieux. ALP Forum, N° 17. 1-11.
- HARDY H., (1987)** L'activités de l'eau et le salage des fromages. In « le fromage ». ECK A. Ed. Techniques et documentation. LAVOISIER, 37-40.
- HAMAMMA A. C. et BAYI M., (1991)** Composition and microbiological profil of two marocain traditional products : raid and j'ben. J. Sci. technology, 44, 15-20.
- HOLT C., (1995)** effect of heating and cooling on the milk salts and their interaction with casein, in : heat –induced changes in milk, special issue 9501, Dairy Fed, Brussels, Belgium. 1995. 105-133.
- JELIN P., RENZ-SCHAUEN., (1989)** Qurg manufacturing innovation and their effect on quality nutritive value, and consumer acceptance. Food Technol., 24, 74-80.
- JOFFIN , (1985)** Microbiologie alimentaire. Centre Régional de documentation pédagogique. Ed. Paris. 115.
- J.O.R.A., (1998),** Normes microbiologiques. Journal Officiel de la République Algérienne, 35, pp. 26.
- JOURN ET CHILLIARD, (1985)** Influence de l'alimentation sur la composition du lait. 1. Taux butyreux : facteurs généraux. *Bull. Tech CRZV Theix INRA*, 60, 13-23.
- KAMOUN P., (1977)** Appareils et méthodes in biochimie. Ed. Flammarian. Paris. 80.
- KOPELMAN I. J. ET COGAN U., (1978)** Ultrafiltration et lyophilisation des protéases coagulantes. In: Recherche sur les activités protéasiques des extraits de *Cynara*

scolymus , du latex de *Ficus carica* et du proventricule de *Gallus gallus* en vue de leur utilisation en technologie fromagère. Coord. Morsli A., 1997.

LEMENS P., (1985) Propriétés physico-chimiques et nutritionnelles. In "les laits- de la mamelle à la laiterie". Luquet F.M., tome 1, Ed. Technique et documentation, 1-18.

LEMENS., (1985) Propriétés physico-chimiques nutritionnelles et chimiques .in : Lait et produite laitiers : vaches, brebis, chèvre. Ed. Luquet, F.M. Tech. Et Doc.

(Lavoisier). Paris- France.

LENOIR J., (1985) Cheese and whey in industrial enzymology. Second édition. Edited by Godfrey and west., 135-153

LENOIR J., LAMBERET G., SCHMIDT J.L. et TOURNEUR C., (1985) La maîtrise du biocatalyseur fromage. Biofuture., (12). 23-50.

LENOIR J. et SHEID N., (1987)

L'aptitude à la coagulation par la présure. In « le fromage », ECK. Ed. Technique et documentation, 139-149.

LENOIR J. et VEISSEYRE R., (1987) La coagulation des laits. In « le lait, matière première de l'industrie laitière ». CFPCIL, Centre de Formation et de perfectionnement des cadres des industries du lait. INRFrance. 489-497.

LEJOUEN, (1977) La fabrication du fromage de chèvre fermier. Ed. Société de presse et d'édition. **Paris. 250.**

LINDEN G. et LORIENT D., (1994) Biochimie agroalimentaire: valorisation alimentaire de la production agricole. Ed. Masson., Paris, 413p.

LUQUET F.M.,(1985) Lait et produits laitiers, vache, brebis, chèvre. Tome II. Ed. Tech. Doc. Apria. France. 180-185.

MAACHOU D., (2004) Extraction et purification de protéase coagulant le lait en vue de leur substitution à la présure traditionnelle: essai d'obtention d'une protéase issue d'estomac de poisson (*Seriola dumerili*). thèse magister. Univ. Boumerdès (Algérie).

MACEDO A.C., MALCATA F.X., et OLIVIERA J.C., (1993) Thetechnology, chemistry and microbiology of Serra cheese : a review. J. Dairy Sci., 76, 1725-1739.

MACEDO A.C., COSTA M.L., et MALCATA F.X., (1996) Assessment of prteolysis and lipolysis in Serra cheese ; effect of axial cheese location, ripening time and lactation season. Lait, 76, 363-370.

MACEDO A.C. et MALCATA F.X., (1997) Changes of mineral concentrations in Serra cheese during ripening and throughout the cheese making season. J. Sci. Food agric. 74, 433-447.

MAHAUT M., JEANTET R., BRULE G., (2000) Initiation a la technologie fromagère. Ed. Techniques du lait,135-150.

MAHAIA M.A., EL KHADRAGY S.M., (1998) Physico-chemical characteristics and rennet coagulation time of ultrafiltered goat milk, Food Chem. –é, 257-263.

MAHON M.C. et BROWN R.T.,(1985.) Chymosine, présure, protéases microbiennes et pepsine. Effet du type d'enzyme sur la coagulation du lait. Journal dairy sci.,68 (3). 628-632

- MATOUB L., (2000)** Essai de purification et de caractérisation d'une coagulase produite par la souche locale de *Bacillus subtilis* sélectionnée (LC33). Thèse magister. I.N.A. EL Harrach..Alger (Algérie).
- MARSHALL R.J., (1986)** Increasing cheese yield by high heat treatment of milk. J. Dairy Res. 53. 313-322.
- MICHALET –DOREAU B. et SAUVANT D., 1989.** Influence de la nature du concentré, céréales ou pulpe de betterave, sur la digestion chez les ruminants. INRA Prod. Anim.,2 (4), 35-244.
- MIETTON B., DESMAZEAUD M., DE ROISSART H., et WEBER F., (1994)** Transformation du lait en fromage. In « bactéries lactiques ». tome 2. De ROISSART H., et Luquet F.M. Loriga. 614p.
- MOATSOU G., SAMOLADA M., KATSABEKI A., ANIFANTAKIS E., (2004)** Casein fraction of ovine milk from indigenous greek breeds. Lait 84, 285-296.
- MORSLI A., (1997)** Recherche sur les activités protéasiques des extraits de *Cynara scolymus*, du latex de *Ficus carica* et du proventricule de *Gallus gallus* en vue de leur utilisation en technologie fromagère. Thèse magister. I.N.A. EL Harrach.. Alger (Algérie).
- MORGAN F., BODIN J.P., GABORIT P., (2001)** Lien entre le niveau de lipolyse du lait de chèvre et la qualité sensorielle des fromages au lait cru ou pasteurisé. Lait 81, 743-656.
- MOUZALI L.,(2001)** La fleur du cardon sauvage *Cynara Cardunculus* utilisé comme agent coagulant du lait: caractérisation et extraction enzymatique. Thèse magister. I.N.A. EL Harrach.. Alger (Algérie).
- NUNEZ M., FERNANDEZ DEL POZO B.F., RODRIGUEZ-MARIN M.A., GAYA P., et MEDINA M., (1991)** Effect of vegetable rennet and animal rennet on chemical, microbiological, rheological and sensory characteristics of la Serena cheese. J. Dairy Res., 58, 511-519.
- OTENG-GYAN., (1980)** Introduction à la biochimie alimentaires dans les pays chauds. Ed. Technique et documentation, Paris, 260p.
- PETRANXIENE D. ET LAPIED L., (1981)** Qualité bactériologique du lait et les produits laitiers. Analyse et tests. Ed. tech. doc.; Lavoisier, 226p.
- PIEN J., (1974)** Etude de la coagulation du lait par la présure. Technique du lait, 21-29.
- PIRISI., (1994)** Composition et coagulation du lait de brebis. Lait, 74 : 425 – 442.
- POULIOT Y. BOULET M., PAQUIN P., (1989)** Observations on the heat induced salt balance changes in milk. II. Reversibility on cooling. J. Dairy Res. 56, 193-199.
- PYNE G.T., (1962)** Some aspects of the physical chemistry of the salts of milk. J. Dairy Res. 29. 101-130.
- RAMET J.P., (1984)** Contribution à l'étude de l'influence des facteurs du milieu sur coagulation enzymatique du lait reconstitué. Technique du lait, 1-13.
- RAMET J.P., (1987)** La présure et les enzymes coagulantes. In: le fromage. Coord. Eck A., Ed. tech. et Doc. Lavoisier. Paris. 101-106.

- RAMET J.P., (1993)** La technologie des fromages au lait de dromadaire *Camelus dromaderius*. Production et santé animale. FAO. Genève.
- RAMET J.P. ET HARDY J., (1972)** Les enzymes coagulantes en fromagerie. Techniques du lait, 7-17.
- RAMEUF F., LENOIR J. et DUBY C., (1989)** Etudes des relations entre les caractéristiques physico-chimiques des laits de chèvre et leur aptitude à la coagulation par la présure. le lait 69. 499-518.
- RAMEUF F., COSSIN., DERVINC., LENOIRE J., TOMASSONE., (1991)** Relation entre les caractères physico-chimiques des laits et leurs aptitude fromagère. Rev. Lait, 71, 397-421.
- RAMEUF F., ricordeau g., brignon g., grosclaude f., (2001)** Influence de la teneur en caséine # sur les caractéristiques physico-chimiques et l'aptitude à la coagulation enzymatique du lait de chèvre. Lait 81, 731-442.
- RAYNAL K. et RAMEUF F., (1998)** The effects of heating properties of milk: comparison between caprine, ovine and bovine milk, Dairy J. 695-706.
- REED G., (1966)** Enzyme in food processing. Food science and technology. Ed. Academic Press New York and London. 155-160.
- REIGNIER J.,(1980)** Enzymes coagulantes fongiques issues de *Mucor miehei*. In: Biotechnologie. Coord. Scriban R., Ed. Tec. et doc. Lavoisier. 4^{ème} Ed.
- RENNER E., (1987)** Nutritional aspect of cheese. Milk in vital force, J. Dairy Sci., 43, 179-186.
- ROZIER J., CARLIER V., et BOLNOT F., (1985)** Bases microbiologiques de l'hygiène des aliments. Paris, Ad., Sepaic.
- SCRIBAN R., (1993)** Biotechnologie. Ed. Tec. et doc. Lavoisier. 4^{ème} Ed. 904.
- SCHAMSUZZAMAN K. ET HAARD N.D., (1985)** Milk clotting and cheese making properties of a chymosine like enzyme from harp seal mucosa. In: Biotechnologie. Coord. Scriban R., Ed. Tec. et doc. Lavoisier. 4^{ème} Ed. 355-356.
- SERRES L., AMARILGO S., PETRANXIEN D. (1973)** Contrôle de la qualité des produits laitiers. Direction des Services Vétérinaires. Ministère de l'Agriculture (France), 198-223
- SHALABI S.I., FOX P.F., (1982)** Influence of pH on the rennet coagulation of milk. J. Dairy Res. 49. Pp. 153-157.
- SINGH H., (1972)** Heat-induced changes in casein. Including interactions with whey proteins, in/ heat-induced changes in milk, special issue 9501, Int. Dairy Fed, Brussels, Belgium. Pp. 86-104.
- SOUSSA et MALCATA., (1997)** Comparative biochemical evolution during ripening of bovin, ovine and caprine cheese manufactured with extract of flowers of *Cynara Cardunculus* L. Lebensm unters forsch A., 97-103.
- STORRY J.E., GRANDISON A.S., MILLARD D., OWEN A.J., et FORD G.D., (1983)** Chemical composition of and coagulating properties of renneted milks from different breeds and species of ruminant., J. Dairy Res. 50. 215-229.

- TSOULI J., (1979)** Etude d'une protéase coagulante extraite de *Cynara scolymus* et de *Cynara cardunculus*, adaptation de la méthode conductimétrique pour la détermination du temps de coagulation du lait et le contrôle de fabrications. Thèse Doctorat, Univ. C. Bernard, Lyon, 1-62.
- VAN HOOYDONK A. C. M., HAGEDOORN H.G., et BOERRIGTER I.J. (1986)** pH induced physic-chemical changes of casein micelles in milk and their effect on renneting. Effect of pH on renneting of milk, Neth. Milk Dairy J. Pp. 297-313.
- VAN HOOYDONK A. C. M., HAGEDOORN H.G., BOERRIGTER I.J. (1987)** The renneting properties of heated milk, Neth. Milk Dairy J. 41. 3-18.
- VASSAL L., ET GRIPON J.C., (1984)** L'amertume des fromages à pate molle de type Camembert : role de la présure de *Penicillium caseicolum*, moyens de la contoler. Le lait, 64, 397-417.
- VEISSEYRE R., (1975)** Technologie du lait. Récolte, traitement et transformation du lait, pays tempérés, pays chauds. La maison rustique, 3^{ème} édition. Paris. 696.
- VERDIER- METZ ISABELLE, JEAN-BAPTISTE COULON, PHILIPPE PRADEL, (2001)** Relationship between milk fat and protein contents and cheese yield. Anim. Res., n°50, 365-371.
- ZOON P., VAN VLIET T., ET WALSTRA P., (1988)** Rheological properties of rennet-induced skim milk gels. Effect of calcium and phosphate, Neth. Milk. Dairy J. 42. Pp. 295-312.

Annexes

ANNEXE 1 Préparation des solutions:

1- Solution d'extraction : solution tampon (KAMOUN P., 1977):

- Tampon d'acétate de sodium à 0,1M
 - **Solution A:** Acétate sodique à 0,1N: 8,204 g de (C₂H₃O₂ Na)

Ou 13,61g de (C₂H₃O₂ Na 3H₂O)/l

- **Solution B:** Acide acétique à 0,1N: 6,005g/l

Ou

Acide acétique: 5,70 ml.

Eau distillée : 1000 ml.

- Pour avoir une solution tampon à pH 5:

On mélange: 67,8 ml de la solution A + (100 - 67,8)ml de la solution B

2- Solution pour la clarification:

- Solution de sulfate d'aluminium Al₂ (SO₄)₃ 1M:
 - Sulfate d'aluminium342 g.
 - Eau distillée1000ml.
- Solution de sulfate dissodique Na₂ SO₄ 1M:
 - Sulfate dissodique.....142g.
 - Eau distillée1000ml.

3- Solution pour la préparation du substrat: chlorure de calcium Ca Cl₂ à 0,01M:

- CaCl₂.....1,470g.
- Eau distillée1000ml.

4- Solution pour le dosage des protéines:

- La soude Na OH (1N)
 - Na OH.....40g.
 - Eau distillée.....1000ml.
- Solution de carbonate de sodium Na₂ CO₃ anhydre à 2% (P/V) dans Na OH à 0,1N
 - Na₂ CO₃ anhydre 2g
 - NaOH (0,1N)100ml
- Sulfate de cuivre Cu SO₄ 5 H₂O
 - Cu SO₄ 5 H₂O..... 0,5g.

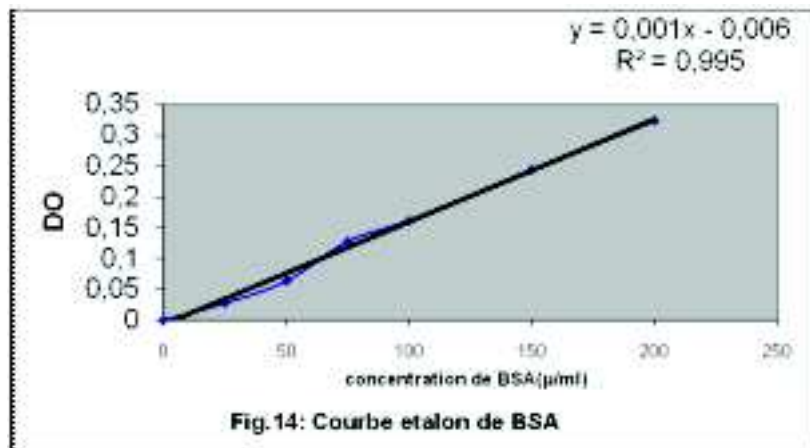
- Eau distillée100ml
- Tartrate de Na + K à 1%.
 - Tartrate..... 1g.
 - Eau distillée 100ml.

ANNEXE 2

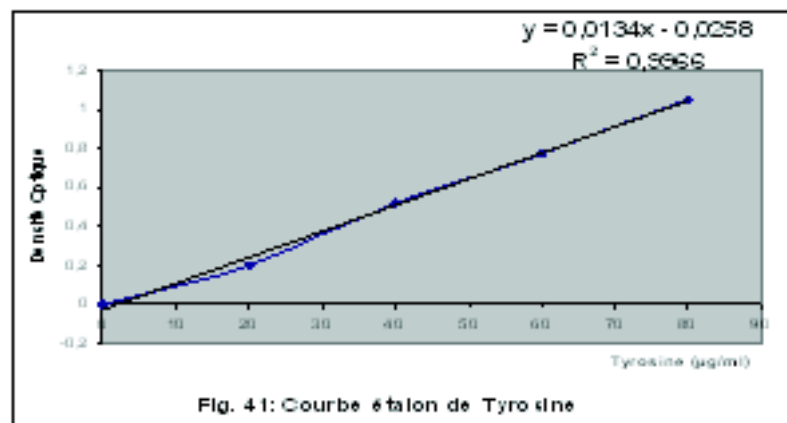
		Concentration finale en sulfate d'ammonium (% de saturation)																
		10	20	25	30	33	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	90	100
		Grammes de sulfate d'ammonium solide à ajouter à 1 litre de solution																
Concentration initiale en sulfate d'ammonium (% de saturation)	0	56	114	144	176	196	209	243	277	313	351	390	430	472	516	561	662	767
	10		57	86	118	137	150	183	216	251	288	326	365	406	449	494	592	694
	20			29	59	78	91	123	155	189	225	262	300	340	382	424	520	619
	25				30	49	61	93	125	158	193	230	267	307	348	390	485	583
	30					19	30	62	94	127	162	198	235	273	314	356	449	546
	33						12	43	74	107	142	177	214	252	292	333	426	522
	35							31	63	94	129	164	200	238	278	319	411	506
	40								31	63	97	132	168	205	245	285	375	469
	45									32	65	99	134	171	210	250	339	431
	50										33	66	101	137	176	214	302	392
	55											33	67	103	141	179	264	353
	60												34	69	105	143	227	314
	65													34	70	107	190	275
70														35	72	153	237	
75															36	115	198	
80																77	157	
90																	79	

Table de concentration en sulfate d'ammonium

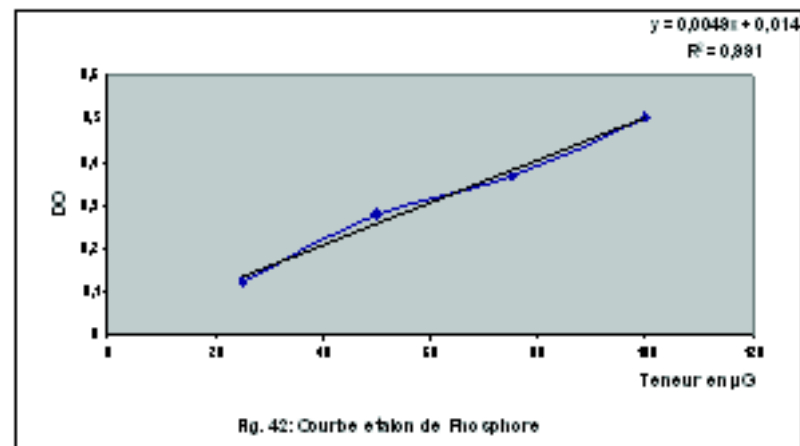
ANNEXE 3



1/ Courbe de BSA



2/ Dosage de la Tyrosine - Courbe Etalon



3/ Dosage du phosphore - Courbe Etalon

ANNEXE 4

Dosage des protéines totales (méthode de Lowry):

Le dosage des protéines dans les solutions enzymatiques est effectué par la méthode de Lowry. C'est une méthode colorimétrique par référence à une courbe étalon établie à partir d'une solution de sérum albumine bovine (B.S.A). La densité optique mesurée au spectrophotomètre à 750 nm.

1-1-Mode opératoire:

Réactifs:

Solution alcaline A: solution de Na₂CO₃ anhydre à 2% dans le NaOH.

Solution cuivrique B: 2ml de CuSO₄ 5H₂O à 0,5% + 2ml de tartrate de Na et K à 1%.

Solution C: mélange de 50ml de A + 1ml de B.

Solution D: réactif de Folin-Ciocalteu dilué au ½ avec l'eau distillée.

Protocole expérimental:

Pour 200µl de solution enzymatique, on ajoute 1ml de la solution C. On laisse reposer 10 mn à température ambiante, puis on additionne au mélange réactionnel, 100µl du FOLIN-CIOCALTEU dilué au ½, après agitation rapide, on laisse incuber 30mn à température ambiante et à l'obscurité. Une coloration bleue apparaît correspondant à la réaction de cuivre par l'acide phosphomolibdique; la densité optique est par la suite mesurée au spectrophotomètre.

La concentration en protéine (mg/ml) est déterminée par référence à une courbe étalon établie à partir d'une solution standard de sérum albumine bovine (B.S.A.) à 200µg/ml.

1-2-Courbe d'étalonnage:

Solution étalon : BSA à raison de 200µg/ml dans de l'eau distillée.

Gamme étalon : des solutions diluées de concentrations croissantes: 25, 50, 57, 100, 150, 200 µg/ml sont préparées à partir de la solution étalon dans l'eau distillée.

Lecture: la lecture est faite au spectrophotomètre à 750 nm contre un blanc contenant de l'eau distillée.

2-Concentration des protéines (µg/µl):

V(µl) EBB	20	60	90	100	120	160	200
poisson	0,088	0,264	0,396	0,441	0,529	0,705	0,882
poulet	0,136	0,408	0,612	0,68	0,816	1,088	1,36
présure	0,025	0,074	0,110	0,123	0,147	0,196	0,246

ANNEXE 6

Table de Mac CRADY

Nombre de tube positifs dans chacune des 03 dilutions consécutives	Nombre de germes
000 001 010 011 020 100	0,0 0,1 0,5 0,5 1,0 920,6 2,6 2,6 2,0 2,0 3,2 0,2 2,0 3,2 1,2 2,2 2,0 2,2 2,0 20,0 20,0 70,0 110,0

ANNEXE 7

Dosage du Calcium du Fromage et lait:

- Pour le lait FIL/IDF 36, 1966:

Mode opératoire :

Porter l'échantillon à $20 \pm 2^\circ\text{C}$ jusqu'à 40°C si la dispersion de la matière grasse n'est pas homogène, puis mélanger doucement et refroidir à $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

- Peser 20 g de lait dans une fiole jaugée de 50 ml,
- Ajouter, une solution aqueuse d'acide trichloracétique à 20% jusqu'à trait de jauge. Agiter vigoureusement pendant quelques secondes et Laisser reposer 30 minutes.
- Filtrer sur papier filtre sans cendres; le filtrat obtenu doit être limpide.

Dans un tube de centrifugeuse cylindrique introduire:

- 5 ml du filtrat limpide
- 5 ml d'acide trichloracétique à 12%,
- 2 ml d'une solution aqueuse saturée d'oxalate d'ammonium,
- 2 gouttes de solution alcoolique de rouge de méthyle et 2 ml d'acide acétique à 20%.

Ajouter peu à peu une solution d'ammoniaque en agitant, jusqu'à l'obtention d'une coloration jaune pâle. Ajouter alors quelques gouttes d'acide acétique à 20% jusqu'à coloration rose.

Laisser reposer 4 heures à la température ordinaire, puis diluer à 20 ml avec de l'eau et centrifuger 10 minutes à 1.400 g.

Procéder à une décantation du liquide clair surnageant à l'aide d'un dispositif à succion puis rincer les parois du tube de centrifugation (sans remettre en suspension le culot d'oxalate de calcium) avec 5 ml de solution d'ammoniaque diluée. Centrifuger 5 minutes à 1.400g. et refaire l'opération trois fois.

Après avoir enlevé par siphonage la dernière eau de lavage, ajouter sur le culot d'oxalate de calcium 2 ml d'une solution aqueuse d'acide sulfurique et 5 ml d'eau distillée, puis placer les tubes au bain-marie bouillant jusqu'à dissolution totale de l'oxalate. Procéder au titrage avec une solution de permanganate de potassium 0,02 N, jusqu'à obtention d'une coloration rose persistante. La température doit rester supérieure à 30°C pendant le titrage.

Effectuer un essai à blanc avec tous les réactifs en remplaçant la prise d'essai du lait par 20 ml d'eau distillée.

- Lactosérum et fromage (Serres et al., 1973):

Dans une fiole jaugée de 100ml sont introduit:

- 20 ml de lactosérum ou 2g de fromage,
- 40 ml d'eau déminéralisée,

- 10 ml d'acide trichloracétique à 20%.

Le mélange est agité, porté à ébullition au bain marie pendant 7mn, puis refroidi et complété à 100 ml avec de l'eau distillée et enfin agité de nouveau puis filtré.

Le filtrat obtenu est dilué avec l'eau distillée au 1/50^{ème} pour l'échantillon de fromage.

La solution est ensuite pulvérisée dans la chambre où se fait la lecture sur l'échelle du galvanomètre.

Une courbe étalon a été établie et dosé dans les mêmes conditions.

La teneur en calcium est exprimée en mg par litre de lait, elle est obtenue directement par la lecture sur la courbe étalon, en tenant compte de toutes les dilutions de la prise d'essai.

ANNEXE 8

Dosage du Phosphore (AFNOR, 1980)

- Le lait:
- Mode opératoire:
 - Minéralisation:

10 g de lait sont évaporés à sec, dans une capsule au dessus d'un bain marie bouillon, puis calciné dans un four entre 500 et 550°C, jusqu'à l'obtention d'une cendre blanche. Cette dernière est dissoute avec 2 à 3 ml d'acide chlorhydrique (1N), puis diluées avec de l'eau distillée jusqu'à 100 ml.

Après agitation et filtration, le filtrat est dilué au 1/100^{ème}. On prélève 2ml de ce dernier, auquel on ajoute 25 ml de la solution de molybdate- acide ascorbique. Le mélange est ensuite complété à 50 ml et placé dans un bain marie bouillon pendant 15mn.

L'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 820 nm, dans un délai ne dépassant pas une heure, après refroidissement à une température ambiante.

Une courbe étalon a été établie dans les mêmes conditions opératoires.

- Pour le Fromage:
 - Mode opératoire:
 - * Minéralisation:

0,5g de fromage et 4ml d'acide sulfurique (d= 1,83) sont introduits dans un matras avec un régulateur d'ébullition (billes en verre).

Le matras est chauffé jusqu'à disparition de la mousse, le mélange après refroidissement à une température ambiante est additionné de quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène à 30 V et chauffé jusqu'à disparition de la mousse puis refroidis.

L'opération est répétée jusqu'à décoloration complète du contenu du matras. Ce dernier est ensuite rincé avec 2 ml d'eau distillée et son contenu est à nouveau chauffé jusqu'à évaporation complète de l'eau, puis porté à ébullition pendant 30mn.

-
- Après refroidissement, le contenu du matras est dilué jusqu'à 100ml.
 - 1ml de cette dilution est prélevé et additionné de 25 ml d'eau.
 - 20ml de solution de molybdate acide ascorbique.

Le mélange est complété à 50 ml puis placé dans un bain marie pendant 15 mn.

L'absorbance de la solution est mesurée à une longueur d'onde de 820 nm, dans un délai ne dépassant pas une heure, après refroidissement à une température ambiante.

Une courbe étalon a été établie dans les mêmes conditions opératoires.

ANNEXE 9

Dosage des Chlorures (AFNOR, 1980):

- Mode opératoire:

Peser 2g de l'échantillon et ajouter 25 ml de la solution de nitrate d'argent (0,1N) et 25 ml d'acide nitrique à 1,40 g/ml puis bien mélanger.

Chauffer jusqu'à ébullition, et ajouter 10ml de la solution de permanganate de potassium (solution saturée) et maintenir le mélange réactionnel à ébullition modérée. Si le mélange réactionnel se décolore, effectuer une nouvelle addition de la solution de permanganate de potassium. La présence d'un excès de permanganate indique que la destruction de la matière organique est complète. L'excès du permanganate est éliminé par addition d'une petite quantité de glucose.

Ajouter 100 ml d'eau distillée froide et 2 ml de solution de sulfate double ammonium et de fer et mélanger soigneusement.

Titre immédiatement l'excès de nitrate d'argent avec la solution de thiocyanate d'ammonium(0,1N) jusqu'à l'apparition d'une coloration rouge-brun persistante (au moins 30 secondes).

Faire un essai à blanc avec 2ml d'eau à la place de 2g de fromage.

ANNEXE 10

Définition	Synonymes ou adjectifs qui indiquent une différence d'intensité mais non de nature
Mou : par opposition à dur.	Tendre
Dur : qui offre une résistance à la mastication.	Ferme
Souple : qui supporte sans se rompre à une certaine déformation.	Elastique, caoutchouteux, Compact
Friable : qui se désagrège sous l'effort de mastication	Cassant
Granuleux : qui présente des petits grains plus ou moins durs.	Farineux, sableux, grumeleux
Onctueux : homogène quant à la structure de la pâte.	Moelleux, fondant, pateux, collant.
Rêche : sui donne l'impression de présenter Etouffant.	Rapeux, rugueux, sec, s'avale difficilement.
Glissant : par opposition à rêche, qui s'avale facilement.	Fluide, gras, lisse.

2. Echelle utilisée pour l'appréciation de la texture et du goût :

- 0 caractère absent (non reconnu)
- 1 caractère reconnu – intensité faible.
- 2 caractère reconnu – intensité moyenne.
- 3 caractère reconnu – intensité forte.
- 4 caractère reconnu – intensité très forte.

Fiche des termes utilisés pour décrire la texture

ANNEXE 11

Fiche : Analyse de la texture

Nom :

Date :

1. Aspect

Caractère étudié	0	1	2	3	4
Mur	0	1	2	3	4
Plâtreux	0	1	2	3	4
Coulant	0	1	2	3	4
Croutage	0	1	2	3	4

2. Sensation dans la bouche

Deux adjectifs de sens opposés servent à décrire le même caractère.

Ceci a pour but de permettre une description complète des échantillons hétérogènes. Dans le cas où l'échantillon est homogène, il suffit de remplir la ligne correspondant à l'adjectif approprié, l'autre étant automatiquement noté 0.

Dureté	Mou	0	1	2	3	4
	Dur	0	1	2	3	4
Cohesion	Souple	0	1	2	3	4
	Friable	0	1	2	3	4
Structure de la pâte	Onctueux	0	1	2	3	4
	Granuleux	0	1	2	3	4
Sensation sur la muqueuse	Glissant	0	1	2	3	4
	Rêche	0	1	2	3	4

ANNEXE 12

Fiche : Analyse du goût

Nom :

Date :

Caractère étudié :

1. Amer	0	1	2	3	4
2. Sucré	0	1	2	3	4
3. Salé (Fromage normalement salé : noté 2)	0	1	2	3	4
4. Acide, aigre, petit lait	0	1	2	3	4
5. Piquant, acide gras, chèvre	0	1	2	3	4
6. Ammoniacal	0	1	2	3	4
7. Modification de la graisse					
Rance	0	1	2	3	4
Huileux/gras	0	1	2	3	4
Savon	0	1	2	3	4
8. Note de qualité	0	1	2	3	4

ANNEXE 13

Lactosérum issu du lait de Brebis (limpide)



Lactosérums issus du lait de chèvre



Limon (*Seriola dumerili*)



ANNEXE 15

Fromages obtenus à partir du lait de Brebis

1/ Coagulés avec l'extrait enzymatique du poulet



2/ Coagulés avec l'extrait enzymatique du poisson



3/ Coagulés avec la présure



Photos des Lactosérums et du Limon