

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université A. Mira – Bejaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Microbiologie

Filière : Sciences biologiques

Option : Microbiologie Alimentaire et Santé



Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Essai de mise au point d'une margarine conservable à
température ambiante**

Présenté par

OUMEDDAH Tinhinane & AOURIR Widad

Soutenu le : **14 juin 2016**

Devant le jury composé de :

Melle TOUATI N	MAA	Présidente
Mme FARRADJI. S	MCB	Encadreur
Melle BENDALI. F	MCA	Examinatrice
Mr ZEROUAL. B		Co-encadreur

Remerciements

A madame FARRADJI. S qui nous a fait le plaisir de diriger ce travail, votre soutien, vos conseils avisés, nous ont énormément servi

Remerciements chaleureux

A Monsieur Zeroual Brahim notre Co encadreur, et Monsieur DJEMAOUNE Lounis le chef de service du laboratoire de microbiologie qui nous ont fait l'honneur et le plaisir de nous accueillir au sein de Cevital, merci pour votre aide précieuse vos conseils et pour toutes les conditions mises à notre disposition afin de réaliser ce travail

Profondes gratitude

A Monsieur BEN ABDELMALEK Lamine qui nous a été d'une grande aide à l'intégration au sein de Cevital

Sincères remerciements

A toute l'équipe du laboratoire microbiologique et physicochimique, le personnel du service recherche et développement pour leurs remarques percutantes qui nous ont permis d'avancer dans notre travail

Respect le plus profond

A mademoiselle TOUATI.N d'avoir accepté de présider notre jury

A mademoiselle BENDALI. F d'avoir accepté d'examiner notre travail

Profonds remerciements

A toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Dédicaces

J'ai le 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 père.

Celle qui m'a donné tout sans rien en retour, ton combat qui n'avait d'autres objectifs que notre réussite, la plus chère personne. . . . Ma tendre mère.

Mes chères sœurs, pour le soutien et l'encouragement qu'elles m'ont offert, l'occasion m'est enfin donné de vous exprimer mon attachement le plus profond les mots ne sauraient traduire avec exactitude mon affection à votre égard. . . . je vous souhaite tout le bonheur.

Mon frère à qui je souhaite une longue et belle vie.

Mes beaux-frères. . . . qui méritent tous le bien du monde.

Mes adorables neveux. . . . Imamouche et Amir.

Ma très chère amie, sœur, copine et sa famille Hanane.

Mon cher binôme et sa famille. . . . pour la sœur qu'elle était et qu'elle restera pour moi pour tous les merveilleux moments passés ensemble qu'ils soient encore nombreux.

Ma chère copine Nadine qui m'a toujours soutenu et a fait preuve d'une amitié exceptionnelle.

À toute personne chère à mes yeux que je n'ai pas évoqués.

À toute personne qui m'a aidé à franchir un horizon dans ma vie.

Amablement *vidad*

Dédicaces

J'ai le plaisir de dédier ce travail :

À La mémoire de ma mère, tu es partie mais tu seras toujours dans
nos cœurs.

À mes parents qui ont su me soutenir et trouver les mots justes pour
m'encourager durant mes études. J'espère que je serai toujours à la
hauteur de vos espérances.

À mes grands-parents qui ont été là pour moi je les remercie de tout
mon cœur. Longue vie à vous

À mes deux adorables frères Yacine et Siphaks.

Je vous aime plus que tout

À mon oncle Ahcen et sa femme Samira

À mes tantes Hacina, Zahia et sa famille et Fariza.

Je vous adore.

Quoi que je fasse, je ne pourrais jamais vous remercier pour tous vos
sacrifices

À mon super ami Chou je t'aime vraiment beaucoup

À mon binôme et sa famille. Merci pour tout

À mes deux très chères amies et sœurs Lilly et Azouzou

À tous mes amis

OUMEDDOK Fihinane

Liste des abréviations**Listes des tableaux et des figures****Introduction**.....1**Synthèse bibliographique****Généralités sur les margarines**

I. Historique.....	3
II. Définition de la margarine.....	3
III. Types de margarine.....	4
IV. Composition de la margarine.....	4
V. Caractéristiques de la margarine.....	6
VI. Technologie de la margarine.....	7
VII. Facteurs d'altération de la margarine.....	8
VIII. Flore d'altération.....	9

Le sel et l'activité de l'eau dans les aliments

1. Sel/ Chlorure de sodium.....	10
2. Activité de l'eau.....	10
3. Relation sel et microorganismes.....	10

Matériel et méthodes

I. Lieu et durée de travail.....	12
II. Objectif du travail	12
III. Méthodologie du travail.....	12
III.1. Formulation des deux margarines.....	12
III.2. Analyses effectuées sur les margarines.....	14
III.2.1. Analyses physico-chimiques.....	14
III.2.2. Tests organoleptiques.....	19
III.2.3. Analyses microbiologiques.....	19
III.3. Analyses effectuées sur l'eau osmosée.....	24

III.4. Suivi microbiologique des deux margarines.....27

Résultats et discussions

I. Résultats d'analyses physico-chimiques des deux margarines.....28
II. Caractéristiques rhéologiques des deux margarines.....34
III. Résultats et interprétation des analyses microbiologiques.....35
IV. Résultats et interprétations des analyses du suivi microbiologiques des deux margarines.....39

Conclusion.....41

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

AG : Acide Gras

Aw : Activity water

CG : Corps Gras

EC : Bouillon *Escherichia Coli*

E Coli : *Escherichia coli*

ISO : International Standard Organisation

MKTTn : MÜLLER-KAUFFMANN au Tétrathionate-Novobiocine

NPP : Nombre le Plus Probable

PCA : Plat Count Agar

PVC : Polychlorure de Vinyle

RMN : Résonance Magnétique nucléaire

RVS : RAPPAPORT-VASSILIADIS Soja

SFC : Solide Fat Content

SS : Salmonella-Shigella

UFC : Unité Formant Colonie

XLD : Xylose-Lysine-Désoxycholate

Liste des tableaux et figures

N°	Tableaux	Page
I	Germes d'altération de la margarine et leurs effets sur le consommateur	09
II	Caractéristiques physicochimiques de la margarine à 0.4% de sel	30
III	Caractéristiques physicochimiques de la margarine à 2% de sel	30
IV	Taux d'humidité des deux margarines	31
V	Caractéristiques rhéologiques de des deux margarines	34
VI	Résultats d'analyses microbiologiques de la margarine à 2% de sel	36
VII	Résultats des analyses microbiologiques de la margarine à 0.4% de sel	36
X	Résultats des analyses microbiologiques de l'eau osmosée avant UV	37
IX	Résultats des analyses microbiologiques de l'eau osmosée après UV	38
Figures		
1	Taux de solide (SFC) des deux margarines	28
2	Taux de solide en fonction de la température (Michel Laventurier)	29
3	Taux de sel des deux margarines	32
4	pH des deux margarines	33
5	Aw de la margarine à 2% de sel comparée à celle de la margarine à 0.4% de sel	34
6	Suivi de la croissance de la flore aérobie dans les deux margarines	39

Introduction

La margarine est inventée en 1869 pour trouver une alternative économique au beurre. (Elizabeth, 2008).

L'impact nutritionnel des margarines a toujours fait l'objet de plusieurs études, vu qu'elles constituent des sources énergétiques principales en alimentation humaine et aussi parce qu'elles sont d'excellentes sources de vitamines, d'acides gras essentiels et autres constituants mineurs bénéfiques pour la santé (Poisson et Narce, 2003).

La margarine est constituée essentiellement de deux phases, grasse et aqueuse, elle contient en outre 2% d'additifs hydro et liposolubles. 82% de sa composition est représentée par un mélange d'huiles et 16% de la phase aqueuse (Karleskind, 1992).

Tout aliment présentant habituellement une forte teneur en eau est réputé être le plus sensible à une altération biologique rapide parce que cet excès d'eau présuppose qu'une certaine quantité est disponible pour permettre à divers réactions de s'établir. Il est donc naturel d'enlever l'eau pour éliminer sa disponibilité c'est-à-dire son activité. Cette dernière affecte notamment la susceptibilité à la contamination par les microorganismes tels que : bactéries, virus levures et moisissures. C'est essentiellement en réduisant cette activité de l'eau qu'on préserve les aliments de ce risque (Lozach, 2001).

Les traitements de conservation appliqués aux aliments visent à préserver leur comestibilité et leurs propriétés gustatives et nutritives en empêchant le développement des microorganismes qu'ils renferment et qui peuvent dans certains cas entraîner une intoxication alimentaire.

Dans le processus de fabrication de la margarine, plusieurs ingrédients sont rajoutés. Parmi ces derniers on trouve le sel (Chlorure de sodium), utilisé comme exhausteur de goût mais aussi en tant qu'agent conservateur par son pouvoir dépresseur de l'activité de l'eau. Le sel, selon sa teneur sélectionne les microorganismes halo résistants (Lozach, 2001).

Notre stage a été effectué au niveau du complexe agroalimentaire CEVITAL, il s'est porté sur la mise en point de deux margarines 2% de sel et 0,4 % de sel (margarine de référence), le suivi des paramètres de qualité des produits finis par des analyses physicochimiques et microbiologiques. Ces analyses sont faites dans le but d'étudier l'effet du sel sur la conservation de la margarine.

Ce travail est structuré en trois parties :

- Une synthèse bibliographique où sont données quelques notions sur la margarine et d'autres sur le sel et l'activité de l'eau dans les aliments.
- Matériel et méthodes : le matériel utilisé et la méthodologie suivie. Elle est subdivisée en trois volets : la formulation des deux margarines, les analyses physicochimiques et les analyses microbiologiques.
- Résultats et discussion : L'ensemble des résultats obtenus et leur discussion achevés par une conclusion générale et des perspectives.

Synthèse bibliographique

Généralités sur la margarine

I. Historique

La margarine fut produite pour la première fois en 1869, suite au concours lancé par Napoléon III pour trouver une alternative au beurre. En effet, le beurre était une denrée trop onéreuse et trop vite périssable pour fournir la marine. Le concours fut remporté par le pharmacien français Hippolyte Mège-Mourièse (1817-1880) qui a obtenu le brevet français numéro 86480 pour son développement, qu'il a appelé « Oléo margarine » (SnodGrass, 1930).

Hippolyte Mège-Mourièse réalisa une émulsion blanche résultante de graisse de bœuf fractionnée, de lait et de l'eau, baptisée « Margarine » (Du grec Margaron= blanc de perle). Le brevet a été déposé en 1872 et la commercialisation de la margarine fut alors développée. Aujourd'hui, la margarine est bien différente de celle produite en 1869, le progrès de la science au début du XXe siècle et notamment la découverte des procédés d'hydrogénation des huiles qui ont permis d'utiliser les huiles et les graisses végétales dans la fabrication des margarines, pour pallier le manque de disponibilité de graisses du bœuf. La margarine renferme la même quantité de matière grasse que le beurre, environ 82%, et sa composition en acides gras dépend de la fraction des huiles utilisées lors de sa fabrication (Vierling, 2008).

II. Définition de la margarine

La margarine est une émulsion de type « eau dans l'huile » qui comprend deux phases :

- Une phase continue, qui est une phase grasse ;
- Une phase dispersée qui constitue la phase aqueuse.

Elle contient aussi des additifs (lécithine, monoglycérides, sel, colorants, antioxydants, conservateurs, vitamines) qui sont répartis en partie dans la phase grasse et en partie dans la phase aqueuse (Karleskind, 1992).

A la différence du beurre, elle n'est pas fabriquée seulement à partir du lait. L'origine de ses acides gras est diverse, principalement végétale. La margarine était préparée au début en émulsionnant des graisses animales avec de l'eau et du lait ou de la crème. On emploie une grande variété de corps gras, allant des huiles végétales plus ou moins hydrogénées. Au moment de la fabrication, la graisse se présente sous forme de cristaux.

La margarine peut être un bon compromis nutritionnel entre l'huile et le beurre pour certaines utilisations (Cheftel et Cheftel, 1977).

III . Types de margarines

Il est difficile de donner une composition typique des margarines tant que celles-ci peuvent varier en fonction des utilisations, des saisons, des régions. D'un point de vue commercial, on peut distinguer plusieurs types de margarine (Djouab, 2007) :

Margarine pour usage domestique : Sont préparées le plus souvent à partir de triacylglycérol riche en acides gras insaturés. Elles doivent posséder les propriétés suivantes (Djouab, 2007):

- Doit être facilement tartinable
- Avoir des qualités organoleptiques proches de celle du beurre

Margarine diététique ou spéciale (basse calories) : Les margarines dites diététiques apportant des teneurs très réduites en calories, sont spécialement fabriquées pour des gens particuliers: les sportifs, les enfants, les personnes âgées et pour les régimes d'amaigrissement (Djouab, 2007).

Margarine enrichie en phytostérols : vise à réduire de 15-20% le taux du cholestérol, correspondant à une réduction de plus de 40% des risques cardiovasculaires. Elle est enrichie en certains composés (la phytostérols, stérol d'origine végétale à une dose de 8%) (Djouab, 2007 ; Himed, 2011).

Margarine pour l'industrie agro-alimentaire : Les margarines à usage industriel sont soit stables à hautes températures (graissage pour la friture), ou représentant une bonne plasticité dans un large éventail de températures (biscuiterie et pâtisserie) (O'brian, 2009).

IV . Composition de la margarine

Toutes les margarines ont en général une composition globale identique (Karleskind, 1992) :

IV.1. Phase grasse

➤ **Le blend d'huiles :** la phase grasse représente la partie la plus importante de l'émulsion, qui peut être d'origine végétale, animale, marine selon les performances souhaitées par la production. En effet, le choix des huiles de cette phase détermine les qualités du produit fini, notamment le point de fusion, la texture, la consistance et la stabilité, et par conséquent leur utilisation (margarine de table, pâte à tartiner, plat cuisiné, produits divers) (Morin, 2005).

➤ **Ingrédients liposolubles**

▪ **Emulsifiants :** qui sont des composés ayant des propriétés tensioactives, dues à leurs structures chimiques composées à la fois de groupes hydrophiles et lipophiles et de ce fait pouvant se dissoudre dans les deux phases, permettant leur union sous forme d'émulsion homogène. Les émulsifiants utilisés dans les margarines sont la lécithine, les mono et di glycérides (Luterotti et *al.*, 2006).

▪ **Colorants :** La couleur de la margarine doit être assez voisine de celle du beurre. Elle est obtenue soit par addition d'huile de palme rouge riche en caroténoïdes ou de β -carotène de synthèse (Luterotti et *al.*, 2006).

▪ **Arômes :** Les margarines sont souvent aromatisées par le diacétyle, arôme naturel du beurre, qui est un liquide jaunâtre à forte odeur qui donne à la margarine une odeur et un goût de beurre d'une manière permanente, au-delà d'une certaine limite, le goût n'est plus agréable et est jugé artificiel (Faur, 1992).

▪ **Vitamines :** Il s'agit des vitamines A, D et E qui sont naturelles ou synthétiques. Peuvent également être employées comme antioxygènes, additionnées de substances dites synergiques, comme l'acide citrique ou phosphorique qui complètent leur action stabilisatrice (François, 1974; Faur, 1992).

IV.2. Phase aqueuse : Représente environ 16% de la composition globale de la margarine. Elle est constituée soit d'eau, soit de lait ou d'un mélange des deux, elle est très sensible à des contaminations bactériennes, et donc nécessite une pasteurisation préalable (Karleskind, 1992).

Cette phase contient :

➤ **Eau :** qui est considérée comme le constituant le plus important de la phase aqueuse. Elle doit être pure et saine sur le plan microbiologique (Faur, 1992).

- **Lait** : le lait doit être pasteurisé, écrémé, et généralement additionné de ferments lactiques qui développent un arôme agréable proche de celui du beurre (Faur, 1992).
- **Sel** : il est employé pour donner à la margarine son goût propre, il intervient dans le profil de la saveur, à côté de son rôle dans l'amélioration de la sapidité, peut être bactériostatique (François, 1974 ; Faur, 1992).
- **Conservateurs** : les conservateurs les plus utilisés sont les acides faibles tels que l'acide sorbique E(200), qui possède un bon effet fongistatique, dont l'action inhibitrice est en fonction de sa concentration. L'acide sorbique est autorisé avec une teneur de 2g/kg (Denis, 1992).
- **Correcteurs de pH** : L'acide citrique est un antioxydant synergique (avec l'acide sorbique) puissant qui permet le contrôle du pH de la phase aqueuse, son utilisation est autorisée à des doses maximales de 0,1% (Alaise et Linden, 1997).

V . Caractéristiques de la margarine

V.1. Caractères physiques

Les caractéristiques physiques de la margarine sont liées à l'état du corps plastique de la margarine et à son état d'émulsion très fine. La margarine est plastique revient à dire qu'elle n'est ni liquide ni solide (Champtier, 1956).

V.2. Caractéristiques chimiques

Ces derniers sont assez variables du fait qu'il y a plusieurs sortes de margarines selon les emplois et méthodes de fabrication. Les valeurs intéressantes à connaître sont (Champtier, 1956) :

- La composition du produit.
- La composition en acides gras de la phase grasse et, en particulier, la teneur en AG essentiels.
- La nature et la teneur en divers éléments non glycérides (tocophérol)
- Les indices du degré de fraîcheur : acidité, indice de peroxyde.

V.3. Caractéristiques biologiques

Comme tout produit alimentaire, les margarines risquent d'être contaminées par des microorganismes qui, en se développant, provoquent une altération des qualités organoleptiques (saveur, apparence, texture). Ainsi le contrôle des matières premières et le

respect des règles d'hygiène et de propreté au cours de la production sont indispensables pour réduire les risques de contamination (Frey et Bach, 1992).

V.4. Les caractéristiques nutritionnelles :

Les margarines sont avant tout des corps gras alimentaires, qui apportent des éléments nutritifs importants et une énergie métabolisable d'environ 7500cal/Kg. C'est une excellente source de vitamines liposolubles (A, E, D) et elles sont douée d'une bonne digestibilité, qui est expliquée par l'état d'émulsion dans lequel se trouve le produit qui favorise notablement leur absorption et utilisation.

Plusieurs types de margarines sont apparus sur le marché avec des propriétés diététiques ou thérapeutiques particulières : margarine à faible teneur en corps gras et margarine riche en acides linoléique (régime pour maladies cardiovasculaires (Champtier, 1956).

VI. Technologie de la margarine

La fabrication de la margarine repose sur l'émulsion eau dans l'huile. La phase liquide (essentiellement constituée de matières grasses végétales) constitue la phase continue dans laquelle est incluse la phase dispersée (contenant divers additifs et ingrédients) (Cossut et *al.*, 2002).

VI.1. Préparation de la phase aqueuse : Cette phase représente 16 à 18%. L'eau ou le lait doivent subir une pasteurisation préalables, ils sont ensuite additionnés de : sel, sucre, arôme, conservateur, correcteurs de pH (Karleskind, 1992).

VI.2. Préparation de la phase grasse : Elle est constituée de matières grasses de différents points de fusion et des ingrédients liposolubles : lécithine, monoglycérides, colorant et vitamines. Le choix des huiles de cette phase détermine en grande partie les qualités du produit fini notamment la texture, la consistance, le point de fusion et la stabilité (Karleskind, 1992).

VI.3. Préparation de l'émulsion : L'émulsion est le résultat de combinaison entre la phase aqueuse, la phase grasse et les émulsifiants, qui seront par la suite mélangés dans le bac d'émulsion. A l'aide d'une pompe d'émulsion, le mélange passe vers le pasteurisateur à une température de 80°C/16 sec. Ensuite, il passe vers le combineur sous une température de 45°C grâce à la pompe de pression (Robert et Whitehurst, 2004).

VI.4. Cristallisation : La solidification des huiles et des graisses dans la fabrication de la margarine n'est pas un processus simple. Par conséquent, l'activité principale en production de la margarine est la cristallisation des huiles et graisses (Miskander *et al*, 2005).

Le refroidissement, la cristallisation et le malaxage sont réalisés de façon à conférer à la margarine les caractéristiques rhéologiques désirés ainsi que la stabilité (Graille, 2003).

VI.5. Conditionnement : Une fois refroidie et cristallisée, la margarine est pompée, grâce à des pompes hautes pression, puis conditionnée. Il existe deux types de conditionnement pour la margarine : en barquettes de polychlorure de Vinyle (PVC) ou en papier aluminium (Cossut *et al.*, 2002).

VI.6. Palettisation / stockage : Une fois conditionnée, la margarine est mise en carton puis sur palettes, puis stockée. Selon le produit, le temps de stockage est plus ou moins long à une température de 10° C. (Cossut *et al*, 2002)

VII . Facteurs d'altération de la margarine

Les facteurs d'altération de la margarine peuvent être d'ordre physique ou chimique et surtout bactériologique. La margarine, étant formée d'un taux élevé de matière grasse, est souvent exposée aux risques d'oxydation. Cette dernière est à l'origine de l'odeur de rance, du goût désagréable, du changement de couleur ainsi que des pertes d'activités vitaminiques et de la valeur nutritive. L'oxydation est due le plus souvent à plusieurs facteurs (Clements et Decker, 2000) :

- La lumière, en particulier les rayons UV qui exercent une action catalytique.
- La température élevée et la durée de stockage.
- L'exposition de la margarine à l'oxygène atmosphérique.
- La présence de certains agents pro-oxydants comme les métaux (Fe, Cu, Mn,...) favorise la réaction d'oxydation.

L'altération microbiologique est généralement causée par introduction de l'atmosphère ambiante, par l'appareillage de traitement insuffisamment stérilisé, les emballages, les contacts humains, les insectes et les constituants de la phase aqueuse (eau, lait) (Himed, 2011).

VIII . Flore d'altération des margarines

La flore d'altération des margarines ainsi que son impact sur le consommateur sont représentés dans ce tableau :

Tableau I: Les microorganismes d'altération de la margarine et leurs effets sur le consommateur

Les germes (Guiraud et Galzy, 1980)		Effet sur le consommateur (Catoir, 2005)	Source de contamination (Champtier, 1956)
Les microorganismes d'altérations	<ul style="list-style-type: none"> - Les microorganismes aérobies mésophiles - Les coliformes fécaux - Les levures 	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles digestifs - Diarrhée - Fièvre 	<ul style="list-style-type: none"> - La phase aqueuse (eau, lait) - L'air - L'appareillage de fabrication - conditionnement
Les microorganismes pathogènes	- Entérotoxique : <i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Troubles digestifs - Vomissements - Fièvre 	<ul style="list-style-type: none"> - La phase aqueuse (eau, lait) - L'air
	Entéropathogène : <i>Salmonella</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Fièvre typhoïde - Troubles digestifs - Diarrhée - Vomissements 	<ul style="list-style-type: none"> - L'appareillage de fabrication conditionnement

Sel et l'activité de l'eau dans les aliments

1. Sel /Chlorure de sodium

Le sel de cuisine est le nom commun du chlorure de sodium, de formule chimique NaCl, produit formé de l'association de deux ions : le cation sodium Na⁺ (39 % en poids du sel) et l'anion chlorure Cl⁻ (61 %). A des degrés divers, les sels habituellement commercialisés renferment, outre le constituant principal (chlorure de sodium NaCl), d'autres corps en quantité plus ou moins importante, tels que des matières insolubles dans l'eau (argiles, sable ou marnes), des sulfates de calcium ou de magnésium, des chlorures alcalino-terreux et autres halogénures alcalins. Si, pour certains usages, la pureté doit être la plus grande possible, il existe d'autres cas où les compagnons du sel sont sans inconvénients, voire bénéfiques (Erwan Lozach, 2001).

2. Activité de l'eau (A_w)

L'activité de l'eau d'un aliment n'indique pas son humidité mais la quantité d'eau libre utilisable par les microorganismes. Plus l'activité de l'eau diminue, plus la survie des microorganismes est difficile.

Sa valeur est appelée a_w, elle est calculée comme suite :

$$A_w = \frac{P_w}{P_{w0}} \quad \text{À une température donnée}$$

Soit :

P_w = Pression partielle de vapeur d'eau d'une solution ou d'un aliment.

P_{w0} = Pression partielle de l'eau pure à une même température

Par définition A_w de l'eau pure = 1, ainsi a_w d'une solution ou d'un aliment varie de 0 à 1 (Ait Abdelouahab, 2005).

3. Relation sel et microorganismes

Le sel est un composé hygroscopique ce qui exprime sa capacité à capter des molécules d'eau. Ainsi quand on rajoute du sel dans un aliment, celui à tendance à capter les molécules d'eau présentes et diminuer ainsi très fortement la disponibilité en eau de

l'aliment donc son A_w (l' A_w représente la capacité de l'aliment à retenir l'eau dans sa structure et à la maintenir pendant l'application des forces extérieures).

Cet effet hygroscopique permet aussi d'avoir un effet bactériostatique pour les aliments. La plupart des bactéries ont besoin d'une certaine quantité d'eau disponible pour pouvoir se développer correctement, il leur est donc plus difficile voire impossible de croître sur un aliment présentant une A_w faible. Les industriels utilisent donc le sel pour diminuer l' A_w des aliments afin d'augmenter leur conservation. Ce principe de conservation est d'ailleurs le premier à avoir été découvert et utilisé, c'est la salaison ou le saumurage. Cette méthode de conservation est toujours utilisée et principalement pour les charcuteries.

Il est important de noter que certaines bactéries sont résistantes à des concentrations en sel élevées (Lozach, 2001).

Matériel
et
méthodes

I. Lieu et durée du travail

Le travail a été réalisé au niveau du complexe agroalimentaire CEVITAL durant une période de trois mois allant du 15 février au 15 mai 2016 sous la direction de Mr Zeroual Brahim au sein de l'entreprise et de Mme Farradji au sein de l'université Abderahmane Mira Bejaia.

II. Objectif du travail

Le but de notre travail est de mettre au point une margarine conservable à température ambiante, et cela par l'augmentation du taux de sel (2% de sel) et une margarine de référence à taux habituel de sel (0,4%), deux essais ont été réalisés au sein de la chaîne pilote de la margarinerie du complexe CEVITAL.

N.B : Le matériel utilisé pour la réalisation de ce travail est cité dans l'annexe I.

III. Méthodologie du travail

III.1. Formulation des deux margarines

La première démarche consiste à fixer les propriétés que l'on désire conférer à notre produit, notamment son point de fusion, son taux de sel, sa teneur en eau, son pH et sa teneur en matière grasse totale.

Avant de réaliser la formulation des deux margarines, on doit respecter les pourcentages suivants :

82% phase grasse (matière grasse)

16% phase aqueuse (eau, lait)

2% d'additifs.

➤ Préparation de la phase grasse :

Les différentes huiles utilisées (tournesol, palme, équivalent de soja hydrogéné) ont été pesées séparément dans des récipients en acier inoxydable et par une balance adéquate. Ces huiles sont obtenues après un simple raffinage physico-chimique et utilisées fraîches.

Ces huiles sont versées dans un bac d'émulsion d'une forme cylindrique en acier inoxydable à double parois, de capacité d'environ 50L, équipé de deux agitateurs tournant en sens opposé, doté d'un chauffage (45°C à 55°C). Elle doit être légèrement agitée pour

empêcher la stratification, aucune intrusion d'air n'est possible pour éviter toute oxydation au cours de la production.

En parallèle, lorsque l'agitateur est en marche, on ajoute les additifs liposolubles : un émulsifiant (lécithine) un colorant (β -carotène) et les vitamines liposolubles (A, D3 et E) préalablement diluées dans une quantité d'huile. Etant donné que ces ingrédients sont concentrés, visqueux et coûteux, il est toujours conseillé de les diluer indépendamment dans une quantité d'huile retirée du bac.

➤ **Préparation de la phase aqueuse**

Une fois que les ingrédients solubles dans l'huile sont bien mélangés, on ajoute les quantités adéquates des composants de la phase aqueuse qui sont :

- L'eau osmosée traitée à l'ultraviolet
- Correcteur du pH (l'acide lactique)
- Le conservateur (sorbate de potassium E202)
- Le sel
- Le lait (lait pasteurisé préparé indépendamment)

Ces ingrédients sont préalablement pesés, dissous dans l'eau et ajoutés dans le bac précédent pour développer la formation d'une émulsion d'eau dans l'huile. L'émulsion est gardée sous agitation constante pour empêcher sa séparation et sous un chauffage pendant 10 à 20 min jusqu'à obtention d'une émulsion visqueuse, sans grumeaux ni mousse flottante.

➤ **Pasteurisation** : L'émulsion formée passe dans un pasteurisateur à une température de l'ordre de 80°C pendant 10 à 15 secondes puis elle subit un refroidissement à 45-55°C par des échangeurs de chaleur.

➤ **Première Cristallisation** : L'émulsion est ensuite refroidie à une température de 23 à 27°C à l'aide d'un fluide frigorigène en maintenant l'agitation.

➤ **Premier Malaxage** : L'émulsion subit un traitement mécanique à l'aide d'une tige afin d'assurer sa finesse

➤ **deuxième cristallisation** : Refroidir l'émulsion à 10 -15°C.

➤ **deuxième malaxage** : malaxer le produit une deuxième fois pour assurer son homogénéité.

➤ **Conditionnement** : La margarine ainsi produite est directement conditionnée selon la forme et le poids voulus (barquettes de 400g).

➤ **Conservation** : Pour éviter toute altération à la sortie de la conditionneuse, le produit est stocké en premier lieu dans la chambre froide à une température de 4°C.

III.2. Analyses effectuées sur les margarines

III.2.1. Analyses physico-chimiques

Un échantillon représentatif (barquette de 400g) est directement soumis aux analyses physicochimiques suivantes :

1. Le taux de solide par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire) (ISO 8292 T60-250, 1995)

La détermination de la teneur en corps gras solides est effectuée à l'aide d'un spectromètre de résonance magnétique nucléaire (RMN) pulsée basse résolution, de type (minispec mq 20, Germany). La teneur en solide d'une phase grasse constitue un élément important pour la connaissance des propriétés rhéologiques d'une graisse. Basée sur la mesure, par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire à basse résolution et à onde pulsée, de la teneur en composés liquides contenant de l'hydrogène. Méthode rapide et non destructrice, la RMN nécessite de connaître la nature de la matière grasse, car l'appareil doit être étalonné avec un corps gras identique à celui que l'on veut doser. Elle ne peut s'appliquer à des composés contenant des corps gras inconnus présents dans les graines oléagineuses, préalablement séchées à 103 ± 2 °C (Ollé, 2002).

Mode opératoire

La méthode standard consiste à faire préparer des tubes d'échantillons d'huiles bien mélangés après avoir fait fondre la margarine. Ces tubes doivent être remplis à hauteur de 3cm ensuite essuyés. Après, on procède à des incubations : 15 min à 100°C, 5 min à 60°C, 60 min à 0°C, 30 min à 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 °C en faisant la lecture à chaque température. Les résultats sont donnés par le logiciel de l'appareil en pourcentage de solides.

2. Détermination de la teneur en eau (humidité) Norme d'entreprise(Cevital)

Principe

Evaporation de l'eau ainsi que les matières volatiles de la margarine sous l'effet de la chaleur (plaque chauffante).

Mode opératoire

- Peser le bécher vide (p_1) et le poids de la prise d'essai (p_2)
- Déposer sur une plaque chauffante, en agitant soigneusement de temps à autres afin d'éviter la formation des gouttelettes d'eau aux parois du bécher (générer ainsi le phénomène d'éclaboussures).
- Laisser refroidir dans un dessiccateur
- Peser le bécher contenant l'échantillon, soit un poids (p)
- Laisser refroidir dans un dessiccateur

Expression des résultats

La teneur en eau est déterminée par la formule suivante :

$$H\% = \frac{(p_1 + p_2) - p}{p} \cdot 100$$

Où :

H (%) : humidité exprimée en pourcentage massique ; p_1 : poids du bécher vide en gramme (g) ; p_2 : poids de la prise d'essai en grammes (g) ; p : poids du bécher contenant l'échantillon après chauffage (g).

3. Détermination du point de fusion (ISO 63 21, 2002)

Principe

Il est basé sur le passage de la matière grasse de l'état solide à l'état liquide sous l'effet de la chaleur, à une certaine température (maximum 37°C).

Mode opératoire

- Après avoir fait fondu une quantité de margarine, on obtient un blend qui est filtré puis introduit dans deux tubes capillaires en verre sur une hauteur de 1 cm, les refroidir au réfrigérateur (8 à 10 min)
- Fixer les deux capillaires à une pince en bois
- La pince est suspendue sur les côtés du bécher et les deux capillaires sont immergés dans l'eau osmosée, ensuite le milieu est chauffé lentement (0.5°C/min) dans un bain marie
- Observer attentivement et noter la température à laquelle les colonnes d'huile commencent à remonter dans les tubes.

4. Détermination de l'indice de peroxyde (ISO 3960 4eme Edition 2007-07-15)

Principe

C'est le traitement d'une prise d'essai en solution dans l'acide acétique et du chloroforme par une solution d'iodure de potassium (KI). Titrage de l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium.

Mode opératoire

- Préparer un ballon bien séché et à l'abri du contact avec l'air
- Disposer du thiosulfate de sodium dans une burette à 0.01N (éviter les bulles d'air lors du remplissage de la burette)
- Disposer des réactifs à ajouter ultérieurement à l'échantillon à savoir :12ml de chloroforme ;18ml d'acide acétique
- Peser 5g de l'échantillon à analyser (blend) dans le ballon préparé auparavant Préparer dans un bécher 0,5g d'iodure de potassium (KI) complété à 1,5g d'eau distillée en assurant une bonne agitation
- Le ballon préparé et contenant le blend à titrer, on rajoute le mélange chloroforme, acide acétique en agitant le tout pour bien dissocier ce dernier, puis ajouter en dernier lieu l'iodure de potassium
- Boucher le ballon, bien agiter pendant une minute et mettre à l'abri de la lumière pendant une minute
- Ajouter 75ml d'eau distillée (afin d'arrêter la réaction) et quelques gouttes d'empois d'amidon comme indicateur coloré
- Titrer à l'aide de la solution de thiosulfate de sodium à 0.01N
- Lire sur la burette la chute de niveau correspondante

Expression des résultats

$$I_{per} = \text{Chute} \cdot 2$$

5. Détermination de l'acidité :

Principe

Traitement d'une prise d'essai de la margarine/huile par un mélange d'éthanol et d'oxyde diéthylénique, puis titrage d'acides gras libres présents à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium.

Mode opératoire

- Peser environ 10 g de la margarine dans un becher
- Ajouter 50ml d'éthanol préalablement neutralisé pour provoquer la dissociation de la matière grasse
- Ajouter quelques gouttes d'indicateur coloré (phénolphtaléine)
- Titrer à l'aide d'une solution d'hydroxyde de potassium jusqu'à apparition d'une coloration rose pâle persistante pendant 10 secondes environ en présence de quelques gouttes de phénolphtaléine

Expression des résultats

$$A(\%) = \frac{N \times V \times \text{Eq.gacideoléique} / 100}{P} \times 100$$

Où : A : acidité exprimée en % ; N : normalité du KOH utilisé (0.1 N) ; V (ml) : volume du KOH utilisé ; Eq.g : équivalent gramme de l'acide oléique (282 g/mole) ; p : poids de la prise d'essai en g.

6. Détermination de la teneur en sel (NE.1.2.429/89)**Principe**

Consiste à titrer les chlorures contenus dans la prise d'essai, par une solution de nitrates d'argent (AgNO₃) et en présence d'indicateur coloré (chromate de potassium

Mode opératoire

- Peser 5g de l'échantillon dans un Erlenmeyer
- Ajouter 100ml d'eau distillé préalablement chauffée
- Agiter l'eau distillée chauffée et la margarine puis laisser refroidir
- Ajouter quelques gouttes de chromates de potassium
- Titrer avec la solution de nitrates d'argent jusqu'au virage de la couleur (obtention d'une couleur rouge brique)

Expression des résultats

Le taux de sel est déterminé par l'équation suivante :

$$Ts\% = \frac{Eqg \text{ NaCl. } V. N}{p}$$

Où : Ts : taux ou teneur en sel exprimée en % ; N : Normalité d'AgNO₃ (0.1N) ; V (ml) : volume en ml d'AgNO₃ utilisé pour le titrage ; Eq.g (NaCl) : équivalent grammes d'NaCl égal à 58.5 ; p: prise d'essai en g.

7. Détermination du pH de la phase aqueuse pH: (NE.1.2.430/89)

Principe :

Mesure de la différence de potentiel entre une électrode de verre et une électrode de référence dans la phase aqueuse séparée de la margarine fondue.

Mode opératoire

- Etalonner le pH mètre par l'eau distillée à pH =7
- Introduire les électrodes dans la phase aqueuse à la température de mesure
- Lorsque la lecture devient constante, lire la valeur du pH indiqué par le pH mètre à 0.01 unités de pH près, sur l'échelle de l'instrument

8. Mesure de l'activité de l'eau :

Principe :

L'activité de l'eau est déterminée directement sur une prise d'essai de la margarine à l'aide d'un hygromètre.

Mode opératoire :

- A l'aide d'une spatule mettre une petite quantité de l'échantillon dans un récipient à usage unique
- Mettre le récipient à usage unique dans la chambre à mesure(le boitier métallique 40 mm)
- Enfermer hermétiquement le boitier avec la tête de mesure.
- Laisser 5 min.
- Lire le résultat sur l'écran de l'appareil portatif ainsi que la température.

Expression des résultats

Noter la valeur mesurée et la température de mesure

III.2.2. Tests organoleptiques :

- Méthode d'appréciation :

Après avoir formulé et apprécié la qualité physicochimique de nos margarines, nous avons effectué un test organoleptique pour donner une appréciation sur l'odeur, la couleur, l'aspect, la tartinabilité et le goût du produit avec les méthodes suivantes:

Odeur : Appréciation nasale de l'odeur dégagée par la margarine.

Couleur : À la lumière du jour, appréciation visuelle de la couleur sur toute la surface de la margarine.

Aspect : - Appréciation visuelle de l'homogénéité

- Appréciation pratique de la consistance, en pressant l'index sur la margarine, et en la palpant entre l'index et le pouce pour mettre en évidence la présence éventuelle de grumeaux.

Tartinabilité A l'aide d'un couteau en étale la margarine sur des tranches de pains grillés pour évaluer son aptitude à l'étalement

Goût: On apprécie le goût de la margarine sur les tartines obtenues.

III.2.3. Analyses microbiologiques :

La margarine comme tout produit alimentaire peut être le siège d'altérations microbiennes et la contamination provient surtout de la phase aqueuse qui est le plus vulnérable aux attaques microbiennes.

L'analyse microbiologique des aliments répond à deux nécessités (Becila,2009):

L'expertise : Elle permet de déterminer si un aliment est responsable d'une intoxication alimentaire.

La prévention : Elle permet de tester un aliment pour savoir s'il est consommable du point de vue microbiologique, c'est-à-dire, s'il ne contient pas trop de bactéries susceptibles de l'altérer, s'il peut être conservé selon certaines règles, et s'il ne contient pas des micro-organismes toxigènes et pathogènes.

Les analyses microbiologiques dans le cadre des margarines consistent en :

- Préparation des échantillons pour analyse.
- Dénombrement de la flore mésophile totale.
- Recherche de dénombrement des coliformes fécaux
- Dénombrement des levures
- Recherche des salmonelles

L'intégralité des contrôles est soumise à des méthodes d'analyses normalisées et validées de type ISO. Cette démarche permet de répondre aux exigences les plus strictes de la réglementation.

a. Préparation des échantillons pour analyse (ISO 6887-4/2003) :

La préparation des échantillons en vue de l'examen microbiologique consiste à prélever 5 barquettes de chaque margarine après la réception du produit.

b. Préparation des solutions mères : (ISO 6887-4/2003)

- Peser dans un flacon stérile préalablement taré, une prise d'essai d'une masse de 50g, prélevée aseptiquement à partir de l'échantillon à contrôler, à l'aide d'une spatule stérile. Ajouter 36 ml du diluant (Solution Ringer 1/4). Ce volume a été calculé pour tenir compte des 16% d'humidité que contiennent les margarines.
- Placer les flacons au bain marie, réglé à $45 \pm 1^\circ\text{C}$ jusqu'à fusion complète du produit pendant 20 min.
- Agiter jusqu'à obtention d'une émulsion homogène.
- Laisser reposer à température ambiante, afin d'obtenir une bonne séparation de la phase grasse et de la phase aqueuse.

c. Analyses microbiologiques:

1. Dénombrement de la flore mésophile totale (ISO 4833/2003)

Principe :

Cette méthode consiste en la recherche et le dénombrement des micro-organismes aérobies dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale, par comptage de colonies à 30°C .

Mode opératoire :

- A l'aide d'une pipette stérile, transférer dans deux boîtes de Pétri stériles 1 ml de la phase aqueuse.
- Couler dans chaque boîte environ 15 ml de la gélose PCA (plate count agar) fondu au préalable et maintenue à $45\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ dans un bain marie et refroidie à une température de 37 °C .

Lecture :

Après la période d'incubation, procéder au comptage des colonies, à l'aide d'un compteur de colonies.

2. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (Norme internationale, ISO 7251/2005)

Principe :

Cette méthode consiste en la détection et le dénombrement d'*Escherichia coli* présumés, au moyen de la technique de culture en milieu liquide avec calcul du nombre le plus probable (NPP), après incubation à 37 °C , puis à 44 °C . La présente norme internationale est applicable :

- Aux produits pour l'alimentation humaine et animale ;
- Aux échantillons d'environnement dans les domaines de la production et de la distribution des aliments.

Mode opératoire :

- Dans des tubes à cloches de Durham préalablement dégazifiées contenant 9 ml du bouillon lauryl sulfate simple concentration, ajouter 1 ml de la suspension mère.
- Bien homogénéiser les tubes, puis incuber à 37 °C pendant $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$. Si, on observe ni production de gaz, ni trouble gênant la visibilité du dégagement gazeux, prolonger l'incubation jusqu'à $48\text{ h} \pm 2\text{ h}$.

Confirmation :

- Si la cloche contient du gaz et un trouble est observé, inoculer un tube du bouillon de confirmation (bouillon *Escherichia coli*) qui sera incubé 24-48h à 44 °C .

- Après l'incubation, si on observe un dégagement gazeux, on procède à la recherche d'indole en ensemencant un tube d'eau peptonée exempte d'indole. Après incubation à 44°C /24-48h, ajouter quelques gouttes du réactif de Kovacs.
- Le test est positif si on observe un dégagement gazeux dans le tube bouillon EC et une production d'indole dans le tube d'eau peptonée exempte d'indole.

3. Dénombrement des staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus*) (Norme internationale, ISO 6888-1/2003) :

Principe :

Cette méthode consiste au dénombrement des staphylocoques à coagulase positive dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation animale, par comptage des colonies obtenues sur milieu solide, après incubation en aérobiose à 37 °C.

Mode opératoire :

- à l'aide d'une pipette stérile, transférer 1 ml de la phase aqueuse de la suspension mère, à la surface de trois boîtes de Pétri contenant un milieu gélosé.
- Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé Baird Parker en évitant de toucher les bords des boîtes avec l'étaleur.
- Laisser sécher les boîtes, pendant environ 15 min à la température ambiante.
- Effectuer les opérations en double de façon à avoir six boîtes.
- Retourner les boîtes, les incuber pendant 24h ± 2h, puis les réincuber pendant 24h ± 2 h supplémentaires dans les étuves à 37°C.

Lecture :

Après 24h et 48h d'incubation, marquer sur le fond des boîtes les colonies noires ou grises, brillantes, convexes et entourées d'une auréole d'éclaircissement. Après au moins 24h d'incubation, peut apparaître dans cette zone claire un anneau opalescent au contact des colonies.

Confirmation :

- A l'aide d'une anse bouclée stérile, prélever une partie de chaque colonie sélectionnée et l'ensemencer dans un tube de bouillon cœur-cervelle.
- Incuber à 37°C pendant 24 h ± 2 h.
- Ajouter aseptiquement 0,1ml de chaque culture à 0,3 ml de plasma de lapin dans des tubes stériles à hémolyse.

- incuber à 37°C dans un bain marie.
- examiner la coagulation du plasma après 4 h à 6 h d'incubation en inclinant le tube, si le test est négatif, réexaminer après 24 h d'incubation.
- la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus de la moitié du volume initialement occupé par le liquide.

4. Dénombrement des levures (Norme internationale ISO 21527-2/2008)

Principe :

Cette méthode est utilisée pour le dénombrement des levures viables, présentes dans les produits destinés à la consommation humaine ou à l'alimentation des animaux, au moyen de la technique par comptage des colonies à 25 °C ± 1 °C.

Mode opératoire :

- A l'aide d'une pipette stérile, transférer 1 ml de la phase aqueuse dans deux boîtes de Pétri stériles.
- Couler dans chaque boîte environ 15 ml de la gélose Dichloran à 18% de glycérol fondue au préalable et maintenue à 45 °C ± 1°C dans un bain marie (Le temps qui s'écoule entre la fin de la préparation de la suspension mère et le moment où le milieu est coulé dans les boîtes, ne doit pas dépasser 15 mn)
- Mélanger soigneusement et laisser se solidifier.
- Préparer également une boîte témoin avec 15 ml du milieu pour contrôler sa stérilité.
- Retourner les boîtes et les incuber à 25 °C ± 1 °C pendant 5 jours.

Lecture :

Compter les colonies sur chaque boîte après 3, 4 et 5 jours d'incubation. Au 5ème jour, retenir les boîtes contenant moins de 150 colonies. Si des parties de boîtes sont envahies par des moisissures ou s'il est difficile de compter des colonies bien isolées, retenir les comptages obtenus au 4ème jour, ou même ceux du 3ème jour d'incubation.

5. Recherche des salmonelles (Norme internationale ISO 6579/2002) :

Principe :

Cette méthode de recherche des *Salmonella* est applicable aux :

- Produits pour l'alimentation humaine et animale ;

- Echantillons d'environnement dans les domaines de la production et de la distribution des aliments.

Mode opératoire :

Cette analyse comporte trois étapes :

Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide :

- Ensemencer 25g de margarine dans 225 ml d'eau peptonée tamponnée
- Incuber pendant 18h ± 2h à 37 °C ± 1 °C.

Enrichissement sélectif :

- Transférer 0.1 ml de culture obtenue dans le pré-enrichissement, dans un tube contenant 10 ml de bouillon RVS et 1 autre ml dans 10 ml de bouillon MKTTn
- Incuber à 41,5 °C ± 1 °C et à 37 °C ± 1 °C pendant 24 h ± 3 h.

Isolement et identification :

- Avec une anse et à partir des cultures obtenues dans le milieu RVS, ensemencer, la surface d'une boîte de Pétri du premier milieu d'isolement, c'est-à-dire la gélose XLD.
- Opérer de même avec le deuxième milieu d'isolement, SS.
- Répéter l'opération décrite ci-dessus, pour la culture obtenue dans le milieu MKTTn.
- Incuber le tout pendant 24 h ± 3 h à 37 °C ± 1 °C.

Confirmation :

- Prélever à partir de chaque boîte de chacun des milieux sélectifs les colonies considérées comme typiques.
- Ensemencer les colonies sélectionnées sur la surface des boîtes de gélose nutritive.
- Incuber les boîtes ainsi ensemencées à 37 °C ± 1 °C durant 24 h ± 3h en vue d'une confirmation biochimique et sérologique.

III.3. Analyses effectuées sur l'eau osmosée (ISO 9308-1 :2000)

III.3.1. Echantillonnage (ISO, 5667-1 :2000)

Deux prélèvements sont effectués (avant la lampe UV et dans le bac) avec les précautions suivantes :

Etre très attentif pour éviter toute contamination accidentelle de l'échantillon durant le prélèvement et la manipulation ultérieure

Utiliser des flacons stériles et résistants à la stérilisation répétée sans dégager des substances susceptibles d'inhiber ou favoriser la croissance bactérienne.

Examiner les échantillons de préférence dans les six heures qui suivent le prélèvement, s'ils sont conservés à une température ambiante, dans certaines circonstances exceptionnelles les échantillons peuvent être conservés entre 3 et 8°C pendant une durée maximale de 24h.

III.3.2. Recherche et dénombrement d'*Escherichia coli* (ISO 9308-1 :2000)

Mode opératoire :

- Filtrer 100 ml de l'échantillon à analyser sur une membrane filtrante.
- Placer la membrane sur la boîte Pétri contenant la gélose lactosée au TTC en veillant à ne pas emprisonner de bulles d'air dessous.
- Incuber à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24h
- Examiner les membranes et considérer comme bactéries lactose-positives toutes les colonies typiques.
- Repiquer un nombre représentatif (au moins 10) de colonies typiques, respectivement sur gélose tryptonée au soja et dans un bouillon au tryptophane.
- Incuber la gélose tryptonée au soja à $36 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 24h.
- Effectuer l'essai de l'oxydase comme suit :
- Verser sur un papier -filtre 2 à 3 gouttes du réactif à l'oxydase préparé extemporanément.
- A l'aide d'une anse en platine étaler une partie de la culture sur le papier-filtre préparé.
- Considérer la réaction positive si dans 30s apparaît une coloration bleu/violet foncé
- Incuber le tube contenant le bouillon au tryptophane à 44°C pendant 24h.
- Contrôler la production de l'indole en ajoutant 0,2 à 0,3 ml de réactif de Kovacs.
- La production d'indole est confirmée par la coloration rouge de la surface

Lecture :

Les colonies ayant une réaction négative à l'oxydase sont considérées comme étant bactéries coliformes.

Les colonies ayant une réaction négative à l'oxydase mais positive à l'indole, sont considérées comme étant *E.coli*.

III.3.3. Recherche et dénombrement des entérocoques (ISO 7899-2 : 2000)

Mode opératoire :

- Filtrer un volume de 100 ml d'eau sur une membrane filtrante

- Placer la membrane filtrante sur le milieu de Slanetz et Bartley
- Faire incuber les boîtes à 36°C pendant 44 h ± 4 h
 - Après incubation, considérer comme typiques toutes les colonies bombées de couleur rouge, marron ou rose.
 - S'il y a des colonies typiques, transférer la membrane et les colonies à l'aide d'une pince stérile sur la gélose bile-esculine-azoture qui a été préchauffée à 44°C
 - Faire incuber à 44°C ± 0,5°C pendant 2h.

Lecture :

Considérer toutes les colonies typiques montrant une couleur brune à noire dans le milieu comme donnant une réaction positive et les compter comme entérocoques.

III.3.4. Recherche des bactéries Anaérobies sulfite réductrices (ISO 7899-2 : 2000)

Mode opératoire :

- Il peut être nécessaire d'effectuer un traitement thermique de l'échantillon pour éliminer les formes végétatives de bactéries de bactéries formant des spores et/ou les bactéries non sporulées.
- A l'aide d'une pipette stérile, transférer dans deux boîtes de Pétri stériles 1 ml d'échantillon
- Ajouter dans chacune des boîtes environ 15 ml de gélose aux sulfites de fer refroidie à une température comprise entre 44 et 47°C
- Bien mélanger l'inoculum avec le milieu gélosé puis laisser le milieu se solidifier
- Après solidification, verser 5 à 10 ml du même milieu pour recouvrir la couche précédente
- Incuber les boîtes dans des jarres pour anaérobiose à 35°C ± 1°C pendant 24 à 48 h
- S'il on suspecte la présence de bactéries thermophiles, on prépare une deuxième série de boîtes de Pétri qui seront incubées à 50°C pendant 24 à 48 h.

Lecture :

Après 24 h et après 48 h, les colonies noires, éventuellement entourées d'une zone noires sont dénombrées comme bactéries sulfite réductrices.

III.4. Le suivi microbiologique des deux margarines :

- Les deux margarines sont conservées à une même température ambiante dans les conditions du laboratoire (20°C)
- Faire un suivi microbiologique en effectuant les mêmes analyses pour les deux margarines durant une période de 3 mois pour estimer l'évolution de la croissance bactérienne.

Résultats
et
discussions

I. Résultats des analyses physico-chimiques des deux margarines

I.1 Taux de solide SFC

L'indice SFC se rapporte au pourcentage des matières grasses solides à des températures différentes, cet indice indique plusieurs caractéristiques du produit, y compris son aspect général et ses caractéristiques rhéologiques (NoorLida et *al.*, 2002).

La courbe de la teneur en solide en fonction de la température permet de prévoir une grande partie des caractéristiques rhéologiques, sa dureté, son goût et sa plasticité.

Chaque type de margarine est défini par le profil de cette courbe (Karleskind, 1992).

Les résultats obtenus sont présentés dans la courbe suivante :

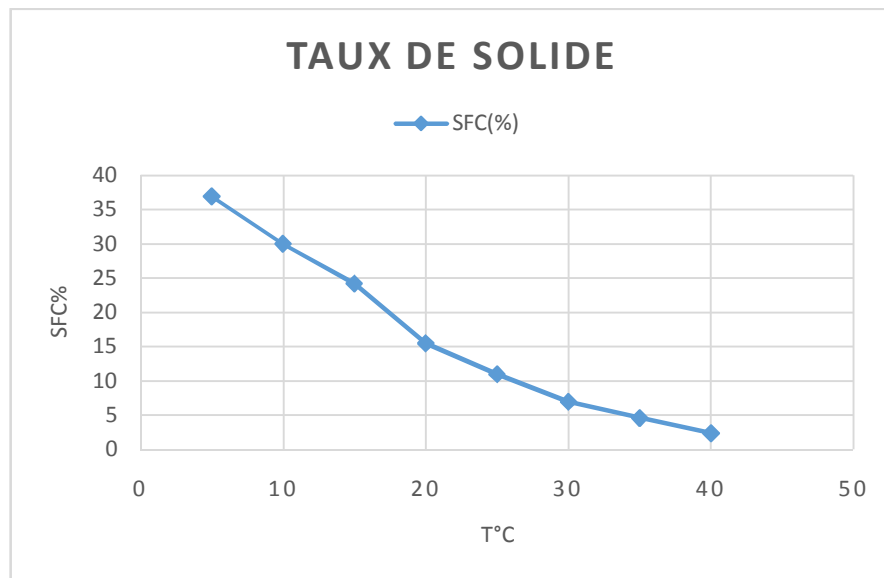


Figure 1: Taux de solide (SFC) des deux margarines

D'après l'allure de la courbe illustrée dans la figure 1, on remarque une diminution du taux de solide en allant de basses températures (5°C) à des hautes températures (40°C).

Selon Michel Laventurier (2013) : la courbe de SFC nous renseigne sur (Figure 2)

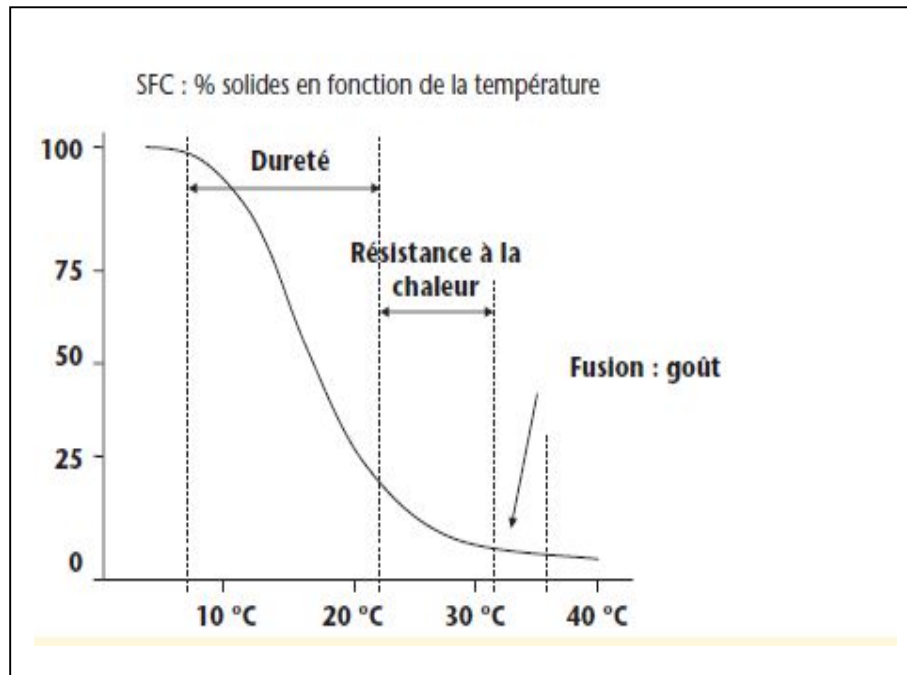


Figure 2 : Taux de solide en fonction de la température (Laventurier, 2013)

Pour les margarines tartinables, le SFC ne doit pas dépasser 32% à 10°C (Charteris et Keogh, 1991).

A 5°C l'indice de SFC est de 36,9% < 40% —————> bonne tartinabilité

A 10°C l'indice de SFC est de 30% < 32% —————> bonne consistance

A 35°C l'indice de SFC est de 4,6% < 6% —————> fondante en bouche

Les tableaux suivants résument les caractéristiques physico-chimiques des deux margarines (0,4 et 2 % de sel).

Margarine à 0.4% de sel :

Les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques pour la margarine de référence sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau II : Caractéristiques physicochimiques de la margarine à 0,4% de sel

Paramètre	Point de fusion (°C)	pH	Humidité (%)	Aw	Taux de sel(%)	Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	Acidité (%)
Marg 1	35,7	4,3	17,76	0,755	0,4	0,23	0,01

La margarine à 2% de sel :

Les résultats obtenus pour les analyses physicochimiques pour la margarine test sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau III : Caractéristiques physicochimiques de la margarine à 2% de sel

Paramètre	Point de fusion (°C)	pH	Humidité (%)	Aw	Taux de sel(%)	Indice de peroxyde (meq O ₂ /kg)	Acidité (%)
Marg 2	35,7	4,3	17,25	0,689	2	0,23	0,01

I.2. Teneur en eau

Les résultats de l'humidité pour les deux margarines sont représentés dans le tableau IV

Tableau IV : Taux d'humidité des deux margarines

Echantillon	H(%)
Marg 0.4%	17,76
Marg 2%	17,25

On remarque que la teneur en eau des deux margarines est de l'ordre de 17,25% pour la margarine à 2% de sel, et de 17,76% pour la margarine à 0,4% de sel.

La margarine est une émulsion de type eau dans l'huile qui comprend deux phases (Graille, 2003) :

Phase grasse :(80% minimum)

Phase aqueuse (16 à 18% maximum)

Les résultats obtenus sont très proches et compatibles à la teneur fixée en amont de la formulation initiale qui contient 18% de la phase aqueuse et elle répond à la définition de la margarine donnée par Graille (2003).

I.3. Point de fusion

Les résultats de la mesure des points de fusion des deux margarines présentés dans les tableaux II et III sont les mêmes et de l'ordre de 35,7°C, cela est dû à la même composition de la phase grasse des deux margarines à l'exception du taux de sel qui n'a pas d'influence sur ce paramètre.

Le point de fusion d'une graisse alimentaire ne doit pas dépasser 43°C (Dupin et *al.*, 1992).

Le point de fusion de la margarine doit être fixé de manière à ce qu'elle soit fondante dans la bouche mais aussi plastique à température ambiante pour supporter le travail mécanique lors de la tartinabilité. A titre comparatif notre résultat se situe dans l'intervalle des températures de fusion de 15 margarines en Turquie se situant entre 31,2 et 35,9 (Karabulut et Turan, 2006).

I.4. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde est un critère très utile et d'une sensibilité satisfaisante pour apprécier les premières étapes d'une détérioration oxydative (Karleskind, 1992).

Les deux margarines ont un indice de peroxyde de 0,23 meq d'O₂ /kg. Ces valeurs sont inférieures à la norme internationale qui exige une valeur de 10 meq d'oxygène actif par Kg de matière grasse et inférieure à la norme interne qui est de 1%.

De ce fait, les deux margarines sont conformes à la norme, et ne présentent aucune détérioration oxydative, cela est dû au bon déroulement des étapes de la production, et à la qualité des huiles utilisées.

I.5. Acidité

L'acidité nous renseigne sur le degré d'altération des corps gras par hydrolyse.

Un corps gras est à l'abri de l'altération par hydrolyse si son acidité est <0,2% (Karleskind, 1992).

L'acidité des deux margarines (0,01%) est dans les normes car elle est inférieure à 0,2%, maximum fixé par les spécialistes et inférieure à la norme interne de l'entreprise qui est de 0,1%.

I.6. Teneur en sel (NaCl)

L'addition du sel à la margarine a pour but d'améliorer la sapidité et d'inhiber le développement de certaines bactéries, ce qui permet de prolonger la durée de conservation.

La teneur en sel des deux margarines élaborées est présentée sur la figure 3:

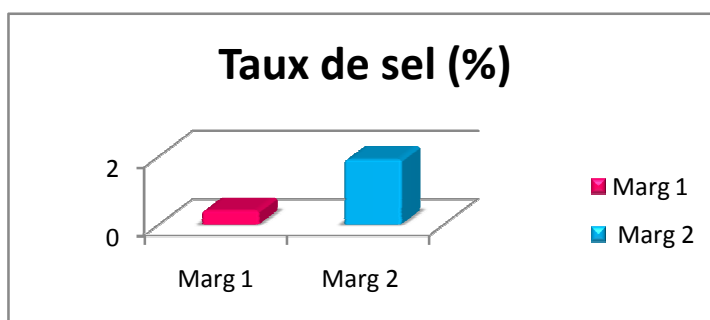


Figure 3 : Taux de sel des deux margarines

Les résultats de la présente étude montrent que les valeurs du taux de sel des deux margarines sont compatibles à la formule élaborée.

Pour éviter un goût trop salé, on s'en tient au maximum à une teneur en sel de 1,5 à 2 % du poids de la margarine (Lozach, 2001).

Les résultats restent en dessous de la norme interne de l'entreprise qui est de 2% et de la norme fixée par les spécialistes.

I.7. pH de la phase aqueuse

La détermination du potentiel d'hydrogène des deux margarines permet de prévoir le risque de contamination microbienne, une valeur faible de ce dernier freine la croissance des microorganismes.

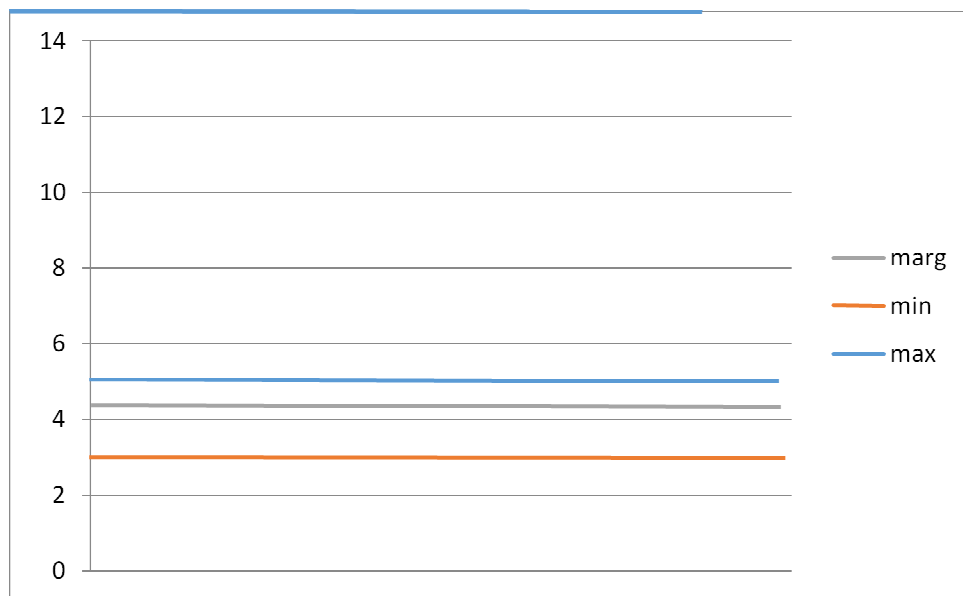


Figure 4 : pH des deux margarines

La figure 4 montre que le pH obtenu pour la margarine à 0,4% de sel est le même que celui de la margarine à 2% de sel, il est de l'ordre de 4,3. En effet, ce résultat est compris entre les deux normes maximale et minimale préconisées par l'entreprise (3,5 et 5,5).

La conformité des résultats est liée à la qualité de l'eau, des conservateurs et des correcteurs de pH, ainsi que la maîtrise des quantités ajoutées.

I.8 Activité de l'eau

L'activité de l'eau est un facteur critique qui détermine directement la conservation des aliments, elle représente un important facteur qui influence sur la possibilité et le taux de croissance des microorganismes dans des denrées alimentaires.

La figure 5 représente les valeurs de l'activité de l'eau mesurées dans les mêmes conditions à une température de 19,3°C.

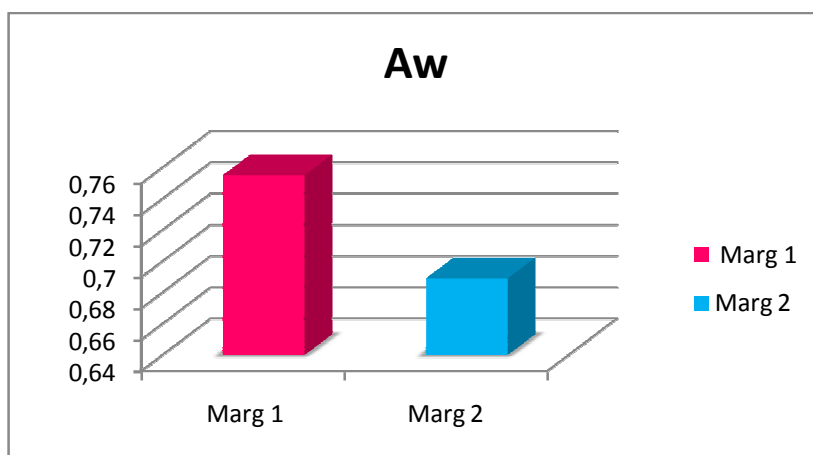


Figure 5 : Aw de la margarine à 2% de sel comparée à celle de la margarine à 0,4% de sel

Les résultats montrent que l'activité de l'eau obtenue pour la margarine à 0,4 % de sel est supérieure à celle obtenue pour la margarine à 2% de sel, cela est dû au taux élevé de sel qui est un agent dépresseur de l'activité de l'eau dans les aliments (Lozach, 2001).

L'activité de l'eau de la margarine à 0,4 % de sel est de l'ordre de 0,755, tandis que l'activité de l'eau de la margarine à 2% de sel est de 0,689. Cette différence influence sur le type et le nombre de microorganismes retrouvés dans les deux margarines.

II. Caractéristiques rhéologiques des deux margarines

Les résultats de l'appréciation sont représentés dans le tableau V

Tableau V : Caractéristiques rhéologiques de des deux margarines

Caractéristiques	Margarine à 0,4% de sel	Margarine à 2% de sel
Odeur	la margarine dégage une odeur fraîche et douce du beurre	odeur de beurre ce qui indique le bon choix de la

		quantité d'arôme de beurre ajoutée.
Couleur	Couleur jaune pâle de la margarine sur toute la surface.	Couleur jaune pâle.
Aspect	Visuellement paraît lisse, brillante et homogène	Une bonne homogénéité (absence de grumeaux) indique le bon déroulement de l'étape, refroidissement et cristallisation (bonne agitation et un bon malaxage
	<ul style="list-style-type: none"> • Lisse sans grumeaux. 	Lisse sans grumeaux.
Goût	Goût de beurre	Goût du beurre,
Tartinabilité	bonne aptitude à l'étalement	Bonne aptitude à l'étalement

III. Résultats et interprétation des analyses microbiologiques

III.1. Analyses effectuées sur les deux margarines

Les analyses microbiologiques de produit fini sont indispensables pour estimer la charge bactérienne après la production, et pour contrôler les différents paramètres qui peuvent contaminer le produit lors des différentes étapes.

Les résultats des analyses sont résumés dans les tableaux suivants :

Tableau VI : Résultats de l'analyse microbiologique de la margarine à 2% de sel

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Flore aérobie	UFC/g	5	07	13	00	12	10 ²	ISO : 4833
Coliformes fécaux	UFC/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	UFC/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
<i>Salmonella</i>	UFC/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

Tableau VII : Résultats des analyses microbiologiques de la margarine à 0,4% de sel

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Flore aérobie	UFC/g	13	07	26	22	15	10 ²	ISO : 4833
Coliformes fécaux	UFC/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	UFC/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
<i>Salmonella</i>	UFC/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

D'après les résultats obtenus pour les deux margarines, on ne remarque aucune présence de coliformes fécaux, *Staphylococcus aureus*, levures et *salmonella* dans tous les échantillons. Tandis qu'on remarque la présence de quelques germes de la flore aérobie totale (entre 0 et 26 UFC/g)

Trois micro-organismes naturellement présents dans la nature peuvent présenter un risque pour la santé humaine. Ils sont donc particulièrement surveillés par les

professionnels. Il s'agit de, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Becilla, 2009).

La législation fixe, pour chacun d'entre eux, une absence ou un seuil tolérable ; c'est à dire sans danger pour la santé humaine.

Selon Becila (2009) :

Certains contaminants (flore aérobies mésophiles) ne présentent aucun inconvénient, ni pour le produit ni pour ceux qui le consommeront à condition qu'il ne dépasse pas un certain seuil. En revanche, d'autres sont susceptibles de nuire gravement à la santé humaine (flore pathogène) ou de mettre en péril la vie commerciale de la denrée (flore d'altération).

Les résultats obtenus nous renseignent sur l'efficacité du traitement thermique (pasteurisation), la bonne pratique d'hygiène pendant la production et l'addition d'ingrédients ayant des propriétés bactériostatiques (conservateurs, sel)

Au vue des résultats obtenus et leur correspondance aux normes ISO utilisées dans l'entreprise, les deux margarines s'avèrent d'une qualité microbiologique satisfaisante.

III.2. Analyses effectuées sur l'eau osmosée :

Les eaux de procès font l'objet d'un contrôle de qualité microbiologique qui porte d'abord sur la recherche des microorganismes susceptibles d'affecter la qualité du produit ainsi que la santé de l'homme, les eaux destinées à l'alimentation ou à l'industrie alimentaires doivent être exemptes de tout germe pathogène ou opportuniste.

Aujourd'hui, les normes exigent la recherche des germes témoins de la contamination fécale (Entérocoques, *E.coli*) et les indicateurs d'efficacité de traitement ou d'une pollution fécale ancienne ou intermittente (bactéries sulfitoréductrices).

Les analyses microbiologiques sont effectuées avec une méthode normalisée (filtration sur membrane) sur l'eau de process avant et après traitement à UV.

Les résultats d'analyses sont présentés dans les tableaux suivants :

Tableau VIII : Résultats des analyses microbiologiques de l'eau osmosée avant UV

Désignation	Unité	Résultat	Norme	Méthodes d'essai
-------------	-------	----------	-------	------------------

<i>E.coli.</i>	UFC/100ml	absence	absence	ISO : 9308-1
Entérocoques.	UFC/100ml	absence	absence	ISO : 7899-2
Anaérobies sulfite réducteurs à 46°C y compris les spores.	UFC/20ml	absence	absence	ISO : 15213

Tableau IX : Résultats des analyses microbiologiques de l'eau osmosée après UV

Désignation	Unité	Résultat	Norme	Méthodes d'essai
<i>E.coli.</i>	UFC/100ml	absence	absence	ISO : 9308-1
Entérocoques.	UFC/100ml	absence	absence	ISO : 7899-2
Anaérobies sulfite réducteurs à 46°C y compris les spores.	UFC/20ml	absence	absence	ISO : 15213

Les résultats obtenus montrent clairement l'absence totale de tout germe dans l'eau analysée.

Selon « les lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques et microbiologiques alimentaires au Québec en 2009 », une eau traitée utilisée en industrie agro-alimentaire doit répondre aux normes suivantes :

Entérobactéries : non détecté/100ml

E.coli : non détecté/100ml

Micro-organismes pathogènes : non détecté/volume analysé

Les résultats des analyses répondent à ces normes et confirment la bonne qualité microbiologique de l'eau de process, on admet que cela résulte soit de l'efficacité des traitements appliqués sur les eaux, l'application des mesures de sécurité ou la non contamination des eaux.

IV. Résultats et interprétation des analyses du suivi microbiologique des deux margarines

Afin d'apporter une réponse à notre problématique, et de comparer la croissance microbienne dans les deux margarines, un suivi microbiologique a été effectué durant une période de 3 mois sur les deux produits conservés à température ambiante dans le laboratoire

Les résultats sont résumés dans les tableaux (voir en annexes)

Les germes pathogènes (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*) les coliformes fécaux et les germes d'altération (levures) sont toujours absents après trois mois de conservation.

L'absence de ces germes résulte de :

- La sécurité et qualité hygiénique des deux margarines
- Conservation adéquate des margarines
- Efficacité des conservateurs utilisés
- L'absence initiale des microorganismes dans les margarines.

Par contre on remarque une évolution de la flore aérobie mésophile dans les deux produits, les résultats sont résumés dans la figure 6

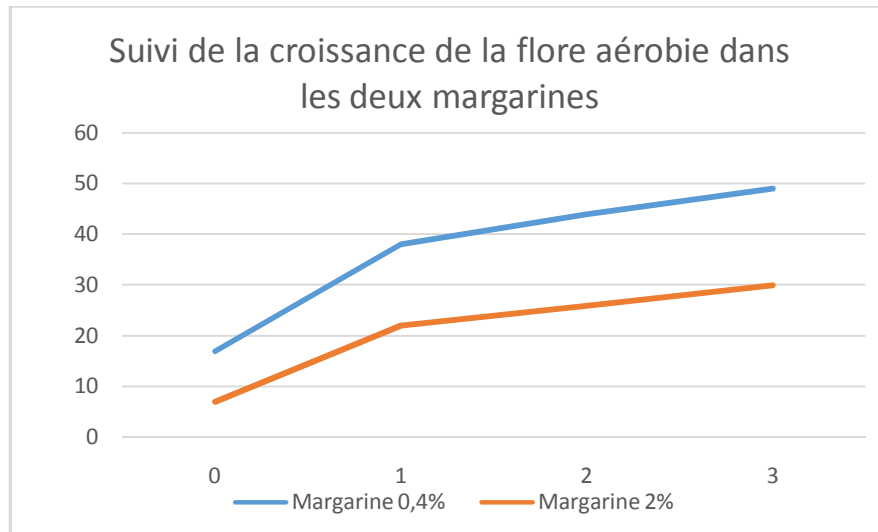


Figure 6 : Suivi de la croissance de la flore aérobie dans les deux margarines

Dans les deux margarines le taux des germes aérobies ne dépasse pas 50 UFC/g

Ces germes n'agissent pas et n'ont pas de répercussion du point de vue qualitatif (altération du produit) et hygiénique (santé du consommateur) qu'au-delà de certaine quantité (Guiraud et Galzy, 1980).

La quantité de bactéries dénombrées, donne ainsi une idée de la charge bactérienne globale. On peut dire que, dans des conditions d'hygiène normale, celle -ci tourne autour des 25 000 / g, au-delà de 50 000/g, le produit est considéré comme impropre à la consommation humaine (Becilla, 2009).

La capacité des microorganismes à se développer et à causer des dommages dépend des propriétés intrinsèques de l'aliment et de facteurs extrinsèques appliqués à l'aliment.

Facteurs intrinsèques : pH, humidité, activité ou disponibilité de l'eau, structure physique de l'aliment et présence d'agents antimicrobiens.

Facteurs extrinsèques : Température, humidité relative, gaz présents (CO₂, O₂).

Les deux courbes ont une même allure, sauf qu'on constate une croissance plus importante dans la margarine à 0,4%, cette différence peut être due à l'effet bactériostatique du sel.

L'action du sel sur les micro-organismes s'apprécie surtout dans le domaine agro-alimentaire puisqu'il y est employé comme agent conservateur des denrées alimentaires. En effet, le sel est un agent dépresseur de l'activité de l'eau dans les aliments (il attire naturellement l'eau : on dit qu'il s'agit d'un produit hygroscopique). De ce fait un agent de stabilité microbiologique, qui selon sa teneur, sélectionne des micro-organismes halo résistants c'est à dire capables de proliférer en milieu salé (Lozach, 2001).

Après trois mois les deux margarines répondent toujours aux exigences de l'hygiène alimentaire qui est l'ensemble des conditions et mesures nécessaires pour assurer la sécurité et la salubrité des aliments à toutes les étapes de la chaîne alimentaire.

Conclusion

L'un des objectifs principaux du complexe CEVITAL est la satisfaction des besoins de ses clients. Ces derniers identifient leurs produits par plusieurs critères : marque, goût, texture, cout et conservation. CEVITAL est donc intéressé par toute technique qui permet d'améliorer la conservation des produits.

Notre travail a pour objectif d'élaborer une margarine conservable à température ambiante. Pour cela nous avons opté pour un taux élève de sel.

Durant notre stage nous avons réalisé deux échantillons de même composition l'un à 0.4% de sel (margarine de référence) et l'autre à 2%.

Le suivi compare la qualité physico-chimique et microbiologique des deux margarines. Les résultats des analyses physico-chimiques effectués sur les deux produits finis révèlent une conformité par rapport aux normes fixées par l'entreprise. Cette conformité reflète le bon choix et la bonne conservation des matières premières et aussi le bon déroulement des différentes étapes de fabrication qui ont été réalisées dans les meilleures conditions et sous une hygiène rigoureuse contrôlée régulièrement.

En outre, les résultats des analyses microbiologiques obtenus durant le suivi révèlent l'absence de tout germe pathogène ou d'altération, et une légère évolution de la flore aérobie mésophile prédisposée dans les margarines mais toujours inférieure au seuil toléré, ce qui nous laisse jugé que les deux margarines sont stables sur le plan microbiologique pendant les trois mois de l'étude.

Une nuance est constatée entre les deux margarines, cela est dû au taux élevé du sel dans le deuxième produit.

A l'issu de notre étude, on peut conclure que le sel a un rôle primordial dans la conservation des aliments par son pouvoir dépresseur de l'activité de l'eau, il demeure l'additif de choix dans l'industrie agroalimentaire et reste largement incorporé dans les produits sensibles à l'altération microbienne. Or il est nécessaire que la teneur en sel soit compatible avec la norme et répond aux exigences des consommateurs qui par soucis de problèmes de santé réclament des taux de plus en plus restreins de sel. C'est pour cette raison qu'il est préférable de l'associer avec d'autres agents dépresseurs de l'activité de l'eau.

On perspectives il est souhaitable de :

- Poursuivre l'étude durant la durée de DLC (6 mois) pour confirmer la stabilité de la margarine lors de sa conservation à température ambiante.
- Additionner un autre agent dépresseur de l'activité de l'eau.

Annexes

Annexe I : Matériel Utilisé

➤ Formulation :

- Récipients en acier inoxydable

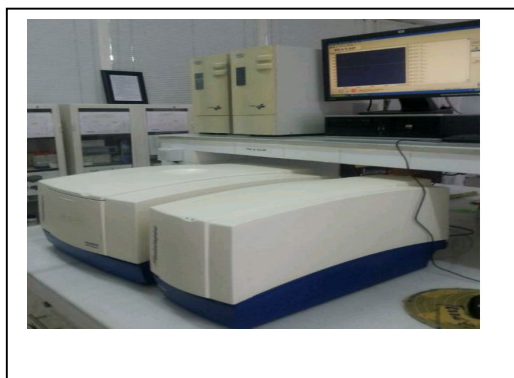


- Balances analytiques (**Sartorius 600g BP61S**)



➤ Analyses physicochimiques

- RMN (Résonance magnétique nucléaire (**Minispec RMN ma ND1881**))



- Plaque chauffante (**Heat HB500 J02264**)



- Etuves à différentes températures (**Memmert BE400**)



- Thermomètre



- pH mètre (**HANNA instrument PH 211**)



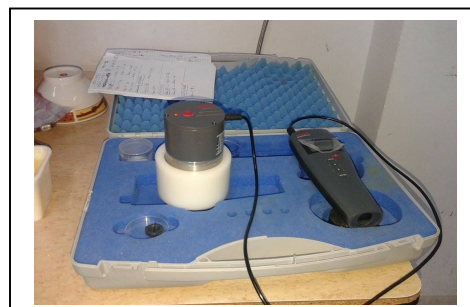
- Hygromètre



- Bains maries (**Haake K15**)



Hygromètre (Mesure de l'activité de l'eau) **Retronic**



➤ **Analyses microbiologiques :**

- Autoclave



- Trompe de filtration



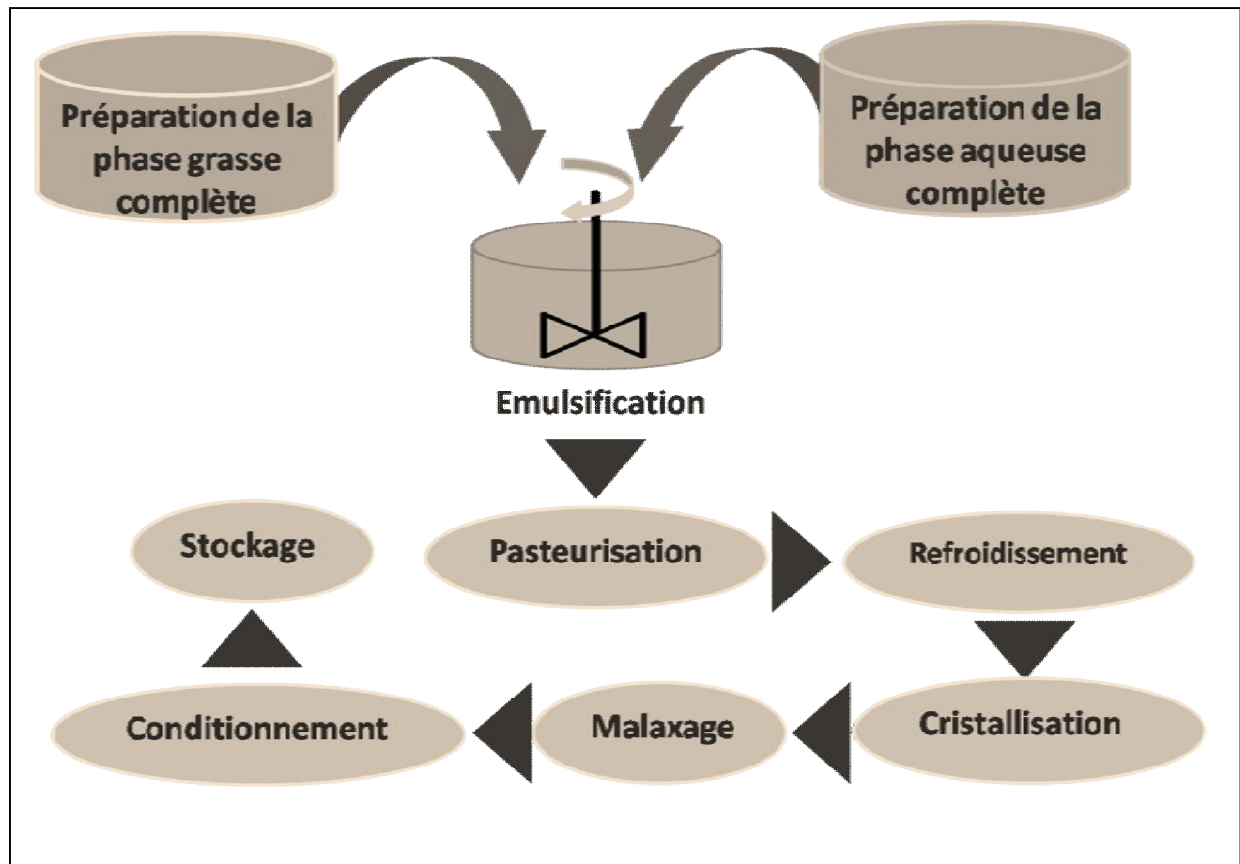
- Jarres pour anaérobiose



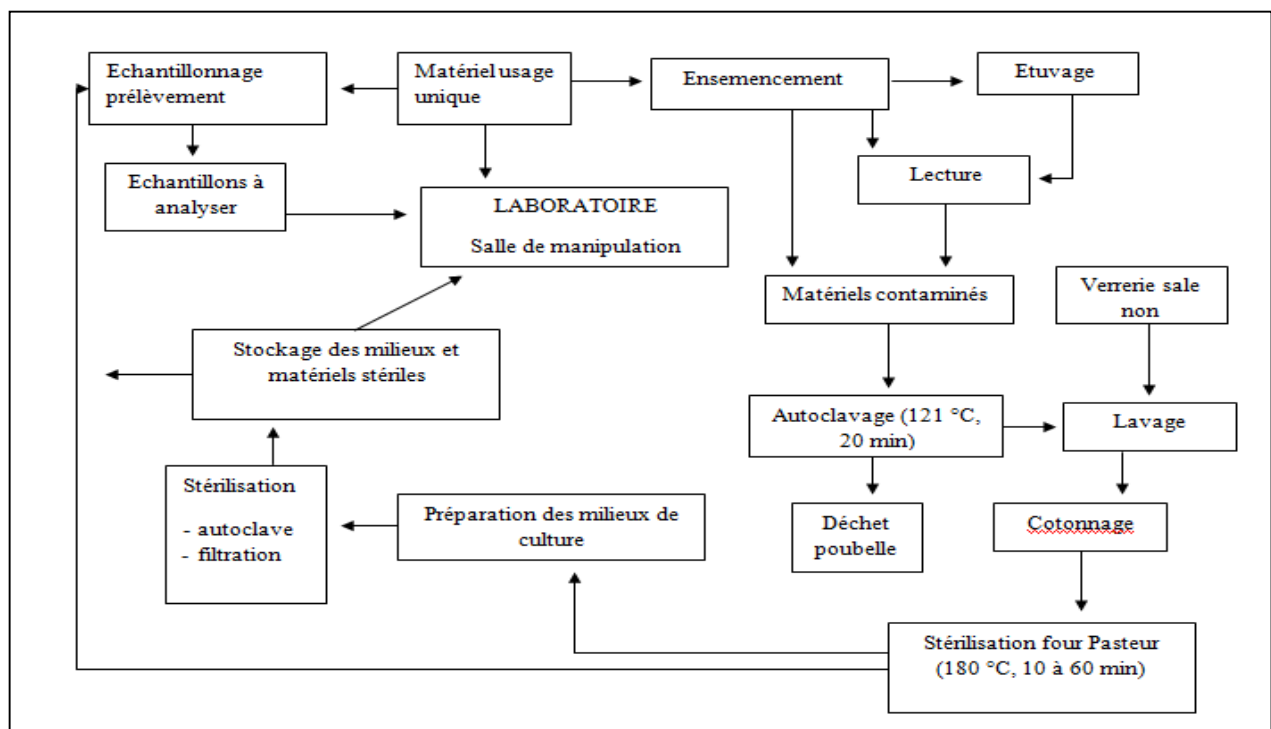
- Distillateur



Annexe II : Diagramme de fabrication de la margarine (Cossut et al, 2002)

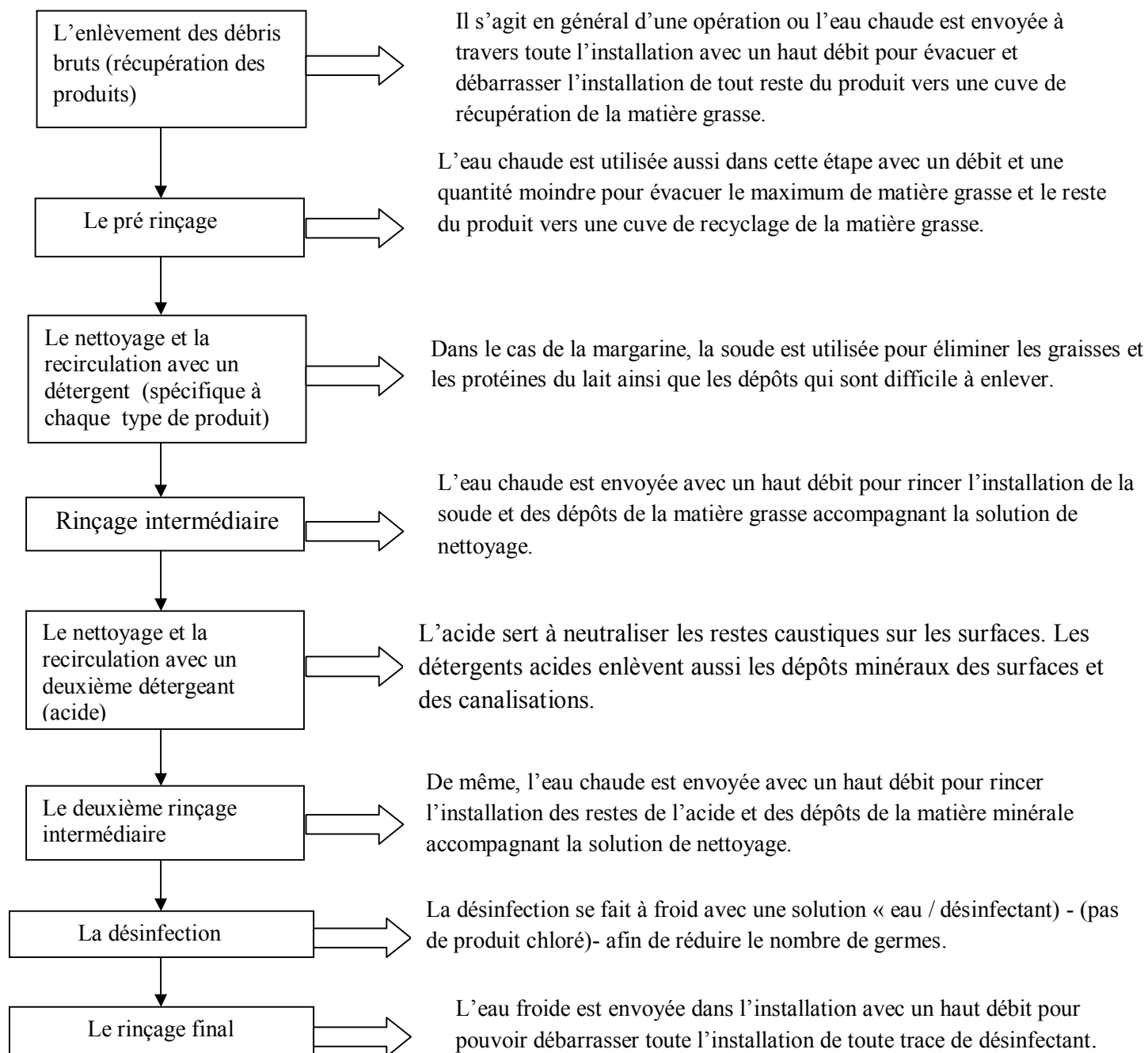


Annexe III : organigramme du laboratoire de microbiologie



Annexe IV : Nettoyage En Place (NEP) / Cleaning In Place (CIP) (Cleaning-in-Place Dairy, Food and Beverage Operations Third Edition, Edited by, Dr Adnan Tamime, Dairy Science and Technology Consultant Ayr, UK, P31, 32, 33, 34 & 35) :

Les procédés de nettoyage, manuel ou automatisé et dans tous les secteurs de l'industrie, ont tendance à suivre les mêmes principes, et se composent généralement d'une série d'étapes qui sont :



Remarque Il faut noter que, à la fin de chaque CIP, les eaux de nettoyage sont vérifiées sur le plan microbiologique (présence de colonies) et sur le plan physicochimique (PH, présence des traces d'acide, de soude ou d'impuretés solides,...)

Annexe V : Préparation des milieux de culture**➤ Gélrose lactosée au TTC (chlorure de 2,3,5-triphényltétrazolium)****Milieu de base :**

Lactose	20g
Peptone.....	10g
Extrait de levure.....	6g
Extrait de viande.....	5g
Bleu de bromothymol.....	0,05g
Agar-agar(en poudre ou en flacons).....	15 à 25g (selon le pouvoir gélifiant de l'agar-agar)
Eau distillée.....	1000 ml

Solution TTC :

Chlorure de 2, 3,5-triphényltétrazolium(TTC).....	0,05g
Eau distillée.....	100 ml

- Autoclaver à 121°C ± 3 pendant 15 min
- pH 7,2 ± 0,1

➤ Bouillon au tryptophane :

Digestat tryptique de caséine.....	10g
L-tryptophane.....	1g
Chlorure de sodium.....	5g

- Autoclaver à 121°C ± 3 pendant 15 min
- pH 7,5 ± 0,1

➤ Gélrose tryptonée au soja (TSA) :

Digestat tryptique de caséine.....	15g
Peptone de soja.....	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar-agar.....	15 à 25g
Eau distillée.....	1000 m

- Autoclaver à 121°C ± 3 pendant 15 min

- pH $7,2 \pm 0,1$

➤ **Gélose PCA (Plate Count Agar)**

Tryptone	5g
Extrait autolytique de levure.....	2, 5g
Glucose	1g
Agar agar	15g
Eau distillée.....	1000 ml

- Autoclaver à 120°C pendant 15 min
- pH $7 \pm 0,2$

➤ **Bouillon au lauryl sulfate :**

Tryptose.....	20g
Phosphate dipotassique.....	2,75g
Lactose.....	5g
Phosphate monopotassique.....	2,75g
Chlorure de sodium.....	5g
Lauryl sulfate de sodium	0,1 g
Eau distillée.....	1000ml

- Autoclaver à 121°C pendant 15 min
- pH $6,8 \pm 0,2$

➤ **Bouillon EC (E.coli) :**

Tryptone.....	20g
Lactose.....	5g
Sels biliaires.....	1,5g
Phosphate dipotassique.....	4g
Phosphate monopotassique.....	1,5 g
Chlorure de sodium.....	5g
Eau distillée.....	1000ml

- Autoclaver à 121°C pendant 15 min
- pH $6,8 \pm 0,2$

➤ **Eau peptonée exempte d'indole :**

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....	10,0 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g

- Autoclaver à 121°C pendant 15 min
- pH 7,3 ± 0,2

➤ **Milieu Baird Parker :**

Tryptone	10 g
Extrait de viande	5 g
Extrait autolytique de levure	1g
Pyruvate de sodium	10g
Glycine	12g
Chlorure de lithium	5g
Agar agar bactériologique	15 g

- Autoclaver à 121°C pendant 15 min
- pH 7,2 ± 0,2

➤ **Bouillon cœur cervelle :**

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait cœur-cervelle.....	17,5 g
- Peptone pancréatique de gélatine.....	10g
- Chlorure de sodium.....	5g
- Phosphate disodique	2,5 g
- Glucose.....	2g

- Autoclaver à 121°C pendant 15 min
- pH 7,4 ± 0,2

➤ **Gélose dichloran a 18% de glycérol (DG18) :**

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....	5,0 g
- Glucose.....	10,0 g
- Phosphate monopotassique.....	1,0 g
- Sulfate de magnésium, 7 H ₂ O	0,5 g
- Dichloran (dichloro-2,6-nitro-4-aniline)	2,0 mg

- Chloramphénicol.....	0,1 g
- Glycérol.....	220,0 g
- Agar agar bactériologique.....	13,0 g

- Autoclaver à 121°C pendant 15 min
- pH 5,6 ± 0,2

➤ **Bouillon RAPPAPORT-VASSILIADIS Soja (RVS) :**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone papainique de soja.....	4,50 g
- Chlorure de sodium	7,20 g
- Phosphate monopotassique.....	1,26 g
- Phosphate dipotassique	0,18 g
- Chlorure de magnésium anhydre	13,40 g
- Vert malachite (oxalate).....	36,0 mg

- Autoclaver à 115°C pendant 15 min
- pH 5,2 ± 0,2

➤ **Bouillon de MÜLLER-KAUFFMANN au Tétrathionate-Novobiocine (MKTTn)**

Pour 1 litre d'eau purifiée :

- Tryptone.....	8,6 g
- Extrait de viande	4,3 g
- Sels biliaires.....	4,78 g
- Chlorure de sodium.....	2,6 g
- Carbonate de calcium.....	38,7 g
- Thiosulfate de sodium anhydre.....	30,45 g
- Vert brillant.....	9,6 mg

- Ne pas autoclaver

➤ **La gélose XLD (Xylose-Lysine-Désoxycholate) :**

Pour 1 litre de milieu :

- Extrait autolytique de levure.....	3g
- L-Lysine	5 g

- Lactose	7,5 g
- Saccharose.....	7,5 g
- Xylose	3,5 g
- Désoxycholate de sodium.....	2,5 g
- Chlorure de sodium.....	5 g
- Thiosulfate de sodium.....	6,8 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	0,8 g
- Rouge de phénol.....	80 mg
- Agar agar bactériologique.....	13,5 g

- Ne pas autoclaver
- pH 7,4

➤ **Gélose Hektoen :**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande.....	12 g
- Extrait autolytique de levure.....	3g
- Lactose.....	12 g
- Saccharose.....	12 g
- Salicine.....	2g
- Sels biliaires.....	9 g
- Chlorure de sodium.....	5g
- Thiosulfate de sodium.....	5 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1,5 g
- Bleu de bromothymol	65 mg
- Fuchsine acide.....	40 mg
- Agar agar bactériologique.....	13,5 g.

- Ne pas autoclaver
- pH 7,6 ± 0,2

➤ **Gélose nutritive à 2% :**

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....	5 g
-----------------	-----

- Extrait de viande.....	3 g
- Agar agar bactériologique.....	12 g

- Autoclaver à 121°C pendant 15 min
- pH 7± 0,2

➤ **La gélose Salmonella-Shigella (SS) :**

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pancréatique de viande.....	5 g
- Extrait de viande	5 g
- Lactose	10g
- Sels biliaires.....	8,5 g
- Citrate de sodium.....	10 g
- Thiosulfate de sodium.....	8,5 g
- Citrate ferrique ammoniacal.....	1 g
- Rouge neutre.....	25 mg
- Vert brillant.....	0,33 mg
- Agar agar bactériologique.....	15g

- Ne pas autoclaver
- pH 7± 0,2

➤ **Supplément Plasma de Lapin Fibrinogène :**

Pour un flacon de 100 ml:

- Plasma de lapin, EDTA.....	2,5 mL
- Fibrinogène bovin	0,5 g
- Inhibiteur de trypsine.....	2,5 mg
- Tellurie de potassium	2,5 mg

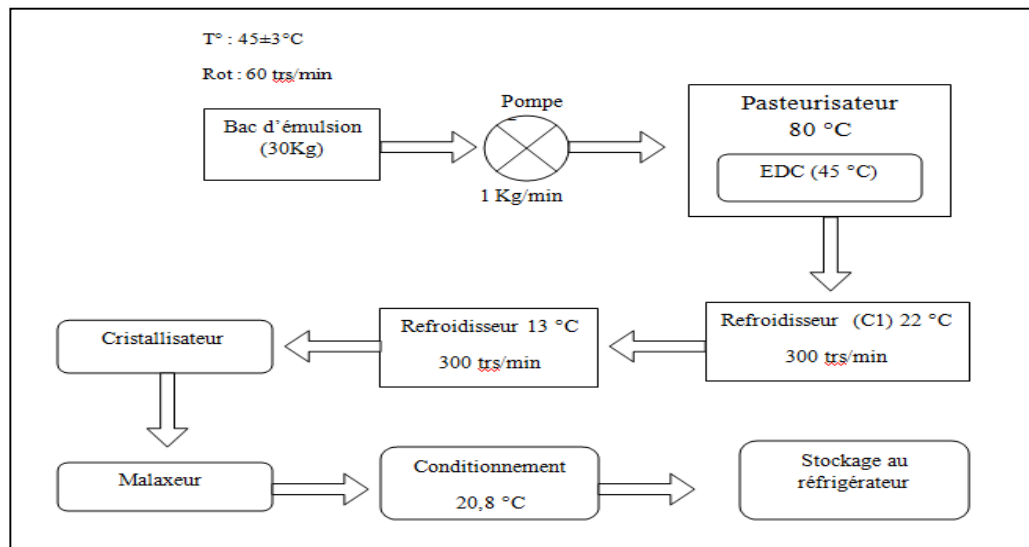
➤ **Milieu Ringer**

-NaCl.....	9g
- KCl.....	0,42 g
- CaCl ₂	0,48 g
- NaHCO ₃	0,2 g
- Eau distillée.....	1000 ml

– Autoclaver à 121°C pendant 20 min

➤ **Eau physiologique :**

NaCl.....	9 g
Eau distillée.....	1000 ml

Annexe VI: Procédés de fabrication de la margarine à la chaîne pilote

C1 : premier cylindre de refroidissement

C2 : Deuxième cylindre de refroidissement

EDC : échangeur de chaleur

Annexe VII : Résultats du suivi microbiologique des deux margarines sur une durée de trois mois

➤ Résultats des analyses microbiologiques de la margarine à 2% de sel après un mois

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Germes aérobies	UFC/g	21	25	20	10	32	10 ²	ISO : 4833
Coliformes fécaux	UFC/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
<i>Staphylococcus aureus</i>	UFC/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	UFC/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
<i>Salmonella</i>	UFC/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

➤ Résultats des analyses microbiologiques de la margarine à 0,4% de sel après un mois.

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Germes aérobies	UFC/g	37	42	34	51	25	10 ²	ISO : 4833
Coliformes Fécaux	UFC/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
<i>Staphylococcus aureus</i>	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	UFC/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
<i>Salmonella</i>	UFC/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

➤ Résultats d'analyses microbiologiques de la margarine à 2% du sel après deux mois de production

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Germes aérobies	ufc/g	27	26	21	16	38	10 ²	ISO : 4833

Coliformes fécaux	ufc/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
<i>Staphylococcus aureus</i>	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
<i>Salmonella</i>	ufc/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

- Résultats des analyses microbiologiques de la margarine à 0,4% de sel après deux mois de production

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Germes aérobies	ufc/g	43	51	46	55	26	10 ²	ISO : 4833
Coliformes fécaux	ufc/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
<i>Staphylococcus aureus</i>	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2
<i>Salmonella</i>	ufc/25g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 6579

- Résultats d'analyses microbiologiques de la margarine à 2% du sel après trois mois de production

Désignation	Unité	Ech1	Ech2	Ech3	Ech4	Ech5	Normes	Méthode d'essai
Germes aérobies	ufc/g	32	29	24	23	41	10 ²	ISO : 4833
Coliformes fécaux	ufc/g	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	ISO : 7251
<i>Staphylococcus aureus</i>	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 6888-1
Levures	ufc/g	00	00	00	00	00	10	ISO : 21527-2

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Afnor (1982). Recueil de normes françaises des produits dérivés des fruits et légumes jus de fruits. Ed. AFNOR. 325p.

Ait Abdelouahab N. (2008). Microbiologie Alimentaire. Ed : Office des Publications Universitaires. Alger. 147 p.

Alais C et Linden G. (1997). Corps gras. In : Abrégé de biochimie alimentaire. Masson Paris, pp : 234-241.

Becila A. (2009). Prévention des altérations et des contaminations microbiennes des aliments. Mémoire de Post-graduation Spécialisée d'Alimentation Nutrition et santé. Université Mentouri, Constantine, 90p.

Catoir V. (2005). Les bacilles Gram négatif, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène.

Champtier G. (1956). Les industries des corps gras. Lavoisier. F. 75008. Paris. p : 283-288.

Chateris W et Keogh K. (1991). Fats and oil in table spread. Lipid Technology, 3 : 16-22.

Cheftel J.C et Cheftel H. (1977). Oxydation des Lipides. In : Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments1: pp : 303-331.

Clement DJ et Decker EA. (2000). Lipid oxidation in oil-in water emulsions, impact of molecular environment of chemical reactions in heterogeneous food systems. In : Journal of Food Sciences. pp : 1270-1281.

Cossut J, Defrenne B, Desmedt C, Ferroul S. (2002). Les corps gras, entre tradition et modernité », Procédés de fabrication et contrôle de qualité, Institut agroalimentaire, Lille. p : 27-51.

Delacharlerie S, De Biourge S, Chene C, Sindic M et Deroanne C. (2008). HACCP Organoleptique guide pratique. Passage des déportés. 5030 Gembloux (Belgique). ISBN 978-2-87016-8. P : 32-33.

Denis J. (1992). Raffinage des corps gras. In « Manuel des corps gras ». Tec et Doc-Lavoisier, Paris pp : 790-7993.

Djouab A. (2007). Préparation et incorporation dans la margarine d'un extrait de dattes des variétés sèches. Mémoire de Magister : Génie alimentaire. Boumerdes.

Dupin H, Cuq JL, Malewiak MI, Leynaud Rouaud C et Berthier AM.1992. Alimentation et nutrition humaines. Ed : ESF. 1533p

Elizabeth V. (2008). Aliments et boissons : Filières et produits. pp : 200.

Faur L.(1992).Transformation des corps gras à des fins alimentaires.in « Manuel des corps gras ».Tec et doc-Lavoisier, Paris.pp :938, 948, 950, 954, 980, 984.ISBN :2-85206-662-9.

François R. (1974). Margarine. In « Les industries des corps gras ». Tec et Doc-Lavoisier, Paris. p 290-291

Graille J. (2003). Lipides et corps gras alimentaires. Lavoisier. Paris. ISNN : 0243. ISBN 2-7430.0594-7. p : 183.

Guiraud J et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires, troisième partie, Analyse microbiologique des aliments, chap. V : Analyse du beurre et des matières grasses. Ed. USINE. La Chapelle-Montligeon. pp : 143-144.

Himed L. (2011). Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Citrus Limon : application à la margarine.Memoire de magister. Université Mentouri-Constantine.

Karabulut I, Turan S. 2006. Some properties of margarines and shortening marketed in Turkey. Journal of Food Composition Analysis, 19, 55-58.

Karleskind A (1992). Manuel des Corps Gras. Ed. Tech&Doc. Paris. Tome I et Tome II. pp : 1579.

Laventurier M. (2013). Impact des formulations de margarines sur le process en boulangerie et pâtisseries artisanales et industrielles. 20, 164p.

Lozach E. (2001). Le sel et les microorganismes. Thèse de Doctorat Veterinaire. Faculté de Medecine de Creteil. pp : 143

Luterotti S, Bicanic D et Pojzgaj R. (2006).new simple spectrophotomètres essay of total carotenes in margarines.AnalyticaChimicaActa, pp : 466-473.

Miskandar S, Yaakob M, Mohdsuria AY et Russly AR. (2005). Quality of margarine : Fats selection and processing parameters. Ed : Asia Pac J Clin Nutr ; 4(4). p : 387-395.

Morin O. (2005). Acides Gras trans, recents developpements. Oléogineux, corps gras, Lipides. Ed. COL. pp : 415-417.

Noor Lida HMD, Sundram K, Siew WL, Aminah A et Mamot S. (2002). TAG composition and solid fat content of palm oil, sunflower oil and palm kernel olein blends before and after chemical intersterification. J. Amer. Oil Chem. Soc. 79, 1137-1144.

O'Brien RD. (2009). Fats and oils : Formulating and processing for applications. Ed. CRC Press, Taylor and Francis Group. Boca Raton, New York. pp : 744.

Poisson JP et Narce M. (2003). Corps gras alimentaires : aspects chimiques, biochimiques et nutritionnels. In « Lipides et corps gras alimentaires ». Tec et Doc-Lavoisier, Paris. p : 2-3, 21-22.

Saincliver M. (1985). Des techniques ancestrales à leurs réalisation contemporaine : salage, séchage, fumage, marinage, hydrolysats. In : L'industrie alimentaire halieutique. Vol II., Rennes : Bulletin scientifique et technique de l'école nationale supérieur agronomique et du centre de recherches de Rennes.p : 6-162.

Snodgrass K. (1930). Margarine as a Butter Substitute p.125. Food Research, Institute, Stanford University Ibid. p. 147.

Zidani S. (2009). Valorisation des pelures de tomates séchées en vue de leur incorporation dans la margarine. Mémoire de Magister. Faculté des sciences de l'ingénieur de Boumerdes.

Résumé :

Le présent travail a pour objectif la formulation d'une margarine à taux élevé du sel (2%), conservable à température ambiante (environ 25°C), comparée à une margarine de référence à taux habituel de sel (0,4%).

Dans un premier temps, les caractéristiques physicochimiques des deux margarines sont déterminés, et nous ont permis de classer les deux margarines dans la catégorie des margarines tartinables qui présentent toutes les caractéristiques de la stabilité.

Les analyses rhéologiques montrent une couleur acceptable, un aspect lisse et homogène, plastique et facile à tartiner, une odeur caractéristique du beurre.

Les analyses microbiologiques révèlent l'absence totale de germes pathogènes ou d'altération dans les deux margarines tandis que la flore aérobie mésophile est présente avec un taux plus au moins élevé dans la margarine à 0,4 % de sel qui se développe légèrement après la période de conservation mais les deux produits restent toujours d'une qualité satisfaisante. Cela peut être dû à l'effet bactériostatique du sel.

Mots clés : margarine, sel, conservation, analyses, qualité

Abstract :

This work is the subject of a formulation of a margarine high in salt (2%), intends to be kept at room temperature (about 25 ° C), compared with an ordinary referenced margarine with 0.4% of salt.

Initially, the physicochemical characteristics of both margarines are determined, and we have used to classify the two margarines in the category of spreadable margarines which have all the characteristics of stability.

Rheological analyses show an acceptable color, a smooth, aspect uniform appearance, plastic and easy to spread, a characteristic odor of butter.

Microbiological analysis revealed a complete absence of pathogens or spoilage in both margarines while mesophilic aerobic flora is present with a rate more lower in margarine to 0.4% of salt that develops after slightly retention period but both products still have satisfactory quality. This is due to the bacteriostatic effect of salt.

Keywords : margarine, salt, preservation , analysis, quality

