



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABBES LAGHROUR – KHENCHELA –

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE

**Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de

**Master Académique**

**Option : Biochimie appliquée**

**Thème:**

**Optimisation des conditions de coagulation du  
fromage frais traditionnel « Jben »**

**Présenté par:**

**Djeffal Kotr annada**

**Soutenu le : 20/06/2018**

**Jury de soutenance :**

**Président : Dr.Merabti R.**

(M.C.B) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

**Examineur : M. Abaidia A.**

(M.A.A) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

**Encadreur : M. Boussaa A.**

(M.A.A) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

**Invité: Pr. Boummaza A.**

(Professeur) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

**Invité: Dr. Ferroudj S.**

(M.C.B) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

**Invité: M. Badis Z.**

(M.A.A) Université Abbes Laghrou – Khenchela-

**Promotion : Juin 2018**

## REMERCIEMENT

En préambule à ce mémoire nous remerciant ALLAH qui nous aide et nous donne la patience et le courage durant ces longues années d'étude.

Mes remerciement les plus chaleureux et respectueux vont au Dr. Merabti R. l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire et M. Abaidia A. Pour examiner

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude au Professeur Boummaza C. d'avoir pris de son temps pour m'aider dans le cadre de ce travail.

J'exprime mes profonds remerciements à monsieur Boussaa

Abdelhalim, Je suis Vraiment chanceuse de vous avoir comme promoteur, pour ta grande disponibilité, ton écoute et ton suivi tout au long de ce travail.

Ainsi que pour ta patience et sa compréhension des situations diverses et variées tout au long de l'élaboration de ce travail.

*j'adresse mes remerciements au Professeur Boummaza C. pour la réalisation de travaille expérimentale dans leur laboratoire de recherche. Sans il, je n'aurais pas pu développer et valider la partie spectroscopie infrarouge de mon travail. Ses conseils, sa prévenance et ses disponibilités sont la meilleure preuve de l'intérêt porté à ce travail.*

*Je tiens à exprimer ma sincère gratitude aux Dr.Farroudj S. et M.Badis Z d'avoir accepté notre invitation.*

On n'oublie pas nos parents pour leur contribution, leur soutien et leur patience.

Merci à tous et à toutes.

## DÉDICACES

Je dédie ce mémoire

*A ma mère Halima , qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.*

*A mon père Abdlhamide , qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.*

*A mes frères qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité..*

*A mes professeurs qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis.*

*A la mémoire de mon grand père paternel, la mémoire de ma grand-mère parenal qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur.*

*je vous dédie aujourd'hui ma réussite, ma famille et mes amies qui n'ont cessé de m'encourager*

*A tous mes professeurs pour leurs disponibilité et conseils.*

## Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

### Synthèse bibliographique

Introduction ..... 01

### Chapitre I : Généralités sur le lait

I.1. Définition..... 03

I.2. Composition du lait..... 03

I.2.1. Eau..... 04

I.2.2. La matière grasse..... 04

I.2.3. Les protéines..... 05

I.2.3.1. Protéines solubles ou protéines du lactosérum..... 06

I.2.3.2. Protéines insolubles (la caséine)..... 07

I.2.3.2.1. Définition ..... 07

I.2.3.2.2. Composition minérale et protéique des micelles..... 07

I.2.4. Matière minérale..... 09

I.2.5. Le lactose..... 10

I.2.6. Les vitamines..... 10

I.2.7. Enzymes..... 11

### Chapitre II : Technologie fromagère

II.1. Définition..... 12

II.2. Le dégazage..... 12

II.2.1. Les principales phases de fabrication du fromage..... 12

II.2.2. Nettoyage du lait par filtration statique ou centrifuge..... 12

II.2.3. La standardisation..... 12

II.2.4. L'homogénéisation..... 12

II.2.5. Pasteurisation..... 13

II.2.6. Maturation du lait..... 13

II.2.7. Emprésurage.....	14
II.2.8. La Coagulation.....	14
II.2.8.1. Coagulation acide.....	14
II.2.8.2. Coagulation enzymatique.....	15
II.2.8.2.1. Types de présure et de coagulants.....	15
II.2.8.2.2. Mécanisme de coagulation enzymatique.....	18
II.2.8.3. Coagulation mixte.....	21
II.2.9. D'écaillage et délactosage.....	21
II.2.10. Égouttage.....	21
II.2.11. Le moulage.....	21
II.2.12. Le pressage.....	21
II.2.13. Le salage.....	22
II.2.14. L'Affinage.....	22
III.3. Le fromage traditionnel (Jben).....	23
III.4 Caractéristiques physiques et chimiques du Jben.....	23

### Chapitre III : Les plans d'expérience

III.1. Introduction.....	24
III.2. Vocabulaire de base des plans d'expérience.....	24
III.3. Notion de modélisation mathématique.....	27
III.4. Notions de statistique appliquées aux plans d'expériences.....	27
III.5. Types de plans d'expériences.....	29
III.5.1 Les plans pour surface de réponse.....	29
III.5.2. Le plan central composite.....	29

### Etude expérimentale

#### Matériel et méthodes

I. Matériel.....	31
I. 1. Matériel végétal.....	31
I. 2. Matériel animal.....	31
I. 3. Produits chimiques.....	31
I. 4. Appareillage utilise .....	31
II. Méthodes.....	32

II. 1. Préparation du matériel végétale.....	32
II. 2. Préparation de la présure traditionnelle (Hakka).....	32
II. 3. les étapes de préparation du fromage traditionnel (Jben).....	33
II. 4. Etude de l'effet des conditions de coagulation sur le rendement.....	34
II. 5. Contrôle de la qualité du fromage.....	35
II. 5. 1. Contrôle physicochimique.....	35
II. 5. 1.1. Contrôle des paramètres physiques.....	35
II. 5. 1.2. Contrôle des paramètres chimiques.....	37
II. 6. Détermination de la teneur en matière grasse.....	37
II. 7. Détermination de la teneur en azote total.....	38
II. 8. Dosage des protéines.....	39
II. 8. 1. Extraction des protéines selon Bradford.....	40
II. 8. 2. Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.....	41
II. 9. Dosage des minéraux par Spectrophotomètre à flamme.....	41
II. 10. Etude des spectres infrarouge (FTIR) des fromages.....	42
II. 11. L'analyse sensorielle.....	43
II. 12. L'analyse statistique.....	43

## **Résultats et Discussion**

I. Résultats de l'optimisation par plan d'expérience.....	44
I.1. Résultats de l'optimisation des conditions de coagulation .....	44
I.2. Ajustement du model.....	46
I.2.1. Résultats de l'analyse de variance et régression linéaire.....	46
I.2. Résultats d'analyse du manque d'ajustement.....	46
I.3. L'analyse de l'influence et l'interaction des variables dépendantes .....	48
I. 4. Analyse des surfaces de réponse.....	49
I.5. Validation du modèle.....	50
II. Résultats du contrôle physicochimique .....	51
II.1. Contrôle des paramètres physiques.....	52
II.1.1. Détermination de la teneur en eau et matière sèche .....	52
II.1.2. Détermination du taux de la matière minérale .....	53
II.1.3. Détermination du taux de matière organique.....	54

<b>II. 2. Résultat de Contrôle des paramètres chimiques .....</b>	<b>55</b>
<b>II. 2. 1. Mesure du pH.....</b>	<b>55</b>
<b>II .2.2.Acidité .....</b>	<b>56</b>
<b>II.3.Détermination de la teneur en lipides .....</b>	<b>57</b>
<b>II.4. Détermination de la teneur en azote total.....</b>	<b>58</b>
<b>II.5.Dosage des protéines.....</b>	<b>59</b>
<b>II .6. Mesure des teneurs en minéraux.....</b>	<b>60</b>
<b>II .7. Analyse de fromage par spectrophotomètre infrarouge .....</b>	<b>61</b>
<b>III. Résultats de l'analyse sensorielle.....</b>	<b>64</b>
<b>III.1. L'analyse sensorielle du fromage traditionnel .....</b>	<b>64</b>
<b>III.2.Corrélation des critères sensoriels avec les caractères physicochimiques.....</b>	<b>67</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>68</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>70</b>
<b>Annexes</b>	
<b>Résumés</b>	

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b>	Composition moyenne du lait de vache.....	<b>3</b>
<b>Tableau II</b>	Composition minérale du lait de vache.....	<b>9</b>
<b>Tableau III</b>	Teneur en vitamine du lait de vache.....	<b>10</b>
<b>Tableau IV</b>	La présure et les coagulants les plus couramment utilisés et leurs enzymes.....	<b>16</b>
<b>Tableau V</b>	Les variables indépendantes et leurs niveaux.....	<b>34</b>
<b>Tableau VI</b>	réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.....	<b>41</b>
<b>Tableau VII</b>	Longueur d'onde d'émission de quelques minéraux.....	<b>42</b>
<b>Tableau VIII</b>	Matrice d'expérience CCD et les réponses associées.....	<b>44</b>
<b>Tableau IX</b>	Résultats d'ajustement du modèle et les effets des variables indépendantes sur les réponses.....	<b>47</b>
<b>Tableau X</b>	Conditions optimales de coagulation et rendement prédits.....	<b>51</b>

## Listes des figures

<b>Figure 01 :</b>	Structure d'un globule de matière grasse.....	<b>04</b>
<b>Figure 02 :</b>	Pourcentages des différentes protéines du lait.....	<b>05</b>
<b>Figure 03 :</b>	Pont phosphate de calcium.....	<b>09</b>
<b>Figure 04 :</b>	Les étapes de coagulation.....	<b>18</b>
<b>Figure 05 :</b>	Lien disulfure entre la $\beta$ -lactoglobuline et la micelle de caséines.....	<b>20</b>
<b>Figure 06 :</b>	Espace expérimental.....	<b>25</b>
<b>Figure 07 :</b>	Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse.....	<b>26</b>
<b>Figure 08 :</b>	Plan composite pour deux facteurs.....	<b>30</b>
<b>Figure 09 :</b>	Préparation et aspect des pétales de <i>S. marianum</i> .....	<b>32</b>
<b>Figure 10 :</b>	Diagramme de préparation traditionnelle de l'Hakka.....	<b>32</b>
<b>Figure 11 :</b>	Présentation photographiques des différentes étapes de la préparation de l'Hakka	<b>33</b>
<b>Figure 12 :</b>	Diagramme de fabrication fromage traditionnel « <i>Jben</i> » .....	<b>33</b>
<b>Figure 13 :</b>	Extraction des protéines selon Bradford.....	<b>40</b>
<b>Figure 14 :</b>	Représentation tridimensionnelle des modèles polynomiales de deuxième ordre	<b>50</b>
<b>Figure 15 :</b>	La teneur en eau et matière sèche des quatre types d'échantillons de « jben »...	<b>52</b>
<b>Figure 16 :</b>	La teneur en matière minérale des quatre types d'échantillons de « Jben ».....	<b>53</b>
<b>Figure 17 :</b>	La teneur en matière organique des quatre types d'échantillons de « jben ».....	<b>54</b>
<b>Figure 18 :</b>	Variation PH des quatre types d'échantillons de« jben ».....	<b>55</b>
<b>Figure 19 :</b>	Variation d'acidité des quatre types d'échantillons de« jben ».....	<b>56</b>
<b>Figure20 :</b>	Taux moyen de matière grasse des quatre types d'échantillons de « jben ».....	<b>57</b>

<b>Figure 21 :</b>	teneur moyenne d'azoté totale des quatre types d'échantillons de « Jben ».....	<b>58</b>
<b>Figure 22 :</b>	Teneur moyenne en protéine des quatre types d'échantillons de « Jben ».....	<b>59</b>
<b>Figure 23 :</b>	Teneur en Ca, Na, K des quatre types d'échantillons de « jben ».....	<b>60</b>
<b>Figure 24 :</b>	Les spectres superposés d'infrarouge (FTIR) des quatre types de fromage.....	<b>61</b>
<b>Figure 25 :</b>	Les profils sensoriels des quatre fromages étudiés.....	<b>64</b>
<b>Figure 26 :</b>	Corrélations des variables sensorielles des quatre type de fromage traditionnel étudiés.....	<b>65</b>
<b>Figure 27 :</b>	Répartition des quatre fromages frais traditionnels selon leurs profils sensoriels..	<b>66</b>
<b>Figure 28 :</b>	Corrélation des critères sensoriels de fromage traditionnel avec caractères Physicochimiques.....	<b>67</b>

## Liste des abréviations

**$\alpha$ -Lb:**  $\alpha$ -lactalbumine;

**$\alpha$ -S1-CN:** L' $\alpha$ -S1-caséine ;

**$\beta$ -Lg:**  $\beta$ -lactoglobuline;

**AC :** Fromage traditionnel d'origine animale commercial ;

**AL :** Fromage traditionnel d'origine animale optimisé ;

**AOAC :** Association Of Official Analytical Chemists;

**BBC :** Bleu brillant de Coomassie ;

**CCD :** Plan Central Composite ;

**CMP:** Casino-macropéptide ;

**EC:** Enzyme Commission ;

**FAO :** Food and Agriculture Organization;

**GMP :** Glycomacropéptide;

**Ig :** Immunoglobuline;

**IR :** Infrarouge ;

**KPa :** kilopascal ;

**Lf:** Lactoferrine ;

**MM :** Matière minérale ;

**MO:** Matière organique ;

**MS :** Matière sèche

**Psi :** Force par pouce carré (pound per square inch) ;

**R<sup>2</sup> :** Coefficient de détermination ;

**RSM :** méthodologie de surface de réponse ;

***S. marianum* :** *Silybum marianum* ;

**SAB :** Sérum albumine bovine ;

**Ser-P :** Sérine phosphorylée ;

**VC :** Fromage traditionnel d'origine végétal commercial ;

**VL :** Fromage traditionnel d'origine végétal de optimisé.

# *Introduction*

### Introduction

Les produits traditionnels font partie du patrimoine national de chaque pays. Notre pays a une tradition bien établie sur les produits laitiers, qui a un aspect important de la culture Algérienne. Cette tradition est transmise d'une génération à une autre à travers des siècles (**Benkerroum et al., 2004**).

Parmi ces produits il y a les fromages traditionnels pour lesquels chaque variété apparaît comme le reflet fidèle de la région dont ils sont originaires, avec leurs ressources naturelles et leurs traditions. La grande tradition de la qualité fermière tend malheureusement à disparaître peu à peu (**Hayaloglu et al., 2002**).

En Algérie, les fromages traditionnels sont nombreux, non entièrement recensés et aussi peut étudiés. Environ dix types de fromages sont connus dans les différentes régions du pays (**Aissaouiet al., 2011**). Les plus connus sont seulement ceux portant les dénominations «*Jben*» et «*Klila*» (**Touati, 1990**). Probablement très répandus et utilisés dans l'ensemble des pays du Maghreb.

Parmi les moins connus ont été identifiés les fromages tels *Bouhezza* (**Mekentichi, 2003**) et *Medghessa* dans le nord-est de l'Algérie (région des *Chaouia*) (**Aissaoui, 2003**). *Takemerit* et *Aoules* au sud et *Igounenes* au nord centre (région *Kabyle*) (**Bousnane et Djadi, 2009**).

Le développement des produits alimentaires et / ou de procédés est un processus complexe, coûteux et risqué en plusieurs étapes, et des exigences particulières doivent être prises en compte dans ce processus, telles que les demandes des consommateurs, le prix, les conditions opérationnelles et le contexte législatif (**Granato et Araújo Calado, 2014**).

Au cours des dix dernières années, l'utilisation et les applications de la modélisation mathématique ont augmenté en chimie et en science et technologie des aliments (**Montgomery, 2009**).

Pour développer ou optimiser les processus, de nombreuses entreprises utilisent des approches statistiques, telles que la méthodologie de surface de réponse (RSM), dans leur département de recherche afin d'obtenir la meilleure combinaison de facteurs qui rendra la meilleure caractéristique d'un produit (**Nwabueze, 2010**).

Il est largement admis que le RSM est un outil utile pour analyser les résultats de nombreuses réponses expérimentales (chimiques, sensorielles, physico-chimiques, etc.) **(Granato et Araújo Calado, 2014)**.

Dans ce contexte, les objectifs de cette étude sont d'optimiser les conditions de coagulation du lait de vache (présure animale et végétale) avec une analyse physicochimique et sensoriel des produits optimiser et commercialisés.

Notre travail de recherche est divisé en deux parties, la première est consacrée à une synthèse bibliographique qui résume l'étude du lait, du fromage et des généralités sur les plans d'expérience.

La deuxième partie, nous avons adopté une démarche expérimentale qui porte sur:

- Une optimisation du rendement de coagulation par méthodologie de surface de réponse en utilisant le Plan Central Composite (CCD).
- Les analyses physicochimique et sensoriel de fromage obtenu par optimisation en comparant avec les mêmes produits commercialisés.
- Résultats obtenus et discussion.
- Conclusion et perspectives.

*Chapitre I :*  
*Généralité sur le*  
*lait*

# Synthèse bibliographique

## I.1. Définition

Selon **Codex Alimentarius (2000)**, Le lait est la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans rien y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur .

## I.2 Composition du lait

Le lait est constitué de quatre phases (**Fredot, 2006**) :

- ❖ Une émulsion de matières grasses ou phase grasse constituée de globules gras et de vitamines liposolubles (A, D).
- ❖ Une phase colloïdale qui est une suspension de caséines sous forme de micelle.
- ❖ Une phase aqueuse qui contient les constituants solubles du lait (protéines solubles, lactose, vitamines B et C, sels minéraux, azote non protéique).
- ❖ Une phase gazeuse composée d'O<sub>2</sub>, d'azote et de CO<sub>2</sub> dissous qui représentent environ 5% du volume du lait.

**Tableau I** : Composition moyenne du lait de vache (**Alais et al., 2008**).

Nutriment	Teneur (g/L)
<b>Eau</b>	<b>905</b>
<b>Glucides (lactose)</b>	<b>49</b>
<b>Lipides</b>	<b>35</b>
Matière grasse proprement dite	<b>34</b>
Lécithine (phospholipides)	<b>0,5</b>
Insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérol)	<b>0,5</b>
<b>Protides</b>	<b>34</b>
Caséine	<b>27</b>
Protéines solubles (globulines, albumines)	<b>2,5</b>
Substances azotées non protéiques	<b>1,5</b>
<b>Sels</b>	<b>9</b>
Acide citrique (en acide)	<b>2</b>
Acide phosphorique (P <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )	<b>2,6</b>
Chlorure de sodium (NaCl)	<b>1,7</b>
<b>Constituants divers</b> (vitamines, enzymes, gaz dissous)	<b>Traces</b>
<b>Extrait sec total</b>	<b>127</b>
<b>Extrait sec non gras</b>	<b>92</b>

### I.2.1. Eau

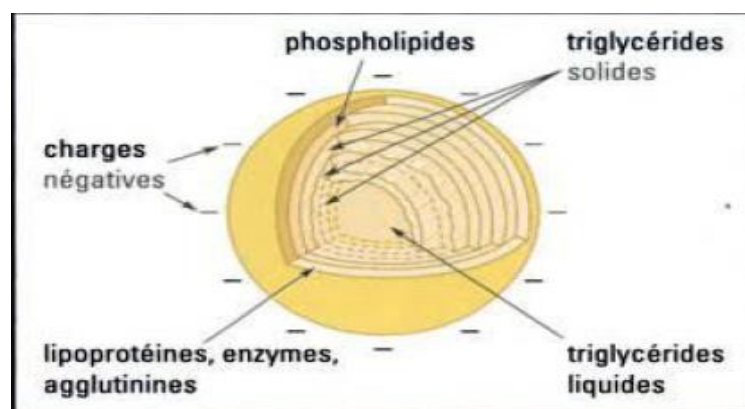
D'après **Amiot et al., (2002)**, l'eau est le constituant le plus important du lait, en Proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau. Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides.

### I.2.2. La matières graisse

**Jeantet et al., (2008)** rapportent que la matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10  $\mu\text{m}$  et est essentiellement constitué de triglycérides (98%) de phospholipide et d'une fraction insaponifiable (cholestérol, b-carotène). La figure 01 représente la structure d'un globule de matière grasse.

La matière grasse du lait de vache représente à elle seule la moitié de l'apport énergétique du lait. Elle est constituée de 65% d'acides gras saturés et de 35% d'acides gras insaturés, elle renferme :

- Une très grande variété d'acides gras (150 différents) ;
- Une proportion élevée d'acides gras à chaînes courtes, assimilés plus rapidement que les acides gras à longues chaînes ;
- Une teneur élevée en acide oléique (C18 :1) et palmitique (C16 :0) ;
- Une teneur moyenne en acide stéarique (C18 :0).



**Figure 01** : Structure d'un globule de matière grasse (**Vignola, 2002**).

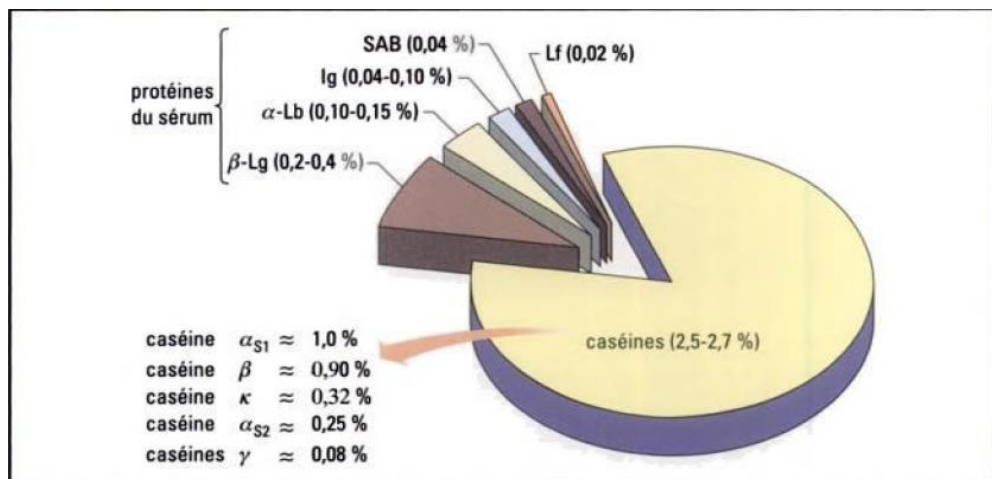
### I.2.3. Les protéines

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes elles constituent une partie importante du lait et des produits laitiers. L'analyse du lait par minéralisation appelée méthode Kjeldahl permet d'évaluer que 95% de la quantité totale d'azote présente dans les protéines dont la concentration moyenne est de 3.2% (Vignola, 2002).

Ces protéines sont constituées soit seulement d'acides aminés ( $\beta$ -lactoglobuline,  $\alpha$ -lactalbumine) soit d'acide aminé et d'acide phosphorique avec parfois une partie glucidique (caséine  $\kappa$ ). Une vingtaine d'acides aminés interviennent dans la composition de ces protéines (FAO, 1995).

Les protéines de lait sont classées en deux catégories d'après leur solubilité dans l'eau et leur stabilité (Figure 02) (Vignola, 2002) :

- ❖ Les différentes caséines qui sont en suspension colloïdale, et qui se regroupent sous forme de micelles et qui précipitent sous l'action de la présure ou lors de l'acidification à un pH d'environ 4.6 ;
- ❖ Les protéines du sérum qui sont en solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur.



**Figure 02** : Pourcentages des différentes protéines du lait. ( $\beta$ -Lg:  $\beta$ -lactoglobuline,  $\alpha$ -Lb:  $\alpha$ -lactalbumine; Ig: immunoglobuline; SAB: Sérum albumine bovine; Lf: Lactoferrine. (Vignola, 2002).

### I.2.3.1. Protéines solubles ou protéines du lactosérum

Elles représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées. Elles demeurent en solution dans le «sérum isoélectrique » obtenu à pH = 4,6 à 20°C ou dans le sérum présure exsudé par le coagulum formé lors de l'emprésurage (Vignola, 2002).

Elles flocculent difficilement en présence d'acide ou de présure. Par contre, à l'exception des protéoses-peptones, elles sont dénaturées par la chaleur et sont entraînées lors de la coagulation de la caséine sous l'action de la présure. Un chauffage à 80 °C pendant une minute en dénature environ 20%, mais, lors de la pasteurisation (72 °C pendant 15 à 20 secondes) la dénaturation est négligeable (FAO, 1995).

#### ➤ La $\beta$ -lactoglobuline

La  $\beta$ -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine k et d'une  $\beta$ -lactoglobuline se fait également par un pont disulfure (Debry, 2001).

#### ➤ L' $\alpha$ -lactalbumine

L' $\alpha$ -lactalbumine est une métalloprotéine qui représente environ 22 % des protéines du sérum. Son point isoélectrique est 4,8. Elle possède deux variantes génétiques, le variant B étant le plus présent dans le lait. (Debry, 2001).

#### ➤ Les immunoglobulines

Les immunoglobulines Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire constituent environ 13 % des protéines du sérum. Ce sont des glycoprotéines jouant le rôle d'anticorps qu'on répartit en cinq catégories: IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgA, IgM et IgE. Leurs points isoélectriques varient de 5,5 à 8,3 (Vignola, 2002). Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique (Thapon, 2005).

#### ➤ La sérum albumine bovine, dite SAB

Le sérum albumine représente environ 7% des protéines du sérum. Elle est constituée de 582 résidus d'acides aminés. Comptant un seul variant génétique A est identique au sérum albumine sanguine (Vignola, 2002).

### ➤ La lactoferrine

La lactoferrine représente environ 4 % des protéines du sérum. Comme son nom l'indique c'est une protéine porteuse de fer sous la forme d'ions ferriques ( $\text{Fe}^{3+}$ ), c'est la seule protéine capable d'être stable en présence d'ions ferriques, son point isoélectrique se situe entre 8,4 et 9 (Vignola, 2002).

### ➤ Protéoses-peptones

Ce sont des peptides libéré par une hydrolyse de type trypsine de la  $\beta$ -caséine. Elles forment la fraction protéique soluble après chauffage du lait acidifié à pH 4.6 vers 95°C pendant 20 à 30 minutes. C'est un groupe hétérogène issu de la protéolyse par la plasmine de la caséine  $\beta$  (Debry, 2001).

### I.2.3.2. Protéines insolubles (la Caséine)

#### I.2.3.2.1. Définition

Le terme de caséine désigne en réalité un mélange hétérogène de protéines phosphorylées spécifiques du lait. C'est un complexe protéique a caractère acide en raison de la richesse en acide aspartique et glutamique et en ion phosphates.

La caséine totale représenté le pool le plus important des protéines du lait de vache. Son taux est environ 30g par litres du lait ce qui constitue 80% de l'azote total de celui-ci (Pierre Jouan, 2002).

#### I.2.3.2.2. Composition minérale et protéique des micelles

Les caséines se regroupent sous forme sphérique appelée micelle. La taille des micelles se situe entre 100 et 500 nm, et elle varie principalement selon l'espèce animale, la saison, le stade de lactation. (Vignola, 2002).

Les micelles de caséine sont constituées de 92% de protéines et de 8% de minéraux. Les quatre principales protéines contenues dans les micelles sont les caséines  $\alpha\text{S1}$ ,  $\alpha\text{S2}$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$  (figure 02).

### a) Composition protéique

#### ➤ L' $\alpha$ -S1-caséine

L' $\alpha$ -S1-caséine ( $\alpha$ -S1-CN) est une phosphoprotéine dont le PM=23600Da et qui est constituée de 199 résidus d'acides aminés (**Pierre Jouan, 2002**).

Elle représente environ 40% de caséine totale. L' $\alpha$ -S1-CN se caractérise par une teneur élevée en résidus proline sans liaisons disulfure et la présence d'une petite quantité de structure secondaire, comme  $\alpha$ -hélice ou  $\beta$ -feuilles (**Benjamin, 2017**).

#### ➤ La caséine $\alpha$ S2

Représente environ 10 % des caséines et compte 207 résidus d'acides aminés. Elle est riche en résidus de sérine phosphorylées et en résidus de lysine. Il y a peu d'informations à l'heure actuelle sur les structures secondaire et tertiaire de cette protéine, mais certains travaux mentionnent que la caséine  $\alpha$ S2 existe sous la forme dimère liée par deux ponts disulfure (-S-S-)(**Vignola, 2002**).

#### ➤ La $\beta$ -caséine

La  $\beta$ -caséine ( $\beta$ -CN) est une protéine dont le poids moléculaire est de 24000 daltons. Elle est constituée de 209 acides aminés (**Pierre Jouan, 2002**). C'est le composant le plus hydrophobe parmi les fractions de caséine. Représente 35% de caséine totale (**Benjamin et al. , 2017**).

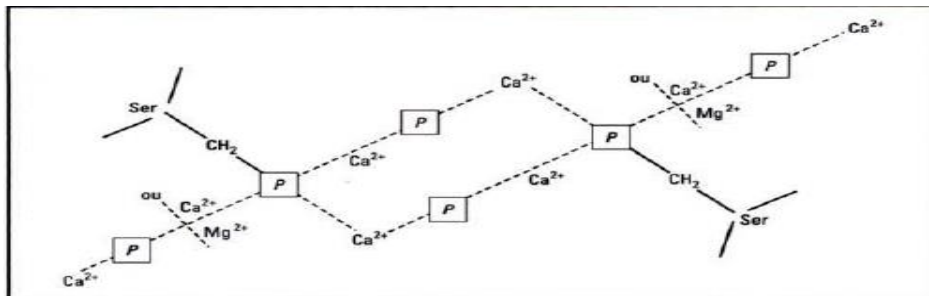
#### ➤ La caséine k

La caséine k ne représente que environ 12% des caséines. Elle est néanmoins la protéine la plus étudiée. Sa structure primaire compte 169 résidus d'acide amine et montre la présence d'une portion glycomacropéptide qui confère à cette protéine son caractère hydrophile. Le reste de la chaîne protéique est hydrophobe ce qui explique la perte de solubilité des micelles de caséine lors de l'hydrolyse des liens 105-106 par la chymotrypsine (**Vignola, 2002**).

### b) Composition minérale

Les minéraux contenus dans les micelles de caséine sont qualifiés de colloïdaux. Ils sont constitués de calcium, de phosphore, et du magnésium au pH naturel du lait, 70% du calcium et 42% du phosphate inorganique du lait sont liés aux micelles (**Van Hooydonk et al., 1986**). En partie sous la forme d'un complexe de phosphate de calcium amorphe (**Visser et al., 1986; Holt, 1989**).

Les submicelles sont reliées entre elles par le biais des ponts phosphate de calcium (figure 03), on peut remarquer que les liaisons en question se font à partir de la chaîne latérale d'un résidu de sérine phosphorylés (Ser-P). Il est bon de noter que certains acides, par leurs chaînes latérales  $-COO$ , peuvent également être engagés dans certains ponts phosphates de calcium (**Vignola, 2002**).



**Figure 03** : Pont phosphate de calcium (**Vignola C.L, 2002**).

#### I.2.4. Matière minérale

Les minéraux sont présents dans le lait (7,3 g/litre environ) soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement biodisponibles. Les autres (calcium, phosphore, magnésium et soufre) existent dans les deux fractions. Dans la fraction soluble, ils existent en partie sous forme libre (calcium et magnésium ionisés), en partie sous forme saline (phosphates et citrates) non dissociée (calcium et magnésium), ou encore sous forme complexe (esters phosphoriques et phospholipides). Dans la fraction colloïdale, les minéraux (calcium, phosphore, soufre et magnésium) sont associés ou liés à la caséine au sein des micelles (**FOA, 1995**). Les principaux minéraux sont présentés dans le Tableau 2.

Le lait apporte également des oligoéléments à l'état de traces : zinc (3,5 mg/l), iode (20 à 100 µg/l), cuivre (20 à 50 µg/l) (**Mahaut et al., 2000**).

## Synthèse bibliographique

**Tableau II :** Composition minérale du lait de vache (Jeantet et al., 2007).

Eléments minéraux	Concentration (mg.kg <sup>-1</sup> )
Calcium	1043-1283
Magnésium	97-146
Phosphate inorganique	1805-2185
Citrate	1323-2079
Sodium	391-644
Potassium	1212-1681
Chlorure	772-1207

### I.2.6. Le lactose

Le lactose est un disaccharide constitué de D-galactose et de D-Glucose reliés par une liaison osidique  $\beta$  (1-4) ( $\beta$  -D-galactopyranosyl (1-4) D-glucopyranose. Il représente environ 97% des glucides totaux du lait de vache (Croguennec et al., 2008).

### I.2.7. Les vitamines

Le lait de vache est une bonne source de vitamine. Elles sont des substances biologiquement indispensables la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires (FAO, 1995). Les principales vitamines du lait sont présentées dans le tableau 03

**Tableau III :** Teneur en vitamine du lait de vache (Arsan et al., 2011)

Substance	Teneur
Vitamine ( $\mu$ g)	39
Vitamine B1 ( $\mu$ g)	50
Vitamine B2 ( $\mu$ g)	170
Niacine ( $\mu$ g)	160
Vitamine B6 (mg)	20
Acide pantothénique (mg)	350
Acide folique (mg)	3
Vitamine B12 (mg)	0.18
Vitamine C (mg)	0.6
Vitamine D (UI)	1.2
Vitamine E (mg)	70

### I.2.8. Enzymes

Une soixantaine d'enzymes ont été répertoriées dans le lait, mais leur rôle n'est pas toujours clairement établi (**FAO, 1995**).

Ces enzymes peuvent jouer un rôle très important en fonction de leurs propriétés :

➤ Lyses des constituants originels du lait ayant des conséquences importantes sur le plan technologique et sur les qualités organoleptiques du lait (lipase, protéase) ;

➤ Rôle antibactérien : elles apportent une protection au lait (lactoperoxydase et lysozyme) ;

➤ Indicateurs de qualité hygiénique : (certaines enzymes sont produites par des bactéries et des leucocytes) (**Pougheon, 2001**).

*Chapitre II :*  
*Technologie*  
*fromagère*

## II.1 Définition

Le fromage, selon **Codex Alimentarius (2010)**, est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle, semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséines ne dépasse pas celui du lait. On l'obtient par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation ; ou alors par emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait et/ou des produits provenant du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques correspondant à la définition précédente (**Jean et al., 2013**).

## II.2 Les principales phases de fabrication du fromage

### II.2.1. Le dégazage

Permet de débarrasser le lait des mauvaises odeurs, permet aussi de réduire la destruction des vitamines en diminuant fortement la teneur en oxygène ambiant (**Majdi, 2009**).

### II.2.2. Nettoyage du lait par filtration statique ou centrifuge

Cette technique utilise les procédés à membrane, qui permettent de séparer les éléments en suspension ou en solution dans un liquide, il permet de retenir les impuretés du lait. L'opération centrifuge est plus efficace, elle retient notamment les leucocytes (**FAO, 1995**).

### II.2.3. La standardisation

La standardisation d'un lait de fromagerie consiste à ajuster au moins la teneur en matière grasse en fonction du taux protéique (**Vignola, 2002**).

Son objectif premier est d'éliminer les fluctuations saisonnières afin d'obtenir un même comportement rhéologique des laits à la coagulation et les mêmes rendements fromagers pour une même quantité de lait mis en œuvre toute l'année (**Vignola, 2002**).

### II.2.4. L'homogénéisation

L'homogénéisation consiste à réduire le diamètre des globules gras de 1-10  $\mu\text{m}$  à moins de 2  $\mu\text{m}$  et augmente la surface des globules gras. Le changement physique dans le globule gras se produit en forçant le lait à travers un petit orifice sous haute pression. La diminution de la taille des globules gras du lait réduit la tendance des globules gras à s'agréger pendant la période de gélification. En outre, dans la dénaturation des protéines de lactosérum et interactions des protéines de lactosérum avec la caséine, les globules gras peut altérer les propriétés physiques et chimiques des protéines du lait pour aboutir à un gel plus ferme avec une synérèse réduite. Le lait est couramment homogénéisé pour améliorer la qualité du produit final (**Benjamin et al., 2012**).

### II.2.5. Pasteurisation

La pasteurisation est un procédé consistant à chauffer du lait cru pendant quelques minutes ou secondes à une température la plus basse possible, entre 63 et 95° C, puis à le refroidir à 4°C de manière à détruire les germes nocifs qui pourraient être présents dans le lait, et réduire le nombre de microorganismes nullement dangereux pour la santé. (**Ouldmustapha et al, 2012**).

Les caractéristiques de pasteurisation provoque la dénaturation des protéines de lactosérum et des interactions entre la  $\beta$ -lactoglobuline et la  $\kappa$ -caséine. Dans les fromages, cette interaction diminue la capacité de la chymosine à hydrolyser la molécule de caséine et initier la précipitation et la formation du caillé (**Benjamin et al., 2012**).

### II.2.6. Maturation du lait

Le but est de permettre un développement contrôlé et limité de la flore lactique afin d'éviter une acidification exagérée du milieu qui conduirait à des problèmes de coagulation et d'égouttage avec une destruction de la caséine et donc une diminution du rendement de fromage (**Magali, 2012**).

La maturation du fromage s'effectue en deux temps :

➤ **Etape I**

C'est une maturation de période plus au moins longue dure à peu près 15 heures et se fait à une température de 10 à 12 °C, cette maturation se fait en présence de ferments mésophiles. (Majdi, 2009).

➤ **Etape II**

C'est une maturation de période plus courte, elle va de 30 minute à 2 heures 30 min et se fait à une température de 32 à 35°C, cette maturation se fait en présence de ferments thermophiles (Majdi, 2009).

### **II.2.7. Emprésurage**

L'emprésurage est l'ajout d'un enzyme coagulant au lait. Comme la présure, mélange de chymosine et de pepsine, à une activité qui varie suivant la température et le pH. Il faudra prendre soin d'ajuster ces deux paramètres avant l'emprésurage (Vignola, 2002).

### **II.2.8. La Coagulation**

La Coagulation est la première étape dans la production de tous les fromages, dans laquelle le lait liquide est transformé en gel tridimensionnel ou coagulum. (Catherine, 2017).

Elle correspond à une modification physico-chimique des micelles de caséine sous l'action d'enzymes protéolytiques et (ou) d'acide lactique. Celles-ci entraînent la formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé coagulum ou gel. Les mécanismes proposés dans la formation du coagulum diffèrent totalement suivant que ces modifications sont induites par acidification ou par action d'enzymes coagulantes ou encore par l'action combinée des deux (FAO, 1995).

#### **II.2.8.1. Coagulation acide**

Se produit uniquement à travers l'action des bactéries lactiques présentes dans le lait soit à la suite d'une inoculation naturelle incontrôlée de l'environnement, comme

dans le cas de fabrication artisanale de fromage ou, plus communément, à la suite de l'ajout délibéré d'une culture starter par le fromager (**Catherine, 2017**).

Ces bactéries fermentent le lactose en acide lactique sur une période prolongée peut aller d'environ cinq à vingt-quatre heures. La durée de coagulation dépend de la quantité d'agent d'inoculation (0,1-5%), de la température (20-35°C) et de la culture utilisée (**Catherine, 2017**).

La fermentation du lactose entraîne une accumulation régulière d'acide lactique et donc une baisse constante du pH du lait, ce qui provoque les micelles de caséine à devenir progressivement déminéralisées de phosphate de calcium contenu dans les micelles se dissout dans la phase aqueuse du lait (**Catherine 2017**).

Durant les premiers stades de la fermentation du lactose, les micelles de caséine restent dispersées dans la phase aqueuse du lait parce que le polaire, négativement chargé stabilise la dispersion. Cependant, quand le pH tombe finalement en dessous de pH 5,0 à 4,6, cela rend le micelles instables dans l'eau et provoque leur agrégation sous la forme de chaînes qui forment finalement un matrice de caséine en trois dimensions (**Catherine, 2017**)

### **II.2.8.2. Coagulation enzymatique**

#### **II.2.8.2.1. Types de présure et de coagulants**

De nombreux types de présure et de coagulants sont ou ont été utilisés pour la fabrication de fromage. La présure et les coagulants sont catégorisés le plus efficacement selon leur source. Le tableau IV représente les types prédominants de coagulant utilisé pour la fabrication du fromage aujourd'hui, ainsi que leurs composants enzymatiques actifs (**Barry et al., 2010**).

## Synthèse bibliographique

**Tableau IV** : La présure et les coagulants les plus couramment utilisés et leurs enzymes (**Barry et al, 2010**)

Groupe	Source	Exemples de présure et de coagulants	Composants enzymatiques actifs
<b>Animal</b>	Estomacs de bovins	Présure de veau, présure bovine adulte Présure passé	Chymosine bovine A, B et C, pepsine A et gastriscine
	Estomacs d'ovins	Présure d'agneau, présure ovine	Le même que ci-dessus, plus la lipase Chymosine et pepsine ovine
	Estomacs de caprins	Présure de gosse-caprine, caprine présure	Chymosine et Pepsine caprine
<b>Microbienne</b>	<i>Rhizomucor miehei</i>	Miehei coagulant de type I,TL,XL et XLG/XP	Protéinase aspartique de <i>Rhizomucor miehei</i>
	<i>Cryphonectria parasiticia</i>	Coagulant de <i>Parasiticia</i>	Proteinas aspartique de <i>Cryphonectria parasiticia</i>
<b>FPC</b>	<i>Aspergillus niger</i>	CHY-MAX <sup>TM</sup> CHY-MAX <sup>TM</sup> M	Chymosine bovine B Chymosine de <i>Camelus</i>
	<i>Kluyveromyces marxianus</i> var. <i>lactis</i>	Maxiren <sup>®</sup>	Chymosine bovine B
	<b>Legume</b> <i>Cynara cardunculus</i>	Cardoon	Cyprosine 1,2 et 3 et/ou cardosine A et B
<b>FPC</b> :chymosine produite par fermentation			

### a. Présure animale et coagulants

Techniquement, le terme "présure" est restreint aux enzymes dérivées de l'estomac des mammifères, le plus souvent veaux, enfants ou agneaux nourris au lait, bien que les animaux peuvent également servir de source d'enzymes présure (Catherine, 2017)

Elle est considérée comme l'enzyme idéale produit pour la fabrication du fromage en raison de sa teneur élevée en chymosine, enzyme coagulant du lait (Barry et al., 2010).

Dans la caillette et les extraits de ses tissus, la proportion varie entre les deux enzymes, la chymosine et la pepsine, en fonction de l'âge de l'animal et type d'aliment (Catherine, 2017).

#### ➤ La pepsine (EC3.4.23.1)

La pepsine est la protéinase gastrique prédominante chez les mammifères adultes, et il est caractérisé par une spécificité inférieure et une dépendance au pH plus élevée que la chymosine. (Barry et al, 2010)

#### ➤ La pepsine B (EC 3.4.23.2)

La pepsine B est une protéinase mineure présente dans les estomacs de porc, caractérisée par une faible coagulation du lait et une activité protéolytique générale. (Barry et al., 2010)

#### ➤ La Gastriscine (EC 3.4.23.3)

La Gastriscine est un type distinctif de protéase aspartique, qui a eu de nombreux différents noms, tels que la pepsine B, C, I, II, III, 6 ou 7. Il se trouve en petites quantités dans caillette de bovins (Barry et al, 2010)

#### ➤ Chymosine (rénine) (EC.3.4.23.3)

La chymosine est la principale enzyme responsable de la coagulation du lait Elle clive spécifiquement la liaison Phe-Met de la caséine  $\kappa$  ( Fox et al., 2017).

Elle coagule le lait de manière optimale à pH 6,0-6,4 et à 20-30 ° C dans une réaction en deux étapes, bien que le pH optimal de l'enzyme est d'environ et elle est

## Synthèse bibliographique

---

caractérisé par son très haut et activité spécifique de la coagulation du lait et sa faible activité protéolytique générale. (Benjamin et al., 2012).

### b. Coagulant végétaux

En usage commun le terme "présure" peut également inclure les enzymes coagulantes du lait qui proviennent des plantes (Catherine, 2017).

Depuis les temps anciens, les fleurs de *Cynara cardunculus* ont été utilisées dans la fabrication artisanale de fromage, en particulier au Portugal, où il est considéré comme coagulant du choix pour les fromages comme Serra et Serpa (Barry et al., 2010).

Les substituts de présure provenant de plantes sont les moins utilisés en raison de leur tendance à être trop protéolytique et à provoquer la formation d'arômes amers. La plupart de ces enzymes sont également thermostable et nécessite des températures de prise plus élevées dans le lait (Benjamin et al., 2012).

### c. Coagulants microbiens

Tous les coagulants microbiens bien connus utilisés pour la fabrication du fromage sont d'origine fongique. La plupart des protéases bactériennes décrites en tant qu'enzymes de la coagulation du lait se sont avérées inappropriées, principalement parce qu'ils ont une activité protéolytique trop élevée (Barry et al., 2010). Les deux coagulants microbiens utilisés pour la fabrication du fromage sont présentés dans le tableau 04

#### II.2.8.2.2. Mécanisme de coagulation enzymatique

Le lait de la plupart des variétés de fromage est coagulé sous l'action de protéinases sélectionnées, appelées présures. La coagulation induite par la présure est un processus en deux étapes (figure 04).

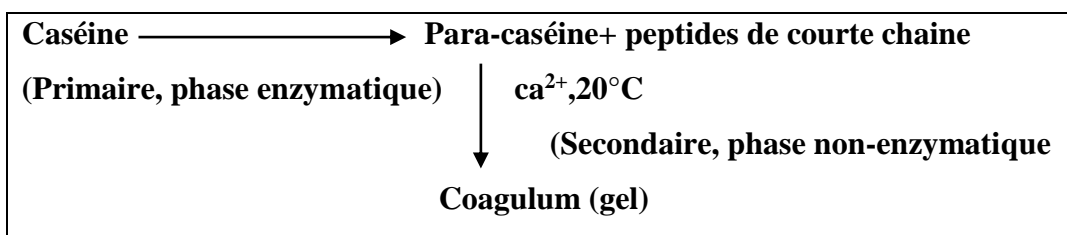


Figure 04 : Les étapes de coagulation. (Fox et al., 2017).

### A. Etape enzymatique (Hydrolyse de la Caséine $\kappa$ )

La phase primaire de la coagulation est une étape enzymatique, durant la quelle la protéase attaque la liaison phe105-Met106 de la  $\kappa$  caséine. La partie N-terminale de la molécule,  $\kappa$ -CN f1-105, appelée para caséine  $\kappa$ , reste attachée à la micelle de caséine tandis que la partie C-terminale, appelée le casino-macropéptide (CMP) ou glycomacropéptide(GMP), car elle contient les fractions hydrate de carbone de la caséine  $\kappa$ , est perdue dans le milieu aqueux environnant (Fox et al., 2017).

#### ❖ Les facteurs qui affectent l'hydrolyse de Caséine $\kappa$ et la phase primaire

L'hydrolyse de Caséine  $\kappa$  est sous l'influence de beaucoup de facteurs, dont certains sont discutés ci-dessous :

➤ **pH**

Le pH optimal d'hydrolyse de la  $\kappa$ - caséine se situe entre 5,1-5,3 (Ilboudo et al., 2012).

➤ **La concentration en ions  $\text{Ca}^{2+}$**

L'addition de calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) diminue le temps de coagulation par la présure. Cette addition de  $\text{CaCl}_2$  au lait ou à une suspension micellaire entraîne un abaissement du niveau de protéolyse de la caséine  $\kappa$  nécessaire à l'agrégation (Ilboudo et al., 2012).

➤ **La température**

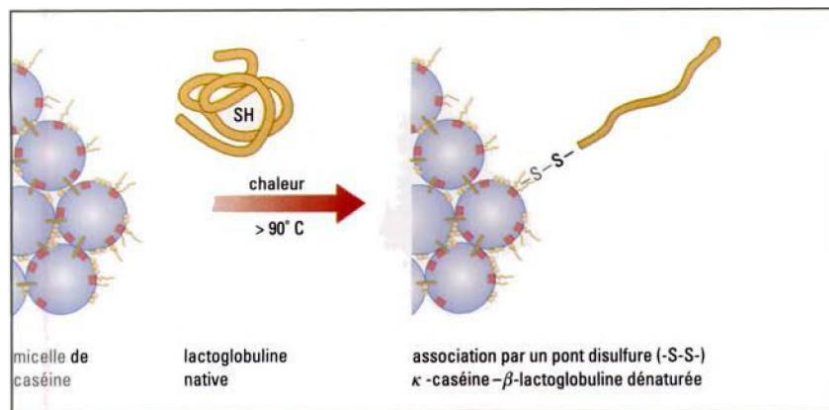
L'effet de température dépend du type de présure. La température optimale d'hydrolyse de la caséine  $\kappa$  à pH 6 se situe entre 45-48°C (Fox et al., 2017).

➤ **La concentration en enzyme**

La concentration en enzyme ayant une grande influence sur le processus de coagulation présure. Cette coagulation est le résultat d'une réaction d'hydrolyse enzymatique suivie d'une réaction d'agrégation des protéines. Le temps de coagulation diminue avec l'augmentation de la concentration en enzyme (Ilboudo et al., 2012).

### ➤ Traitement thermique de lait

Le traitement thermique du lait à une température  $>72\text{ }^{\circ}\text{C}$  a un effet négatif sur la coagulabilité de la présure, si le traitement thermique est très sévère ( $> 90\text{ }^{\circ}\text{C}$  pendant 10 minutes), le lait ne coagule pas par la présure. Bien que les changements dans les équilibres de sels soient des facteurs contributifs, le principal facteur causal est la formation de liaisons disulfures intermoléculaire entre la caséine  $\kappa$  et la  $\beta$ -lactoglobuline et/ou  $\alpha$ -lactalbumine (figure 05) (Fox et al., 2017).



**Figure 05 :** Lien disulfure entre la  $\beta$ -lactoglobuline et la micelle de caséines (Vignola, 2002).

### **B. Etape non enzymatique (phase d'agrégation)**

L'action de la présure libère le segment C-terminal hydrophile hautement chargé de la caséine  $\kappa$  (glycomacropéptide), à la suite de laquelle les peptides protubérants (poils) de leurs surfaces sont enlevés, par conséquent les principaux facteurs stabilisateurs des micelles (électrostatiques et stériques) et leur stabilité colloïdale sont détruits (Fox et al., 2017).

Lors de la libération du CMP, il se produit une diminution importante de la charge électrique des micelles et de leur degré d'hydratation : deux facteurs de stabilité se trouvent ainsi atteints. Commence alors la phase secondaire, dite d'agglomération, dont le mécanisme est encore mal connu. Les micelles déstabilisées peuvent se rapprocher et former des liens hydrophobes. Les ions calcium s'uniraient à la partie chargée négativement des micelles, diminuant ainsi les répulsions électrostatiques auxquelles elles sont soumises et favoriseraient ainsi leur aggrégation (Vignola, 2002).

Quand ~ 85% du la caséine  $\kappa$  totale a été hydrolysée, la stabilité des micelles est réduite de telle sorte que lorsqu'elles entrent en collision, elles restent en contact et finissent par former un réseau tridimensionnel, appelé coagulum ou gel (**Patrick et al., 2017**).

### **II.2.8.3. Coagulation mixte**

Elle résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification par les un ferment lactique. La multitude de combinaisons conduisant à différents états d'équilibres spécifiques est à l'origine de la grande diversité des fromages à pâte molle et à pâte pressée non cuite (**Mahaut et al., 2003**).

### **II.2.9. D'écaillage et délactosage**

Cette étape consiste à découper le caillé en grain de petites tailles sous forme de grain de maïs, l'outil utilisé lors de cette étape est le tranche – caillé. Ensuite le délactosage l'opération qui consiste à remplacer une partie du sérum par de l'eau pour abaisser la richesse du caillé en lactose pour éviter une sur acidification (réduire l'acidité par l'ajout de l'eau) (**Majdi, 2009**).

### **II.2.10. Égouttage**

L'égouttage est une étape commune dans beaucoup de procédés de fabrication fromagère qui permet, dans la majorité des cas, d'accélérer la synérèse puis de séparer le lactosérum du caillé. Lors de cette étape, la plus grande partie des éléments solubles sont éliminés dans le lactosérum. On peut considérer qu'il s'agit d'une déshydratation partielle du caillé. Le caillé a donc une composition variable selon la technique d'égouttage utilisée et la quantité de lactosérum enlevée. L'égouttage a par conséquent une grande incidence sur le type de fromage qu'on cherche à produire (**Vignola, 2002**).

### **II.2.11. Le moulage**

Consiste à donner une certaine masse de caille une forme déterminée sous laquelle apparait le fromage après l'égouttage c'est à dire sa forme final (**Magali, 2012**).

### II.2.12. Le pressage

Le pressage, étape ultime de l'égouttage, permet de donner la forme finale du fromage tout en évacuant le lactosérum extra granulaire. Le caillé, une fois déposé dans les moules, subit une pression appliquée de 0,2 à 6 psi sur le fromage (1,5 à 40 kPa). Le temps de pressage varie de 2 à 24 heures. L'acidité doit augmenter légèrement durant le pressage pour favoriser le drainage de l'eau (**Vignola, 2002**).

### II.2.13. Le salage

Deux techniques sont utilisées pour le salage :

➤ **Le salage à sec en surface**

Il consiste à saler les fromages en surface à la main, avec une dosette ou à la passoire, avec du sel fin et sec sur les différentes faces du fromage (**Magali, 2012**).

➤ **Salage en saumure**

Il consiste à plonger les fromages pendant une durée variable selon leur poids dans un bain d'eau salée à saturation (**Magali, 2012**).

### II.2.14. L'Affinage

L'affinage correspond à un ensemble de dégradations enzymatiques, simultanées ou successives, du substrat (le caillé) préparé par la coagulation et l'égouttage (**FAO, 1995**).

L'affinage peut être subdivisé en processus primaires et processus secondaires de dégradation. Le processus primaire comporte : la fermentation du lactose résiduel, de l'acide lactique et de l'acide citrique, ainsi que la dégradation des protéines et des lipides. Suite à ces événements primaires, d'autres événements biochimiques secondaires prennent place et sont très importants pour le développement des composés aromatiques. Le processus secondaire concerne donc la dégradation des acides aminés et des acides gras (**Mc Sweeney, 2004**).

### II.3. Le fromage traditionnel (Jben)

Le Jben (ou Djben) est un fromage frais traditionnel, de variété molle, connu et fabriqué dans les trois pays du Maghreb : Algérie, Maroc et Tunisie. Le Jben traditionnel est fabriqué par la coagulation enzymatique type présure de lait cru entier de vache. (Mennane et al., 2007).

Le Jben en Algérie est consommé frais ou après un séchage afin de prolonger sa durée de conservation. Le lait destiné à sa fabrication est chauffé, une fois tiède, un fragment de caillette bovine est macéré dans le lait. Après coagulation du lait et égouttage, le caillé ainsi obtenu peut être salé ou additionné de quelques épices ou de plantes aromatiques. Il contient une microflore variée qui constitue une ligne de défense par la production d'acide lactique, de peroxyde d'hydrogène et de bactériocine (Benkerroum et Tamime 2004).

### II.4 Caractéristiques physiques et chimiques du J'ben

Le fromage frais « Jben » ne présente pas de caractéristiques définies à cause des méthodes artisanales utilisées pour sa préparation reposant essentiellement sur les connaissances acquises à partir d'une longue expérience (Salmeron et al., 2002).

Les caractéristiques physico-chimiques, les arômes et les propriétés organoleptiques du fromage dépendent de celles du lait cru qui à son tour dépend de la race des animaux et leur type d'alimentation (Poznanski et al., 2004).

Généralement, Le pH (< 4,2) et l'acidité titrable (> 0,9%) sont les paramètres les moins variables du « Jben ». Cependant, les matières solides totales du Jben sont le facteur le plus variable car ce dernier dépend de la durée d'égouttage. Étant donné que les lipides, le lactose et les protéines constituent les principaux composants de l'ensemble des matières solides en Jben, ils sont directement influencés par les variations des dites matières solides (Benkerroum et Tamime, 2004).

*Chapitre III :*  
*Les plans*  
*d'expérience*

### III.1.Introduction

Les plans d'expérience sont une approche statistique permettant de maîtriser un problème à plusieurs paramètres tout en suivant un programme préconçu des différentes expériences qu'on se doit effectuer (**Karouite, 2002**).

Les plans d'expérience permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt  $Y$  et des variables  $X_i$  (**Goupy, 2006**).

Il a pour but de minimiser le nombre d'essais pour obtenir des résultats fiables qui reflètent la variation réelle du phénomène étudié en fonction de ses diverses caractéristiques (**Karouite, 2002**).

Il existe de nombreux plans d'expériences adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur (**Goupy, 2006**).

### III.2.Vocabulaire de base des plans d'expériences

#### ❖ Réponse

On qualifie de réponse ( $Y$ ) la grandeur qui est observée pour chaque expérience réalisée (**Tinsson, 2010**).

#### ❖ Facteurs

On qualifie de **facteur** ( $X$ ) toute variable, obligatoirement contrôlable, susceptible d'influer sur la réponse observée (**Tinsson, 2010**).

Les facteurs peuvent être quantitatifs lorsqu'ils sont naturellement exprimés à l'aide de valeurs numériques (pression, température, durée, etc.) ou bien qualitatifs dans le cas contraire (couleur, type de matériaux, sexe, etc.) (**Tinsson, 2010**).

#### ❖ Points expérimentaux

Dans un espace à deux dimensions, le niveau  $i$  du facteur **1**, noté  $X_{1i}$ , et le niveau  $j$  du facteur **2**, noté  $X_{2j}$ , peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimental ou du domaine d'étude (**Goupy, 2006**).

### ❖ Niveau d'un facteur

La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai (**Goupy, 2006**).

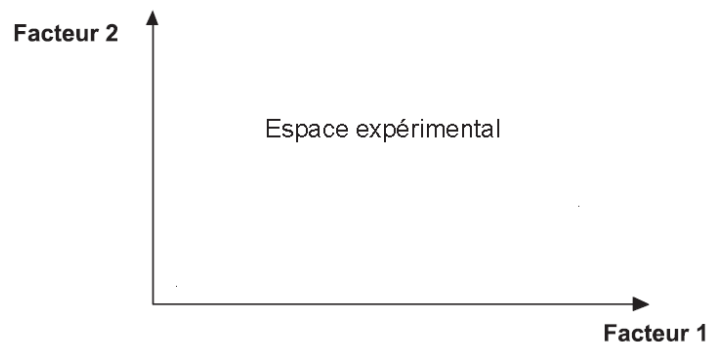
### ❖ Domaine d'étude

Dans la pratique, l'expérimentateur sélectionne une partie de l'espace expérimental pour réaliser son étude. Cette zone particulière de l'espace expérimental est le domaine d'étude (**Goupy, 2006**).

### ❖ Domaine du facteur et domaine expérimental

L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur ou plus simplement le domaine du facteur. On a l'habitude de noter le niveau bas par  $-1$  et le niveau haut par  $+1$  (**Goupy, 2006**).

Il y a un second facteur, il est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. On définit, comme pour le premier facteur, son niveau haut, son niveau bas et son domaine de variation. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier. On obtient ainsi un repère cartésien qui définit un espace euclidien à deux dimensions. Cet espace est appelé l'espace expérimental (**Goupy, 2006**).



**Figure 06 : espace expérimental (Goupy, 2006).**

Chaque facteur est représenté par un axe gradué et orienté. Les axes des facteurs sont orthogonaux entre eux. L'espace ainsi défini est l'espace expérimental.

### ❖ Interaction

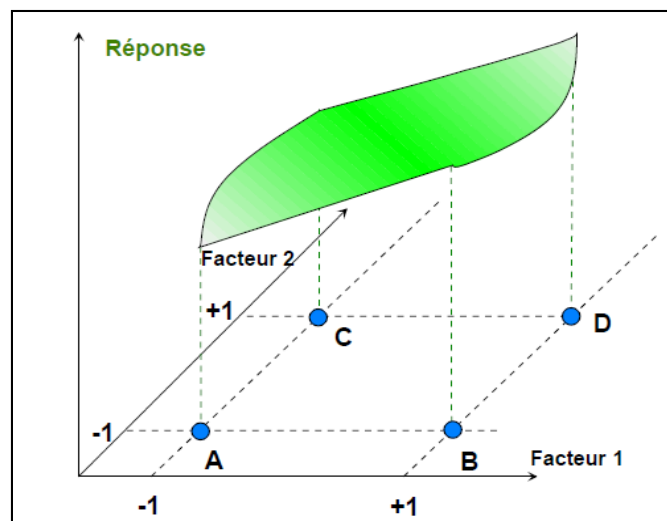
Une notion importante est celle d'interaction entre deux facteurs d'entrées. On parle d'interaction entre deux facteurs  $X_i$  et  $X_j$  quand l'effet du facteur  $X_i$  sur la réponse va dépendre de la valeur du facteur  $X_j$ . Dans la plupart des cas, les études se limitent au premier ordre (interactions entre deux facteurs) (Pillet, 1992).

### ❖ Variables centrées réduites

L'utilisation des variables centrées réduites présente l'intérêt de pouvoir généraliser la théorie des plans d'expériences quel que soient les facteurs ou les domaines d'études retenus. Remplacer les variables naturelles par les variables codées va permettre d'avoir pour chaque facteur le même domaine de variation (entre -1 et +1) et de pouvoir ainsi comparer entre eux l'effet des facteurs (Goupy, 2005).

### ❖ Surface de réponse

A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée la surface de réponse (figure07).



**Figure 07 :** Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse (Goupy, 2006).

Cette surface de réponse est très importante puisque c'est elle qui représente le comportement de la réponse quand on fait varier les niveaux des facteurs. De sa connaissance on peut déduire les meilleurs ajustements des facteurs pour répondre à une

question donnée. Les plans d'expérience permettent de trouver cette surface de réponse en effectuant un minimum d'essais et on obtenant une bonne précision sur sa localisation. La connaissance de cette surface permet de résoudre la plupart des problèmes qui se pose à l'expérimentateur (**Goupy, 2006**).

### III.3. Notion de modélisation mathématique

En l'absence de toute information sur la fonction qui lie la réponse aux facteurs, on se donne a priori une loi d'évolution dont la formulation la plus générale est la suivante :

$$Y = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_n)$$

Cette fonction est très générale et il est d'usage d'en prendre un développement limité de la série de **Taylor-Mac Laurin**, c'est-à-dire une approximation. Si les dérivées peuvent être considérées comme des constantes, le développement précédent prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé :

$$y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_{ij} + \sum a_{ii} x_i^2 + \dots$$

Où :

$y$  est la grandeur à laquelle s'intéresse l'expérimentateur ;  $c$ 'est la réponse.

$x_i$  représente un niveau du facteur «  $i$  ».

$x_j$  représente un niveau du facteur «  $j$  ».

$a_0$ ,  $a_i$ ,  $a_{ij}$ , et  $a_{ii}$  sont les coefficients du polynôme (**Goupy et Creighton, 2006**).

L'intérêt de modéliser la réponse par un polynôme est de pouvoir calculer ensuite toutes les réponses du domaine d'étude sans être obligé de faire les expériences.

### III.4. Notions de statistique appliquées aux plans d'expériences

#### ❖ Erreur

L'erreur est la variation inexplicable dans un ensemble d'observation. On distingue deux types d'erreurs: erreur aléatoire (*Random error*) et l'erreur de manque d'ajustement (*Lack of Fit Error*) (**Goupy et Creighton, 2006**).

- L'erreur aléatoire, appelée aussi erreur expérimentale, est une erreur due à la variation naturelle dans un processus (**Goupy et Creighton, 2006**).
- L'erreur de manque d'ajustement, cette expression traduit le fait que le modèle a priori est fort probablement différent du modèle réel qui régit le

phénomène étudié. Il y a un écart entre ces deux modèles, Cet écart est le manque d'ajustement (**Goupy, 2006**).

### ❖ Analyse de la variance

L'analyse de la variance consiste à rechercher les sources de variation des réponses. On suppose que les réponses ont été calculées avec le modèle postulé,  $y_i = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_n) + e_i$ , en utilisant la méthode des moindres carrés, c'est-à-dire en minimisant la somme des carrés des écarts. Dans ce cas, les réponses calculées s'écrivent et les écarts ( $e$ ) prennent des valeurs particulières  $r_i$  qui s'appellent les résidus. Les résidus sont donc des valeurs particulières des écarts. On a :

$$\check{y}_i = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_n)$$

Avec ces nouvelles notations, la relation donnant la réponse peut s'écrire :

$$y_i = \check{y}_i + r_i$$

L'analyse classique de la variance fait intervenir non pas les réponses mais la différence entre les réponses et leur moyenne (**Goupy et Creighton, 2006**).

### ❖ Résidus

C'est la différence entre la réponse mesurée et la réponse calculée (**Goupy et Creighton, 2006**).

### ❖ p-valuer

La p-valuer est la probabilité qu'un coefficient soit négligeable. On calcule cette p-valuer à partir du rapport du coefficient à son écart-type (t de Student) (**Goupy et Creighton, 2006**).

### ❖ Coefficient de détermination $R^2$

Le  $R^2$  est une mesure de la qualité du modèle. S'il est égal à 1, le modèle permet de retrouver la valeur des réponses mesurées. S'il est égal à 0, le modèle n'en dit pas plus que la moyenne des réponses. Dans la pratique, il est difficile d'indiquer la valeur d'un bon  $R^2$  car les valeurs varient beaucoup d'une discipline à l'autre (**Goupy et Creighton, 2006**).

### III.5. Types de plans d'expériences

Il existe plusieurs types de plans d'expériences qui permettent de s'adapter à la plupart des situations (**Goupy, 2006**) :

- Les plans factoriels complets ;
- Les plans factoriels fractionnaires ;
- Les plans de Plackett et Burman ;
- Les plans Taguchi ;
- Les plans pour surfaces de réponses ;
- Les plans de mélanges ;
- Les plans complètement randomisés ;
- Les plans des blocks randomisés ;
- Les plans optimaux ;
- Les plans pour simulations numériques ;
- Les plans booléens.

Le bon choix d'un plan expérimental maximise la quantité d'information qui peut être obtenue pour un effort expérimental donné. Le choix d'un plan d'expérience dépend des objectifs de l'expérience et du nombre de facteurs étudiés, selon les objectifs expérimentaux rencontrés (**Sado et Sado, 2000**).

#### III.5.1. Les plans pour surface de réponse

Les plans du second degré ou plans pour surfaces de réponse permettent d'établir des modèles mathématiques du second degré. Ils sont utilisés pour les variables continues (**Goupy, 2006**).

Il existe plusieurs types de plans du second degré dont on s'intéresse au Plan Central Composite (CCD).

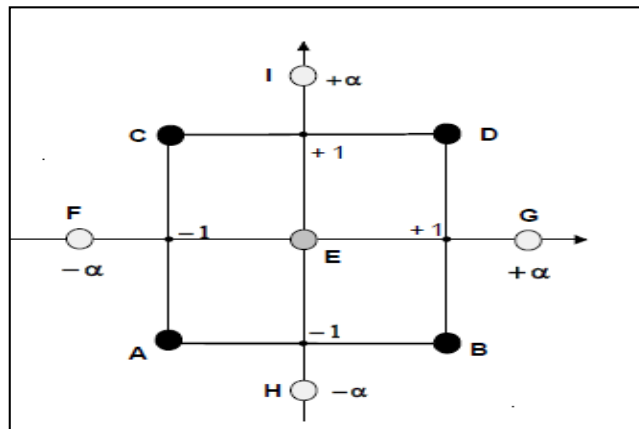
#### III.5.2. Le plan central composite

Les plans composites se prêtent bien au déroulement séquentiel d'une étude. La première partie de l'étude est un plan factoriel complet ou fractionnaire complété par des points au centre pour vérifier la validité du modèle. Si les tests de validation sont positifs (la réponse mesurée au centre du domaine est statistiquement égale à la réponse calculée au même point), l'étude s'achève le plus souvent, mais s'ils sont négatifs, on entreprend des

essais supplémentaires pour établir un modèle du second degré (Goupy et Creighton , 2006).

Les plans composites présentent donc trois parties (Figure 08) :

- a. Le plan factoriel : c'est un plan factoriel complet ou fractionnaire à deux niveaux par facteurs. Les points expérimentaux sont aux sommets du domaine d'étude.
- b. Le plan en étoile : les points du plan en étoile sont sur les axes et ils sont, en général, tous situés à la même distance du centre du domaine d'étude.
- c. Les points au centre du domaine d'étude. On prévoit toujours des points expérimentaux situés au centre du domaine d'étude, et cela aussi bien pour les plans factoriels que pour les plans en étoile (Goupy et Creighton, 2006).



**Figure 08** : Plan composite pour deux facteurs (Goupy, 2006).

La figure 09 représente un plan composite pour deux facteurs :

- Les points A, B, C et D sont les points expérimentaux d'un plan Factoriel  $2^2$ .
- Le point E est le point central. Ce point peut avoir été répliqué une ou plusieurs fois.
- Les points F, G, H et I sont les points axiaux. Ces quatre derniers points forment ce que l'on appelle le plan en étoile (Goupy, 2006).

Le nombre total  $n$  d'essais à réaliser est la somme des essais du plan factoriel ( $n_f$ ), des essais du plan en étoile ( $n_a$ ) et des essais au centre ( $n_0$ ). Le nombre  $n$  des essais d'un plan composite est donné par la relation :

$$n = n_f + n_a + n_0$$

*Matériel et  
méthodes*

### I. Matériel

#### I. 1. Matériel végétal

Le matériel végétal comprend la partie aérienne (fleurs) de la plante Chardon-Marie (*Silybum marianum*) récoltée de la région Alhama, Wilaya de Khenchela au mois D'Avril 2018 au stade pleine floraison.

#### I. 2. Matériel animal

Le matériel animal comprend :

- Les caillettes des jeunes ruminants qui ont été prises de la région El hamma, Wilaya de Khenchela.
- Lait de vache frais pris de la région Fringuel, Wilaya de Khenchela.

#### I. 3. Produits chimiques

L'acide chlorhydrique, hydroxyde de sodium, chlorure de calcium, chloroforme, acide ascorbique, Méthanol, acide trichloracétique, sérum albumine bovin (SAB), Acide sulfurique, acide borique, éther de pétrole, sulfate de cuivre, sulfate de potassium.

#### I. 4. Appareillages utilisé

- Agitateurs (SCIOLOGEX)
- Bain-marie (MEMMERT)
- Dessiccateur (BOEKEL SCIENTIFIC)
- pH-mètre (HANNA instruments ph 211)
- Balance électronique (KERN PCB)
- Etuve (MEMMERT UN55)
- Four à moufle (NABERTHERM GmbH )
- Doseur d'azote (UDK 126 D –VELP SCIENTIFICA)
- Spectrophotomètre (JENWAY 6305 UV– Visible)
- Spectrophotomètre a flamme (JENWAY)
- Spectrophotomètre infrarouge (PERKIN ELMER )
- La presse et le moule pour spectrophotomètre infrarouge (SPECAC)

### II. Méthodes

#### II. 1. Préparation de matériel végétale

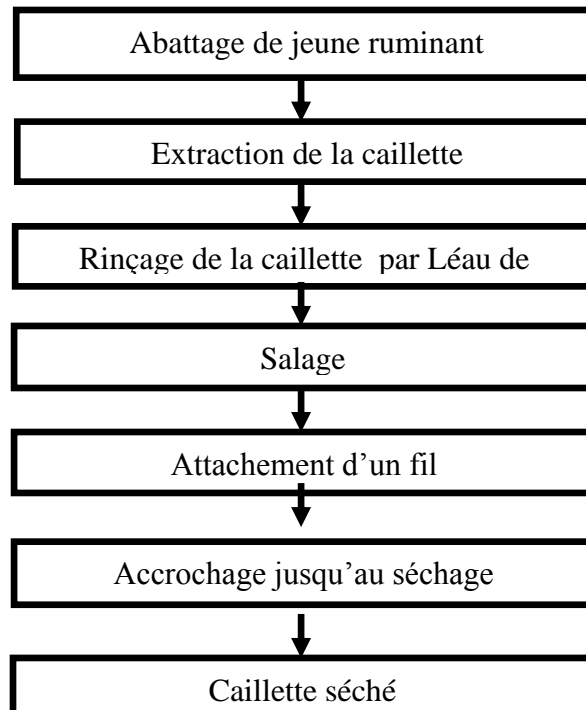
Les fleurs de *S. marianum* ont été récoltées et les pétales ont été récupérés, débarrassés de la poussière et particules indésirable en utilisant un tamis, puis ils ont été séchés à l'air libre à l'abri de la lumière solaire (Figure 09) (annexe 01).



**Figure 09 :** Préparation et aspect des pétales de *S. marianum*.

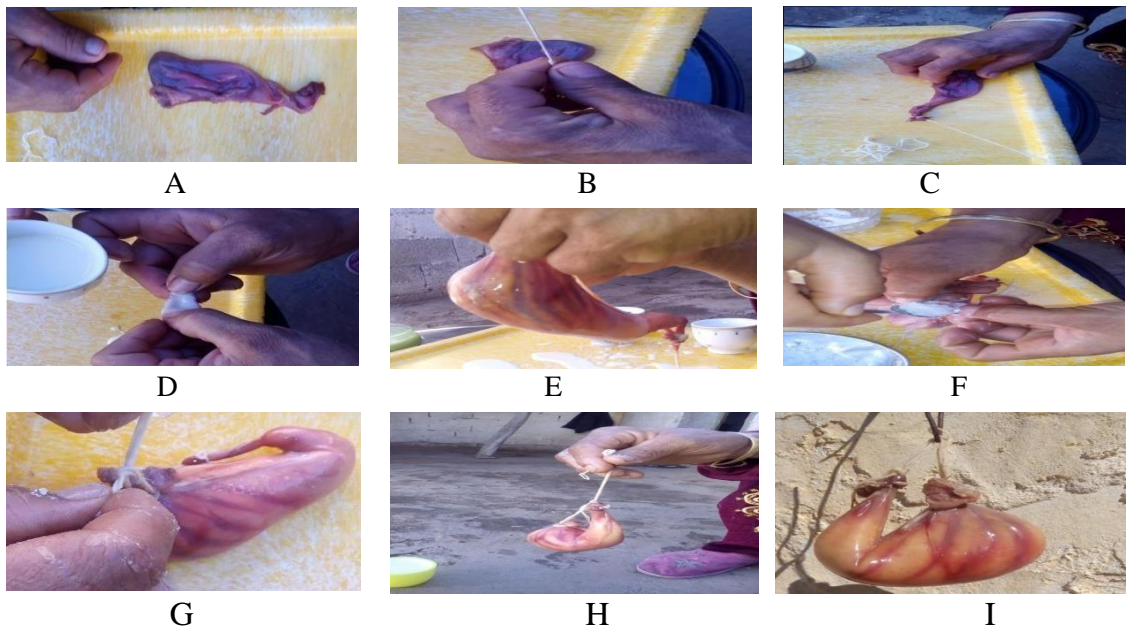
#### II. 2. Préparation de la présure traditionnelle (Hakka)

La présure d'origine animale (Hakka) a été préparée à partir de la caillette du jeune ruminant selon les étapes suivantes :



**Figure 10:** Diagramme de préparation traditionnelle de l'Hakka.

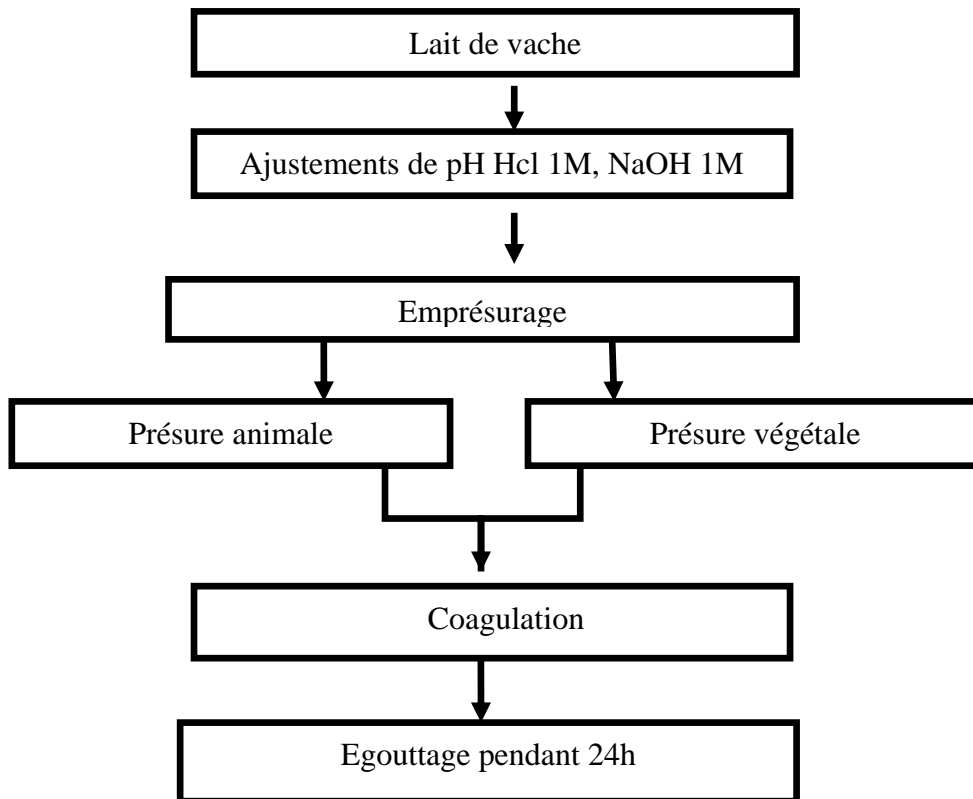
La figure résume les étapes de préparation de la Hakka.



**Figure 11 :** Présentation photographique des différentes étapes de la préparation de la Hakka

### II.3. Les étapes de préparation du fromage traditionnel (Jben)

Le fromage Jben a été préparé selon les étapes suivantes :



**Figure 12 :** Diagramme de fabrication fromage traditionnel « Jben »

### II. 4. Etude de l'effet des conditions de coagulation sur le rendement

Dans notre étude le plan centrale composite (CCD) à été utilisé pour l'optimisation des conditions de la coagulation du lait en utilisant le rendement comme réponse ( $Y_1$  : Rendement de coagulation par présure animal,  $Y_2$  : Rendement de coagulation par présure végétale).

Après l'identification des facteurs qui affectent la coagulation, le plan CCD est appliqué afin d'optimiser les principales variables. Ces facteurs sont représentés en trois niveaux codés par -1, 0 et +1 pour les niveaux minimum, moyenne et le maximum respectivement. Le Tableau V regroupe les facteurs utilisés ainsi que leurs niveaux.

**Tableau V** : Les variables indépendantes et leurs niveaux

Variables	Code du variable	-1	0	+1
Temps (h)	$X_1$	1	3	5
Température (°C)	$X_2$	20	40	60
La présure (g)	$X_3$	0.100	0.350	0.600
CaCl <sub>2</sub> (g)	$X_4$	0	0.125	0.250
pH	$X_5$	5	6.5	8

Pour les deux réponses ( $Y_1$  et  $Y_2$ ), l'influence et les interactions entre les facteurs indépendants à savoir le temps ( $X_1$ ), la température ( $X_2$ ), le taux d'emprésurage ( $X_3$ ), la masse de cacl<sub>2</sub>( $X_4$ ), et le pH ( $X_5$ ). La construction de la matrice des expériences nous a donné 28 essais.

Afin de prédire le point optimal, une fonction polynomiale de second ordre a été élaborée. Elle permet d'étudier la relation entre les variables indépendantes et les réponses(Goupy, 2006):

$$Y_i = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j$$

Avec :

$Y_i$  : la réponse ;

$\beta_0$  : la constante du modèle ;

$X_i, X_j$  : les variables indépendantes ;

$\beta_i$  : les coefficients linéaires ;

$\beta_{ij}$  : les coefficient d'interaction ;

$\beta_{ii}$  : les coefficients quadratiques.

L'analyse statistique du modèle a été exécutée en analysant la variance (ANOVA). Cette analyse inclue le test du Fischer (signification du modèle globale), sa probabilité associée  $p(F)$ , le coefficient de corrélation  $R$  et le coefficient de détermination  $R^2$  qui mesure la qualité d'ajustement du modèle de régression. Pour chaque variable, les modèles quadratiques sont représentés par et les courbes de la surface de réponse 3D. Cette analyse est réalisée par le logiciel JMP 13 Discovery.

### II. 5. Contrôle de la qualité du fromage

#### II. 5. 1. Contrôle physicochimique:

C'est l'ensemble des techniques de laboratoire (manipulations) qui permettent de déceler, déterminer ou de doser certains composants des denrées alimentaires (**Iberraken et Maouche, 2007**).

Humidité totale (%), Acidité, pH, Taux de cendre (%), Matière sèche (%), Matière organiques, (%) Matière grasse totale (%), Protéines(%), (%), minéraux (ppm).

#### II. 5. 1.1. Contrôle des paramètres physiques

##### a. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est exprimée sous forme d'une fraction, en pourcentage, de la masse de l'échantillon initial (**CES, 2001**).

Le principe est consiste à peser l'échantillon et a 'éliminer l'eau et les matières volatiles qu'il contient par chauffage jusqu' a ce que la masse de l'échantillon demeure constant puis ensuit pesé l'échantillon sec. (**Drogba et al., 2016**).

Ce paramètre a été déterminé par la méthode thermogravimétrique selon le mode opératoire suivant :

Les creusets vide sont pesé et la valeur  $m_0$  lu a été noté .10g de fromage sont ajoute aux creusets et la valeur  $m_1$  lu a été noté. Les creusets sont portés à l'étuve pour le séchage au bout de quelques heures (8-24 h) à 105°C. Après séchage les creusets sont sort de l'étuve et refroidit, puis ils sont pesés (**Kouassi, 2008**).

L'opération est répétée jusqu'à ce que les masses entre deux pesées consécutives du même creuset soient différentes d'au plus 0.01g. (**AOAC, 1984**).

La teneur en eau est donnée par la relation suivante (**Kouassi, 2008**).

$$\text{Humidité (\%)} = (m_1 - m_2 / m_1 - m_0) \times 100$$

Avec :

**m<sub>0</sub>** : poids de creuset vide.

**m<sub>1</sub>** : poids de creuset et de l'échantillon.

**m<sub>2</sub>** : poids du creuset après séchage.

### b. Détermination de la teneur en matière sèche totale

Les solides totaux sont définis comme étant le résidu d'un aliment restant après élimination de l'eau, dans des conditions expérimentales données. Le principe est basé sur la dessiccation par évaporation d'un poids initial de viande et la pesée du résidu (**Lecoq., 1965**).

À l'exception des aliments contenant des constituants volatils, la somme de la teneur en eau et en solides totaux représente la totalité de l'aliment.

$$\% \text{H}_2\text{O} + \% \text{MS} = 100\%$$

### c. Détermination de la teneur en matière minérale.

Les cendres totales sont le résidu de composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organiques (**AOAC, 1984**).

Pour le déterminer 10g de fromage sont pesés dans des creusets préalablement tarés l'ensemble place dans le four a moufle a 550°C .cette température est maintenue jusqu'a obtention de cendre blanche, après refroidissement des cendres au dessiccateur elle sont pesées immédiatement (**Drogba., 2016**)

Le calcul du pourcentage de la matière minérale se fait par la formule suivante (**AOAC., 1984**) :

$$\text{MM \%} = (X / Y) \times 100$$

Avec :

**MM** : matière minérale (%).

**X** : poids de l'échantillon après combustion (g).

**Y** : poids de l'échantillon avant combustion (g) .

### d. Détermination de la teneur en matière organique

Elle est déterminée en se basant sur les résultats de la matière sèche et la matière minérale, et en appliquant la formule suivante (**Lecoq, 1965**) :

$$\text{MO (\%)} = \text{MS (\%)} - \text{MM (\%)}$$

**MO**: Matière organique.

**MS**: Matière sèche.

**MM** : matière minérale.

### II.5.1.2. Contrôle des paramètres chimiques

#### a. Détermination du pH

Le pH de fromage a été déterminé en suivant la méthode décrite par (**Bendall., 1973**). Il a été mesuré dans l'extrait aqueux de 1g de l'échantillon homogénéisé dans 10 ml de l'eau distillée à l'aide d'un pH-mètre.

#### b. Détermination de l'acidité dornique

L'acidité titrable représente la somme des acides minéraux et organiques présents dans le produit. Elle est exprimée en fonction de l'acide dominant (**Bouras, 2008**).

90 ml d'eau distillée stérile est chauffé à une température de 40°C sont ajoutés à 10 g de fromage. Le mélange est bien homogénéisé, puis 10 ml de cette suspension est titré par la soude N/9, en présence de phénol phtaléine. La phénolphtaléine indique la limite de neutralisation par changement de couleur (rose pâle), Le résultat est exprimé en degré Dornic par gramme de fromage (°D/g) (**Afnor., 1986**).

1ml —————> 10°D

1°D —————> 0.01% d'acide lactique

### II.6. Détermination de la teneur en matière grasse (**Folch, 1957**).

Cette technique repose sur le principe d'une extraction à froid des lipides par un mélange de solvant méthanol/chloroforme (1/2 : v/v). L'addition d'une solution aqueuse de NaCl à 0.58% (m/v) permet la séparation des phases. La phase supérieure constituée de méthanol et d'eau contient les composés hydrophiles (glucides et protéines) dont la dissolution est favorisée par la présence de sel tandis que les lipides sont dissous dans la phase organique inférieure(**Folch, 1957**).

Pour se faire, 5g d'échantillon sont laissé à imbiber 10 minutes dans un ballon placé dans la glace contenant 33 ml de méthanol froid (4° C), l'ensemble est ensuite homogénéisé pendant 5 minutes, puis 66 ml de chloroforme sont ensuite ajoutés et l'ensemble est homogénéisé pendant 5 minute (0°C), puis filtré sur papier filtre. Le filtrat est transversé en une ampoule à décanter et 22ml de la solution de NaCl à 5.8 (g/l) sont ajoutés, l'ensemble est agité puis mis à décanter 6 heures. La phase organique inférieure est ensuite prélevée et filtrée sur sulfate de sodium anhydre. Le filtrat est évaporé à 35°C sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif (**Folch, 1957**).

Les solvants chloroforme et méthanol sont additionnés de (25mg/l) d'acide ascorbique afin de limiter l'oxydation lipidique au cours des extractions.

Trois extractions sont effectuées pour chaque échantillon et la moyenne des valeurs obtenues est calculée.

### II.7. Détermination de la teneur en azote total

Le dosage d'azote par la méthode de Kjeldahl s'effectue en trois étapes soit, la minéralisation, la distillation et le titrage. La minéralisation ou la digestion de l'échantillon vise à convertir la totalité de l'azote organique en ions ammonium ( $\text{NH}_4$ ). Les molécules organique mise en présence d'un bon rapport d'acide sulfurique concentré ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )/sulfate de potassium ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) catalysé par sulfate de cuivre, sont décomposé par oxydation pour donner principalement de  $\text{CO}_2$  et de l'eau. L'azote organique quant à lui est converti en sulfate d'ammonium ( $\text{NH}_4$ ) $_2\text{SO}_4$  en excès hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) a été ajouté où le digestat refroidi pour permettre la transformation de l'azote sous forme de sulfate d'ammonium en ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ). L'ammoniaque est distillée en excès d'acide borique et détermine par titrage avec l'acide chlorhydrique (**Vignola., 2000**).

Dans notre étude nous avons suivi le mode opératoire suivant :

La minéralisation est réalisée en introduisant 2g de fromage dans un matras de Kjeldahl et 15ml d'acide sulfurique 95 % et d'un mélange de catalyseurs ( $\text{K}_2\text{SO}_4$  et  $\text{CuSO}_4$ ) sont ensuite ajoutés l'ensemble est placé dans le minéralisateur (2h à 24°C) et chauffé jusqu'à l'obtention d'un minéralisat jaune (l'azote a été transformé en  $\text{NH}_4^+$ ). Puis quelques gouttes de phénolphtaléine à 1%. Ont été ajoutés

Après minéralisation, le Matras a été transféré au système de distillation et 50 ml d'une solution de soude concentrée à 40 % est ajoutée. Le minéralisat alcalinisé a été

## Matériel et méthodes

---

chauffé, et l'ammoniac distillé est mis en contact avec 30 ml d'acide borique a 40% qui a été mélangé avec quelques gouttes de l'indicateur coloré tashiro.

La titration a été effectuée par l'acide chlorhydrique 0,1 N jusqu'à virage de l'indicateur à sa teinte acide (couleur rose violet) (Nielsen, 2010).

La teneur en azote exprimé en masse du produit (g / 100 g d'échantillon) est égale à :

$$\text{Azote total} = (V_1 - V_0) \times N \times 0.014 \times 100 / m$$

$V_0$  : est le volume, en ml de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour l'essai à blanc

$V_1$  : est le volume, en ml de la solution d'acide chlorhydrique utilisée pour la prise d'essai

$N$  : est la normalité de la solution d'acide chlorhydrique utilisée lors du titrage = 0.1 N

$m$  : est la masse en gramme, de la prise d'essai

La teneur en azote trouve a été multipliée par un facteur de conversion correspondant a l'inverse de la teneur en azote dans les protéines. Comme la teneur en azote est variable puisque elle est fonction en acide aminés présents et de leur proportion. S'il s'agit d'un produit alimentaire contenant plusieurs sort de protéines le facteur conventionnel de 6.25 correspondant a un taux moyen d'azote de 16% dans la fraction protéique est utilisé (Werner et al, 2010 ).

### II. 8. Dosage des protéines (Bradford, 1976) .

Il est souvent nécessaire de connaître la concentration totale de l'ensemble des différentes protéines d'un milieu, c'est pourquoi on cherche à mettre en œuvre des réactions capables de révéler toutes les protéines. (Bradford, 1976).

De nombreuses méthodes ont été mises au point pour doser les protéines. Ce sont généralement des méthodes spectrophotométriques basées sur diverses caractéristiques spectrales ou réactionnelles des acides aminés constituant les protéines. (Bradford, 1976).

La méthode de Bradford est une méthode d'analyse spectroscopique utilisée pour mesurer la concentration des protéines en solution. Le test est basé sur l'observation que le maximum d'absorbance pour une solution acide de bleu de Coomassie G-250 passe de 465 nm à 595nm lors que la liaison à la protéine se produit (Bradford, 1976).

## Matériel et méthodes

---

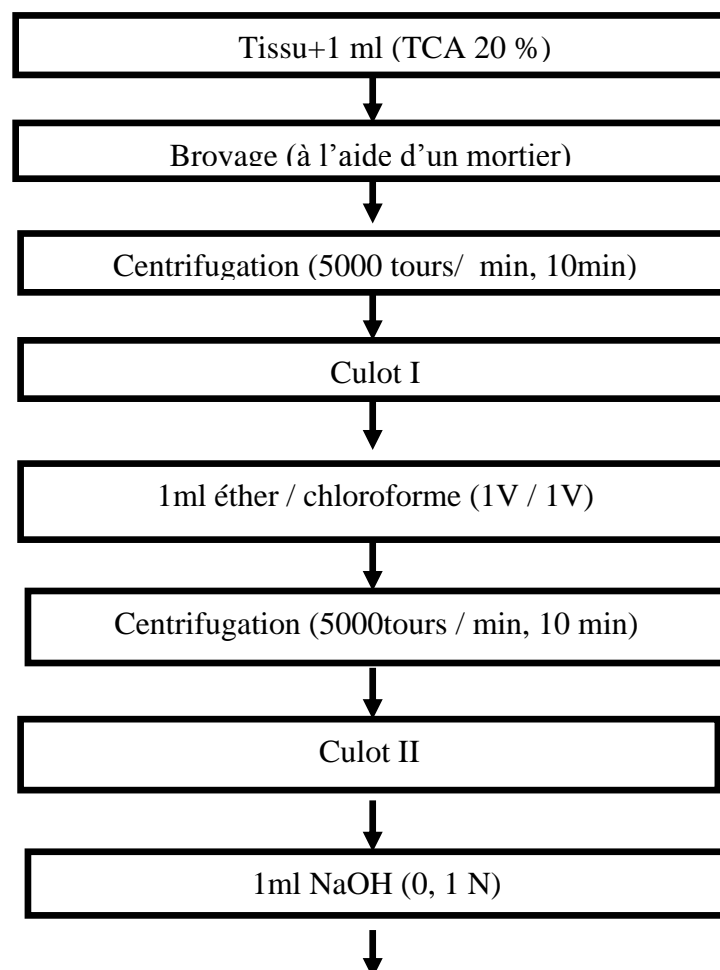
Contrairement aux autres méthodes de mesure des protéines, la méthode de Bradford est moins sensible aux interférences par divers agents présents dans les échantillons de protéine. C'est une méthode très sensible (2-5  $\mu\text{g}$  de protéines) et très rapide. Elle est aussi assez résistante à la plupart des interférents qui nuisent à la plupart des autres méthodes (**Bradford, 1976**).

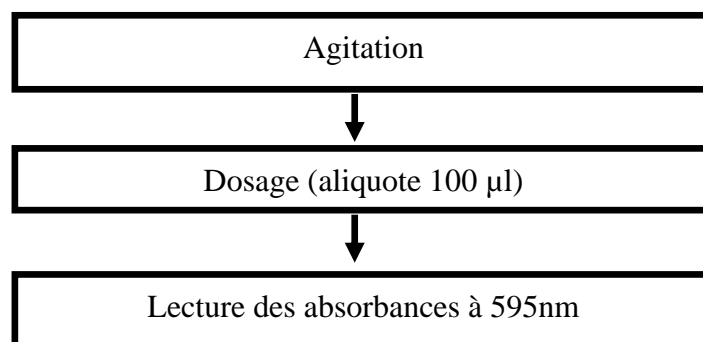
La méthode de Bradford utilise les propriétés de bleu brillant de Coomassie (BBC) à se fixer sur les acides aminés basiques (l'arginine en particulier) et aromatiques; il en résulte une modification des propriétés spectrales du bleu de Coomassie qui, une fois complexé, présente un maximum d'absorbance à 595 nm (**Dauvillier, 1998**).

On utilise le bleu brillant de Coomassie (G250) comme réactif. Les résultats sont exprimés en équivalent albumine (l'albumine de sérum de bœuf BSA (20mg /ml), produit de référence servant à la standardisation (**Dauvillier, 1998**).

### II. 8. 1. Extraction des protéines selon Bradford

L'extraction de protéines a été réalisée selon les étapes présentées dans la figure 13





**Figure 13:** Extraction des protéines selon **Bradford (1976)**.

### II. 8. 2. Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines

Les protéines des échantillons ont été dosées dans une fraction aliquote de 100 µl additionnée de 4 ml de réactif BBC. Après agitation, la lecture des absorbances est effectuée contre un blanc à l'aide d'un spectrophotomètre (**Tableau VI**).

**Tableau VI :** réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines

<b>Tubes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
<b>BSA (µl)</b>	0	20	40	60	80	100
<b>Eau distillée (µl)</b>	100	80	60	40	20	0
<b>Réactif BBC (ml)</b>	4	4	4	4	4	4
<b>Quantité des protéines (µg)</b>	0	400	800	1200	1600	2000

### II. 9. Dosage des minéraux par Spectrophotomètre a flamme

La méthode basé sur le fait que les composés des métaux alcalins et alcalino-terreux peuvent être dissociés thermiquement dans une flamme et que certains des atomes produits seront excités à un niveau d'énergie plus élevé. Lorsque ces atomes retournent à l'état fondamental, ils émettent des radiations qui se trouvent principalement dans la région visible du spectre. Chaque élément émettra un rayonnement à une longueur d'onde spécifique à cet élément. Le tableau **VII** donne des détails sur les émissions de flammes atomiques mesurables des métaux alcalins et alcalino-terreux en termes de longueur d'onde d'émission et de couleur produite.

**Tableau VII :** Longueur d'onde d'émission de quelques minéraux.

Elément	Longueur d'onde d'émission (nm)	Couleur de flamme
Sodium(Na)	589	Jaune
Potassium (K)	766	Violet
Calcium (Ca)	622	Orange

Avant de passer par le spectrophotomètre à flamme, les échantillons subissent une préparation préalable comme suit :

10 g de fromage ont été incinérés au four à moufle à 550°C pendant 24h et 3ml d'eau distillé et 1ml d'HCl concentré ont été ajoutés. L'ensemble a été évaporé à sec sur plaque chauffante à 250°C puis 1 ml d'HCl a été ajouté et l'ensemble a été filtré sur fiole jaugée de 50 ml puis analysé par le spectrophotomètre à flamme (**Didier et Cas, 1976**).

### II.10. Etude des spectres infrarouge des fromages

Lorsqu'un corps est traversé par un rayonnement IR certaines de ces liaisons chimiques entrent en résonance pour certaines fréquences de rayonnement. Le rayonnement IR subit une atténuation pour les domaines de fréquences caractéristiques des liaisons du corps analysé. L'importance de l'atténuation est fonction de la concentration de la liaison considérée (**Jean et al., 1998**).

L'analyse est faite selon les instructions du fabricant comme suit :

Entre 20-40 mg de fromage traditionnel sont prélevés, mis dans un mortier en agate, et ensuite mélangés à 100 mg de poudre de KBr. Un broyage pendant au moins 03 minutes est nécessaire afin d'avoir un ensemble finement broyé et bon pour le pastillage. Le mélange est introduit dans le moule pour pastille, ensuite comprimé-pastillé dans une presse hydraulique (à une pression de 10 Tonnes), La pastille est ensuite extraite avec précaution du moule pour être placée dans un porte échantillon. L'appareillage analyse préalablement un spectre background relatif à l'atmosphère qui règne dans la salle d'analyse.

### II. 11. L'analyse sensorielle

L'analyse sensorielle est une méthode qui permet d'évaluer les qualités organoleptiques (aspect, odeur, arôme, texture) des aliments. Elle est basée sur la capacité des hommes à quantifier et à décrire leur perception sensorielle. Les organes des sens (la vue, l'ouïe, le toucher, l'odorat, la gustation) sont considérés comme des appareils de mesure qui pourront être étalonnés et contrôlés (**Brander et al., 2007**).

L'évaluation sensorielle des produits finis a été effectuée par un groupe de dégustateurs composé de 20 personnes. Des échantillons représentatifs des quatre types de fromage traditionnel Jben codés par 1, 2, 3 et 4 ont été représentés aux dégustateurs pour comparaison.

Le jury de dégustation a été invité, en s'aidant d'une fiche de dégustation appropriée, à évaluer sur une échelle structurée de 15 points sur un segment de 15 cm (Annexe). L'intensité de l'odeur, le goût, la consistance de la pâte correspondait à une sensation non perçue et la note 15 (extrémité droite) à une sensation extrêmement intense. Les résultats ont été analysés statistiquement en utilisant la composante principale (ACP).

### II. 12. L'analyse statistique

Pour déterminer l'existence ou non d'une différence significative concernant la composition physicochimique entre les quatre types de fromage traditionnel Jben, l'analyse de variance (ANOVA) associée avec les tests de comparaison multiple HSD (*Honestly Significant Difference*) a été effectuée. Le logiciel Excel Stat a été utilisé avec un risque ( $\alpha = 0,05$ ).

*Résultats  
et Discussion*

### I. Résultats de l'optimisation par plans d'expériences

L'optimisation par plans d'expérience est moins couteuse et consomme moins du temps par rapport aux méthodes classiques car il modélisé au mieux un phénomène aléatoire le plus savant complexe a laide d'une minimum d'essai d'une manière à trouver les interactions entre les variable donc elle s'inscrivait dans la démarche constant d'amélioration la qualité ou de la (Tinsson, 2010 ; Montgomery, 2001). Ils offrent une grande quantité d'information à partir d'un nombre réduit d'essais (Baş & Boyaci, 2007).

Dans notre étude le plan centrale composite (CCD) a été utilisé pour l'optimisation de rendement de coagulation du lait par la présure d'origine animale ( $Y_1$ ) et végétale ( $Y_2$ ).

Pour les deux réponses, l'influence et les interactions entre les facteurs indépendants à savoir. le temps ( $X_1$ ), la température ( $X_2$ ), le taux d'emprésurage ( $X_3$ ), la masse de  $CaCl_2$  ( $X_4$ ), le pH ( $X_5$ ) ont été déterminées. La construction de la matrice des expériences nous a donné 28 essais. Les valeurs trouvées on été comparées avec les valeurs prévues par le model pour vérifier sa performance. L'ajustement du model a été vérifié par le test d'ANOVA, et la linéarité les interactions entre les facteurs indépendants a été vérifié par la régression en utilisant la méthode des moins carrés. L'analyse a été réalisée en utilisant le logiciel JMP *Statistical Discovery* v13.2 (USA).

#### I.1. Résultats de l'optimisation des conditions de coagulation

28 essais de fabrication du fromage traditionnel (Jben) ont été réalisés en utilisant un coagulant d'origine animal (cailllette du jeune ruminant) et un autre d'origine végétal (pétales des fleurs de *S. marianum*). La matrice des assai ainsi que les résultats de rendement de coagulation sont résumés dans le Tableau VIII .

Il ressort de tableau que le rendement de coagulation du lait par la présure d'origine animale ( $Y_1$ ) varié de 0 à 54,3 (g), alors que les valeurs sont situées entre 0 et 62,5(g) pour la coagulation par la présure d'origine végétale ( $Y_2$ ). Les rendements les plus grand pour les deux réponses  $Y_1$  et  $Y_2$  ont été observés avec les niveaux 5h, 60°C, 0.600g, 0.25g et pH5 pour les variables  $X_1$ ,  $X_2$ ,  $X_3$ ,  $X_4$  et  $X_5$  successivement. D'autre part le rendement de 0 g a été enregistre avec l'expérience 17 concernant la coagulation par la présure d'origine animale tandis que des rendements semblable sont observé dans les essais 19, 20, 21 et 23 lors de la coagulation du lait par la présure d'origine végétale. Les

## Résultats et discussion

valeurs mesurées sont très proches de valeurs prévues ce qui nous indique sur le bon fonctionnement du model.

**Tableau VIII :** Matrice d'expérience CCD et les réponses associées.

Essai	Variables indépendants					Y1		Y2	
	X <sub>1</sub> (h)	X <sub>2</sub> (°C)	X <sub>3</sub> (g)	X <sub>4</sub> (g)	X <sub>5</sub>	Mesuré (g)	Prévu (g)	Mesuré (g)	Prévu (g)
1	1	60	0.1	0	8	0.1	1,79	0,13	-0,18
2	3	40	0.35	0.125	8	0.78	0	0,17	1,68
3	1	20	0.6	0	8	0.2	1,00	0,05	0,07
4	3	40	0.35	0.125	6.5	2.3	0,68	0,01	0,67
5	3	40	0.35	0.125	5	20.42	25,48	50,12	48,39
6	3	40	0.35	0	6.5	3.8	2,88	0,26	2,37
7	3	60	0.6	0.125	5	28.07	27,84	40,32	40,51
8	1	20	0.35	0.125	6.5	1.63	2,56	0,9	-0,16
9	3	20	0.1	0	5	37.18	36,14	40	40,23
10	5	20	0.1	0.125	8	0.18	0,63	0,24	-0,48
11	5	40	0.35	0.25	6.5	0.06	0	0,01	0
12	1	60	0.1	0.25	8	0.4	0,71	0,75	0,34
13	5	60	0.1	0.25	5	0.4	0,60	42,62	43,32
14	5	60	0.6	0	8	0.4	0,28	0,02	0
15	5	60	0.6	0.25	5	54.3	52,68	62,5	62,60
16	5	40	0.35	0.125	6.5	2.87	7,49	0,3	2,76
17	5	40	0.1	0.125	6.5	0	0	0,4	0,72
18	3	20	0.1	0	5	17.4	17,74	59,5	59,82
19	1	20	0.6	0.25	8	11	10,42	0	0
20	5	20	0.1	0.25	8	0.01	1,24	0	0,47
21	1	60	0.6	0.25	8	0.62	1,28	0	0,34
22	1	40	0.35	0.125	6.5	1.47	0,68	0,5	0,67
23	3	40	0.35	0.25	6.5	2.81	4,31	0	-2,32
24	3	20	0.6	0.25	5	37.38	36,69	60,2	59,98
25	1	60	0.1	0	5	47.68	47,10	0,4	0
26	5	20	0.6	0	5	33.4	31,93	0,5	1,35
27	3	40	0.6	0.125	6.5	1.17	4,39	19,4	20,38
28	3	60	0.35	0.125	6.5	2.47	2,13	46,66	46,43

X<sub>1</sub>: le temps, X<sub>2</sub>: la température, X<sub>3</sub>: le taux d'emprésurage, X<sub>4</sub>: la masse de cacl<sub>2</sub>, X<sub>5</sub>: pH, Y<sub>1</sub>: rendement de coagulation par la présure d'origine animale, Y<sub>2</sub>: rendement de coagulation par la présure d'origine végétale.

### I .2. Ajustement du model

#### I .2.1. Résultats de l'analyse de variance et régression linéaire

L'analyse du model par le test ANOVA nous a donné des résultats très hautement significatif pour les deux réponses  $Y_1$  et  $Y_2$  avec  $p < 0.002$  et  $p < 0.001$  respectivement. D'une autre part les valeurs du coefficient de détermination ( $R^2$ ) ont été de l'ordre de 0,98 pour la réponse  $Y_1$  et de 0.99 pour la réponse  $Y_2$  montrant la bonne concordance entre les données expérimentales et celles prévues par le model. Autrement dit le modèle utilisé a pu prédire 98% et 99% des variations totales des valeurs de rendement pour  $Y_1$   $Y_2$ . Les résultats de l'analyse de variance et de la régression sont résumé dans le tableau **IX**

L'analyse de variance est un test paramétrique basé sur la comparaison de la variance normale avec celle observé en vérifiant la valeur F de Fisher à une p-valeur bien définie. Une p-valeur est la probabilité de déclarer à tort un effet significatif. Plus les valeurs p étaient faibles, plus la signification du coefficient correspondant était grande (**Sheng et al., 2012**). Nos résultats montrent une grande signification du modèle avec les termes dépendants (Tableau IX).

De plus, les résultats de régression multiple ont montré que la quasi-totalité des variations des valeurs de rendement  $Y_1$  et  $Y_2$  peuvent être prédites par le modèle avec des coefficients de corrélation ( $R^2$ ) entre 0.99 et 0.98. **Joglekar et May (1987)** suggèrent que pour un bon ajustement d'un modèle, la valeur  $R^2$  devrait être de 0,80. Plus  $R^2$  est proche de 1, plus la corrélation entre les valeurs réelles et prédites est satisfaisante (**Sinha et al., 2012**).

#### I.2. Résultats d'analyse du manque d'ajustement

Le manque d'ajustement est un paramètre très important pour la validité du model. Un manque d'ajustement significatif montre que le model est non ajuste au phénomène étudié, dans ce cas le changement du model et la réalisation d'une nouvelle optimisation est nécessaire. D'après les résultats illustrés dans le tableau **IX**, le manque d'ajustement est non significatif pour les deux réponses  $Y_1$  et  $Y_2$  avec p-valeurs de 0.0999 et de 0,997 respectivement. Indique un bon ajustement du modèle avec les paramètres étudiés, il est calculé à partir de l'erreur totale et de l'erreur pure des réponses.

## Résultats et discussion

**Tableau IX :** Résultats d'ajustement du model et les effets des variable indépendantes sur les réponses.

Réponse	Y <sub>1</sub>		Y <sub>2</sub>	
	Estimation	Prob. >  t	Estimation	Prob. >  t
Constante	6299,12	0,1597	-1001,96	0,6561
X <sub>1</sub>	52,40	0,2521	136,10	0,0005***
X <sub>2</sub>	-129,05	0,0180*	214,91	<,0001***
X <sub>3</sub>	1399,40	0,0397*	24,79	0,9362
X <sub>4</sub>	10951,36	0,2283	-1991,49	0,6690
X <sub>5</sub>	-19,82	0,6512	84,60	0,0072***
X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	2,92	0,0259*	0,35	0,5484
X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	-17,35	0,0752	38,64	<,0001***
X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	3,8	0,6613	16,19	0,0085**
X <sub>1</sub> X <sub>4</sub>	71,45	0,1292	84,3	0,0070**
X <sub>2</sub> X <sub>4</sub>	-137,3	0,0130*	197,65	<,0001***
X <sub>3</sub> X <sub>4</sub>	1372	0,0044**	94,8	0,6125
X <sub>1</sub> X <sub>5</sub>	-4,89	0,0022**	-2,93	0,0012**
X <sub>2</sub> X <sub>5</sub>	-0,93	0,3979	-0,79	0,1961
X <sub>3</sub> X <sub>5</sub>	-19,48	0,0515	2,85	0,5442
X <sub>4</sub> X <sub>5</sub>	21,1	0,6272	106,85	0,0020**
X <sub>1</sub> <sup>2</sup>	1,07	0,6968	-0,62	0,6758
X <sub>2</sub> <sup>2</sup>	1,66	0,5508	-0,07	0,9578
X <sub>3</sub> <sup>2</sup>	12,68	0,9426	-24,21	0,7988
X <sub>4</sub> <sup>2</sup>	4669,15	0,3080	-1037,39	0,6637
X <sub>5</sub> <sup>2</sup>	10,21	0,0063**	24,36	<,0001***
Model	≤0,002**		≤ 0.001***	
Manque d'ajustement	0.099		0.1096	
R <sup>2</sup>	0.98		0.99	
X <sub>1</sub> : le temps, X <sub>2</sub> : la température, X <sub>3</sub> : le taux d'emprésurage, X <sub>4</sub> : la masse de cacl <sub>2</sub> , X <sub>5</sub> : pH, Y <sub>1</sub> : Rendement de coagulation par la présure d'origine animale, Y <sub>2</sub> : Rendement de coagulation par la présure d'origine végétale, *effet significatif à p ≤ 0,05 ;** effet hautement significatif à p ≤ 0,01; *** effet hautement significatif à p ≤ 0,001.				

Le manque d'adéquation mesure l'incapacité du modèle à représenter les données dans le domaine expérimental aux points qui ne sont pas inclus dans la régression (**Myers et Montgomery, 2002**). Dans notre étude, l'analyse du manque d'ajustement suggère que le modèle utilisé convient pour optimiser les réponses étudiées.

### I.3. L'analyse de l'influence et l'interaction des variables dépendantes

Cette analyse est réalisée en utilisant le test ANOVA pour les facteurs linéaires, d'interaction et quadratiques. Les résultats de l'analyse sont consignés dans le tableau **IX**

Concernent la coagulation par la présure d'origine animale ( $Y_1$ ), les résultats du tableau **IX** montrent que les facteurs linéaires  $X_2$  et  $X_3$  et d'interaction  $X_1X_2$  et  $X_2X_4$  ont une influence significative ( $p \leq 0.05$ ) sur la réponse, alors que les facteurs d'interaction  $X_1X_5$  et  $X_3X_4$  et quadratique  $X_5^2$  ont une influence hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) sur le rendement de coagulation.

De plus, le teste ANOVA pour la coagulation par la présure d'origine végétale a été montré que les facteurs linaires  $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_5$ , les facteurs d'interaction  $X_1X_3$ ,  $X_2X_4$  et le facteur quadratique  $X_5^2$  ont une influence hautement significative sur le rendement de la coagulation ( $p \leq 0.001$ ), tandis les facteur d'interaction  $X_2X_3$ ,  $X_1X_4$ ,  $X_1X_5$  et  $X_4X_5$  ont une influence hautement significative ( $p \leq 0,01$ ) sur  $Y_2$  (Tableau IX).

Dans notre étude le rendement de coagulation est fortement influencé par la température de coagulation pour les deux réponses. Ces résultats sont en accord avec **Allogui et al., (2000)**, qui ont observé que la coagulation enzymatique du lait est fortement dépendante de la température et la vitesse de formation du coagulum augmente progressivement de 20 à 40-42 °C, et s'arrête à 55°C.

En effet le chauffage a un léger effet au niveau de la phase primaire (enzymatique) de la coagulation, tandis que son effet reste marqué au moment de la phase secondaire (phase d'agrégation des protéines) (**Anema et al., 2005**).

Selon **Pires et al., (1999)** et **Awad (2005)**, L'influence du pH sur le temps de coagulation et la vitesse de raffermissement du caillé est très forte. Nos résultats montrent que l'acidification du lait exerce un effet positif sur le rendement de coagulation, dont les meilleurs rendements ont trouvé avec les niveaux bas de pH (5) pour  $Y_1$  et  $Y_2$ .

**Zbikowska et al., (2004)** ont trouvé des résultats similaire avec un pH optimal d'hydrolyse de la  $\kappa$ - caséine qui se situe entre 5,1-5,3.

L'effet le plus important de l'abaissement du pH est la solubilisation du phosphate de calcium micellaire (**Visser et al., 1980**), ainsi que la diminution de la charge nette de la

molécule de caséine, suivi de la dissociation de la caséine des micelles. L'abaissement du pH augmente la vitesse de raffermissement du caillé (**Daviau et al., 2000**).

Comme toute réaction enzymatique, la concentration en enzyme a une grande influence sur le processus de coagulation présure. Cette coagulation est le résultat d'une réaction d'hydrolyse enzymatique suivie d'une réaction d'agrégation des protéines (**Van Hooydonk et Walstra, 1987**).

Dans notre cas, la concentration de la présure ayant un effet positif sur la coagulation du lait. Le temps de coagulation diminue avec l'augmentation de la concentration en enzyme (**Carson et al., 1987**).

La concentration du chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) ayant aussi un effet positif sur le rendement de coagulation. L'agrégation des caséines est ainsi accélérée par l'addition de calcium (**Balcones et al., 1996**).

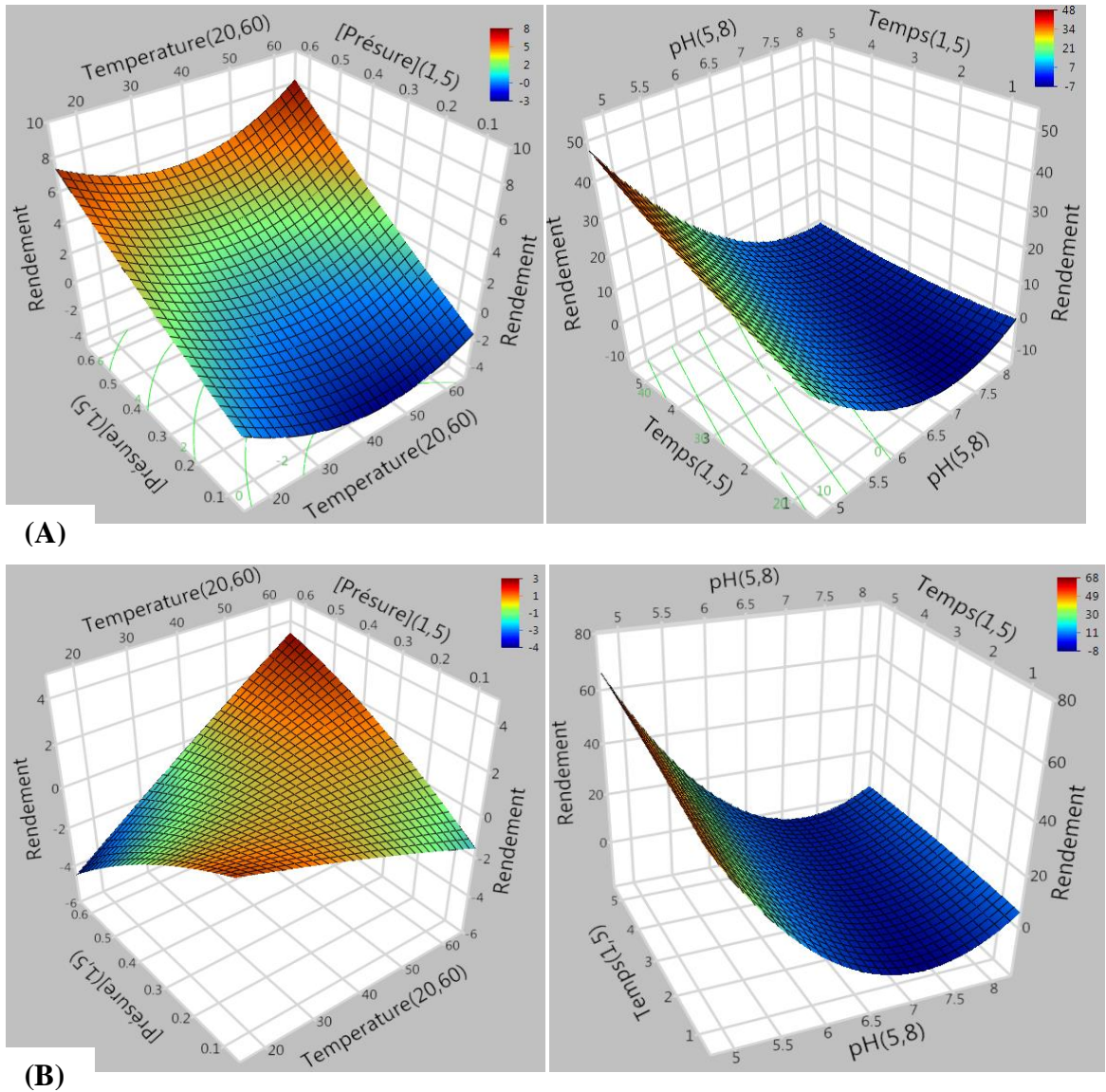
Cette addition de  $\text{CaCl}_2$  au lait ou à une suspension micellaire entraîne un abaissement du niveau de protéolyse de la caséine  $\kappa$  nécessaire à l'agrégation (**Famelart, 2004**).

De plus la concentration de  $\text{CaCl}_2$  a montré un effet synergétique positif sur la coagulation. En effet, le couple pH et la concentration du lait en chlorure de calcium ( $\text{CaCl}_2$ ) est la seule combinaison qui affecte la fermeté du coagulum et la vitesse de formation du gel (**Mietton et al., 2004**).

#### **I.4. Analyse des surfaces de réponse**

Le modèle de régression développé peut être représenté par les surfaces de réponse et le contour plot pour comprendre l'interaction des quatre variables et pour déterminer le niveau optimal de chaque variable pour optimiser la réponse. Les surfaces de réponse montrent l'interaction de deux variables indépendantes quand une autre variable est fixée à zéro. La figure 14 représente les surfaces de réponse établies pour le rendement de coagulation.

## Résultats et discussion



**Figure 14 :** Représentation tridimensionnelle des modèles polynomiales de deuxième ordre. (A) : Rendement présure animal, (B) : Rendement présure végétale.

Selon la figure 14 on observe que le rendement de coagulation augmente avec l'augmentation de la température et la quantité de la présure jusqu'à un maximum avec 60°C et une quantité de présure de 0,600 g pour les deux réponses  $Y_1$  et  $Y_2$ . D'une autre part, le rendement est corrélé négativement avec le pH et positivement avec le temps. Les équations du second degré du model quadratique polynomial, résument les différents effets des variables indépendantes sur le rendement de coagulation comme suit :

$$\begin{aligned}
 Y_1 = & 6299,12 + 52,40X_1 - 129,05X_2 + 1399,4X_3 + 10951,36X_4 - 19,82X_5 + 2,92X_1X_2 - \\
 & 17,35X_1X_3 + 3,8X_2X_3 + 71,45X_1X_4 - 137,3X_2X_4 + 1372X_3X_4 - 4,89X_1X_5 - 0,93X_2X_5 + \\
 & 19,48X_3X_5 + 21,1X_4X_5 + 1,07X_1^2 + 1,66X_2^2 + 12,68X_3^2 + 4669,15X_4^2 + 10,21X_5^2 \dots(1)
 \end{aligned}$$

## Résultats et discussion

$$Y_2 = -1001,96 + 136,10X_1 + 214,91X_2 + 24,79X_3 + 1991,49X_4 + 84,60X_5 + 0,35X_1X_2 + 38,64X_1X_3 + 16,19X_2X_3 + 84,3X_1X_4 + 197,65X_2X_4 + 94,8X_3X_4 - 2,93X_1X_5 + 50,79X_2X_5 + 2,85X_3X_5 + 106,85X_4X_5 + 0,62X_1^2 - 0,078X_2^2 - 24,21X_3^2 - 1037,39X_4^2 + 24,36X_5^2 \dots\dots\dots(2)$$

Les niveaux optimaux pour les variables indépendantes sont obtenus par la résolution de les équations polynomiales de deuxième ordre (1) et (2) chaque réponse. Les valeurs critiques et les rendements théoriques prévus par le model sont résumés dans le tableau.

**Tableau X** : Conditions optimales de coagulation et rendement prédits.

Variable indépendante	Valeur critique	
	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>
Temps (1,5)	5	5
Température (20,60)	60	60
Présure (0.100 ; 0,600)	0,600	0,600
CaCl <sub>2</sub> (0 ; 0,250)	0,250	0,250
pH (5,8)	5	5
Rendement prévu (g)	52,68	62,60

### I.5. Validation du modèle

Pour valider le model, des nouveaux essais de fabrication de fromage ont été réalisée pour chaque type de coagulant en appliquant les conditions optimales théoriques obtenues par la résolution des équations. Après égouttage nous avons obtenu des rendements de 52,30 et 62.01 g pour Y<sub>1</sub> et Y<sub>2</sub> respectivement. Ces valeur sont proches de celles prévues par le model ce qui confirme le bon fonctionnement de ce dernier et la reproductibilité de l'optimisation.

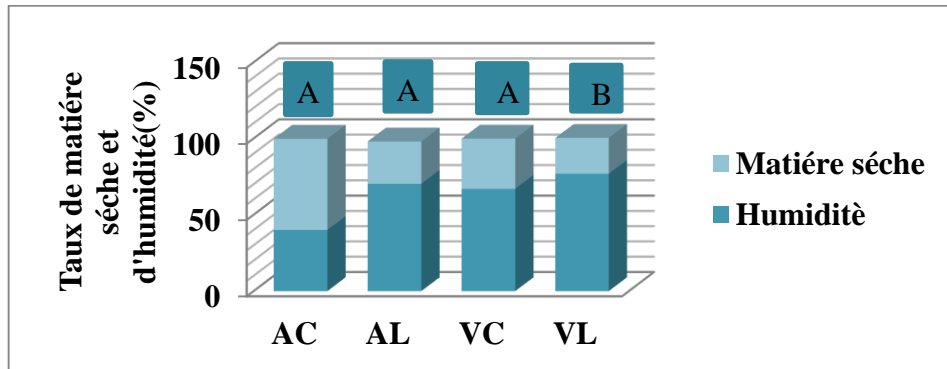
## II. Résultats du contrôle physicochimique

Après avoir optimisé les conditions de coagulation du lait de vache. Des fromages à base de présure animale et végétale ont été fabriqués suivant les meilleures conditions de coagulation. Afin d'évaluer la qualité des nouveaux produits (Fromage à présure végétale VL et animale AL) par rapport à celle des même produits commercialisés (VC et AC), un contrôle physicochimique et une analyse sensorielle ont été réalisés.

### II.1. Contrôle des paramètres physiques

#### II.1.1. Détermination de la teneur en eau et matière sèche

Le taux d'humidité et la matière sèche ont été déterminés par la méthode de séchage selon les recommandations de l'AOAC. Les résultats de mesures pour les quatre type de fromage traditionnel « Jben » sont représentés dans la figure 15



**Figure 15** : La teneur en eau et matière sèche des quatre types d'échantillons de « jben » (A et B les groupements homogènes par HSD)

Il ressort de la figure que les différents type de fromage traditionnel « Jben » présentent une variation en humidité de  $40,1 \pm 2,76$  à  $76,8 \pm 1,12$ . Le pourcentage d'humidité le plus élevé est enregistré pour le Fromage traditionnel d'origine végétal optimisé (VL) avec une valeur de  $76,8 \pm 1,12\%$  suivi par le Fromage traditionnel d'origine animale optimisé (AL) par un pourcentage  $70,3 \pm 0,88\%$ , puis le Fromage traditionnel d'origine végétal commercial (VC) avec une valeur de  $66,93 \pm 1,25\%$  Alors que le Fromage traditionnel d'origine animale commercial (AC) présente la valeur la plus basse, de l'ordre de  $40,1 \pm 2,76\%$ .

L'analyse statistique des résultats par le test ANOVA a montré une différence hautement significative avec ( $p \leq 0,001$ ). Le test de comparaison multiple HSD n'a montré aucune différence significative entre les fromages AC, Al et VC dans la teneur en eau, tandis que le fromage VL est estimé le plus pauvre en eau (figure 15).

## Résultats et discussion

Le taux d'extrait sec varie d'un type de fromage à un autre, et dépend d'une part de la composition initiale du lait et d'autre part de la manière dont sont effectués la coagulation et l'égouttage (Alais, 1984).

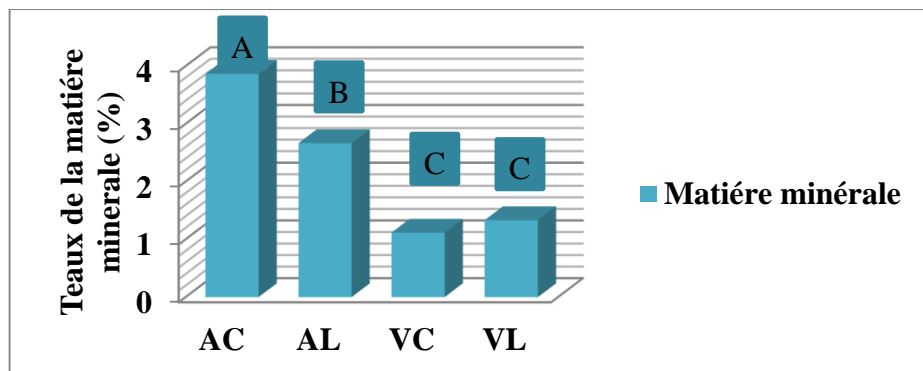
La technique fromagère joue un rôle important et nous avons souligné l'intérêt d'uniformiser les fabrications (poids moyen des fromages et extrait sec) pour améliorer la précision des estimations du rendement d'après la richesse du lait.

D'après Nunez *et al.* (1991) le caillé à base d'extrait de fleurs de cardon donne lors du découpage, des graines de caillé de taille réduite en comparaison avec un caillé présuré, ce qui explique l'égouttage particulièrement rapide et qui serait la cause de son extrait sec élevé.

Les résultats obtenus sont loin à ceux décrit par Caroline, 2008 qui précise une teneur en eau peut aller jusqu'à 80%

### II.1.3. Détermination du taux de matière minérale

Les résultats de la teneur en matière minérale des quatre types d'échantillons de Jben sont représentés dans la figure 16



**Figure 16 :** La teneur en matière minérale des quatre types d'échantillons de « Jben » (A, B et C les groupements homogènes par HSD)

La figure révèle une variation du taux moyen de taux de cendre de  $3.83 \pm 0.80$  % pour le Fromage AC,  $2,66 \pm 0,32\%$  pour le Fromage AL et  $1,11 \pm 0,10\%$  pour le Fromage VC passant par une teneur de  $2,53 \pm 0,55\%$  enregistrée dans l'échantillon du Fromage d'origine végétal optimisé.

L'analyse statistique des résultats par le test ANOVA pour la matière minérale a montré une différence hautement significative avec ( $p \leq 0,0002$ ). Le classement des

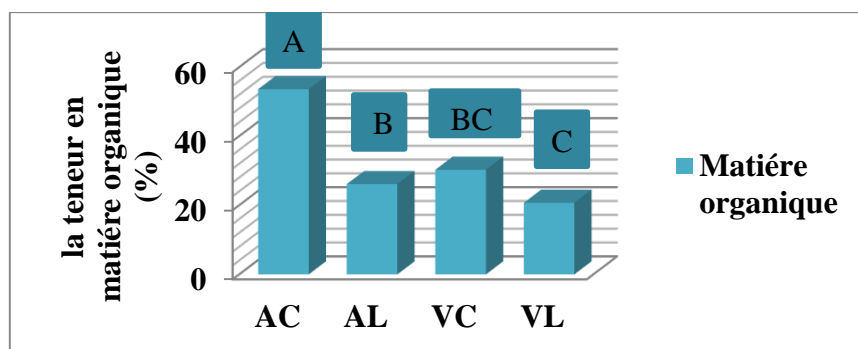
Quatre types de fromage par le test HSD est résumé dans la figure 16

D'après **Dilmi-Bouras (1998)** tout aliment, une fois calciné, laisse derrière lui un petit tas de cendre. Ces derniers sont constitués par les sels minéraux, qui sont essentiels à la vie et sont fournis aux êtres vivants par l'alimentation.

Les fromages sont considérés en tant que source de calcium et de phosphore. Les teneurs en cendres peuvent varier considérablement avec la technologie utilisée, en particulier le type de coagulation (**Dillon et Berthier, 1997**).

### II.1.2. Détermination du taux de la matière organique

Les résultats de la teneur en matière organique des quatre types d'échantillons de « jben » sont représentés dans la figure 17 :



**Figure 17** : La teneur en matière organique des quatre types d'échantillons de « jben » (A, B et C les groupements homogènes par HSD)

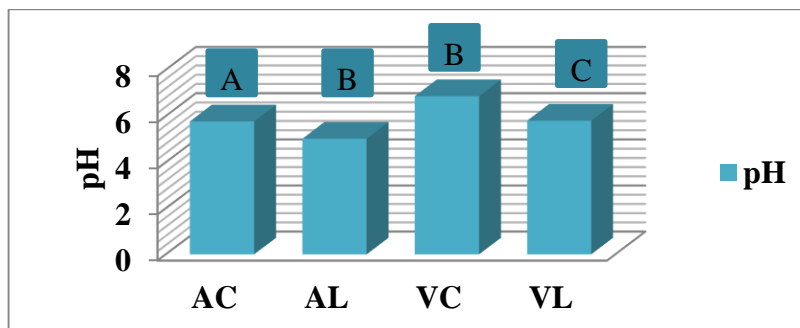
Les résultats montrent une différence du point de vue, richesse en matière organique des trois échantillons, où l'échantillon de Fromage AC représente la haute valeur estimée par  $55,86 \pm 3,83$  %. De l'autre part, la valeur la plus basse (21,86 %) est notée pour l'échantillon de fromage VL.

L'analyse statistique des résultats par le test ANOVA pour la matière organique a montré une différence hautement significative avec ( $p \leq 0,0001$ ). Le classement des Quatre types de fromage par le test HSD selon la teneur en matière organique est résumé dans la figure 17

### II. 2. Contrôle des paramètres chimiques

#### II. 2. 1. Mesure du pH

Les résultats relatifs à la mesure du pH sont enregistrés dans la figure 18



**Figure 18 :** Variation de pH des quatre types d'échantillons de « jben »  
(A, B et C les groupements homogènes par HSD)

Le pH des quatre types de fromage traditionnel varie du pH 5,02 à pH 6,86 dont la valeur maximale est observée dans le fromage traditionnel d'origine végétale de commercial (pH 6,86), alors que la valeur minimale est enregistrée dans le fromage traditionnel codé par AL (pH 5,02), Cependant ce paramètre est de 5,77 et 6,86 pour le fromage traditionnel codé par AC, VC respectivement.

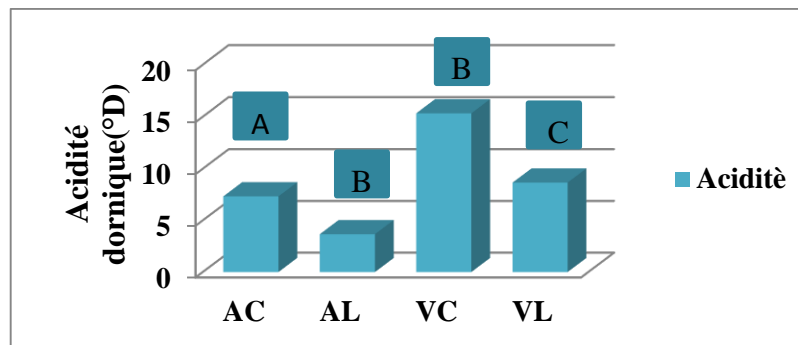
L'analyse statistique des résultats par le test ANOVA pour la matière sèche a montré une différence hautement significative avec ( $p \leq 0.0001$ ). Le classement des Quatre types de fromage par le test HSD est résumé dans la figure 18

Le pH des quatre échantillons est compris entre 5,02 et 6,68. Ces valeurs sont proches de celles de **Belyagoubi** et **Abdelouahid (2013)** pour des jben fabriqué dans la région de Mecheria, alors qu'elles sont supérieures à des pH trouvés par **Rhiat, et al. (2011)** pour le « jben » marocain.

Les valeurs de pH diffèrent d'un produit à l'autre, même si parfois, ils sont de la même région, ceci pour plusieurs causes comme : la méthode et la période de préparation du jben, le type de lait utilisé, et le type d'alimentation donnée aux animaux (**Ouadghiri., 2009**).

### II .2.2. Acidité titrable

Les résultats relatifs à la mesure l'acidité titrable est enregistré dans la figure 19



**Figure 19 :** Variation d'acidité des quatre types d'échantillons de « jben »  
(A, B et C les groupements homogènes par HSD)

Il en ressort de figure que le fromage traditionnel d'origine commerciale présente la valeur maximale de l'acidité estimé à 15,33 °D alors que la valeur minimale de l'acidité estimé à 3,66°D est enregistrée dans le fromage traditionnel codé par AL cependant ce paramètre est de 8,67°D et 7,33°D pour le fromage codé par VL et AC respectivement.

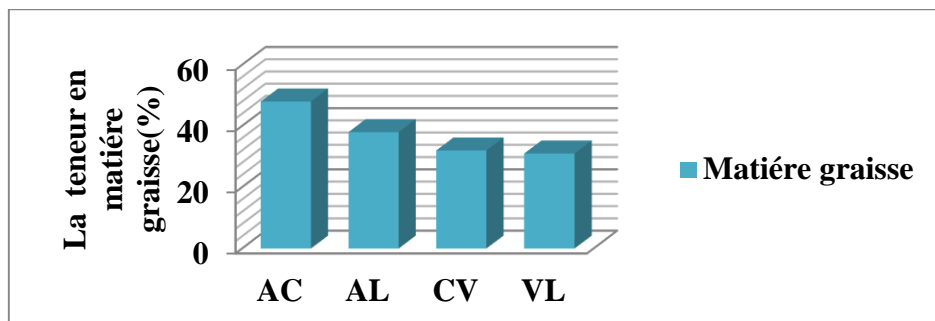
L'analyse statistique des résultats par le test ANOVA pour la matière minérale a montré une différence hautement significative avec ( $p \leq 0,0001$ ). Le classement des quatre types de fromage par le test HSD est résumé dans la figure 19

L'acidité des fromages dépend que de la nature et de la composition initiale du lait utilisé pour la fabrication (**Aquilanti, 2011**).

Selon **Ouadghiri, (2009)** la différence des teneurs en acide lactique dans nos échantillons peut être due aux différents additifs ou les arômes utilisés et les caractéristiques de la matière première, des charges bactériennes et de l'âge de maturation.

### II.3. Détermination de la teneur en lipides

Les taux des lipides des fromages optimisés et ceux des fromages commercialisés ont été déterminés par la méthode de Folch. Les résultats sont résumés dans la figure 20 :



**Figure 20 :** Taux moyen de matière grasse des quatre types d'échantillons de « Jben »

D'après les résultats illustrés dans la figure les différents type de fromage traditionnel «Jben »présentent une variation en matière grasse. Le pourcentage en matière grasse le plus élevé est enregistré dans le Fromage traditionnel d'origine animal commerciale avec une valeur de  $48 \pm 13$  après le Fromage traditionnel d'origine animale optimisé par un pourcentage de  $38 \pm 3$  puis le Fromage traditionnel d'origine végétal commercial avec une valeur de  $32 \pm 2\%$  Alors que le Fromage traditionnel d'origine végétal optimisé présente la valeur la plus basse, de l'ordre de  $31 \pm 3 \%$  .

L'analyse statistique des résultats par le test ANOVA pour la teneur en matière grasse n'a montré aucune différence significative avec ( $p \leq 0,06$ ).

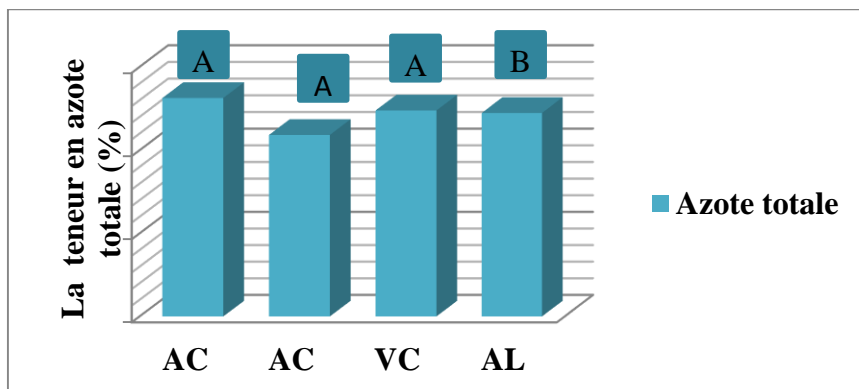
Ces résultats sont très élevés par rapport à d'autres travaux (**Abdelaziz ; et Ait Kaci, 1992**) Ceci peut être rapporté au taux élevé de la matière sèche.

**Selon Jacques, (1999).** Le fromage c'est un aliment nourrissant sa valeur nutritif varie selon le liquide utilisé (lait, crème) et le procédé de fabrication.

De plus La technique d'égouttage utilisée et la quantité de lactosérum enlevée déterminent la composition du Jben en MG. L'égouttage a par conséquent une grande incidence sur le type de fromage qu'on cherche à produire (**Gelais et al., 2002**).

### II.4. Détermination de la teneur en azote total

Les teneurs en azote total des quatre fromages ont été déterminées par la méthode de Kjeldahl, les résultats sont résumés dans la figure 21



**Figure21** : teneur moyenne d'azote totale des quatre types d'échantillons de « Jben »  
(A et B les groupements homogènes par HSD)

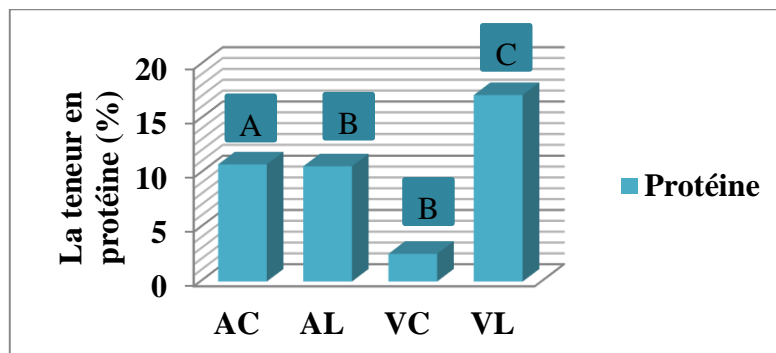
Les résultats de La teneur en matière azotée totale obtenue est respectivement de 2,62 ; 2,18 ; 2,47 et 2,44 (g/100g) pour les échantillons de codé AV, AL, VC et VL respectivement. Ces résultats correspondent au teneur en protéines de 13,05, 13,64, 15,68 et 15,28.

L'analyse statistique des résultats par le test ANOVA pour la matière minérale et la matière protéique a montré une différence hautement significative avec ( $p \leq 0,001$ ). Le classement des Quatre types de fromage par le test HSD est résumé dans la figure 21.

Les valeurs de l'azote total dans Notre étude sont supérieurs aux ceux rapportés par **Chemmaché, (2011)** concernant les fromages fondus de marque Metidja et Ladhidh au camembert alors que sont inférieure avec ceux obtenues par **Khoualdi, (2017)** ( $2,70 \pm 0,02$  à  $4,52 \pm 0,09$ ).

### II .5. Dosage des protéines

Le taux des protéines des quatre fromages à été déterminé par méthode de Bradford (1976), les résultats sont résumés dans la figure 22.



**Figure 22 :** Teneur moyenne en protéine des quatre types d'échantillons de « Jben »  
(A et B les groupements homogènes par HSD)

D'après les résultats illustrés dans la figure la teneur la plus élevée est enregistré dans le fromage traditionnel codé par AC avec une valeur de  $17,18 \pm 2,05$  puis les fromages codés par AC, AL, VC avec des valeurs de  $10,79 \pm 2,38$  ;  $10,62 \pm 2,20$  et  $2,55 \pm 0,36$  respectivement.

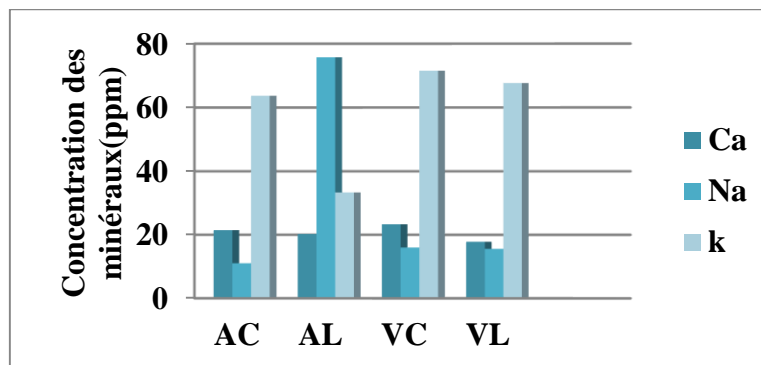
L'analyse statistique des résultats par le test ANOVA pour la teneur en matière protéique a montré une différence hautement significative avec ( $p \leq 0,001$ ). Le classement des Quatre types de fromage par le test HSD est résumé dans La figure 22

**Jeantet et al. (2007)** ont confirmé aussi que la teneur en protéines varie peu selon les stades physiologiques ou l'état alimentaire des animaux.

Les résultats obtenus sont loin à ceux décrit par **Laurent, 1996** qui précise une teneur en matière protéine de 15.8%.

### II .6. Mesure des teneurs en minéraux

Les teneurs des quatre fromages en ions Ca, N et K ont été mesurées par spectrophotométrie à flamme. Les résultats sont présentés dans la figure 23 :



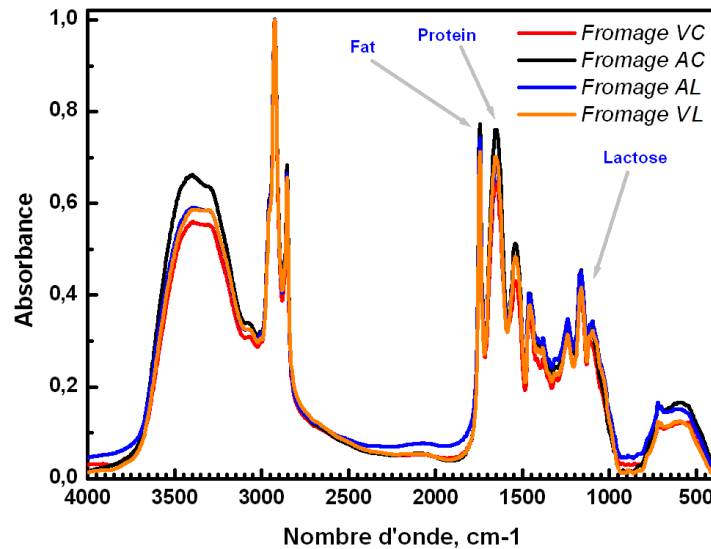
**Figure 23 :** Résultat de dosage Ca, Na, K des quatre types d'échantillons de « jben »

D'après les résultats illustrés dans la figure 23 La teneur en Ca obtenue est de 21,47 ; 20,24 ; 23,31 et 17,49 (ppm) pour les fromages traditionnels codé par AV, AL, VC, VL respectivement. Alors que, la teneur en Na est de 11,04 ; 75,54 ; 15,99 et 15,56(ppm) pour les fromages traditionnel codé par AV, AL, VC, VL respectivement. Tandis que, la teneur K obtenu est de 63,66 ; 33,3 ; 71,52 et 67,63(ppm) pour les fromages traditionnel AV, AL, VC et VL respectivement.

La teneur en calcium dans la fromagerie dépend de la technologie de leur fabrication plus l'égouttage et long plus la teneur en calcium est faible (**Goulet et al., 2012**).

### II .7. Analyse de fromage par spectrophotomètre infrarouge

Dans notre étude, les spectres FTIR superposés des fromages fabriqués au laboratoire et celles des fromages témoins (commercialisés) sont représentés dans la figure 24



**Figure 24 :** Les spectres superposés d'infrarouge (FTIR) des quatre types de fromage

Selon la figure, il est à noter que tous les échantillons ont les mêmes pics de base représentant les différents groupes chimiques constituant le fromage frais traditionnel de la région de Khenchela avec des différences entre les échantillons. Les spectres FTIR des fromages (500-4000  $\text{cm}^{-1}$ ) présente des bandes de séries avec des intensités et des formes différentes et pourrait être divisé dans 6 régions comme mentionné par **Subramanian et al., (2007)** Comme suit :

**Région A:** correspond aux 3600-3100  $\text{cm}^{-1}$  où représente l'étirement O-H dans les groupes hydroxyle. Ce région dans nos résultats était de l'ordre de 3750 à 3100  $\text{cm}^{-1}$ , différentes bandes larges pourraient être attribuées à la teneur en humidité des différents fromages frais traditionnel. La figure 15 indique des différences hautement significatives ( $p \leq 0,001$ ) dans les teneurs en eau liées aux différents fromages. La bande OH dans tous les échantillons a masqué le N-H bande, qui se produisent dans la région 3330-3060  $\text{cm}^{-1}$ . Ces résultats sont en accord avec ceux de **Woodcock et al., (2008)** qui a mentionné la région de 3800 à 3100  $\text{cm}^{-1}$  se compose de absorbance des vibrations d'étirement de O-H et N-H des groupes hydroxyle et Amide A de polypeptides et les acides aminés et la bande

## Résultats et discussion

---

d'humidité peuvent provoquer le masquage de la bande de N-H qui doit être présente dans la région 3330-3060  $\text{cm}^{-1}$ . Une autre bande faible représentant l'eau à 2065  $\text{cm}^{-1}$  a été observée clairement dans l'échantillon de fromage frais (AC et VL) le même résultat a été obtenu par **Kong et Yu (2007)**.

**Région B:** Dans l'intervalle de 3100-2800  $\text{cm}^{-1}$  du spectre IR présente les bandes d'absorption qui caractérisent les vibrations symétriques et asymétriques C-H s'étendant dans les acides gras (**Subramanian et al., 2011**). La figure montre des bandes pointues à 2900  $\text{cm}^{-1}$  avec des intensités identiques pour les différents types de fromage, ceci pourrait être attribué au contenu en graisse. La partie de graisse dans les échantillons de fromage est représentée par des bandes fortes dans l'intervalle de 2750 - 2850  $\text{cm}^{-1}$ . Des résultats similaires ont été obtenus par **Belton et al., (1988)** et **Mendenhall (1991)**, qui rapportent que l'intervalle de 2950-2800  $\text{cm}^{-1}$  présente une flexion C-H et que l'intensité de ces pics diffère d'un échantillon à l'autre en fonction de la teneur en matière grasse. Dans notre étude l'analyse statistique n'a montré aucune différence significative ( $P \geq 0,05$ ) dans les teneurs en matières grasses entre les différents de fromage.

**Région C:** Correspond à l'intervalle 1800-1600  $\text{cm}^{-1}$  représente C=O des acides et esters et a montré une similarité dans la gamme des nombres d'ondes (1750-1650  $\text{cm}^{-1}$ ) consistant en l'absorbance des esters d'acides gras. L'intensité des pics est similaire pour tous les échantillons sauf pour le fromage VL avec une intensité nettement inférieure. Cette région dans nos résultats était dans la gamme de 1750-1600  $\text{cm}^{-1}$  comme montré dans la figure. De plus, le test HSD montre une différence hautement significative ( $P \leq 0,001$ ) entre le fromage VL et les autres échantillons dans l'azote total (Tableau).

**Région D:** Correspond à l'intervalle 1600-1390  $\text{cm}^{-1}$  représente l'amide I et amide II de protéines. Cette région dans nos résultats était dans la gamme de 1550-1350  $\text{cm}^{-1}$  comme représenté sur les figures. **Belton et al., (1988)** et **Wilson et al., (1988)** ont trouvé des pics à = 1650-1540  $\text{cm}^{-1}$  qui pourraient correspondre à la protéine. Alors que, **Garland (1994)** a trouvé des bandes fortes de H<sub>2</sub>O dans la gamme entre 1650-1640  $\text{cm}^{-1}$  chevauché avec bande l'amide I de protéine à 1690-1620  $\text{cm}^{-1}$ . **Susi et Byler (1988)** ont rapporté que la structure secondaire de la protéine était réfléchiée dans le spectre IR en raison de l'absorbance dans la région de l'amide I entre 1620 et 1690  $\text{cm}^{-1}$  principalement en raison des vibrations d'étirement des groupes carbonyle. Les bandes d'absorbance autour de 1635  $\text{cm}^{-1}$  pourraient être associées à la structure bêta, tandis que les bandes proches de 1653 ou

## Résultats et discussion

---

1646  $\text{cm}^{-1}$  étaient associées respectivement aux portions hélicoïdales et aux portions aléatoires de la protéine. Le test HSD (tableau) montre des différences hautement significatives dans les teneurs en protéines entre les différents échantillons de fromage.

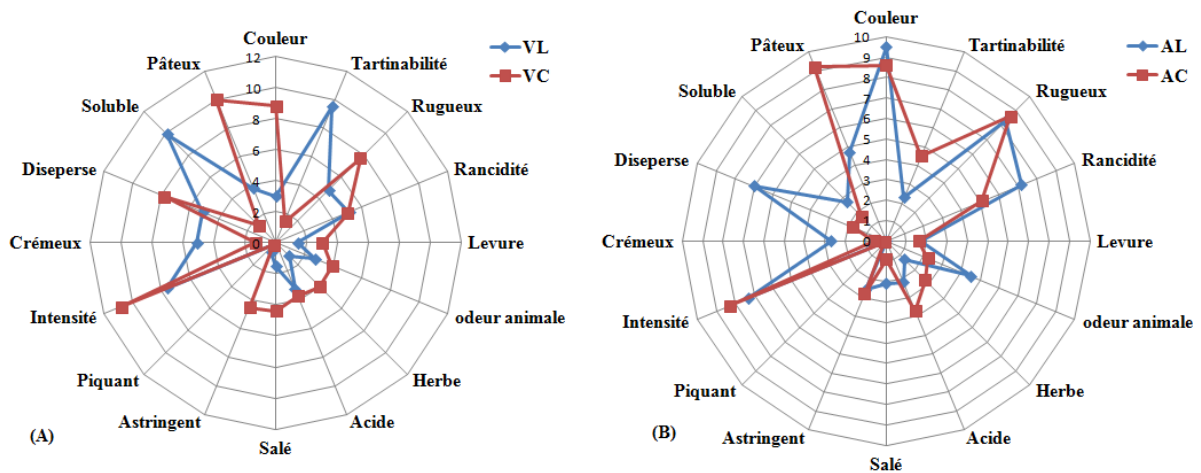
**Région E:** Correspond à l'intervalle 1390-1200  $\text{cm}^{-1}$  représente les esters et les chaînes aliphatiques des acides gras. Les bandes entre 1450-1410  $\text{cm}^{-1}$  contiennent l'absorbance des acides aminés acides tels que l'acide glutamique et les chaînes aliphatiques des acides gras (**Subramanian et al., 2011**). Cette région dans nos résultats était dans la gamme de 1350-1150  $\text{cm}^{-1}$  avec différentes intensités liées au fromage blanc collecté auprès de différents producteurs.

**Région F:** Correspond à l'intervalle 1200-800  $\text{cm}^{-1}$  représente les bandes caractéristiques des liaisons C-C et aux liaisons vibratoires C=O (**Subramanian et al., 2011**). **Subramanian et al., (2007)** ont mentionné que la gamme spectrale 1800-900  $\text{cm}^{-1}$  contient des signaux de polypeptides, d'acides aminés, de groupes carbonyles d'acides gras, de groupes hydroxyles, de groupes acides carboxyliques et d'esters d'acides gras (typiquement à chaîne courte) les acides gras à chaîne courte et leurs esters, les acides aminés et les petits peptides hydrosolubles, ce qui conduit à une comparaison visuelle des spectres bruts, a montré de nombreuses différences entre les échantillons de fromage organoleptique, en particulier dans cette région. **Rodriguez-Saona et al., (2006)** ont rapporté que la fourchette de 1800-900  $\text{cm}^{-1}$  était importante pour l'analyse de la saveur du fromage par FTIR et cette région se compose de signaux de CO et de C=O ( $<1175 \text{ cm}^{-1}$ ), de flexion CH (1450  $\text{cm}^{-1}$ ), des esters (1750-1700  $\text{cm}^{-1}$ ), CO (= 1240 et 1170-1115  $\text{cm}^{-1}$ ). Dans notre étude cette région été de l'ordre de 1000-1200  $\text{cm}^{-1}$  et 900-600  $\text{cm}^{-1}$  et contenait de nombreux petits pics d'intensités différentes liés aux composants aromatiques des échantillons de fromage frais. La figure montre des différences dans les scores de goût et de sensation en bouche des différents échantillons de fromage frais.

## III. Résultats de l'analyse sensorielle

### III. 1. L'analyse sensorielle du fromage traditionnel Jben

L'analyse physicochimique ne porte pas beaucoup d'informations en ce qui concerne la différenciation entre les échantillons de fromage frais vu les variations naturelles trouvées dans les teneurs en protéines lipides et minéraux pour chaque type de fromage frais traditionnel. L'analyse sensorielle a pour but d'évaluer et de classer les différents produits en se basant sur les caractéristiques organoleptiques. Cette analyse est réalisée par un panel de dégustateurs de 10 personnes. Les résultats sont transformés en présentation radar et analysés par ACP pour déterminer les différentes relations entre les variables sensorielles et physicochimique. La figure 25 montre les profiles sensoriels des quatre fromages étudiés.



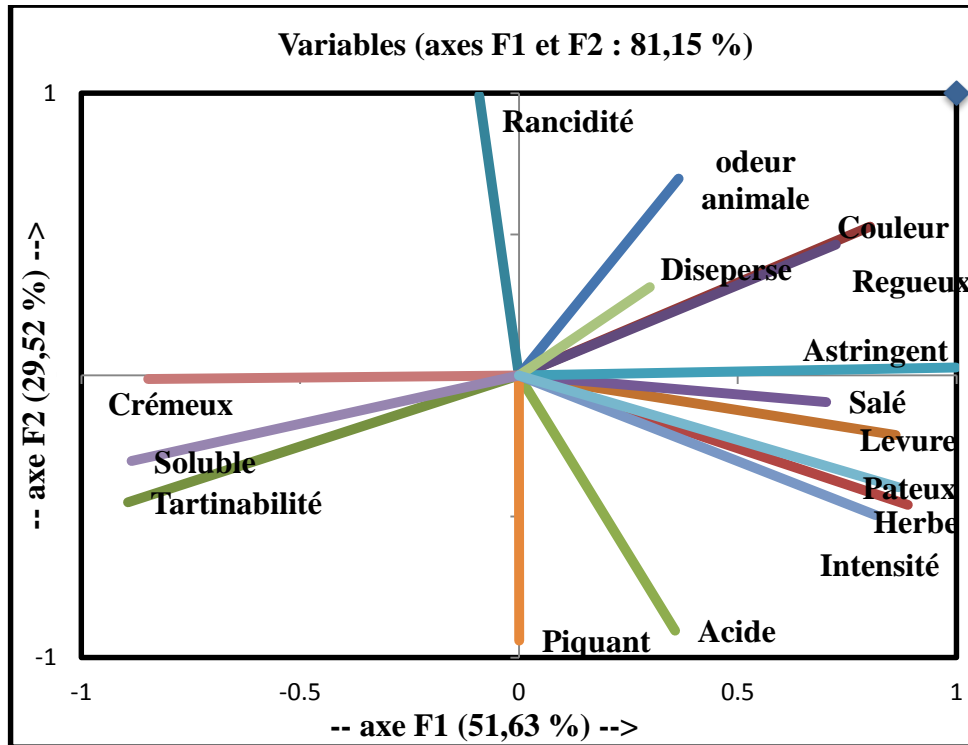
**Figure 25 :** les profils sensoriels des quatre fromages étudiés.

Il ressort du figure 25 que les fromages fabriqués au laboratoire ayant des profils dégustatifs différents à ceux des fromages commerciaux. Le fromage AL est caractérisé par une couleur jaune, un aspect rugueux et une saveur de rance avec une durée longue de perception du goût, tandis que le fromage AC ayant une saveur de rance faible, un aspect pâteux (figure 25A).

De l'autre part, les fromages VL et CV (Figure 25B) ayant des caractéristiques organoleptique différentes, dont le fromage VL est caractérisé par une couleur jaune et une texture pâteux tandis que le fromage VC est de couleur blanche est texture tartinable et soluble. Il est à remarquer que les fromages commerciaux (AC, VC) ont des profils sensoriel très proches.

## Résultats et discussion

La Corrélations des variables sensorielles des quatre types de fromage traditionnel étudiés est présentée dans la figure 26



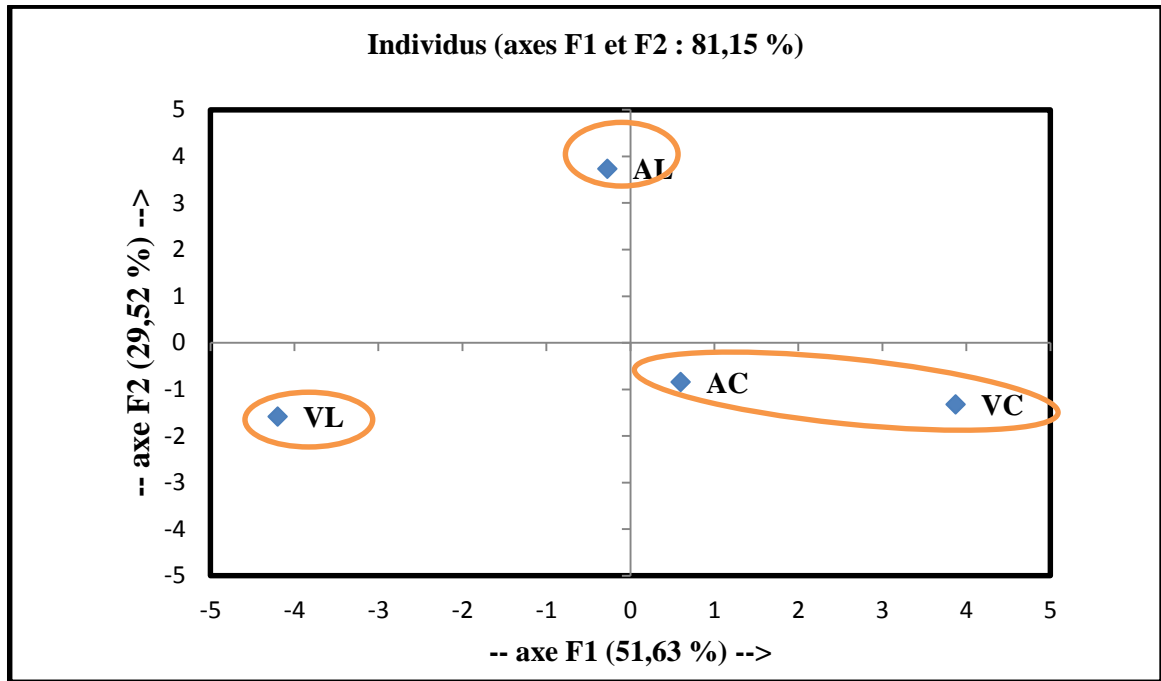
**Figure 26:** Corrélations des variables sensorielles des quatre type de fromage traditionnel étudiés

La figure 18 montre que 81,15 % des variabilités sont exprimées par deux axes (F1, F2). F1 est largement prépondérant avec 51,63% de la variabilité et F2 avec 29,52 % de la variabilité.

La première composante principale F1, construit par la Couleur ( $R=0,80$ ), la tartinabilité ( $R= -0,893$ ), le gout astringent ( $R=0,998$ ), crèmeux ( $R=-0,84$ ) et l'aspect rugueux ( $R=0,72$ ), et l'odeur d'Herbe ( $R=0,88$ ) et représenté par le fromage traditionnel codé par VL (53,314%) et le fromage traditionnel code par VC (45,371%).

Le deuxième facteur F2 est fortement corrélé avec rancidité ( $R=0,99$ ), l'odeur animale ( $R=0,69$ ), les gouts acide ( $R=-0,904\%$ ), salé ( $R=-0,904\%$ ) et piquant ( $R=-0,937\%$ ). Il est représenté par le fromage traditionnel AL (73,870%).

La présentation des individus sur le plan (F1, F2) montre une différence entre les fromages frais traditionnels sur le plan sensoriel (Figure26).



**Figure 27:** Répartition des quatre fromages frais traditionnels selon leurs profils sensoriels.

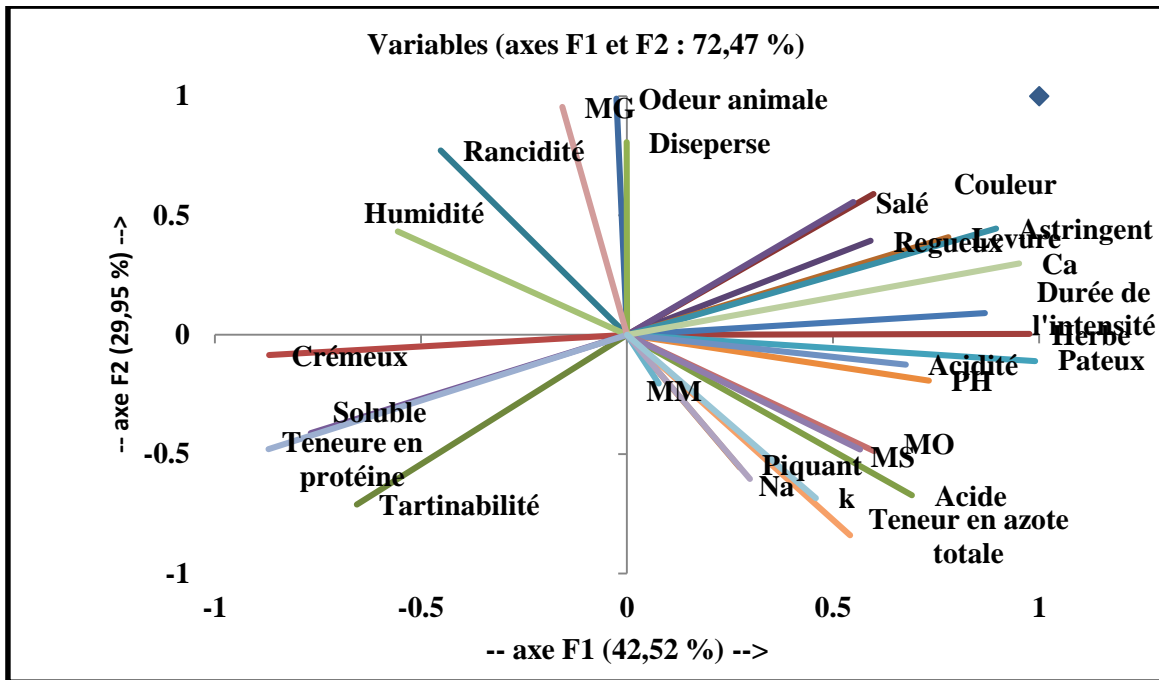
Selon la Figure 27, les quatre types de fromage peuvent être divisés en 3 groupes, dont le premier constitué d'AC et VC avec un goût salé et astringent enfoncé, une couleur jaune, un aspect rugueux, une texture pâteuse, odeur spécifique de levure et d'herbe, avec une durée longue d'intensité de la saveur.

De l'autre part, le deuxième groupe est représenté par le fromage traditionnel codé par VL avec des caractéristiques sensorielles inverses par rapport aux fromages du 1<sup>er</sup> groupe (couleur blanche, salinité et astringence faibles ou absentes, absence d'odeur de levure ou d'herbe, aspect crémeux, soluble et tartinable avec une durée d'intensité de saveur courte).

De plus, le troisième groupe est représenté par le fromage AL avec des caractéristiques organoleptiques totalement différentes à celles des deux autres groupes avec un goût de rance fortement appréciable et une odeur animale (Figure 26).

### III .1.Corrélation des critères sensoriels du fromage traditionnel avec les caractères physicochimiques

L'analyse par ACP nous a permis de montrer la corrélation entre les caractères physicochimiques et les qualités sensorielles des quatre fromages frais traditionnels étudiés (Figure 28).



**Figure 28:** Corrélation des critères sensoriels de fromage traditionnel avec caractères Physicochimiques

Selon la Figure 28, le plan F1-F2 représente 72,47% de la variabilité des résultats, dont 42,52% sont représentés par F1, et 29,95% sont représentés par F2.

La couleur jaune, l'aspect rugueux et la texture pâteuse sont négativement corrélés avec la teneur en protéine ( $R = -0,737$  ;  $-0,623$  et  $0,618$  successivement), cette dernière est en concordance avec l'aspect soluble et la texture crémeuse et la tartinabilité avec des valeurs de  $R = -0,737$  ;  $-0,636$  et  $-0,618$  respectivement.

De l'autre part, le goût de rance et l'odeur animale sont positivement corrélés avec le taux de matière grasse ( $R = 0,921$  ;  $0,911$ ). Tandis que le goût piquant est positivement corrélé avec le taux de cendre ( $R = 0,810$ ) en particulier le K ( $R = 0,951$ ).

En fin, comme attendu, le goût acide est fortement lié avec le pH et l'acidité titrable avec des coefficients de corrélation de et respectivement.

*Conclusion*

---

## Conclusion

---

### Conclusion

La présente étude, l'optimisation des conditions de coagulation du lait de vache a été réalisée. La coagulation du lait a été faite en utilisant une présure d'origine animale (caillette du jeune agneau), et une autre d'origine végétale à savoir, les fleurs de Chardon-Marie (*S.marianum*).

La méthodologie des surface de réponse a été suivi pour déterminer les meilleurs combinaisons entre les facteurs influençant la coagulation (Température, Temps, pH, Taux d'emprésurage et quantité de chlorure ce calcium ajoutée).

Les fromages optimisés obtenus ont été ensuite comparés avec les mêmes types de fromages commercialisés à Khenchela sur le plan physicochimique et sensoriel.

Les résultats d'optimisation par plans d'expérience ont montré le bon ajustement du model avec un effet hautement significatif et une haute corrélation entre les valeurs prévues par le model et les valeurs expérimentales. L'analyse des surfaces de réponse nous a permit de déterminer les valeurs optimales pour chaque facteur. La validation du model en utilisant les meilleures conditions de coagulation nous a données des rendements très proches de ceux prévus par le model ce qui confirme le bon fonctionnement de ce dernier.

L'évaluation la qualité physico-chimique des fromages optimisés (de présure végétale et animale) et celle des commerciaux a été contribué à enrichir les connaissances sur les caractéristiques physicochimiques du fromage traditionnel. Le contrôle physicochimique a montré que les quatre types ont une qualité nutritionnelle appréciable (la majorité des résultats sont conformes aux normes). Les analyses statistiques de ces résultats ont montré une différence significative entre les quatre types de fromage ce qui concerne la matière sèche, minérale, taux des lipides et teneur en protéines.

L'étude des spectres infrarouge des fromages étudiés nous a permit de connaitre les différents composant de fromage traditionnel, et de détecter les différences trouvées entre ces fromage en comparant avec les résultats d'analyse physicochimique.

## Conclusion

---

De point de vue sensoriel, les fromages traditionnels commerciaux (AC, LC) sont proche (gout salé et astringent, couleur jaune, un aspect rugueux, une texture pâteuse, odeur spécifique de levure et d'herbe) alors que le fromage optimisé avec présure végétale (VL) a montrés un profile inverse sensorielles inverses (Couleur blanche, salinité et astringence absentes, absence d'odeur de levure ou d'herbe, aspect crémeux, soluble et tartinable). Il est à noter que le fromage AL (Optimisé avec présure animale) est un fromage différent de point de vue sensoriel (Gout de rance, odeur animale).

L'analyse des résultats sensoriels par l'ACP nous a permis de démontrer la relation entre les constituants du fromage traditionnel et son qualité organoleptique. En se basant sur cette analyse nous avons divisé les fromages étudiés en trois groupes différents selon leurs profils sensoriels.

Notre étude reste préliminaire, il serait intéressant de la compléter par :

- La réalisation d'une enquête pour pouvoir déterminer le diagramme de fabrication du jben dans la région de kenchela.
- L'optimisation des autres facteurs influençant la qualité du fromage (composition de la matière première, homogénéisation du lait, coupure de caillé etc).
- L'étude sensorielle sur l'acceptation du produit fini par les consommateurs.
- L'étude de l'évolution de la qualité physicochimique de fromage par FTIR durant le stockage.
- L'étude microbiologique du produit fini.
- Etude phytochimique des fleurs de *S.marianum*.

*Liste des  
références  
bibliographiques*

## Liste des références

1. **Abdelaziz S., Ait Kaci F.(1992):** Contribution à l'étude physico-chimique et microbiologique d'un fromage traditionnel algérien fabriqué à partir du lait de chèvre le "Djben". Mémoire d'ingénieur d'état en agronomie. Institut national agronomique d'El Harrach, Alger. 67
2. **Afnor (1986):** Méthodes d'essai.n°04-350.
3. **Aissaoui Z.O.(2003) :** Fabrication et caractéristiques d'un fromage traditionnel algérien Bouhezza. Thèse de magister, INATAA, Constantine, Algérie. 138
4. **Aquilanti L., Babini V., Santarelli S., Osimani A., Petruzzelli A., Clementi F. (2011):** Bacterial dynamics in a raw cow's milk Caciotta cheese manufactured with aqueous extract of *Cynara cardunculus* dried flowers. *Letters in Applied Microbiology*, 52: 651–659.
5. **Alais, C. (1984):** Sciences du lait, principes des techniques laitières. *Sepaic*, Paris : 102.
6. **Alais C., Linden G., Miclo L. (2008):** Biochimie alimentaire. 6<sup>ème</sup> Ed. *Dunod*, Paris: 86-88
7. **Alloggi V., Caponio F., Pasqualone A., Gomes T. (2000):** Effect of heat treatment on the rennet clotting time of goat and cow milk. *Food Chemistry*, 70: 51-55.
8. **Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R., Turgeon H. (2002):** Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait In Vignola C.L, Science et technologie du lait Transformation du lait. *Polytechnique*, Montréal : 03-04
9. **Anema S.G., Lee S.K., Klostermeyer H. (2005):** Effect of pH at heat treatment on the hydrolysis of  $\kappa$ -casein and the gelation of skim milk by chymosin. *Food Science and Technology*, 40: 99-106.
10. **AOAC (Association Of Official Analytical Chemists).(1984):** Official methods of analysis. n°955.04. 14<sup>th</sup> edition , Washington DC :32.
11. **Arrêté interministériel.(1993):** D'après le journal officiel de la république algérienne démocratique et populaire. N°69 correspondant aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.
12. **Arsan A., Mosser F., Dartois A., Fraisseix. (2010):** Alimentation de l'enfant, de la naissance à 3 ans 5<sup>ème</sup>. *Edition*, Paris : 222
13. **Awad S.(2005):** Effect of sodium chloride and pH on the rennet coagulation and gel firmness. *Food Science and Technology*, 40: 220-224.
14. **Aissaoui Z.O., Benatallah L., Ghennam E.H., Zidoune M.N. (2011):** Manufacture and characteristics of the traditional Algerian ripened Bouhezza cheese. *Journal of Food, Agriculture & environment*, 9 (2):196-100.

- 15. Balcones E., Olano A., Calvo M.M. 1996):** Factors affecting the rennet clotting properties of ewe's milk. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44: 1993-1996.
- 16. Barry A.L., Tamime A.Y.(2010):** Technology of Cheese making. 2<sup>ed</sup> . *Editon*, New Delhi : 99-101
- 17. Belton P.S., Saffa A.M., Wilson R.H.(1988):** The potential of Fourier transform infrared spectroscopy for the analysis of confectionery products. *Food Chemistry*, 28: 53-61.
- 18. Belyagoubil L., Abdelouahid D.E. (2013):** Isolation, identification and antibacterial activity of lactic acid bacteria from traditional algerian dairy products. *Advances in Food Sciences*. 35 (1) : 84- 85 .
- 19. Bendall J.R. (1973):** The structure and function of muscle. Bourne, *GH ed, Academic universitaire press* , New York: 163.
- 20. Benjamin K. S. (2010):** Food Biochemistry and Food Processing, 2<sup>ed</sup> . *Edition Inc*, New Delhi: 225-230.
- 21. Benkerroum N., Tamime A.Y. (2004):** Technology transfer of some Moroccan traditional dairy products (lben, jben and smen) to small industrial scale. *Food Microbiology*, 21: 399–413p.
- 22. Bernard K., alfred T., Gnandorman S. (2008):** Transformation et consommation des denrées alimentaire en Afrique de l'ouest central. *Kartahala*, Paris:15.
- 23. Bousnane D.(2009) :** Caractérisation d'un fromage traditionnel algérien « takammerite » de la région de Ghardaïa. Mémoire d'ingénieur d'état en industrie agro-alimentaire. Université Mentouri de Constantine, Algérie :72
- 24. Boutana W., Bouras R.(2008):** contrôle physico-chimique et microbiologique des olives fermentées, Mémoire de fin de cycle université : 30,31
- 25. Bradford M.M. (1976):** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantifies of protein, utilizing the principal of protein. Dye binding, *Analytique Biochemistry*: 248-254
- 26. Branger A., Marie M.R., Sebastien R. (2007):** Alimentation, sécurité et control microbiologique. *Dijon*, Paris : 129
- 27. Carolin F. (2008):** La mini encyclopédie des aliments. *Québec Amérique inc*, Montréal : 552
- 28. Carson A., Hill C., Olson N.F. (1987):** Kinetics of milk coagulation: III mathematical modelling of the kinetics of curd formation following enzymatic hydrolysis of kappa-casein-parameter estimation. *Biotechnology and Bioengineering*, 29: 601-611.

- 29. Donnelly C. (2007):** The oxford companion to cheese. *Oxford University Press*, New York 171-172.
- 30. C.E.S : Conseil Economique et Social. (2001):** Comité pour le développement du commerce de l'industrie et de l'entreprise. Groupe de travail de la normalisation des produits périssables et de l'amélioration de la qualité. *Rev. 2* : 6-7.
- 31. Chemmache L. (2011):** Qualité de deux spécialités fromagères fabriquées et commercialisées en Algérie. Mémoire de Magister. INATAA. Université de Constantine : 77.
- 32. Codex Alimentarius.(2000):** Lait et produit laitiers. 2<sup>ème</sup> Ed. FAO/OMS, Rome : 03.
- 33. Dauvillier P., Adrian J., Potus., Poiffait A. (1998):** Introduction à l'analyse nutritionnelle des denrées alimentaires. Technique et documentation. *Tec. Doc. Lavoisier*, Paris: 48,49.
- 34. Daviau C., Famelart M.H., Pierre A., Gouedranche H., Mauboi J.L.(2000):** Rennet coagulation of skim milk and curd drainage: effect of pH, casein concentration, ionic strength and heat treatment. *Lait*, 80: 397-415.
- 35. Debry. (2001):** Lait, nutrition et santé, *Tec et Doc*, Paris: 21 .
- 36. Didier de Saint-mm J., Cas G. (1967):** Dosage des éléments majeurs chez les végétaux. *O.R.S.T.O.M.* Paris: 5-6.
- 37. Dilmi-Bouras A. (1998):** Les constituants alimentaires et leur rapport avec la santé. *O.P.U*, Alger : 8
- 38. Dillon J. C., Berthier A. M. (1997) :** Le fromage dans l'alimentation. In Eck A., Gillis J.C. Le fromage. : *Tec et Doc - Lavoisier*, Paris, 713–724
- 39. Drogba A S., Joachim L.A. (2016):** Quelques méthodes d'analyse biochimique de produits alimentaires. *Connaissances et Savoirs*, Boulevard Anatole :11,12,18.
- 40. Famelart M.H. (2004):** Environnement minéral et propriétés de gélification des caséines. In Minéraux et Produits Laitiers. *TEC et DOC, Lavoisier*, Paris: 585-613.
- 41. FAO. (1995):** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine. David Lubin FAO, Rome: 44 - 67 ,179-185.
- 42. Fredot E. (2006):** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, *Tec et Doc, Lavoisier*: 25 .
- 43. Folch J., Lees M., Sloane-Stanely G.H., J. (1957):** A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Biological Chemistry* : 27, 29,34.
- 44. Garland B.(1994):** FT-IR of protein secondary structure in aqueous and dried states. Nicolet Application Note, AN9479. *Nicolet Analytical*, Madison, WI.

- 45. Gelais St. D., Tirard C.P., Belonger G., Couture R., Drapeau R. (2002):** Fromage. In Sciences et technologies du lait, transformation de lait. Ed VIGNOLA C, Ecole polytechnique de Montréal: 349-412
- 46. Goulet O., Vidailhet M., Turck D. (2012):** Alimentation de l'enfant en situations normale et pathologique. 2<sup>ème</sup> ed, *DOIN*, Paris: 662.
- 47. Goupy, J. (2006) :** Introduction aux plans d'expériences. *Dunod*, paris :4-14
- 48. Goupy J., Creighton L. (2006):** Introduction aux plans d'expériences. *Dunod*, paris: 71,88 .
- 49. Granato D., Araújo Calado V.M. (2014):** The use and importance of design of experiments (DOE) in process modelling in food science and technology In Granato D. and Ares G., Mathematical and Statistical Methods in Food Science and Technology, *John Wiley & Sons*, Oxford : 3
- 50. Hayaloglu A.A., Guvena M. and fox P.F. (2002):** Microbiological, Biochemical and Technological properties of Turkish white cheese 'Beyaz Peynir'. *International Dairy Journal* 12 : 635-648.
- 51. Iberraken M., Maouche K. (2007):** Les produits carnes ., Ingéniorat en contrôle de qualité et analyse ,Université de Bejaia: 36.
- 52. Ilboudo A.J., Savadogo A., Seydi M.G., Traore A.S. (2012):** Place de la matière azotée dans le mécanisme de la coagulation présure du lait. *Journal of Biological and Chemical Science*, 6(6): 6075-6087.
- 53. Jacques F. (1999):** Le Guide des aliments .*Québec Amérique inc*, Montréal : p219.
- 54. Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P., Brule G. (2008):** Les produits laitiers. 2<sup>ème</sup> édition, *Tec et Doc, Lavoisier*, Paris: 7.
- 55. Jeantet R., Croguennec T., Schuck P., Brule G. (2007):** Science des aliments-technologie des produits alimentaires, *Tec et Doc, Lavoisier*, Paris : 17.
- 56. Joffin C. (2000):** Microbiologie alimentaire. *Académie* . Bordeaux : 95,96.
- 57. Joglekar A.M., May A.T. (1987):** Product excellence through design of experiments. *Cereal Food World*, 32:857-868.
- 58. Kong J., Yu S. (2007):** Fourier Transform Infrared Spectroscopic Analysis of Protein

Secondary Structures (mini review). *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 39(8): 549-559.

- 59. Kouassi B., Alfred T., Gnandorman S. (2008):** Transformation et consommation en Afrique de l'ouest centrale des denrées alimentaires. *Kartahala*, Paris : 154.
- 60. Karine S., Jean C.G., Jean P.G. (2013):** Filière lait et fromage in Jean L.M., Henri T., Jean L.V, traité pratique de droit alimentaire. *Tec et Doc, Lavoisier*, Paris : 929.
- 61. Khoualdi G. (2017) :** Caractérisation du fromage traditionnel algérien « Medeghissa ». Institut de la Nutrition, de l'Alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires, Constantine :78.
- 62. Laboui H., Laaroussi E., Ouhssine M. (2006):.** Essai de valorisation des déchets des abattoirs comme un stable bio-engrais. *Journal Africain des Sciences de l'Environnement*. 1, 40,52: 13,14.
- 63. Lecoq R. (1965):** Manuel d'analyses alimentaires et d'expertises usuelles. *Doin*, Paris: 1296.
- 64. Mahaut M.,Jeantet R.,Gérard B.(2003):** Initiation a la technologie fromagère. *Tec & Doc Lavoisier*, Paris, 194.
- 65. Magali P. (2012):** La transformation fromagère caprine fermière, bien fabriquer pour mieux valoriser ses fromages de chèvre. *Tec et Doc Lavoisier*, Paris : 230-295.
- 66. Majdi A. (2009):** 'les fromages AOP et IGP.', in Séminaire sur les fromages AOP et IGP. INT-Ingénieur agronomie: 36-43.
- 67. Mc Sweeney P.L.H. (2004):** Biochemistry of cheese ripening. *International Journal of Dairy Technology*, 57(3): 127-144.
- 68. Mennane Z., Khedid K., Zinedine A., Lagzouli M., Ouhssine M., Elyachioui M.(2007):** Microbial Characteristics of Klila and Jben Traditionnal Moroccan Cheese from Raw Cow's Milk. *World Journal of Dairy & Food Sciences*, 2 (1): 23-27.
- 69. Mendenhall I.V. (1991):** Rapid determination of milk components and detection of adulteration using Fourier transform infrared technology. These de Doctorat, Université d'Utah State. Logan, UT.
- 70. Mekentichi, Z. (2003) :** Qualité physicochimique et bactériologique d'un fromage traditionnel (Bouhezza). Mémoire d'ingénieur. Université de Batna. Algérie.
- 71. Montgomery D.C.(2009)** Design and analysis of experiments, 5eme ed. John Wiley & Sons, Inc., New York: 5
- 72. Montgomery D.C.(2001):** Design and Analysis of Experiments. 3<sup>ème</sup> ed, Wiley and sons, New York : 15p.

- 73. Mietton B., Gaucheron F., Salaun F. (2004):** Minéraux et transformations fromagères. In Gaucheron F., Minéraux et Produits Laitiers, *Lavoisier, Paris* : 471-563.
- 74. Myers R.H., Montgomery D.C. (2002):** Response surface methodology. 2eme ed, *John Wiley and Sons Inc*, New York: 15.
- 75. Nielsen S. (2010) :** Food Analysis Laboratory Manual, 2<sup>ed</sup> Ed. *Springer*, New York : 41-43.
- 76. Nunez M., Del Pozo F.B., Asuuncia M.A., Rodriguez M., Gaya P., Medina M. (1991):** Effect of vegetable and animal rennet on chemical, microbiological, rheological and sensory characteristics of Laserena cheese. *Journal Dairy Research*, 58 :511-519.
- 77. Nwabueze T.U. (2010):** Basic steps in adapting response surface methodology as mathematical modelling for bioprocess optimization in the food systems. *International Journal of Food Science and Technology*, 45(9): 1768–1776.
- 78. Ouadghiri, M. (2009):** Biodiversité des bactéries lactiques dans le lait cru et ses dérivés « lben » et « jben » d'origine marocaine. thèse de doctorat. université mohammed v – Agdal faculté des sciences, Rabat: 26-28.
- 79. OuId Mustapha A., N'diyae D., OuId Kory B. (2012):** Etude de la qualité du lait pasteurisé des industries laitières situées à Nouakcote (Mauritanie), Sciences du vivant Biologie. *Editions Mersenne*, Volume : 2111.
- 80. Patrick F. F., Timothy P. G., Timothy M. C., Paul L. H. (2017):** Fundamentals of Cheese Science. *Springer*, New York: 184-202.
- 81. Pillet M. (1992):** Introduction aux plans d'expériences par la méthode Taguchi. , les édition d'organisation.Paris
- 82. Pires M. S., Orellana G. A., Gatti C. A. (1999):** Rennet coagulation of casein micelles and heated casein micelles: Action of Ca and pH. *Food hydrocolloids*,13: 235-238
- 83. Pougheon S. (2001):** Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France:p34
- 84. Poznanski E., Cavazza A., Cappa P. S., Cocconcelli. (2004):** Indigenous Raw Milk Microbiota Influences the Bacterial Development in Traditional Cheese from an Alpine Natural Park. *International Journal of Food Microbiology*, Vol. 92 (2) : 141-151.
- 85. Rodriguez-Saona L.E., Koca N., Harper W.J., Alvarez V.B. (2006):** Rapid determination of Swiss cheese composition by Fourier transforms infrared/attenuated total reflectance spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 89: 1407-1412.
- 86. Rhiat, M., Labioui, H., Driouich, A., Aouane, M., Chbab, Y., Mennane, Z., &Ouhssine, M., (2011) :** Étude bactériologique comparative des fromages frais marocains commercialisés (Mahlabats) et des fromages fabriqués au laboratoire. *Afrique Science* 7(3) : 108 – 112

- 87. Pierre Jouan. (2002) :** lactoprotéine et lactopéptide, propriétés biologiques. INRA : 21-93.
- 88. Salmeron J., de Vega C., Pérez-Elortondo F.J., Albisu M., Barron L.J.R. (2002):** Effect of pasteurisation and seasonal variations in the microflora of ewe's milk for cheese making. *Food Microbiology*, 19: 167-174.
- 89. Sheng, Z.L., Li J.C., Li Y.B. (2012):** Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phillyrin from *Forsythia suspensa* using response surface methodology. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6:1633-1644.
- 90. Sinha K., Saha P.D., Datta S. (2012):** Response surface optimization and artificial neural network modeling of microwave assisted natural dye extraction from pomegranate rind. *Industrial Crops and Products*, 37: 408-414
- 91. Subramanian A., Alvarez V.B., Harper W.J., Rodriguez-Saona L.E. (2011):** Monitoring amino acids, organic acids and ripening changes in cheddar cheese using Fourier transform infrared spectroscopy. *International Dairy Journal*, 21: 434-440p.
- 92. Subramanian A., Harper J.W., Rodriguez-Saona L.E. (2007):** Classification of cheddar cheese based on flavor quality using Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal of Dairy Science*, 90(1): 114.
- 93. Susi H., Byler M.D. (1988):** Protein Structure by Fourier Transform Infrared Spectroscopy in Protein Conformation Studies. In: Cherry J.P., Barford R.A: *Methods for Protein Analysis*, American Oil Chemistry Society, Champaign, IL. 235-255
- 94. Laurent T. (1696) :** Les perspectives de développement de la filière lait de chèvre dans le bassin méditerranéen. Une réflexion collective appliquée au cas marocain. *FAO*, Rome :27p.
- 95. Tinsson W. (2010):** Plans d'expérience, construction et analyse statistique. *Springer*: 4-5p.
- 96. Thomas C., Romain J., Gerard B (2008):** Fondements physicochimiques de la technologie laitière. *tec et doc*, Lavoisier: 11
- 97. Thapon J.L. (2005):** Science et technologie du lait. *Agrocampus-Rennes*: 14.
- 98. Van Hooydonk A.C.M., Walstra P. (1987):** Interpretation of the kinetics of the renneting reaction in milk. *Netherlands Milk Dairy Journal*, 41: 19-47.
- 99. Touati K., 1990:** Contribution à l'étude microbiologique et physico-chimique d'un fromage artisanal algérien "la klila". Mémoire d'ingénieur, INATAA, Constantine, Algérie, 83 p.
- 100. Vignola C.L. (2002):** Science et technologie du lait, transformation du lait. *Polytechnique*, Montreal : 03-24

- 101. Visser S. (1981):** Proteolytic enzymes and their action on *milk* proteins. *Netherland Milk Dairy Journal*, 35: 65-88.
- 102. Wilson R.H., Goodfellow B.J., Belton P.S. (1988):** Fourier transform infrared spectroscopy for the study of food biopolymers. *Food Hydrocolloids*, 2: 169-178.
- 103. Woodcock T., Downey G., O'Donnellk C.P. (2008):** Confirmation of declared provenance of European extra virgin olive oil samples by NIR spectroscopy. *Journal Agricultural of Food Chemistry*, 56: 11520-11525.
- 104. Zbikowska A., Szerszunowicz I., Smyk B. (2004):** Effect of pH on the composition and surface hydrophobicity of proteins forming the gel matrix during enzymatic coagulation of heated milk reconstituted from nonfat dry milk. *Milch wissenschaft*, 59(8): 417-420.

# *Annexes*

## Annexe 01

### 1. Présentation du Chardon marie (*Silybum marianum* (L). Gaerthn)

Le nom chardon marie, donnée à cette plante tant en anglais qu'en latin ou en français, lui vient d'une légende au sujet de la Vierge marie qui, voyageant d'Égypte en Palestine, aurait donné le sein à l'enfant Jésus près d'un bosquet de chardons, quelques gouttes de son lait tombèrent sur les feuilles, d'où les nervures blanches caractéristiques à cette plante. Alors que selon FOSTER (1995), le terme *Silybum* désigne, en Grec et en Latin, un chardon comestible.

### 2. Systématique

La systématique du chardon marie selon Deysson (1979)

Embranchement : Phanérogames

Sous-embranchement : *Angiospermes*

Classe : *Magnoliopsida*

Ordre : *Asterales*

Famille : *Asteraceae* (Composées)

Sous-famille : *Tubuliflores*

Genre : *Silybum*

Espèces : *Silybum marianum* (L).



*Silybum marianum*

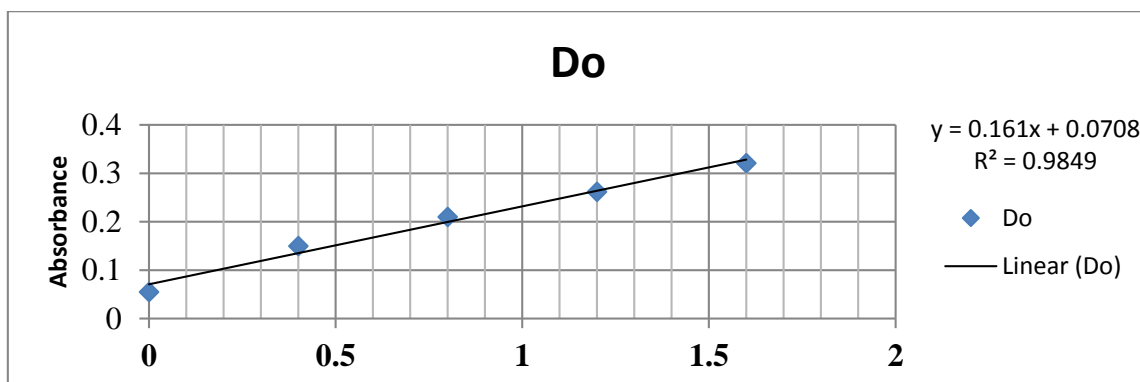
## 1. Préparation de bleu de commassie G250

10g de fromage ont été introduits dans une fiole jaugée de 100 ml et 5ml de ethanol a 95% et 10ml d'acide phosphorique a 85% sont ensuite ajoute puis le volum a été complété a 100ml par Léau distillé (**Bradford., 1976**).

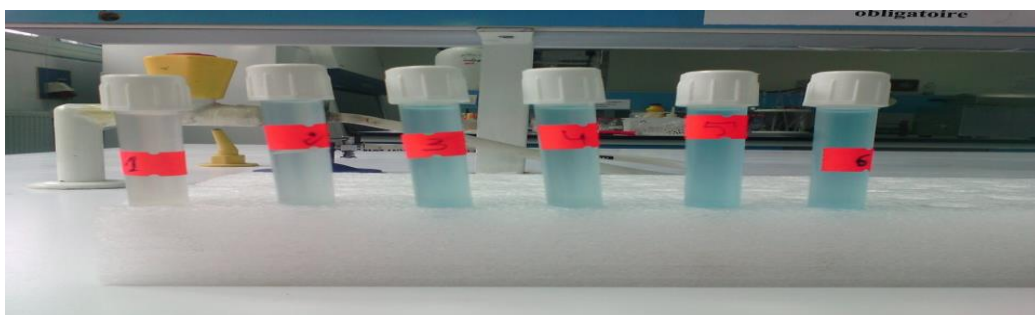
## 2. Détermination de la teneur en protéines par la méthode de bradford

### Expression des résultats

Un courbe étalon est tracée en portant sur l'axe des abscisses, les concentrations en BSA des dilutions (gamme étalon) préalablement préparées et sur l'axe des ordonnées, les DO mesurées respectivement pour chaque dilution La concentration en protéines inconnue X, est déterminée à partir de cette courbe par projection sur l'axe des abscisses



La courbe d'étalonnage de SAB

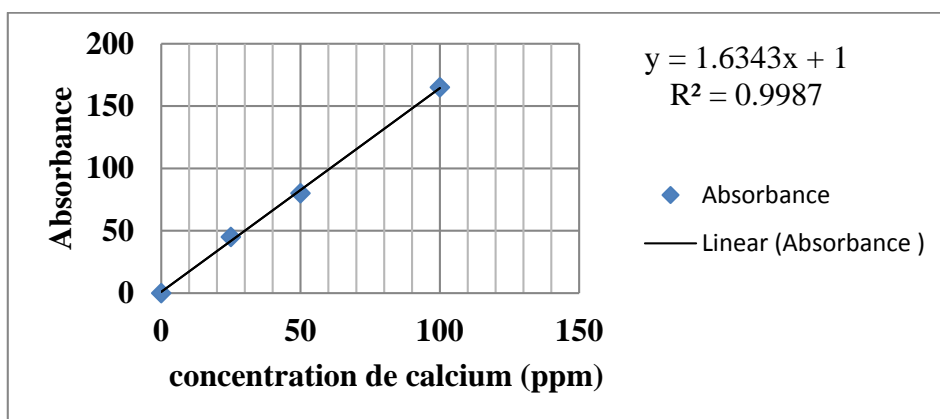


Gamme d'étalonnage de SAB

### Annexe 03

➤ La gamme d'étalonnage de calcium

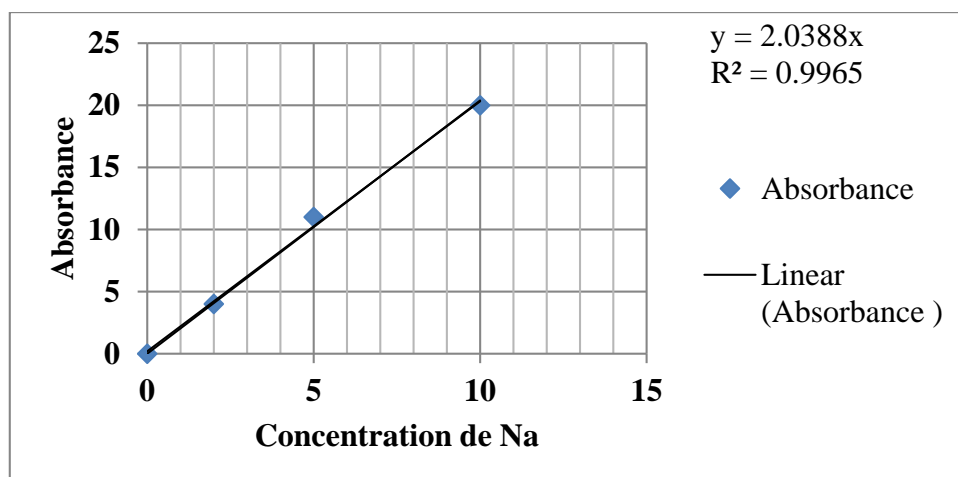
<b>Ca</b>	100	50	25
<b>Absorbance</b>	165	80	45



La courbe d'étalonnage de calcium

➤ La gamme d'étalonnage de sodium

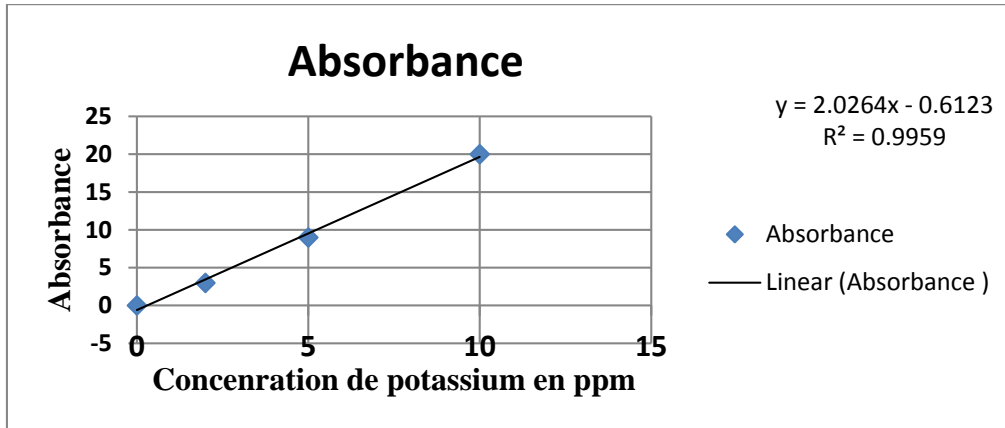
<b>Na</b>	10	5	2
<b>Absorbance</b>	20	11	4



La courbe d'étalonnage de sodium

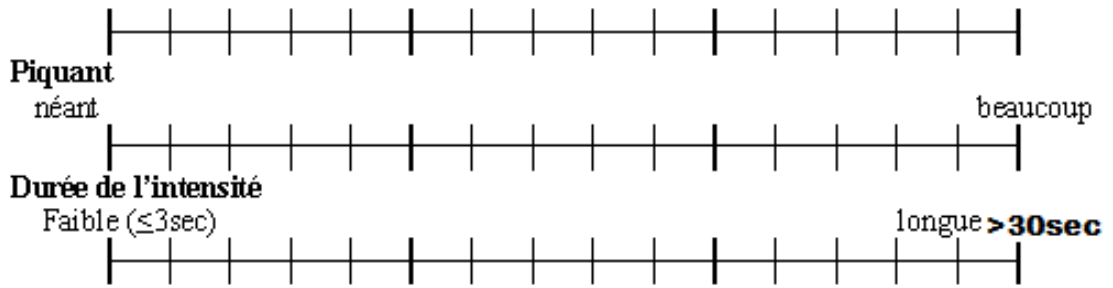
➤ La gamme d'étalonnage de potassium

<b>K</b>	10	5	2
<b>Absorbance</b>	20	9	3



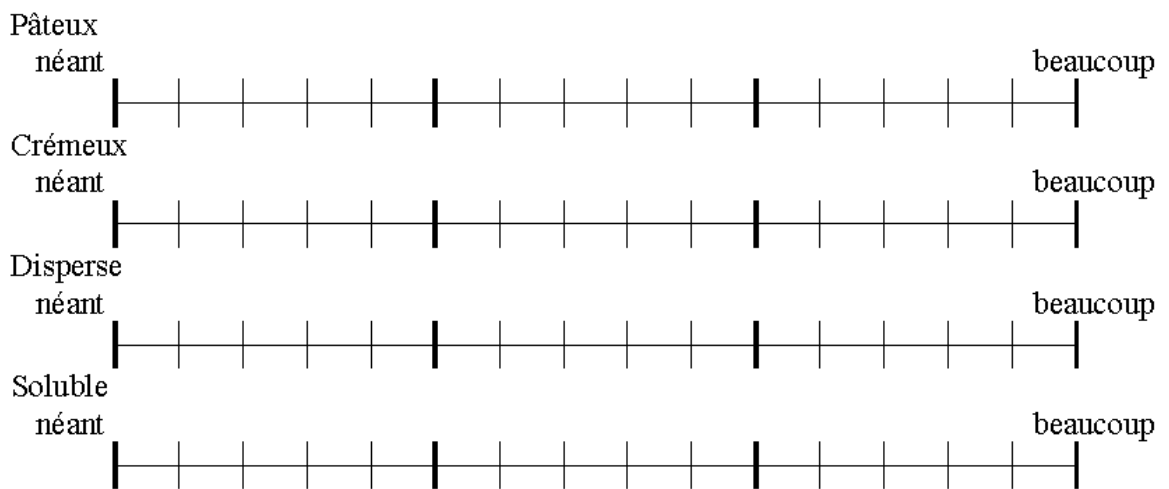
Courbe d'étalonnage de potassium





#### 4-CONSISTANCE

Donnez une note sur l'échelle suivante pour la consistance de la pâte Pâteux



## Résumé :

L'objectif de cette étude est d'optimiser les conditions de coagulation pour avoir un meilleur rendement lors de fabrication du fromage frais traditionnel (Jben). La méthodologie de surface de réponse a été utilisée pour optimiser le temps, la température, la concentration de présure et  $\text{CaCl}_2$  et le pH. Après être fabriqué, les fromages optimisés subissent une analyse physicochimique et sensorielle pour les comparer avec les fromages commercialisés. L'analyse des modèles par ANOVA et régression multiple a montré l'ajustement de ces derniers avec le rendement ( $p < 0.0001$ ) avec une forte corrélation entre les valeurs prévues et mesurées ( $R^2 = 0.99$ ). Les résultats montrent des effets hautement significatifs de la température et le pH sur le rendement de coagulation. L'analyse physicochimique des quatre fromages (AC, AL, VC et VL) a montrés des différences significatives en terme de teneur en matière sèche, matière minérale, taux des protéines ( $p < 0.05$ ), cependant aucune différence significative pour la teneur en matière grasse ( $p > 0.05$ ) a été observée. L'analyse sensorielle à montré des profils dégustatifs différents des quatre fromages, et nous avons les divisé en trois groupes hétérogène selon les résultats de l'ACP. Il est à noter que les fromages commerciales (AC, VC) ayant les mêmes caractéristiques organoleptiques avec des intensités plus en moins différentes tandis que le fromage VL montre un profil organoleptique inverse à ces deux derniers, cependant le fromage AL est un fromage différent de point de vue sensoriel. L'analyse des spectres infrarouge (FTIR) des quatre fromages nous a permis de distinguer les différents constituants des fromages testés avec une mis en évidence des différences éventuelles dans les teneurs en nutriments.

**Mots clés :** Optimisation, physicochimique, sensoriel, fromage, FTIR.

## Abstract :

The objective of this study is to optimize the coagulation conditions to obtain a better yield during the production of traditional fresh cheese (Jben). The response surface methodology was used to optimize time, temperature, rennet and  $\text{CaCl}_2$  concentration, and pH. After being manufactured, the optimized cheeses undergo a physicochemical and sensory analysis to compare them with the marketed ones. Analysis of the models by ANOVA and multiple regression showed the fitting of these with the yield ( $p < 0.0001$ ) with a strong correlation between the predicted and measured values ( $R^2 = 0.99$ ). The results show highly significant effects of temperature and pH on coagulation yield. The physicochemical analysis of the four cheeses (AC, AL, VC and VL) showed significant differences in terms of dry matter content, mineral matter, protein content ( $p < 0.05$ ), however no significant difference for fat content ( $p > 0.05$ ) has been observed. The sensory analysis showed different tasting profiles of the four cheeses, and we divided them into three heterogeneous groups according to the results of the PCA. It should be noted that the commercial cheeses (AC, VC) having the same organoleptic characteristics with more and less different intensities while the cheese VL shows a reverse organoleptic profile to the latter two, however the cheese AL is a different cheese of a sensory view. The analysis of the infrared spectra (FTIR) of the four cheeses allowed us to distinguish the different constituents of the cheeses tested with a highlight of the possible differences in the nutrient contents.

**Key words :** Optimization, cheese, Sensory, physicochemical, FTIR.

## المخلص:

الهدف من هذه الدراسة هو تحسين ظروف التخثر للحصول على عائد أفضل أثناء إنتاج الجبن الطازج التقليدي. تم استخدام منهجية سطح الاستجابة لتحسين الوقت, درجة الحرارة, تركيز المنفحة و  $\text{CaCl}_2$ , ودرجة الحموضة. بعد تصنيعها, تخضع الأجبان المحسنة لتحليل فيزيوكيميائي وحسي لمقارنتها بالأجبان المسوقة. أظهر تحليل النماذج من قبل ANOVA والانحدار المتعدد تناسبها مع العائد ( $P < 0.0001$ ) مع وجود ارتباط قوي بين القيم المتوقعة والحقيقية ( $R^2 = 0.99$ ). تظهر النتائج تأثيرات شديدة الأهمية لدرجة الحرارة ودرجة الحموضة على عائد التخثر. أظهر التحليل الفيزيائي الكيميائي للأجبان الأربعة (AC, AL, VC, VL) اختلافات كبيرة من حيث محتوى المادة الجافة, والمواد المعدنية, ومحتوى البروتين ( $p < 0.05$ ), ولكن لا يوجد فرق كبير لمحتوى الدهون ( $p > 0.05$ ). أظهر التحليل الحسي اذواق مختلفة للأجبان الأربعة, وقمنا بتقسيمها إلى ثلاث مجموعات غير متجانسة وفقاً لنتائج PCA. تجدر الإشارة إلى أن الأجبان التجارية (AC, VC) لها نفس الخصائص الحسية مع اختلافها في الشدة في حين أن الجبن VL يظهر صورة حسية عكسية للأنتنين الأخيرين, ولكن الجبن AL هو جبن مختلف من وجهة نظر حسية. سمح لنا تحليل أطيف الأشعة تحت الحمراء (FTIR) للأجبان الأربعة بتمييز المكونات المختلفة للأجبان التي تم اختبارها مع تسليط الضوء على الاختلافات المحتملة في محتويات المغذيات.

**الكلمات الدلالية:** التحسين, الجبن, فيزيوكيميائية, حسية.