

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A-MIRA de BEJAIA

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés



Mémoire de Fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER en génie des procédés

Spécialité : Génie alimentaire

Thème

Optimisation d'une préparation industrielle laitière « RAIB » à base de poudre de lait en appliquant le plan d'expérience Box-Behnken au niveau de l'industrie « HAMMADITE »

Présentée par :

DJABOUR Khlidja et BENSALÉM Ghania

Devant les membres de jury :

Mr AZZOUG Moufok	MCA université de Bejaia	Président
Mme CHIBANI Nacera	MCA université de Bejaia	Examinatrice
Mr FATMI Soufiane	MCA université de Bejaia	Promoteur
Melle TAOZINET Lamia	Dr université de bejaia	Co-promotrice

Année universitaire : 2020/2021

Remerciement

Nos remerciements et notre vive reconnaissance à notre promoteur Mr **FATMI.S**, d'avoir accepté de nous encadrer et diriger ce travail et d'avoir bénéficié de ses larges compétences. Merci pour ses conseils judicieux, sa bonne humeur et son sens de l'humour. Nous éprouvons pour vous beaucoup d'estime et énormément de respect.

Nos remerciements vont aux membres de jury, Mr **AZZOUG** pour l'honneur qu'il nous a fait de présider ce jury et Mme **CHIBANI**, Mme d'avoir accepté d'examiner ce travail. Qu'elle trouve dans ces phrases l'expression de notre profond respect.

Nos vifs remerciements à toute l'équipe de la laiterie « **Hammadite** » précisément : Mr **SADJI** le gérant de l'unité, de nous avoir ouvert les portes de son organisme, Mme **IGHITE** responsable de production et Mme **YAHIAOUI** responsable du laboratoire d'avoir mis à notre disposition tout ce dont nous avons besoin au cours de notre stage

Nos remerciements s'adressent aussi à tous nos enseignants qui nous ont transmis leur savoir, ce qui nous a permis d'acquérir les connaissances indispensables pour réaliser ce mémoire.

Nous témoignant enfin notre reconnaissance à tous ceux et celles Ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de notre projet de fin de cycle.

« Merci à tous »



Dédicaces

De mon cœur je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers

A la mémoire de mon père disparu trop tôt, tu as été et tu seras toujours un exemple pour moi par tes qualités humaines, ta persévérance et perfectionnisme. J'espère que, du monde qui est sien maintenant, il apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part de ta fille qui a toujours prié pour le salut de ton âme. Puisse dieu le tout puissant, t'avoir en sa sainte miséricorde.

A ma très chère mère, source inépuisable de patience et de sacrifice. Tes prières et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. J'espère ne jamais te décevoir, ni trahir ta confiance et tes sacrifices. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

A mon unique et très cher frère aucune dédicace ne peut exprimer la profondeur des sentiments fraternels et d'amour, d'attachement que j'éprouve à ton égard. Je te dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection en souvenirs de notre indéfectible union qui s'est tissée au fil des jours. Puisse dieu te protéger, garder et renforcer notre fraternité.

A ma famille maternelle « CHALLAL » et paternelle « DJABOUR »

*A ma binôme et chère amie **Ghania** avec qui j'ai partagé des moments agréables et difficiles tout le long de ce travail.*

A mes amis(es) : Nassima, Dyhia, Larbi, Amine, Karima, Mohammed, Ahlem, Fawzi, Amira...

Khidja



Dédicaces

J'ai le grand plaisir de dédier ce travail à :

Celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière, celui qui a combattu toute sa vie pour me procurer tout ce dont j'avais besoin

Mon très cher papa Hamid

Celle qui m'a arrosé de tendresse, d'espoir, la source de mon bonheur, aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que tu as consentis pour mon instruction et mon bien-être. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu me portes depuis mon enfance et j'espère que ta bénédiction m'accompagne toujours. Puisse Dieu le très Haut t'accorde santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne te déçoive

Ma très chère maman Aicha

Mes adorables sœurs : Hakima, Siham, Yasmina, et Souad ainsi que ma belle-sœur Bahia pour leur amour, encouragement et soutien

Mes très chers frères et mes beaux-frères : Athemane, Karim, Azzedine, Rabah, Riad et Aziz

Mes adorables nièces et neveux : Dalia, Bouchera, Mourdjene, Nouara, Mahdi, Hamid, Daoud, et Amir

Toutes ma famille : BENSALÉM et ALLOUACHE

Ma binôme Khlidja qui m'a supporté et m'aide continuellement, et à laquelle j'ai partagée des bons, des durs et des moments de la folie

Tous mes ami(e)s : Aghiles, Amine, Faouzi, Kouceila, Randa, Sarah et Zeina

Ghania

Liste des abréviations

AA : Acides aminés

AFNOR : Association Française de Normalisation

AMD : amidon

ATP : Adénosine-Triphosphate

°C : Degré Celsius

°D : Degré Dornic

C₁₂H₂₂O₁₁ : Disaccharides

CO₂ : Dioxyde de carbone

EST : Extrait Sec Total

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

IgA : Immunoglobuline A

IgG : Immunoglobuline G

IgM : Immunoglobuline M

KDa : Kilodalton

MG : matière grasse

µg : Microgramme

µm : Micromètre

Mg : Milligramme

NA : Norme Algérienne

NF : Norme Française

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

O₂ : Oxygène

PDL : poudre de lait


pH : potentiel d'hydrogène

Tm : temps de maturation

UHT : Ultra Haute Température

% : pourcentage

Liste des tableaux

Tableau 1: Composition moyenne du lait entier.....	5
Tableau 2: Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre.....	5
Tableau 3: Classification des protéines.....	9
Tableau 4 : Composition minérale du lait de vache.....	9
Tableau 5 : Composition vitaminique moyenne du lait cru.....	10
Tableau 6: Caractéristiques des principaux enzymes du lait.....	11
Tableau 7: Composition des laits en poudre (en %)......	18
Tableau 8: Les différents genres des bactéries lactiques.....	23
Tableau 9 : Exemple de produits laitiers fermentés et leurs pays d'origine.....	35
Tableau 10 : Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des Raïb au lait cru et traités thermiquement	46
Tableau 11: Différents types des plans d'expériences.....	48
Tableau 12 : Matrice d'expérience à deux facteurs.....	51
Tableau 13 : Principaux logiciels de plans d'expériences.....	55
 Matériels et méthodes	
Tableau 1: Analyses effectuées et non effectuées.....	57
Tableau 2: Essais préliminaires.....	62
Tableau 3 : Représente les facteurs utilisés ainsi que leurs niveaux.....	63
Tableau 4 : Les différentes combinaisons réalisées.	64
Tableau 5 : Matrice d'expérience du plan de Box Behnken.....	64
Tableau 6: Matériels utilisés.....	68
Tableau 7 : Milieu de culture et réactifs utilisés	69
Tableau 8 : Analyses microbiologiques pour le produit fini.....	70

Liste des figures

Figure 1 : Composition de la matière grasse du lait.....	6
Figure 2 : Structure d'une sub-micelle.....	7
Figure 3 : Hydrolyse de la caséine κ par la présure.....	20
Figure 4: Schéma illustrant les principales voies fermentaires.....	25
Figure 5: Représentation schématique du système protéolytique de <i>Lactococcus lactis</i>	26
Figure 6 : Principales étapes du métabolisme du citrate par les bactéries lactiques.....	27
Figure 7 : Ligne de fabrication de Raib a l'unité « HAMMADITE ».....	45
Figure 8 : Domaine de variation d'un facteur.	49
Figure 9: Domaine d'étude	50
Figure 10 : réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse.....	50
Figure 11: Illustration du plan de Box-Behnken pour trois facteurs.....	53

Matériels et méthodes

Figure 1 : Viscosimetre de couette.....	61
Figure 2 : a-Schéma représentatif des solutions diluées.....	71
b- Illustration de préparation des solutions diluées.....	71
Figure 3 : Schéma d'ensemencement en masse des coliformes.....	72
Figure 4 : Photographie du test de confirmation des coliformes fécaux au laboratoire.....	73
Figure 5 : Schéma représentatif du dénombrement en surface des staphylocoques.....	75
Figure 6 : Photographie de pré-enrichissement des salmonelles au laboratoire	77

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le lait

I.1.	Définition.....	3
I.2.	La composition du lait	4
I.2.1.	Eau.....	5
I.2.2.	Matière grasse	6
I.2.3.	Protéines	7
I.2.4.	Lactose	9
I.2.5.	Minéraux	9
I.2.6.	Vitamines	10
I.2.7.	Enzymes	11
I.3.	Les caractéristiques microbiologiques de lait.....	11
I.3.1.	Flore originelle	12
I.3.2.	Flore de contamination.....	12
I.4.	Propriétés physico-chimiques du lait.....	12
I.4.1.	Masse volumique.....	12
I.4.2.	Point de congélation	13
I.4.3.	Point d'ébullition.....	13
I.4.4.	Acidité du lait	13
I.4.5.	PH.....	13
I.5.	Qualité organoleptique du lait	14
I.5.1.	La couleur.....	14
I.5.2.	L'odeur :	14
I.5.3.	La saveur	14
I.5.4.	La viscosité.....	14
I.6.	LES LAITS COMMERCIALISÉS	15
I.6.1.	Lait pasteurisé	15
I.6.2.	Lait stérilisé	16

I.6.3.	Lait concentré sucré.....	16
I.6.4.	Lait aromatisé.....	16
I.6.5.	Lait fermenté	17
I.6.6.	Lait en poudre.....	17
I.6.7.	Le lait reconstitué et recombinaé	18
I.7.	Les coagulants du lait	18
I.7.1.	Coagulation	18
I.7.2.	L'origine des coagulants	19
I.7.3.	Les différents types de coagulation.....	20

Chapitre II : les bactéries lactiques

Introduction.....	22
II. Bactéries lactiques.....	22
II.1 Définition.....	22
II.2 Habitat	22
II.3 Taxonomie et classification	22
II.4 Le métabolisme chez les bactéries lactiques	24
II.5 Aptitudes technologiques	28
II.5.1 Aptitude acidifiante.....	28
II.5.2 Aptitude protéolytique.....	28
II.5.3 Aptitude lipolytique	29
II.5.4 Aptitude aromatisante.....	29
II.5.5 Aptitude texturante	29
II.5.6 Activité antimicrobienne	29
II.5.7 Aptitude autolytique	30
II.5.8 Aptitude probiotique.....	30

Chapitre III : Les ferments lactiques et les différents laits fermentés

III. Les ferments lactiques.....	31
III.1. Définition.....	31
III.2. Types de ferments lactiques.....	31
III.2.1 Ferments artisanaux	32
III.2.2 Ferments commerciaux :.....	32
III.3. Conservation des ferments.....	34
III.4. Rôles des ferments lactiques.....	34
III.5. Qualité et critères de sélection des ferments lactiques	34
III.6. Produits laitiers fermentés :	35

III.6.1	Lait fermenté	37
III.7.	Intérêts nutritionnels et thérapeutiques des laits fermentés	38
III.7.1	Intérêts nutritionnels	38
III.7.2	Intérêts thérapeutiques	39
III.8.	Stabilité des laits fermentés durant le stockage	39

Chapitre IV: Technologie du RAIB

IV.	Le Raïb	40
IV.1.1	Le Raïb traditionnel	40
IV.1.2	Le Raïb industriel	40
IV.2.	Procédé de fabrication du lait fermenté partiellement écrémé RAIB (annexe 06):...	40
IV.2.1	Matières premières :	40
IV.2.2	La reconstitution	42
IV.2.3	Le préchauffage	42
IV.2.4	Le dégazage	42
IV.2.5	La standardisation	42
IV.2.6	L'homogénéisation	42
IV.2.7	La pasteurisation	42
IV.2.8	Développement de la fermentation	43
IV.2.9	Conditionnement	43
IV.2.10	Maturation et coagulation	43
IV.2.11	Arrêt de la fermentation	43
IV.3.	Présentation de la ligne de fabrication du Raïb	45
IV.4.	Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des Raïb au lait cru et traités thermiquement :	45

Chapitre V :Généralités sur les plans d'expériences

Introduction	47
V	Plans d'expériences	47
V.1	Définition d'un plan d'expérience	47
V.2	Principe	48
V.3	Terminologie	48
VI	Modélisation et Optimisation par la méthodologie des surfaces de réponse (MRS).....	51
VI.1	Le modèle de Box Behnken.....	52
VI.2	Avantage du modèle de Box-Behnken	53
VI.3	Logiciels des plans d'expériences	54

Matériels et méthodes

I.	Analyses physico-chimiques	56
I.1	Détermination de l'acidité titrable.....	58
I.2	Mesure du pH	58
I.3	Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique).....	58
I.4	Détermination de l'extrait sec total (EST) par un dessiccateur infrarouge	59
I.5	Mesure de la teneur en matière sèche dégraissée	60
I.6	Mesure du taux d'humidité.....	60
I.7	Mesure de la viscosité.....	60
II.	Modélisation et Optimisation d'une préparation industrielle laitière « RAIB ».....	61
II.1	Tests préliminaires effectués	61
II.1.1	Construction du plan d'expériences.....	62
II.1.2	Combinaisons réalisées	63
II.1.3	Analyse statistique.....	65
III.	Analyses microbiologiques du produit fini:.....	68
III.1	But des analyses microbiologiques.....	69
III.2	Méthode de dénombrement des organismes microbiens dans le lait fermenté « Raib »	69
III.2.1	Echantillonnage	70
III.2.2	Technique de prise d'essai	70
III.2.3	Préparation des dilutions	70
III.3	Les germes recherchés.....	71
III.3.1	Les coliformes	71
III.3.2	Recherche et dénombrement des Staphylocoques a Coagulase positive	75
III.3.3	Recherche des salmonelles.....	77

Résultats et discussions

I.	Analyses physico-chimiques	80
I.1	Matières premières.....	80
I.1.1	Poudre de lait.....	80
I.1.2	Eau de processus	81
II.	Optimisation des paramètres de production d'un lait fermenté type 'RAIB'	83
II.1	Etude préliminaire :	83
II.2	Plans d'expérience 'Box-Behnken'	84
II.2.1	Analyse des résultats	84

II.2.2	Validation du modèle.....	84
II.2.3	Coefficient de détermination R2	85
II.3	Validation du modèle pour l'acidité :	85
II.4	Validation de modèle pour la viscosité :.....	90
II.4.4	Modèle mathématique	93
II.5	Résolution.....	94
II.5.1	Courbe surface de réponse	94
II.5.2	Recherche de l'optimum :	94
III	Analyses microbiologiques.....	96
III.1	Les coliformes totaux	96
III.2	Les coliformes fécaux.....	97
III.3	Staphylocoques a coagulase positif	98
III.4	Les salmonelles.....	98
Conclusion et perspectives		
References bibliographiques		
Annexe		

Introduction

Aujourd'hui, l'industrie agro-alimentaire occupe une place importante dans le monde. Le consommateur cherche des aliments sains, faciles à préparer pour satisfaire ses besoins. Parmi les produits de l'industrie Agro-alimentaire les plus essentiels, nous citons le lait.

Le lait et les produits laitiers occupent une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, ils apportent la plus grosse part de protéines d'origine animale

L'industrie laitière en Algérie fonctionne en partie sur la base de matières premières importées, c'est-à-dire : la poudre de lait et de la matière grasse de lait anhydre (MGLA). La poudre de lait est utilisée en premier lieu pour la production du lait reconstitué ou recombinaison pasteurisé, environ 2,642 milliards de L/an en 2015 [1].

D'autres produits laitiers sont issus de la technologie de transformation du lait en poudre. Il s'agit, notamment des laits fermentés tels que les yaourts ou les laits acidifiés traditionnels : l'ben et raïb ainsi que de certains fromages.

La microflore microbienne du lait, composée essentiellement de bactéries lactiques, participe de façon importante à l'élaboration des caractéristiques organoleptiques des produits laitiers fermentés (laits fermentés, fromages). De nombreuses études scientifiques montrent que les produits laitiers préparés traditionnellement à partir de lait cru ont des saveurs typiques et des qualités nutritionnelles de plus en plus recherchées par le consommateur [2].

Les bactéries lactiques sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire, en tant que starters dans les procédés de fermentation. Elles contribuent à la texture, à la saveur des aliments et à la production de composés aromatiques (diacétyl, acétaldéhyde et acétate et ce à partir du citrate). La flore lactique fermente les glucides en acide lactique, d'où une diminution du pH favorable à la bio-conservation des aliments[3].

Les produits dérivés issus d'une fermentation lactique traditionnelle connaissent depuis quelques années un développement considérable grâce, à l'intérêt que trouvent les

consommateurs sur le plan organoleptique, nutritionnel, thérapeutique, voire hygiénique en raison de leur acidité [4].

Les laits fermentés sont des produits laitiers obtenus par la fermentation du lait, lesquels peuvent avoir été fabriqués à base de produits obtenus à partir de lait avec ou sans modification de composition, par l'action de micro-organismes appropriés et résultant de la diminution du pH avec ou sans coagulation.

De ce fait, la nécessité d'optimisation de la production s'impose. L'utilisation de l'approche mathématique, dans le but de minimiser le nombre des essais et de réduire les expériences est très important particulièrement en industrie.

L'objectif de la présente étude consiste à l'optimisation de la production d'une préparation laitières « Raib » à base de poudre de lait en appliquant la méthodologie de surface de réponse (RMS), par le plan d'expérience Box-Behnken .

Le plan adopté pour explorer cet objectif est subdivisé en deux grandes parties : Le première est une synthèse bibliographique contenant une mise au point sur la matière première (le lait), le second chapitre concerne les bactéries lactiques, le suivant contient une étude sur les différents laits fermentés, le dernier aborde le processus technologique de fabrication de raib ainsi que des notions de plans d'expériences et leurs diversités.

La partie expérimentale résumera le : matériel et méthodes utilisées lors des analyses physicochimiques, microbiologiques et la réalisation de certaines expériences avant l'optimisation et la modélisation, ainsi que la présentation des résultats obtenus et leurs discussions avant de finaliser par une conclusion et perspectives.

Introduction

Le lait, le premier aliment de l'Homme, il est le seul à pouvoir revendiquer en tout le temps et tout lieu de statut d'aliment universel, au moins pour la première partie de la vie d'être humain. L'Algérie est le premier consommateur laitier du Maghreb avec une consommation moyenne de l'ordre de 96.96 (Kg/habitant/an) en 2019 [5]. Le lait est un aliment riche en protéines de haute valeur biologique, de sucres, des macros et des oligo-éléments surtout le calcium, l'eau, il renferme également des vitamines. C'est un aliment complexe aux nombreuses vertus, c'est le compagnon indispensable d'une alimentation équilibrée. Le lait, un fluide biologique d'une extraordinaire complexité dans lequel coexiste une multiplicité de molécules dont certaines organisées en structures supramolécules parfaitement ordonnées et source de composés bioactifs [6].

I.1. Définition

Le lait était défini en 1908 au cours du congrès international de la répression des fraudes à Genève comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » [6].

Le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes. [7]

Selon Le code FAO/OMS "la dénomination lait est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans addition ou soustraction [8]. Le lait, à la fois aliment et boisson à un grand intérêt nutritionnel grâce à son hétérogénéité. Les constituants les plus importants sont : eau, protéines, lipides, glucides (lactose), minéraux, les autres constituants tels que les vitamines, les enzymes et les gaz dissous sont considérés comme des constituants mineurs.[9]

Le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation.[10]

I.2. La composition du lait

Le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé. Source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes. [11]

Les laits sont les seuls aliments naturels complets qui existent, chacun d'eux étant adapté à la race qu'il permet de développer. [12]

Le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A ainsi que de faibles quantités de vitamine D et E. [13]

Les principaux constituants du lait par ordre croissant sont :

- L'eau, très majoritaire,
- Les glucides principalement représentés par le lactose,
- Les lipides, essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras,
- Les sels minéraux à l'état ionique et moléculaire,
- Les protéines, caséines rassemblées en micelles, albumines et globulines solubles,
- Les éléments à l'état de trace mais au rôle biologique important, enzymes, vitamines et oligoéléments. [6]

La composition moyenne du lait entier est représentée dans le tableau 1.

Le lait est constitué de quatre phases [14]

- 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'O₂, d'azote et de CO₂ dissous qui représentent environ 5 % du volume du lait.

Tableau 1 : Composition moyenne du lait entier [9].

Composants	Teneurs (g/100) g
Eau	89.5
Dérivés azotés	3.44
Protéines	3.27
Caséine	2.71
Protéines solubles	0.56
Azote non protéique	0.17
Matières grasses	3.5
Lipides neutres	3.4
Lipides complexes	<0.05
Composés liposolubles	<0.05
Glucides	4.8
Lactose	4.7
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12.8g

Le tableau 2 donne la composition moyenne en % pour différentes espèces.

Tableau 2 : Composition moyenne en % du lait de vache, femme, brebis et chèvre. [15]

Composant	Vache	Femme	Brebis	Chèvre
Protéines	3.4	1	2.9	5.5
Caséines	2.8	0.4	2.5	4.6
Lipides	3.7	3.8	4.5	7.4
Lactose	4.6	7	4.1	4.8
Minéraux	0.7	0.2	0.8	1

I.2.1. Eau

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. [16]

I.2.2. Matière grasse

La matière grasse est présente dans le lait sous forme de globules gras de diamètre de 0.1 à 10µm et est essentiellement constitué de triglycérides (98%). 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 et palmitique.
- Une teneur moyenne en acide stéarique.

La figure 1 présente un globule gras du lait. La membrane est constituée de phospholipides, de lipoprotéines, de cérébrosides, de protéines, d'acides nucléiques, d'enzymes et d'oligo- éléments (métaux) et d'eau. [17]

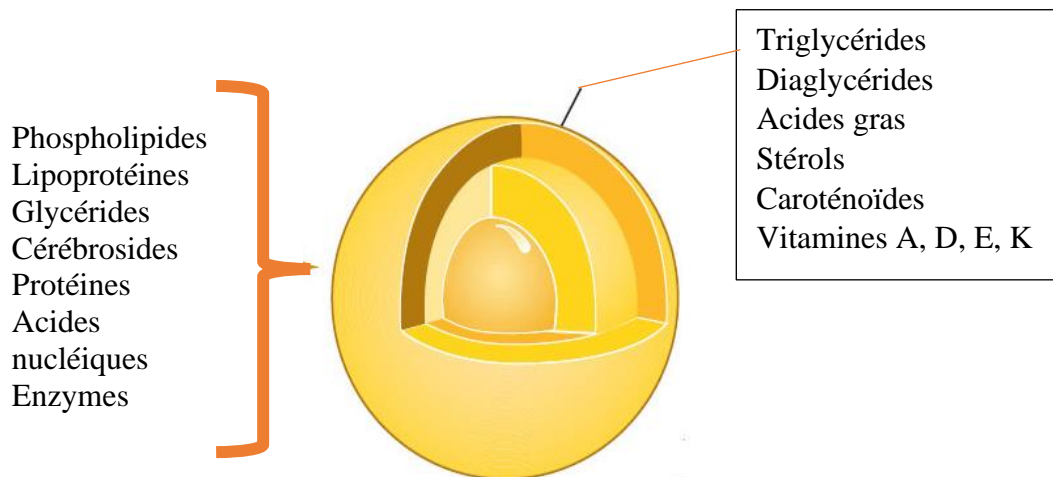


Figure 1 : Composition de la matière grasse du lait [17].

Les phospholipides représentent moins de 1% de la matière grasse, sont plutôt riches en acides gras insaturés. Le lait de vache est pauvre en acides gras essentiels (acide linoléique C18

:2 et acide linoléique C18 :3) par rapport au lait de femme (1.6% contre 8.5% en moyenne) [12]

I.2.3. Protéines

Le lait de vache contient 3.2 à 3.5% de protéines réparties en deux fractions distinctes [18] :

- Les caséines qui précipitent à pH 4.6, représentent 80% des protéines totales,
- Les protéines sériques solubles à pH 4.6, représentent 20% des protéines totales. La classification des protéines est illustrée dans le tableau 3.

I.2.3.1 Caséines

La caséine est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine [19]. Le caséinate de calcium, de masse molaire qui peut atteindre 56000 g mol⁻¹, forme une dispersion colloïdale dans le lait. Les micelles protéiques ont un diamètre de l'ordre de 0,1 µm (Figure 2).

La caséine native a la composition suivante : protéine 94%, calcium 3%, phosphore 2.2%, acide citrique 0.5% et magnésium 0.1% [20].

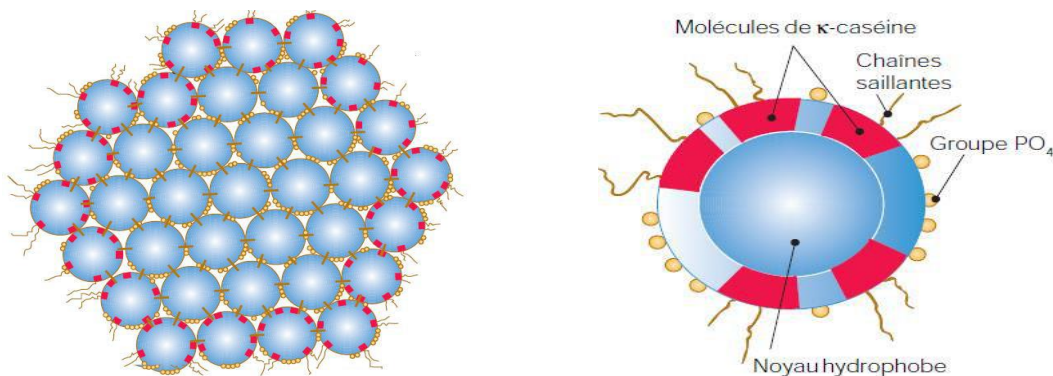


Figure 2 : Structure d'une sub-micelle caséique [21]

I.2.3.2 Protéines du lactosérum

Les protéines du lactosérum représentent 15 à 28% des protéines du lait de vache et 17% des matières azotées.

Les protéines du lactosérum comme protéines d'excellente valeur nutritionnelle, riches en acides aminés soufrés, en lysine et tryptophane. Elles ont de remarquables propriétés fonctionnelles mais sont sensibles à la dénaturation thermique [22]

I.2.3.2.1 L' α -lactalbumine

L' α -lactalbumine est une protéine de 123 acides aminés comportant trois variantes génétiques (A, B, C). Métalloprotéine (elle possède un atome de calcium par mole) du type globulaire (structure tertiaire quasi sphérique). Elle présente environ 22% des protéines du sérum. [23]

I.2.3.2.2 La β -lactoglobuline

La β -lactoglobuline est la plus importante des protéines du sérum puisqu'elle en représente environ 55%. Son point isoélectrique est 5.1 la β -lactoglobuline est une protéine de 162 acides aminés comportant 7 variantes génétiques (A, B, C, D, E, F, G). Lors du chauffage la fixation d'une molécule de caséine K et d'une β -lactoglobuline se fasse également par un pont disulfure [22].

I.2.3.2.3 La 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. [24]

I.2.3.2.4 Les immunoglobulines

Ce sont des glycoprotéines de haut poids moléculaire responsable de l'immunité. On distingue trois grandes classes d'immunoglobulines : IgA, IgG, IgM. Elles sont très abondantes dans le colostrum. Les immunoglobulines sont les protéines du lactosérum les plus sensibles à la dénaturation thermique [24].

I.2.3.2.5 Protéoses-peptones

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 β . [23]

Tableau 3 : Classification des protéines [25].

Noms	%des protéines	Nombre d'AA
Caséines	70-85	/
Caséine α_{s1}	39-46	199
Caséine α_{s2}	8-11	207
Caséine	25-35	209
Caséine k	8-15	169
Caséine g	3-7	/
Protéines du lactosérum	15-22	/
β-lactoglobuline	7-12	162
α-lactalbumine	2-5	123
Sérum-albumine	0.7-1.3	582
Immunoglobulines (G1, G2, A, M)	1.9-3.3	/
Protéoses-peptones	2-4	/

I.2.4. Lactose

Le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose. Le lactose est synthétisé dans les cellules des acini à partir du glucose sanguin [26]. Celui-ci est en grande partie produit par le foie.

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache. Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait.[27]

I.2.5. Minéraux

Le lait contient des quantités importantes de différents minéraux [28]. Les principaux minéraux sont calcium, magnésium, sodium et potassium pour les cations et phosphate, chlorure et citrate pour les anions (Tableau 4).

Tableau 4 : Composition minérale du lait de vache [10].

Eléments minéraux	Concentration (mg .kg ⁻¹)
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. Vitamines

Les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. [25] L'organisme humain n'est pas capable de les synthétiser (Tableau 5).

On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (A, D, E et K).[10]

Tableau 5 : Composition vitaminique moyenne du lait cru [16].

Vitamines	Teneur moyenne
Vitamines liposolubles	
Vitamine A (+carotènes)	40µg/100ml
Vitamine D	2.4µg/100ml
Vitamine E	100µg/100ml
Vitamine K	5µg/100ml
Vitamines hydrosolubles	
Vitamine C (acide ascorbique)	2mg/100ml
Vitamine B ₁ (thiamine)	45µg/100ml
Vitamine B ₂ (riboflavine)	175µg/100ml
Vitamine B ₆ (pyridoxine)	50µg/100ml
Vitamine B ₁₂ (cyanocobalamine)	0.45µg/100ml
Niacine et niacinamide	90µg/100ml

Acide pantothénique	350µg/100ml
Acide folique	5.5µg/100ml
Vitamine H (biotine)	3.5µg/100ml

I.2.7. Enzymes

Les enzymes comme des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile (Tableau 6).

Tableau 6 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait [25]

Groupe d'enzyme	Classe d'enzyme	pH	Température (°C)	Substrats
Hydrolases	Estérases			
	Lipases	8.5	37	Triglycérides
	Phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
	Phosphatase acide	4-5.2	37	Esters phosphoriques
	Protéases			
	Lysozyme	7.5	37	Parois cellulaire microbienne
	Plasmine	8	37	Caséines
Déshydrogénases ou oxydases	Sulphydrile oxydase	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydase	8.3	37	Bases puriques
Oxygénases	Lactoperoxydase	6.8	20	Composés réducteurs +H ₂ O ₂
	Catalase	7	20	H ₂ O ₂

I.3. Les caractéristiques microbiologiques de lait

Le lait, même provenant d'une traite effectuée dans des conditions de propreté et d'hygiène normale renferme de nombreux germes dont le développement rapide est assuré par sa température à la sortie de la mamelle (35°C) ainsi que par sa richesse en eau et en glucides

Les microorganismes du lait sont répartis selon leur importance en deux grandes classes : La flore indigène ou originelle et la flore de contamination, cette dernière est subdivisée en deux classes : La flore d'altération et la flore pathogène.[29]

I.3.1. Flore originelle

Le lait contient peu de Microorganismes, lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain. Il s'agit essentiellement des germes saprophytes de pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles.[30]

I.3.2. Flore de contamination

Le lait au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine est contaminé par une grande variété de microorganismes.

Une partie seulement d'entre eux peut se multiplier dans le lait si la température est favorable et le milieu propice. Il en résulte que la nature de la flore microbienne du lait cru est à la fois complexe et variable d'un échantillon à un autre et suivant l'âge du lait. Elle se compose d'une flore d'altération et d'une flore pathogène. Les principaux micro-organismes de contamination sont Clostridium sp, Staphylococcus aureus.[31]

I.4. Propriétés physico-chimiques du lait

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique et la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité. [16]

I.4.1. Masse volumique

La masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. Elle est habituellement notée ρ et s'exprime en Kg.m^{-3} dans le système métrique [31].

$$\rho = \frac{m}{v}$$

Comme la masse volumique de l'eau à 4°C est pratiquement égale à 1000Kg.m^{-3} , la densité du lait à 20°C par rapport à l'eau à 4°C est d'environ 1.030 (d20/4). Il convient de signaler que le terme anglais « Density » prête à confusion puisqu'il désigne la masse volumique et non la densité [32].

I.4.2. Point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau pure puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Cette propriété physique est mesurée pour déterminer s'il y a addition d'eau au lait [33].

Sa valeur moyenne se situe entre - 0.54 et - 0.55°C, celle-ci est également la température de congélation du sérum sanguin. On constate de légères fluctuations dues aux saisons, à la race de la vache, à la région de production. On a par exemple signalé des variations normales de - 0.530 à - 0.575°C. Le mouillage élève le point de congélation vers 0°C, puisque le nombre de molécules, autres que celles d'eau, et d'ions par litre diminue.

D'une manière générale tous les traitements du lait ou les modifications de sa composition qui font varier leurs quantités entraînent un changement du point de congélation. [27]

I.4.3. Point d'ébullition

Le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C. [16]

I.4.4. Acidité du lait

L'acidité du lait résulte de l'acidité naturelle, due à la caséine, aux groupes phosphate, au dioxyde de carbone et aux acides organiques et de l'acidité développée, due à l'acide lactique formé dans la fermentation lactique.

L'acidité titrable du lait est déterminée par dosage par une solution d'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine. Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic (°D). 1°D = 0.1g d'acide lactique par litre de lait.

Un lait cru au ramassage doit avoir une acidité ≤ 21 °D. Un lait dont l'acidité est ≥ 27 °D coagule au chauffage ; un lait dont l'acidité est ≥ 70 °D coagule à froid. [20]

I.4.5. PH

Le pH du lait normal de vache est de l'ordre de 6.7, le milieu aqueux contient plus d'ions (H₃O⁺) que des ions de (OH⁻).

Cette valeur est due en grande partie au groupement basique ionisable et acide dissociable des protéines.

I.5. Qualité organoleptique du lait

L'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisées qu'en comparaison avec un lait frais. [34]

I.5.1. La couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait). [35]

Le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche.[36]

I.5.2. L'odeur :

L'odeur est une caractéristique du lait, du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette). [37]

I.5.3. La saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est en parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire. [38]

I.5.4. La viscosité

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques. [39]

La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur. Ainsi, un consommateur d'Europe centrale évalue de manière très positive le lait concentré à forte consistance (filandreux). Il associe la teneur élevée des composants du lait à la viscosité élevée.

I.6. LES LAITS COMMERCIALISÉS

Le terme “Laits de consommation” désigne les différentes catégories de laits vendus à l'état liquide. Ces laits sont présentés obligatoirement en emballages fermés jusqu'à la remise au consommateur.[40]

Les laits de consommation sont des laits destinés à être consommés en l'état.[9]

L'évolution des processus technologiques, des techniques de conservation et de distribution a permis l'élaboration d'une large gamme de lait de consommation qui se distinguent par leur composition, leur qualité nutritionnelle et organoleptique et leur durée de conservation. [10]

I.6.1. Lait pasteurisé

La pasteurisation a pour objectif la destruction de toutes les formes végétatives des micro-organismes pathogènes du lait sans altérer la qualité chimique, physique et organoleptique de ce dernier. [41]

Le lait pasteurisé, fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore (jusqu'à 98 %) contenue dans le lait (notamment tous les germes pathogènes non sporulés, tels que les germes de la tuberculose et de la brucellose).[42]

On distingue trois types de traitements [11] :

- **Pasteurisation basse** (62-65°C/30min) : elle n'est réalisable qu'en batch et est abandonnée en laiterie.
- **Pasteurisation haute** (71-72°C/15-40s) ou HTST (high température short time) : elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets. Au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite par contre la peroxydase reste active et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles. La date limite de consommation (DLC)

des laits ayant subi une pasteurisation haute est 7 jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium).

- **Flash pasteurisation** (85-90°C/1-2s) : elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne ; la phosphatase et la peroxydase sont détruites.

I.6.2. Lait stérilisé

Selon le procédé de stérilisation, on distingue le lait stérilisé et le lait stérilisé UHT. Ces laits doivent être stables jusqu'à la date limite de consommation. [43]

- **Lait stérilisé** : C'est un lait conditionné- stérilisé après conditionnement dans un récipient hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes par la chaleur, laquelle doit détruire les enzymes les microorganismes pathogènes. La stérilisation est réalisée à une température de 100 -120°C pendant une vingtaine de minutes.

- **Lait stérilisé UHT** : C'est un lait traité par la chaleur, qui doit détruire les enzymes, les microorganismes pathogènes, et conditionné ensuite aseptiquement dans un récipient stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes.

Le traitement thermique peut être soit direct (injection de vapeur d'eau), soit indirect. Il est réalisé à 135-150°C pendant 2.5 secondes environ. [43]

I.6.3. Lait concentré sucré

Lait concentré c'est le produit provenant de la concentration du lait propre à la consommation. La concentration du lait peut se faire avec ou sans addition de sucre.

La stabilité du lait peut être assurée par réduction de l'activité de l'eau (a_w). On y parvient par élimination partielle de l'eau et ajout de sucre. Le principe consiste à effectuer une évaporation sous vide afin d'abaisser la température d'ébullition. L'évaporation s'effectue dans des évaporateurs tubulaires ou à plaques. L'addition de saccharose assure la conservation du produit sans étape de stérilisation en limitant le développement des micro-organismes par abaissement de l' a_w . [10]

Leur teneur en eau est de 24% environ, les constituants ont une concentration proche du triple de celle du lait, la teneur en saccharose atteint plus de 40%. [35]

I.6.4. Lait aromatisé

Cette dénomination est réservée aux boissons stérilisées préparées à l'avance, constituées exclusivement de lait écrémé ou non, sucré ou non, additionné des colorants généralement

autorisés et de substances aromatiques naturelles qui peuvent être renforcées artificiellement : abricot, ananas, fraise, prune, cerise, framboise. [9]

Les laits aromatisés peuvent avoir subi l'addition d'agar-agar, alginates, carraghénanes et pectines comme stabilisants. Les laits aromatisés sont généralement obtenus par stérilisation en récipients ou par stérilisation UHT. [11]

Ce sont tous des laits stérilisés auxquels on a ajouté des arômes autorisés (notamment cacao, vanille, fraise). [44]

I.6.5. Lait fermenté

La dénomination lait fermenté est réservée au produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre écrémés ou non sous forme liquide, concentré ou en poudre. Ils pourront être enrichis avec des constituants tels que la poudre de lait ou les protéines de lait. Le lait subit alors un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation et estensemencé avec des micro-organismes caractéristiques de chaque produit. La coagulation des laits fermentés ne doit pas être obtenue par d'autres moyens que ceux qui résultent de l'activité des micro-organismes qui sont pour la plupart du probiotique c'est-à-dire bénéfique pour la santé. [15]

I.6.6. Lait en poudre

La production de lait condensé avait débuté dans les années 1860, celle de lait en poudre commença plus tardivement (Industrie laitière). Les essais de dessiccation de lait entier, demi-écrémé ou écrémé entrepris dans la seconde moitié du XIXe. Avaient donné des produits insatisfaisants à la réhydratation [44]. C'est au début du XXe. Que l'on mit au point des procédés aptes à un usage industriel, dont les plus importants restent aujourd'hui encore l'atomisation et le séchage sur cylindres chauffants, qui réduisent la teneur en eau du lait de 88% à 2-4% (Tableau 7).

Selon la loi sur les aliments et drogues du Canada, les poudres de lait sont des produits résultants de l'enlèvement partiel de l'eau du lait. On répartit les poudres en trois groupes : La poudre de lait entier, la poudre de lait partiellement écrémé et la poudre de lait écrémé. [45]

Tableau 7 : Composition des laits en poudre (en %) [45].

Composant	Lait en poudre entier	Lait en poudre partiellement écrémé	Lait en poudre écrémé
Matière grasse laitière			
Minimum	26	>1.5	
Maximum	<40	<26	1.5
Eau maximum	5	5	5

I.6.7. Le lait reconstitué et recombinaison

- **La recombinaison** : l'opération de recombinaison consiste à mélanger dans une eau convenable les différents composants du lait pour réaliser un produit le plus voisin possible du lait initial. Les trois composants essentiels sont l'eau, la poudre de lait écrémé spray et la matière grasse laitière anhydre. Dans certains cas quelques adjuvants complémentaires sont utilisés. [46]
- **La reconstitution** : la reconstitution est l'opération qui consiste à diluer dans une eau convenable une poudre spray grasse, elle peut aussi correspondre à reconstituer un lait écrémé. [46]

LE JOURNALE OFFICIELE DE LA RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE (1993) a donné les définitions du lait reconstitué et du lait recombinaison comme suit :

Le lait reconstitué est dit :

- Écrémé, en cas d'utilisation de lait en poudre écrémé extra grade c'est à dire tirant moins de 1,25 % de matières grasses.
- Entier, en cas d'utilisation de lait en poudre tirant au moins 26% de matières grasses.
- Le lait recombinaison est obtenu par mélange d'eau, de matière grasse et de lait en poudre écrémé extra grade titrant moins de 1.25 de matière grasse.

I.7. Les coagulants du lait

I.7.1. Coagulation

La coagulation correspond à une modification physico-chimique des micelles de caséines sous l'action protéolytique et/ou d'acide lactique. Celle-ci entraîne la formation d'un réseau protéique tridimensionnel appelé : coagulum ou gel.

Les mécanismes proposés dans la formation du coagulum diffèrent totalement suivant ces modifications sont induites par acidification ou par action d'enzymes coagulantes ou encore par l'action combiné des deux. [47]

I.7.2. L'origine des coagulants



Coagulant d'origine animale :

L'extrait de caillette des mammifères contient des protéases gastriques responsables de la digestion des aliments. Elles sont classées en 4 groupes selon leurs propriétés enzymatiques et immunochimiques : la pepsine A (EC 3.4.23.1), la pepsine B (EC 3.4.23.2), la pepsine C ou gastricine (EC 3.4.23.3) et la chymosine (EC 3.4.23.4). La pepsine A et la pepsine B sont dominantes et caractérisent la sécrétion stomacale du mammifère adulte, tandis que la chymosine est dominante chez les animaux non sevrés. [48] ;[49]

➤ **La pepsine** : La pepsine a un caractère plus acide que la chymosine avec un optimum compris entre pH 1,5 et 2. Elle reste stable, et toujours très active, lorsque le pH descend à 1,0. L'activité chute rapidement au-dessus de pH 6,3 et devient irréversiblement inactive à un pH d'environ 7. [50]

➤ **La chymosine** : La chymosine (EC 3.4.23.4), est une enzyme néonatale possédant une forte activité coagulante. Elle clive spécifiquement la caséine κ (Phe105-Met106) provoquant la coagulation du lait dans l'estomac des pré-ruminants.[50]

La chymosine est une protéine globulaire constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 323 acides aminés (35,6 kDa) [50]. L'activité optimale de la chymosine bovine a lieu à pH 5,5 et à une température de 42°C. De ce fait, en fromagerie, les conditions de milieu son ajustées à des valeurs plus au moins éloignées de ces optimums (entre 30 et 35°C) de manière à moduler leur temps de coagulation tout en maintenant le milieu viable pour la flore lactique [51].



Coagulants d'origine végétaux :

Ont été utilisés pendant des siècles dans la fabrication artisanale de fromages ovins et/ou caprins, principalement au Portugal, dans les régions frontalières de l'Espagne et les pays d'Afrique de l'Ouest [52] On retrouve la papaine (feuilles de papaye), la broméline (tige de l'ananas) et la ficine (suc du figuier) [53]. Ces protéases sont caractérisées par une activité coagulante assez forte mais leur utilisation industrielle est limitée par leur fort pouvoir protéolytique.[54]

✚ **Coagulants microbiens :**

Beaucoup de protéases extracellulaires d'origine microbienne agissent de façon similaire que la chymosine et sont, en partie, adaptées à la production de fromage [54]. Ces coagulants peuvent être facilement produits par fermentation. Toutefois, ils montrent une forte activité protéolytique pendant la fabrication du fromage, ce qui peut entraîner une perte de protéines, un rendement plus faible, et la génération d'une saveur désagréable. [55]

La grande stabilité thermique a été l'inconvénient majeur de la première génération des protéases fongiques

I.7.3. Les différents types de coagulation

✚ **Coagulation par la voie acide**

La coagulation par voie acide consiste à précipiter les caséines à leur point isoélectrique (pHi=4.6) par acidification du lait :

- Acidification biologique par des ferments lactiques qui transforment le lactose en acide lactique.
- Acidification chimique par injection de CO₂ ou addition de gluconodelta lactone (GDL). [56]
- Par ajout de protéines sériques à pH acide.

Le gel formé présente une perméabilité satisfaisante, mais une friabilité élevée avec une élasticité et plasticité pratiquement nulles dues au manque de structuration du réseau.

Les liaisons sont de faibles énergies de type hydrophobe et résistent peu aux traitements mécaniques. [55]

✚ **Coagulation par la voie enzymatique**

Un grand nombre d'enzymes protéolytiques, d'origine animale, végétale ou microbienne ont la propriété de coaguler le lait [57].

La coagulation enzymatique est due à l'action de la présure qui est une enzyme protéolytique provenant de caillottes de veaux non sevrés. Cette enzyme correspond en réalité à deux fractions actives : la chymosine et la pepsine. On distingue trois phases : (voir Annexe 01)

- Coagulation par hydrolyse de la caséine κ au niveau de la liaison phénylalanine (105) et méthionine (106) ce qui provoque la libération de la caséine- macro-peptide hydrophile assurant la stabilité de la micelle (figure 03)

- Hydrolyse de la caséine κ (80 à 90 %) a pH = 6,6. Des liaisons hydrophobes et électrostatiques s'établissent entre les micelles modifiées et vont entraîner la formation du gel.
- Réorganisation des liaisons entre les para-caséines des micelles de caséines par la mise en place de liaisons phosphocalciques et peut être des ponts disulfures forme le coagulum.[58]

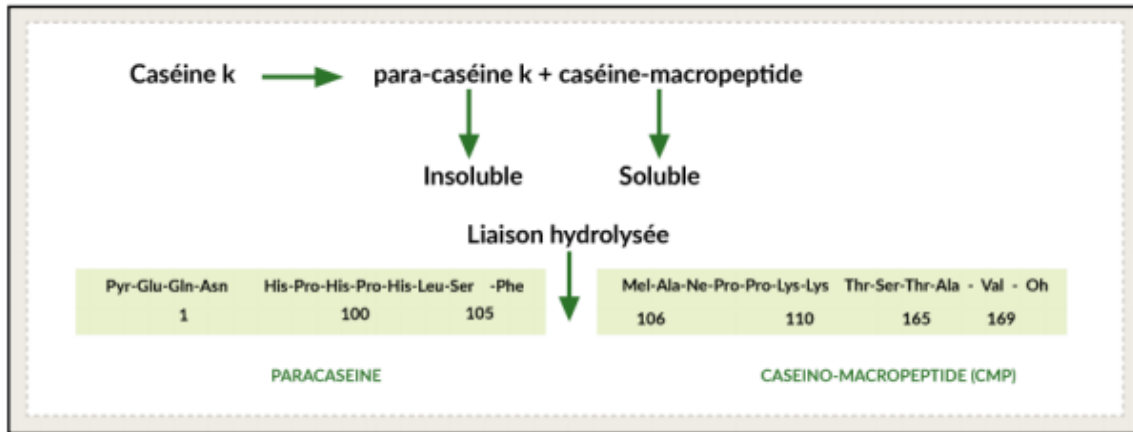


Figure 3: Hydrolyse de la caséine κ par la présure

✚ Coagulation par la voie mixte

Résulte de l'action conjuguée de la présure et de l'acidification. La combinaison conduisant à différents états d'équilibre spécifique est à l'origine de la grande diversité des fromages. Les propriétés des gels formés et leur aptitude à l'égouttage sont intermédiaires entre celles du coagulum obtenu par voie enzymatique et celle obtenue par voie acide.[59]

Introduction

Les bactéries lactiques, sont largement utilisées en industrie laitière ; pour la préparation des produits laitiers, dont les laits fermentés, les yaourts et les fromages. Elles contribuent à la texture, à la saveur de ces derniers, par la production des exopolysaccharides et des composés aromatiques. Ces bactéries inhibent prolifération des microorganismes pathogènes et d'altération des aliments par l'abaissement du pH, en produisant de l'acide lactique et la sécrétion des molécules bioactives tels que les arômes et bactériocines.

II. Bactéries lactiques

II.1 Définition

Les bactéries lactiques sont en général des micro-organismes Gram positif, immobiles, asporulés, anaérobies ou aérobies, dépourvus de cytochrome oxydase, de catalase et de nitrate-réductase. Cependant, certaines souches sont pseudo catalases.[60]

Leur forme peut être coccoïde, coccobacillaire, ou bacillaire .Elle sont généralement mésophiles avec une température optimum de croissance entre 20°C et 30°C ou thermophiles entre 30°C et 45°C. La majorité de souches se développent à pH 4,0 et 5 Certaines sont en activité à pH 9,6 et d'autres à pH 3,2.[61]

Sur la base des caractéristiques fermentaire, Les bactéries lactiques sont homofermentaires ou hétérofermentaires. [62] Dans le premier cas seul l'acide lactique est produit, dans le second, en plus de l'acide lactique sont produits de l'acide acétique, de l'éthanol, du dioxyde de carbone et de l'acide formique. [63]

II.2 Habitat

Les bactéries lactiques ont pour habitat de nombreux milieux naturels. Elles colonisent de nombreux produits alimentaires comme les produits laitiers, la viande, les végétaux et les céréales, elles font partie de la flore intestinale et vaginale humaine et animal ; mais certaines espèces semblent s'adapter à un environnement spécifique et ne sont guère trouvées ailleurs que dans leurs habitats naturels [64].

II.3 Taxonomie et classification

La taxonomie des bactéries lactiques ne cesse d'évoluer depuis leur description par **Orla Jensen** en 1919, ou il a décrit une première classification selon le métabolisme fermentaire des carbohydrates, ce qui a permis de les classer en deux groupes selon le type de la fermentation lactique [65] : Le groupe homofermentaire, et hétérofermentaire.[66]

Cependant, la caractérisation phénotypique et biochimique classique demeure pratique dans l'identification préliminaire, de ce fait, et selon la morphologie cellulaire, les bactéries lactiques peuvent être divisées arbitrairement en bacilles (Forme en bâtonnet : *Lactobacillus* et *Carnobacterium*) et coques (forme en cocci : *Lactococcus*, *Streptococcus* ...etc.). [67]

Les bactéries lactiques regroupent, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactobacoccus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *vagococcus* et *Bifidobacterium* [69]. Le tableau 8 donne les différents genres des bactéries lactiques d'intérêt en microbiologie des aliments et leurs principales caractéristiques.

Tableau 8: Différents genres des bactéries lactiques.[68]

Genre	Morphologie	Fermentation	Caractéristiques principales	Habitats principaux
<i>Lactobacillus</i>	Bacilles	Homofermentaire ou hétérofermentaire	Thermophilus ou Mésophiles	Homme, produits laitiers, carnés, végétaux
<i>Carnobacterium</i>	Bacilles	Hétérofermentaire	Psychotropes, peu acidotolérants	Produits carnés, poissons, produits laitiers
<i>Lactococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Mésophiles, croissance à 10°C et non à 45°C	Produits laitiers, végétaux
<i>Streptococcus</i>	Coques	Homofermentaires	Thermophiles	Produits laitiers
<i>Enterococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles, croissance à 45°C et non à 10°C, thermorésistante	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitiers
<i>Pediococcus</i>	Coque	Homofermentaires	Mésophiles halotolérants	Bière, produits végétaux, saucissons
<i>Tetragenococcus</i>	Coque en tétrades	Homofermentaires	Mésophiles halophiles	Saumures
<i>Leuconostoc</i>	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles	Produits végétaux, produits lait
<i>Oenococcus</i>	Coques	Hétérofermentaire	Mésophiles	Vin
<i>Bifidobacterium</i>	Forme irrégulière	Acide acétique et lactique	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux
<i>Vagococcus</i>	Coque mobiles	Homofermentaire	Mésophiles	Intestin de l'homme et des animaux, produits laitier

II.4 Le métabolisme chez les bactéries lactiques

✚ Métabolisme glucidique

Les bactéries lactiques sont des bactéries qui ne possèdent pas de cytochrome, elles sont incapables d'effectuer un métabolisme respiratoire et s'en remettent entièrement à la fermentation. Les *Lactococcus* sont des bactéries ayant un métabolisme homofermentaire et qui produisent leur énergie métabolique par phosphorylation au niveau du substrat pendant la fermentation des glucides.[69]

Cependant, *Lactococcus lactis* est capable d'effectuer une respiration sur un milieu riche en hème en aérobiose et d'utiliser l'oxygène comme accepteur final d'électrons. Le gène du cytochrome oxydase a été isolé, séquencé chez *Lactococcus lactis*. [70]

Les bactéries lactiques sont également des cellules hétérotrophes et possédantes des besoins nutritionnels particulièrement complexes car en plus des hydrates de carbones, les souches lactiques exigent plusieurs acides aminés, peptides, vitamines et les précurseurs des bases azotées.[71]

• Principales voies fermentaires

- **La voie homofermentaire** utilise la glycolyse dans sa totalité, du glucose au pyruvate puis lactate. En condition optimale de croissance, cette voie produit deux molécules de lactate et deux molécules d'ATP par molécule de glucose consommée. Pour être qualifiée d'**homolactique**, cette voie doit convertir au moins 90 % du glucose consommé en lactate. Mais dans des conditions de croissance non optimales (milieu appauvri, sur certains sucres, avec des souches mutées...), les bactéries lactiques homofermentaires peuvent présenter un *métabolisme mixte*, caractérisé par la production d'acide lactique, d'acide acétique, d'éthanol et d'acide formique et/ou de CO₂. La voie homofermentaire est généralement associée aux bactéries des genres *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Lactobacillus*. [72]

- **La voie hétérofermentaire** produit outre l'acide lactique, des quantités significatives de CO₂ et d'éthanol ou d'acétate. La dégradation d'une molécule de glucose conduit à la formation d'une molécule de lactate, une molécule d'éthanol (CH₃CH₂OH), d'un CO₂ et d'un ATP. Une enzyme spécifique de cette voie (la D-xylulose-5-phosphate phosphocétolase) catalyse la dissociation du xylulose-5-phosphate en acétyl-P et glycéraldéhyde-3-phosphate. L'acétyl-P est converti ensuite soit en éthanol soit en acétate selon les besoins en ATP ou NAD⁺. Le glycéraldéhyde-3-phosphate rejoint la glycolyse pour être converti en lactate. En général, les sucres à 5 atomes de carbones (ou pentoses) ne peuvent être métabolisés que par

cette voie. Certaines bactéries *Leuconostoc* et *Lactobacillus* empruntent cette voie hétérofermentaire.

La voie fermentaire bifide (ou voie de la fructose-6-P phosphocétolase FPC) est la voie empruntée par les bactéries du genre *Bifidobacterium*. Pour une molécule d'hexose consommée, cette voie produit 1,5 molécule d'acétate et 2,5 molécules d'ATP.

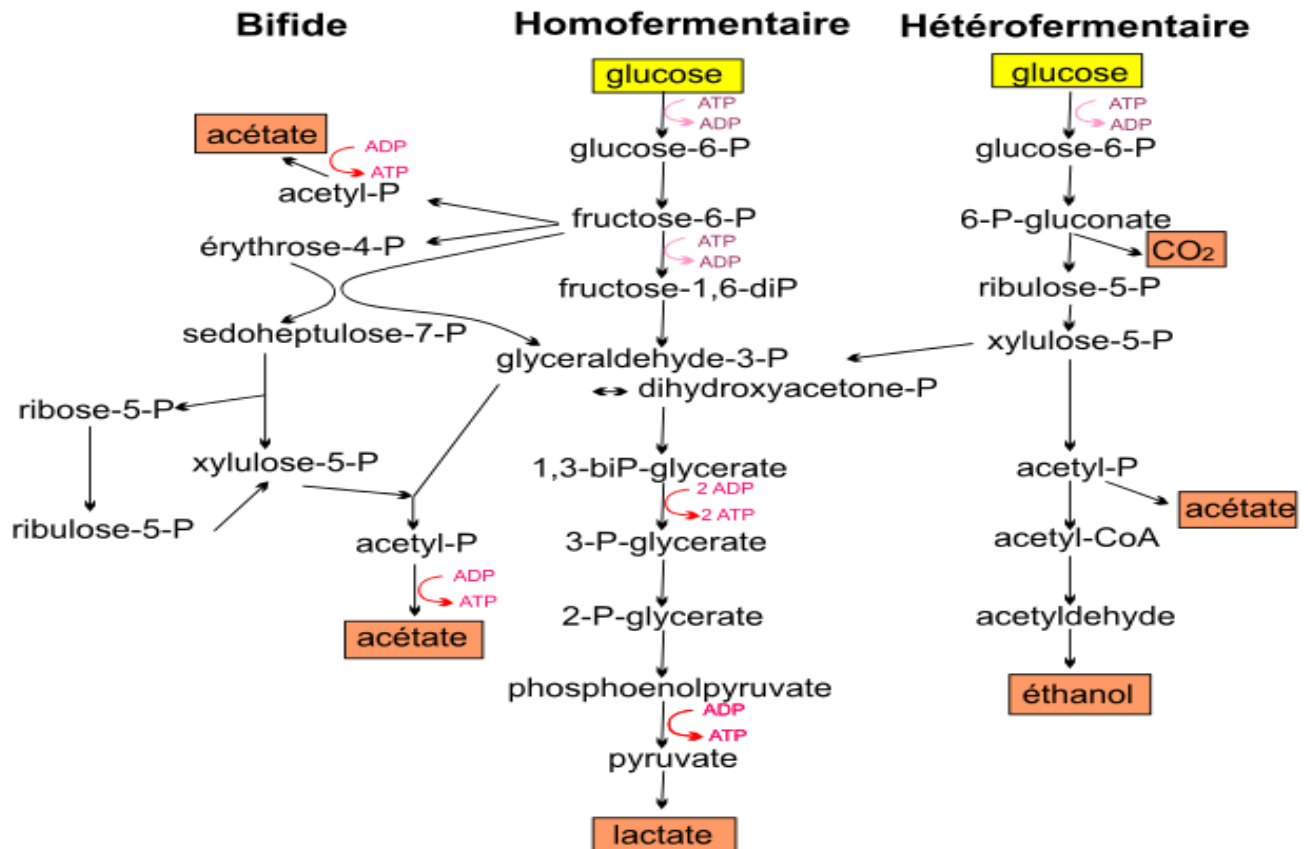


Figure 4 : Schéma illustrant les principales voies fermentaires [73].

✚ Métabolisme azoté

La protéolyse est sans aucun doute le processus biochimique le plus important chez les bactéries lactiques, celle-ci confère aux aliments fermentés leur saveur et leur texture. La dégradation des caséines par les protéinases et les peptidases de la membrane cellulaire conduit à l'accumulation des petits peptides et des acides aminés libres. La conversion des acides aminés en alcools, aldéhydes, acides et des composés esters peut jouer un rôle aussi dans le développement des saveurs spécifiques.[74]

Trois grandes étapes peuvent être distinguées dans le processus de nutrition azotée : la protéolyse extracellulaire, le transport des acides aminés et des peptides dans la bactérie et la protéolyse intracellulaire. Les acides aminés présents dans le cytoplasme après transport et protéolyse vont être utilisés tels quels pour la synthèse protéique, où vont être catabolisés. Ce catabolisme va soit fournir de l'énergie à la bactérie soit aboutir dans certains cas, à la formation de molécules aromatiques (aldéhydes, acides, alcools) [75].

La figure 5, illustre bien le fonctionnement du système protéolytique chez le genre lactique *Lactococcus lactis*.

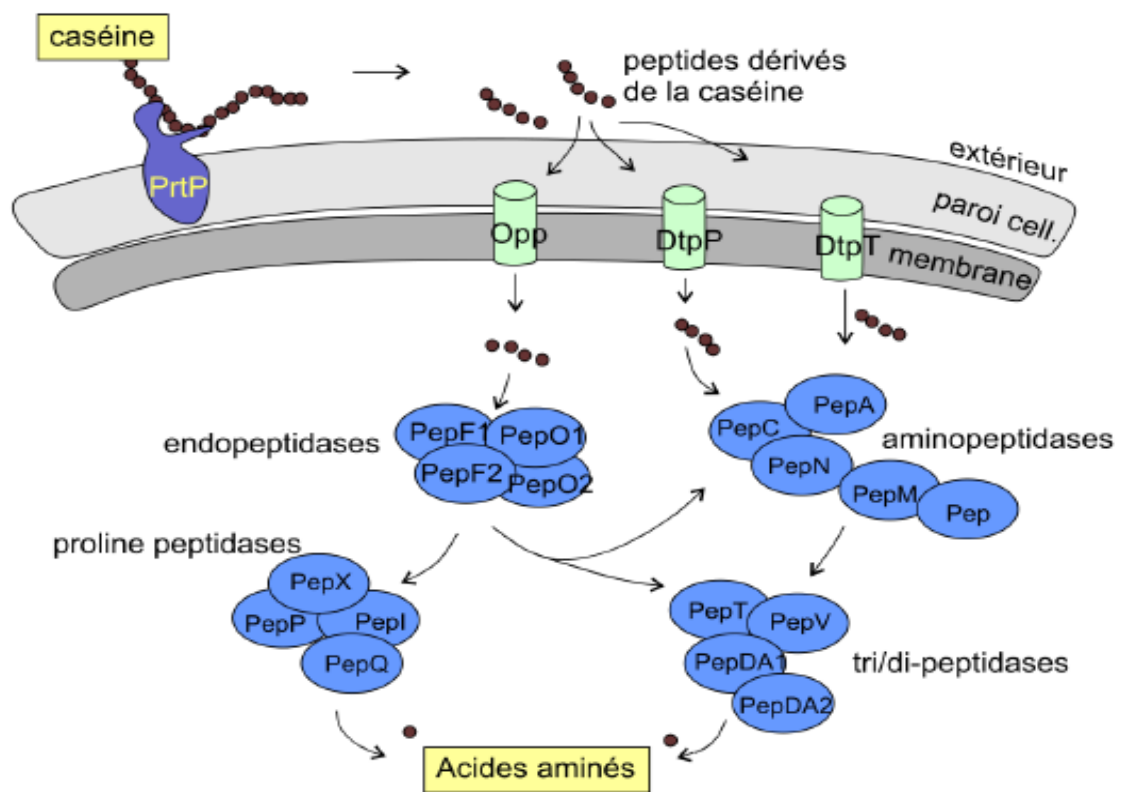


Figure 5 : Représentation schématique du système protéolytique de *Lactococcus lactis*. [75]

✚ Métabolisme lipidique

Les bactéries lactiques (LAB) sont considérées comme faiblement lipolytiques par rapport aux autres bactéries telles que *Pseudomonas*, *Bacillus* et *Achromobacter* [76]. Les BL peuvent effectuer des réactions de transformation d'acides gras comprenant l'isomérisation, l'hydratation, la déshydratation et la saturation. Des activités d'hydrolyse d'esters ont été mesurées chez ce groupe de bactéries. L'estérase de *Lactococcus lactis* est capable d'hydrolyser

la matière grasse du lait une fois que celle-ci a été pré-hydrolysée par d'autres lipases ou estérases [77]. Les estérases provenant des bactéries lactiques peuvent être impliquées dans le développement d'arômes fruités dans les aliments.[75]

✚ Métabolisme du citrate

Dans les produits laitiers fermentés, l'acide citrique est considéré comme étant le principal précurseur de la formation des composés aromatiques tels que l'acétate, l'acétoïne et le diacétyle. Le citrate est transporté à l'intérieur de la cellule grâce à une citrate perméase, puis scindé en acétate et oxaloacétate grâce à une citrate lyase. L'oxaloacétate est décarboxylé par la suite en pyruvate. Le flux du pyruvate provenant du métabolisme est principalement transformé en lactate via le lactate déshydrogénase afin de réoxyder le NADH₂ produit lors du catabolisme du glucose comme cela est montré dans la figure 6 [75].

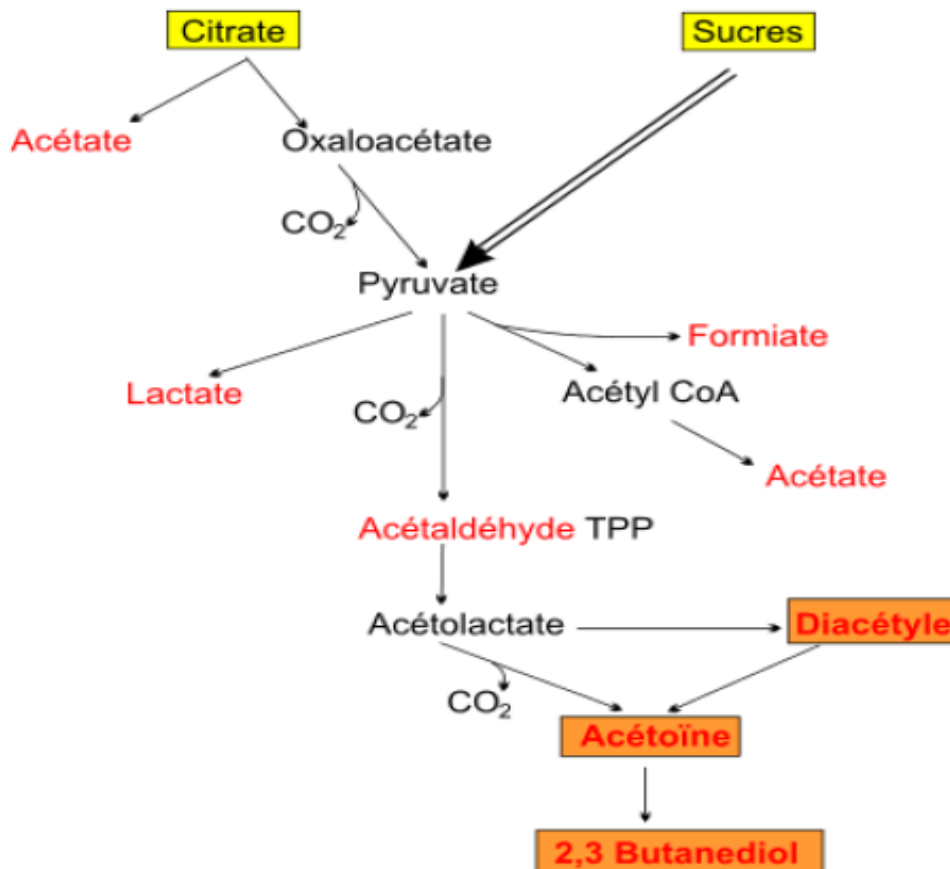


Figure 6: Principales étapes du métabolisme du citrate par les bactéries lactiques.[73]

II.5 Aptitudes technologiques

II.5.1 Aptitude acidifiante

La fonction acidifiante constitue la propriété métabolique la plus recherchée des bactéries lactiques utilisées dans les industries alimentaires. Elle se manifeste par la production de l'acide lactique à partir de la fermentation des hydrates de carbone au cours de la croissance bactérienne. [78].

Les conséquences d'ordre physico-chimique et microbiologique, peuvent se résumer ainsi par :

- Accumulation d'acide lactique participant à la saveur des aliments fermentés.
- Abaissement progressif du pH des milieux de culture et des matrices alimentaires.
- Limitation des risques de développement : de caséines, coagulation des laits et participation à la synérèse.[79]

Certains microorganismes, grâce à la B-galactosidase, hydrolysent le lactose du lait pour produire deux nouveaux sucres : le glucose et le galactose. Les bactéries lactiques font partie de ce groupe. Généralement, le glucose provenant de cette hydrolyse sera fermenté pour produire des composés acides, du CO₂ dans certains cas ou de l'alcool. Cette production de composés acides va amener un abaissement du pH du produit se caractérisant par des odeurs et goûts surs, pouvant aller jusqu'à la coagulation si on atteint le point isoélectrique de 4,6.[80]

II.5.2 Aptitude protéolytique

La protéolyse est considérée comme étant l'événement biochimique le plus important durant la maturation fromagère. Les enzymes impliquées dans la dégradation des caséines du lait durant la maturation incluent la présure, les protéases indigènes du lait (la plasmines) et les enzymes du ferment et de la flore secondaire. [81]

L'incapacité des bactéries lactiques à synthétiser les acides aminés nécessaires à la synthèse protéique nécessite un fonctionnement actif de leur système protéolytique dans les environnements où les protéines constituent la principale source d'azote. [82]

Le système protéolytique des bactéries lactiques est composé de protéases associées à la paroi cellulaire, qui catalysent l'hydrolyse de protéines en peptides contenant de 7 à 16 résidus aminés [83]. Ces peptides sont ensuite dégradés par des endopeptidases ou exopeptidases en unités transportables d'acides aminés et de petits peptides.[84]

Au cours de leurs activités métaboliques, certains micro-organismes, grâce à l'action de leurs protéases, utilisent les protéines du lait. Ce phénomène produit la libération de sous-produits très variés, dont des peptides à longue chaîne ou courte chaîne, des acides aminés et

des dérivés d'acides aminés. Lors de l'affinage des fromages, la protéolyse joue un rôle primordial dans l'obtention d'une texture caractéristique et de saveurs désirées pour les divers types de fromage.[85]

II.5.3 Aptitude lipolytique

Les propriétés lipolytiques sont généralement faibles chez les bactéries lactiques. Les lactocoques sont considérés comme plus lipolytiques que *St. thermophilus* et les lactobacilles thermophiles. Les bactéries lactiques peuvent cependant présenter un intérêt pour certaines applications fromagères. [79]

Certains micro-organismes, grâce à leurs lipases, peuvent décomposer les matières grasses et les acides gras libres du lait, entraînant l'apparition d'odeurs rances dans le produit laitiers. Les produits laitiers à haute teneur en matières grasses sont plus sensibles à la dégradation par les micro-organismes lipolytiques.[80]

II.5.4 Aptitude aromatisante

Les bactéries lactiques sont capables de produire de nombreux composés aromatiques tels que : l'acétolactate, l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétoïne et 2,3-butanediol, l'éthanol, l'acétate, le formiate,... principalement à partir du lactose, du citrate, des acides aminés et des matières grasses. Cette fonctionnalité est particulièrement importante lors de l'élaboration des laits fermentés, des fromages frais, crèmes et beurre, dont l'arôme principal est lié à cette activité microbienne. [86]

II.5.5 Aptitude texturante

La capacité des bactéries lactiques à synthétiser des exopolysaccharides (EPS) joue un rôle important pour la consistance et la rhéologie des produits transformés. Les *Lb. delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* et *St. thermophilus* produisant des EPS sont utilisés dans la fabrication des yaourts, ceci afin d'améliorer la texture, éviter la synérèse et augmenter la viscosité des produits finis. L'utilisation des EPS produits par les souches *Lc. Lactis* ssp. *cremoris* est très prometteuse pour la structure et la viscosité des produits laitiers fermentés.[87]

II.5.6 Activité antimicrobienne

Les bactéries lactiques produisent une variété de composés antimicrobiens qui sont utilisés dans la fermentation et la bioconservation des aliments.[88]

Les acides organiques, comme l'acide lactique, l'acide acétique ou l'acide propionique, élaborés lors de la fermentation des glucides, peuvent inhiber des levures, des moisissures et des bactéries. Le peroxyde d'hydrogène produit par les bactéries lactiques s'accumule dans

l'environnement et peut inhiber certains microorganismes. Les bactéries lactiques hétérofermentaires synthétisent du dioxyde de carbone comme métabolite secondaire. Son accumulation dans le milieu extérieur crée une anaérobiose qui s'avère toxique pour certains microorganismes aérobies présents dans l'aliment. Le diacétyl peut inhiber la croissance des bactéries à Gram négatif, des levures et moisissures.[89]

Les bactériocines produites par les bactéries lactiques sont des substances antimicrobiennes de poids moléculaire variable. Elles ont une activité inhibitrice dirigée contre les bactéries proches de la souche productrice et leur spectre d'action est généralement étroit.

Les plus connues sont : la nisine, la diplococcine, l'acidophiline et la bulgaricane. [90]. La plupart des bactériocines produites par les bactéries lactiques partagent le même mode d'action, basé sur la formation de pores dans la membrane de la bactérie cible.

II.5.7 Aptitude autolytique

Le phénomène d'autolyse a été observé chez beaucoup de bactéries Gram négatives et positives. [91]

Il arrive généralement dans des conditions qui aboutissent à la cessation de la synthèse de peptidoglycane, par exemples la famine de nourriture. L'autolyse bactérienne spontanée ou induite, résulte de la dégradation enzymatique du constituant majeur de la paroi cellulaire, le peptidoglycane par des peptidoglycanes hydrolases endogènes nommées « autolysines ». Les autolysines sont définies comme des enzymes bactériennes endogènes capables d'hydrolyser le peptidoglycane. Dans le cas des bactéries lactiques utilisées dans la fabrication des produits laitiers fermentés, l'autolyse des cellules, en permettant de libérer leur contenu enzymatique intracytoplasmique, apparaît comme un moyen d'obtenir un développement plus rapide des qualités organoleptiques, une intensification de certains arômes. [92]

II.5.8 Aptitude probiotique

Certaines bactéries lactiques spécifiques sont utilisées comme probiotique c'est-à-dire des microorganismes vivants dont l'application à l'homme ou à l'animal, exercent un effet bénéfique sur ce dernier par amélioration des propriétés de la flore intestinale. Les espèces couramment utilisées sont *Lb. acidophilus*, *Lb. casei*, *Lb. johnsonii*, *Lb. reuteri*, *Lb. delbruecki* ssp. *Bulgaricus*. [93]

Introduction

Les ferments lactiques sont ajoutés au lait pour démarrer le procédé de fermentation. Ils sont employés pour la production d'une grande gamme de produits laitiers comme le fromage, le yaourt, le lait fermenté, le beurre et la crème [88]. Puisque la flore lactique originale du lait est soit inefficace, incontrôlable, imprévisible, ou bien détruite sous l'effet de traitements thermiques auxquels le lait est soumis, les ferments lactiques ajoutés au lait, suite à l'étape de pasteurisation, assurent une fermentation plus contrôlée et plus prévisible. [91]

Les adjonctions de ferments sont des cultures choisies pour des buts autres que la formation d'acide, qui est une tâche exclusivement réservée aux cultures starters primaires [93]. Les adjonctions de ferments peuvent être employées en tant que cultures de maturation (i.e. pour accélérer la maturation ou produire des saveurs souhaitables), ou elles peuvent également contribuer à la sûreté microbienne ou pour offrir d'autres effets bénéfiques pour la santé. La forme non-starter des ferments est largement utilisée au cours de la maturation de la plupart des variétés de fromages pendant la maturation des fromages. [91]

III. Les ferments lactiques

III.1. Définition

Un ferment est une préparation microbienne d'un grand nombre de cellules, d'un seul microorganisme ou plusieurs, ajoutée à une matière première pour produire un aliment fermenté en accélérant et en orientant son procédé de fermentation. [94]

Le groupe des bactéries lactiques occupe un rôle important dans ces processus et une longue histoire d'application. Actuellement, on définit les levains ou ferments lactiques comme étant des cultures pures ou des mélanges de bactéries lactiques sélectionnées et utilisées pour la fabrication de produits fermentés comme les yaourts, et les fromages. [94]

III.2. Types de ferments lactiques

Les ferments peuvent être classés sur la base de leur fonction, leur température de croissance, ou leur composition. Avant l'arrivée de la biotechnologie moderne, des ferments artisanaux étaient utilisés. Bien qu'ils soient encore en usage, leur instabilité

microbiologique a favorisé l'évolution de production de mélanges de bactéries lactiques prédéfinies afin d'obtenir une activité et une qualité d'acidification plus stables dans les produits finaux [95]. Cependant, les ferments artisanaux représentent des sources potentielles de nouvelles souches de bactéries lactiques à intérêt commercial. Aujourd'hui, des cultures mono- ou multi- souches bien définies sont intensivement utilisées autour du monde pour produire des produits laitiers variés [96]. Ces cultures sont commercialisées sous forme de cellules concentrées congelées ou lyophilisées pour être directement introduites dans les cuves de fermentation (inoculation).

On distingue donc deux catégories principales de ferments: les ferments artisanaux utilisés dans les procédés traditionnels et les ferments commerciaux utilisés dans les procédés modernes:

III.2.1 Ferments artisanaux

Tous les ferments disponibles actuellement sont dérivés des starters artisanaux de composition non définie (contenant un mélange de différentes souches et/ou espèces non définies) [96]. La production de telles cultures, aussi définies comme « ferments naturels » est dérivée d'une pratique antique dénommée “ back slopping ” (l'utilisation d'un vieux batch d'un produit fermenté pour inoculer un produit neuf) et/ou par l'application des pressions sélectives (traitement thermique, la température d'incubation, baisse de pH).[91]

Aucune précaution spécifique n'est employée pour empêcher la contamination à partir du lait cru ou à partir de l'environnement de fabrication, et le contrôle du milieu et des conditions de culture pendant la production de starters est très limité. [97]

III.2.2 Ferments commerciaux :

Les ferments commerciaux sont en général commercialisés sous forme lyophilisée et peuvent être utilisés pour l'inoculation directe de la cuve de fermentation (Direct Vat Inoculation, DVI). Ces ferments sont développés en grands volumes à partir d'une culture initiale définie ou non définie, concentrée (typiquement par centrifugation) et ensuite congelée ou lyophilisée pour le stockage et la distribution. [97] Le ferment concentré est directement introduit dans la cuve, ce qui évite la contrainte de la propagation sur place. Actuellement, les ferments de type DVI sont devenus plus accessibles vu l'amélioration des technologies de la concentration et la conservation de ces micro-organismes. [97]

Les ferments commerciaux peuvent être classés en trois catégories : selon leur fonction, leur température de croissance, et/ou leur composition.[97]

III.2.2.1 Classification Selon la composition :

Selon la fédération internationale de laiterie (1997), les ferments lactiques peuvent être classés en trois catégories :

III.2.2.1.1 Les ferments purs:

Constitués d'une souche d'une seule espèce bien caractérisée, c'est-à-dire une culture provenant en principe d'une seule cellule bactérienne.[98]

III.2.2.1.2 Les ferments mixtes:

Ils sont formés d'un mélange de souches avec un nombre et proportions indéfinis, ce type de ferments ont en général, une bonne activité acidifiante.[98]

III.2.2.1.3 Les ferments mixtes sélectionnés :

Contiennent plusieurs souches bien définies, issues d'une ou de plusieurs espèces et les proportions entre les souches sont connues et définies selon le cahier des charges de l'utilisateur.[98]

III.2.2.2 Selon la température de croissance :

Les ferments lactiques sont classés en ferments mésophiles et ferments thermophiles : [99]

III.2.2.2.1 Ferments mésophiles

Les bactéries lactiques qui constituent ces ferments ont une température optimale de croissance qui varie selon les souches entre 25°C et 30°C et peuvent atteindre une température maximale de fermentation de 38°C à 40°C. [99]

Ils sont constitués essentiellement des espèces acidifiantes (*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lc. lactis* ssp. *cremoris*) et des espèces aromatisantes (*Lc. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris*).[99]

Les ferments mésophiles sont habituellement utilisés dans la fabrication de plusieurs variétés de fromages, en particulier les fromages frais, de certains laits fermentés et du beurre.[99]

III.2.2.2 Ferments thermophiles

Ils comprennent les lactobacilles, les bifidobactéries et l'espèce *Streptococcus thermophilus*. Leur température optimale de croissance se situe entre 40°C et 50°C. Les ferments thermophiles sont souvent utilisés pour la fabrication des yaourts, certains laits fermentés et quelques fromages à pâte cuite tels que l'Emmental et le Gruyère. [100]

III.3. Conservation des ferments

La commercialisation des ferments concentrés nécessite leur stabilisation préalable par congélation, soit par lyophilisation. Cette stabilisation permet de les conserver à la température préconisée, pendant plusieurs semaines, voire plusieurs mois. Les cultures concentrées congelées doivent être stockées à une température inférieure à -45 °C puis décongelées, soit avant l'ensemencement, soit directement lors de fabrication. [101]

III.4. Rôles des ferments lactiques

La pasteurisation du lait réduit fortement la microflore indigène, le rôle principal des ferments est par conséquent d'initier et conduire le procédé de fermentation selon les propriétés souhaitées dans le produit fini.[91]

Les ferments contribuent également aux caractéristiques organoleptiques, nutritionnelles et sensorielles des produits et à leur sûreté [102]. L'impact sur la qualité du produit est fortement dépendant de la souche utilisée et varie entre les souches selon leurs activités et voies métaboliques. [89]

Les ferments sont utilisés en raison de leur capacité de production d'acide lactique à partir du lactose. De plus, ils possèdent d'autres fonctions importantes comme l'inhibition des micro-organismes indésirables, l'amélioration des propriétés sensorielles et rhéologiques, en plus de leurs bienfaits prouvés pour la santé.

Etant donné que les ferments commerciaux comportent des souches choisies d'espèces prédéfinies ayant des propriétés métaboliques connues, l'introduction de ces ferments a significativement amélioré la qualité commerciale et hygiénique des produits laitiers fermentés et a contribué à l'harmonisation des normes de qualité. [103]

III.5. Qualité et critères de sélection des ferments lactiques

La sélection d'un ferment lactique est réalisée soit par l'utilisateur potentiel, soit par le producteur de ferments, sur la base d'un cahier des charges généralement fixé par

l'utilisateur. Cette sélection s'appuie sur de nombreux critères afin de répondre à la fois aux spécifications demandées par l'utilisateur et aux contraintes imposées par le producteur [104]. Ces critères relèvent habituellement des fonctionnalités technologiques des souches, de leurs performances, de leurs propriétés probiotiques éventuelles et de leur sécurité. Ils diffèrent selon le type de produit désiré, les caractéristiques des matières premières à transformer et la technologie appliquée.

Il importe également de s'assurer de la faisabilité économique de la propagation de la souche : coûts des milieux, mise en oeuvre pratique de la culture, mise en oeuvre de la phase de stabilisation. Enfin, leur robustesse, notamment lors des différentes phases de leur production, constitue le critère ultime de sélection. [104]

III.6. Produits laitiers fermentés :

Une large gamme de produits laitiers fermentés est commercialisée à travers le monde. Il existe un grand nombre de laits fermentés provenant de plusieurs pays et qui diffèrent par leur matière première. Leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation.[105]

Le tableau 9 donne une description de différents types de laits fermentés et leurs pays d'origine.

Tableau 9 : Exemple de produits laitiers fermentés et leurs pays d'origine.[105]

Nom	Description	Pays présumé d'origine	Ferments impliqués
Yoghourt/ Yaourt	Produit ferme ou brassé, arôme caractéristique.	Asie Balkans	<i>S. thermophiles</i> <i>Lb. bulgaricus</i> (+ <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium ssp.</i>)
Lait à l'acidophilus	Produit ferme, brassé ou liquide, faible arôme.	Etats-Unis	<i>Lb. Acidophilus</i>
Kéfir	Boisson brassée, consistance crémeuse, arôme et gout caractéristique (CO ₂).	Caucase	<i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. cremoris</i> , <i>Lb. kéfir</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Leuconostoc ssp.</i> , levures
Koumis	Boisson pétillante, acide, gout rafraîchissant et arôme caractéristique.	Mongolie	<i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , levures
Lassi	Boisson laitière aigre diluée avec de l'eau, consommée sale, épicée ou sucrée.	Inde	<i>Lactococcus ssp.</i> , <i>Lactobacillus ssp.</i> , <i>Leuconostoc ssp.</i> , levures
Dahi	Produit ferme ou brassé, ou boisson liquide, flaveur agréable, acide ou faiblement acide.	Inde	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lc. diacétylactis</i> , <i>Leuconostoc ssp</i>
Leben	Produit ferme ou brassé, gout et arôme agréable.	Moyen orient	<i>S. thermophilus</i> , <i>Lb bulgaricus</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lc. lactis</i> , levures
Filmjök	Boisson brassée, visqueuse, saveur Acidulée	Suède	<i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. cremoris</i> , <i>Lc. diacétylactis</i> , <i>Ln. Cremoris</i>
Villi	Produit brassé visqueux, Acidulé et gout agréable	Finlande	<i>Lc. lactis</i> , <i>Lc. cremoris</i> , <i>Lc. diacétylactis</i> , <i>Lc. dextranicum</i> , moisissure (<i>Geotrichum candidum</i>)

III.6.1 Lait fermenté

La dénomination « lait fermenté » est réservée aux produits laitiers préparés à partir de différents types de laits (écrémé, concentré, en poudre), ayant subi un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation,ensemencés avec des micro-organismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristiques de chaque produit. La coagulation des laits fermentés ne doit pas être réalisée par d'autre moyen que l'activité des micro-organismes qui sont utilisées.

Les laits fermentés sont des produits laitiers transformés par une fermentation essentiellement lactique qui aboutit à l'acidification et à la gélification du lait [106]. Les laits fermentés algériens sont le L'ben et le Raïb.

III.6.1.1 L'ben

L'origine de ce produit remonte à des temps immémoriaux, probablement à l'époque où l'homme a commencé à domestiquer les espèces laitières et à utiliser leurs laits. Sa fermentation lactique lui donne son arôme naturel et sa saveur inimitable. Sa préparation artisanale est simple, le lait est abandonné à lui-même jusqu'à sa coagulation. Celle-ci se fait à température ambiante et dure 24 à 48 h selon la saison. Le barattage qui lui succède dure 30 à 40 minutes. A la fin du barattage, on ajoute généralement un certain volume d'eau (environ 10 % du volume du lait), chaude ou froide, suivant la température ambiante, de façon à ramener la température de l'ensemble à un niveau convenable au rassemblement des grains de beurre [107].

Le L'ben est produit également à l'échelle industrielle. C'est un lait pasteurisé fermenté.

L'acidification est provoquée par ensemencement des ferments lactiques mésophiles. Le lait qui sert à la préparation du L'ben est reconstitué. Il subit une pasteurisation à 84°C pendant 30 secondes, puis refroidi à 22°C et ensemencé de levain lactique (*Streptococcus cremoris* ; *Streptococcus lactis* et *Streptococcus diacetylactis* ; *Leuconostoc dextranicum*, *Ln. citrovorum* et *Ln. mesenteroides*).[108]

III.6.1.2 Raïb

Le Raïb fait partie des produits laitiers fermentés populaires en Algérie, en plus du L'ben (lait écrémé fermenté), ce produit a une très ancienne tradition en Algérie; il est fabriqué à partir de lait cru de vache ou de chèvre. La fermentation du lait, comme de nombreux procédés traditionnels de fermentation, est spontanée et incontrôlée. Contrairement au L'ben, le Raïb ne subit pas une opération de barattage et d'écémage, il s'agit d'un lait fermenté entier [109]. La matière première peut être du lait cru ou du lait en poudre. Les levains lactiques dégradent le lactose en acide lactique et confèrent par la suite une acidité favorable à la conservation du produit et à la coagulation de la caséine qui forme un gel avec très peu d'exsudation du lactosérum. [110]

III.7. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques des laits fermentés

Au début du 20^{ème} siècle, Metchnikoff fut le premier à promouvoir l'idée que la flore microbienne des laits fermentés exerce un effet bénéfique sur la santé de ceux qui en consomme régulièrement. [86] Ces produits laitiers fermentés ajoutent leurs propriétés propres aux qualités nutritionnelles du lait utilisé.[111]

III.7.1 Intérêts nutritionnels

- ✚ Les avantages nutritionnels comprennent une amélioration de la digestibilité des protéines et de la matière grasse, suite à la libération des acides aminés et des acides gras par les bactéries lactiques. [112]
- ✚ Les produits laitiers fermentés sont reconnus comme une source importante de protéines digestibles, vitamine A, Ca (67%), fer (6%), cuivre, zinc, magnésium (15-20%) et de phosphore (39%).[113]
- ✚ Le dosage du Ca et du Mg solubles dans les laits fermentés montre que quelle que soit la souche bactérienne utilisée, l'augmentation de la solubilité de ces minéraux est observée, donc de leur biodisponibilité. Cette biodisponibilité des sels minéraux, permet une meilleure assimilation du Ca par rapport au lait.
- ✚ L'augmentation de la teneur en vitamines hydrosolubles (B1, B2, B6 et acide folique) qui sont synthétisées par les bactéries lactiques. [112]

III.7.2 Intérêts thérapeutiques

- ✚ Les laits fermentés possèdent des propriétés hypocholestérolémiantes qui consistent à la capacité des ferments à dégrader les sels biliaires et par conséquent une diminution du taux de cholestérol.[113]
- ✚ La consommation quotidienne et à long terme de laits fermentés par *Lactobacillus helveticus*, diminue de manière significative la pression artérielle des sujets hypertendus. [113]
- ✚ Les laits fermentés modifient la flore intestinale de l'hôte, en diminuant le taux de germes indésirables (*Escherichia coli*).[114]
- ✚ Stimulation des défenses immunitaires à plusieurs niveaux. Une amélioration de la longévité, de la croissance chez ceux qui reçoivent un régime enrichi en laits fermentés.[115]
- ✚ Les laits fermentés réduisent la durée des diarrhées aiguës chez les nourrissons.[116]
- ✚ Amélioration de la digestion du lactose chez les sujets déficients en β -galactosidase intestinale, il est démontré que cet effet est dû à l'apport de β -galactosidase exogène produite par les bactéries lactiques des laits fermentés.[117]

III.8. Stabilité des laits fermentés durant le stockage

Préparés selon des conditions hygiéniques rigoureuses, les laits fermentés et plus précisément le RAIB peuvent se conserver environ quatre semaines jusqu'à la vente au consommateur sous réserve d'être maintenus au froid entre 4 à 6 °C.

Si le maintien des laits fermentés au froid inhibe la multiplication bactérienne, il n'arrête pas complètement leurs activités métaboliques, bien que lente la production de l'acide lactique continue, les enzymes hydrolysent les protéines avec comme conséquence la diminution de la fermeté et de la viscosité ainsi que l'apparition de peptides responsable de l'amertume.

IV. Le Raïb

Peut être produit du lait cru ou du lait en poudre. Les levains lactiques dégradent le lactose en acide lactique et confèrent par la suite, une acidité favorable à la conservation du produit et à la coagulation de la caséine qui forme un gel avec très peu d'exsudation du lactosérum. Parmi les types de raïb :

IV.1.1 Le Raïb traditionnel

C'est un lait fermenté, obtenu par acidification naturelle d'un lait cru à une température ambiante. La coagulation est obtenue ou résulte de la flore microbienne originelle et de contamination, avec ou sans additions des acides organiques (citron, vinaigre), pendant une durée variée selon la saison entre 24 heures à 72 heures.[118]

IV.1.2 Le Raïb industriel

C'est un lait entier ou écrémé, pasteurisé, fermenté, obtenu par la fermentation naturelle après ensemencement par des levains lactiques. La coagulation est obtenue par l'activité des ferments lactiques, avec ou sans addition de substances coagulantes (présure, pepsine) pendant une durée de 20 heures à 24 heures à 37°C. [118]

IV.2. Procédé de fabrication du lait fermenté partiellement écrémé RAIB (annexe 06):

IV.2.1 Matières premières :

IV.2.1.1 Eau

L'eau doit être dépourvu de micro-organismes pathogènes et d'un niveau de dureté acceptable $\text{CaCO}_3 < 100$ mg/l. Une teneur excessive en matière inorganique menace l'équilibre des sels du produit reconstitué ou recombinaison ce qui pose des problèmes au niveau de la pasteurisation. Trop de cuivre ou de fer dans l'eau peut introduire des goûts atypiques à cause de l'oxydation de la matière grasse. Les niveaux maximaux recommandés sont par conséquent : Cu 0,05 mg/l, Fe 0,1 mg/l.

IV.2.1.2 Poudre de lait

Elle est obtenue à partir d'un lait frais ayant subi une déshydratation par la chaleur, ce qui permet une longue conservation du lait et facilite son stockage.

IV.2.1.3 Amidon

L'amidon est le principal polysaccharide de réserve des végétaux supérieurs (grains de céréales, grains de légumineuses...etc). C'est l'un des polymères fonctionnels les plus

importants des aliments en raison de son pouvoir gélifiant, viscosifiant et fixateur d'eau Il est utilisé en industrie laitière en tant que stabilisant et texturant.

IV.2.1.4 La présure

Selon la fédération internationale du lait (FIL) la dénomination « présure » est donnée à l'extrait coagulant provenant des caillottes de jeunes ruminants abattus avant sevrage [119] Elle est traditionnellement à la base de la fabrication des fromages. De petites quantités de présure sont produites à partir de l'estomac de chevreau et d'agneau.[120]

La présure se compose de deux fraction, 80% chymosine et 20% pepsine [121]. La chymosine (EC 3.4.23.4) est la principale enzyme de coagulation du lait présente dans la présure.

C'est une protéase acide, sécrétée sous forme de proenzyme inactive appelée pro-chymosine. L'activation de la pro-chymosine en chymosine se fait spontanément dans la caillotte aux pH inférieurs à 5,0 par hydrolyse de l'extrémité N-terminale de la molécule [120]. Elle a un poids moléculaire de 35 KDa avec 323 résidus d'acides aminés. [122]

Propriétés et mode d'action

La chymosine et la pepsine sont des holoprotéines dont le poids moléculaire est voisin de 30 000 Da. Ce sont des enzymes qui ont une double action sur la caséine. Elles ont une activité élevée et spécifique sur la caséine Kappa qui conduit à la libération du caseinomacropéptide et à la déstabilisation micellaire. Elles ont une activité faible de protéolyse générale sur les autres fractions de la caséine. Celle-ci intervient dès la mise en coagulation et se poursuit pendant l'affinage du fromage. Comme pour toutes les préparations enzymatiques, l'activité protéolytique de la présure est fortement influencée par les facteurs de milieu en particulier le pH et par la température. [123]

✓ Influence du pH : Le pH optimum d'activité coagulante de la présure sur le lait est voisin de 5,5. Au pH du lait frais (pH6,65) l'activité est modérée. En fabrication fromagère, on a intérêt à acidifier légèrement le lait pour accroître l'activité enzymatique

✓ Influence de la température : La température optimum d'activité de la présure se situe à 40-42°C. En dessous de 20°C, l'activité devient faible. L'inactivation thermique totale de l'enzyme se produit à 65°C.

IV.2.2 La reconstitution

La reconstitution est une opération qui consiste à mélanger les poudres du lait entier (26%MG) et écrémé (0%MG) avec l'eau adoucie. La poudre du lait est déversée dans un tri blinder comportant une pompe de recirculation avec apport des deux types de poudre par une trémie située avant la pompe, ensuite la poudre est mise en contact avec l'eau de reconstitution ayant une température de 25°C. La température de reconstitution permet une meilleure dissolution et mouillabilité de la poudre de lait. La température recommandée est de 35/45°C. A cette température, la poudre possède une meilleure mouillabilité et dissolvabilité. [46]

Ensuite, le mélange eau et poudre de lait subit une agitation douce pendant 20 minutes afin d'augmenter la dispersion et l'hydratation des molécules et d'éviter la formation d'agglomérats.

IV.2.3 Le préchauffage

Le lait est préchauffé à une température (63-65°C/15S) inférieure à la température de pasteurisation, pour inhiber provisoirement la croissance des bactéries. [124]

IV.2.4 Le dégazage

Cette opération a pour but de permettre une meilleure homogénéisation et d'éliminer une partie des odeurs caractéristiques des laits reconstitués. Le dégazage se fait généralement à 75°C avec une chute de température de l'ordre de 8 à 10°C. [48]

IV.2.5 La standardisation

La standardisation peut se faire en cuve ou en continu. Il s'agit de mélanger du lait écrémé, du lait entier ou encore de la crème dans les proportions calculées pour en arriver au pourcentage de matière grasse désiré dans le mélange.[25]

IV.2.6 L'homogénéisation

Elle présente l'avantage de stabiliser l'émulsion de la matière grasse uniformément dispersée dans tout le liquide, en plus, elle donne au lait une saveur caractéristique et une texture plus douce et plus onctueuse pour la même teneur en matière grasse dans le lait, en plus réduire sa sensibilité à l'oxydation de la matière grasse. [25]

L'homogénéisation se fait entre 60 et 70°C et à une pression de 100-250 bar. [124]

IV.2.7 La pasteurisation

Elle se fait dans un échangeur à plaque à une température 90°C/30S. [125]

IV.2.8 Développement de la fermentation

Immédiatement après le traitement thermique, le lait est refroidi à la température d'ensemencement des levains lactiques mésophiles entre 20 et 26°C. [126]

IV.2.8.1 Ensemencement

On procède à l'ensemencement direct du lait de fabrication dans le tank en utilisant une biomasse très concentrée de ferments mésophiles congelés ou lyophilisés [127] une bonne homogénéisation est nécessaire pour rendre parfaitement homogène le lait et les ferments, pour permettre une acidification correcte. [128]

IV.2.8.2 Emprésurage

L'emprésurage est obtenu à partir d'une dilution d'un extrait de présure d'origine bovine (la chymosine active) 2 à 10 fois dans un volume d'eau, qui est incorporé dans le tank et ensuite homogénéisé. [129]

IV.2.9 Conditionnement

Le lait fermenté sort avec une température de 4 à 6°C avant le passage à la conditionneuse, puis les bouteilles en plastiques seront remplies à un volume d'un litre et qui seront ensuite transférées dans une chambre chaude.

IV.2.10 Maturation et coagulation

La maturation correspond à l'acidification du lait et la formation du gel. Elle est sous la dépendance de deux facteurs :

- ✚ La température (entre 20-26°C) proche de l'optimum de développement des ferments lactiques mésophiles.
- ✚ Le temps nécessaire (16 à 18h) à l'obtention de l'acidité voulue « 70-75°D) ». [128]
- ✚ La coagulation du lait par voie acide ou par voie enzymatique est étroitement liée à l'organisation structurale de la micelle de caséines. [130]

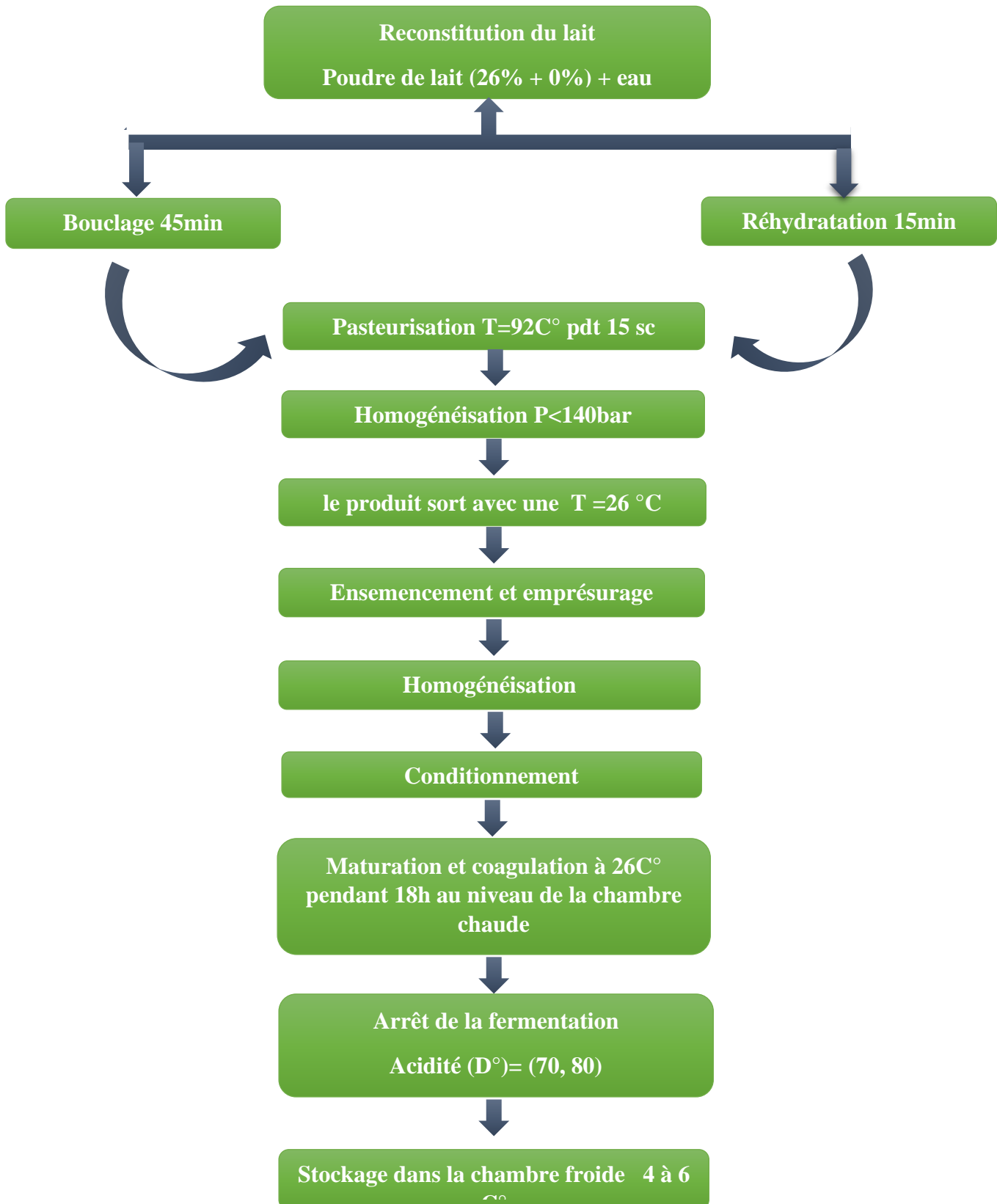
IV.2.11 Arrêt de la fermentation

Lorsque l'acidité atteint un certain seuil 70-80°D, il est nécessaire de bloquer l'acidification en inhibant le développement des bactéries lactiques et cela par le stockage dans la chambre froide 4 à 6° C [131].

Le diagramme suivant montre les différentes étapes de la technologie de RAIB dans l'unité « HAMMADITE ».

Diagramme de fabrication du lait fermenté type RAIB dans la laiterie

« HAMMADITE »



IV.3. Présentation de la ligne de fabrication du Raib

Le schéma indiqué dans la figure suivante montre la représentation simplifiée de la ligne de fabrication du Raib au niveau de l'unité « HAMMADITE ».

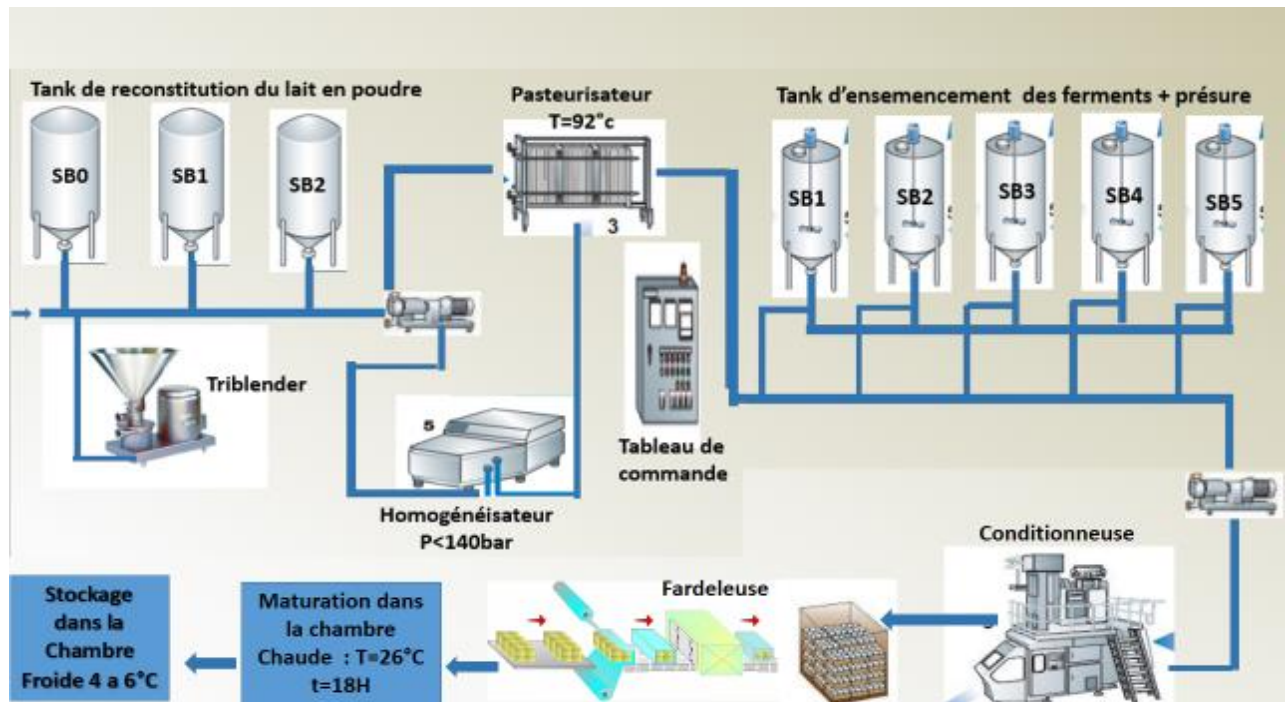


Figure 7: Ligne de fabrication de Raib a l'unité « HAMMADITE »

IV.4. Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des Raib au lait cru et traités thermiquement :

Les caractéristiques physicochimiques et les numérations LB mésophiles du lait cru et des Raibs fabriqués à partir de laits crus, thermisé et pasteurisé sont présentées dans le tableau (10). [132]

Tableau 10 : Caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques des « Raib » au lait cru et traités thermiquement

	PH	Acidité titrable (D°)	Solides totaux (g/l)	Protéines (g/l)	Matières grasses (g/l)	Taux de cendres (g/l)	Les acides gras libres (mg/g)	BL (CFU/g)
Lait crus	4.63	69.3	94.4	21.5	20.5	7.1	3.24	52.1×10 ⁶
Raib du lait thermisé	4.84	54.4	97.5	24.9	23	6.8	0.89	2.2×10 ⁶
Raib du lait pasteurisé	4.87	53.6	98.9	25.4	25.4	6.2	0.88	1.1×10 ⁶

AGL: Acides gras libres.

BL: Bactéries lactiques.

Des différences significatives dans la composition physico-chimique entre les Raibs fabriqués à partir de lait cru et de lait traité thermiquement. En fait, les Raibs au lait traité thermiquement étaient caractérisés par des teneurs plus élevées en solides totaux, en protéines et en matières grasses. Ces différences pourraient être dues, non seulement au traitement thermique du lait, mais aussi à la nature des bactéries starter. Aucune différence significative n'a été remarquée dans les teneurs en cendres entre les échantillons de lait Raib cru et traité thermiquement.

Le raib était caractérisé par une acidité titrable plus élevée et un pH plus faible par rapport au lait cru. Dans le lait cru, la microflore naturelle, composée en partie de bactéries lactiques, fermenterait le lactose en acide lactique. Ainsi, l'action de la microflore naturelle du lait pourrait être probablement responsable du niveau élevé d'acidité observé dans le Raib fabriqué à partir de lait cru.

Les raib fabriqués à partir de lait thermisé et pasteurisé étaient caractérisés par un pH plus élevé et des valeurs d'acidité titrable plus faibles que le Raib au lait cru, et aucune différence significative n'a été trouvée entre les produits laitiers thermisés et pasteurisés. Pendant la formation du caillé, le pH a baissé plus rapidement dans le lait cru que dans les laits traités thermiquement. Cette différence d'acidité pourrait être due à une teneur élevée en LB des Raib du lait cru par rapport au lait thermisé et pasteurisé, comme le montre le tableau 10. Cette richesse en LB pourrait conduire à la biosynthèse de plus de composés nutritionnels et aromatiques. La distinction de l'acidité pourrait également s'expliquer par la microflore non starter initialement présente dans le lait cru et détruite par le traitement thermique.

Les acides gras libres peuvent affecter le goût spécifique de chaque produit laitier fermenté. Saveur de chaque produit laitier fermenté et être les précurseurs de composés aromatiques tels que les lactones, alcools secondaires et les acides organiques. [132]

Introduction

Les plans d'expériences 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 . Il faut penser aux plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type : $y = f(x_i)$. [133]

Avec les plans d'expériences on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse [134]. Il existe de nombreux plans d'expériences adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur. Les principes fondamentaux de cette science seront indiqués et les principaux plans seront passés en revue.

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles, celle d'espace expérimental et celle de modélisation mathématique des grandeurs étudiées. [135]

V Plans d'expériences

V.1 Définition d'un plan d'expérience

Pour des raisons de coût, de nombreux phénomènes scientifiques sont étudiés, non plus via l'expérimentation physique, mais à l'aide de modèles numériques. Les premiers scientifiques qui se sont intéressés au problème de l'organisation des essais sont des agronomes. Ils avaient en effet beaucoup de paramètres à étudier et ne disposaient pas de moyens adéquats leur permettant de multiplier le nombre d'expérience afin de pouvoir surmonter cette contrainte à la quel font face de nombreux chercheurs.

Le plan d'expérience est une technique qui permet de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse dans des domaines expérimentaux bien déterminés dans le but de les optimisés [136], et d'obtenir un maximum d'informations avec un minimum d'expérimentations par rapport à l'objectif que l'on s'est fixé. Les plans d'expériences sont appliqués dans différents domaines des sciences : agronomie, biologie, calcul numérique, chimie, électronique, marketing, mécanique, physique... et cela, à tous les niveaux, depuis la recherche fondamentale jusqu'à la satisfaction du client.

Il existe différents types des plans d'expériences, qui peuvent être regroupés en deux grandes familles. [137]

Tableau 11: Différents types des plans d'expériences

Plans de criblage	Plans de modélisation
Plans à un facteur à la fois	Plans factoriels complets
Plans factoriels fractionnaires	Plans non conventionnels
Plans sursaturés	Plans composites centré
	Plans de Doehlert
	Plans de Box-Behnken
	Plans de Roquemore
	Plans D-optimaux
	Plans de mélange
	Plan de plaquette et Burmane

V.2 Principe

Les techniques de plan d'expériences permettent de répondre aux exigences de l'expérimentateur. En effet, son principe consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou plusieurs facteurs (variables discrètes ou continues) à chaque essai. Ceci permet d'une part, une forte diminution du nombre d'expériences à réaliser (tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés), et d'autre part, une détection des interactions entre les facteurs et la détermination du réglage (dit optimal de ces facteurs par rapport à une réponse). [135]

Il existe actuellement un nombre important de plans. Chacun, par ses propriétés, permet de résoudre un certain nombre de problèmes particuliers. Cependant, ils peuvent être divisés en deux grandes catégories. [138]

- ✓ Les plans qui permettent d'étudier (estimer et comparer) les effets des paramètres.
- ✓ Les plans qui permettent de régler les paramètres afin d'atteindre un optimum.

V.3 Terminologie

- La réponse : Une réponse consiste à une quantification des performances du système étudié.[139]

- Les facteurs : les paramètres que l'on fait varier au cours des essais et sensés influencer sur la variation de la réponse (les variables que l'on désire étudier) [135], On distingue plusieurs types de facteurs :

- ✚ **Les facteurs continus** : ils peuvent adopter toutes les valeurs numériques réelles d'un intervalle [borne_{inf} – borne_{sup}]. Par exemple : la pression, la longueur, la concentration, le temps d'agitation, la température...etc. [135]

- ✚ **Les facteurs discrets** : ils ne peuvent prendre que des valeurs particulières qui ne sont pas forcément numériques. On peut représenter un facteur discret par une lettre ou un nom, par exemple, on peut s'intéresser aux couleurs d'un produit : bleu, rouge, jaune...etc. [135]

- ✚ **Les facteurs ordonnables** : il s'agit des facteurs discrets que l'on peut mettre dans un ordre logique (premier, deuxième et troisième, ou grand, moyen et petit...etc.).[139]

- ✚ **Les facteurs booléens** : sont des facteurs discrets qui ne peuvent prendre que deux valeurs : ouvert ou fermé, blanc ou noir, haut ou bas...etc. [140]

- **Domaine d'un facteur (espace expérimental)** : Un facteur varie généralement entre deux bornes à savoir : la borne inférieure et la borne supérieure. Dans les plans d'expériences, un facteur varie entre le niveau bas (borne inférieure notée le plus souvent par -1) et le niveau haut (borne supérieure notée le plus souvent par +1), L'ensemble des valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, est appelé domaine d'un facteur ou bien domaine de variation (figure 8). [135]

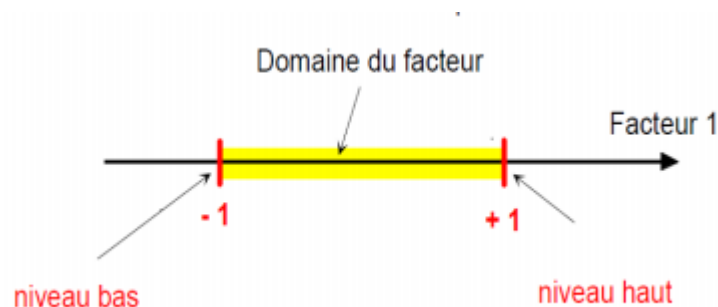


Figure 8: Domaine de variation d'un facteur. [135].

- **Domaine d'étude** : Un seul facteur est représenté par un axe orienté, et s'il y a deux facteurs, le second est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. Ce dernier est

disposé orthogonalement au premier, la réunion des domaines de variations de chaque facteur définit le domaine d'étude (figure 9) [135].

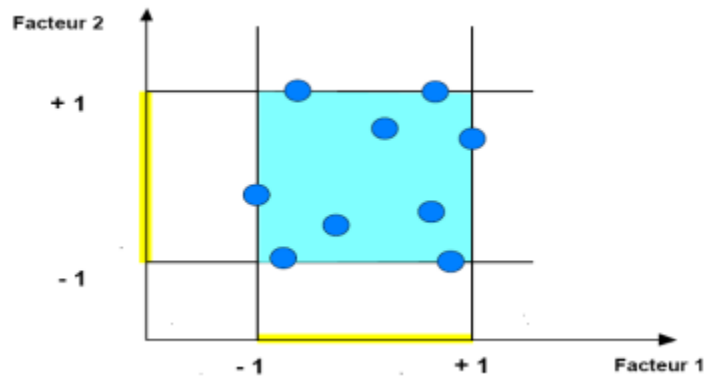


Figure 9 : Domaine d'étude

- 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 (figure 10) 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 en 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. [141]

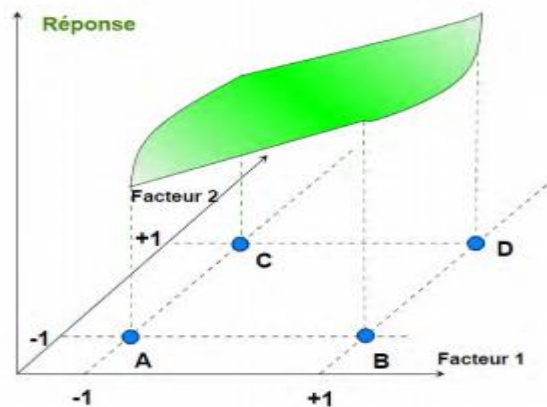


Figure 10: Réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse [135]

- Interaction : L'effet pour lequel l'influence apparente d'un facteur sur une variable de réponse dépend d'un ou de plusieurs facteurs. L'interaction indique une incohérence de l'effet principal d'un facteur sur la réponse selon le niveau d'un autre facteur. [142]
- Matrice d'expérience : La matrice d'expérience est un objet mathématique qui représente, sous forme codée ou non codée, l'ensemble des expériences à réaliser. C'est un tableau constitué de n lignes correspondant aux n expériences à réaliser et de k colonnes, correspondant aux k variables étudiées. L'élément X_{ij} de la matrice ainsi formé correspond à la valeur des niveaux que prend la $j^{\text{ième}}$ variable à la $i^{\text{ième}}$ expérience. [143]

Tableau 12 : Matrice d'expérience à deux facteurs.

N°essais	Facteur 1	Facteur 2
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1

VI Modélisation et Optimisation par la méthodologie des surfaces de réponse (MRS)

La méthode des surfaces de réponse (MRS) est une technique d'analyse statistique puissante, adaptée à la modélisation de processus complexe ou la réponse peut être influencé par plusieurs variables, cette technique est utilisée dans le but d'optimisé cette réponse.

Box et Wilson ont introduit pour la première fois la théorie des MRS en 1951, celle-ci représente aujourd'hui la méthode la plus couramment utilisé pour l'optimisation des processus [144]. Les MRS sont utilisés pour la modélisation et la prédiction de l'effet des différents paramètres expérimentaux sur une réponse bien définie ainsi que sur l'identification des interactions entre les paramètres expérimentaux, que d'autres techniques ont tendance à négliger. La MSR est largement employée dans le domaine de l'ingénierie et de la fabrication où de nombreux paramètres y sont impliqués.

L'optimisation se rapporte à améliorer l'exécution d'un système, d'un processus, ou d'un produit afin d'obtenir la réponse maximale. L'optimisation de limite a été utilisée généralement en chimie analytique afin de découvrir les conditions d'application de procédés qui donnent la meilleure réponse. Après la détermination de la forme graphique et analytique de notre réponse, il est primordial d'aller chercher les conditions expérimentales donnant un meilleur résultat. Cette étape nécessite préalablement une connaissance assez profonde du phénomène étudié.

Les plans du second degré ou plans pour surfaces de réponse permettent d'établir des modèles mathématiques du second degré. Ces plans sont utiles à chaque fois que l'on se trouve près d'un maximum ou d'un minimum. Il existe différents types de plans concernant ce modèle, les plus connus sont les plans « composites centrés », les plans « Box-Behnken », les plans de « Doehlert », et les plans « hybrides ». Dont on s'intéresse au modèle de **Box Behnken**.

La méthode surface de réponse utilise un modèle mathématique de second degré :

Équation VI-1 : **Equation** : du modèle mathématique de second degré

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

Où :

y : est la réponse.

X_i, X_j : sont les variables.

$\beta_0, \beta_i, \beta_{ii}, \beta_{ij}$: sont les coefficients du polynôme.

ε : est l'erreur

VI.1 Le modèle de Box Behnken

Box et Behnken ont proposé en 1960 ces plans qui permettent d'établir directement des modèles du second degré. Tous les facteurs ont trois niveaux : $-1, 0$ et $+1$. Ces plans sont faciles à mettre en œuvre et possèdent la propriété de séquentialité. On peut

entreprendre l'étude des k premiers facteurs en se réservant la possibilité d'en ajouter de nouveaux sans perdre les résultats des essais déjà effectués.

Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est construit sur un cube. Pour quatre facteurs ce plan est construit sur un hypercube à quatre dimensions. On place les points expérimentaux non pas aux sommets du cube ou de l'hypercube, mais au milieu des arêtes ou au centre des faces (carrés) ou au centre des cubes. Cette disposition a pour conséquence de répartir tous les points expérimentaux à égale distance du centre du domaine d'étude, donc sur une sphère ou sur une hyper-sphère suivant le nombre de dimensions.

On ajoute des points au centre du domaine d'étude.

Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est illustré par la figure (11) Le cube possède 12 arêtes. On a l'habitude d'ajouter des points d'expériences au centre du domaine d'étude, en général trois. Le plan de Box-Behnken pour 3 facteurs possède donc $12 + 3$ essais, soit 15 essais. On pourra remarquer qu'avec 4 points au centre au lieu de 3, on obtient un plan qui répond au critère de presque-orthogonalité.

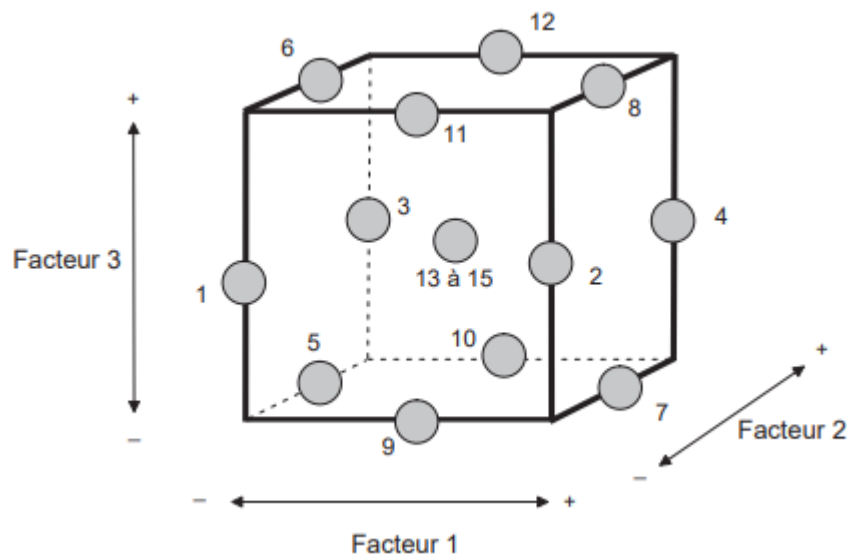


Figure 11 : Illustration du plan de Box-Behnken pour trois facteurs.

VI.2 Avantage du modèle de Box-Behnken

Le modèle de Box-Behnken (BB) présente donc l'avantage d'être moins coûteux en temps (nombre d'essais réduits) et ressources à investir pour l'expérimentation. Le modèle de BB ne permet pas de tester les traitements pour lesquels tous les facteurs sont placés

simultanément à leur niveau élevé ou bas. La matrice de Box-Behnken minimise donc les combinaisons situées dans les extrémités du domaine de variation des facteurs où l'on observe en général une réponse non satisfaisante (réponse élevée ou faible). Ceci peut être avantageux lorsque les points situés sur les coins du cube représentent des combinaisons de niveaux de facteurs qui sont chères ou impossible de tester en raison des contraintes physiques du processus. [145]

VI.3 Logiciels des plans d'expériences

Les logiciels des plans d'expériences possèdent des bibliothèques de plans classiques et ils permettent aussi de construire les plans particuliers. On peut réaliser le calcul des coefficients avec un tableur, mais cela nécessite de la programmation et du temps. Il est donc préférable d'utiliser un logiciel adapté qui effectue non seulement le calcul des coefficients mais aussi les calculs statistiques permettant d'évaluer la qualité du modèle mathématique.

Les logiciels des plans d'expériences sont aussi programmés pour calculer des réponses dans tous les domaines d'étude, pour effectuer les analyses de variance, pour tracer des courbes d'iso réponses, pour construire les surfaces de réponses et pour déterminer les zones d'intérêt. Cet ensemble de possibilités permet d'effectuer de multiples analyses et de regarder ces données sous tous les angles. On arrive ainsi à extraire, en peu de temps, toute l'information présente dans les résultats d'un plan d'expériences. [146] Nous indiquons ci-dessous les principaux logiciels des plans d'expériences et les sites internet correspondants. Quelques-uns d'entre eux mettent à disposition des personnes intéressées des versions de démonstration et certains des versions complètes simplement limitées dans le temps. [135]

Tableau 13 : Principaux logiciels de plans d'expériences.

Logiciels	Sites internet
JMP	http://www.jmpdiscovery.com
Minitab	http://www.minitab.fr
Statistica	http://www.intesfot.com/produits/tech/statistica
Statgraphics	http://www.sigmaplus.fr
Unscrambler	http://www.camo.no
Pirouette	http://infometrix.com
Modde	http://www.umetrics.com

Présentation de l'organisme d'accueil

La laiterie « HAMMADITES » ou SARL Etoile Service est une entreprise qui a officiellement vu le jour en janvier 2016.

- * Type : industrie laitière
- * Grosseur : SARL
- * Capacité : environ 30 000L/h
- * Superficie : 1400 m².

Situation géographique

SARL Etoile Service ; Lotissement N° 25 zones d'activité d'El-kseur Bejaia qui se situe à 25km du chef-lieu de la wilaya et à 200km de la capitale.

Produits fabriqués

- * Lait entier pasteurisé. * Lait partiellement écrémé pasteurisé
- * Yaourt brassé gout citron, framboise et fraise * L'ben et Scharbeth

Matériels et méthodes

Cette étude a été réalisée en deux parties, au niveau du laboratoire de la laiterie « HAMMADITE » ainsi qu'au laboratoire de mécanique des fluides, de notre université A.MIRA de Bejaia. Le deuxième volet de ce travail comporte des analyses microbiologiques réalisées au niveau du laboratoire de contrôle de qualité et de la conformité des aliments.

Ces essais ont nécessité le recours aux matériels et aux méthodes indiqués ci-après.

I. Analyses physico-chimiques

Matières premières :

- Amidon
- Poudre de lait : poudre de lait 0% et 26% de matières grasses
- Eau de processus

✚ Produit fini : Raib

Appareillages

✚ Appareillages utilisé au niveau du laboratoire de la laiterie HAMMADITE

- PH mètre
- Etuve
- Butyromètre de GERBER
- Centrifugeuse de paillasse
- Balance
- Dispositif de titration (burette, bécher ...)
- Plaque chauffante

✚ Appareillages utilisé au niveau du hall génie des procédés dans le laboratoire de la mécanique des fluides

- Viscosimètre de couette

Les analyses physico-chimiques d'un produit sont réalisées afin de garantir les caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques de ce dernier [148]. Les différentes analyses effectuées pour chaque échantillon sont résumées dans le tableau suivant:

Tableau 1: Analyses effectuées et non effectuées

Paramètres	Matières premières		Produit fini « Raib »
	Eau de processus	Poudre de lait	
PH	-	-	+
Acidité	-	-	+
MG	-	-	+
EST	-	-	+
Viscosité	-	-	+
Humidité	-	-	+
TH	-	-	-
TAC	-	-	-
TA	-	-	-
Chlorure	-	-	-

-

Analyse non effectuée

+

Analyse effectuée

I.1 Détermination de l'acidité titrable.

✚ Mode opératoire

- Dans un bécher introduire 10 ml de RAIB prélevé à la pipette.
- Ajouter dans le bécher quatre gouttes de l'indicateur colore de phénolphtaléine.
- Titrer par la solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0.11N jusqu'à virage au rose, facilement perceptible par comparaison avec un témoin constitué du même lait.
- On considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes,
- Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé.

✚ Expression des résultats

L'acidité exprimée en gramme d'acide lactique par litre de lait est égale à:

$$\text{Acidité (D}^\circ\text{)} = V_{(\text{NaOH})} \times 10$$

I.2 Mesure du pH

✚ Mode opératoire

- Le PH-mètre est préalablement étalonné à l'aide de deux solutions tampons (pH=4), (pH=7).
- Avant chaque détermination du pH, l'électrode doit être soigneusement rincée avec de l'eau distillée puis séchée.
- Maintenir l'échantillon à analyser à une température avoisinante de 20°C.

La valeur du pH de la solution à analyser est directement lue sur le cadran du pH-mètre exprimé par deux chiffres après la virgule.

I.3 Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique)

✚ Mode opératoire

Préparation du butyromètre à la prise d'essai

- A l'aide d'une pipette, mesurer 10 ml d'acide sulfurique et les introduire dans le butyromètre.
 - Retourner doucement trois ou quatre fois le récipient contenant l'échantillon préparé.
 - Prélever immédiatement à la pipette à lait le volume fixé du produit (11ml de RAIB) et le verser dans le butyromètre sans mouiller le col de celui-ci de façon qu'il forme une couche au-dessus de l'acide.
 - A l'aide d'une pipette mesurer 1ml d'alcool iso-amylque et l'introduire dans le butyromètre sans mouiller le col du butyromètre ni mélanger les liquides.
 - Bien boucher le butyromètre sans perturber son contenu.
- **Dissolution des protéines**
- Agiter et retourner le butyromètre jusqu'à ce que son contenu soit complètement mélangé, et jusqu'à ce que les protéines soient entièrement dissoutes.
- **Centrifugation**
- Placer immédiatement le butyromètre dans la centrifugeuse GERBER, amener la centrifugeuse à la vitesse requise (1200 tr/mn) en 2 minutes puis maintenir cette vitesse pendant 8 minutes.

✚ Expression des résultats

La teneur en matière grasse de lait est :

B – A où :

A est la lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse.

B est la lecture faite à l'extrémité supérieure de la colonne de matière grasse.

La teneur en matière grasse est exprimée, soit en gramme pour 100g de lait, soit en grammes pour 100ml.

I.4 Détermination de l'extrait sec total (EST) par un dessiccateur infrarouge

✚ Mode opératoire

- Soulever le couvercle du dessiccateur à infrarouge.
- Mettre une coupelle en aluminium sur la balance de dessiccateur puis tarer.

- peser 3g de l'échantillon à l'aide d'une pipette on le dispersant sur toute la surface de la coupelle ensuite rabattre le couvercle de l'appareil.
- La fin de dessiccation est automatique elle est signalée par un « bip » sonore du dessiccateur.
- Lire la teneur en extrait sec affichée sur l'écran en pourcentage.

Expression des résultats

La lecture se fait directement sur l'appareil, la valeur est exprimée en pourcentage.

I.5 Mesure de la teneur en matière sèche dégraissée

La matière sèche dégraissée est obtenue par différence entre la matière sèche totale et la matière grasse. Les laits normaux contiennent habituellement de 90 à 95 g de matière sèche non grasse.

$$ESD = EST - MG$$

ESD : extrait sec dégraissée.

EST : extrait sec total.

MG : matière grasse.

I.6 Mesure du taux d'humidité

2g de poudre du lait ont été séché dans une coupelle à l'étuve à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 2h

[149]. Le taux d'humidité est exprimé en pourcentage selon la formule suivante:

$$\text{Humidité (\%)} = (P1 - P2) * 100 / (P1 - P3)$$

P1 : poids initial de l'échantillon et de la coupelle.

P2 : poids final de l'échantillon et de la coupelle après séchage.

P3 : poids de la coupelle vide.

I.7 Mesure de la viscosité

Mode opératoire

La viscosité du RAIB est mesurée à 20°C avec un viscosimètre de COUETTE mené d'un bain thermostaté (figure 01).

-Insérer 50ml du produit dans le deuxième cylindre puis le fixer vers le cylindre immobile ;

-ensuite mettez l'appareil en marche.

-attendre jusqu'à stabilisation de la mesure.

✚ Expression des résultats

La lecture se fait directement sur l'appareil, la valeur est exprimée en mpa.s.

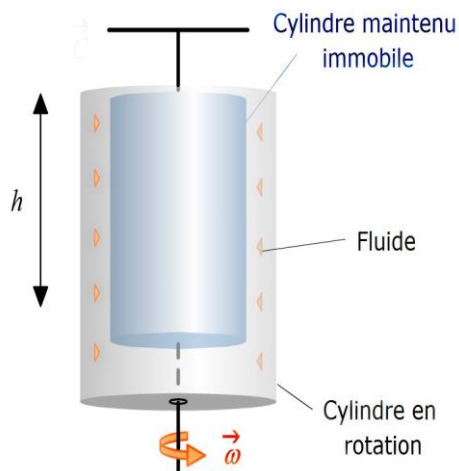


Figure 1 : Viscosimetre de couette

II. Modélisation et Optimisation d'une préparation industrielle laitière « RAIB »

✚ Le model expérimental est divisé en deux parties

II.1 Tests préliminaires effectués

Avant la modélisation et l'optimisation, plusieurs expériences ont été réalisées en étudiant quelques paramètres de fabrication pour déterminer les domaines d'études, de différents facteurs, à savoir : la quantité de poudre de lait 26 % de MG et d'amidon, ainsi que le temps de maturation.

Les échantillons ont été incubés à une température de 26 - 28°C. Des analyses physico-chimiques ont été effectuées pour chaque échantillon (pH; Acidité; Est; MG).

✚ Ce tableau résume tous les essais effectués :

Tableau 2: Essais préliminaires

N° essais	Quantité de poudre de lait	Quantité de ferments et présure
1 ^{er}	58g PDL (26%) +25g PDL (0%)	0.02 g de ferment+0.5 ml de présure
2 ^{eme}	58g PDL (26%) +25g PDL (0%)	0.04 g de ferment+0.5 ml de présure
3 ^{eme}	58g PDL (26%) +25g PDL (0%)	0.02g de ferment+1 ml de présure
4 ^{eme}	48g PDL (26%) +35 g PDL (0%)	0.04 g de ferment+0.5 ml de présure
5 ^{eme}	58g PDL (26%) +25 g PDL (0%)	0.02 g de ferment+0.5 ml de présure
6 ^{eme}	65g PDL (26%) +30 g PDL (0%)	0.02 g de ferment+0.5 ml de présure
7 ^{eme}	65g PDL (26%) +30 g PDL (0%)	0.02g de ferment+0.5 ml de présure
8 ^{eme}	58g PDL (26%) +25 g pdl (0%) + 5g AMD	0.02 g de ferment+0.5 ml de présure
9 ^{eme}	48g PDL (26%) +35g PDL (0%)+5g AMD	0.04 g de ferment+0.5 ml de présure
10 ^{eme}	48g PDL (26%) +35g PDL (0%) + 5g AMD	0.04 g de ferment +1 ml de présure

- De 1 à 7 sans amidon PDL : poudre de lait
- De 8 à 10 avec amidon AMD: amidon

II.1.1 Construction du plan d'expériences

 **Choix des paramètres ou bien choix des facteurs est de les optimiser en utilisant le model de box behnken**

D'après les études préliminaires étudiées au laboratoire nous avons constaté que les paramètres qui influent le plus sur les propriétés physico-chimiques et organoleptiques du produit sont :

- Le gout dépend de l'acidité.
- La texture dépend de la viscosité.

C'est pour cela nous avons choisi d'étudier ces trois facteurs différents à savoir :

- La poudre de lait 26%

- Amidon.
- Le temps de maturation.

Le model utilisé est un modèle factoriel fractionnaire à trois niveaux développés par Box et Behnken en 1960. Les trois facteurs (X_1, X_2, X_3) sont représentés en trois niveaux codés par -1, 0, et +1 pour la valeur minimale, moyenne et maximale respectivement et le nombre des expériences (N) nécessaire pour le développement du modèle Box-Behnken est défini comme suit :

$$N = 2 * k * (k - 1) + C_0$$

Où :

N : Nombre d'expérience.

K : Est le nombre des facteurs

C_0 : Est le nombre de points centraux.

Le Tableau (3) représente les facteurs utilisés ainsi que leurs niveaux

Tableau 3 : représente les facteurs utilisés ainsi que leurs niveaux.

Niveau	-1	0	+1	Variables codée
Poudre de lait 26%(g)	35	47.5	60	X_1
Amidon (g)	0	2.5	5	X_2
Temps de maturation (h)	9	13.5	18	X_3

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 la réponse (acidité et viscosité). la forme générale de l'équation est mentionnée dans le chapitre précédent.

II.1.2 Combinaisons réalisées

La réalisation du plan de Box-Behnken a été effectuée à l'aide du logiciel MODDE 6.0, le plan généré (tableau 4) comprend 14 essais dont l'essai centré (0, 0, 0) ont répété deux fois

au centre du domaine d'étude [135], pour l'étude des interactions présentes entre les différents facteurs ainsi que la détermination de leurs valeurs optimales [139], la matrice d'expérience est présentée dans le tableau (5).

Tableau 4 : Différentes combinaisons réalisées

	1	2	3	4	5	6	7
	Exp No	Exp Name	Run Order	Incl/Excl	Poudre de lait 26	AMIDON	TEMPS DE MATURATION
1	1	N1	1	Incl	35	0	13,5
2	2	N2	5	Incl	60	0	13,5
3	3	N3	13	Incl	35	5	13,5
4	4	N4	9	Incl	60	5	13,5
5	5	N5	4	Incl	35	2,5	9
6	6	N6	10	Incl	60	2,5	9
7	7	N7	12	Incl	35	2,5	18
8	8	N8	6	Incl	60	2,5	18
9	9	N9	11	Incl	47,5	0	9
10	10	N10	14	Incl	47,5	5	9
11	11	N11	7	Incl	47,5	0	18
12	12	N12	3	Incl	47,5	5	18
13	13	N13	2	Incl	47,5	2,5	13,5
14	14	N14	8	Incl	47,5	2,5	13,5

Tableau 5 : Matrice d'expérience du plan de Box Behnken.

Factors: 3 (uncontrolled: 0)		Responses: 2	Runs: 14	Objective: RSM
	1	2	3	4
1	Exp No	Poudre de lait 26	AMIDON	TEMPS DE MATURATION
2	1	-1	-1	0
3	2	1	-1	0
4	3	-1	1	0
5	4	1	1	0
6	5	-1	0	-1
7	6	1	0	-1
8	7	-1	0	1
9	8	1	0	1
10	9	0	-1	-1
11	10	0	1	-1
12	11	0	-1	1
13	12	0	1	1
14	13	0	0	0
15	14	0	0	0

Une fois la modélisation effectuée, il faut valider les modèles obtenus.

Pour cela, des analyses statistiques sont à considérer : le coefficient de détermination R^2 et le coefficient de détermination ajustée R^2_{adj} .

Après l'étape de la modélisation, nous représentons les modèles graphiquement à l'aide des courbes des surfaces de réponse qui permettent d'observer le comportement des réponses en fonction des paramètres afin d'optimiser le système expérimental (paramètres de la réaction).

II.1.3 Analyse statistique

Les résultats expérimentaux du plan d'expérience de Box-Behnken sont traités par logiciel MODDE plus précisément le MODDE 6.0 (qui est un logiciel de statistique dans lequel une partie est consacrée aux plans d'expérience).[135]

Le logiciel **MODDE** a été utilisé pour déterminer les coefficients des polynômes pour chaque réponse. Le degré de signification des coefficients a été déterminé à l'aide du test Student et de la valeur de p. La vérification des modèles ajusté a été réalisé par le coefficient de régression R^2 et leurs signification statistique a été faite par le t-test. Lorsque R^2 présente des valeurs élevées, il indique que le modèle prévoit correctement les nouvelles observations et quand il présente des valeurs faibles ça montre que le modèle ajuste bien les données existantes.

II.1.3.1 Probabilité P

La statistique la plus importante dans le tableau de l'analyse de la variance est la valeur de P. Cette valeur peut prendre des valeurs comprises seulement entre 0 et 1. Si elle est inférieure à 0.05, on conclut que l'effet est significatif et si elle est inférieure à 0.01, il est possible de conclure que le facteur est hautement significatif.

II.1.3.2 Coefficients de détermination (R^2 , $R^2_{\text{ajusté}}$)

On définit le coefficient de détermination R^2 comme étant la fraction des variations de la réponse expliquée par le modèle seul. Ce coefficient est donné par la relation ci-dessous :

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \bar{Y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{Y})^2}$$

Le R^2 est donc une mesure de la qualité du modèle qui prend des valeurs comprises entre 0 et 1. S'il est proche de 1, le modèle permet de retrouver les valeurs des réponses mesurées. S'il est égal à 0, le modèle n'explique rien.

On définit de la même façon le coefficient de détermination ajusté R^2_{aju} comme étant la fraction des variations de la réponse expliquée par le modèle seul, relativement aux degrés de liberté correspondants. L'expression de R^2_{aju} est donnée par :

$$R^2_{aju} = 1 - \frac{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - v_{modèle}}}{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n - 1}}$$

Du fait de la prise en compte des degrés de liberté, on a toujours $R^2_{aju} \leq R^2$.

II.1.3.3 Validation du modèle

Dans la pratique, trois méthodes de validation sont utilisées :

- Test de signification globale de la régression (Teste de validation 1).
- l'analyse du manque d'ajustement (Teste de validation 2).
- l'utilisation de points tests.

II.1.3.3.1 Test de validation 1

La qualité globale du modèle mathématique ajusté permet de savoir si ce modèle résume correctement les résultats des essais du plan d'expériences et si cela aide la comparaison de la variance attribuable à la régression de la variance résiduelle, au moyen du test de Fisher, pour ce faire, on calcule ainsi. [147]

$$F_1 = \frac{SS_{reg}/v_{reg}}{SS_{res}/v_{res}}$$

Avec \bar{y} valeur moyenne des réponses mesurées,

v_{reg} : nombre de degrés de liberté (ddl) associé à la somme des carrés des écarts à la moyenne de la régression,

v_{res} : nombre de degrés de liberté associé à la somme des carrés des résidus.

La valeur de ce rapport doit être supérieure à la valeur critique de Fisher à un niveau de confiance supérieur à 95% ($F_{0,05}(v_{reg}, v_{res})$) pour que la régression soit significative.

II.1.3.3.2 Test de validation 2

Il nécessite une analyse de la variance qui consiste à évaluer et comparer entre elles les variances du manque d'ajustement, expérimentales et résiduelles. Ces variances ont, en désignant par v le nombre de degrés de liberté associé à une somme de carrés (SS), les expressions suivantes :[147]

Variance résiduelle

$$SS_{res} / v_{res}$$

Variance expérimentale

$$SS_{exp} / v_{exp}$$

Variance du manque d'ajustement

$$SS_{aju} / v_{aju}$$

La somme des carrés de la variance due au manque d'ajustement (SS_{aju}) et le nombre de degrés de liberté (v_{aju}), qui lui est associé, sont calculés par :

$$SS_{aju} = SS_{res} - SS_{exp}$$

$$v_{aju} = v_{res} - v_{exp}$$

Le modèle est validé si la variance due au manque d'ajustement, est non significative, c'est-à-dire si la valeur du rapport F défini par :

$$F_2 = \frac{SS_{aju} / v_{aju}}{SS_{exp} / v_{exp}}$$

Est inférieure à la valeur critique de Fisher : $F_{0,05}(v_{aju}, v_{exp})$.

II.1.3.3 Validation par les points tests

Elle consiste à réaliser des expériences supplémentaires en des points situés à l'intérieur du domaine d'étude, et à comparer les valeurs mesurées à celles calculées à partir du modèle. Ce dernier est validé si les différences ($y_i - \eta_i$) entre les valeurs mesurées y_i et calculées η_i ne sont pas statistiquement significatives. [147]

Meilleur est l'ajustement du modèle si :

- ✓ R^2 proche de 1
- ✓ R^2 maximum
- ✓ $\text{Prob}F_1 < 5\%$ F_2 le plus grand possible.
- ✓ $\text{Prob}F_2 > 5\%$ F_1 le plus grand possible.

II.1.3.4 Courbes d'iso-réponses et surfaces de réponses

L'exploitation du modèle validé est aussi réalisée graphiquement en traçant en 2D¹ les courbes d'iso-réponses). Pour ce faire, on choisit, à chaque fois, deux variables à étudier. Les niveaux des autres variables étant fixés (par exemple, à leur valeur moyenne). En ajoutant une troisième dimension au graphe des courbes d'iso-réponses, pour indiquer les valeurs de la réponse, on obtient une surface de réponse.

III. Analyses microbiologiques du produit fini:

Matériels et méthodes

Le matériel, l'appareillage, les réactifs, produits chimiques et les milieux de culture utilisés dans la présente étude sont cités dans les tableaux suivants :

Tableau 6: Matériels utilisés

Verreries	Appareillages	Outils
Flacons stériles	Autoclave	Portoirs
Tubes à essais stériles	Bec Bunsen	Briqué
Pipettes Pasteur	Bain-marie	Gants
Béchers	Etuves réglées à 30°C, 37°C	Charlotte
Pipettes stériles	et à 44°C	Bavette
Cloches de Durham	Compteur approprié	
Micropipettes		

Boîtes de pétrie

Tableau 7 : Milieu de culture et réactifs utilisés (voir annexe 3)

Milieux solides	Milieux liquides	Réactifs / Colorants
Gélose Hektoene.	Eau peptonnée tamponnée.	Réactifs de Kovacs
Gélose Baird Parker.	Eau peptone exempte	Émulsion de jaune d'œuf
Gélose xylose lysine désoxycholate (XLD)	d'indole. Liquide Ringer.	Tellurite de potassium
Gélose au Bouillon lactose au vert brillant (V.R.B.L).	Bouillon Muller Kauffmann Bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB). Bouillon rappa port. Schubert.	

III.1 But des analyses microbiologiques

Le contrôle microbiologique a pour but d'apprécier les conditions hygiéniques de fabrication d'un produit alimentaire et le respect de conservation. En effet, les analyses microbiologiques sont un moyen d'investigation influent en matière de contrôle de la qualité et de la répression des fraudes, car elles permettent de révéler la présence ou l'absence de microorganismes pathogènes et/ou de leurs toxines. [30]

L'analyse microbiologique de Raib est une étape importante qui vise d'une part à conserver les caractères organoleptiques et sensoriels de Raib, donc d'allonger sa durée de vie et d'autre part, à prévenir les cas d'empoisonnements alimentaires liés à leur transmission au consommateur. Sur le plan microbiologique, nous avons effectué le dénombrement et la recherche des microorganismes susceptibles d'évoluer dans Raib.

III.2 Méthode de dénombrement des organismes microbiens dans le lait fermenté

« Raib »

On entend par « organismes de contamination » tous microorganismes autres que ceux responsables de fermentations spécifiques du type de lait fermenté considéré. [150]

Le tableau présente les germes recherchés dans le produit fini analysé en référence à la législation en vigueur qui régit le type d'analyses bactériologiques du produit considéré :

Tableau 8 : Analyses microbiologiques pour le produit fini

Produit analysé	Germes recherchés	Références
Le produit fini (raib)	Les coliformes totaux à 37 °C	J.O.R.A. n° 43 ,2004
	Les coliformes fécaux à 44 °C	J.O.R.A. n° 43 ,2004
	Staphylocoques a coagulase positive	J.O.R.A. n°68,2014
	Les Salmonelles	J.O.R.A. n°44,2017

III.2.1 Echantillonnage

L'échantillonnage est un point clef pour l'obtention de résultats valides. Sa bonne mise en œuvre permet d'obtenir une bonne représentativité de l'échantillon prélevé. [33]

Avant d'effectuer toute analyse, il convient de procéder à une série d'opérations très importantes dont dépend en grande partie la qualité des résultats. Pour se faire, il faut choisir des échantillons de volume suffisant et représentatif.

III.2.2 Technique de prise d'essai

Pour une denrée alimentaire de même nature, l'échantillon doit être réparti, au moins, en cinq (5) unités issues d'un même lot. [150]

III.2.3 Préparation des dilutions

La dilution a pour objectif de réduire le nombre de germes par unité de volume pour faciliter l'examen microbiologique. La préparation des dilutions pour le produit fini (Raib) est réalisée comme suit (voir **Figure N° 2**) :

- ❖ L'échantillon sera conservé dans un réfrigérateur (3 à 4 °C) jusqu'à l'analyse bactériologique qui sera effectuée dans un délai maximum de 24 h après le prélèvement.
- ❖ Prélever, en s'entourant des précautions aseptiques habituelles, un échantillon de 10 ml de lait fermenté (raib) que l'on déposera dans un flacon ou récipient approprié, fermé à vis ou bouché, contenant 90 ml d'une solution de Ringer au quart et quelques perles de verre. Mélanger soigneusement en agitant le flacon 25 fois de haut en bas avec une amplitude de 30 cm environ. [150], Pour obtenir une solution mère diluée 10^{-1} .
- ❖ A partir de la suspension mère, on prélève aseptiquement à l'aide d'une pipette Pasteur, un volume de 1 ml, qu'on introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'une solution de Ringer après homogénéisation, on obtient la dilution 10^{-2} .
- ❖ De la même façon on obtient la dilution de 10^{-3} .

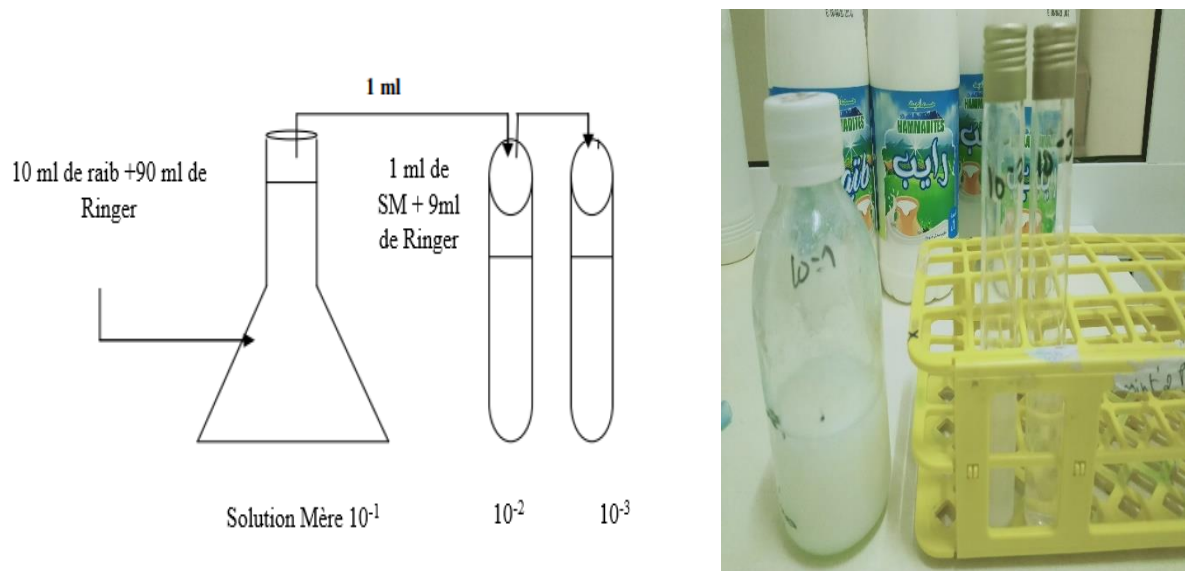


Figure 2 : a-schéma représentatif des solutions diluées
b- illustration de préparation des solutions diluées

III.3 Les germes recherchés

III.3.1 Les coliformes

III.3.1.1 Principe

Le milieu sélectif pour le dénombrement des coliformes est le VRBL (Gélose au Bouillon lactose au vert brillant) qui permet à ces germes de fermenter plus ou moins rapidement le lactose. Pour cela, on utilise des milieux de culture contenant du lactose comme source de carbone et d'énergie.

III.3.1.2 Technique

-Liquéfier le milieu de culture (VRBL) en le mettant dans un bain-marie à 100 °C pendant une 1 h et 30 min maximum, ensuite le refroidir à 45°C devant un Bec Bunsen et sur une paillasse bien stérile.

-Prélever 01 ml à l'aide d'une micropipette de chaque dilution choisie 10^{-1} (coliformes fécaux) , 10^{-3} (coliformes totaux).

-Déposer 01 ml de l'échantillon à examiner dans des boîtes de pétrie stériles.

-Ajouté environ 15 ml de milieu de culture (VRBL).

-Ensuite on mélange soigneusement en faisant des mouvements en huit (08) ou plus (+) seront faites pour bien mélanger la gélose a l'inoculum ensuite les boîtes seront laissé solidifier sur la paillasse.

- Incuber les boîtes dans une étuve pendant 24 à 48h à 30°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux. (Figure n °3)

III.3.1.3 Lecture et numération

La lecture se fera au bout de 24h et consiste à repérer et à dénombrer les colonies rouges ayant poussé en masse de 0.5 mm mais fluorescentes.

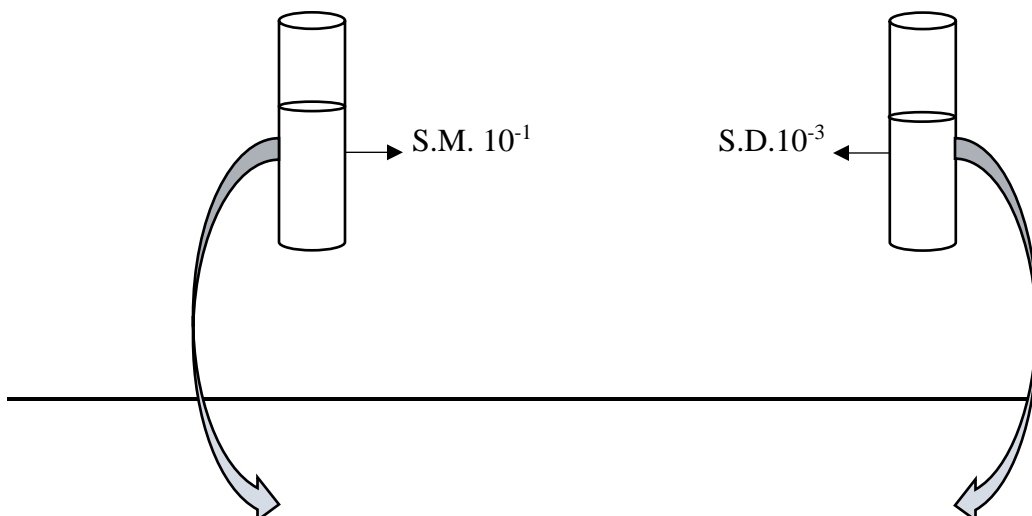
- Le nombre trouvé est multiplié par l'inverse de la dilution.
- Les colonies non fluorescentes ne sont ni dénombrées, ni comptée

✚ Coliformes totaux

Compter les colonies rouges en tenant compte des boîtes ayant un nombre de colonies compris entre 30 et 300. [31]

✚ Coliformes fécaux

La lecture se fait par le comptage des colonies rouges ayant un diamètre 0,5mm.



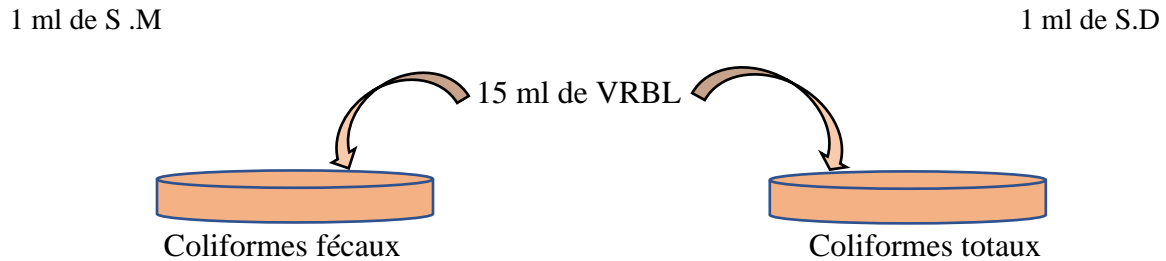


Figure 3 : schéma d'ensemencement en masse des coliformes

III.3.1.4 Test de confirmation des coliformes fécaux

Le test de confirmation : appelé encore test de **Mac Kenzie** est réservé à la recherche des Coliformes fécaux parmi lesquels on redoute surtout la présence d'*Escherichia Coli*.

Chaque tube est préalablement muni d'un petit tube à essai renversé (cloche de DURHAM) destiné à piéger la formation éventuelle de gaz le vert brillant inhibe les germes Gram+, et la bile, par son fort pouvoir tensioactif liée à la présence de sels biliaires, inhibe la plupart des germes qui ne sont pas d'origine intestinale.[152]

Après ensemencement, les milieux sont incubés à 30°C pendant 24 h à 48 h. Sont considérés comme positifs les tubes dans lesquels il y a croissance et une production notable de gaz (1/10 au moins du volume de la cloche).[152]

Une colonie caractéristique est inoculée dans un tube de Bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB) avec cloche de DURHAM, l'autre contient le milieu de Schubert + quelque goutte de réactif de Kovacs muni d'une cloche de DURHAM, et une autre dans un tube d'eau peptone exempt de d'indole (E. P.E.I) ; après les incubes à 44°C pendant 24 h il y a production de gaz (BLBVB), d'on peut soupçonner la présence d'*Escherichia. Coli*

Ces recherches peuvent être confirmées par l'isolement et l'identification des bactéries productrices de gaz. [152]

✚ Quelques fois les milieux de culture sont utilisés à double concentration dans le but de préserver une composition finale adéquate au milieu après addition d'un volume d'inoculum égal au volume du milieu. Ceci permet la numération d'un nombre peu élevé de coliformes.

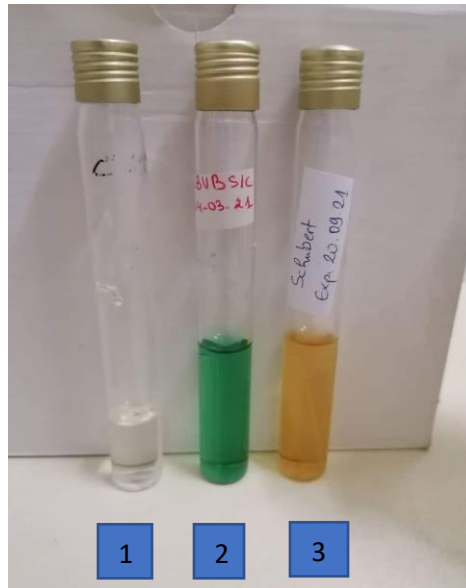


Figure 4 : Photographie du test de confirmation des coliformes fécaux au labo

1- eau peptone/ 2 - milieu de BLBVB/ 3- milieu de Schubert

Ont été considérés comme positifs les tubes présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche)
- Un trouble microbien accompagné d'un virage du milieu au jaune (Ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu).
- l'apparition d'un anneau rouge à la surface du milieu après l'addition du réactif du Kovacs.

III.3.1.5 Lecture et expression des résultats

✓ La croissance et la multiplication des germes recherchés se traduit par la fermentation du lactose et l'apparition d'un trouble associé à une production d'un gaz dans les cloches de Durham (volume au minimum égal au 1/10ème du volume de la cloche) en moins de 48 heures. Elle indique la présence de coliformes.

✓ Le résultat est exprimé par le nombre le plus probable (NPP) de coliformes contenus dans un gramme de produit. Tableau de Mac Grady de dénombrement de germes pour une série de trois tubes par la méthode NPP est citée en (annexe 3)

III.3.2 Recherche et dénombrement des Staphylocoques a Coagulase positive

Méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques a coagulase positive : La présente méthode spécifie une technique horizontale pour le dénombrement des staphylocoques a coagulase positive dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale, par comptage des colonies obtenues sur milieu solide (milieu de Baird-Parker) après incubation en aérobiose à 35° C ou 37° C.

III.3.2.1 Principe

Ensemencement en surface d'un milieu gélosé sélectif coulé dans deux séries de boites, avec une quantité déterminée de l'échantillon pour essai le produit à examiner est de la suspension mère, Incubation de ces boites à 37° C pendant 24 h à 48 h.

Calcul du nombre de staphylocoques a coagulase positive par millilitre ou par gramme d'échantillon, à partir du nombre de colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques obtenues dans les boites retenues aux niveaux de dilution donnant un résultat significatif, et confirmées s par un résultat positif de l'essai de la coagulase. [153]

III.3.2.2 Technique

- Le milieu utilisé est la gélose de Baird Parker (BP) additionné d'émulsion de jaune d'œuf et de tellurite de potassium (5 ml de jaune d'œuf et 1 ml de tellurite de potassium pour 90 ml de gélose), il est préalablement coulé dans les boîtes de pétri, l'ensemencement se fait en surface (par étalement).
- A l'aide d'une micropipette on prélève environ 1 ml de solution mère 10^{-1} . Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé en évitant de toucher les bords de la boite avec l'étaleur (pipette pasteur) Laisser sécher les boites, avec leur couvercle en place, pendant, environ, 15 min a la température ambiante. [153]
- Retourner les boites préparées et les incubées à 37°C pendant 24 à 48 h. Les Staphylocoques forment des colonies noire ou gris de 1 à 2 mm de diamètre et entourées d'un halo opaque plus ou moins clair et les compter dans chaque boite. [154]

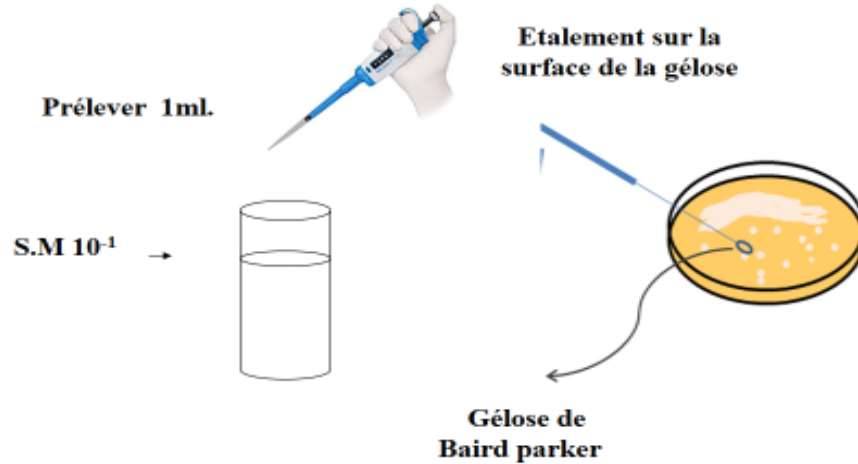


Figure 5 : Schéma représentatif du dénombrement en surface des staphylocoques

III.3.2.3 Lecture

✚ Calcul du nombre N de staphylocoques a coagulase positive identifiés présents dans la prise d'essai

Pour celles des boîtes qui contiennent 300 colonies au maximum, dont 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques pour deux dilutions successives, calculer le nombre de staphylocoques a coagulase positive pour chaque boîte tel qu'il est indiqué et calculer le nombre N de staphylocoques a coagulase positive identifiés présents dans l'échantillon pour essai, en tant que moyenne pondérée à partir des deux dilutions successives à l'aide de l'équation suivante

$$N = \sum \alpha / V * (n_1 + 0,1 * n_2) * d$$

$\sum \alpha$: Somme des colonies de staphylocoques a coagulase positive identifiées sur l'ensemble des boîtes retenues.

V : Volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte, en millilitres.

n_1 : Nombre de boîtes retenues à la première dilution.

n_2 : Nombre de boîtes retenues à la seconde dilution .

d : Taux de dilution correspondant à la première dilution retenue (la suspension mère est une dilution)

III.3.3 Recherche des salmonelles

III.3.3.1 Méthode horizontale pour la recherche des salmonella spp

La présente méthode a pour objet de fixer une technique horizontale pour la recherche des *Salmonella spp*, incluant *Salmonella Typhi* et *Salmonella Paratyphi*. Elle est applicable aux produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale

Remarque : Cette méthode peut ne pas permettre de retrouver toutes les *Salmonella Typhi* et *Paratyphi*.

III.3.3.2 Principe

La recherche des salmonelles nécessite quatre phases successives, Les *Salmonella* peuvent, en effet, être présentes en petit nombre et sont souvent accompagnées d'un nombre beaucoup plus grand que d'autres micro-organismes appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* ou à d'autres familles. En conséquence, un pré enrichissement et un enrichissement sélectif sont souvent nécessaires, afin de pouvoir rechercher les *Salmonelles* en nombre restreint ou ayant subi une altération.

III.3.3.3 Technique

Pre-enrichissement des salmonelles

Ensemencement de 25 ml de la solution mère 10^{-1} de Raib dans 225 ml de l'eau peptonée tamponnée à la température ambiante dans un flacon bien stérile la préparation doit être homogénéiser, puis incubation à 37°C pendant 24h. [150]

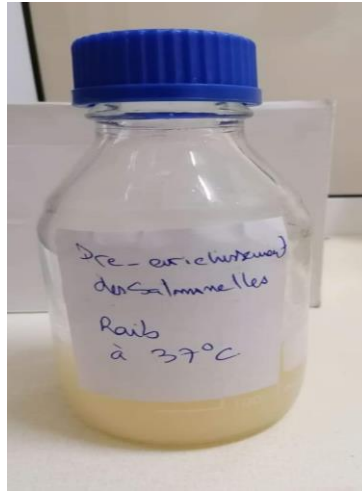


Figure 6 : Photographie de pré-enrichissement des salmonelles au labo.

✚ Enrichissement des salmonelles

Transférer 0,1 ml de la solution pré-enrichissante dans un tube contenant 10 ml de bouillon Rappa port puis incubation de tube ensemencé à 41 °C pendant 24h.

Transférer 1 ml de la solution pré-enrichissante dans un tube contenant 10 ml de bouillon de Muller-Kauffmann puis incubation de tube ensemencé à 37 °C pendant 24h. [150]

✚ Isolement et identification des salmonelles

On a pris quatre boîtes de pétrie avec deux différents de gélose et de faire l'ensemencement en strie :

- ✓ Gélose xylose lysine désoxycholate (XLD).
- ✓ Gélose Hektoene.

A partir de la culture obtenue dans le bouillon Rappa port et Muller- Kauffmann 24 h d'incubation, une fois la gélose est collée on passe à l'ensemencement en strie, une goutte prélevée avec une pipette pasteur à la surface de deux boîtes de Petri contenant le milieu d'isolement sélectif gélose XLD, de façon à permettre le développement de colonies bien isolées.[150]

Procéder de la même manière avec le deuxième milieu d'isolement sélectif gélose Hektoene en se servant deux nouvelles anses et de boîtes de Petri de dimensions appropriées.[150]

Retourner les boîtes, les placer dans une étuve réglée à 37 °C pendant 24h.

III.3.3.4 Lecture

Après 24 h d'incubation, examiner les boîtes afin de rechercher la présence de colonies typiques de Salmonella, ainsi que les colonies atypiques susceptibles d'être des Salmonelles. Marquer leur position sur le dessous de la boîte.

- ✓ Les salmonelles présentent des colonies vertes ou bleuâtres, avec un centre noir pour la majorité des souches. Le centre noir signifie la formation de sulfure d'hydrogène (H_2S^+).
 - ✓ Les colonies typiques de Salmonella cultivées sur la gélose XLD ont un centre noir et sont entourées d'un halo clair transparent rouge dû à un changement de l'indicateur du milieu.
 - ✓ Les Salmonella $H_2 S$ négatif (par exemple Salmonella Paratyphi A) cultivées sur la gélose XLD sont roses avec un centre rose foncé et les Salmonella lactose positif cultivées sur la gélose XLD sont jaunes sans noircissement.
 - ✓ Dans le 2^{em} milieu d'examiner la présence de colonies qui, d'après leurs caractéristiques, peuvent être considérées comme des Salmonella présumées
- ✚ La recherche de ces germes s'effectue par des tests de présence ou absence de ce dernier car la réglementation exige 0 germe par g de produit.

I. Analyses physico-chimiques

I.1 Matières premières

Les résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lait et de l'eau de processus ont été effectuées au laboratoire de contrôle qualité et conformité FATMI.

I.1.1 Poudre de lait

Les résultats des analyses physico-chimiques de la poudre de lait sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Paramètres physico-chimiques de la poudre de lait.

Paramètres	Poudre 0%		Poudre 26%		Références
	Résultats	Norme (NA)	Résultats	Norme (NA)	
PH	5.53	5.50-5.880	5.60	5.50-5.80	NF V04-350
Acidité	0.151	<0.15%	0.102	<0.15%	NF V04-349
MG	0.03%	<0.5%	26.1%	>26%	ISO 1211
Humidité	2.73%	<4%	2.24%	<4	NA689

L'acidité obtenue qui est égale à 0,102% pour la poudre de lait à 26% MG est conforme à la norme par rapport à la poudre de lait à 0% MG où il y'a une légère augmentation de l'acidité pour une teneur de 0,151% par apport à la norme fixée par la réglementation qui doit être <0,15% mais cette élévation reste négligeable.

La valeur de pH obtenue ($\pm 6,53$ et $\pm 6,60$) pour les deux poudres de lait (26% et 0% MG) est conforme aux normes, ce qui explique la fraîcheur du lait utilisé pour la fabrication de cette poudre.

Par ailleurs, la composition en matière grasse des deux poudres de lait (26% et 0% MG) est conforme aux normes, ce qui prouve que la composition en matière grasse a été respectée.

Les résultats du test d'humidité obtenus pour les deux poudres sont inférieurs à 4% ce qui empêche le développement des microorganismes et toutes altérations susceptibles de la rendre impropre à la consommation. D'autres facteurs spécifiques interviennent dans le maintien de la bonne qualité de ces poudres, tels que le conditionnement dans des sacs en polyéthylène doublés de sacs en papier à l'extérieur et leur stockage à des températures convenables afin que les taux d'humidité reste stables.

D'après les résultats d'analyses physicochimiques de la poudre de lait, il en ressort que les matières premières utilisées sont de bonnes qualités physicochimiques et qu'elles sont apte

à être utilisées comme matières premières pour la fabrication d'autres produits alimentaires tels que (yaourt, Lben, Raib ...).

I.1.2 Eau de processus

Tableau 2: Paramètres physicochimiques de l'eau de processus.

Paramètres	Résultats	Unités	norme	Méthodes de référence
pH a 20°C	7.86	/	6.5-8.5	NA 751
Conductivité	677	µs/cm	2800	NA 749
Densité	1.0556	/	/	PYCNOMETRE
Dureté totale	39.4	°f	50°f	NA 752
TA	0	meq/l	/	NFT 90036
TAC	5.6	meq/l	/	NFT 90036
Calcium	104	mg/l	200mg/l	NA 1655
Magnésium	32.56	mg/l	150mg/l	NA 1655 et752
Chlorure	105.36	mg/l	500mg/l	NA 6362
Sulfates	138.26	mg/l	400mg/l	NA 6361
Nitrates	0.122	mg/l	50mg/l	NA1656
Nitrites	0	mg/l	0.1mg/l	NA 1657
Résidu sec	488	mg/l	1500mg/l	Etuvage

Les résultats obtenus lors de l'analyse physico-chimique de l'eau de processus montrent que le pH de l'eau utilisé pour la reconstitution est conforme à la norme, La même observation concerne les valeurs de TH (valeurs inférieures à 25 °F). L'eau doit avoir un niveau de dureté acceptable. En effet, l'injection d'eau très dure ne permet pas d'avoir une bonne dissolution de la poudre de lait [24]. Il en est ainsi pour le titre alcalimétrique complet TAC.

Un pH élevé peut conduire à des dépôts incrustants dans les circuits de distribution. De plus, au-dessus de pH 8, il y a une diminution progressive de l'efficacité de la décontamination microbienne par le chlore. Par ailleurs, la chloration diminue le pH.

La dureté de l'eau influe sur l'état des canalisations et des appareils de chauffage. Une eau dure donne des dépôts de tartre dans les canalisations, les bouilloires, les chauffe-eaux ainsi

que dans les filtres des robinets. En revanche, une eau douce est agressive vis-à-vis des canalisations.

La dureté des eaux montre que le phénomène d'entartrage des conduites est essentiellement dû aux conditions de température très favorables. Cette dernière conjuguée à la forte pression des eaux provoque la transformation des bicarbonates en carbonate et la libération du CO₂ et non à la teneur en Ca et Mg, ces derniers, en comparaison avec la norme de l'OMS, respectivement 200 et 150 mg. l⁻¹ sont acceptables.

L'inconvénient des chlorures est la saveur désagréable qu'elles communiquent à l'eau. Ils sont susceptibles de causer une corrosion dans les canalisations. La réglementation recommande une teneur en [Cl⁻] de l'eau de processus ne dépassant pas 600mg/l.

La température de l'eau est un facteur influençant également la mouillabilité et la dispersion de la poudre de lait. En raison de l'altération des protéines, la dispersion de la poudre dans l'eau se fait de préférence à une température comprise entre 40°C et 50°C

La présence de sulfates en quantité supérieure à 300 mg/L peut accélérer la corrosion du fer. Par contre, dans les installations de production d'énergie électrique, l'injection d'acide sulfurique qui modifie le titre alcalimétrique complet (TAC), permet de limiter les problèmes d'entartrage dans les circuits de réfrigération. La neutralisation d'un degré français de TAC nécessite l'injection d'un degré français d'acide pur, soit, dans le cas de l'acide sulfurique, une quantité de 9,8 g par m³ d'eau à traiter ; en conséquence, il se produit 9,6 g de sulfates par m³ et par degré TAC vacciné qui se retrouveront dans les rejets. Des teneurs limites en sulfates sont nécessaires pour certaines industries (textiles, brasseries, sucreries, etc.)

Sous l'action de bactéries sulfato-réductrices, peuvent se former des sulfures donnant lieu à des précipités de sulfure de fer. Dans certains terrains contenant des sulfures métalliques (fer, nickel, cuivre, etc.), leur oxydation peut donner des sulfates.

Les nitrates ont une toxicité indirecte par le fait qu'ils se transforment en nitrites par réduction des nitrates sous l'influence d'une action bactérienne.

D'après les résultats d'analyses physicochimiques de l'eau de processus, il en ressort que la matière première utilisée est de bonne qualité physicochimique.

II Optimisation des paramètres de production d'un lait fermenté type 'RAIB'

II.1 Etude préliminaire :

Des études préliminaires ont été réalisées dans le but de déterminer le domaine de variation (la valeur maximale et minimale) des différents paramètres (facteurs) d'optimisation: poudre de lait 26% de MG, amidon et temps de maturation. Pour cela, nous avons choisi d'étudier l'influence des paramètres physicochimiques : MG, acidité, EST pour chaque échantillon.

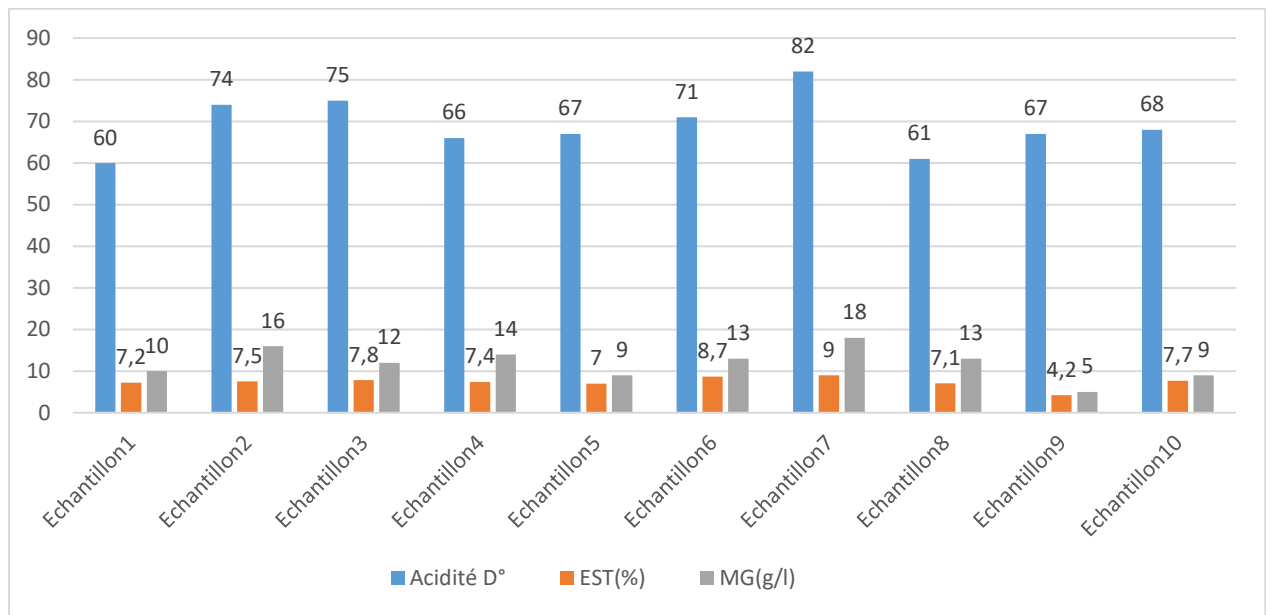


Figure 1: Présentation graphique des paramètres physicochimiques de différentes préparations.

D'après les résultats expérimentaux obtenus, les valeurs de l'Acidité, MG, EST de l'échantillon 2 et 7 sont proches des valeurs obtenus par **Luquet, 1985**, **DEBABI et al (2018)**, **Tantaoui-Eraki et al 1983**. A l'aide de ces dernières, nous avons déterminé et fixé l'intervalle ou varient la quantité des poudres 0%, 26% de MG: [35g-60g].

D'après l'expérience acquise par l'entreprise 'Etoile service' lors de la phase de développement du produit RAIB, et d'après les informations récoltées lors de l'étude bibliographique, nous avons choisi de réaliser notre optimisation sur les domaines: Amidon [0-5g], et le temps de maturation de 9 à 18h.

II.2 Plans d'expérience 'Box-Behnken'

II.2.1 Analyse des résultats

Les résultats des expériences réalisés par le plan Box-Behnken (BB, 14 essais).

La figure suivante représente la matrice obtenue par le plan (BB) :

MODDE - Copy of RAIB bon.mip - [Worksheet]											
File Edit View Design Worksheet Analysis Prediction Show Window Help											
acidité											
Factors: 3 (uncontrolled: 0)			Responses: 2		Runs: 14		Objective: RSM		Box Behnken - quadratic		Fitted with MLR
	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
	Exp No	Exp Name	Run Order	Incl/Excl	Poudre de lait 26	AMIDON	TEMPS DE MATURATION	acidité	Viscosité		
1	1	N1	1	Incl	35	0	13,5	75	70		
2	2	N2	5	Incl	60	0	13,5	70	115		
3	3	N3	13	Incl	35	5	13,5	75	110		
4	4	N4	9	Incl	60	5	13,5	74	70		
5	5	N5	4	Incl	35	2,5	9	29	1		
6	6	N6	10	Incl	60	2,5	9	27	1		
7	7	N7	12	Incl	35	2,5	18	85	125		
8	8	N8	6	Incl	60	2,5	18	80	100		
9	9	N9	11	Incl	47,5	0	9	27	1		
10	10	N10	14	Incl	47,5	5	9	31	6		
11	11	N11	7	Incl	47,5	0	18	74	110		
12	12	N12	3	Incl	47,5	5	18	75	105		
13	13	N13	2	Incl	47,5	2,5	13,5	74	106		
14	14	N14	8	Incl	47,5	2,5	13,5	74	80		

Figure 2 : Différentes combinaisons réalisées par modèle Box-Behnken.

D'après les résultats obtenus par le BBD, nous remarquons que les valeurs de l'acidité varient entre 27 et 85 D° et que la viscosité varie entre 1 à 125 m.pa/s, ce qui indique la pertinence du choix des paramètres d'optimisation qui sont : la quantité de poudre de lait 26%, et d'amidon et le temps de maturation.

II.2.2 Validation du modèle

Les expériences conçues permettent d'explorer et de comprendre la relation entre les facteurs et les réponses envisagées. Afin d'avoir de bonnes réponses, plusieurs facteurs doivent être vérifiés.

L'analyse de la variance de la régression du modèle montre que le model est très significatif ($P < 0.005$) et que le manque d'ajustement n'est pas significatif ($P > 0.05$) par rapport à l'erreur pure, ce qui confirme que le modèle est satisfaisant. Sachant que si dans un modèle, la P-value du manque d'ajustement est significatif ce modèle sera rejeté .[149]

II.2.3 Coefficient de détermination R^2

Selon Goupy, (2006) le R^2 est un paramètre qui nous indique la validité du modèle étudié, le coefficient de détermination de ce modèle est égale à 1 ($R^2 = 1$), et la valeur du coefficient de détermination ajustée est de R^2 ajustée = 0.99. Les résultats obtenus confirment que les valeurs réelles sont très proches des valeurs prédites.

II.3 Validation du modèle pour l'acidité :

II.3.1 Le coefficient de corrélation (R^2) :

L'analyse de la variance permet de calculer un paramètre statistique très utile qui est le coefficient de corrélation (R^2). Cette statistique est le rapport de la somme des carrés des réponses calculées (corrigées à la moyenne). Le coefficient de corrélation renseigne sur la qualité du modèle. Si cette grandeur se rapproche de 1, le modèle exprime une forte puissance d'explication. Si par contre R^2 se rapproche de 0, le modèle présente une faible capacité d'explication.

Dans la présente étude, le coefficient de corrélation (R^2) du model est égal à 0.994, ce qui signifie qu'uniquement 0.6% des variations ne sont pas expliquées par le model. De plus, la valeur du coefficient de corrélation ajusté est de l'ordre de R^2 ajusté = 0.98, ce qui est assez suffisant pour confirmer la haute significativité du model, sachant que le R^2 ajusté représente la valeur du coefficient de corrélation (R^2) après élimination des termes (coefficients) inutiles du model.

Un model contenant beaucoup de termes inutiles (non significatifs) aura une valeur du R^2 ajusté inférieure à celle du R^2 [155].

Le graphe (figure N° 03), confirme que la courbe des valeurs observés en fonctions des valeurs prévues, à parfaitement l'allure d'une droite, on constate l'accord étroit qui, existe entre les résultats expérimentaux et les valeurs théoriques prévues par le modèle.

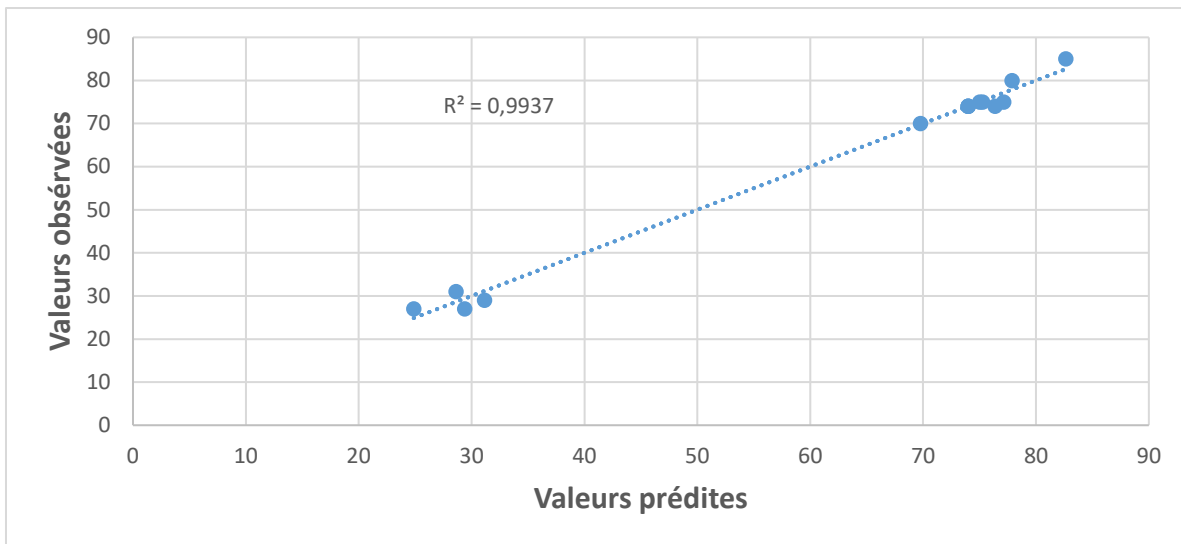


Figure 3: Représentation graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites pour l’acidité du produit.

II.3.2 Modèle global

L’analyse de la régression du modèle indique que les carrés des moyennes des modèles sont supérieurs aux carrés des moyennes des résidus (Tableau 3). Par ailleurs, les rapports de Fisher indiquent la valeur de 70.4454 pour le modèle de l’acidité, correspondant à une probabilité $p=0.000$. D’après ces résultats, nous pouvons conclure que le modèle exprime de fortes significativités vis-à-vis de la réponse expérimentale [156].

Tableau 3 : Analyse de la variance du modèle et défaut d’ajustement pour l’acidité.

Source	Degré de liberté (DF)	Somme des carrés (SS)	Somme moyennes des carrés (MS)	Rapport F	P value	Ecart type (SD)
Total	14	60564	4326			
Total corrigé	13	6499.71	499.978			22.3602
Constante	1	54064.3	54064.3			
Régression (Modèle)	9	6458.96	717.663	70.4454	0.000	26.7892
Résiduel	4	40.75	10.1875			3.19179
Manque d’ajustement	3	40.75	13.5833			
Erreur pure	1	1.77636e-013	1.77636e-013			4.21468e-007

II.3.3 Détermination des effets significatifs et des coefficients du modèle

Les valeurs des coefficients de régression du modèle sont données dans le tableau (04). Cette analyse a permis de confirmer la fiabilité du modèle quadratique ; en effet, la valeur de la probabilité P a été obtenue afin de déterminer l'effet significatif de chaque paramètre. Plus la valeur de P est petite, plus le coefficient du paramètre est significatif.

Tableau 4: Coefficient de régression estimée du modèle polynomial du second degré.

Acidité	Coefficient	Erreur standard	p-value (probabilité)
Constant	74	2.25693	5.15954e-006
Poudre de lait	-1.62499	1.12847	0.223287
Amidon	1.125	1.12847	0.375222
Temps de maturation	25	1.12847	2.45735e-005
Poudre de lait *amidon	1	1.59589	0.564901
Poudre de lait *temps de maturation	-0.750002	1.59589	0.662862
Amidon*temps de maturation	-0.75	1.59589	0.662863
Poudre de lait *poudre de lait	1.5	1.78426	0.447844
Amidon*amidon	-2	1.78426	0.325073
Temps de maturation*temps de maturation	-20.25	1.78426	0.000343666

La signification des facteurs est déterminée suivant la valeur obtenue de P (probabilité). C'est la valeur la plus importante dans le tableau d'analyse de la variance, cette valeur peut prendre des valeurs comprises entre 0 et 1.

Le diagramme de la figure (04) permet, de se rendre compte de l'importance des différents coefficients.

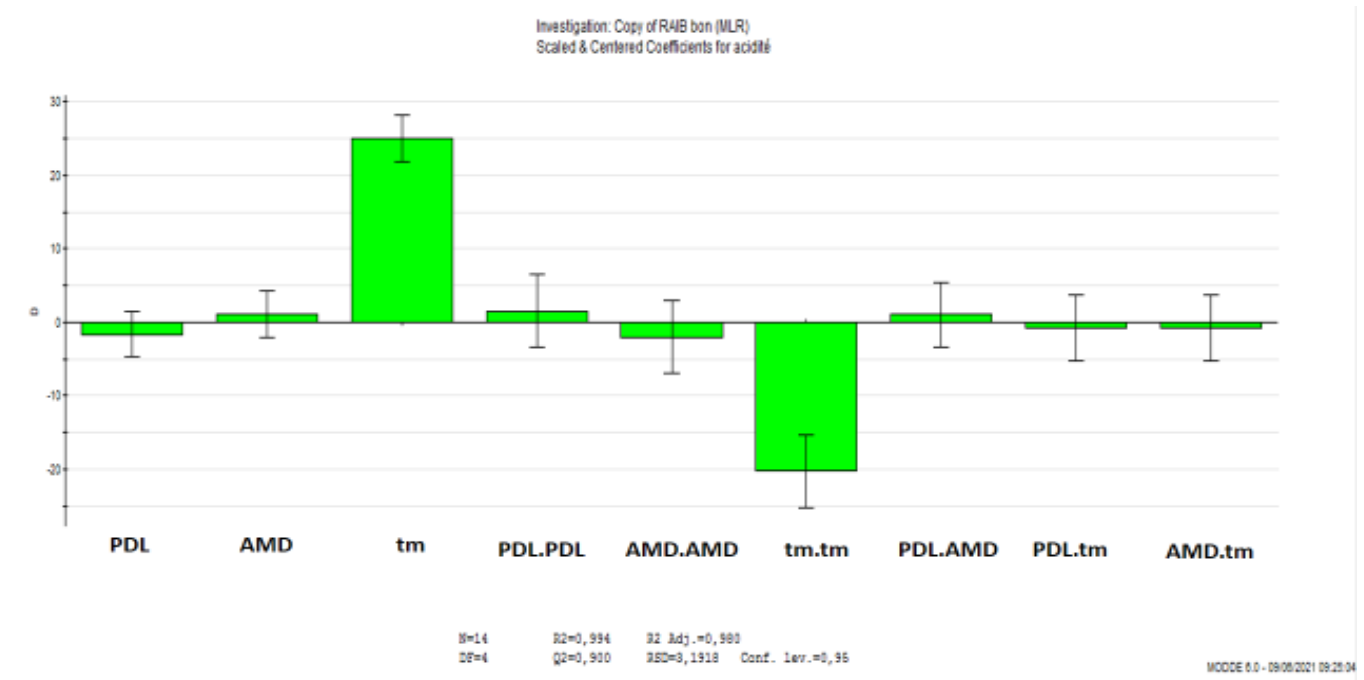


Figure 04 : Illustration des valeurs des coefficients

L'analyse du tableau (04) et la figure (04) montre que le temps de maturation a des effets fortement significatifs, les valeurs de P entre $5.15954e-006$ (0.000005) et 0.0003.

Les autres coefficients ont des valeurs de P supérieures à 0.05, ceci montre l'absence d'effets d'interactions et d'effets quadratiques significatifs.

Une valeur positive des coefficients de chacun des facteurs dans l'équation de régression indique que la réponse augmente avec le facteur et vice-versa. D'autre part les coefficients du modèle permettent d'évaluer l'influence des facteurs sur la réponse. On constate que les coefficients avec des valeurs élevées sont les facteurs les plus influençant.

II.3.3.1 Effets linéaires

Les résultats présentés dans le tableau (04) affirment qu'un seul paramètre possède une influence significative sur l'acidité qui est le temps de maturation (X_3) avec une probabilité « $P=2.45735e-005$ » et un coefficient positif de $X_3= 25$.

Pour les deux autres facteurs qui sont : la poudre de lait 26% (X_1) et l'amidon(X_2) n'ont pas d'effet significatif sur la l'acidité avec des probabilités respectivement : $P=0.223287$, $P=0.375222$.

II.3.3.2 L'effet d'interactions

L'analyse des résultats montre que toutes les interactions ne possèdent aucune influence significative ($P < 0,05$) sur l'acidité.

L'interaction X_1X_2 (PDL-AMD) a présenté un très faible effet sur l'acidité, avec une probabilité de 0.564901 et un coefficient de l'ordre 1, suivi par X_1X_3 (PDL-TM) avec une probabilité de 0.662862 et un coefficient de l'ordre de -0,750002. Enfin, l'interaction X_2X_3 (AMI-TM) avec un $P=0.662863$ et un coefficient de l'ordre de -0.75 (tableau1). Tout de même, l'effet d'interaction des différents facteurs a été rapporté par plusieurs auteurs [157].

II.3.3.3 L'effet quadratique

Les résultats obtenus, indiquent que les effets quadratiques X_1^2 (PDL-PDL), X_2^2 (AMI-AMI) sont non significatifs sur l'acidité, avec une probabilité de $P > 0,05$. Sauf X_3^2 (TM-TM) a un grand effet significatif avec une probabilité $P=0.000343666$ et un coefficient de -20.25 sur l'acidité comme le montre la figure 04.

Le temps de maturation ou d'incubation correspond au développement des micro-organismes (bactéries lactiques) qui ont un rôle essentiel dans la production de l'acidité de produit dans ce cas si on dépasse le seuil, l'interaction (tm.tm) aura un effet négatif sur l'acidité du produit, les résultats obtenus du modèle Box-Behnken sont en accord avec ce dernier.

II.3.4 Modèle mathématique

Dans l'absolu, le choix d'un plan d'expérience n'a pas de sens tant qu'il n'est pas subordonné au choix préalable d'un modèle mathématique. Les modèles les plus classiques sont les modèles polynomiaux (le plus souvent de degré inférieur ou égal deux) [158].

Le modèle mathématique postulé utilisé avec le plan de **Box-Behnken** pour trois facteurs est un modèle du second degré classique, volontairement simplifié par élimination des effets d'interactions jugés non significatifs dans l'analyse ce qui permettra de manipuler plus facilement cette expression réduite tout en gardant une qualité d'ajustement quasiment similaire [158].

D'après les résultats présentés dans le tableau (04), le modèle mathématique peut se présenter sous la forme d'un polynôme de second degré qui permet de décrire la réponse par l'équation suivante :

$$Y=74 - 1.62X_1+ 1.12X_2+ 25X_3+ X_1X_2- 0.75X_1X_3 - 0.75X_2X_3+ 1.5X_1^2 - 2X_2^2- 20.25X_3^2$$

Après élimination des coefficients non significatifs :

$$Y=74+25X_3-20.25X_3^2$$

Y : acidité ; X_3 : temps de maturation.

II.4 Validation de modèle pour la viscosité :

II.4.1 Le coefficient de corrélation (R²)

Dans la présente étude, le coefficient de corrélation (R²) du modèle est égal à 0.984 (Figure 05), ce qui signifie qu'uniquement 1.6% des variations ne sont pas expliquées par le modèle. De plus, la valeur du coefficient de corrélation ajusté est de l'ordre de R² ajusté = 0.948, ce qui est assez suffisant pour confirmer la haute significativité du modèle.

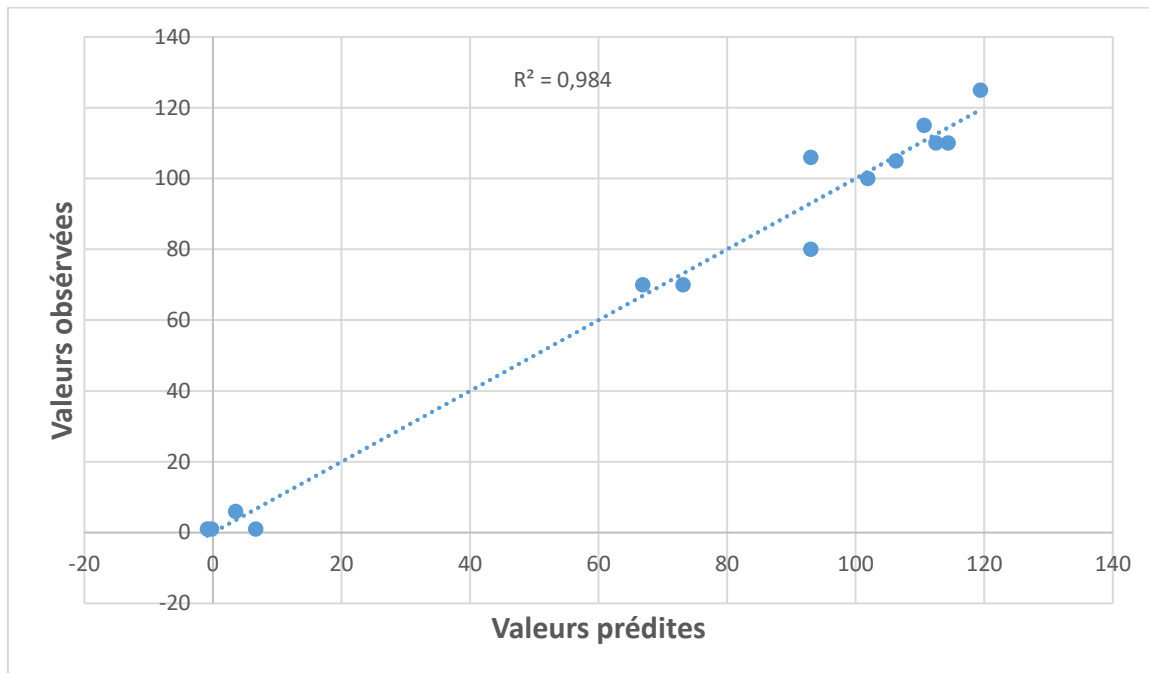


Figure 05: Représentation graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites pour la viscosité du produit

II.4.2 Modèle global et manque d'ajustement

L'analyse de la régression du modèle indique que les carrés des moyennes des modèles sont supérieurs aux carrés des moyennes des résidus (Tableau 06). Par ailleurs, les rapports de Fisher indiquent la valeur de 27.3444 pour le modèle de la viscosité, correspondant à une probabilité de 0.003. D'après ces résultats, nous pouvons conclure que le modèle exprime de fortes significativités ($p < 0.05$).

Cependant, le tableau indique des rapports des carrés des moyennes de défauts d'ajustement et des erreurs pures (Rapport F) de 0.141765, correspondant à une probabilité de 0.923, ce qui indique que les défauts d'ajustement du modèle n'est pas significatif. Il faut noter que lorsque le test de défaut d'ajustement est non significatif, le modèle est jugé bon [159].

A partir de l'analyse de variance du modèle ainsi que son défaut d'ajustement, le modèle quadratique a des fortes puissances d'explication des résultats expérimentaux et est jugé bon.

Sachant que si dans un modèle, la P-value du manque d'ajustement est significative ce model sera rejeté.

Tableau 06: Analyse de la variance du modèle et défaut d'ajustement pour la viscosité.

Source	Degré de liberté (DF)	Somme des carrés (SS)	Somme moyennes Carrés des (MS)	Rapport F	P value	Ecart type (SD)
Total (Modèle)	14	101550	7253.57			
Total corrigé	13	30121.4	2317.03			48.1356
Régression	9	29639.7	3293.3	27.3444	0.003	57.3873
Résiduel	4	481.75	120.438			10.9744
Manque d'ajustement	3	143.75	47.9167	0.141765	0.923	6.92219
Erreur pure	1	338	338			18.3848

II.4.3 Détermination des effets significatifs et des coefficients du modèle

L'étude de la variance de la régression des coefficients comptés sur l'analyse d'impact des variables (X_1 , X_2 et X_3) à $p < 0,05$. Dans le but de déterminer la signification de chaque coefficient, et pour révéler l'intensité de l'interaction entre les paramètres.

Les résultats de la valeur des paramètres estimés et la valeur des probabilités calculées par le logiciel MODDE 6.0[155], sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 07 : Coefficient de régression estimée du modèle polynomial du second degré.

Viscosité	Coefficient	Erreur standard	p-value (probabilité)
Constant	93	7.76008	0.000277836
Poudre de lait	-2.49999	3.88004	0.554456
Amidon	-0.624999	3.88004	0.879838
Temps de maturation	53.875	3.88004	0.000155982
Poudre de lait *amidon	-21.25	5.4872	0.017953
Poudre de lait *temps de maturation	-6.25	5.4872	0.31828
Amidon*temps de maturation	-2.5	5.4872	0.67231
Poudre de lait *poudre de lait	-0.250007	6.13488	0.969446
Amidon*amidon	-1.5	6.13488	0.818871
Temps de maturation*temps de maturation	-36	6.13488	0.00421149

Le diagramme de la figure (5) permet de se rendre compte de l'importance des différents coefficients

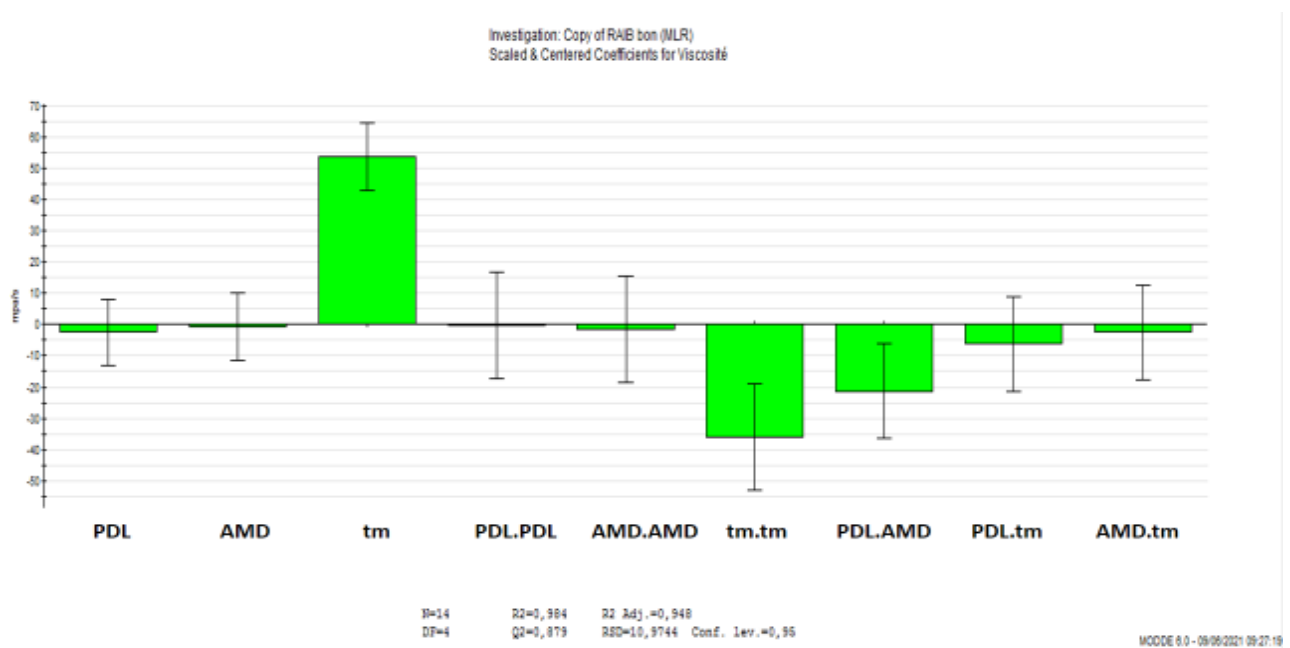


Figure (6) : illustration des valeurs des coefficients

II.4.3.1 Effets linéaires

L'analyse statistique des données montre qu'un seul facteur a une influence de manière significative sur la viscosité. Ce facteur est le temps de maturation (X_1) avec une probabilité de $P= 0.000155982$ et un coefficient de l'ordre de 53.875 , d'autres part la poudre de lait 26 % (X_1) et l'amidon (X_2) ne possèdent aucun effet significatif sur la viscosité avec une probabilité $> 0,05$ et des coefficients de l'ordre de $X_1 = -2.49999$ et $X_2 = -0.624999$.

II.4.3.2 Effets d'interaction

L'analyse des résultats montre que toutes les interactions possèdent une influence significative ($P < 0,05$) sur la viscosité, L'interaction X_1X_2 (poudre de lait - amidon) a présenté le plus grand effet sur la viscosité, avec une probabilité de 0.017953 et un coefficient de l'ordre de -21.25 , par contre les autres interactions X_1X_3 (poudre de lait - temps de maturation) et X_2X_3 (amidon-temps de maturation), ont une probabilité élevée de l'ordre de 0.31828 et 0.67231 et coefficients de -6.25 et -2.5 implique la non-significativité de l'interaction des deux facteurs étudiés. Ceci s'explique par l'absence de la variation de l'effet de temps de maturation lorsque les deux facteurs : poudre de lait, amidon varie d'une quantité à une autre. En effet, il n'existe pas une synergie entre ces facteurs (PDL-Tm), (AMD-Tm).

II.4.3.3 Effets quadratiques

Les résultats obtenus, indiquent que les effets quadratiques X_1^2 (poudre de lait-poudre de lait), X_2^2 (amidon-amidon) sont non significatifs sur la viscosité avec une probabilité de ($P > 0,05$) 0.969446 et 0.818871 avec des coefficients d'ordre -0.250007 et -1.5 , un seul effet quadratique X_3^2 (temps de maturation-temps de maturation) est hautement significative avec une probabilité de 0.00421149 et de coefficient -36 .

II.4.4 Modèle mathématique

D'après les résultats obtenus précédemment, le meilleur modèle mathématique postulé pour la viscosité, est un modèle de second degré qui permet d'écrire la réponse sous la forme suivante :

$$Y = 93 - 2.49X_1 - 0.62X_2 + 53.87X_3 - 21.25X_1X_2 - 6.25X_1X_3 - 2.5X_2X_3 - 0.25X_1^2 - 1.5X_2^2 - 36X_3^2$$

Après élimination des coefficients non significatifs :

$$Y = 93 + 53.875X_3 - 21.25X_1X_2 - 36X_3^2$$

Ce modèle a été volontairement simplifié par élimination des effets d'interactions jugés non significatifs dans l'analyse précédente. Ce qui permettra de manipuler plus facilement cette expression réduite tout en gardant une qualité d'ajustement quasiment similaire [153]

II.5 Résolution

II.5.1 Courbe surface de réponse

Selon la figure ci-dessous qui montre les courbes de surface de réponses, nous avons remarqué que plus la quantité de poudre de lait 26% diminue et la quantité d’amidon augmente plus on se rapproche de l’optimum pour les deux réponses qui sont : l’acidité et la viscosité.

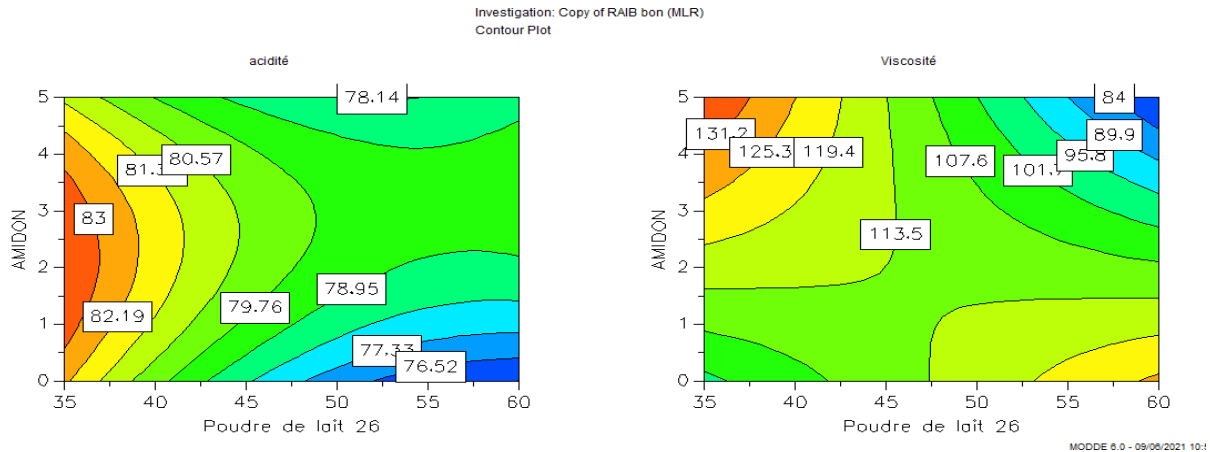


Figure (7) : Courbe surface de réponse

II.5.2 Recherche de l’optimum :

Les résultats de notre étude pour les conditions optimales proposées par BBD sont représentés dans le tableau ci-dessous. Ce dernier nous montre que ces résultats se rapprochent aux valeurs prédites ce qui démontre que les conditions optimales estimer par BBD permet de produire un RAIB souhaité par l’entreprise.

Tableau 08: Conditions optimale obtenue par le plan Box-Behnken

Reponses	Poudre de lait 26%	Amidon	Temps de maturation	Acidité	Viscosité
Facteurs					
Valeurs	35g	5g	17h	81D°	136mpa.s

D’après notre étude effectuée et les résultats obtenus nous avons remarqué que le temps de maturation a un effet significatif sur l’acidité et la viscosité (tableau 4,7).Le temps de maturation influe sur l’acidité de RAIB, cela est dû au développement des bactéries lactiques au fil du temps, par conséquent on aura un produit plus fermenté.

L’interaction poudre de lait 26% de MG et amidon a un grand effet sur la viscosité comme on peut le voir sur la figure (07) surface de réponses, plus la quantité de poudre diminue

et la quantité d'amidon augmente, plus le produit sera visqueux ceci s'explique par la présence d'une synergie entre ces deux facteurs.

III Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques permettant de vérifier que le produit ne présente pas de risque pour la santé du consommateur, en tenant compte des conditions de conservation, des habitudes de consommation et des caractéristiques du produit.

Il convient donc de s'assurer, par des tests microbiologiques, que le produit va être sain et de bonne qualité marchande tout au long de sa durée de vie.

Cette partie englobe tous les résultats d'analyses microbiologiques de produit fini « raib » conservé de 4 à 6 °C.

Tableau 09 : Résultats de l'analyses microbiologiques

Germes	Coliformes Totaux à 37°C	Coliformes fécaux à 40°C	Staphylocoque a coagulase positif a 37°C	Salmonelles
Résultat	1.88*10 ⁵ ufc/g	40 ufc /g	Abs	Abs
Observation	Non satisfaisante	Acceptables	Satisfaisante	Satisfaisante
Normes JORA (n°39 juillet, 2017)	m=3*10 ⁴ ufc/g M=3*10 ⁵ ufc/g	m=30 ufc/g M=3*10 ² ufc/g	m=3*10 ² ufc/g M=3*10 ³ ufc/g	Absence dans 25 g

III.1 Les coliformes totaux

Selon le journal officiel n°39 juillet 2017, précise que le lait fermenté (raib) ne doit pas contenir plus d'un (1) coliforme par millilitre à la sortie de l'atelier de fabrication et plus de 10 coliformes lors de la remise au consommateur.

Les résultats obtenus, montrent la présence des coliformes totaux dans le produit fini (raib), malgré la conformité des résultats à la norme indiquée par J.O.R.A 2017, indique que la qualité microbiologique de ce produit est non satisfaisante on peut expliquer ça aux conditions hygiéniques insuffisantes (CIP).

Selon Larpent (1990), la présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale.

III.2 Les coliformes fécaux

Le dénombrement des coliformes dans le lait fermenté (raib) permet d'évaluer les conditions d'hygiène qui prévalaient lors de la production, le dénombrement d'une forte population de coliformes fécaux est synonyme d'une contamination fécale

Les résultats de ces analyses ont révélé une présence des coliformes fécaux qui sont légèrement faible selon les normes rapportées dans **le journal officiel n°39 juillet 2017**, indique la qualité microbiologique de ce produit est acceptables.[150]

Les coliformes fécaux, sont des coliformes qui fermentent le lactose avec production de gaz à 44°C. On les assimile souvent aux coliformes thermotolérants.

La présence des coliformes fécaux ou thermotolérants dans le produit s'expliquerait par une contamination exogène d'origine fécale humaine ou animale. Ils sont témoins d'une hygiène défectueuse pendant ou après la transformation [160]. La mauvaise hygiène des mains, l'environnement de fabrication, l'apport de ferment après la pasteurisation, le matériel défectueux ou contaminé constituent des sources probables de contamination [161].

Ces bactéries sont souvent associées à des entérobactéries pathogènes comme les Salmonella et les Shigella. Ces coliformes représentent environ 1 % de la flore intestinale et ne provoquent généralement pas de maladie chez l'homme adulte ; leur nombre est voisin de 108 par g de matière fécale. La croissance de certains de ces germes est possible sur un très grand nombre de milieux ou d'aliments entre -2 et 50°C, entre pH 4,4 et 9.

- La résistance des coliformes totaux et fécaux aux conditions extérieures défavorables est faible (traitements technologiques divers, entreposage, etc.). Ainsi leur nombre au moment de l'analyse ou fourni par l'analyse n'est pas toujours proportionnel à l'importance de la contamination ; leur présence dans un aliment cuit ou pasteurisé signifie que la contamination est postérieure au traitement thermique. Il reste alors à trouver l'origine de la contamination (manipulateurs, plans et instruments de travail, contact avec des produits crus). De plus, ces germes peuvent se multiplier dans certains produits quand les conditions sont favorables.
- La plupart de ces germes n'est généralement pas, sauf en cas de prolifération abondante, dangereuse au point de vue sanitaire. Leur présence peut être un bon indice des mauvaises conditions de manipulation ou de traitement des aliments (pasteurisation insuffisante par exemple)

III.3 Staphylocoques a coagulase positif

La recherche des Staphylocoques dans le produit fini, a révélé leur absence totale dans les échantillons analysés. Les résultats sont conformes aux normes du journal officiel n°39 juillet 2017, et d'après ces résultats obtenus révèle une qualité microbiologique satisfaisante.

III.4 Les salmonelles

Les salmonelles n'ont pas été détectées dans les échantillons analysés. Ces échantillons sont conformes à la norme prévue par AFNOR en 1999 (absence totale des salmonelles dans les laits fermentés), Si elles ont existé dans la matière première, il est possible qu'elles aient été détruites pendant la pasteurisation. Leur absence dans le produit final signifierait également qu'il n'y avait pas de contamination au cours de sa fabrication [162]

D'autre part, l'acidité produite par les bactéries lactiques dans les différents produits peut rendre le milieu hostile à la croissance des salmonelles. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Elham et al (2011)** obtenus sur les produits fermentés du Liban, car ces derniers n'ont trouvé aucun échantillon contaminé par les salmonelles.[163]

D'après les résultats de l'analyses microbiologiques, malgré l'absence des salmonelles, des staphylocoques a coagulase positive, et la conformité des coliformes fécaux, et la présence de coliformes totaux on peut conclure que le produit reste non satisfaisant.

Conclusion

L'une des préoccupations actuelles des industries agroalimentaires est l'installation de l'assurance qualité en améliorant la qualité de ses produits et en diversifiant ses services.

La présente étude est consacrée à l'optimisation et modélisation des paramètres de production d'un lait fermenté type 'RAIB' sous l'influence de la quantité de poudre de lait et amidon, et temps de maturation. L'utilisation du plan d'expérience Box-Behnken, a pour but d'obtenir un maximum d'information en un minimum d'expérience, une telle problématique est primordiale dans le milieu industriel où minimiser le nombre d'expériences à réaliser est synonyme de gain de temps et de productivité.

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les matières premières (poudre de lait et l'eau de process) ont démontré la bonne qualité physicochimique et microbiologique à l'achat et après stockage de ces dernières.

Sur le plan microbiologique l'échantillon du RAIB révèle une qualité hygiénique non satisfaisante du fait de la présence des germes pathogènes (coliformes totaux et fécaux) qui peuvent constituer un risque potentiel pour la santé du consommateur.

Les résultats des tests préliminaires pour la production de RAIB nous a permis de fixer les différents paramètres qui influent sur la qualité du produit (texture, goût).

Grace à cette analyse statistique de l'ensemble des résultats obtenus à l'aide du plan d'expérience box-Behnken, nous avons pu déterminer les effets significatifs sur l'acidité et la viscosité de notre produit.

Enfin, l'utilisation du plan d'expérience Box Behnken pour optimiser la production de RAIB à donner les conditions optimales suivantes: poudre de lait 26% :35g, amidon : 5g, temps de maturation : 17h.

En termes de perspective et dans le but de compléter ce travail dans l'avenir, il serait intéressant de :

- Elargir le plan d'expérience, en étudiant l'influence d'autres variables tels que : la présure, la qualité des ferments...

- Il serait intéressant de procéder une analyse sensorielle du produit fini afin d'apprécier mieux le produit.

- [1] : **Fadila Malek (2019)**: Can. J. Microbiol. 65: 1–16 (2019) dx.doi.org/10.1139/cjm-2018-0435, Bactéries sporulées et biofilms
- [2] : **Ouadghiri, 2009** : Biodiversité des bactéries lactiques. Dans le lait crus et ses dérivés « Lben » et « Jben » d'origine marocaine. Thèse de doctorat en Microbiologie et Biologie Moléculaire. Université Mohammed V-Agdal Faculté des sciences Rabat, Maroc.132p.
- [3] : **Alaoui Ismaili M, Guilal J, Hamama A, Saidi B, Zahar M. (2016)** : Identification de bactéries lactiques du lait cru de chamelle du sud du Maroc. The international Journal of multi-disciplinary sciences. 1 : 81-92
- [4] : **Lairini S, Beqqali N, Bouslamti R, Belkhou R, et Zerrouq F. (2014)**. Isolement des bactéries lactiques à partir des produits laitiers traditionnels Marocains et formulation d'un lait fermenté proche du Kéfir. Afrique Science. 10 (4) : 267-277.
- [5] : **RAMDANE et al(2019)** : Revue Agrobiologia (2019) 9(1): 1449-1457, QUELLES DISPARITÉS DE CONSOMMATION DU LAIT ET PRODUITS LAITIERS EN ALGÉRIE Á TRAVERS LES RÉGIONS ?
- [6] : **POUGHEON S .et GOURSAUD J., (2001)** : Le lait caractéristiques physicochimiques In DEBRY G., Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris .
- [7] : **ABOUTAYEB R., (2009)**: Technologie du lait et dérivés laitiers <http://www.azaquar.com>
- [8] : **BOUDIER ET LUQUET 1981** : *Dictionnaire laitiers Edition technique et documentaire Paris*
- [9] : **VIERLING .E ; 1999** : *Aliment et boissons*. Edition : *VELIZY.Paris Pp* : 12-15.S
- [10] : **JEANTET R., CROGUENNEC T., MAHAUT M., SCHUCK P. et BRULE G., (2008)** :Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages).
- [11] : **FRANWORTH E. et MAINVILLE I ., (2010)** : Les produits laitiers fermentés et leur potentiel thérapeutique, Centre de recherche et de développement sur les aliments, Saint-Hyacinthe. <http://www.dos.transf.edwa.pdf>

[12] : **MITTAINE J., (1980):** Les laits autres que le lait de vache, [http://whqlibdoc.who.int/monograph/ who mono](http://whqlibdoc.who.int/monograph/who_mono).

[13] : **FAVIER J.C., (1985):** Composition du lait de vache-Laits de consommation, <http://www.horizon.documentation.fr>

[14] : **FREDOT E., (2006):** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier: 25 (397 pages).

[15] : **JENSEN R., (1995):** Handbook of milk composition-General description of milks,Academic Press,Inc:3 (919 pages).

[16]: **AMIOT J., FOURNER S., LEBEUF Y., PAQUIN P., SIMPSON R et 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, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).

[17] : **BYLUND G., (1995):** Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems AB S-221-86, Lund ,Sweden : 18-23-381(436 pages).

[18] : **STOLL W., (2003) :** Vaches laitières -L'alimentation influence la composition du lait , vol 9 , [http:// www.db- alp-admin-ch/ fr/ publication en / docs/ 2612.pdf](http://www.db-alp-admin.ch/fr/publication/en/docs/2612.pdf)

[19] : **JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUCK P. et BRULE G., (2007):** Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456 pages).

[20]: **JEAN C., et DIJON C., (1993) :** Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3.

[21]: **ADRIAN J., POTUS J. et FRANGNE R., (2004):** La science alimentaire de A à Z ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier : 79 (477 pages).

[22]: **DEBRY G., (2001):** Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 21 (566 pages).

[23] : **THAPON J.L., (2005):** Science et technologie du lait, Agrocampus-Rennes, France: 14(77 pages)

[24] : **VIGNOLA C.L., (2002):** Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN: 29-34 (600 pages).

[25] : **BRUNNER J.,(1981):** Cow milk proteins: twenty five years of progress. J dairy Sci, 1981,64 : 1038-1054. In **POUGHEON S.,** Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 31(102 pages).

[26]: **MATHIEU J.,(1999) :** Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190 (220 pages).

[27]: **HODEN P., et COULON H., (1991) :** Composition chimique du lait, <http://www.2.vet.lyon.fr>

[28] : **GAUCHERON F.,(2004) :** Minéraux et produits laitiers, Tec et Doc, Lavoisier:783 (922 pages).

[29]: **GUIRAUD J.P.1998:** Microbiologie des principaux produits alimentaires, Microbiologie alimentaire. Ed Dunod, Paris

[30]: **GUIRAUD, 2004:** Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Afnor. **237-251.**

[31] : **POINTURIER H., (2003):** La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France: 64 (388 pages).

[32]: **Pointurier H. (1985).** Les fromages. In laits et produits laitiers. Ed. Tec et Doc. Lavoisier.Paris.

[33]: **NEVILLE M.C et JENSEN R.G., (1995):** The physical properties of human and bovine milks In **JENSEN R.,** Handbook of milk composition-General description of milks,Academic Press,Inc: 82 (919 pages).

[34]: **VIERLING E., (2003):** Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine:11(270 pages).

[35]: **FREDOT E., (2005):** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc, Lavoisier:10-14 (397 pages).

[36]: **REUMONT P., (2009) :** Licencié Kinésithérapie, <http://www.medisport.be>

[37]: **THIEULIN G. et VUILLAUME R., (1967):** Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des œufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : 71-73(388 pages).

[38]: **RHEOTEST M., (2010):** Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK – Produits alimentaires et aromatisants <http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>.

[39] :**CNERNA., (1981) :** Centre National de Coordinations des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation, Lait de consommation-Conférence de presse du 5 novembre 1981, Paris

[40]: **HARDING F., (1995):** Milk quality, Blackie academic et professional : 113(166 pages).

[41]: **JEAN CHRISTIAN M., (2001) :** Le lait pasteurisé, Groupe de recherche et d'échanges technologiques, Paris <http://www.gret.org>

[42] : **LESEUR R., et MELIK N., (1999) :** Lait de consommation In LUQUEE F.M, Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 5 (637 pages)

[43]: **PIFFNER A., (2009) :** Lait en poudre, <http://www.hls-dhs-dss.ch/textes>.

[44]: **CLAUDE MICHEL J., POULIOT M., RICHARD J. et VALLERAND C., (2002) :** Lait de consommation In VIGNOLA C. L., Science et technologie du lait-transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN:298 (600 pages).

[45]: **APRIA., (1980) :** Les laits reconstitués-Leurs utilisations, Association pour la Promotion Industrie Agriculture, Paris: 48-49-50.

[46] : **AVEZARD C.L., et LABLEE J., (1990) :** Laits et produits laitiers recombines, In LUQUEE F.M., Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 536-538-539 (637 pages).

[47]: **ECK A., (1990) :** Le fromage, Techniques et Documentation, Lavoisier, Paris, 2eme édition, paris

[48]: **Foltmann et al., 1992** : Separation of porcine pepsinogen A and progastricsin. Sequencing of the first 73 amino acid residues in progastricsin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology* 1121:75-82.

[49]: **Tang et al., 1973** : Amino-acid sequence of porcine pepsin. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 70:3437-3439

[50]: **Berridge N, 1952** : Some observations on the determination of the activity of rennet. *Analyst* 77:57b-62

[51]: **Raposo and Domingos 2008** : Purification and characterization milk-clotting aspartic proteinases from *Centaurea calcitrapa* cell suspension cultures. *Process biochemistry* 43:139-144

[52]: **Roseiro et al., 2003**) : Cheese making with vegetable coagulants—the use of *Cynara L.* for the production of ovine milk cheeses. *International journal of dairy technology* .

[53]: **Cattaneo et al., 1994** : Effect of an enzymatic complex from pineapple pulp on the primary clotting phase. *Milchwissenschaft*

[54]: **Claverie-Martín F and Vega-Hernández MC (2007)** : Aspartic proteases used in cheese making, in *Industrial enzymes* pp 207-219, Springer

[55]: **Robinson and Wilbey, 1998**: Coagulants and precipitants, in *Cheesemaking Practice* pp 146-164, Springer

[56]: **Harboe et al., 2010**: The production, action and application of rennet and coagulants. *Technology of cheesemaking* 2

[57] : **MAHAUT et al., 2000** : *Initiation à la technologie fromagère*, Editions Tec & Doc

[58] : **Vignola, C., MICHEL, J., PAQUIN, P., 2002** : *Science et technologie du lait: transformation du lait*. Ed Lvoisier, Paris

[59]: **RAMET, 1985**: Study of enzymatic coagulation of camel milk in Saudia-Arabia. Mission Report. FAO

[60]: **Robert W, Htkins. 2006**. *Microbiology and technology of fermented food* .Blackwell edition Marcel Dekker INC, pp: 75.

[61]: Dortu, C, Thonart, P. 2009. Les bactériocines des bactéries lactiques: caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. *Biotechnol. Agron. Société Environ.* 13:349-356.

[62]: Jozala AF, de LencastreNovaes LC , Cholewa O, Moraes D, et Penna TVC .2005: Increase of nisin production by *Lactococcus lactis* in different media .*Afr J Biothecnology*, 4:3:262-265

[63]: Björkroth J. et Holzapfel W. 2003. Genera *Leuconostoc*, *Oenococcus* and *Weissella*. In *The prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for Microbiological Community*. Edited by M. Dworkin. New York, Springer-Verlag. Epub March 28.

[64]: Hammes WP, et Hertel C. 2003. The Genera *Lactobacillus* and *Carnobacterium*. In *The prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for Microbiological Community*. Edited by M. Dworkin. New York. <http://link.springer-ny.com/books/10125/>:Springer-Verlag. EpubDecembre 15th

[65]: Holzapfel W, H, Haberer P, Geisen R, Bjorkroth J, and Schillinger U. 2001.

Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition .*An JClinNutr*, 73:365S-73S

[66]: Axelsson L. 2004. Lactic acid bacteria : classification and physiology In : *Lactic acid bacteria .Microbiological and functional aspects* (eds: Salminen S, von Wright A, and Ouwehand AC)Third Edition Marcel Dekker Inc New York, pp:1-66.

[67]: TAILLIEZ, P. les bactéries lactiques, ces êtres vivants apparus il y a près de 3 milliards d'années. *Lait* 81 1–11 1. INRA, EDP Sciences. France. 2001

[68]: Orla-Jensen, S. (1919). The lactic acid bacteria. Andr. fred. host and son, Copenhagen.

[69]: Dellaglio F., De Roissard H., Torriani S., Curk M.C. Et Janssens D., 1994: caractéristiques Générales des bactéries lactiques. In : *bactéries lactiques* (de roissard h. Et luquet f.m.). *Lorica, uriage.* 1: 25-116.

- [70]: **Collins M.D., Samelis J., Metaxopoulos J. Et Wallbanks S., 1993:** Taxonomic studies of Some leuconostoc like organisms from fermented sausages, description of a new genus weissella for the leuconostoc paramesenteroides group of species. J. Appl. Bacteriol.
- [71]: **Ho T.N.T., N. Tuan N., Deschamps A. ET Caubet R., 2007:** Isolation and identification of lactic acid bacteria (lab) of the nem chua fermented meat product of vietnam. Int. Workshop on food safety and processing technology.
- [72]: **FEDERIGHI, M.** Bactériologie alimentaire compendium d'hygiène des aliments. 2, Ed. Economica. Paris. 2005
- [73]: **LARRENT J.P(1991).** Les ferments microbiens dans les Industries Agro-Alimentaires : produits laitiers et carnés. Technique et Documentation, Lavoisier, Paris
- [74]: **PELMONT J. (1995).** Bactéries et environnement : adaptation physiologique, volume II, collection Grenoble science, Ed. Office de Publication Universitaire
- [75]: **DUWAT P., SOURICE S., CESSÉLIN B., LAMBERT G ., VIDO K., GAUDU F.LELOIR Y., VIOLET F., LOUBIERE P. and GRUSS A.(2001):** Respiration capacity of the fermenting Bacterium Lactococcus lactis and positive effects on Growth and Survival. J. bacterial.,183 (15), 4509-4516
- [76] : **JUILLARD V., FOUCAUD C., DESMAZEAUD M. et RICHARD J.(1996).** Utilisation des sources azotées du lait par Lactococcus lactis. Lait, 76, 13-24
- [77]: https://www.wikiwand.com/fr/Bact%C3%A9rie_lactique.
- [78]: **Djamel DRIDER et Hervé PREVOST,** *Bactéries lactiques, Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications industrielles*, Economica, 2009, 593 p., chap. II (« Métabolisme des bactéries lactiques, Le Citrate, S. BEKAL, Y. BELGUESMIA, D. DRIDER, H. PREVOST »), Devenir du carbone, Pascal LOUBIERE, Muriel COCAIGN-BOUSQUET »).
- [79]: **Benmouna, Z. (2019).** Etude de bactériocines de bactéries lactiques et leurs effets sur les bactéries pathogènes et/ou d'altération. Thèse de doctorat en sciences : biotechnologie. Université d'Oran.

- [80]: **Kassas, Z. (2017)**. Croissance de souches de bactéries lactiques d'intérêts technologiques et/ou probiotiques sur MRS végétal modifié. These de Doctorat En Microbiologie. Université Badji Mokhtar-Annaba
- [81]: **Monnet V, Latrille E, Béal C, et Corrieu G. (2008)**. Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In Corrieu G et Luquet F.M. Bactéries lactiques de la génétique aux ferments. Tec & Doc, Lavoisier. Paris
- [82] : **Béal C, Marin M, Fontaine E, Fonseca F, et Obert J.P. (2008)**. Production et conservation des ferments lactiques et probiotiques. In Corrieu G. et Luquet F.M. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Tec & Doc, Lavoisier. Paris,
- [83]: **Lamontagne M, Claude P. C, Joëlle R-A, Sylvain M, Nancy G, Maryse L, Julie J, et Ismaïl F. (2002)**. Microbiologie de lait. In Vignola CL. Science et technologie du lait. Tec & Doc. Lavoisier; Montréal, pp. 75-146.
- [84] : **Lane C.V et Fox P.F. (1997)**. Role of Strater enzymes during Ripening of cheddar cheese Made From Pasteurized Milk under controlled Microbiological conditions. International Dairy journal.
- [85]: **Law J et Haandrikman A. (1997)**. Review Article: Proteolytic enzymes of lactic Acid Bacteria. International Dairy journal.
- [86]: **Kamaly K et Marth M.E.H. (1989)**. Enzyme Activities of lactic Streptococci and Their Rôle in Maturation of Cheese: A review. Journal of Dairy Science.
- [87]: **Lane C.N et Fox P.F. (1996)**. Contribution of starter and Adjunct Lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese during ripening. International Dairy Journal. 6: 715-728.
- [88]: **Lynch C.M , Mc Sweeney P.L.H, Cogan T.M et Drinan F.D. (1997)**. Contribution of starter lactococci and non-starter lactobacilli to proteolysis in cheddar cheese with a controlled microflora. Lait.
- [89]: **Mahaut M, Jeantet R, Brulé G. (2000)**. Initiation à la technologie fromagère. Tec & Doc, Lavoisier. Paris.

[90]: **Bourgeois C.M, et Larpent J.P. (1996).** Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentations alimentaires. Tec & Doc, Lavoisier. 2ème édition. Paris .

[91]: **Gerrit S, Bart A.S. et Wim J.M.E. (2005).** Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. FEMS Microbiology.

[92] : **Cholet O. (2006).** Etude de l'écosystème fromager par une approche biochimique et moléculaire. Institut National Agronomique Paris-Grignon. Ecole Doctorale ABIES. UMR de Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires INRA, INA.16.

[93]: **Leroy F, et De Vuyst L. (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Tre Food Science Technology .

[94]: **Ho T.N.T, N. Tuan N, Deschamps A, et Caubet R. (2007).** Isolation and identification of lactic acid bacteria (LAB) of the Nem Chua fermented meat product of Vietnam. Int Workshop on Food Safety and Processing Technology

[95]: **Labioui H, Elmoualdi L, El Yachioui M, et Ouhsine M. (2005).** Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. Bulletin Society Pharmaceutica Bordeaux. 144: 237-250.

[96] : **Alakomi H.L, Skytta E, Saarela M, Mattila-Sandholm T, Latva-Kala K, et Helander I.M. (2000).** Lactic acid permeabilizes Gram-négatif bacteria by disrupting the outer membrane. Application Environement Microbioly. 66 (5) : 2001-2005.

[97] : **Ammor S, Tauveron G, Dufor E, et Chevalier I. (2006).** Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility 1- Screening and characterization of antibacterial compound. Food Control

[98]: **Ogunbanwo S.T, Sanni A.I, et Onilude A.A. (2003).** Characterization of bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum F1 and Lactobacillus brevis OG1. African Journal Biotechnology.

[99]: **Dortu C, et Thonart P. (2009).** Les bactériocines des bactéries lactiques : caractéristiques et intérêts pour la bioconservation des produits alimentaires. Biotechnology Agronomy Society Environment.

- [100]: **Kumari A, Makeen K, Garg A.P, Marotta F, Gupta C, et Divya. (2009).** Effet of the bacteriocin produced by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* CCSUB202, on mode of action of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* MTCC3038. *International Journal Probiotic Prebiotic*.
- [101]: **Shockman GD, Heltje JV. (1994).** Microbial peptidoglycan (murein) hydrolases. In: *New Comprehensive Biochemistry.27. Bacteria/ Cell Wall* (JM Ghuyesen and R Hakenbeck Eds) Elsevier, Amsterdam
- [102] : **Chapot-Chartier MP. (1996).** Les autolysines des bactéries lactiques. *Lait*
- [103]: **Salminen S, Gorbach S, Yuan-Kun L et Benno Y. (2004).** Human Studies on probiotics: What is scientifically proven today? In *lactic Acid bacteria: Microbiological and functional Aspects*. Eds salimen, S., von Wright, A. and Ouwerhand A., New york Dekker .M
- [104]: **Chen G. Q., (2010) :** *Plastics from bacteria ‘Natural functions and applications’*, Springer, Microbiology Monographs, Volume 14, Münster, Germany.
- [105]: **Hylckama Vlieghe J. E. T. et Hugenholtz van J., (2007).** Mining natural diversity of lactic acid bacteria for flavour and health benefits, *International Dairy Journal*, 17:290–1297. Parente E. et Cogan T. M., (2004). Starter cultures: general aspects. In: Fox, P. F.,
- [106]: **Pfeiler E. A. et Klaenhammer T. R., (2007).** The genomics of lactic acid bacteria, *Trends in Microbiology*, 15(12):546-553
- [107]: **Wildman R. E. C., (2007).** *Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods*, Second Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, USA,
- 108]: Yıldız F., (2010).** *Developpement and manufacture of yougurt and other dairy products*, CRC Press Taylor & Francis Group, USA
- [109]: **Chamba J. F., (2008).** Applications des bactéries lactiques lors des fabrications fromagères. In : Corrieu, G. and Luquet, F.M. (Eds.), *Bactéries lactiques - De la génétique aux ferments*. Lavoisier, Paris, p. 787-815.

- [110]: **Makarova K., Slesarev A., Wolf Y., Sorokin A., Mirkin B. et Koonin E., (2006).** Comparative genomics of the lactic acid bacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA, 429(103) :15611–15616.
- [111]: **Badis A., Laouabdia-Sellami N., Guetarni D., Kihal M. et Ouzrout R., (2005) :** Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabia et kabyle". Sciences & Technologie C, 23:30-37
- [112]: **Carminati D., Giraffa G., Quiberoni A., Binetti A., Suárez V. et Reinheimer J., (2010) :** Advances and Trends in Starter Cultures for Dairy Fermentations, In Mozzi F. Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications, Wiley-Blackwell Publishing, USA, 393 p.
- [113]: **Mozzi F., Raya R. R. et Vignolo G. M., (2010).** Biotechnology of Lactic Acid Bacteria Novel Applications, Wiley-Blackwell Publishing, USA. 393 p.
- [114]: **Chamba J.- F., et Irlinger F., (2004):** Secondary and adjunct cultures. In Cheese, Chemistry, Physics and Microbiology, Vol. 1 General Aspects, P. F. Fox, P. McSweeney, T. M. Cogan, and T. P. Guinee, p. 191-206. London, UK: Elsevier Academic Press In.
- [115]: **Robinson R. K., (2002).** Dairy Microbiology Handbook, third Edition, John Wiley and Sons, Inc., New York USA, 764 p.
- [116]: **Leroy F Et De Vuyst L, (2004).** Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry Trefoodsci Technol 15, 67-78.
- [117]: **Mäyrä-Mäkinen A Et Bigret M. (2004).** Industrial use and production of lactic acid bacteria. In: lactic acid bacteria: microbiology and functional aspects (salminen s., wright a.v. Et ouwehand a.). 3e ed., marcel dekker, inc. New york,
- [118]: **Guerzani. (2003).** Health and Nutritional properties of probiotics in Food including poudre milk with live lactic bacteria in (fermented milk), p 1-11.
- [119]: **ANDREN, 2002:** Rennets and coagulants pp281-286 in Encyclopedia of Dairy Science. Roginski H, Fuquay J. Fox P. Elsevier.

- [120] :**DESMAZEAUD, 1997** : Laits et produits laitiers in LARRETA-GARDE V. Enzymes en agroalimentaires. Ed. Tech & Doc, Lavoisier
- [121]: **SCOTT, 1981** ; Cheese making practice, Applied Science Publishers, London, 4-165
- [122]:**Talantikite,KH.,(2015)**. Purification et caractérisation d'une enzyme coagulante d'origine microbienne pour application en fromagerie. Thèse de Doctorat, Université M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES.
- [123] : **Lenoir J., (1985)**. Les caséines du lait. Rev lait franç, 4 40 : 17-23
- [124] : **Gosta, 1995** : CD manuel de transformation du lait, Ed. Tetra pack processing systems ABSweden pp 215232
- [125] : **Cheftel. J. C, et Cheftel. H, 1976** : Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments. Ed. Tec et Doc Lavoisier, Paris, pp 4-56
- [126] : **Wouters J.T.M. Ayad E. H. E, Hugenhaltz J, et Smit G. (2002)**. Microbes from raw milk for Fermented dairy products. International Dairy Journal. 12 : 91-109.
- [127] : **Ramet J.P. (1997)**. Technologie comparer des different types de caillé. In le Fromage. ED.Tec et Dec. Lavoisier. Paris, pp. 334-365.
- [128]: **Luquet. F. M, De Roissant. H, 1994** : Les bactéries lactiques, tome 2, Ed. LORICA.Uriage, 571 pages.
- [129] : **Pointurier H. (1985)**. Les fromages. In laits et produits laitiers. Ed. Tec et Doc. Lavoisier.Paris. 630p
- [130] : **Daniel St-Gelais et Patrick Tirard-Collet Collaborateurs** : Gaétan Bélanger, Roger Couture et Roger Drapeau. (2002). Fromage. In Vignola Carole L. Science et technologie de lait. Tec & Doc, Lavoisier ; Montréal, pp. 349-412
- [131] : **Luquet F.M. (1985)**. Lait et produits laitiers: Vache, brebis, chèvre. Ed. Tec et Doc. Lavoisier. Paris: 630p.
- [132]: **H. DEBBABI, H. GLIGUEM1, A. BEN SALAH (2018)**. Effect of milk pre-treatmentS on chemical composition, and sensory quality of traditional fermented milk, raYeb. Journal of new sciences Agriculture and Biotechnology 56 (1) 3653-3659
- [133] :**Wolbert, Dominique Merabet ,SmailBouzaza, Abdelkrim Bouhelassa, Mohamed,** Modélisation et optimisation de la photodégradation du 4-méthylphénol dans

un réacteur à recirculation en présence d'UV/ZnO , Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE) 2009

[134] : **LegrounAichouche**, La Détection de la lésion par la linéarisation d'un modèle non linéaire de l'image IRM Mémoire de master Université Mohamed KhiderBiskra , 06 Juin 2013.

[135] : **GOUPY J., 2006**. Les plans d'expériences. Revue Modulad.

[136] : **Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., Rachiq, S.** Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology. *J. Mater. Environ. Sci.*, (2015); 6 (8), 2346-2357

[137] : **Goupy, J. (1999)** : Plans d'expériences pour surfaces de réponse. Edition : DUNOD. paris : 13-15

[138] : **Faucher, 2006** : Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse.

[139] : **Benoist D., Tourbier Y., Germain-Tourbier S. (1994)** : Plans d'expériences : construction et analyse. Edition : Téchenique & Documentation-Lavoisier. paris:32p.

[140] : **Goupy J. et Creighton L., 2006** : Introduction aux plans d'expériences. Dunod, Paris, France.

[141] : **Goupy J., 2005** : Pratiquer les plans d'expériences. Dunod, Paris, France.

[142] : **Karam, S 2004** : Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt. Thèse de Doctorat de Electronique des hautes fréquences et optoélectroniques, faculté de des Sciences et Techniques.

[143] : **J.J. Rousselle**, Thèse de doctorat. Les contours actifs, une méthode de segmentation application à l'imagerie médicale. Université François Robelais, 2003.

[144] : **Box, J., & Wilson, W. (1951)**. Central composites design. *JR Stat Soc*

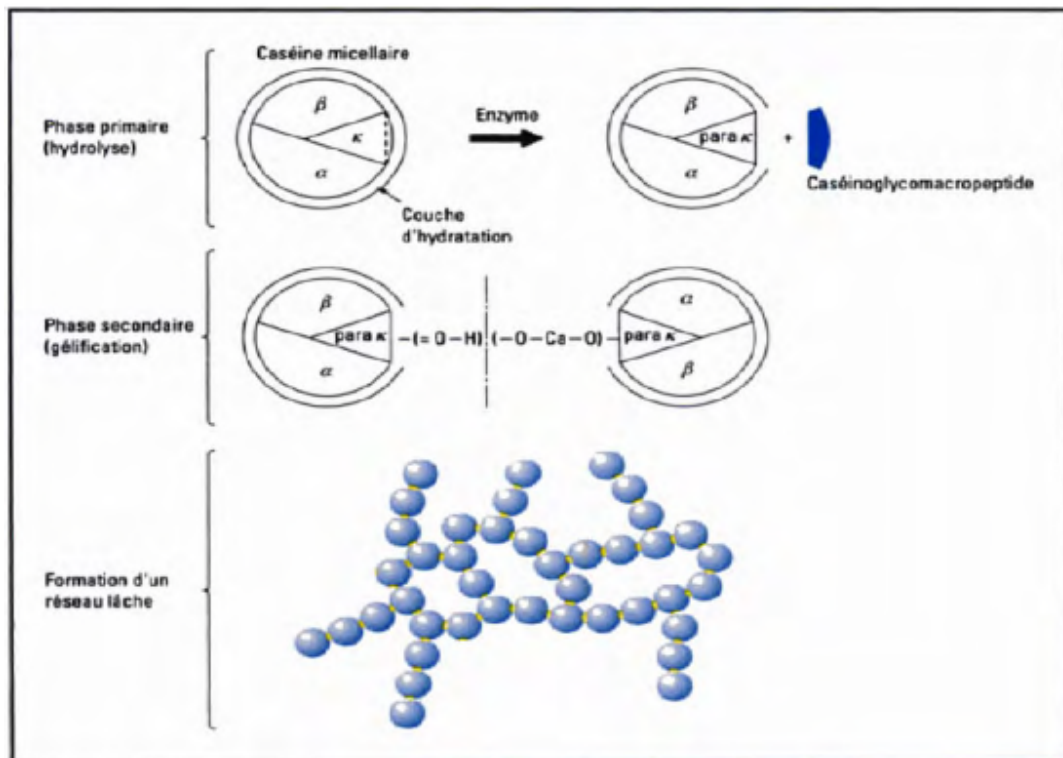
[145] : **S. Nosrati, N. S. Jayakumar, M. A. Hashim**, *Desalination*. 2011, 266, 286–290.
E.Y. Yazici, H. Deveci, *Hydrometallurgy*. 2013, 139, 30–38. **M. Cobas, M. A. Sanromán, M. Pazos**, *Bioresource Technol*. 2014, 160, 166–174.

[146]: **J. Goupy**, Modélisation par les plans d'expériences, *Techniques de l'ingénieur*, mesures et contrôles. R 275, 1-23.

[147] : **A. Kamoun, M. M. Chaabouni, H.F. Ayedi**, *Techniques de l'ingénieur*, Doc. M 1429, 1-24

- [148] : **SCRIBAN, 1999** : Biotechnologie ; Troisième édition. Tech et doc. 266-486.
- [149] : Norme Algérienne N°689
- [150] : Journal Officiel de la République Algérienne n°32 ,2004 ; n°43 ,2004 ; n°68,2004 ;n°68 ,2014 ; n°39,2017 ; n°44,2017
- [152] : **Professeur Jean-Louis CUQ** : Contrôle microbiologique des aliments – Manuel technique. Polytech Département STIA p 44-45
- [153] : **Granato, D., Branco, G. F. & de Araújo Calado, V. M. (2010)**. WITHDRAWN: Experimental design and application of response surface methodology for process modelling and optimization: A review. Food Research International, 55, 137-149
- [154] : Norme ISO organisation internationale de normalisation n° 6888, 2004
- [155] : **El-Adawi, H., Abdel-Fattah, Y. & El-Wahab, A. A. (2011)**. Application of numerical modeling for optimization of selective hot water extraction of taxifolin from ‘milk thistle’ seeds. African Journal of Biotechnology, 10 (48), 9804-9811.
- [156] : **Fei, C. Y., Salimon, J. & Said, M. (2010)**. Optimisation of urea complexation by Box-Behnken design. Sains Malays, 39 (5), 7
- [157] : **Chan, S.W., Lee, C.Y., Yap, C.F., Mustapha, W.A.W., Ho, C.W. (2009)** :Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (Citrus hystrix) peels. International Food Research Journal, 16 (2): 203-213
- [158] : - **Tinsson, W. (2010)** :Plan d’expérience : In Plans d'expérience : constructions et analyses statistiques. Springer Science & Business Media, Berlin Heidelberg. 67: 3-37
- [159] : **Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T. & Rachiq, S. (2014)**. Application de plan de Plackett Et Burman dans le criblage des paramètres agissants sur le processus d'hydrodistillation de Thym du Maroc (Thymus vulgaris L.)[The application of Plackett and Burman design in screening the parameters acting on the hydrodistillation process of Moroccan thyme (Thymus vulgaris L.)]. International Journal of Innovation and Applied Studies, 6 (3), 530

Annexe 01 : Phases de coagulation de lait et formation de réseau (VIGNOLA, 2002)



Annexe 02 : Analyses physicochimiques

Acidité titrable

🔧 Définition

L'acidité titrable du lait est exprimée en gramme d'acide lactique par litre de lait (AFNOR, 1985).

🔧 Principe

Titration de l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

🔧 Réactifs

Les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente.

- Solution de phénolphthaléine à 1% (m/v) dans l'éthanol à 95%.

- Solution titrée d'hydroxyde de sodium 0.1N.

Appareillage

Matériel courant de laboratoire et notamment :

- Pipette à lait de 10 ml ou seringue de précision réglée à 10 ml ou balance analytique.
- Burette graduée de 10 ml.
- Béchers.

Mesure du pH

Principe

Le principe de la mesure du pH est le même pour toutes les analyses. Le pH représente l'activité des ions H^+ contenus dans une solution. La mesure du pH est réalisée à l'aide d'un pH-mètre, qu'est un appareil électronique muni d'une électrode qui renferme une solution aqueuse acide, comporte une membrane de verre spéciale perméable aux ions hydrogènes. La différence entre les protons de la solution contenue dans l'électrode et les protons de la solution à analyser est convertie en une différence du potentiel électrique. Le pH mètre transforme cette différence de potentiel en unités du pH (Vignola, 2002).

Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique)

Définition

La méthode acido-butyrométrique est une technique conventionnelle qui lorsqu'elle est appliquée à un lait entier de teneur en matière grasse moyenne et de masse volumique moyenne à 20°C (27°C dans les pays tropicaux) donne une teneur en matière grasse exprimée en grammes pour 100g de lait ou 100 ml de lait (AFNOR, 1985).

Principe

Après dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique, séparation de la matière grasse du lait par centrifugation, dans un butyromètre. La séparation étant favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool amylique.

Obtention de la teneur en matière grasse (en grammes pour 100 g ou 100 ml de lait) par lecture directe sur l'échelle du butyromètre.

Détermination de l'extrait sec total (EST) par un dessiccateur infrarouge

✚ Principe

La matière sèche ou l'extrait sec total est la masse restante après dessiccation complète par un dessiccateur muni d'un déshydratant efficace (Afnor, 1993).

Annexe 03 : Analyses microbiologiques

Analyses microbiologiques

✚ Principe

La stérilité ou la qualité microbiologique d'un produit peuvent être estimées par l'effet sur celui-ci de la croissance du ou des micro-organismes (acidification, dégagement de gaz, etc...). La plupart des analyses officielles se font sur des milieux nutritifs gélosés coulés dans des boîtes de pétri.

Des échantillons liquides de produit sont déposés dans les boîtes sur des milieux sélectifs. Il n'existe pas de milieu pour cultiver simultanément toutes les bactéries, qu'elles soient aérobies, anaérobies, thermophiles, mésophiles, exigeantes ou non, fermentant les sucres ou non. Plusieurs milieux différents sont donc utilisés, afin de dénombrer et de rechercher des populations bactériennes d'intérêt particulier (**Rouillard, 2004**)

Ce dénombrement effectué dans l'analyse type d'un aliment constitue un indicateur de la qualité sanitaire et reflète l'histoire du produit (**Cuq, 2007**).

Les résultats obtenus sont comparés aux critères microbiologiques établis par des commissions de spécialistes au sein d'organismes comme l'AFNOR, OMS, FAO, JORA et le Codex Alimentarius. Ces normes et critères microbiologiques donnent en générale les limites de conformité, de même que les méthodes à utiliser (**Guiraud, 2003**). Ces dernières sont publiées dans des documents officiels ou législatifs (tel que le journal officiel à titre d'exemple)

Les coliformes

Aux fins de la présente méthode la dénomination « coliforme » s'applique aux bactéries en forme de bacilles Gram négatives, aérobies et facultativement anaérobies, non sporulées. (JORA n°43 , 2004)

Les coliformes appartiennent à la famille des *Entérobacteriaceae*, ce sont des bactéries qui vivent principalement dans l'intestin de l'homme et des animaux, ils se caractérisent par leur aptitude à fermenter plus ou moins rapidement le lactose avec production d'acide et de gaz à une température de 37°C pendant 48h. Ils révèlent la probabilité d'une contamination, donc d'une mauvaise qualité hygiénique et même une présomption de la présence des microorganismes pathogènes beaucoup plus dangereux (Bourgeois et Levea, 1980 ; Petransxiene et Lapiede, 1981).

La présence de coliformes totaux dans un aliment traduit une contamination fécale et d'en apprécier le degré, par contre les coliformes fécaux dont certaines souches sont entéropathogènes et responsables d'intoxication alimentaires.

Les staphylocoques a coagulase positif :

✚ Termes et définitions

Les staphylocoques sont des Cocci non motiles à coloration Gram positives, catalase-positives, qui se développent dans des conditions d'aérobiose. Le genre *Staphylococcus* comprend environ 30 espèces, parmi lesquelles se distinguent *S. aureus*, *S. saprophyticus* et *S. epidermidis*. Selon la norme ISO 6888 :2003

Bactéries formant des colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques à la surface d'un milieu de culture sélectif et donnant une réaction positive à la coagulase. Lorsque l'essai est effectué selon la présente méthode.

✚ Dénombrement des staphylocoques a coagulase positif

Dénombrement des staphylocoques a coagulase positif, détermination du nombre de staphylocoques a coagulase positive trouvé par millilitre ou par gramme d'échantillon, lorsque l'essai est effectué selon la présente méthode.

Les salmonelles

Salmonella spp

Salmonella spp est une famille de micro-organismes très diversifiée, Ce groupe de bactéries est à coloration de Gram négative (puisqu'elles appartiennent au grand groupe des entérobactéries), anaérobie facultative et mobile au moyen de la flagelle. Ils peuvent fermenter le glucose mais pas le lactose et ne produisent pas d'uréase.

Les salmonelles pathogènes pour l'homme appartiennent toutes à la même espèce et la même sous-espèce (*Salmonella enterica subsp. enterica*). Elles se distinguent par leur sérotype basé sur la différence de leurs structures antigéniques : Antigène O et Antigène H (flagellaire) (Bittar et al ., 2019).

Micro-organismes formant des colonies typiques ou moins typiques sur des milieux sélectifs solides et possédant les caractéristiques biochimiques et sérologiques décrites lorsque l'essai est exécuté selon la présente méthode. (JORA)

Table de Mac Grady

2 tubes par dilution		3 tubes par dilution					
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	000	0.0	201	1.4	302	6.5
001	0.5	001	0.3	202	2.0	310	4.5
010	0.5	010	0.3	210	1.5	311	7.5
011	0.9	011	0.6	211	2.0	312	11.5
020	0.9	020	0.6	212	3.0	313	16.0
100	0.6	100	0.4	220	2.0	320	9.5
101	1.2	101	0.7	221	3.0	321	15.0
110	1.3	102	1.1	222	3.5	322	20.0
111	2.0	110	0.7	223	4.0	323	30.0
120	2.0	111	1.1	230	3.0	330	25.0
121	3.0	120	1.1	231	3.5	331	45.0
200	2.5	121	1.5	232	4.0	332	110.0
201	5.0	130	1.6	300	2.5	333	140.0
210	6.0	200	0.9	301	4.0		
211	13.0						
212	20.0						
220	25.0						
221	70.0						
222	110.0						

5 tubes par dilution							
Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules	Nombre caractéristique	Nombre de cellules
000	0.0	203	1.2	400	1.3	513	8.5
001	0.2	210	0.7	401	1.7	520	5.0
002	0.4	211	0.9	402	2.0	521	7.0
010	0.2	212	1.2	403	2.5	522	9.5
011	0.4	220	0.9	410	1.7	523	12.0
012	0.6	221	1.2	411	2.0	524	15.0
020	0.4	222	1.4	412	2.5	525	17.5
021	0.6	230	1.2	420	2.0	530	8.0
030	0.6	231	1.4	421	2.5	531	11.0
100	0.2	240	1.4	422	3.0	532	14.0
101	0.4	300	0.8	430	2.5	533	17.5
102	0.6	301	1.1	431	3.0	534	20.0
103	0.8	302	1.4	432	4.0	535	25.0
110	0.4	310	1.1	440	3.5	540	13.0
111	0.6	311	1.4	441	4.0	541	17.0
112	0.8	312	1.7	450	4.0	542	25.0
120	0.6	313	2.0	451	5.0	543	30.0
121	0.8	320	1.4	500	2.5	544	35.0
122	1.0	321	1.7	501	3.0	545	45.0
130	0.8	322	2.0	502	4.0	550	25.0
131	1.0	330	1.7	503	6.0	551	35.0
140	1.1	331	2.0	504	7.5	552	60.0
200	0.5	340	2.0	510	3.5	553	90.0
201	0.7	341	2.5	511	4.5	554	160.0
202	0.9	350	2.5	512	6.0	555	180.0

Annexe 04 : Les milieux de culture**Milieux solides****Gélose xylose lysine désoxycholate (gélose XLD) :**

Extrait de levure en poudre.....	3 g
Chlorure de sodium (NaCl).....	5 g
Xylose.....	3,75 g
Lactose.....	7,5 g
Saccharose.....	7,5 g
Hydrochlorure de L-lysine.....	5 g
Thiosulfate de sodium.....	6,8 g
Citrate d'ammonium-fer (III).....	0,8 g
Rouge de phénol.....	0,08 g
Désoxycholate de sodium.....	1 g
Gélose.....	9 g à 18 g ¹⁾
Eau.....	1000 ml

1) Selon le pouvoir gélifiant de la gélose

Gélose de Baird Parker

Hydrolysate tryptique de caséine.....	2 g
Extrait de via.....	5 g
Extrait de	1 g
Pyruvate de sodium.....	10 g
Chlorure de lithium.....	5 g
Glycocolle.....	12 g
Agar.....	20 g

Eau distillé.....10³ ml

Gélose de Hektoene

Proteose-peptone1.2g

Extrait de levure3g

Chlorure de sodium.....5g

Thiosulfate de sodium5g

Sels bilinaires.....9g

Citrate de fer ammoniacal1.5g

Salieine2g

Lactose12 g

Saccharose12g

Fushine acide0.1g

Bleu de bromothymol0065g

Agar.....14g

Eau distillée.....10³ ml

Gélose au Bouillon lactose au vert brillant (VRBL).

Peptone7g

Chlorure de sodium.....5g

Extrait de levure3g

Rouge neutre0,03 g

Sels biliaries N° 31,50 g

Cristal violet.....0,002g

Lactose10g

Agar15g

Eau distillée..... 1000ml

Milieux liquides

Eau peptone tamponnée

Digestat enzymatique de caséine.....10 g
 Chlorure de sodium.....5 g
 Disodium hydrogénophosphate dodécahydraté.....9 g
 Dihydrogénophosphate de potassium (KH₂PO₄)1,5 g
 Eau.....1000 ml

Eau peptoné exempté d'indole

Peptone exempté d'indole15g
 Chlorure de sodium5g
 PH.....7,2

La composition de la solution concentrée de Ringer est la suivante :

Chlorure de sodium (NaCl).....9,00 g
 Chlorure de potassium (KCl).....0,42 g
 Chlorure de calcium anhydre (CaCl₂)0.24 g
 Bicarbonate de sodium (NaHCO₃)0.20 g
 Eau distillée (dans un appareil en verre)1000 ml

Pour l'emploi, ajouter une partie de la solution précédente à trois parties d'eau distillée (dans un appareil en verre)

Bouillon de BLBVB « Brillant Green Lactose Bile Broth »

Peptone ou gélisate..... 10 g
 Lactose..... 10 g
 Bile de bœuf déshydratée.....20 g
 Vert brillant.....0,0133 g
 Eau distillée (dans un appareil en verre)1000 ml

Bouillon Rappaport-Vassiliadis avec soja (bouillon RVS)

Digestat enzymatique de soja.....	4,5 g/l
Chlorure de sodium.....	7,2 g/l
Dihydrogénophosphate de potassium	1,44 g/l
Chlorure de magnésium anhydre (MgC12)	13,4 g/l ou Chlorure de magnésium hexahydraté (MgC12,6H2O)
	28,6 g/l
Oxalate de vert de malachite.....	0,036 g/l

Bouillon Muller-Kauffmann au tétrahionate-novobiocine (MKTTn) :

Extrait de viande.....	4,3 g
Digestat enzymatique de caséine.....	8,6 g
Chlorure de sodium (NaCl).....	2,6 g
Carbonate de calcium (CaCO ₃)	38,7 g
Thiosulfate de sodium pentahydraté.....	47,8 g
Sels biliaires à usage bactériologique.....	4,78 g
Vert brillant.....	9,6 mg
Eau.....	1000 ml

Milieu de Schubert

Tryptophane.....	0,2 g
Acide glutamique.....	0,2 g
Sulfate magnésium.....	0,7 g
Citrate de sodium.....	0,5 g
Sulfate d'ammonium.....	0,4 g
Chlorure de sodium.....	2 g
Peptone.....	10 g
Mannitol.....	75 g

Réactifs

Réactif de Kovacs

Diméthylamino-4 benzaldéhyde.....	5 g
Acide chlorhydrique, = 1,18 g/ml à 1,19 g/ml	25 ml
Méthyl-2 butanol-2.....	75 ml

Solution de tellurite de potassium

Tellurite de potassium.....1 g

Eau distillée.....100 ml

Dissoudre le tellurite de potassium dans l'eau. Stériliser par filtration.

Émulsion de jaune d'œuf

Tremper des œufs frais une minute environ dans une dilution (1+1000) d'une solution saturée de HgCl₂. Briser les coquilles aseptiquement et séparer les jaunes des blancs. Mélanger les jaunes avec une solution saline physiologique (3+7, v/v) pendant 5 secondes environ dans un mélangeur à grande vitesse.

Annexe 05: Préparation de la présure

4g pour 100 ml.

4g de présure dans une fiole de 100.

Ajustement avec de l'eau distillé jusqu'au trait de jauge et agitation pendant quelques minutes.

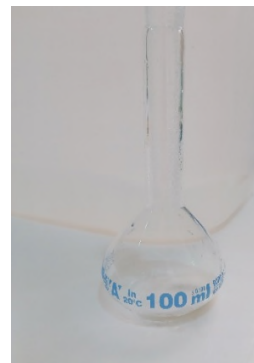
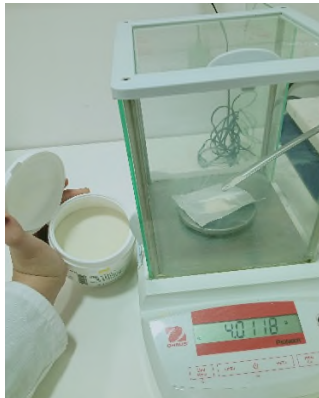


Figure 01 : Illustration lors de la préparation de la présure

Annexe 06 : conditionnement du produit







Résumé

Les produits laitiers ont toujours été perçus auprès des consommateurs comme des produits sains et constituent une partie importante du régime alimentaire, l'incorporation de bactéries lactiques dans les différents produits laitiers a renforcé les propriétés acclamées pour la santé, et donné lieu à une consommation de plus en plus importante de ces produits. Dans notre étude nous nous sommes intéressés au raib, qui est un lait fermenté emprésuré obtenue par une coagulation mixte d'un lait entier, demi écrémé ou écrémé par l'action des ferments lactiques mésophile et de la présure. Dans le but de formuler cette préparation laitière, la nécessité d'optimisation des différents paramètres s'impose. L'utilisation de l'approche mathématique dans le but de minimiser le nombre des essais et de réduire les expériences est très important particulièrement en industrie. Pour cela, nous avons choisi d'étudier les 3 facteurs suivant qui sont : la quantité de poudre de lait et d'amidon et le temps de maturation et les deux réponses : acidité et viscosité. A la fin de notre étude nous avons obtenu les résultats optimaux des facteurs et des réponses à savoir : la quantité de poudre de lait : 35g, quantité d'amidon : 5g, et temps de maturation : 17h, avec un optimum : d'acidité de 81 D° et la viscosité de 136 mpa. S.

Mots clé : Lait fermenté, raib ,présure, ferments ,optimisation

Abstract : Dairy products have always been perceived by consumers as healthy products and are an important part of the diet, the incorporation of lactic acid bacteria in various dairy products has reinforced the acclaimed health properties, and gave rise to an increasingly important consumption of these products. In our study we are interested in raib, which is a fermented renneted milk obtained by a mixed coagulation of whole, semi-skimmed or skimmed milk by the action of mesophilic lactic ferments and rennet. In order to formulate this milk preparation, the need for optimization of the different parameters is necessary. The use of the mathematical approach in order to minimize the number of tests and to reduce the number of experiments is very important especially in industry. For this, we chose to study the following 3 factors which are : the amount of milk powder and starch and ripening time and the two responses: acidity and viscosity. At the end of our study we obtained the optimal results of the factors and responses namely: the amount of milk powder: 35g, amount of starch: 5g, and ripening time: 17h, with an optimum: acidity of 81 D° and viscosity of 136 mpa. S.

Key words : Fermented milk ,Raib, rennet, ferments, optimization