

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République algérienne démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
جامعة عين تموشنت بلحاج بوشعيب
Université –Ain Temouchent- Belhadj Bouchaib
Faculté des Sciences et de Technologie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Projet de Fin d'Etudes
Pour l'obtention du diplôme de Master en : Microbiologie Appliquée
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée
Thème

Isolement, Identification morphologique et caractérisation de croissance des moisissures isolées à partir de fromage fondu commercialisé dans la région d'Ain Témouchent

Présenté Par :

- 1) Melle Djaballah Asmaà
- 2) Melle Bouakline Chifaà

Devant le jury composé de :

| | | | |
|--------------------|-----|--------------------------|-----------|
| Dr. DERRAG Z | MCA | UAT.B.B (Ain Temouchent) | Président |
| Dr. MOUEDDEN R | MAA | UAT.B.B (Ain Temouchent) | Examineur |
| Dr. ZIANE Mohammed | MCA | UAT.B.B (Ain Temouchent) | Encadrant |

Année Universitaire 2020/2021



Remerciement



Tous d'abord, nous remercions dieule tous puissant, de nous avoir donné la force, la volonté et la patience nécessaire pour la réalisation de ce modeste travail, le fruit d'un labeur de longue années d'études.

A notre encadreur Monsieur ZIANE Mohammed, Maître de conférences à l'Université de Ain Témouchnet, nous vous remercions pour tous : votre gentillesse, votre disponibilité, vos conseils et surtout votre confiance qui nous a permis d'exprimer nos compétences durant ce travail.



Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont portés à nos recherches en acceptent d'examiner notre travail et le l'enrichir par leurs propositions, Dr DERRAG Z & Dr MOUEDDEN R, Université de Ain Témouchent.

Nous adressons nos plus sincère remerciements a tous les enseignants de département SNV de l'Université de Ain Témouchent.

Nous tenons à remercier aussi l'ingénieur du laboratoire pédagogique de l'université : Monsieur TIRES Nourddine pour sa totale disponibilité, son aide précieuse et son encouragement.

Enfin, nous tenons également à remercier tous les personnes qui ont participe de près ou de loin a la réalisation de ce travail.

Chifaà- Asmaà





Dédicace



Je dédie ce travail à

A mon père : mon bras, homme de principe admiré de tous ces semblables de ses œuvres et son sens humaniste. Durant tout ce temps, tu t'es battu à ce que je ne manque de rien pour mener à bien mes études, les mots ne me suffiront jamais pour exprimer ce que tu représentes pour moi.

A mon tour cher père, par ce travail, je ne cesserai de t'honorer. Que le tout puissant te prête une longue vie pour goûter le fruit de ce travail ;

A ma mère : je suis à ce stade grâce à ta bénédiction, tes doux et précieux conseils qui m'ont toujours aidé dans la vie. Il n'y a pas de mots exacts pour t'exprimer mes sentiments envers toi ;

Que ce mémoire soit pour toi le fruit de tant de peines et de sacrifices !

Que le tout le puissant te garde encore longtemps parmi nous afin que tu jouisses du fruit de ce travail qui est ta légitime fierté. Bonheur et longue vie à toi chère Maman ;

Mon père ma mère rabi yahfadkom liya

A mes frères ZAKARIYA et YUCEF, ma petite sœur NOUR et ma Tante : pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral

Que le tout puissant ALLAH consolide davantage notre grande fraternité et solidarité.

Toute la famille DJABALLAH et BOUBAKEUR, pour leur soutien tout au long de mon parcours Universitaire« 5 ans » ;

A mon binôme BOUAKLINE chifaà et Mes enseignants : pour tous les bons moments ;

À tous ceux qui me sont chers, à tous ceux qui m'aiment, et à tous que j'aime. Et les souvenirs inoubliables

Asmaà





Dédicace



Avec un énorme plaisir et un cœur ouvert, j'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail à :

Je m'incline devant dieu tout- puissant qui ma ouvert la porte de savoir et ma aidé à la franchir ;

A celle qui ma donné la vie, qui a été toujours mon support dans cette vie, qui me donne le courage éclatant pour continuer à chaque fois que j'ai l'impression de recouler ;

*A la lumière de ma vie **ma mère**, source de tendresse ;*

Que dieu le garde et le protège ;

*A mon **cher père**, qui a été mon arbre durant toute mes années d'étude, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner de l'aide et a me protège ;*

Que dieu le protège et le donne la pleine santé.

Merci, beaucoup Mama et papa je vous aime beaucoup !!

Allah ykhalikom liya

*A mon jumeau **Sidahmed et mon petit cher frère Mahmoud** ; Que dieu les gardes pour moi ;*

*A tous la famille **BOUAKLINE et LAHCEN***

*Une spéciale dédicace à mon binôme **Djaballah Asmaà***

Sans oublier mes amies de section microbiologie appliquées promo 2020/2021

Mes enseignants pendant les Cinq années de formation ;

A tous ceux que je porte dans mon cœur ;

Chifaà





Liste des Tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Composition du fromage fondu (Mayer, 1973). | 6 |
| Tableau 2 : Principaux levures et moisissures responsables d'altérations dans les fromages (Leyral et Vierling, 2007). | 13 |
| Tableau 3 : Principaux germes pathogènes rencontrés en fromagerie (Leyral et Vierling, 2007). | 14 |
| Tableau 4 : Les Normes Algériennes (J.O.R.A, 1998). | 14 |
| Tableau 5 : Quelques toxines produites suivant l'espèce de <i>Penicillium</i> (Champion, 1997). | 23 |
| Tableau 6 : Quelques toxines produites suivant l'espèce d' <i>Aspergillus</i> (Visagie et al , 2014). | 25 |
| Tableau 7 : Quelques toxines produites suivant l'espèce <i>Fusarium</i> (Galinas,1995) | 27 |
| Tableau 8 : tableau représentant certains micromycètes et leurs toxines (Boron, 1996). | 29 |
| Tableau 9 : Information relative aux échantillons analysé | 29 |
| Tableau 10 : Description des isolats obtenus identifié comme genre <i>Aspergillus</i> spp. | 42 |
| Tableau 11 : Aspect macroscopique et microscopique des isolats d' <i>Aspergillus</i> spp. | 44 |
| Tableau 12 : Parametres de croissance de moisissures isolés à partir de fromage fondu. | 49 |



Liste des figures

| | |
|---|------------------------------------|
| Figure 1 : Base de technologie du fromage (Alais et al., 2008). | 9 |
| Figure 2 : Principe du traitement de stérilisation UHT directe : upérisation(Richonnet .,2016) | 11 |
| Figure 3 :Structures d'un hyphe et son développement vers la formation d'un mycélium. A : Hyphes coenocytique ; (B) : hyphes cloisonné (Filtenborg et al., 1996)..... | 15 |
| Figure 4 : Observation microscopique du mycélium de <i>Penicillium sp</i> (Diguta,2010). | 16 |
| Figure 5 : Conidies d' <i>Aspergillus sp</i> (Tabuc, 2007). | 17 |
| Figure 6 :Classification général des champignons (Devet, 1996)..... | 20 |
| Figure 7 :différents modes de sporulation et différents types de spores associées (Guiraud, 1998)... | 21 |
| Figure 8 : Schéma récapitulatif des deux modes de reproduction chez les Ascomycètes (Gock et al., 2003). | 22 |
| Figure 9 : a) <i>P. notatum</i> au microscope électronique. b) différentes dispositions de verticilles chez <i>Penicillium sp</i> (Champion, 1997) | 23 |
| Figure 10 : Observation microscopique et schéma d'une tête Aspergillaire (Anonyme,2012) | 24 |
| Figure 11 : Observation microscopique et schéma de <i>Fusarium</i> (Anonyme, 2012) | 27 |
| Figure 12 : Protocole d'isolement des souches fongiques par la méthode de dilution (Originale) | Erreur ! Signet non défini. |
| Figure 13 : Repiquage des boites au centre sur milieu PDA..... | 32 |
| Figure 14 : Variation du pH des échantillons de fromage fondu analysé en fonction du marque. | 37 |
| Figure 15 : Variation de l'acidité dans les échantillons de fromage fondu e nfonction des marques. ... | 38 |
| Figure 16 : Variation de taux de la matière sèche en fonction de la marque..... | 39 |
| Figure 17 : Variation de la teneur en humidité en fonction de marques. | 40 |
| Figure 18 : Taux de contamination des échantillons analysés. | 41 |
| Figure 19 : Aspect macroscopique des colonies dénombré à partir des échantllons analysés. | 42 |
| Figure 20 : Détection sous UV des souches productrices de mycotoxine sur le milieu CEA (photo originale). a) <i>Aspergillus spp</i> H12 ; b) <i>Aspergillus</i> H10..... | 46 |
| Figure 21 : Détection des souches productrices de mycotoxines par CCM (photo originale)..... | 47 |
| Figure 22 : Cinétiques de croissance radiale des moisissures isolées à partir fromage fondu. | 49 |



Liste des abréviations

AFM I : Aflatoxine MILK 1

AFNOR : Association française de normalisation

FAO : food and agriculture organisation

OMS : organisation mondiale pour la santé

Ph : potentiel d'hydrogène

UV : ultraviolet

% : pourcentage

g : gramme

AW : activité en eau

C° : degré Celsius

ml : millimètre

CCM : chromatographie couche mince

UFC : unité formante de colonie

PDA : milieu potatoes dextrose agar acidifié

YES : milieu yeast- extract sucrose

CEM : coconut agar medium

OGA : oxytétracycline glucose agar



TABLE DES MATIÈRES

| | |
|-------------------------------------|---|
| <i>Remerciement</i> | 2 |
| <i>Dédicace</i> | 3 |
| <i>Dédicace</i> | 4 |
| <i>Liste des Tableaux</i> | 5 |
| <i>Liste des figures</i> | 6 |
| <i>Liste des abréviations</i> | 7 |
| <i>TABLE DES MATIÈRES</i> | 8 |
| <i>Introduction</i> : | 1 |

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

| | |
|--|---|
| <i>I.1. 1. Définition de fromages</i> :..... | 3 |
| <i>I.1. 2. Technologie fromagère</i> | 3 |
| <i>I.1.3. Classification des fromages</i> : | 3 |
| <i>I.1. 3.1. Fromage frais ou a pate fraiche</i> :..... | 3 |
| <i>I.1. 3.2. Fromage a pate molle</i> : | 4 |
| <i>I.1. 3.3. Fromage a pate pressée</i> : | 4 |
| <i>I.1.3.4. Les pâtes pressées non cuites</i> :..... | 4 |
| <i>I.1.3.5. Les pâtes pressées cuites</i> :..... | 4 |
| <i>I.1.3.6. Fromage affiné</i> : | 5 |
| <i>I.1.3.7. Fromage fondu</i> : | 5 |
| <i>I.1.4. Fromage fondu</i> : | 5 |
| <i>I.1.4.1. Définition de fromage fondu</i> : | 5 |
| <i>I.1.4.2. Composition de fromage fondu</i> : | 5 |
| <i>I.1.4.3. Valeur nutritionnelle et propriétés organoleptiques</i> :..... | 6 |
| <i>I.1.4.3.1. Valeur nutritive du fromage fondu</i> : | 6 |
| <i>I.1.4.3.2. Propriétés organoleptiques du fromage fondu</i> : | 7 |
| <i>I.1.4.4. Divers types du fromage fondu</i> :..... | 7 |

| | |
|--|-----------|
| <i>I.1.4.4.1. Fromage fondu type 'bloc' :</i> | <i>7</i> |
| <i>I.1.4.4.2. Fromages fondu types coupe :</i> | <i>8</i> |
| <i>I.1.4.4.3. Fromage fondu tartinable :</i> | <i>8</i> |
| <i>I.1.4.4.4. Fromage fondu thermostable :</i> | <i>8</i> |
| <i>I.1.4.4.5. Fromage fondu toastable (pour refonte) :</i> | <i>8</i> |
| <i>I.1.4.5. Technologie de fabrication :</i> | <i>9</i> |
| <i>I.1.4.5.1. Sélection de la matière première :</i> | <i>9</i> |
| <i>I.1.4.5.2. Ecroutage, découpage et broyage des fromages :</i> | <i>9</i> |
| <i>I.1.4.5.3. Mélange, cuisson, fonte :</i> | <i>10</i> |
| <i>I.1.4.5.4. Homogénéisations :</i> | <i>10</i> |
| <i>I.1.4.5.5. Stabilisation et traitement thermique :</i> | <i>11</i> |
| <i>I.1.4.5.6. Conditionnement de fromage fondu :</i> | <i>11</i> |
| <i>I.1.4.5.7. Refroidissement :</i> | <i>12</i> |
| <i>I.1.4.5.8. Etiquetage :</i> | <i>12</i> |
| <i>I.1.4.5.9. Conservation :</i> | <i>12</i> |
| <i>I.1.4.6. Microbiologie du fromage :</i> | <i>13</i> |
| <i>I.1.4.6.1. Flores naturelles :</i> | <i>13</i> |
| <i>I.1.4.6.2. Micro-organismes d'altération :</i> | <i>13</i> |
| <i>I.1.4.6.3. Levure et moisissure :</i> | <i>13</i> |
| <i>I.1.4.6.4. Germes pathogènes :</i> | <i>14</i> |
| <i>I.1.5. Normes microbiologiques Algériennes des fromages :</i> | <i>14</i> |
| <i>I.2. Généralité sur les moisissures :</i> | <i>15</i> |
| <i>I.2.1. Caractères morphologiques des champignons :</i> | <i>16</i> |
| <i>I.2.1.1. Système végétatif :</i> | <i>16</i> |
| <i>I.2.1.2. Spores :</i> | <i>16</i> |
| <i>I.2.2. Identification des moisissures :</i> | <i>17</i> |
| <i>I.2.2.1. critère identification macroscopique :</i> | <i>18</i> |
| <i>I.2.2.3. Critère identification microscopique :</i> | <i>19</i> |
| <i>I.2.3. Classification :</i> | <i>19</i> |
| <i>I.2.3.1. Principe de la classification :</i> | <i>20</i> |
| <i>I.2.3.2. Reproduction :</i> | <i>21</i> |

| | |
|--|----|
| <i>I.2.4. Principales moisissures d'altération du fromage fondu :</i> | 22 |
| <i>I.2.5. Généralités sur les mycotoxines</i> | 27 |
| <i>I.2.5.1. Principales mycotoxines :</i> | 28 |
| <i>I.2.5.2. Biosynthèse des mycotoxines dans les fromages fondus :</i> | 29 |

II. PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

| | |
|---|----|
| <i>II.1.1. Echantillonnage et prelevement :</i> | 29 |
| <i>II.1.2. Analyses physico-chimiques du fromage fondu :</i> | 30 |
| <i>II.1.2.1. Mesure le pH :</i> | 30 |
| <i>II.1.2.2. Détermination de l'acidité dornic :</i> | 30 |
| <i>II.1.2.3. Mesure de l'extrait sec (ES) :</i> | 30 |
| <i>II.1.2.4. Détermination du taux d'humidité :</i> | 31 |
| <i>II.1.2.5. Le test d'amidon :</i> | 31 |
| <i>II.1.2.6. Analyse mycologique du fromage fondu :</i> | 31 |
| <i>II.1.3. Méthodes d'identification des isolats fongique :</i> | 33 |
| <i>II.1.4. Etude mycotoxicologique :</i> | 33 |
| <i>II.1.5. Modelisation de la croissance fongique :</i> | 35 |

RESULTATS ET DISCUSSION

| | |
|---|----|
| <i>II.2. Résultats :</i> | 37 |
| <i>II.2.1. Résultats obtenus de l'analyse physico-chimique du fromage fondu :</i> | 37 |
| <i>II.2.1.1. Mesure le pH :</i> | 37 |
| <i>II.2.1.2. Mesure de l'acidité dornic :</i> | 37 |
| <i>II.2.1.3. La teneur en extrait sec :</i> | 38 |
| <i>II.2.1.4. Le taux d'humidité :</i> | 39 |
| <i>II.2.1.5. Test d'amidon :</i> | 40 |
| <i>II.2.2. Analyse de la flore fongique totale et les principaux genres :</i> | 40 |
| <i>II.2.3. Résultats d'identification des espèces des isolats :</i> | 42 |
| <i>II.2.4. Révélation mycotoxicologique</i> | 45 |
| <i>II.2.4.1. Révélation des souches productrice de mycotoxines par le milieu CEA:</i> | 45 |

| | |
|---|----|
| <i>II.2.4.2.Révélation des souches productrice de mycotoxines par le milieu CCM</i> | 46 |
| <i>II.2.5.Caractérisation de la croissance</i> | 47 |
| <i>CONCLUSION</i> | 50 |
| <i>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</i> | 51 |
| <i>ANNEXES</i> | 57 |
| <i>RESUME</i> | 63 |



INTRODUCTION



Introduction :

Le fromage est le résultat de transformation du lait très ancienne puisque des écrits témoignent de sa fabrication quelque trois mille ans avant notre ère en basse Mésopotamie. Les types de fromages ont rapidement gagné de l'intérêt du fait de leurs caractéristiques organoleptiques agréables, ils constituent ainsi une alternative intéressante à la consommation du lait. Il est considéré comme une source précieuse de protéine, mais également est un aliment rapidement périssable. La production mondiale de fromage est estimée à une quantité de 2 millions de tonnes/an, qui est l'équivalent de 13 % du total des fromages (Padilla et Gherzi., 2001). L'Algérie est un pays importateur des fromages. L'évolution des importations des fromages a enregistré un taux de 75 % entre 1995 et 1998 (Guinee et al., 2004).

Au cours de fabrication, le fromage est subit à un traitement thermique qui peuvent éliminer principalement les microorganismes surtout de formes végétatives. Cependant, les bactéries sporulantes et les moisissures sont résistantes à ces traitements thermiques. Par ailleurs, compte tenu les conditions de stockage de lait et fromage au froid à des températures inférieures à 4°C, seulement les moisissures sont élus à se développer dans ces conditions. En effet, d'après l'organisation des notions unies pour l'alimentation, 25% des produits laitiers et de produit alimentaire sont contaminés par les moisissures (FAO., 2004). Aussi d'autre auteurs ont montré des contaminations par les moisissures principalement productrices de mycotoxines comme *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp (Sengun et al., 2008). Les mycotoxines, sont des substances issues du métabolisme secondaire de certain espèces de moisissure qui se développent sur un aliment (CIRC., 2002).

La présence puis la croissance de ces moisissures dans la matière première et/ou le fromage peuvent s'accompagner de la production de mycotoxines. L'exposition répétée de consommateurs aux mycotoxines peuvent provoquer des intoxications chroniques accompagnées à des cancers par exemples (CIRC., 2002).

Dans ce contexte, nous sommes intéressés à (1) rechercher et dénombrer les moisissures omniprésentes dans le fromage fondu conditionné sous forme de portions, (2) identifier et caractériser les isolats producteurs de mycotoxines, (3) caractériser leur croissance.

Hormis l'introduction et la conclusion ce travail est organisé en 4 parties : les deux 1^{ère}s parties consistent à synthétiser les connaissances relatives au fromage fondu et les moisissures et leurs mycotoxines.

La troisième partie est consacrée à la méthodologie suivie durant cette étude. Enfin, dans la quatrième partie, nous présentons les principaux résultats et discussions et nous terminons avec une conclusion.



SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE



I.1.1. Définition de fromages :

Selon codex alimentaire, le fromage est le produit frais ou affiné, solide ou semi solide, dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséine n'excède pas celui du lait, obtenu par coagulation du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés, et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation.

I.1.2. Technologie fromagère

Le fromage est le produit résultant de multiples étapes de fabrication :

- Coagulation de la caséine qui conduit, à partir du lait, à la formation d'un caillé ;
- Egouttage, qui sert à séparer une partie plus ou moins importante de sérum pour obtenir une caillebotte ;
- Salage, qui agit en exhausteur de goût, en conservateur, et sa concentration aura un effet sur la souplesse du fromage ;
- Affinage de cette caillebotte, qui développe des saveurs et des textures originales.

Ce sont les différentes techniques associées à chacune de ces étapes qui déterminent les différences entre les fromages. La combinaison de ces étapes permet de donner une description du fromage basée sur sa méthode de fabrication. **(Foxetal.,1993)**

I.1.3. Classification des fromages :

Vu les diverses caractéristiques du fromage, les spécialistes ont définis plusieurs classifications. Ci après la principale classification selon FAO /OMS (la norme fao/oms n°a-6 (1978)) basé sur leur technologie :

I.1.3.1. Fromage frais ou a pate fraiche :

Le fromage frais est une pâte très humide, peu minéralisée, c'est le produit d'une coagulation lente à dominance acide **(Eck et Gillis., 2006)**. Le règlementation français stipule que le fromage frais est un fromage à égouttage lent, n'ayant subi que la fermentation lactique, obtenu avec des laits ou des crèmes propres à la consommation **(Gripton et al., 1975)**. C'est un produit non affiné, très humide et périssable (24 jours maximum)**(Luquet., 1990)**.

Les fromages frais se caractérisent tous par :

- Un caillé non pressé et une teneur élevée en eau ;
- Une faible sensation acide ;
- Un produit à consommer sans période de maturation ;

- Fromage blancs divers petits suisse, double ou triple –crème.... (Chavroux, carré Gervais, Brillât- savarin...), Mascarpone, ricotta...etc.(Luquet.,1990).

I.1.3.2. Fromage a pate molle :

Les fromages à pate moelle sont des fromages affinés ou non, dont la pate n'est pas ni ne cuit ni pressée(ECK et Gillis.,2006).Ils doivent leur nom au fait qu'ils soient relativement souples, leur taux d'humidité oscille autour de 50%(Vignola.,2002).

I.1.3.3. Fromage a pate pressée :

Les catégories des fromages à pâte pressée désignent une série de fromages très variée dans leur composition, leur format et leur aspect extérieur (croûte sèche ou présence d'une couverture microbienne) (Majdia., 2009).

La coagulation à caractère enzymatique nécessite des laits frais et l'emploi de doses élevées en enzyme coagulant. Le temps de prise est court et la phase de durcissement est réduite pour éviter la déminéralisation du gel. Le pressage permet de compacter les grains et d'évacuer le lactosérum inter-granulaire(Anonyme., 2009).

Bonne cohésion de la pâte permet la fabrication de fromages de gros format. Les pâtes pressées se divisent en 2 familles qui sont :

I.1.3.4. Les pâtes pressées non cuites :

Elle présente une teneur en matières sèche comprise entre 44 et 55%. Certains PPNC subissent un délactosage afin de limiter l'acidification et la baisse du aw qui a un rôle important sur la sélection microbienne et sur l'action enzymatique (Evette., 1975).

I.1.3.5. Les pâtes pressées cuites :

Les pâtes pressées cuites subissent une cuisson entre (53 et 55 °C) pendant (30 à 50 min) lors du travail en cuves afin d'effectuer un égouttage plus poussé pour atteindre un extrait sec final de 60% à 63%. On distingue :

- Le groupe emmental qui se caractérise par des fromages de gros format (65 à 110 kg) à croûte sèche présentant des trous dans la pâte dus à la formation des propénoïques lors du passage en cave chaude (16 à 18 °C) ;
- Le groupe du gruyère qui regroupe des fromages à croûte morguée, de format plus réduit présentant peu ou pas de trous dus à une faible fermentation propionique(Lenoir et al., 1985).

I.1.3.6. Fromage affiné :

Le fromage affiné est un fromage qui n'est pas prêt à la consommation peu après sa fabrication, mais qu'on doit maintenir pendant un certain temps à la température et dans les conditions nécessaires pour que s'opèrent les changements biochimiques et physiques caractéristiques du fromage (Majdi.,2009).

I.1.3.7. Fromage fondu :

Il s'agit de préparations fromagères fabriquées à partir d'autres fromages que l'on broie et remet à fermenter ou dont on a fondu ensemble la pâte (Fredot.,2006). la fabrication défectueuse de gruyère. Actuellement, toutes les catégories de fromage sont utilisées en plus de beurres, de la caséine et la protéine de lactosérum (Evette., 1975).

I.1.4. Fromage fondu :

I.1.4.1. Définition de fromage fondu :

C'est un produit obtenu par le mélange de fromages de différentes origines et à différents stades d'affinage avec des sels. Ce mélange est broyé puis chauffé sous agitation constante, jusqu'à l'obtention d'une masse homogène qui est conditionnée dans un emballage protecteur. L'incorporation d'autres matières d'origine laitières et d'ingrédients aromatiques est autorisée (NA 5936.,1993)

On appelle « fromage fondu » pour tartine, les produits obtenus par la fonte d'un fromage ou d'un mélange de fromage sous l'action de chaleur et d'agents émulsifiants avec ou sans adjonction de constituants laitiers (Fredot.,2006).

I.1.4.2. Composition de fromage fondu :

Selon Gillis et Eck.,(1997), les fromages fondus sont de vrais bâtisseurs de l'organisme avec leurs protéines, sels minéraux, vitamines et éventuellement de la matière grasse. Le tableau 1 illustre la composition de fromage fondu.

Les fromages fondus sont des aliments très riches en protéines qui proviennent de la caséine modifiée dont une partie importante se trouve dégradée et solubilisée en oligopeptides et acides aminés (Ramesh.,2011).

Il contient également une quantité de lactose et d'acide citrique (Fredot., 2006). Les lipides du lait (triglycérides, phospholipides) se trouvent dans le fromage sous forme d'émulsions (Gillis et Eck.,2006).

Fromage fondu apporte à l'organisme des minéraux comme le potassium, calcium, phosphate, magnésium et sodium(Maria., 2007).

L'activité d'eau (a_w) de fromage fondu est autour 0.87 à 0.98(Mehmet., 2003). Il est riche en vitamines, notamment, certains produits laitiers fermentés, comme les fromages, sont une source valable de la vitamine K les vitamines liposolubles telle que vitamine A,D, E, K .Le teneur des fromages en vitamines liposoluble essentiellement vitamine A et D accessoirement vitamine E est directement liée à la richesse de ces derniers en lipide(Fredot., 2006).

Tableau 1 :Composition du fromage fondu (Meyer., 1973).

| Composant | Composition par 100g de fromage fondu | |
|------------------------------|---------------------------------------|----------------|
| | 45% MG dans ES | 60% MG dans ES |
| Eau | 51,3 | 50,6 |
| Matière grasse | 23,6 | 30,4 |
| Proteine | 14,4 | 13,2 |
| Sodium | 1,26 | 1,01 |
| Potassium | 65 | 108 |
| Calcium | 547 | 355 |
| Phosphore | 944 | 795 |
| Vitamine A | 0,30 | // |
| Vitamine D | 3,13 | // |
| Vitamine B1 | 34 | 40 |
| Vitamine B2 | 0,38 | 0,35 |
| Vitamine B6 | 70 | 80 |
| Biotine | 3,60 | 2,80 |
| Acide folique | 3,46 | 3,40 |
| Vitamine B12 | 0,25 | 0,25 |
| Vitamine C | Trace | Trace |
| Valeur énergétique (kj/kcal) | 1178/282 | 1490/339 |

I.1.4.3. Valeur nutritionnelle et propriétés organoleptiques :

I.1.4.3.1. Valeur nutritive du fromage fondu :

Le fromage fondu comporte tous les caractéristiques nutritionnelles des produits laitiers qui le composent. Il apporte à l'organisme la majorité du nutriment essentiel à un bon équilibre alimentaire. Ne nécessitant aucune préparation. C'est excellent moyen d'apporte à notre corps les éléments énergétique et bâtisseurs nécessaire nécessaire à son fonctionnement (glucide, lipide, protéine, vitamine, minéraux). Comme tous les produits laitiers, c'est une source importante de protéine et de calcium. Du fait de sa conservation et des facilités d'exportation qu'il permet, il peut être un aliment de premières importances pour les populations non laitières. En outre, la présence de matière grasse sous forme bien émulsionnée et des protéines finement dispersée lui confèrent une efficacité nutritionnelle (notamment digestibilité) au moins égal à celle des composés de départ(**Feinberg et al., 1987**).

I.1.4.3.2. Propriétés organoleptique du fromage fondu :

Les caractères organoleptique d'un aliment déterminent l'attrait qu'il exerce sur les consommateurs. L'aspect d'un fromage, sa consistance et sa saveur plus ou moins riche et intense stimulent les sens de la vue, de l'ouïe, du toucher, de l'odorat et du goût et provoquent des réactions plus ou moins vives de désir ou de rejet(**Veisseyre.,1979**).

Le développement du goût dans le fromage est dépendant de la foule d'enzyme présents dans celui-ci durant le déroulement de sa fabrication. La matière grasse du lait est peut-être la source la plus importante de saveur(**Linden et al., 1985**).

Pour faire un fromage fondu de qualité, il importe donc de tirer soigneusement la matière première afin d'éliminer tout les produits présentant des mauvais goûts(**Ramesh.,2011**).

Dans les fromages fondus on ajoute des produits laitiers divers : beurre, crème, caséine, lait, babeurre, lactosérum, le goût est plus doux mais il faut veiller aussi bien à la qualité des produits laitières et à leur mode d'obtention qu'aux conditions de cuisson et à la composition du fromage fondu(**Veisseyre.,1979**).

I.1.4.4. Divers types du fromage fondu :

Les fromages fondus peuvent être classé selon leur composition et leur mode de conditionnement (**Luquet., 1987**).

I.1.4.4.1. Fromage fondu type 'bloc' :

C'est un fromage généralement sous forme de tranche, avec une teneur en humidité faible (40%), et un pH élevé (5.7-6.3) (**Anonyme, 1989**).

C'est un ancien des fromages fondu, l'extrait sec total est relativement élevé dans le rapport MG/ES. Il a une consistance ferme et une bonne élasticité. Le coulage s'effectue sous forme blocs de poids différents. Mais aussi de plus en plus sous forme de tranche(**Ranken et al., 1997**).

I.1.4.4.2. Fromages fondu types coupe :

Moins ferme que le bloc, il n'en est pas pour autant tartinable. Il contient trois à quatre points de moins de matière sèche que les procédés, ce qui le rend plus agréable à la dégustation. L'élasticité, parfois recherché, n'est pas toujours souhaitable en raison de la formation de fils qui rendent le conditionnement délicat sur les machine plastique (**Richonnet.,2016**).

I.1.4.4.3. Fromage fondu tartinable :

Fromage fondu tartinable est fromage doux, avec une teneur en humidité plus élevée (50%), et un pH faible (5.4-5.8)(**Anonyme., 1989**).

Ce type de fromage nécessite d'un crémage important par rapport au fromage fondu en bloc : ceci a permis d'augmenter de 10% la teneur en eau et d'obtenir un produit à consistance à celle du beurre. De plus l'extrait sec relativement faible et la teneur élevée en matière grasse permettent des fontes relativement faciles (**Ranken et al., 1997**)

I.1.4.4.4.Fromage fondu thermostable :

À l'inverse du précédent, c'est un fromage fondu qui ne doit pas fondre lorsqu'on le soumet à une nouvelle source de chaleur. Il subit un crémage très poussé et les blocs obtenus sont découpés au Japon puis incorporés dans des plats cuisinés à base de légumes ou de poissons. Ces préparations peuvent être appertisées et, à des températures élevées, les cubes de fromage fondu doivent rester intacts après la stérilisation(**Anonyme.,1989a**)

I.1.4.4.5.Fromage fondu toastable (pour refonte) :

Originaire d'Amérique du Nord, il est présent généralement sous forme tranche adaptées à une utilisation dans les cheeseburgers. Les croque monsieur... ce produit doit refondre rapidement sans carbonisation superficielle, comme une tranche d'emmental par

exemple, ce qui exige une préservation importante de la structure protéique de la matière première (Boutonnier., 2000).

I.1.4.5. Technologie de fabrication :

La production des fromages fondus de la qualité régulière nécessite une très bonne maîtrise, d'une part de la formulation des matières premières et des ingrédients et, d'autre part, des opérations du procédé d'élaboration (Jeantet et al., 2008). Les procédés de fabrication du fromage se font comme suit :

I.1.4.5.1. Sélection de la matière première :

Tous les matières premières sélectionnées feront l'objet d'un contrôle rigoureux avant l'utilisation quant à leur composition physico-chimique et bactériologique et leur caractéristique (Eck et Gillis, 1997).

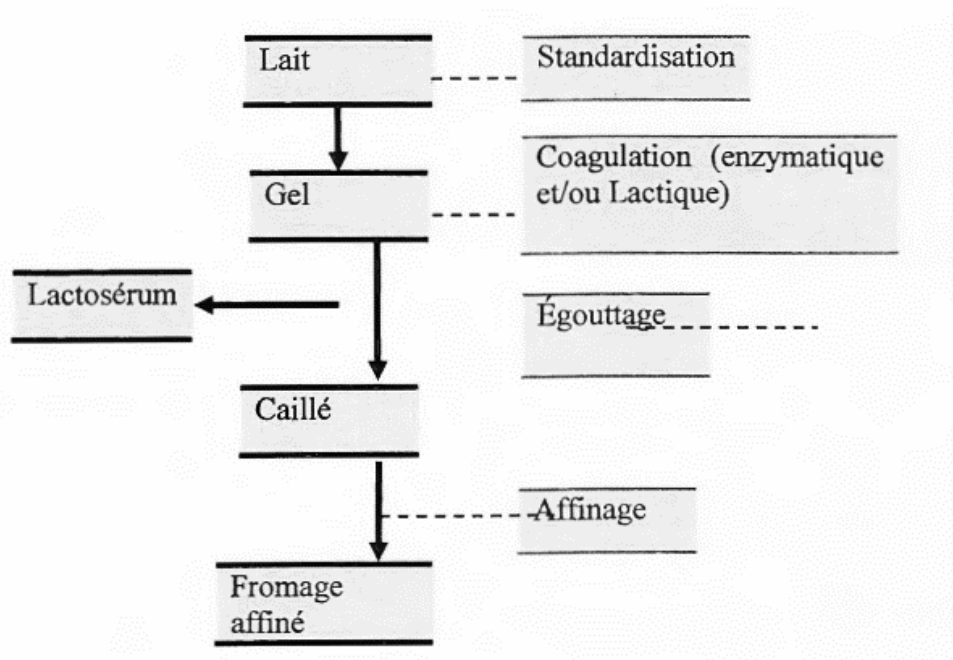


Figure 1 : Base de technologie du fromage (Alais et al., 2008).

I.1.4.5.2. Ecroutage, découpage et broyage des fromages :

Dans certains cas, la dureté des fromages peut entraîner des difficultés de fonte et une présence dans le produit fini de particules in fondues (Chambre et Daurelles., 1997). L'écroutage de fromage peut se faire par raclage, abrasion ou encore par jets d'eau ou vapeur sous pression. Les fromages de grands formats à pâte dure et le beurre sont découpés à l'aide

de lame ou de couteaux. Cette découpe grossière et suivie d'un broyage plus fin dans un appareil à double vis sans fin qui conduit les morceaux vers une grille dont les perforations mesurant 2 à 10 mm de diamètre (**Gilis et Eck.,1997**).

L'égouttage à réaliser traditionnellement par raclage ou brasage mais technique nouvelle apparaissent telle que les jets d'eau chaud sous pression par exemple. Le broyage est une étape importante du traitement des matières premières, car il est indispensable de dissocier finement les fromages pour obtenir un fromage fondu homogène(**Richonnet.,2016 et Boutonnier.,2000**).

I.1.4.5.3.Mélange, cuisson, fonte :

Une fois le broyage est terminé, les ingrédients peuvent être pesés et mélanger dans un cutter-cuiseur, un pétrin-cuiseur ou un mélangeur en fonction de la taille de la ligne de production(**Luquet., 1990**).

La cuisson est l'opération clef de la fabrication de fromage fondu, elle peut être réalisée dans des installations en continu reliées à des pompes d'eau. De vapeur et de vide. Le temps et la température de fonte varient entre 70C°et 95C° pendant 4à 15min, tout dépend de l'intensité de l'agitation ; la texture souhaitée de produit fini et ses caractéristiques de conservation (**Veisseyre.,1979**).

I.1.4.5.4.Homogénéisations :

La masse fondue doit être homogénéisée avec des pressions variant entre 5 et 15 mPa. L'homogénéisation a un certain nombre d'effets(**Luquet., 1985**):

- Amélioration de la stabilité de l'émulsion de matière grasse en diminuant la taille des globules gras ;
- Amélioration de la consistance, de la structure, de l'apparence et de l'onctuosité des spécialités fromagères ;
- Favorise une dispersion plus fine des globules gras ;
- Favorise généralement l'épaississement.

Toutefois, du fait de son coût supplémentaire, de la prolongation du temps de fabrication, l'homogénéisation n'est recommandée que pour les produits à teneur élevée en matière grasse(**Meyer., 1973**).

I.1.4.5.5. Stabilisation et traitement thermique :

Deux possibilités s'offrent aux industriels une pasteurisation, ou une stérilisation. Le choix s'effectue en fonction des qualités bactériologiques du fromage mis en œuvre, du matériel à disposition et du type de produit fini (Fredot., 2009).

C'est la technique de l'upérisation qui a été utilisée : elle consiste en une injection de vapeur dans la pâte fondue liquide suivie d'un refroidissement par détente directe dans une enceinte sous vide partiel (Jeantet et al., 2008).

Les températures rencontrées s'échelonnent de 70°C pour des produits finis à pouvoir de fonte élevé, jusqu'à 140°C, voire 145°C, pour des fromages fondus tartinables (Richonnet., 2016).

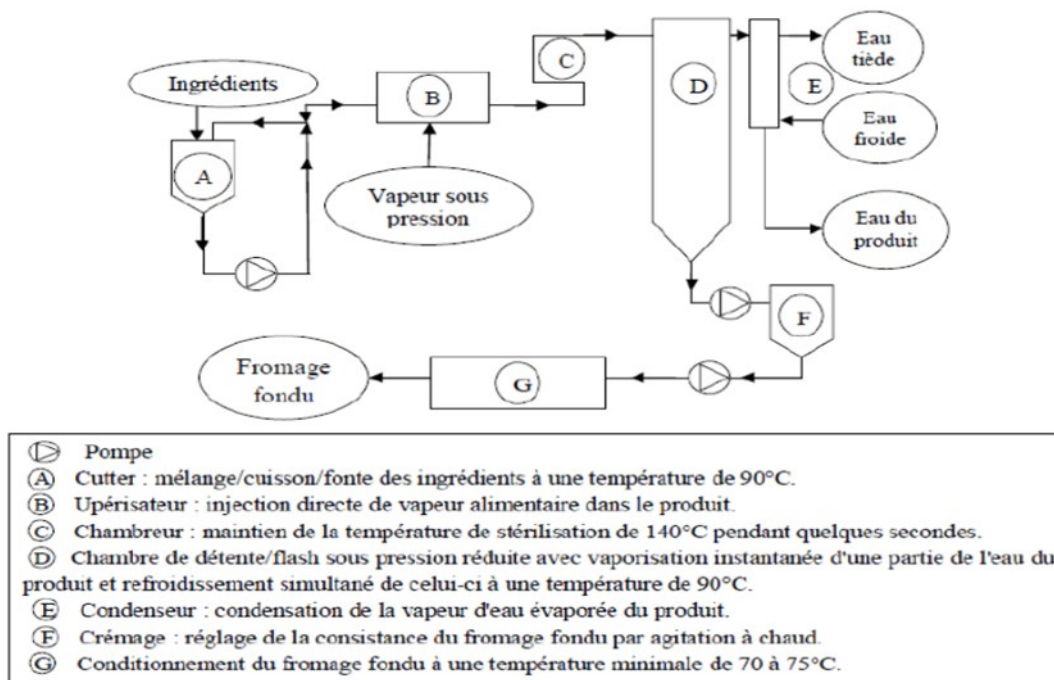


Figure 2 : Principe du traitement de stérilisation UHT directe : upérisation (Richonnet., 2016)

I.1.4.5.6. Conditionnement de fromage fondu :

Les conditionnements sont un processus très complexe. Il est réalisé actuellement au moyen de la machine automatique à des cadences très rapides. Pour les fromages fondus en portion, des machines de plus en plus sophistiquées, elles permettent de produire 20 80 100 200 400 et 800 portions à la minute (Joha., 1989).

Le transfert du fromage se fait de plus en plus par des tuyauteries en acier inoxydable alimentant des couleuses pour éviter toute recontamination au conditionnement (Meyer.,

1973). Le conditionnement se fait directement sans refroidissement et la forme du produit est donnée par l'emballage(**Boutonnier., 2000**).

Le fromage fondu chaud liquide est emballé dans les feuilles d'aluminium laqué ou des contenants en matériau plastique thermostable. Le fromage fondu peut être aussi emballé en tube, en boîte de conserve, ou dans des boyaux en plastique(**Luquet., 1985**).

I.1.4.5.7.Refroissement :

Un refroidissement trop lent peut favoriser le développement de la réaction de Maillard, mais sa vitesse varie en fonction du type du produit ; il doit être rapide pour les fromages fondus à tartiner et pour les spécialités fromagères afin d'interrompre le processus de crémage et conserver au produit une structure courte indispensable à l'obtention d'une tartinabilité satisfaisante. Il doit être lent pour les blocs(**Eck et Gilis., 1997**).

Ce refroidissement peut se faire par circulation des produits sur des tapis à l'air ambiant mais les meilleurs résultats sont obtenus dans des tunnels de refroidissement(**Boutonnier., 2000**).

I.1.4.5.8.Etiquetage :

L'étiquetage est collé sur la portion par point de colle, il doit contenir(**Codex alimentaire., 2000**) :

- La teneur en matière grasse dans l'extrait sec ;
- Le nom et l'adresse du fabricant, de l'emballage, du distributeur, de l'exportateur ou du vendeur de produit doivent être déclarés ;
- La date de fabrication et de péremption du produit ;
- La température de conservation (entre 10 et 15°C).

I.1.4.5.9.Conservation :

Le fromage fondu doit être conservé à une température comprise entre 5°C et 10°C (**Amadou et Amer.,2002**).

La durée de conservation peut être estimée entre 6 à 12 mois si les conditions optimales au cours de différentes étapes de fabrication sont bien respectées(**Amadou et Amer.,2002**).

A des températures de stockage comprises entre 30 et 35°C, une contamination par les moisissures, les levures et *Clostridium botulinum* pourra survenir ce qui peut mener à une sécrétion des toxines (**ECK et Gilis., 1997**).

I.1.4.6. Microbiologie du fromage :

Les microorganismes des fromages ont différentes origines : le lait, l'atmosphère des locaux, le matériel utilisé, la saumure ...etc. Ils représentent une population d'environ 10⁶ cellules par gramme (Leyral et Vierling., 2007). Le fromage ne peut s'élaborer qu'à l'aide de micro-organismes. Une partie de ces microorganismes est initialement présente dans le lait cru (Leyral et Vierling., 2007).

I.1.4.6.1. Flores naturelles :

Elles sont présentes dans un lait recueilli de façon parfaitement aseptique. Ce sont donc, en fait, les diverses bactéries du lait, celles de la flore originelle (Hermier et al., 1992).

I.1.4.6.2. Micro-organismes d'altération :

Parmi elles les coliformes qui peuvent être responsables de gonflements précoces dans les fromages, conduisant notamment en pâte molle, à des accidents spectaculaires (fromage à aspect spongieux) (Boutonnier., 2000).

I.1.4.6.3. Levure et moisissure :

Les levures et moisissures peuvent se manifester dans le fromage mais les quantités de toxines produites (*Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*, *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*) sont trop faibles pour provoquer des intoxications (Leyral et Vierling., 2007).

Tableau 2 : Principaux levures et moisissures responsables d'altérations dans les fromages (Leyral et Vierling., 2007).

| Microorganismes | Origines |
|------------------------------------|---|
| <i>Scopulariopsis fusca</i> | Papier, emballage |
| <i>Trichosporon penicillatum</i> | Air |
| <i>Penicillium brevi compactum</i> | Terre, bois, liège, emballage (boîtes en bois) |
| <i>Penicillium funiculosum</i> | Stores, matériel, lait, eau, air |
| <i>Geotrichum candidum</i> | Matériel, défaut d'égouttage, de salage du fromage, implantation insuffisante du <i>Penicillium</i> |
| <i>Mucor, Rhizopus, etc</i> | Bois, liège, stores, matériel, lait, eau, air |

Il est à noter que le regroupement des microorganismes en flore utile ou flore d'altération est à nuancer en fonction des technologies considérées. Par exemple, le *Mucor* est utile en Tomme de Savoie, mais nuisible en Camembert (accident du « poil de chat »).

I.1.4.6.4. Germes pathogènes :

Les germes pathogènes provoquant des risques que comporte leur présence dans les produits sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 3: Principaux germes pathogènes rencontrés en fromagerie (Leyral et Vierling., 2007).

| Nom des bactéries | Effets |
|--|---------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | toxi-infection, gastro-entérite |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | Listériose, toxi-infection |
| <i>Salmonella spp</i> | toxi-infection, gastro-entérite |
| <i>Staphylocoques pathogènes</i> | Intoxication |
| <i>Clostridium perfringens</i> | toxi-infection |
| <i>Germes dits banaux mais charge importante</i> | Intoxication |
| <i>Bacillus cereus</i> | Intoxication |

I.1.5. Normes microbiologiques Algériennes des fromages :

Les analyses microbiologiques de contrôle des fromages se font par l'industriel lui-même (auto contrôle) et par les services étatiques en se basant sur des normes issues du ministère du commerce. Les normes microbiologiques diffèrent d'un pays à un autre et d'un produit à un autre, pour le fromage, le dénombrement ou la recherche des différentes flores dépendent du type de fromage (**J.O.R.A., 1998**)

Tableau 4: Les Normes Algériennes (J.O.R.A., 1998).

| Flores (UFC/g) | Fromage frais | Fromage à pâte molle | Fromage fondu | Fromage à pâte dure et demi-dure |
|-------------------------------|---------------|-------------------------|------------------|-------------------------------------|
| Coliformes | 10 | 10 ² | 10 | / |
| Coliformes fécaux | 1 | 10 | 1 | / |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 | 10 ² | 10 | 10 ² |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | Absence | Absence | Absence | Absence |
| <i>Salmonella spp</i> | Absence | Absence | Absence | Absence |

| | | | | |
|--------------------|---|---|---|---|
| <i>Clostridium</i> | / | 1 | / | / |
|--------------------|---|---|---|---|

sulfitoréducteurs à 46°C

I.2.Généralité sur les moisissures :

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (**Brock et al., 1994**). Ce sont des micro-organismes eucaryotes. Ils se divisent en trois groupes par rapport à leur importance industrielle : les champignons filamenteux (moisissures), les levures et les champignons supérieurs (**Mueller et Schmit., 2007**).

Le mot Moisissure est un terme générique qui regroupe tous les champignons microscopiques d'aspect lévuriforme ou filamenteux (micromycètes). Ce sont des champignons ubiquistes à croissance filamenteuse. Par ailleurs, ils sont saprophytes (plus rarement parasites), c'est-à-dire qu'ils vivent aux dépens de matières organiques en décomposition en y implantant leur mycélium, qui émet alors des filaments porteurs de spores, les unités de dissémination. Ces spores sont issues d'un mécanisme de reproduction sexuée ou asexuée (**Filtenborg et al., 1996**).

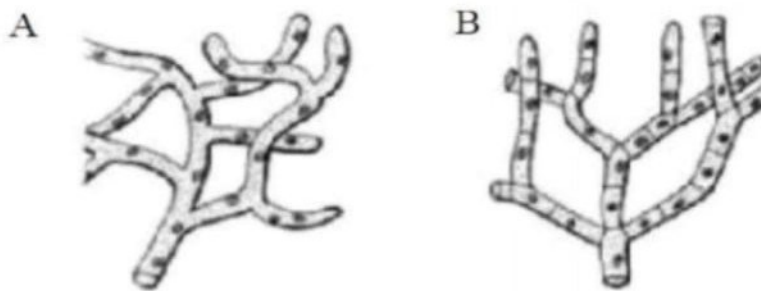


Figure 3: Structures d'un hyphe et son développement vers la formation d'un mycélium. A : Hyphes coenocytique ; (B) : hyphes cloisonné (**Filtenborg et al., 1996**).

Le développement incontrôlé des moisissures peut aussi entraîner une altération des qualités organoleptiques (couleur, odeurs, goût...) et nutritionnelles des produits alimentaires (disparition de certains nutriments utilisés par les moisissures pour leur développement) (**Nicklin et al., 2000**).

I.2.1. Caractères morphologiques des champignons :

I.2.1.1. Système végétatif :

Tous les champignons sont des organismes eucaryotes, c'est-à-dire que leurs cellules possèdent un noyau typique (avec membrane nucléaire, chromatine...etc.). Leur paroi cellulaire est épaisse et ne contient pas de cellulose mais un autre glucide : la chitine, polysaccharide azoté souple et résistant (**Guarro.,1995**).

Tout mycète possède un appareil végétatif constitué de filaments (ou hyphes) regroupés en thalle filamenteux appelé mycélium (figure 06). C'est grâce à ce mycélium que le champignon peut se fixer sur un substrat et y proliférer. Sa croissance est apicale, elle se fait par allongement du filament à son extrémité (par mitose).

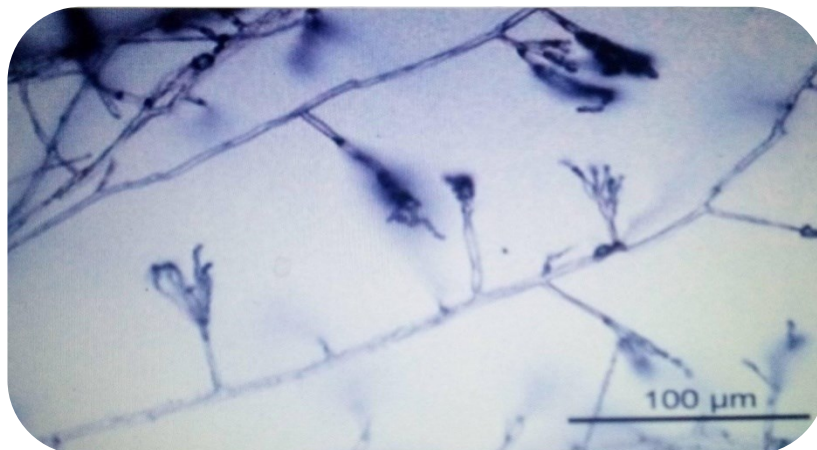


Figure 4 :Observation microscopique du mycélium de *Penicillium sp* (**Diguta.,2010**).

Le thalle peut être siphonné ou cloisonné :

- **Thalle siphonné** : les filaments constituant le mycélium sont non cloisonnés. Ce type de thalle est caractéristique des champignons appartenant aux Zygomycètes ;
- **Thalle cloisonné ou septé** : les cellules du thalle sont séparées par des cloisons. Il peut y avoir soit un noyau par cellule soit plusieurs, dans ce cas on parle d'article et non de cellule. Ce système est spécifique des Deutéromycètes et des champignons supérieurs appartenant aux Ascomycètes et aux Basidiomycètes (**Diguta.,2010**).

I.2.1.2. Spores :

Les spores peuvent être constituées d'une ou plusieurs cellules, dans ce cas on parle d'organe. Elles participent au cycle de vie du champignon à travers les différents modes de reproduction (sexuée ou asexuée). Ce sont les unités de dissémination du champignon. Les spores issues de la reproduction asexuée peuvent être de deux types :

- **Les spores asexuées endogènes** : sont produites à l'intérieur des sporanges, sortes de sacs fermés et portés par les sporangiophores. A maturité, les sporanges se déchirent, libérant ainsi les endospores. Ces spores sont spécifiques des champignons inférieurs, tels que les Mucorales.
- **Les spores asexuées exogènes** : autrement nommées conidies (figure 10), sont produites par bourgeonnement à partir de cellules spécialisées en forme de bouteille : les phialides. Ces phialides sont portées par des organes appelés conidiophores. Les conidies sont caractéristiques des formes anamorphes des mycètes. Au niveau génétique, les conidies sont haploïdes, c'est-à-dire qu'elles ne contiennent qu'un seul exemplaire de chaque chromosome (**Boutton et al., 1990**).

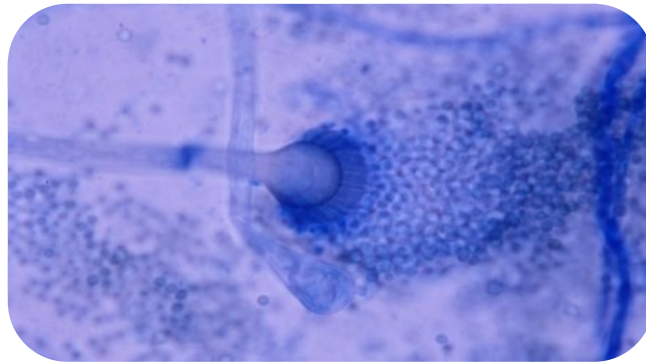


Figure 5: Conidies d'*Aspergillus sp* (**Tabuc.,2007**).

I.2.2. Identification des moisissures :

Afin d'évaluer le risque potentiel lié à la présence de moisissures sur un aliment, l'identification des espèces présentes est une étape primordiale. Pendant longtemps, cette identification a été uniquement basée sur l'observation des caractères cultureux et morphologiques de l'espèce (**Samson et al.,2014**). Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de proposer des outils aidant à faire l'identification en prenant aussi en compte la séquence de certains gènes d'intérêt (**Samson et al., 2006**). Par ailleurs, l'analyse du potentiel métabolique d'une souche fongique peut aussi apporter des éléments importants permettant d'orienter l'identification mais aussi de mieux évaluer le risque lié à son développement (production de mycotoxines notamment) (**Samson et al., 2006**).

I.2.2.1.critère identification macroscopique :

Sur milieu de culture, les champignons filamenteux forment des colonies dont l'aspect peut être variable.

- **Structure du thalle** : Les colonies peuvent apparaître duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses ; certaines peuvent parfois avoir une apparence glabre (absence ou pauvreté du mycélium aérien) ;
- **Le relief des colonies** : Les colonies peuvent être plates ou plissées et leur consistance peut être variable (molle, friable, élastique ou dure).
- **La taille des colonies** : après une période d'incubation donnée, on peut observer de petites colonies (*Cladosporium*) ou au contraire, des colonies étendues, envahissantes (*Mucor*, *Rhizopus*) ;
- **La couleur des colonies** : Elle peut aider à identifier le genre fongique voire même parfois à différentier les différentes espèces au sein d'un genre. Les couleurs les plus fréquentes sont blanche, crème, jaune, orange, rouge allant jusqu'au violet ou bleue, verte ou brune allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du thalle (mycelium, conidiophores, spores, cleis- tothèces) ou diffuser dans le milieu de culture. La couleur du revers de la colonie peut être in- formative ;
- **Les pycnides** sont des nodules mycéliens, creux, composés d'une paroi épaisse formée par un feutrage compact de filaments mycéliens ;
- **Les acervules** sont des agrégats de filaments mycéliens enchevêtrés, solidement attachés sur un végétal délimitant une cavité avec une ouverture. A l'intérieur, on retrouve une assise de conidiophores produisant les conidies ;
- **Les apothécies** : l'ascocarpe est ouverte, en forme de coupe, portant les asques en surface ;
- **Les cléistothèces** : l'ascocarpe est arrondie et lisse ; il n'y a pas de réseaux mycéliens périphériques ; il est clos et sa paroi se fissure à maturité pour libérer les asques sphériques octosporées (ex : *Emericella*) ;
- **Les périthèces** : l'ascocarpe a la forme d'une bouteille, à l'extrémité rétrécie, une ouverture (ostiole) ; le périthèce renferme des asques allongés, entourés d'une paroi à simple membrane (unitunique) ou à deux membranes (bitunique) et contenant chacun 8 ascospores (*Chaetomium*) ;

- **Les sclérotés** : ce sont des masses mycéliennes compactes très dures globuleuses ou allongées. Ils sont considérés comme des organes de conservation (*Aspergillus* et *Penicillium*) (**Botton et al.,1990**).

I.2.2.3.Critère identification microscopique :

L'identification microscopique est réalisée grâce à un étalement entre lame et lamelle, ou bien en réalisant un scotch test. On utilise le plus souvent comme liquide de montage du bleu Coton dilué dans du lactophénol d'Amann (**Ferry.,2005**).

Un examen, généralement réalisé à l'objectif 40, est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants de diagnose (**Cahagnier et Richard-Mollard., 1998**).

- **Le thalle** : Tous les champignons possèdent un appareil végétatif constitué de filaments (hyphes) qui, ensemble, forment le thalle filamenteux ou mycélium ; le thalle peut être siphonné ou septé:
 - Le thalle siphonné, constitué d'éléments tubulaires peu ou pas ramifié, de diamètre large et irrégulier (5-15 μm), non cloisonné est caractéristique des Zygomycètes
 - Le thalle septé ou cloisonné, constitué de filaments de diamètre étroit (2-5 μm) et régulier, divisé par des cloisons en articles uni ou pluricellulaires est caractéristique des Ascomycètes, Basidiomycètes et Deutéromycètes (**Cahagnier et Richard-Mollard., 1998**)

I.2.3.Classification :

Les moisissures ne correspondent pas à un groupe systématiques homogène mais se situent diverses familles de champignons microscopiques. Leur classification est basée aussi bien sur des caractères morphologiques (structures du mycélium) que sur le mode de leur reproduction (**Devet., 1996**).

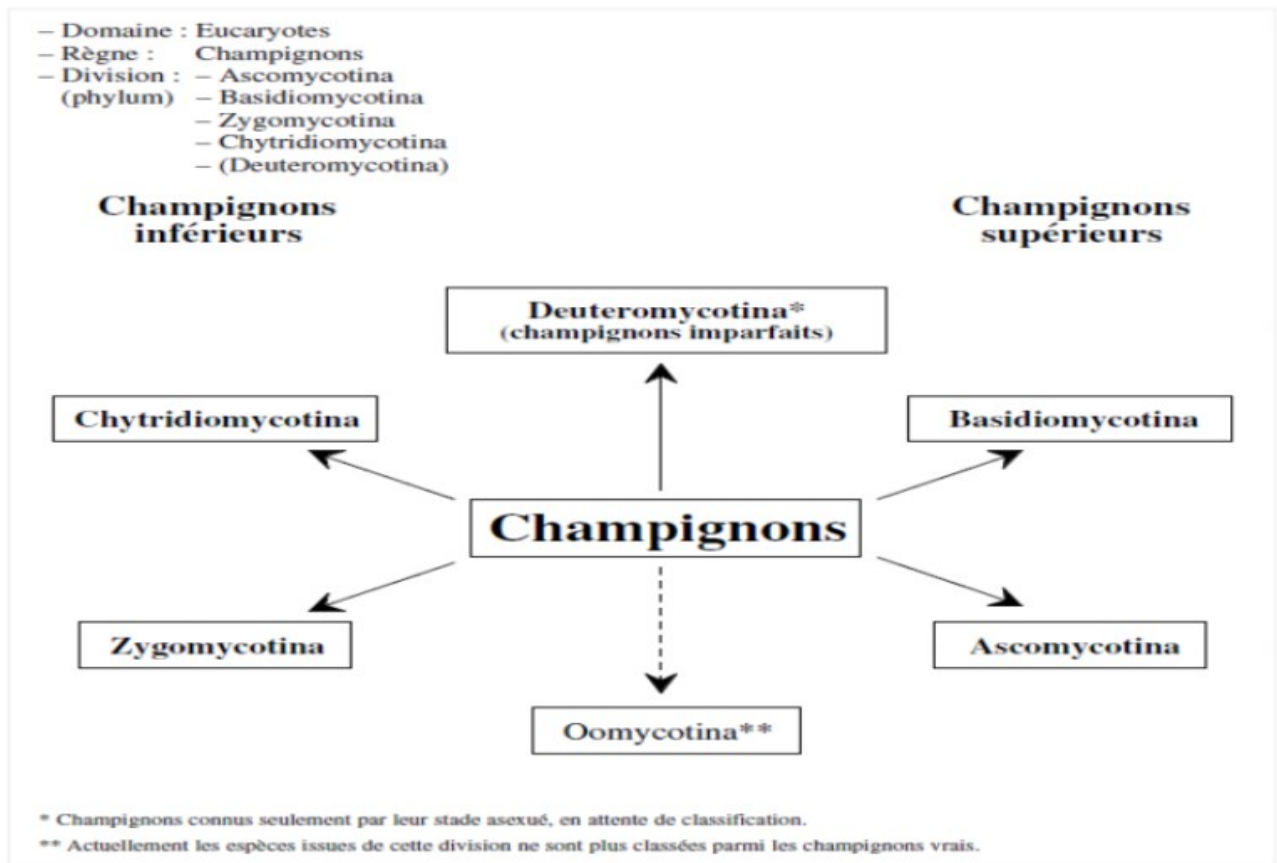


Figure 6 :Classification général des champignons (Devet.,1996).

I.2.3.1.Principe de la classification :

Dans le monde de mycète, c'est en fonction de la modalité de la reproduction des spores qu'on classe les champignons par division :

Les (Mycota) correspondent au règne fongique actuel au sens strict ayant une reproduction sexuée et produisant des spores non (ou uni) flagellées. D'après (Hawksworth et al. In « Dictionary of Fungi (1995) »,la règne des champignons et dévisé quatre division « phylum » : Chytridiomycota, zygomycota, ascomycota, et Basidiomycota.

- Les Chytridiomycota produisent des spores mobiles uniflagellées
- Les Zygomycota ont des spores non flagellées, et à thalle siphonnés (Trichomycète et Zygomycète). Ils sont caractérisés par leur aptitude à fusionner leur mycélium pour former une gamétangie qui donnera des zygospore
- Les Ascomycota produisent des spores non flagellées sexuées, à thalle septé et formant en général 8 ascospore à l'intérieur dans des sacs appelées asques (8 ascospores de chaque asque) ;

- Les Basidiomycota produisent des spores non flagellées sexuées, à thalle septé donnant en général 4 basidiospores de chaque baside)

La germination des ascospores ou des basidiospores donne des filaments cloisonnés. Ils ont également un mode de reproduction asexués, qui implique la production de conidiospores.

Les Deuteromycota ou deutéromycètes (champignons imparfaits) se reproduisent uniquement par voies végétative ne sont plus reconnus en tant que division autonome(**Boutonnier.,2000**).

I.2.3.2.Reproduction :

Les moisissures produisent des organes de reproduction que l'on appelé de façon générale spore et qui peuvent avoir une origine sexuelle ou végétative. Les spores d'origines sexuelle résultent d'une fécondation (zygospore et oospores) ou d'une méiose (ascospores ou basidiospores) alors que les spores d'origine végétatives résultent d'une simple mitose que l'on appelé fréquemment conidie. Elles assurent la reproduction et la dissémination chez les espèces de formes imparfaites mais on les trouve également chez les autres groupes ou elles coexistent des formes de reproductions sexuées et leur type varies selon les moisissures.

- **Les thallospores** : sont formées aux dépens du thalle par transformation d'élément préexistant.
- **Les sporangiospores** : sont des cellules flagellées ou non ne provenant pas d'une fraction préexistante du thalle.
- **Les conidiospores** : sont des cellules qui ne sont pas issues directement d'portion préexistante du thalle. Ces spores toujours terminales naissent d'un filament appelé conidiospores (metulae, phialides...) (Figure 2) (**Guiraud., 1998**)



Figure 7 :différents modes de sporulation et différents types de spores associées(**Guiraud., 1998**)

Pour un même champignon, selon ses conditions de vie, deux types de processus peuvent être à l'origine de la production des spores (aussi nommée fructification) :

- Sexué : champignons téléomorphes ou (parfait)
- Et/ou asexué : champignons anamorphe ou (imparfait)
- Les deux formes de reproduction peuvent coexister chez un même champignon qu'on appelle holomorphe (Gocket al., 2003).

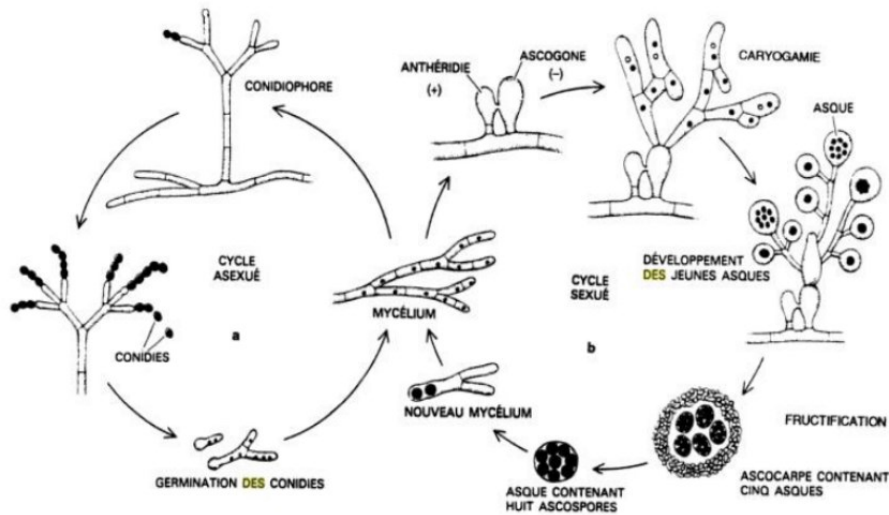


Figure 8: Schéma récapitulatif des deux modes de reproduction chez les Ascomycètes (Gock et al., 2003).

I.2.4. Principales moisissures d'altération du fromage fondu :

Genre *Penicillium* :

Le genre *Penicillium* comprend entre 150 et 300 espèces, réparties en quatre sous-genres appartenant à la division des Deutéromycètes. Les formes téléomorphes de certaines d'entre elles sont connues et appartiennent à l'embranchement des Ascomycètes dont les genres les plus représentatifs sont *Eupenicillium* et *Talaromyces* (Reboux et al., 2010).

Critères d'identification microscopiques et macroscopiques :

Les colonies présentent un aspect duveteux voire poudreux, de couleur vert-de-gris et, plus rarement, blanche. Morphologiquement, les individus du genre *Penicillium* se distinguent par leur organisation en pinceau (*Penicillius* en latin).

Le thalle cloisonné porte les conidiophores, simples ou ramifiés, se terminant par un pénicille. Les conidiophores peuvent être groupés en faisceaux lâches ou rassemblés en corémies (colonne de conidiophores). Les phialides (cellules conidiogènes) sont disposées en

verticilles à l'extrémité des conidiophores (Figure 9). Les phialides donnent naissance aux spores qui se positionnent alors en chaînes (Champion, 1997).

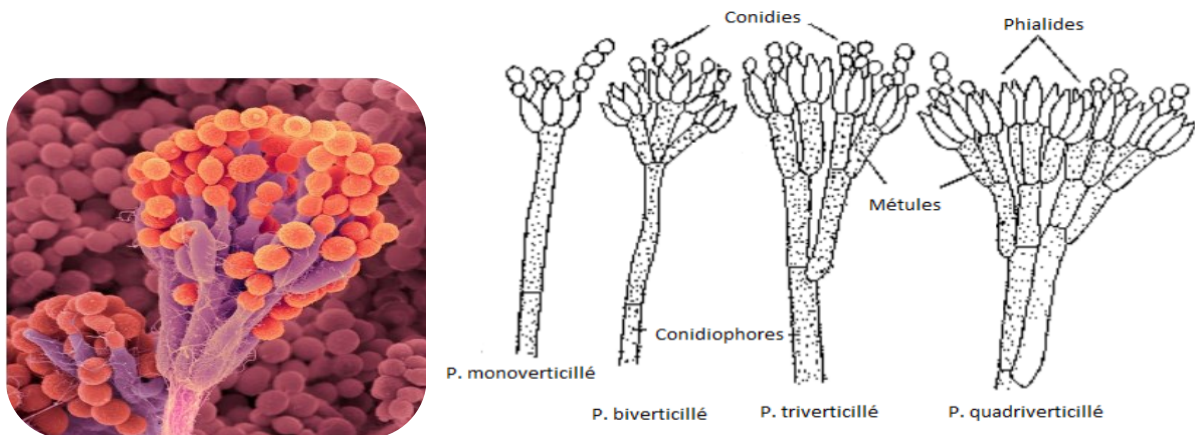


Figure 9: a) *P. notatum* au microscope électronique. b) différentes dispositions de verticilles chez *Penicillium sp* (Champion., 1997) .

Penicillium monoverticillé : les phialides sont insérées directement sur le stipe. Exemple : *Penicillium restrictum*, *Penicillium glabrum* ; ***Penicillium biverticillé*** : on observe la présence d'une rangée de métules (cellules stériles). Exemple : *Penicillium funiculosum*, *Penicillium purpurogenum* ; ***Penicillium triverticillé*** : il se caractérise par la présence de deux rangées de métules. Exemple : *Penicillium verrucosum*, *P. expansum*, *P. griseofulvum* ; ***Penicillium quadriverticillé***: cette disposition est plutôt rare et se distingue par trois rangées de métules insérées sur les conidiophores (Champion., 1997).

Plusieurs espèces sont connues de leur pouvoir producteur de mycotoxines (Tableau 5).

Tableau 5 : Quelques toxines produites suivant l'espèce de *Penicillium* (Champion., 1997).

| Espèces | Toxines produites |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Penicillium chrysogenum</i> | Acide cyclopiazonique, Roquefortine C |
| <i>Penicillium verrucosum</i> | Ochratoxine A, Citrinine |
| <i>Penicillium nordicum</i> | Ochratoxine A |
| <i>Penicillium roqueforti</i> | Acide pénicillique, Roquefortine C |
| <i>Penicillium expansum</i> | Citrinine, Patuline, Roquefortine C |
| <i>Penicillium viridicatum</i> | Ochratoxine A, Citrinine |
| <i>Penicillium cyclopium</i> | Ochratoxine A, Citrinine |
| <i>Penicillium citrinum</i> | Citrinine |

| | |
|---------------------------------|--|
| <i>Penicillium oxalicum</i> | Roquefortine C, Acide sécalonique D |
| <i>Penicillium crustosum</i> | Pénitrem A, Roquefortine C |
| <i>Penicillium griseofulvum</i> | Acide cyclopiazonique, Patuline, Roquefortine C, Griséofulvine |

Genre *Aspergillus* :

Le genre *Aspergillus* est classé dans la division des Deutéromycètes. De même que pour les *Penicillia*, certaines formes sexuées d'*Aspergillus spp* sont connues et appartiennent à la division des Ascomycètes, dont les genres les plus notables sont *Eurotium* et *Emericella*. Environ 180 espèces, réparties en 18 groupes, composent le genre *Aspergillus*. Sur ces 180 espèces, une vingtaine est pathogène pour l'Homme et l'animal (Champion, 1997).

Critères d'identification microscopique et macroscopique :

Les colonies d'*Aspergillus spp*, duveteuses ou poudreuses, à développement rapide, sont le plus souvent de couleurs vives et variées.

L'appareil végétatif d'*Aspergillus spp* est formé de filaments mycéliens cloisonnés et ramifiés. Se dressent sur ces filaments végétatifs les conidiophores qui se terminent par une vésicule de forme variable. La forme et la taille de cette vésicule sont spécifiques de l'espèce en question. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule : dans ce cas on parlera de « tête unisériée ». Si les cellules conidiogènes sont précédées de métules, on parlera de « tête bisériée ». L'ensemble phialides/métules forme le stérigmate. Le stérigmate, la vésicule et les spores constituent la « tête aspergillaire » (Figure 10). Les spores sont insérées en chaîne sur les phialides. Elles sont unicellulaires, de forme globuleuse, ou elliptique, et de couleurs variables (Champion., 1997).

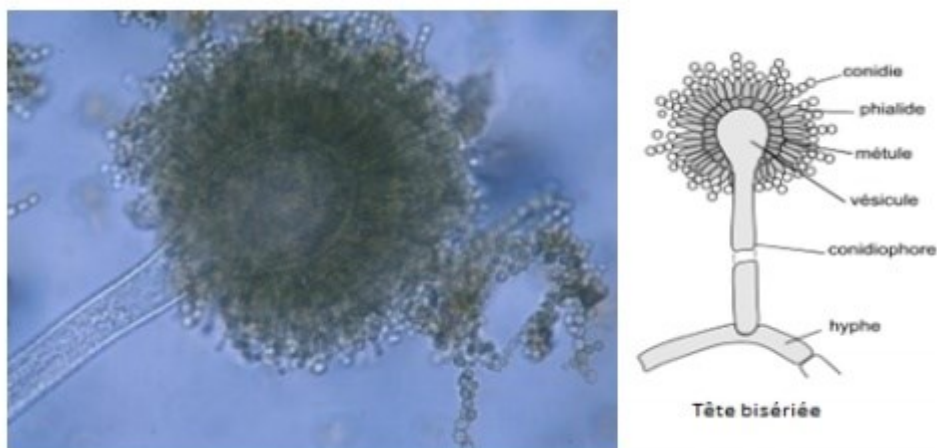


Figure 10 : Observation microscopique et schéma d'une tête Aspergillaire (Anonyme, 2012)

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont connues pour leur disposition à produire des toxines fongiques responsables de pathologies chez l'Homme et l'animal (Tableau 6).

Tableau 6: Quelques toxines produites suivant l'espèce d'*Aspergillus* (Visagie et al., 2014).

| Espèces | Toxines produites |
|--------------------------------|---|
| <i>Aspergillus carneus</i> | Citrinine |
| <i>Aspergillus clavatus</i> | Acide kojique, Patuline, Xanthocilline |
| <i>Aspergillus flavus</i> | Aflatoxines B1 et B2, Acide aspergillique Acide cyclopiazonique, Acide kojique |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> | Fumigaclavine, Fumagiline, Fumitoxine Fumitremorgine A et C, Gliotoxine |
| <i>Aspergillus niger</i> | Malformine, Naftoquinone |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> | Acide kojique, Ochratoxines, Acide pénicillique, Acide sécalonique A |
| <i>Aspergillus oryzae</i> | Acide cyclopiazonique, Acide kojique |
| <i>Aspergillus parasiticus</i> | Aflatoxines B1 et B2, G1 et G2, Acide aspergillique Acide kojique |
| <i>Aspergillus terreus</i> | Citrinine, Patuline, Territrem, Terréine, Terrétonine |
| <i>Aspergillus versicolor</i> | Stérigmatocystine |
| <i>Aspergillus sydowii</i> | Stérigmatocystine, Griséofulvine |
| <i>Aspergillus candidus</i> | Candiduline |

Genre *Fusarium* :

Le nom *Fusarium* est donné à un groupe de champignons imparfaits(deuteromycètes), qui comprend plus de 100 espèces. Les formes parfaites (téléomorphes) de quelques unes d'entre elles sont connues, et appartiennent aux ascomycota, classe des Sordariomycètes (ordres des hypocréales, familles des *Nectriacées*, genre *Gibberella* ; *Albonectria*, et *Haematonectria*).Pour plusieurs espèces de *Fusarium*, le stade parfait demeure encore inconnu (Galinas.,1995).

Critères d'identification microscopique et macroscopique :

Le genre *Fusarium* tire son nom du latin *fuscus* car ses spores sont en formes de fuseau. La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link 1809, ce dernier a créé le genre pour des espèces présentant des spores cloisonnées, fusiformes, formées sur des stromas ; ses descriptions sont basées sur l'observation d'un (*Fusarium roseum*), mais aujourd'hui l'espèce type est *F. sambucinum* (Galinas.,1995).

Note : le terme *Fusarium* est utilisé comme un nom de genre, mais en fait il s'agit d'un (morpho-genre) qui regroupe les formes non sexuées de plusieurs espèces dont les formes sexuées appartiennent à différents genres (Champion.,1997).

Le principal caractère morphologique de *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées. Mais, les champignons de genre *Fusarium* présentent une grande diversité et variabilité en culture, leur identification et leur classification sont donc assez délicates (Champion.,1997).

Il est important de préciser que la détermination d'une espèce se base sur de nombreux critères et non pas simplement sur la morphologie des macro et microconidies (Champion.,1997).

Sur milieu usuels le thalle des *Fusarium* donne un mycélium plus ou moins aérien. De couleur rarement blanche ou crème ; il peut être ochracé ou plus souvent de coloration vives : rose, rouge ou violet (Galinas.,1995)

Chez certaines espèces les conidiophores sont regroupés et forment des coussinets (sporodochies) sur le thalle. Les conidies peuvent former une masse d'aspect grasseux (pionnotes) sur les coussinets ou sur l'ensemble du thalle (Galinas.,1995).

Les espèces de *Fusarium* se différencient essentiellement sur la forme de leurs macroconidies. Ce caractère est complété par la présence ou l'absence de chlamydospores ainsi que par la présence, l'absence ou la forme des microconidies. L'étude des phialides peut s'avérer utile voire indispensable (Galinas.,1995).

- Macroconidies (le nombre de loges, forme peu ou pas incurvée), Microconidies (formes, abondance), chlamydospores (présence ou absence et disposition), phialides (monophialides, polyphialides).

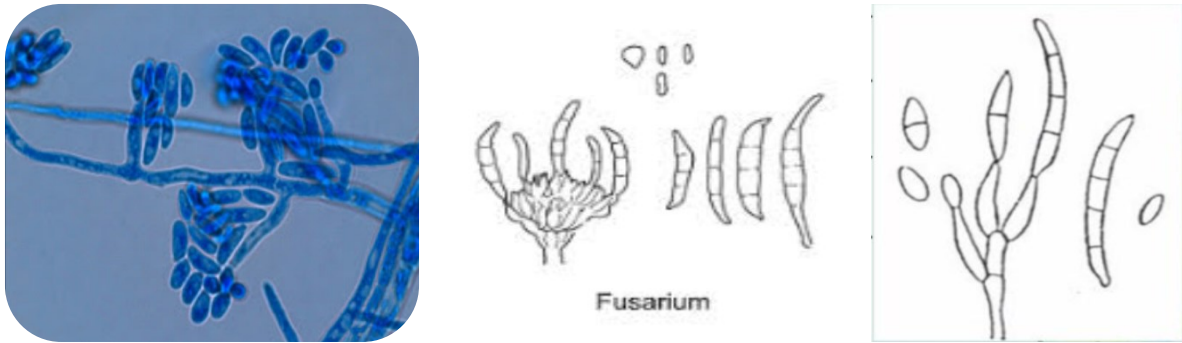


Figure 11: Observation microscopique et schéma de *Fusarium* (Anonyme., 2012)

Plusieurs espèces *Fusarium* sont capables de produire des mycotoxines (Tableau 7).

Tableau 7: Quelques toxines produites suivant l'espèce *Fusarium* (Galinas.,1995)

| Espèce | Toxine |
|----------------------------|--|
| <i>F.graminearum</i> | Trichothécène B (DON , NIV, et)dérivé acétylés),zéaralénone |
| <i>F.poa</i> | Trichothécène B (NIV) Trichothécène A (T2, HT2) |
| <i>F.tricinatum</i> | Moniliformine, Beauvericine (Trichothécènes) |
| <i>F.sporotrichioides.</i> | Trichothécènes A (T2, HT2) |
| <i>F.oxysporum</i> | Fumonisines |
| <i>F.langsethiae</i> | Trichothécènes A (T2, HT2) |

I.2.5.Généralités sur les mycotoxines

Les mycotoxines font partie des métabolites secondaires ne jouant pas de rôle avéré dans les réactions physiologiques du champignon. Le métabolisme primaire, amenant à la

production de glucides, lipides et protides, est commun à toutes les espèces de mycètes. Le métabolisme secondaire diffère du primaire par sa dépendance aux conditions extérieures (température, pH, a_w ...etc.) et à l'espèce considérée. Il n'est pas directement lié à l'activité cellulaire. L'absence de mycotoxines n'entraîne pas la mort du champignon mais peut limiter sa survie ou sa croissance (**Anonyme.,2011**).

Les toxines fongiques sont des composés chimiques non protéiques (donc non immunogènes pour les organismes qui en consomment), de faible poids moléculaire et thermostables. Leur petite taille et leur faible solubilité dans l'eau les rendent particulièrement stables en milieux acides et basiques, et résistantes aux traitements thermiques (**Cahagnier, 1998**).

I.2.5.1.Principales mycotoxines :

Les aflatoxines :

Les plus connues des mycotoxines sont les aflatoxines(AF) produites par des *Aspergillus* notamment *A.flavus*, *A.parasiticus*(**Pitt., 2013**) et *A.nomius* (**Moreau., 1996 ; Pfohl-Leszkowicz., 2009**). Elles sont produites lors de conditions de stockageDéfectueuses (**Galinas., 1995**).La production d'aflatoxines se manifeste à des activitésde l'eau (a_w) élevées de 0.93 à 0.98, ce qui signifie que l'humidité excessive des grainsfavorise leur production surtout si la température est supérieure à 13°C Il existe quatre types d'aflatoxines : B1, B2, G1et G2 qui sont des furanocoumarines (**Pfohl-Leszkowicz, 2009**). Ces toxines donnent des troubles aigus ou chroniques pouvant déboucher sur des cancers (**Guiraud, 1998**).

Les ochratoxines :

Elles sont produites par certaines espèces de *Penicillium* et d'*Aspergillus* sous les climats tempérés et froids, les céréales et les produits dérivés constituent leurs principaux vecteurs (**Cahagnier et al., 2001**). Ce sont des mycotoxines révélatrices de mauvaises conditions de conservation et produites principalement par *Aspergillus ochraceus* en climat assez chaud et par *Penicillium viridicatum* en climat froid (**Cahagnier et al., 2001**) ainsi que par l'espèce *Penicillium verrucosum* dans les climats tempérés (**Guiraud., 1998**).L'espèce *Fusarium irridicatum*. La plus dangereuse est l'ochratoxine A (**Moreau., 1996**).

Les trichothécènes :

Plus de 75 mycotoxines sont groupées sous ce nom, elles sont surtout produites par des *Fusarium* mais aussi par des champignons forts variés tels que des *Stachybotrys*,

Trichothecium, Myrothecium, Dendrodochium(Chapeland-Leclerc et al., 2005). Certaines de ces toxines sont dotées d'une forte activité immuno suppressive(Moreau., 1996).

Les fumonisines :

Elles constituent un groupe de mycotoxines récemment caractérisées produites chez quelques espèces de *Fusarium*. Elles sont surtout élaborées par l'espèce *Fusarium verticillioides* commune sur le maïs, le sorgho au champ et divers autres substrats (Moreau., 1996), surtout lors de températures estivales élevées (Pitt., 2013). Elles sont produites uniquement durant la période de développement du champignon (Moreau., 1996).

La zéaralénone :

Elle est produite généralement par l'espèce *Fusarium graminearum*(Barett, 2000). La présence de cette mycotoxine dans le maïs a causé chez les animaux de ferme des attaques D'hyperoestrogénie (Proctor., 1995),caractérisée par le gonflement de la vulve et des mamelles ainsi que l'hypertrophie de l'utérus et la stérilité (Barett., 2000).

Tableau 8: tableau représentent certains micromycètes et leurs toxines (Boiron., 1996).

| Micromycètes | Toxines |
|--------------------|--|
| <i>Aspergillus</i> | Aflatoxines, Ochratoxine A Stérigmatocystine |
| <i>Fusarium</i> | Trichothécènes, Zéaralénone Fumonisines, Fusarine Moniliformine |
| <i>Penicillium</i> | Citrinine, Patuline, Pénitrem A Acide cyclopiazonique Ochratoxine A |

1.2.5.2.Biosynthèse des mycotoxines dans les fromages fondus :

Les mycotoxines font partie des métabolites secondaires, qui ne jouent pas de rôle évident dans le métabolisme du microorganisme. Ce sont probablement un moyen de défense pour les champignons contre les parasites ou contre les autres micro-organismes en concurrence dans le même environnement (Steyn., 1980). Ces composés non essentiels au métabolisme basique des

moisissures sont produits au cours de l'idiophase (phase stationnaire) à partir des précurseurs issus du métabolisme primaire, tels que l'Acétyl-CoA, les acides aminés, les phénols ou les composés terpéniques (Steyn., 1998). Les voies de biosynthèse sont longues et complexes et les réactions sont catalysées par des enzymes de spécificité différente de celle du métabolisme primaire (Adams.,2002).). Contrairement au métabolisme primaire, qui est fondamentalement le même pour tous les êtres vivants, le métabolisme secondaire dépend de l'espèce considérée, et très souvent de la souche. La nature des métabolites secondaires, très hétérogènes, dépend des caractères individuels de la souche et des conditions environnementales (Tabuc., 2007). Le métabolisme secondaire, très important chez les moisissures, aboutit à une grande diversité de molécules dont les mycotoxines. Ces produits sont très souvent classés par famille de produits chimiquement voisins (les aflatoxines, les trichothécènes, etc.). Elles ont trois origines biosynthétiques principales : la voie des polyacétates, celle des terpènes et celle des acides aminés



II. PARTIE EXPERIMENTALE





MATERIEL ET METHODES



Ce travail a été réalisé en totalité au niveau de laboratoire pédagogique de département de SNV, Université de Ain Témouchent. Cette étude a été menée dans la wilaya d'Ain témouchent, la période de notre étude s'étale sur les deux mois (Mai et Juin 2021).

II.1.1. Echantillonnage et prélèvement :

Un total de 90 échantillons de fromage fondu en portion a été prélevé au hasard de différents points de vente de la wilaya de Ain Témouchent. Ces échantillons appartiennent aux trois marques de fromage fondus. Les échantillons ont été transférés au laboratoire dans une glacière.

Tableau 9: Information relative aux échantillons analysés

| Echantillons | Marque | Numéro de vendeur | Nombre de portion sur l'emballage | Date d'achat | Lieu d'achat |
|--------------|--------|-------------------|-----------------------------------|--------------|-----------------------|
| ECH1 | A | 1 | 9 | 05/05/2021 | Ain témouchent |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH2 | A | 2 | 9 | 06/05/2021 | Oued sebah |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH3 | A | 3 | 9 | 07/05/2021 | Hammam bouhjar |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH4 | A | 4 | 9 | 08/05/2021 | Ain arbaa |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH5 | A | 5 | 9 | 09/05/2021 | La nouvelle ville |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH6 | A | 6 | 9 | 10/05/2021 | Ain temouchent centre |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH7 | A | 7 | 9 | 11/05/2021 | Oued sebah |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH8 | A | 8 | 9 | 12/05/2021 | Hammam bouhjar |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH9 | A | 9 | 9 | 13/05/2021 | Nouvelle ville |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |
| ECH10 | A | 10 | 9 | 14/05/2021 | Oued sebah |
| | B | | 9 | | |
| | C | | 9 | | |

II.1.2. Analyse physico-chimique du fromage fondu :

Les principaux paramètres physico-chimiques ont été déterminés suivant la réglementation de 1998.

II.1.2.1. Mesure de pH :

Selon **Larpent et al. (1997)**, cette mesure est effectuée à l'aide d'un pH mètre. Une masse de 10g de fromage fondu est déposée dans 100 ml d'eau distillée. Puis l'électrode du pH mètre était plongée dans l'échantillon pour la mesure directe du pH.

II.1.2.2. Détermination de l'acidité dornic :

La détermination de l'acidité dornic était effectuée selon la méthode décrite par **Larpent et al. (1997)**. L'acidité de fromage fondu est dosée à l'aide d'une solution de NaOH (N/9) en présence de phénophtaléines comme indicateurs de la couleur.

La méthode consiste à disposer 10g de fromage dans 100mL d'eau distillée. Ensuite, 10mL de cette solution était aliquoté puis lui ajoutée 3 à 5 gouttes de phénophtaléine. La solution était titrée avec NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle.

L'acidité dornic est donnée par la formule suivante :

$$\text{Acidité (°D)} = 10 * V \text{ NaOH}$$

II.1.2.3. Mesure de l'extrait sec (ES) :

La détermination de l'extrait sec réalisé selon la méthode décrite par **JORA N° 25 (2014)**.

La méthode est la méthode officielle par dessiccation dans une étuve à $103 \text{ °C} \pm 2\text{°C}$ jusqu'à l'obtention d'un poids constant. elle consiste à placer 20g de sable dans un creuset et étuvé pendant 5h à $103 \pm 2\text{°C}$. Puis 5g de fromage était mélangé avec le sable à l'aide d'une spatule, puis placés à l'étuve de $103 \pm 2\text{°C}$ pendant 3h jusqu'à poids constant. Après refroidissement dans un dessiccateur, le poids était pesé à nouveau. L'extrait sec correspond à :

$$\text{ES\%} = (m_2 - m_0 / m_1 - m_0) * 100$$

- m_0 : la masse en gramme de creuset avec le sable ;

- m_1 : la masse en gramme de fromage avec le sable avant l'étuvage ;

$-m_2$: la masse en gramme de fromage avec le sable après l'étuvage.

II.1.2.4. Détermination du taux d'humidité :

La détermination de la teneur en humidité est effectuée selon la méthode décrite par **Berger et al. (2004)**. Elle est déduite à partir de résultat de la matière sèche en appliquant la formule suivante :

$$H\% = 100 - MS(\%)$$

H : taux d'humidité

MS : matière sèche

II.1.2.5. Le test d'amidon :

Une masse de 1g de fromage fondu a été ajouté à 20mL d'eau distillé. Le mélange était agité à l'aide d'une spatule, et ensuite on lui ajoute 0,1 ml de la solution d'iode. La lecture de résultats était effectuée comme suite :

- Si la couleur est bleu : présence d'amidon (test +) ;
- Si la couleur est jaune : absence d'amidon (test-).

II.1.2.6. Analyse mycologique du fromage fondu :

Préparation de la solution mère :

Avant d'entretenir le travail, il est important de créer une zone stérile par la flamme du bec benzène sur une paillasse soigneusement nettoyée. Après désinfection de l'emballage par l'alcool (90%), 1g de chaque échantillon était pesé par une balance dans un sachet stérile. La quantité pesée était ensuite dissous et homogénéisée dans 9mL d'eau physiologique à l'aide de vortex. Cette suspension correspond à la dilution 10^{-1} . Puis, une série de dilution a été réalisée jusqu'au 10^{-3} .

Ensemencement et incubation :

Après homogénéisation des dilutions, 1 mL de chacun a été déposé au fond de la boîte de Pétri vide, puis coulé par 15mL de milieu OGA (Oxytétracycline Glucose Agar). Après solidification, les cultures ont été incubées à 25°C pendant 5 jours.

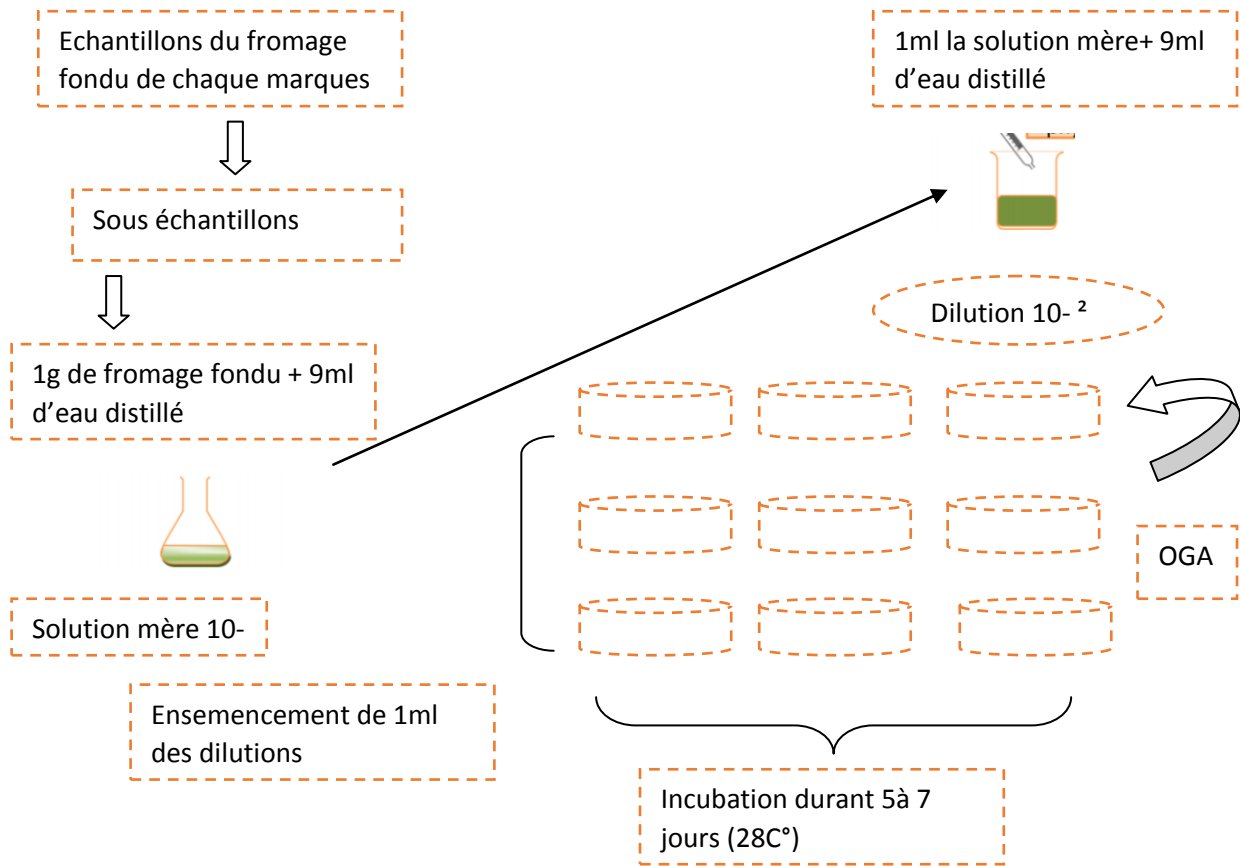


Figure 12 : Protocole d'isolement des souches fongiques par la méthode de dilution (Originale).

Repiquage et la purification :

Pour obtenir des isolats purs, des observations quotidiennes ont été effectuées dès l'apparition des souches. Chaque isolat développé a été repiqué à l'aide d'une anse de platine stérile au centre de boîte de Pétri contenant le milieu PDA plus 30 mg d'oxytétracycline (agent sélectifs recommandé pour l'isolement et numération des moisissures). Les cultures étaient incubées à 25C° pendant 6 jour.

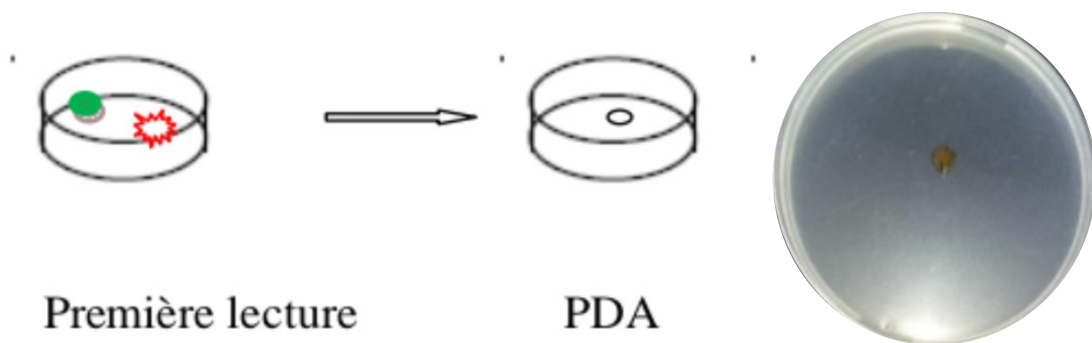


Figure 13 : Repiquage des boites au centre sur milieu PDA.

II.1.3.Méthode d'identification des isolats fongique :

L'identification des moisissures fait essentiellement appel au caractère culturaux (Identification macroscopique) et à la morphologie (identification microscopique).

Identification selon le caractère macroscopique :

Les caractères morphologiques et culturaux sont déterminés après la purification. L'observation des colonies qui sont développées se fait à l'oeil nu et elle se base essentiellement sur les caractères suivants :

- La texture des colonies ;
- La couleur des colonies ;
- La couleur du revers de la culture ;

La vitesse de la croissance (rapide, moyenne, lente),(Galinas.,1995).

Identification selon les caractères microscopiques :

Les moisissures isolées sélectionnées ont été suivies à une identification microscopique par une observation au grossissement 40×, 100×.

L'identification repose sur plusieurs méthodes. La méthode la plus utilisée est la méthode de scotch (Chabasse, 2002).

La technique de scotch consiste à adhérer à l'aide d'un bout de scotch, une fraction mycélium à partir d'une culture jeune et de la coller sur une lame contenant une goutte de bleu de coton, puis recouvrir ou non d'une lamelle. L'huile à émulsion a été additionnée pour le grossissement ×100(Chabasse. ;2002).

II.1.4.Etude mycotoxilogique :

L'ensemble des isolats obtenus ont été étudié pour leur pouvoir producteur de mycotoxines. Elle se fait en deux temps :

La détection visuelle des souches productrice de mycotoxine :

Le milieu favorable pour la détection de fluorescence est la gélose à base d'extrait de noix de coco déchiqueté (CEA) additionné 0,8% disoxychlorote de sodium qui permet d'améliorer nettement l'intensité de la fluorescence.

Elle consiste à ensemencer des souches fongiques sur CEA par un dépôt central (une souche par boîte), puis incubé à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 7 jours. Les mycotoxines combinées aux matière grasse de la noix coco, donnant une fluorescence visible sous lumière UV (365nm). Les isolats producteurs des mycotoxines développent autour des colonies une fluorescence bleu et verte respectivement visible sous lumière UV (365nm) et un revers jaune orange visible (Multon. ;1982).

Détection des mycotoxines par la chromatographie sur couche mince (CCM) :

Les souches productrices visiblement de mycotoxines sont ensemencé séparément sur milieu YES (Yeast Extract Sucrose) ; riche en vitamines du groupe B complexes. Ce milieu favorise la métabolisation secondaire et induit les réactions anabolisantes conduisant à la production des mycotoxines. L'incubation se fait à $27 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 14 jours.

Après 14 jours d'incubation, la biomasse formée est éliminée en filtrant le milieu YES travers du papier filtre type Wattman N° 01. Les 50 ml du filtrat obtenu sont additionnés à 100ml de chloroforme, le mélange est rigoureusement agité pendant 10 min puis laissé décanter en utilisant une ampoule à décantation. Cette opération est répétée en additionnant successivement 50 et 30 ml du solvant à la phase aqueuse récupérée à chaque séparation.

La phase chloroformique ainsi obtenue est filtrée sur du papier Wattman N° 01 puis concentrée par évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapor type (Heidolph laborota 4000efficient) jusqu'à l'obtention d'un volume de 2 à 3 ml (indice d'une évaporation achevée).

La chromatographie sur couche mince constitue la méthode de base qui permet une séparation efficace des mycotoxines et leur identification avec une bonne précision. Elle se fait sur une plaque de silicagel (gel de silice 60 F254) sur laquelle est déposé un spot de 20 μl et un autre de 40 μl de chaque extrait chloroformique concentré. 5 μl de chaque solution standard des mycotoxines sont déposés sur la même ligne droite (ligne de dépôt). La plaque est ensuite placée dans une cuve chromatographique et trempée dans un mélange de solvant d'éluion constitué de toluène, acétate d'éthyle et l'acide formique de volume (5 : 4 : 1) respectivement.

Après migration et évaporation du produit d'éluion à sec, la plaque est examinée sous une lampe à UV à une longueur d'onde de 365 nm. La présence des mycotoxines se traduit par des fluorescences caractéristiques aux spots standards et d'un même RF (facteur de rétention) que l'étalon. La figure 16 résume les différentes étapes d'extraction des mycotoxines (Multon. ;1982).

II.1.5. Modelisation de la croissance fongique :

La croissance de l'ensemble des isolats a été étudiée sur milieu PDA. Elle consiste à repiquer une öse centrale sur milieu PDA. Durant l'incubation à 25°C, le diamètre de la colonie a été suivi chaque jour.

Les paramètres de croissance ont été estimés à l'aide de l'équation de **Baranyi et Roberts (1994)**. Le modèle utilisé est représenté par l'équation 1 et 2 :

$$\gamma = \gamma_0 + \mu_{\max} A - \ln \left(1 + \frac{[\exp(\mu_{\max} A) - 1]}{\exp(\gamma_{\max} - \gamma_0)} \right) \quad \text{Eq. 1}$$

$$A = t + \left(\frac{1}{\mu_{\max}} \right) \ln [\exp(-\mu_{\max} t) + \exp(-\mu_{\max} \lambda) - \exp(-\mu_{\max} t - \mu_{\max} \lambda)] \quad \text{Eq. 2}$$

γ est le rayon de la colonie (mm). γ_0 est le rayon initial de la colonie (mm). γ_{\max} est le rayon maximal de la colonie (mm). μ_{\max} est le taux maximum de croissance radial (mm / j) de la colonie est la phase de latence (j, temps pour rayon > 2.5mm), et t est le temps en jours (j).



RESULTATS ET DISCUSSION



II.2.Résultats :

II.2.1.Résultat obtenus de l'analyse physico-chimique du fromage fondu :

II.2.1.1.Mesure le pH :

L'analyse de variance a montré que les résultats de pH varient d'une marque à une autres. La mesure de pH des 3 marques de fromage fondu analysés montre que cette valeur varie entre une valeur maximale $6,36 \pm 0,07$ réservé pour la marque (A) et une valeur minimale $5,22 \pm 0,03$ réserver pour la marque C. La marque B a une valeur moyenne de $5,53 \pm 0,014$. La mesure de pH est conforme au comparaison aux normes algérienne et internationales.

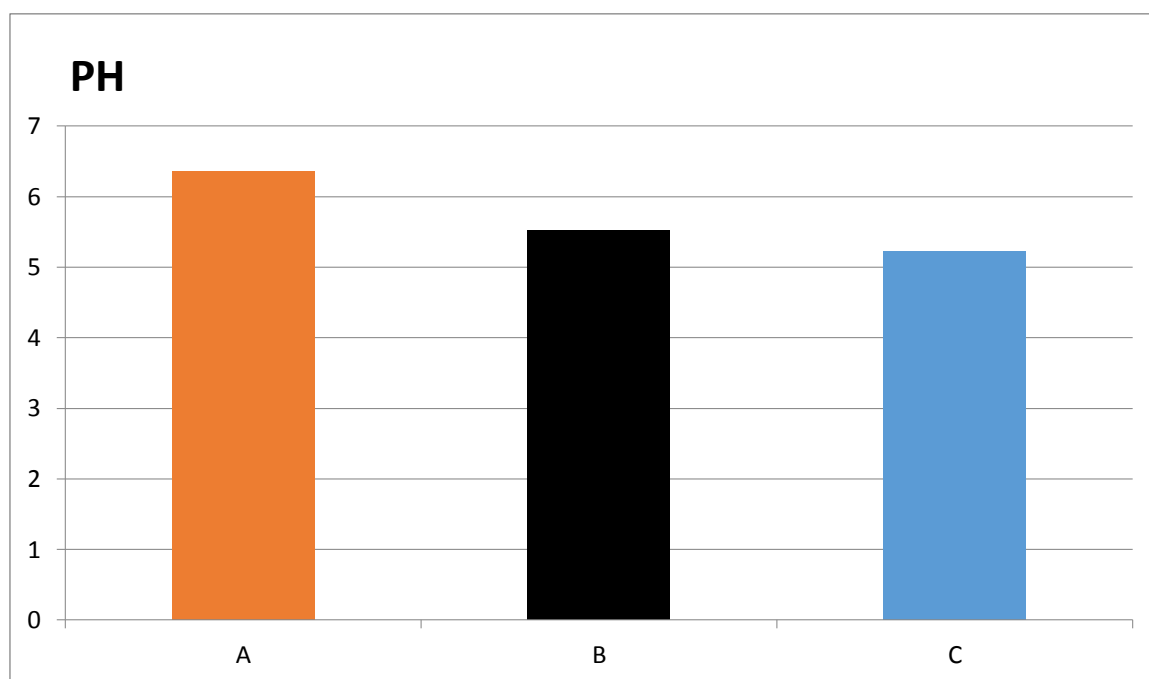


Figure 12: Variation du Ph des échantillons de fromage fondu analysé en fonction des marques.

II.2.1.2.Mesure l'acidité dornic :

La mesure de l'acidité des 3 marques de fromage fondu analysé montre que les valeurs varie entre une valeur maximale de 1,4 réservée pour la marque (A) et une valeur minimale 0,8 réservée pour la marque (B) alors que la valeur moyenne de 1,2 est réservée à la marque (C).

L'acidité dornic diffère d'un type de fromage à autre selon leur humidité, le fromage le plus humide et le plus acide (**Patart . ; 1987**). Elle due principalement à la présence de

protéine surtout les caséines, de substance minérales telle que les phosphates et le CO₂, et l'acide organique, le plus souvent l'acide citrique (Amiot et al., 2002).

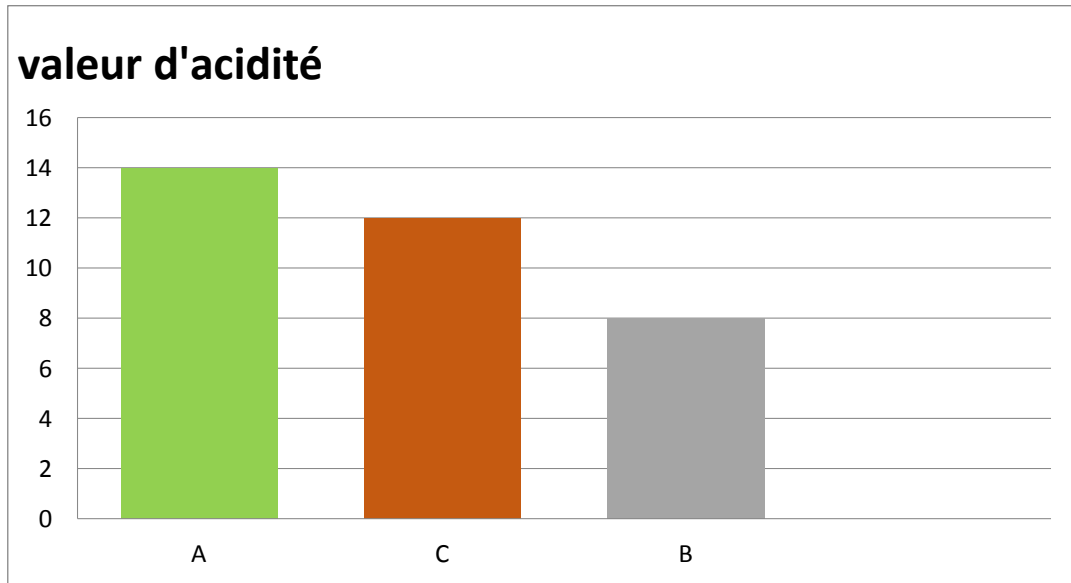


Figure 13: Variation de l'acidité dans les échantillons de fromage fondu en fonction des marques.

II.2.1.3. La teneur en extrait sec :

Les résultats obtenus montrent que le taux de l'extrait sec des échantillons analysés varie entre 51% et 56%, la valeur maximale (56%) et la valeur moyenne (53%) sont réservées à la marque (A) et (C) respectivement. Cependant, une valeur minimale 51% est réservée à la marque B.

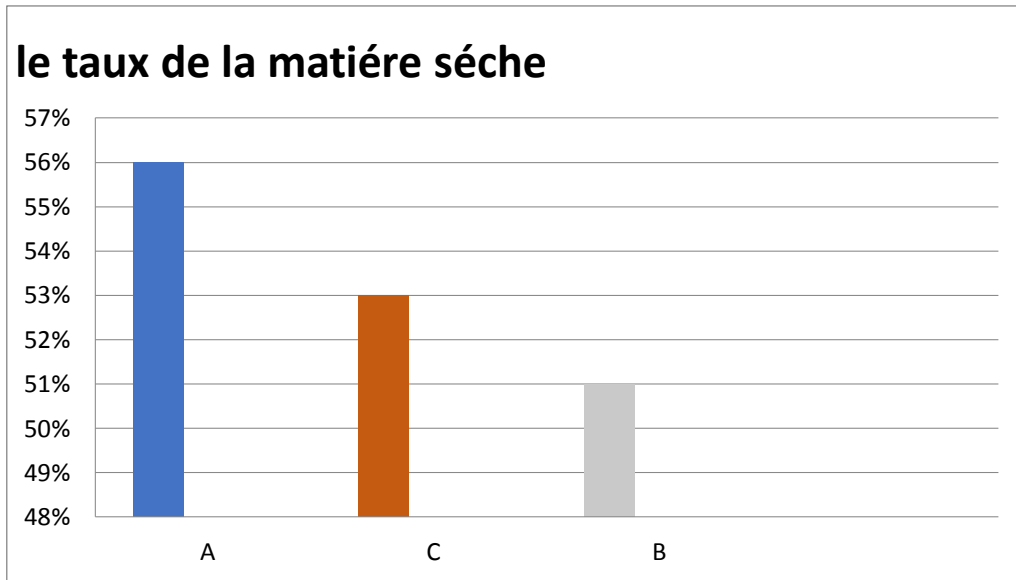


Figure 14: Variation de taux de la matière sèche en fonction des marques.

II.2.1.4. Le taux d'humidité :

Les résultats obtenus montrent que la teneur en eau des échantillons analysés varie entre 44% et 49% , la valeur minimale (49 %)et moyenne (47%) sont réservée à la marque (C) et (B) respectivement. Quant à la valeur minimale de 44% est réservée à la marque (A).

Selon **Fredot (2006)** et **Richonnet (2016)**, la valeur moyenne de taux d'humidité dans les fromages fondus est 50%, et par comparaison avec nos résultats le taux d'humidité des échantillons analysés est inférieurs à cette valeur.

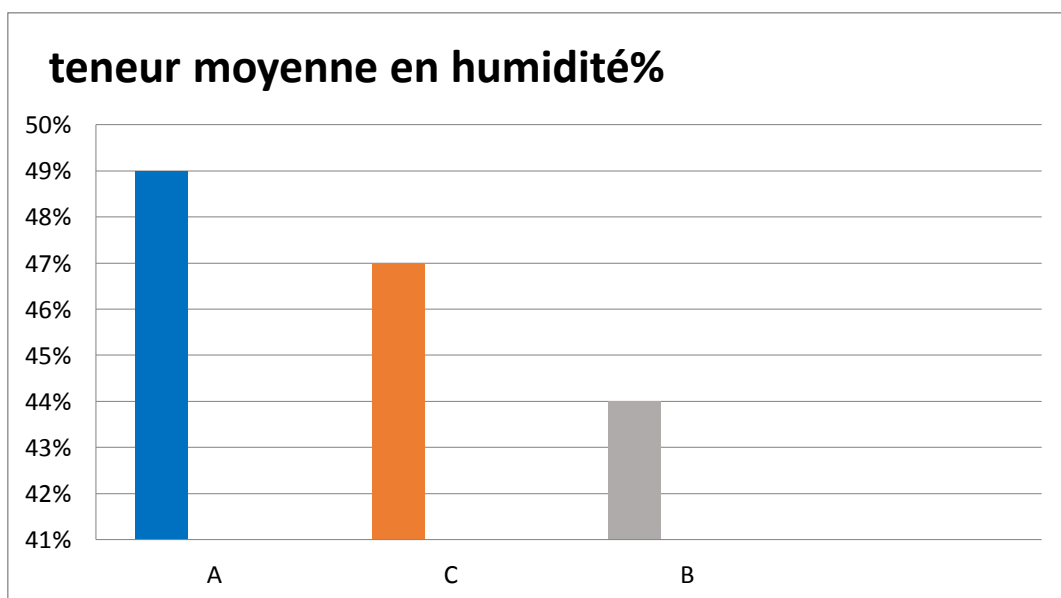


Figure 15: Variation de la teneur en humidité en fonction des marques.

II.2.1.5. Test d'amidon :

Les résultats d'analyse sont négatifs ce qui indique que l'amidon n'est pas parmi les composants de fromage fondu. L'utilisation des amidons modifié comme substrat de graisse, comme adjuvants de texture, stabilisants, émulsifiants et épaississants est règlementés encore faut-il le mentionner sur l'étiquette du produit (Abbas et al., 2010).

normes algérienne des paramètres physico-chimiques selon JORA1998 :

| Paramètre | EST (g) | MG(g) | G/S(%) | Ph |
|-----------|---------|-------|---------|------------|
| norme | 60 | 16 | 46 | 5.65- 6.55 |

Les résultats de la présente étude ont montré que la qualité physico-chimique (Acidité, matière sèche, taux d'humidité, teste d'amidon et pH) de fromage fondu analysé est acceptable en comparant avec la norme algérienne. Quant à la contamination fongique, les échantillons analysés sont fortement contaminés. Ces résultats sont en accorde avec les résultats reportés par Hedayati et al. (2007). Groopman et al. (1988) a reporté que les fromages fondus constituent un substrat propice au développement des moisissures. En effet, les conditions d'humidité et chaudes favorisent la croissance des moisissures notamment toxigène.

II.2.2. Analyse de la flore fongique totale et les principaux genres :

Les isolements sont effectués sur des 3 marques par la méthode classique de dénombrement (méthode de dilution sur milieu solide). Sur l'ensemble des échantillons analysés (90), une prévalence de 100% a été reportée. La marque A (39,32%) s'est avéré le plus contaminée suivi par la marque B (31,97%). La marque C est le moins contaminé à 28,71%) (Figure 18).

La figure 18 montre les résultats de dénombrement pour quelques échantillons. Le dénombrement des moisissures révèle une tendance importante par un taux de contamination

totale diffère d'un échantillon à un autre, en effet elle est située entre 46×10^2 et 64.18×10^2 UFC/ g.

La marque A s'avérés la plus contaminée avec une moyenne de 64.18×10^2 UFC/g par rapport aux autres marques. La marque B a montre également au taux de contamination moins élevé 52.18×10^2 UFC/g. Cependant, la marque (C) présent des résultats faibles à 46.85×10^2 .

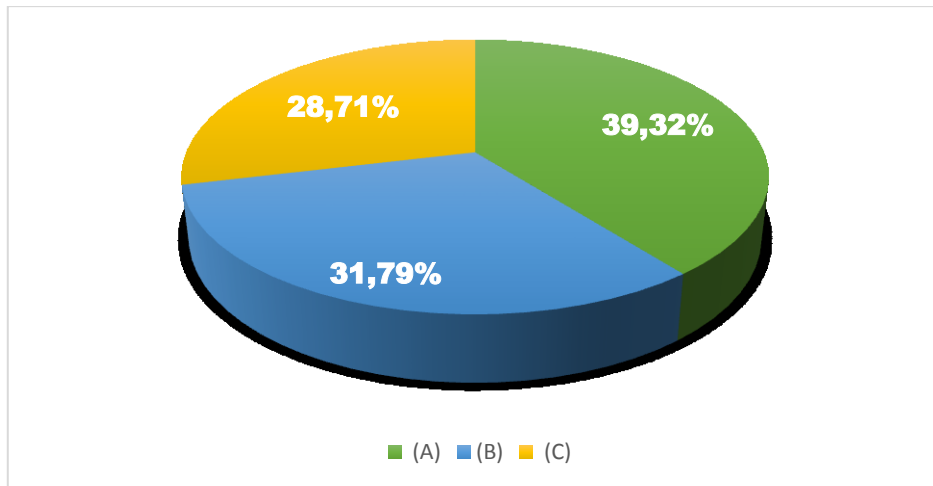
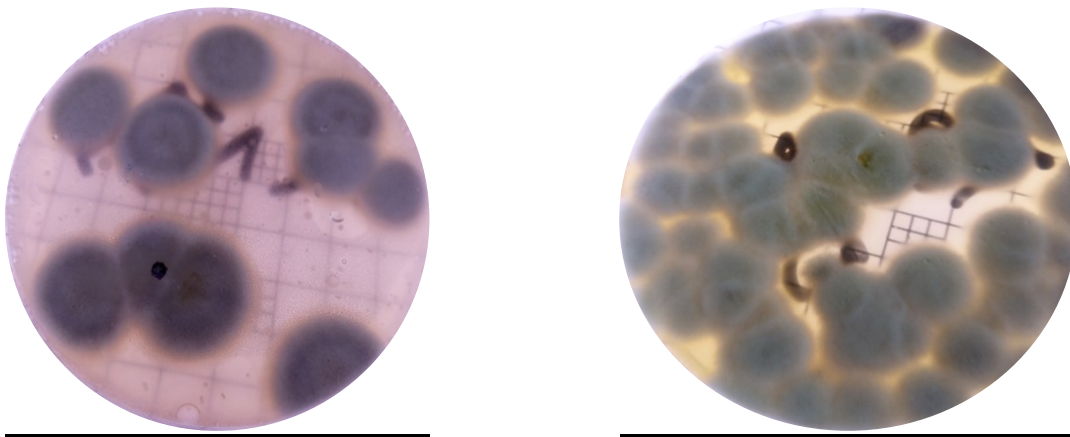


Figure 16: Taux de contamination des échantillons analysés.



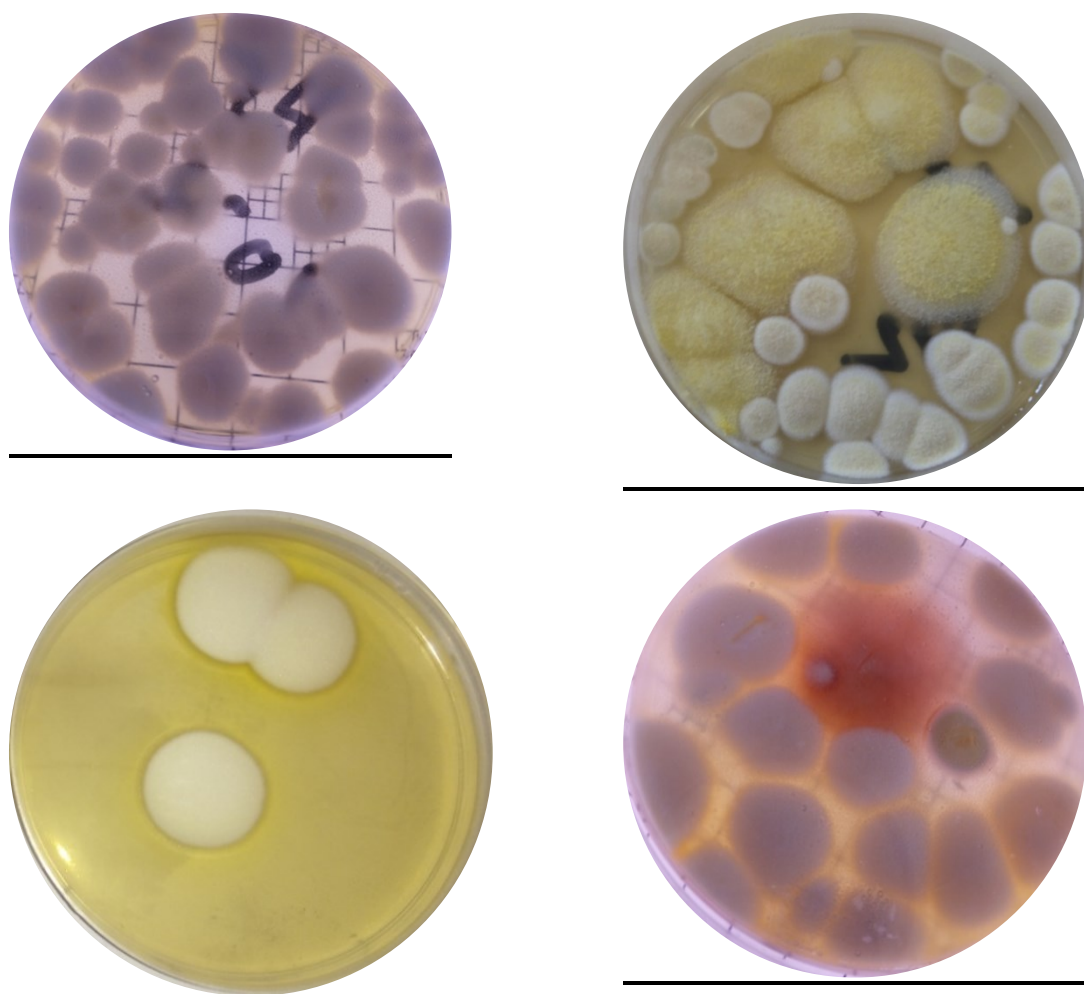


Figure 17: Aspect macroscopique des colonies dénombré à partir des échantillons analysés.

II.2.3. Résultats d'identification des espèces des isolats :

Après 6 jours d'incubation sur le milieu PDA tous les souches pures obtenus ont été soumise à une identification microscopiques .A fin de caractériser cette microflore, des observation macroscopique et microscopique ont été réaliser elles ont permis de d'identifier 1 seul genre fongique avec 3 espèces différents présent dans l'arbre décroissant de prédominance comme suit :

L'identification macroscopiques s'est avéré difficile à réalisés. Le tableau 10, illustre les principaux caractères morphologiques des moisissures (10) isolés.

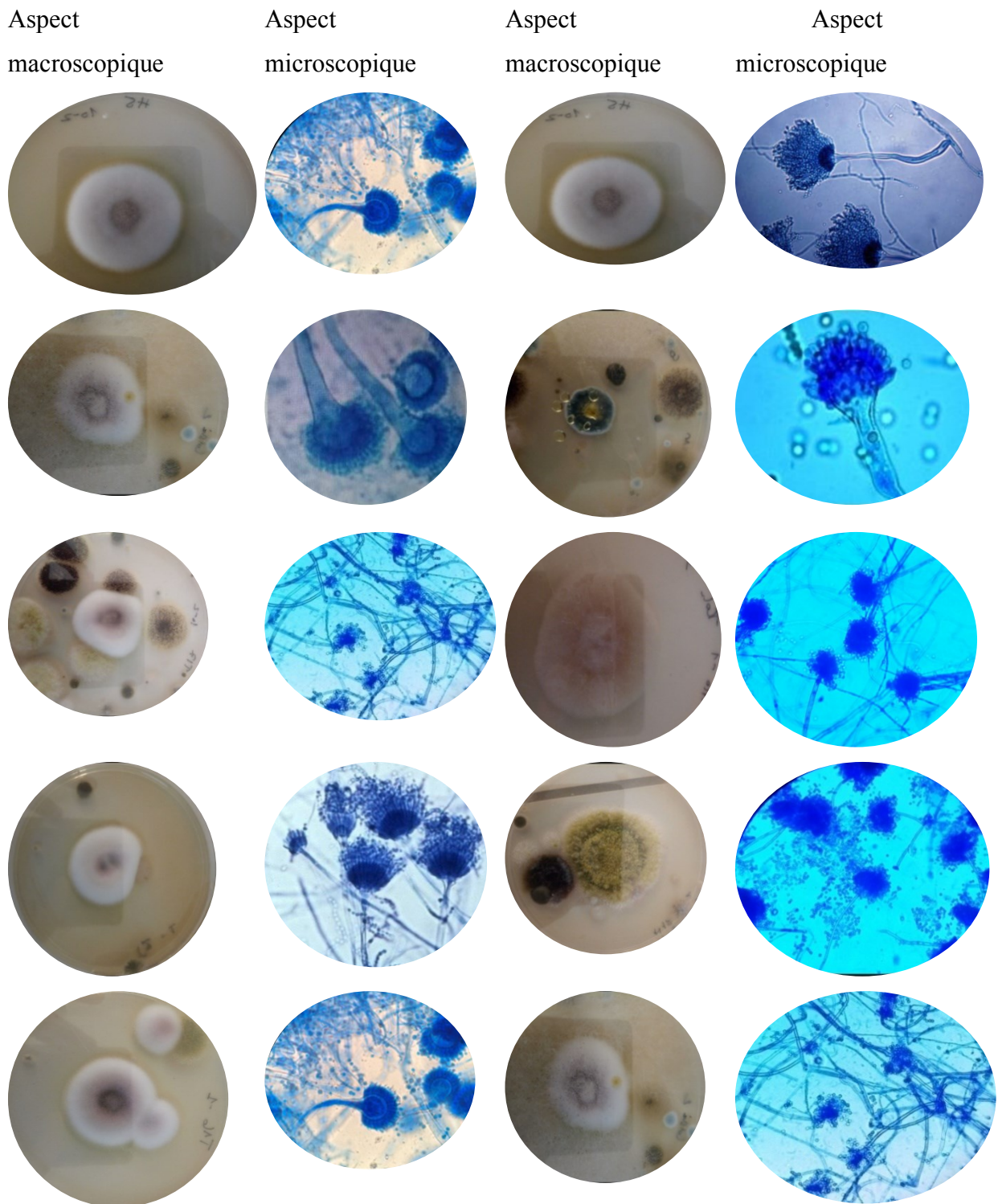
Tableau 10: Description des isolats obtenus identifié comme genre *Aspergillus* spp.

| Aspects macroscopique | Description d'aspect microscopique |
|---|--|
| Colonie évoluant du bleu au vert- foncé a gris noirâtre | Conidie lisse, incolore évatement progressif ou sommet. |
| Colonie est crème faire granuleux moins dense | Petits conidies, globuleuse verte , échimulées. Conidie sont globuleuse Les conidiophores sont long et abondants |

| | |
|--|--|
| Colonie vert foncé , couleur lisse avec un centre jaune | Conidiophore sont incolore, leur paroi est lisse ou rugueuse Conidie globuleuse |
| Colonie est granuleuse vert jeune | Conidie granuleuse Conidiophores sont long et abondants Floconnwux plus dense vert le centre et lache wn périphérie |

La purification et observation de dix champignons isolées permettre de définir 3 souches fongiques motionné dans le tableau 10. L'identification est basée Sur la clé de Remi et al. (1997). Les analyses mycologiques montrent que tous les échantillons du fromage fondu analysées sont contaminés par le genre *Aspergillus*, au total 3 espèces fongiques ont été isolée à partir du 3 marques du fromage fondu de 10 vendeurs situé dans différentes régions Ain Témouchent.

Tableau 11: Aspect macroscopique et microscopique des isolats d'*Aspergillus* spp.



Dans cette étude nous avons révélé une forte contamination du fromage fondu type A (39.32%) et une moins faible contamination de fromage fondu type(B) suivi la marque(C) avec taux de (28.71%). De point de vu mycologique, les trois marques de fromage fondus analysées présentent une charge fongique élevée (6418 germe/g) qui dépasse les normes microbiologiques de (1000 germe/g). Harok et al. (2002), apportent que les conditions de conservation mal contrôlées et la durée de stockage ont une grande influence sur le développement de la flore fongique et la contamination en mycotoxines.

Aussi que Cahargnier et Richaud Molard (1998) ont été révélé qu'humidité et la température sont les principaux facteurs physiques ayant une considérable sur la croissance la production des mycotoxines.

Pour mettre en évidence quelque espèces de moisissure, nous avons opté pour une identification sur critère morphologique, cette dernière faite par un examen macroscopique et microscopique signaux aux divers stades de développement de la moisissure. Cet examen ne pourra, le plus souvent être réaliser que si la moisissure a été isolés et cultiver sur un milieu de culture gélose qui lui convienne.

Le milieu PDA utilisé au cours de cette étude avait été décrit par plusieurs auteurs d'isolement des moisissures contaminants les aliments Dedi et Doimand (2017).

Le genre *Aspergillus* est seul champignon présent sur les échantillons analysés, c'est un champignon très fréquent dans l'air, très sporulant, dotées un grand pouvoir de désamination cela pourrait expliquer la forte présence de ce genre plus que les condition (taux de d'humidité, la température très élever), sont favorable a ses croissances. A cela s'ajoute les manquements aux bonne pratique d'hygiène par le vendeur, il faut souligner la grande présence d'*Aspergillus flavus*. Il faut dire que leur présence dans le fromage fondu destiné a faire partir de la consommation posera des problèmes aux consommateurs, ce champignons produit une toxine l'aflatoxine.

II.2.4.Révélation mycotoxicologique

II.2.4.1.Révélation des souches productrice de mycotoxines par le milieu CEA:

La technique de Lemke et al. (1989) a été utilisé pour détecter visuellement les souches productrices des mycotoxines sur milieu CEA. L'ensemble des isolats d'*Aspergillus* sont producteurs de mycotoxines montré par une fluorescence bleu autours des colonies (Figure 20). En effet, la figure 20 montre des colonies moyennes de 3 à 10 mm de diamètre

entourée d'une zone fluorescente sous UV (365 nm). Selon Gacem (2012), ces zones fluorescentes sont spécifiques aux Aflatoxine produit par *Aspergillus*.

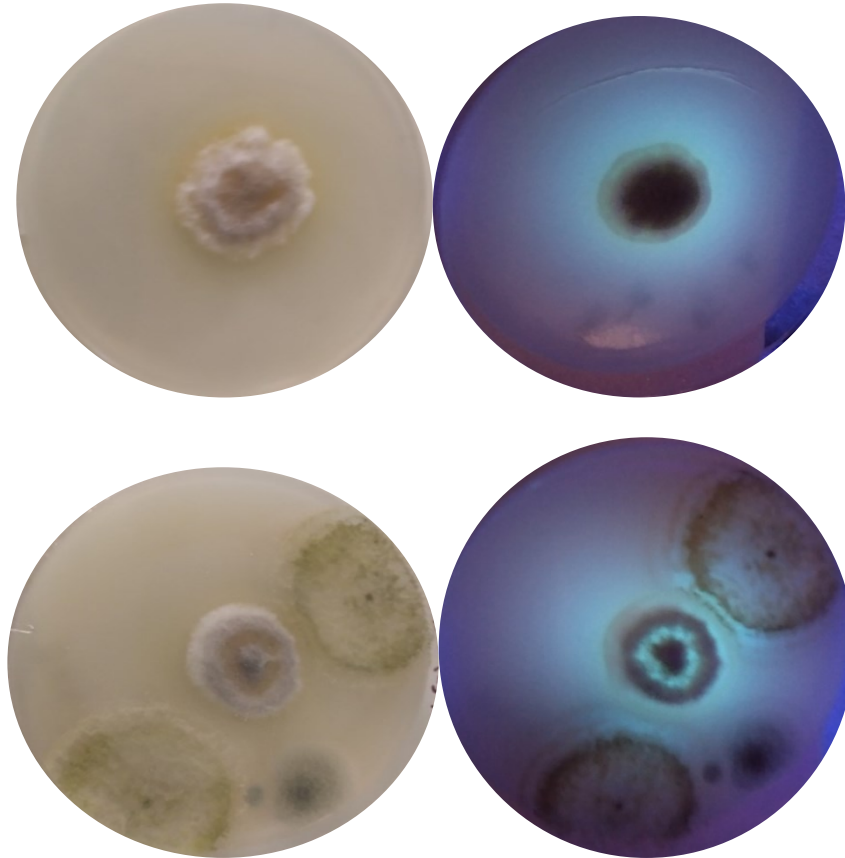


Figure 18: Détection sous UV des souches productrices de mycotoxine sur le milieu CEA (photo originale). a) *Aspergillus* spp H12 ; b) *Aspergillus* H10

II.2.4.2. Révélation des souches productrices de mycotoxines par le milieu CCM

La séparation chromatographique sur couche mince permet de confirmer les résultats obtenus avec la technique de Lemke et al. (1989). Selon Gacem (2012), les mycotoxines de type aflatoxine produit par les espèces de *Aspergillus*. Comme montre le chromatogramme CCM, les isolats obtenus sont producteurs de mycotoxines indiqués par une fluorescence bleue. Selon Gacem (2012) les Aflatoxines donnent une fluorescence bleue.

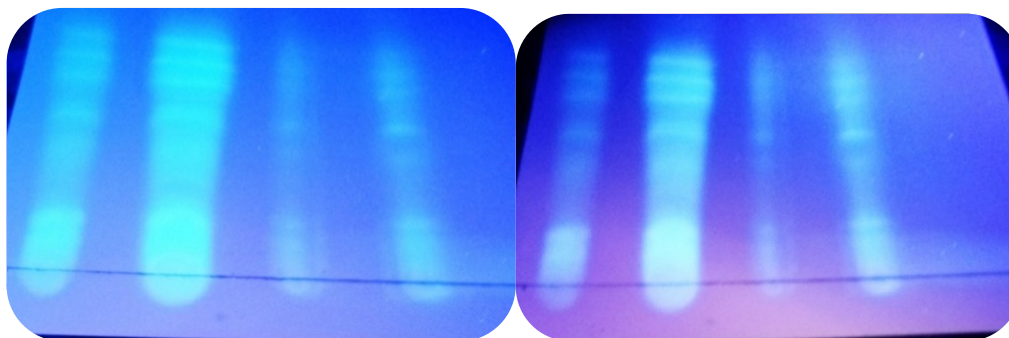


Figure 19: Détection des souches productrices de mycotoxines par CCM (photo originale)

Notre résultat concernant les isolats aflatoxinogène présente sur le milieu CEM. Et par CCM montrent que tous les isolats sont des producteurs d'aflatoxine, 4 isolats sont fortement producteurs, 4 isolats moyennement producteur et 2 isolats sont faiblement producteurs. En effet, on peut rencontrer une large gamme d'isolats allant de très fortement producteurs d'Aflatoxine (Pitt et al., 1993).

Ces données sont en accord avec les conclusions d'observation rapporter par de nombreux auteurs notamment Chapelaud et al., 2017 qui ont montré la présence d'agent fongique est signifie dans la plupart des cas la production des mycotoxines et que la produis de ces dernier est conditionnées par la présence d'un champignons bien spécifique (Pfohl-Leszkowicz, A. ; 2000)

II.2.5. Caractérisation de la croissance

Le suivi de la croissance fongique est alors assuré par la mesure du diamètre de la colonie puis ajustée par le modèle primaire de Baranyi et al. (1993). Les cinétiques de croissance sont illustrés dans la figure 22. Pour l'ensemble des isolats d'*Aspergillus* testés, le diamètre moyen s'accroît entre le 9^{ème} jour et le 13^{ème} jour d'incubation. En effet :

- Pour l'isolat (T17) : l'allongement quotidienne passe par son maximum entre 9^{ème} et le 13^{ème} jour par des diamètres de 50 à 68mm ;
- Pour l'isolat (T17-1 et 2) : la croissance radiale des isolats 17-1 et 17-2 est caractérisée par une phase de latence durant laquelle le diamètre reste identique au diamètre initiale nul et 1mm respectivement. Puis, l'isolat subit une augmentation rapide des diamètres de 28 à 45mm et 17 à 31 mm pour isolat 17-1 et 17-2 respectivement ;
- Pour l'isolat (H10-1 colonie1 et H10-1 colonie 3) même croissance caractéristique par rapport aux isolats précédent avec changement de temps de latence de 2mm), puis

développements rapide jusqu'à l'obtention de 12 à 20 mm et 18 à 32 mm pour les deux isolats H10 colonie 1 et 2 respectivement ;

- Pour l'isolat (v5-2), la croissance mycélienne des souches caractérisé par une phase de latence durant laquelle le diamètre reste presque identique à le diamètre initiale du souche (égale à 1 mm), puis la souche subit une augmentation rapide des diamètres (16 à 41 mm) ;
- Pour l'isolat (H12-2), la croissance mycélienne des souches caractérisé par une phase de latence durant laquelle le diamètre reste presque identique à le diamètre initiale du souche (égale à 2 mm), puis la souche subit une augmentation rapide des diamètres (22 à 51 mm) ;
- Pour la souche (T2-1), la croissance mycélienne des souches caractérisé par une phase de latence durant laquelle le diamètre reste identique à le diamètre initiale du souche (égale à zéro), puis la souche subit une augmentation rapide des diamètres (16 à 35 mm) ;
- Pour l'isolat (T16-1), la croissance mycélienne des souches caractérisé par une phase de latence durant laquelle le diamètre reste presque identique à le diamètre initiale du souche (égale à 1 mm), puis la souche subit une augmentation rapide des diamètres (22 à 42 mm) ;

En conclusion de croissance, les isolats testés montrent des capacités de croissance différentes renseignées par le temps de latence (jour) et taux de croissance $\mu_{T^{\circ}C}$ (jour⁻¹). En effet, les temps de latence et $\mu_{T^{\circ}C}$ s'étalent entre [0 à 7.53 jours] et [1.08 à 5.54 jours⁻¹] respectivement. Les résultats montrent que les paramètres de croissance dépendent de la souche. La souche T17 présente une croissance rapide par rapport aux autres souches.

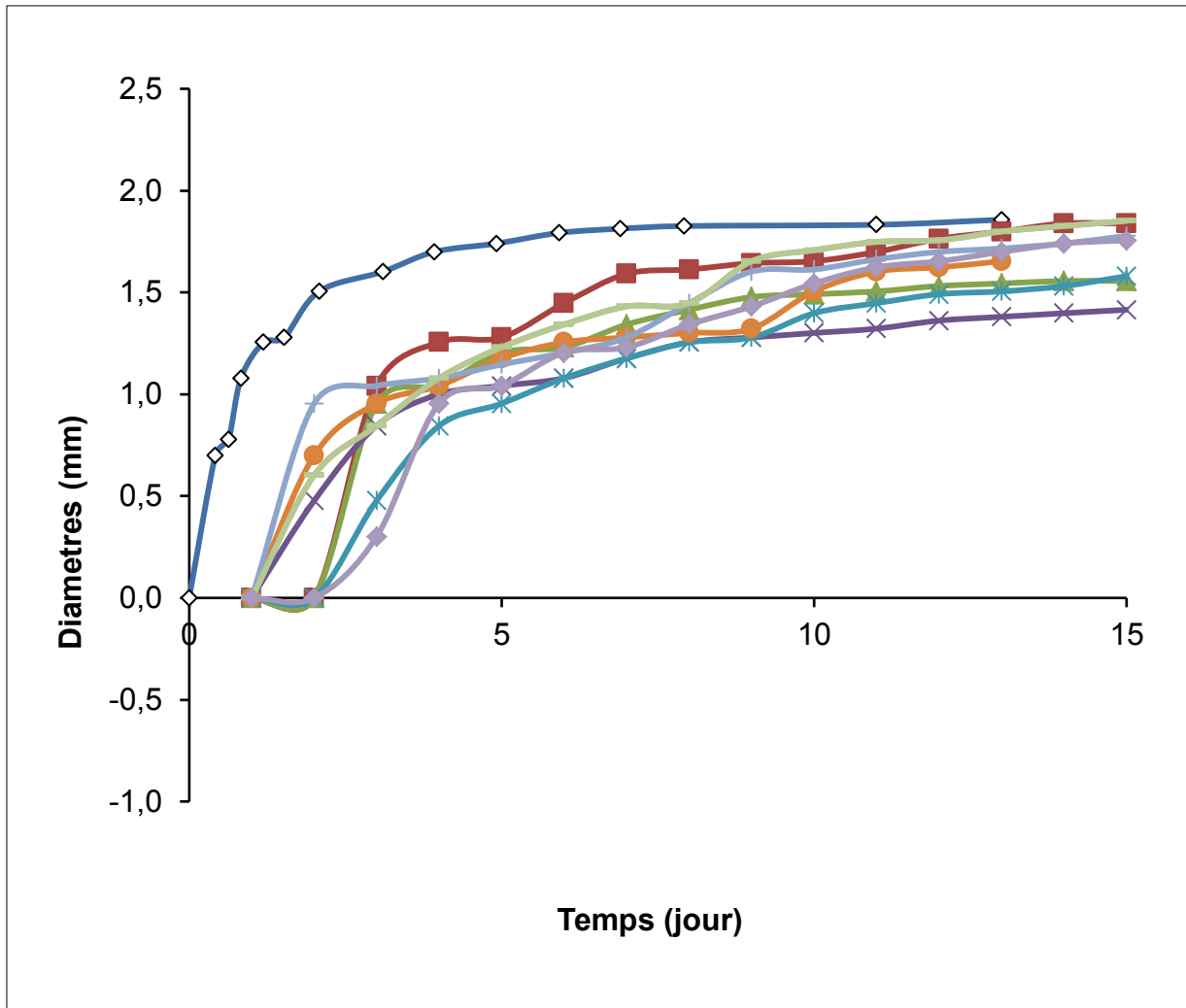


Figure 20: Cinétiques de croissance radiale des moisissures isolées à partir fromage fondu.

Tableau 12: Paramètres de croissance de moisissures isolés à partir de fromage fondu.

| | T17-1 (1) | T17-1 (2) | T17-2 | H10-1 (1) | H10-1 (2) | H10-1 (3) | v5-2 | H12-2 | T2-1 | T16-1 |
|-------------------|--------------|--------------|-------|--------------|--------------|--------------|------|-------|------|-------|
| logR0 | 0,55 | 0,01 | 0,20 | 0,44 | 0,01 | 0,50 | 0,41 | 0,49 | 0,45 | 0,54 |
| LogRmax | 0,80 | 0,74 | 0,53 | 0,61 | 0,63 | 0,75 | 0,75 | 0,79 | 0,76 | 0,75 |
| lag (λ) | 7,26 | 0,00 | 0,42 | 7,41 | 0,00 | 7,53 | 2,35 | 5,26 | 7,38 | 7,41 |
| μ max | 5,56 | 2,13 | 4,95 | 5,55 | 1,26 | 5,53 | 1,08 | 4,00 | 5,55 | 5,55 |
| SCE | 3,36 | 0,12 | 1,61 | 1,80 | 0,11 | 2,21 | 1,15 | 2,50 | 3,99 | 2,66 |



CONCLUSION



. L'étude que nous avons menée sur les trois marques de fromage fondu A B C , nous a permis d'évaluation de la qualité physico-chimique , mycologique et mycotoxologique aussi que leurs caractéristiques de croissance .

De point de vue mycologique, les fromages fondus A B C analysés présentent une charge fongique élevée, les résultats obtenus montrent que la marque de fromage fondu sont fortement contaminés par les moisissures du genre *Aspergillus*.

Le résultat de la présente étude ont montré que la qualité physico-chimique de fromage fondu analysés est acceptable pour tous les paramètres physique et chimique et qui sont le taux d'humidité, l'acidité dornic, le Ph et le test amidon.

L'étude mycotoxologique sur différentes marques de fromage fondu qu'une production considérer des mycotoxines dans tous les isolats sur le milieu CEA et sur CCM.

L'étude caractéristique de croissance montre que le développement mycélien sur le milieu PDA est augmenté jusqu'à atteindre un diamètre maximale (la phase exponentielle)



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- 1) ANONYME, 1989 a – bienvenus dans le monde de KASOMEL et des fromages fondus. Europhos 73 p
- 2) Alais C, Linden G, Milko L., (2008). Abrégé de biochimie alimentaire. 6ème ed. (Ed) :Dunod.Paris,p 189
- 3) AMADOU. H et SAID A .S, 2002. Contribution à l'étude de stabilité du fromage fondu stérilisés : aspect physico-chimiques .mémoire diplôme universitaire appliqués (DAEA). Université M'HAMED BOUGARA BOUMERDAS .Algérie . Pp 9-28
- 4) Anonyme, 2012 – Aspergillus flavus et autres moisissures productrices d'aflatoxines, ANSES, 3p.
- 5) Anonyme, 2011 – Aspergillus flavus et autres moisissures productrices d'aflatoxines, ANSES, 4p.
- 6) Adams, R.Z. 2002. Indoor Environment Connections Featured Public Library Closes Down for Mold Investigation www.ieconnections.com/archive/jan_01/jan-01.htm
- 7) 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, Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN : 3-25-29 (600 page)
- 8) Abbas, S.M.A., N. Belhocine, A. El-Ganainy, and M. Horton, 2010, “Historical Patterns and Dynamics of Public Debt—Evidence From a New Database,” IMF Economic Review, Vol. 59, No. 4, pp. 717-742.
- 9) BOUTONNIER J.L., 2000. Fabrication du fromage fondu. Techniques de l'Ingénieur, traité Agroalimentaire, F 6 310-1, p.14
- 10) Brock T D ; Madigan M T ; Martinko J M. and Parker J (1994). biology of microorganism
- 11) Bouton, M.E., Kenney, F.A., and Rosengard, C. 1990. State-dependent fear extinction with two benzodiazepine tranquilizers. *Behav. Neurosci.* 104: 44–55.
- 12) Barrett J. R., 2000. Mycotoxins of Molds and maladies. Environmental Health Perspectives, Vol 108, n°1. 20-23.
- 13) BOIRON, P.1996. organisation et biologie des champignons. Nathan. Paris. P : 13-19-69-79
- 14) Berger, Allen N., Claudia M. Buch, Gayle DeLong, and Robert DeYoung, 2004, Exporting financial institutions management via foreign direct investment mergers and acquisitions, *Journal of International Money and Finance* 23, 333- 366.
- 15) Baranyi, J., Roberts, T.A., McClure, P. 1994. A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. *Food Microbiol.* 10, 43-59
- 16) C.I.R.C. 2002 ; centre international de recherche contre le cancer. Monograph on the evaluation of carcinogenic Risk to humans, world health organizations
- 17) Chambre, Daurelles., (1997). Le fromage fondu. In : Eck A, Gillis. Le fromage. (Ed) : Tee et Doc, p 691-708.
- 18) codex alimentarius, 2000. Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires comité du codex sur le lait et les produits laitiers. Sixième Session, Auckland Nouvelle-Zélande. Avant-projet de norme pour le fromage fondu observations à l'étape 3, 3 p.

- 19) Cahagnier B., 1998- Céréales et produits dérivés. In : Bourgeois C. M., Mescle J.-F., Zucca J. (coord.). Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Tec & Doc, Paris, pp. 392-414
- 20) Champion R., 1997 - Identifier les champignons transmis par les semences. Ed. Editions Quae, France, 398 p
- 21) Cahagnier B., 2001- Céréales et produits dérivés. In : Bourgeois C. M., Mescle J.-F. Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Tec & Doc, Paris, pp. 390-500
- 22) Chapeland-Leclerc F., Papon N., Noël T., Villard j. 2005- Moisissures et risques alimentaires (mycotoxicooses). Revue Francophone des Laboratoires, N°373 :61-66
- 23) Chabasse D., Bouchara J.P., Gentile L., Brun S., Cimon B., et Penn P. 2002. Cahier de formation Biologie médicale, Les moisissures d'intérêt médical, France : Bioforma. 160p.
- 24) Diguta C. F., 2010- Ecologie des moisissures présentes sur baies de raisins. Thèse Doc. Univ. De Bourgogne, Institut universitaire de la vigne et du vin, 154p
- 25) Devet, 1996 A non-autonomous differential equation to model bacterial growth. Food Microbiol. 10
- 26) Eck A et Gillis JC. 2006. Le fromage. 3ème Edition, Tec et Doc, Lavoisier, Paris. 891p
- 27) Evette J-L. (1975) La fromagerie. -Paris : Presse universitaire de France, 1975 -140P
- 28) Eck A et Gillis J.C. 1997. Le fromage. 3eme édition, Lavoisier, Paris, France. 874P
- 29) FAO. (food and agriculture organization of the united nations) 2004. worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003 .FAO food and nutrition paper 81. FAO, Rome
- 30) Fox P.F., Cogan T.M et Guinee T.P., 1993 .Factors that Affect the qualie of cheese. In Cheese ; Elsevier 617--641
- 31) FREDOTE. (2006). Connaissance des aliments –Bases aliments e nutritionnelles de la diététique (éd. Tec.et doc) Lavoisier, Paris P59-87
- 32) Fredot Emilie., (2009). Connaissance des aliments. 2eme édition. (Ed) : Tee et Doc.Paris. p 25-70
- 33) Filtenborg O., Frisvad J.C. et Thrane U., 1996. Moulds in food spoilage. International Journal Of Food Microbiology 33 ; 85-102.
- 34) Ferry, 2005, critère identification microscopique des moisissures Le fromage fondu. In : Eck A. et Gillis J.C
- 35) GUINEE T.P., CARIÚ M., KALÁB M., 2004. Pasteurized Processed Cheese and Substitute/Imitation Cheese Products. In : FOX P.F., MCSWEENEY P.L.H., COGAN T.M., GUINEE T.P. Cheese Chemistry, Physics and Microbiology. Major Cheese Groups vol. 2, 3rd ed. Elsevier Applied Science Ltd, London, p. 349-394.
- 36) GRIPTON et JOHN, 1975, finding of inquest in south Australia coroners act
- 37) Guarro, 1995, Les Deutéromycètes : Classification et clés d'identification générique P 55
- 38) Guiraud J. P., 1998- Microbiologie alimentaire. Dunod. Paris. P. 7-330.

- 39) Gock M.A., Hocking A.D., Pitt J.I., Paulos P.G., 2003- Influence of temperature, water activity and pH on growth of some xerophilic fungi, *International Journal of Food Microbiology*, 81 : 11-19.
- 40) Gelinas P., 1995-Répertoire des micro-organismes pathogènes transmis par les aliments, Edisem, St Hyacinthe, Québec.
- 41) Hermier J, Lenoir J, Weber F., (1992). Les groupes microbiens d'intérêt laitier. (Ed) : CEPIL, Paris P 568
- 42) Hedayati M. T., Pasqualotto A. C., Warn P. A., Bowyer P., Denning D. W. (2007). *Aspergillus flavus* : human pathogen, allergen and micotoxin producer. *Microbiology* 153 1677–1692.
- 43) Jeantet R, Crogenec T, Schuk P, Brûle G., (2008). Les produits laitiers. 2emeedition. Paris, p 1-2.
- 44) Joha., (1989). La fabrication du fromage fondu. BK Lanen bury. Allemagne, p147, 150, 151
- 45) J.O.R.A, 1998 : Arrête interministériel du 25 mars 1998 relatif aux spécifications du lait en poudre industriel
- 46) J.O.R.A, N°25, 2014 : Arrête interministériel du octobre 2014 relatif aux spécifications du lait en poudre industriel
- 47) Luquet F.M, (1990). Lait et produits laitiers ; vache, brebis, chèvre. Tome 3 (Ed) : Tee et Doc. p 253
- 48) Lenoir, J., Lambert, G., Schmidt, J.L. and Tourneur, C. 1985. La maîtrise du bioréacteur fromage. *Biofutur* 41: 23-50.
- 49) Luquet F.M, (1987). Lait et produits laitiers ; vache, brebis, chèvre. Tome 3 (Ed) : Tee et Doc. p 255
- 50) Luquet F.M, (1985). *Lait et produits laitiers ; vache, brebis, chèvre. Tome 3 (Ed) : Tee et Doc. p 260*
- 51) Leyral G. et Vierling E. (2007) *Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires*. DOIN, CRDP d'Aquitaine, France. 287p.
- 52) MAJDIA A. (2009). Séminaire sur les fromages AOP et IGP .INT-Ingénieur agronomie, p.88.
- 53) MARIA SAARILA, 2007, fonctionnel dairy Product, CRC press, Englend, Vol,2 , P418
- 54) M.MEHMET AK ., 2003 . *cheeserheology and texture*, CRC PRESS, USA , P143-23
- 55) MEYER A., 1973. *Processed Cheese Manufacture*, Food Trade Press Ltd., London, p.201.
- 56) Mueller GM, Schmit JP, Leacock PR, Buyck B, Cifuentes J, Desjardin DE, Halling RE, Hjorstam K, Iturriaga T, Larsson K-H, Lodge DJ, May TW, Minter D, Rajchenberg M, Redhead SA, Ryvardeen L, Trappe JM, Watling R, Wu Q-X (2007) *Global diversity and distribution of macrofungi*. *Biodivers Conserv* (this volume)
- 57) Moreau C., 1996- les mycotoxines. In : Bourgeois C. M., Mescle J.-F., Zucca J. (coord.). *Microbiologie alimentaire : Aspects microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments*. Ed. Tec & Doc. Paris, pp.176-185.

- 58) MULTON, J.L., 1982. Conservation et Stockage Des Grains et Graines et Produits Derivés- Céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux. Technique & Documentation Lavoisier, Paris, pp. 576
- 59) NA 5936.1993. Norme général pour le fromage fondu et le fromage fondu pour tartine .27 Janvier, IANOR. Norme Algérienne
- 60) NICKLIN, J ; GRAEME-COOK, K ; PAGET, T& KILLINGTON, R.2000. l'essentiel en microbiologie. Berti. P : 210-216
- 61) PADILLA M., GHERSI G., 2001. Le marché international du lait et des produits laitiers. Options méditerranéennes, CIHEAM-IAM Montpellier, France, sér.B, n32.15p
- 62) Pitt J.I., 2013 – Mycotoxins. In Morris G.J., Potter M. (coord.). Foodborne Infections and Intoxications, Fourth edition. Ed Elsevier. pp 409-418.
- 63) Pfohl-leszkowicz A., 2009 - Mycotoxines : facteur de risque de cancers Mycotoxins : a cancer risk factor. J. Afr. Cancer 1: 42-55 pp.
- 64) Proctor, D.L., 1995 - Techniques d'emmagasiner des grains : évolutions et tendances dans les pays en développement, Bulletin des services agricoles de la FAO n°109, FAO, Rome.
- 65) Patart J.P., (1987). Les fromages fondus. In : ECK A. Le fromage. (Ed) : Lavoisier. p385-398
- 66) Pfohl-Leszkowicz, A. 2000. Définition et origines des mycotoxines dans l'alimentation: évaluation et gestion du risque, Ed : Tec & Doc, 3-14.
- 67) Pitt, M. A., & Samuel, A. G. (1993). An empirical and meta-analytic evaluation of the phoneme identification task. Journal of Experimental Psychology : Human Perception and Performance, 19(4), 699–725
- 68) RAMESH C, CHANDAN ARUM KILARA. 2011. Dairy Ingredients for foodprocessing Wiley- Blackwell, USA, P 255- 226
- 69) Reboux G, 2010 – Mycotoxines : effet sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. Revue Française d'allergologie et d'immunologie clinique 46 (2010) 288 – 220
- 70) RANKEN M. D., KILL R. C., BAKER C. G. J. 1997. Food industries manual. Chapman& Hall, 14 th edition. London, 650p
- 71) Richonnet, C. (2016). Caractéristiques nutritionnelles des fromages fondus. Cahiers de nutrition et de diététique, 51(1), 48-56
- 72) Samson R.A., Visagie C.M., Houbraeken J., Hong S.-B., Hubka V., Klaassen C.H.W., Perrone G., Seifert K.A., Susca A., Tanney J.B., Varga J., Kocsubé S., Szigeti G., Yaguchi T., Frisvad J.C., 2014 - Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. Studies in mycology, 78: 141–173.
- 73) Samson RA, Hong S-B, Frisvad JC (2006). Old and new concepts of species differentiation in *Aspergillus*. *Medical Mycology* 44: S133-S148
- 74) Steyn, P.S. 1998. The biosynthesis of mycotoxins. Revue de Médecine Vétérinaire 149, 6: 469-478.
- 75) Steyn, P.S. 28th January 1980. The biosynthesis of mycotoxins. P 448.
- 76) LARPENT, 1997 : Microbiologie alimentaire, technique de laboratoire. ED. Tec&Doc. Lavoisier, Paris

- 77) Tabuc, C. 2007. Flore Fongique de Différents Substrats et Conditions Optimales de Production des Mycotoxines. Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse et de l'Université de Bucarest
- 78) Vignola C.L., Michel J.C., Laquin P., Moineau M., Ponlont M et Simpson R., 2002. Science et technologie du lait : transformation du lait. technique et documentation Lavoisier.600p
- 79) Veisseyre R, (1979). Technologie du lait. 3ème édition. La maison rustique, 73,74, 214, 274, 296, 329, 429,435-438,559.
- 80) Visagie C.M., Houbraken J., Frisvad J.C., Hong S.-B., Klaassen C.H.W., Perrone G. Seifert K.A., Varga J., Yaguchi T., Samson R.A., 2014- Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*, Studies in Mycologie, Vol 78 : 343- 371.



ANNEXES



ANNEXE 01 :
Grands familles des fromages



| | | |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Fromage frais | Fromage à pâte pressée | Fromage à pâte dure |
|  |  |  |
| Fromage à pâte filées | Fromage fondu | Fromage à pâte molle |

Marque de fromage commercialisées

ANNEXE 02 :
Fromage fondu



Marque de fromage fondus commercialisées en Algérie

ANNEXE 04 :**Différents matériel utilisé :**1. Différents matériels utilisés pour analyse mycologique :• Appareillage :

Agitateur vortex
Balance analytique
Bec benzène
Bécher 500ml , 250ml, 100ml
Papier filtre
Pipette de 10ml
pH mètre
étuve de 37C° et de 44C°
bain marie
réfrigérateur pour la conservation des échantillons

• Verrerie :

Flacon pour les milieu
Pipette pasteur
Pipette graduées
Bécher
Les tubes a essai 50ml

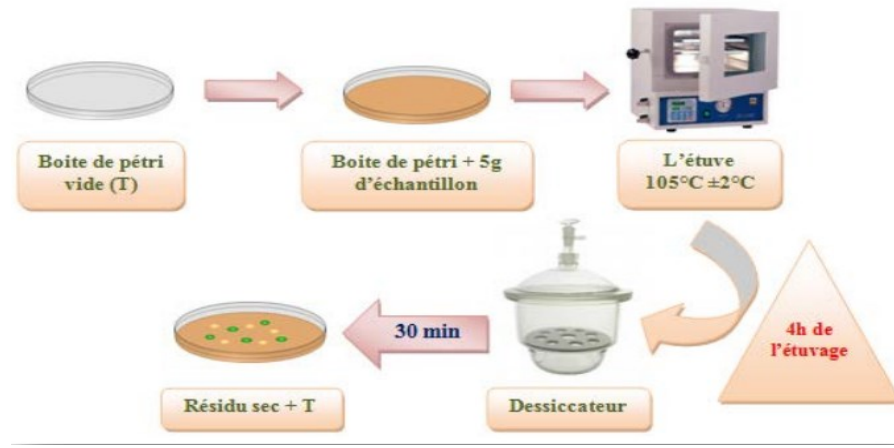
2. Différents matériels utilisés pour analyse physico-chimique :

Centrifugeuse
Ph mètre
Agitateur
Eprouvette, burette, bécher entonnoirs, fiole
Minis burette
Balance analytique
Erlenmayer de 225ml
Bagutte en verre
Tubidimètre
Conductivimètre

• **Les solvants :**

Chloroform (CHC13)

ANNEXE 05 :
Mode opératoire pour trouver l'extrait sec du fromage



ANNEXE 06 :**Composition les milieux culture utilisé :****Milieu d'isolement OGA (gélose glucosée a l'oxytétracycline)****Milieu de base**

| | |
|------------------------------------|----------|
| Extrait de levure | 5g |
| Glucose | 20g |
| Agar | 12 a 15g |
| Eau distillée | 1000g |
| -solution d'oxytetracycline a 0.1% | |

Milieu PDA(pomme de terre, dextrose , agar) :

| | |
|----------------|------|
| Pomme de terre | 200g |
| Agar | 15g |
| Glucose | 20g |
| Eau distillée | |

Les milieux sélectifs pour *Aspegillus flavus* et *Aspergillus parasiticus* :**Milieu YES :**

| | |
|-------------------|-------|
| Sucrose | 40g |
| Extrait de levure | 20g |
| Eau distillée | 1000g |

Milieu coconut extract agar (CAE) :

Cent grammes de la noix de coco déchiquetée ont été homogénéisés pendant 5minute avec 300 ml d'eau distillé chaude. La solution est filtrée à l'aide du tissu. L'agar a été ajouté (20g/litre) .

Le mélange a été alors stérilisé à autoclave à 121C° /15 minute . le Ph final est de 0.7

Les réactifs**Solution de NAOH :**

| | |
|-------------------|-------|
| Hydroxy de sodium | 2.2g |
| Eau distillée | 500ml |

Bleu de coton :

| | |
|-------------------|------|
| Lactophénol | 0.5g |
| Bleu de méthylène | 0.5g |



RESUME



Résumé :

Le fromage fondu produit de seconde transformation de la fonte et de l'émulsification a l'aide de la chaleurs (a une température au moins 70°C ou toute autre combinaisons équivalente de fromage ou d'un mélange de fromage additionnés éventuellement d'autre produits laitiers (lait, beurre) . cette technologie permet d'obtenir des produits présentant des textures très variable (tartenable, en bloc, saveur douce , salée ou sucrés) , En Algérie, le fromage fondu est l'un des fromages les plus populaires. Mais sa consommation peut présenter un risque de toxifinfection l'ors qu'il est contaminé par les moisissures toxinogènes.

Notre travail nous a permis d'étude comparativement trois marque de fromages fondus qui ont été aléatoirement rassemblés des différents super marchés dans la Wilaya Ain témouchent (A B C) .

En vue d'évaluer la qualité physico-chimique, mycologique et mycotoxicologique , aussi que leur caractéristiques de croissance.

De point de vue physico-chimique, les fromages fondus analysés ont une qualité physico-chimique suffisante.

Selon l'analyse mycologique, les charges fongiques la plus élevée est celle du marque qui représente un substrat favorable pour la croissance des moisissures. Prévenant du stockage et du réfrigération

Le genre d'*Aspergillus* a été retrouvé dans les 3 marques de fromage fondu analysées avec une fréquence élevé allant de 100% sur le milieu PDA

La recherche de mycotoxines sur les différents substrats analysés s'est révélé positive, dont la production des mycotoxines (Aflatoxine) des isolats d'*Aspergillus* a été réalisée dans le milieu CEA.

Les résultats obtenu sur le milieu CEA/CCM indiqué que toute les isolats sont producteurs d'aflatoxine a l'ensemble des résultats relatifs a l'étude des caractéristiques de croissance pour le but de prédire le développement invisible de moisissure en fonction de temps sur le milieu PDA , montre une mycélienne qui augmente progressivement jusqu'à atteint la phase exponentielle par une diamètre maximales.

Donc les fromages étudiés contient un pourcentage élevée de moisissures toxinogènes invisibles qui peuvent produire des mycotoxines et constituer une menace pour la santé des consommateurs.

المخلص:

الجبن المعالج، منتج معالجة ثانوية، ذوبان و استحلاب باستخدام الحرارة (عند درجة الحرارة لا تقل عن 70 درجة مئوية) أو أي مزيج معادل آخر من الجبن أو خليط من الجبن مع إضافة أنواع أخرى من منتجات الألبان (الحليب، الزبدة)، تنتج هذه التقنية الحصول على منتجات ذات قوام متغيرة للغاية (قابلة للدهن أو كتلة و ما إلى ذلك ، مع نكهة خفيفة) (مالحة أو حلوة).

في الجزائر الجبن المعالج (المطبوخ) هو احد الاجبان الأكثر شعبية , لكن استهلاكه يمكن أن يشكل خطرا (التسمم) عندما يحتوي أو يكون ملوثا بالفطريات السامة , لقد مكنا هذا العمل من دراسة ثلاث علامات تجارية نسبية من الاجبان المصنعة التي تم جمعها عشوائيا من مختلف محلات السوبر ماركت في ولاية عين تموشنت (ا،ب،ج) من اجل تقييم الجودة الفيزيوكيميائية و دراسة نسبة الفطريات و السموم الفطرية في المنتج بالإضافة إلى خصائص نموها، من وجهة النظر الفيزيوكيميائية فان الجبن المعالج الذي تم

تحليله يتمتع بجودة فيزيائية و كيميائية جيدة , أما من وجهة النظر الميكولوجية و وفقا لتحليل الفطريات فان أعلى الأعمال الفطرية هي تلك الخاصة بالعلامة التجارية التي تمثل ركيزة مواتية لنمو الفطريات , مراعاة للتخزين و التبريد .

تم العثور على الجنس *Aspsulligre* في العلامات التجارية الثلاثة التي تمر تحليلها بتردد عال بنسبة % 100 على وسط أل PDA ,

كما كان البحث عن السموم الفطرية على الركائز المختلفة التي تم عزلها في وسط CAE ايجابيا , لما في ذلك إنتاج السموم من نوع

enixotalfa و التي تم تأكيدها بعد ذلك عن طريق CCM , بالنسبة لجميع النتائج المتعلقة بدراسة خصائص النمو لغرض معرفة التطور الغير مرئي للفطريات مع الزمن على الوسط أل DPA فانه يظهر أن النمو الفطري يزداد تدريجيا حتى الوصول إلى ذروته , و بهذا فان الجبن المدروس يحتوي على نسبة عالية من الفطريات السامة الغير المرئية التي يمكن أن تنتج السموم الفطرية و التي تشكل خطرا على المستهلك الجزائري .