UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

Etude comparative de la papaïne et de la Bromélaïne comme coagulants alternatifs pour la transformation des produits laitiers : Cas du fromage du type Gouda

Ngabirano, Elie; Sous la direction : Pr Nzigamasabo Aloys

2025-07
UB, EANSI
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/2202

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

UNIVERSITE DU BURUNDI

EAST AFRICAN NUTRITIONAL SCIENCES INSTITUTE

MASTER EN SCIENCES DES ALIMENTS ET NUTRITION

Option : TECHNOLOGIE ET QUALITE DES ALIMENTS

Etude comparative de la papaïne et de la Bromélaïne comme coagulants alternatifs pour la transformation des produits laitiers : Cas du fromage du type Gouda

Par :

NGABIRANO Elie

Sous la direction :

Pr NZIGAMASABO Aloys

Mémoire présenté et défendu pour obtention d'un diplôme de Master en sciences des aliments et nutrition

Option : Technologie et qualité des aliments

Bujumbura, Juillet 2025

MEMBRES DU JURY

Président du Jury :

Pr NIYOYANKANA Bonaventure

Secrétaire :

Dr MUGANI Richard

Membre du Jury :

Pr NZIGAMASABO Aloys

DEDICACES

A mes chers parents ;

A ma chère famille ;

A mes frères et Sœurs ;

A tous mes amis et connaissances,

Je dédie ce travail.

REMERCIEMENTS

Au bout de ce travail, il nous est agréable de présenter nos sentiments de reconnaissance à tous ceux qui ont contribué au terme de ce travail, nous tenons à remercier le Grand Dieu, l'Architecte de l'Univers, pour le fait qu'il nous a guidé chaque jour dans notre vie.

J'adresse mes sincères remerciements aux conseillers scientifiques, plus particulièrement au Pr NZIGAMASABO Aloys, professeur de l'université du Burundi, Faculté d'Agronomie et de Bio ingénierie et aussi professeur à EANSI, pour leur patience, leurs fructueux conseils et leur contribution majeure en dirigeant ce travail.

Je remercie sincèrement au directeur- Gérant de la CDLK Abbé NZISABIRA Prosper du bon accueil de la structure qu'il coordonne et sa contribution dans la réalisation de ce travail.

Mes remerciements distingués sont adressés à tous les membres au service de la CDLK qui nous ont accompagné et soutenu dans les différentes séances de réalisation de ce travail plus particulièrement au chef du service laiterie-fromagerie Monsieur SIBONIYO Ferdinand qui nous a aidé lors de l'exécution pratique du présent travail.

Je tiens à remercier également tous les professeurs de l'EANSI qui nous ont formé et guidé durant notre cursus de formation de ce master que ce travail soit pour eux le fruit de leur patience et de leurs sacrifices mener à bon fin de ce modeste travail.

En fin, nous ne pouvons pas terminer sans penser à nos familles, ami(e)s et les connaissances pour leurs encouragements et attachements tout au long de cette aventure. Puissent-ils sentir ce paragraphe comme le reflet de notre profonde gratitude pour la réalisation du présent travail.

RESUME

Les protéines sont largement essentielles sur le plan nutritionnel, économique et socio-culturel et surtout présentes dans le lait des ruminants, dont la transformation en fromage permet une meilleure conservation. La présure, enzyme coagulante extraite de l'estomac de jeunes ruminants, principalement des veaux nourris aux laits est utilisée le plus souvent dans la transformation fromagère et le rend coûteuse, limitée en disponibilité.

L'étude vise à comparer le caractère coagulant des enzymes naturelles la papaïne et la bromélaïne sur le lait de vache, avec des résultats variables selon la quantité utilisée et les fromages transformés conservent leurs qualités organoleptiques pendant 9 mois d'affinage et plus. Le fromage FP1, coagulé avec 1 g de feuilles de papayer, n'a pas montré de caillé, tandis qu'à 3 g, un caillé adéquat s'est formé. Le fromage FA2, élaboré avec 40 ml de jus d'ananas, a été mieux évalué en goût, odeur et couleur que celui coagulé avec 3 g de feuilles de papayer. Une faible dose d'enzymes est recommandée pour préserver la qualité organoleptique du fromage. Bien que la papaïne ait une activité protéolytique supérieure, la bromélaïne est préférée pour ses qualités sensorielles des produits fabriqués. Cette étude constitue une première sur la fabrication de fromage gouda à partir de coagulants naturels, bien que des défis subsistent concernant l'extraction des enzymes et la texture du produit final.

L'analyse microbiologique révèle l'absence de staphylocoques et de coliformes nocifs, mais une forte présence de flore lactique et une légère contamination par levures et moisissures. Les conditions d'affinage influencent le développement microbien.

Mots clés : Lait de ruminants, Enzyme coagulant, Qualité organoleptique, Flore lactique, Activité protéolytique.

ABSTRACT

Proteins are essential nutritionally, economically, and sociocultural, and are especially present in ruminant milk, whose processing into cheese allows for better preservation. Rennet, a coagulating enzyme extracted from the stomachs of young ruminants, mainly milk-fed calves, is most often used in cheese processing, making it expensive and limited in availability.

The study demonstrates that papain and bromelain can coagulate cow's milk, with variable results depending on the quantity used, and the processed cheeses retain their organoleptic qualities for 9 months of ripening and more. FP1 cheese, coagulated with 1 g of papaya leaves, did not form a curd, while at 3 g, an adequate curd formed. FA2 cheese, made with 40 ml of pineapple juice, was rated higher in taste, odor, and color than the one coagulated with 3 g of papaya leaves. A low dose of enzymes is recommended to preserve the organoleptic quality of the cheese. Although papain has superior proteolytic activity, bromelain is preferred for its sensory qualities. This study represents the first investigation into the production of Gouda cheese using natural coagulants, although challenges remain regarding enzyme extraction and the texture of the final product.

Microbiological analysis reveals the absence of harmful staphylococci and coliforms, but a high presence of lactic acid flora and slight contamination by yeasts and molds. Ripening conditions influence microbial growth.

Keywords: rennet, ruminant milk, coagulation enzyme, organoleptic quality, lactic flore, proteolytic activity.

TABLE DES MATIERES

MEMBRES DU JURY i
DEDICACES ii
REMERCIEMENTS iii
RESUME iv
ABSTRACT v
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATION viii
LISTE DES TABLEAUX ix
LISTE DES FIGURES x
Avant-propos xi
0. Introduction Générale 1
0.1. Contexte et Problématique 1
0.2. Questions de recherche 2
0.3. Objectif du travail 2
0.4. Les Hypothèses de la Recherche 2
0.5. Intérêt du travail 3
0.6. Subdivision du travail 3
0.7. Délimitation du travail 4
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE 5
I.1. Le Lait 5
I.1.1. Définition 5
I. 1.2. La Composition du lait de vache 5
I. 1.3. Traitement thermique du lait 8
I.1.4. La Coagulation du lait 8
I.1.5. Le lactosérum 11
I. 2. Généralités sur les coagulants naturels : la Papaïne et bromélaïne 11
I.2.1. Brève description des plantes : Papayer et *Ananas comosus* 12
I.2 .2. Description des enzymes naturels : La Papaïne et bromélaïne 17
I.3. FROMAGE (Technologie fromagère) 19
I.3.1. Origine du fromage 20
I.3.2. Température d'emprésurage et de coagulation 21

I.3 .3. L'égouttage 21
I.3.4. Le salage 21
I.3.5. L'affinage 22
I.4. Les principaux enzymes coagulants le lait de vache 22
I.4.1. Les enzymes d'origine animale 22
I.4.2. Les enzymes d'origine végétales 24
I.4.3. L'influence du pH 24
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES 26
II.1 Matériels 26
II.1 .1. Le lait 26
II.1 .2. Les coagulants naturels 26
II.1 .3. Les ustensiles de travail 26
II.1 .4. Matériels de laboratoire 26
II.2. METHODES 27
II.2.1. Fabrication des fromages 27
II.2.2. Préparation des coagulants naturels : Bromélaïne et papaïne 28
II. 3. Analyses microbiologiques des fromages obtenus 29
II .3.1. Préparation des échantillons 29
II .3.2. Germes recherchés 29
CHAPITRE III : PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS 31
III.1. Présentation des résultats 31
III. 1.1. Conservabilité pendant l'affinage 31
III. 1.2. Analyse statistique du profil sensoriel 34
III.1.3. Influence de la quantité des coagulants naturels sur le poids des fromages obtenus 37
III.1.4. Caractéristiques microbiologiques des fromages obtenus 38
III.2. Discussions des résultats. 39
III.2.1. Effet des enzymes naturelles la papaïne et la bromélaïne sur la coagulation du lait 39
III.2.2. Caractéristiques microbiologiques des fromages obtenus 40
Conclusion générale et suggestions 43
Références 45

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATION

EANSI : East African Nutritional sciences institute

CDLK : Coopérative de Développement Laitier de kiryama

CNTA : Centre National de la Technologie Alimentaire

p^H : Potentiel d'hydrogène

FAO : Food and Agriculture Organisation

MG : Matière grasses

ISO : International organization for standardization

VRBL : Violet Red bile Lactose Agar

MRS : Man Regossa Sharpe

IDF : International Dairy Federation

FP1 : Fromage avec 1g de feuilles de papayer pour un litre de lait

FP2 : Fromage avec 2g de feuilles de papayer pour un litre de lait

FP3 : Fromage avec 3g de feuilles de papayer pour un litre de lait

FA1 : Fromage avec 54g de jus *d'Ananas comosus* pour un litre de lait

FA2 : Fromage avec 40g de jus *d'Ananas comosus* pour un litre de lait

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : La Composition globale du lait de vache (Vignola ,2002) 5
Tableau 2 : variation de la composition du lait en fonction de l'espèce (FATIHA, 2015) 6
Tableau 3 : Constituant lipidique du lait de vache. (FAO, 1998)(Amine, 2021) 7
Tableau 4: Récapitulatif de la classification des Caricacées (Reveal & Chase, 2011). 13
Tableau 5 : Tableau récapitulatif de la composition des feuilles de papayer pour cent grammes de matière fraîche (FABERT, 2011) 14
Tableau 6 : Valeur nutritionnelle de l'ananas, selon le Département américain de l'Agriculture ((USDA, 2016) (Wali, 2018) 16
Tableau 7 : Evaluation organoleptique des fromages obtenus : Après 3mois d'affinage..... 32
Tableau 8 : Evaluation organoleptique des fromages obtenus : Après 6mois d'affinage..... 32
Tableau 9: Evaluation organoleptique des fromages obtenus : Après 9mois d'affinage..... 32
Tableau 10: Résultats des analyses statistiques après 3mois d'affinage..... 34
Tableau 11 : Résultats des analyses statistiques après 6mois d'affinage..... 35
Tableau 12 : Résultats des analyses statistiques après 9mois d'affinage..... 36
Tableau 13 : Poids du fromage après 3mois d'affinage..... 37
Tableau 14 : Niveau de contamination des fromages par les germes recherchés après dénombrement..... 38

LISTE DES FIGURES

Figure1.1. : Représentation de la micelle de caséine bovine selon le modèle de SCHMIDT (1980) (FATIHA, 2015) ---------- 10
Figure 1. 2: plante : Carica papaya ---------- 13
Figure1. 3: Feuilles de Papayer (FABERT, 2011) ---------- 15
Figure1. 4 : Ananas comosus ---------- 16
Figure1. 5 : Structure de la papaïne (résumé de la structure protéique)(Amri & Mamboya, 2012) ---------- 17
Figure1. 6 : Fromage fabriqué avec la Papaïne ---------- 18
Figure1. 7 : Quatrième compartiment de l'estomac des vaches (source de la présure) ---------- 23
Figure1.8 : Fromage fabriqué avec la bromélaïne ---------- 24

Avant-propos

Ce mémoire comporte trois chapitres dont l'un explique la composition et les généralités sur les matières premières utilisées, l'autre sur la technologie fromagère et les matériels utilisés, ainsi que la présentation et discussion des résultats obtenus. L'ensemble de ce travail de recherche, incluant la réalisation des manipulations en laboratoire, l'analyse des résultats obtenus et la rédaction du mémoire, a été supervisé sous la direction du Pr. Aloys NZIGAMASABO.

Le premier chapitre, intitulé « REVUE DE LA LITTERATURE », est un document de référence sur les généralités sur le lait, les coagulants naturels : la Papaïne et bromélaïne, ainsi que sur la Technologie fromagère. Ce chapitre détaille la composition des matières premières utilisées, sans oublier leurs comparaisons sur le caractère coagulants de ces deux enzymes naturels,

Le second chapitre présente la « Méthodologie » de l'étude dans son ensemble, il décrit en respectant l'optimisation des paramètres de fabrication, les techniques utilisées pour fabriquer les fromages de types gouda en utilisant les coagulants végétaux, les diagrammes de fabrication de ce fromage et les analyses microbiologiques pour vérifier les niveaux de contamination des produits obtenus, Au début de la rédaction de ce travail l'hypothèse de recherche, le but, les objectifs généraux et spécifiques de l'étude sont présentés. Ainsi que la détermination de l'impact de la conservabilité des fromages fabriqués pendant une longue durée durant la période d'affinage.

Le troisième chapitre « PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS » consiste principalement à la comparaison des fromages fabriqués en utilisant les différentes quantités de coagulants naturels à savoir la papaïne et la bromélaïne ainsi que leur qualité organoleptique, microbiologique et la dose la plus optimale de ces coagulants.

Cet ouvrage se termine par une conclusion générale mettant en lien les résultats des différents chapitres et confirmant l'atteinte des objectifs de recherche.

0. Introduction Générale

0.1. Contexte et Problématique

Les protéines jouent un rôle important non seulement sur le plan nutritionnel, mais également sur le plan économique et socio- culturel. Le lait des ruminants domestiques constitue l'une des sources de protéines les plus accessibles. La meilleure méthode de conservation de ces protéines, simple, pendant une longue durée est de le transformer en fromage.

La fabrication de la plupart des fromages est basée sur la coagulation enzymatique du lait. Pour le faire, la présure, une enzyme spécifique et coûteuse, extraite à partir de la caillette de veaux nourris au lait, est utilisée comme l'agent coagulant dans le monde en technologie fromagère. La présure d'origine animale ne couvre qu'approximativement 30% de la production fromagère à l'échelle mondiale car la disponibilité des caillettes de veaux de lait devient limitée et par conséquent rend la présure plus coûteuse (Gasteiz, 2021) .

C'est pour cette raison qu'après avoir lu les propriétés protéolytiques que présente la présure, on a constaté que certains végétaux comme *Carica papaya* et les fruits d*'Ananas comosus* possèdent eux aussi des enzymes protéolytiques (la papaïne et la bromélaïne). Les protéases végétales appartenant au groupe de protéases de la cystéine (papaïne, bromélaïne, ficine) possèdent eux aussi des propriétés protéolytiques et peuvent être utilisées pour la coagulation du lait dans la production de fromage et présentent des faibles coûts de production et des caractéristiques organoleptiques élevées du produit final(Gore & Michaud, 2019)

Face à cette situation, l'EANSI, une institution sous régional en sciences de la nutrition, dans son programme de recherche et développement a tenté de trouver des alternatives en nous associant une étude intitulée « Etude comparative de la papaïne et la Bromélaïne comme coagulants alternatifs pour la transformation des produits laitiers : cas du fromage de type Gouda ».Cette comparaison nous a fourni des résultats sur le caractère coagulant de ces deux enzymes naturelles et leurs influences sur la conservabilité des produits obtenus, ainsi que la dose la plus optimale des coagulants qui n'endommagera pas les qualités organoleptiques du produit finis (le Fromage).

0.2. Questions de recherche

1. Quelle est l'influence des enzymes naturelles, la papaïne et la bromélaïne, sur la coagulation du lait de vache et la conservation du produit obtenu lors de la production du fromage du type gouda ?

2. Quelle est la dose la plus optimale des enzymes naturelles, la papaïne et la bromélaïne, pouvant être utilisée pour préserver la qualité organoleptique des fromages obtenus ?

0.3. Objectif du travail

❖ L'objectif global de l'étude :

Comparer l'efficacité des enzymes naturelles, la papaïne et bromélaïne, provenant respectivement des feuilles de *Carica papaya* et les fruits d *'Ananas comosus* dans la fabrication d'un fromage du type gouda.

Etudier le caractère coagulant des enzymes naturelles la papaïne et la bromélaïne et leurs influences sur la conservation du produit obtenu, lors de la fabrication du fromage du type gouda (cas des feuilles de *Carica papaya* et les fruits *d'Ananas comosus*)

❖ Les objectifs spécifiques sont :

1. Fabriquer du fromage avec les coagulants naturels la papaïne et la bromélaïne ;

2. Déterminer la dose la plus optimale pour ces coagulants naturels

3. Comparer les qualités organoleptiques en respectant une période de conservabilité fixe des fromages obtenus comme produits finis.

4. Analyse microbiologiques des fromages obtenus.

0.4. Les Hypothèses de la Recherche

1. Avec une même quantité de coagulant, la papaïne est plus efficace pour la coagulation du lait de vache et la formation du caillé que la bromélaïne.

2. La dose optimale de coagulant est la plus grande pour la papaïne par rapport à celle de la bromélaïne.

3. Les fromages les plus délicieux, de longue durée de conservabilité et de bonnes qualités organoleptiques sont ceux coagulés par la bromélaïne par rapport à ceux coagulés par la papaïne.

0.5. Intérêt du travail

La production de fromage implique généralement quatre phases clés : la coagulation, l'égouttage, le salage et l'affinage. La première étape (la coagulation) nécessite de la présure, un coagulant dérivé de la caillette des veaux nourris au lait et provenant du quatrième compartiment de leur estomac, cela limite la disponibilité des fromages et les rend coûteuse.

L'utilisation de coagulants végétaux tels que la papaïne et la bromélaïne pour coaguler le lait ne sera pas seulement bénéfique d'un point de vue économique, mais elle apportera également une contribution significative à la sécurité alimentaire, en assurant un approvisionnement durable en protéines animales conservables sur une longue période**.**

Ainsi la présure est généralement extraite de l'estomac de jeunes ruminants, principalement des veaux. Ce processus suscite des inquiétudes relatives au traitement des animaux, en particulier les conditions d'élevage et d'abattage, les amateurs de fromage peuvent se poser des questions sur le traitement réservé à ces jeunes animaux tout au long de leur existence. Ces alternatives offrent la possibilité de fabriquer du fromage sans nuire aux jeunes ruminants, répondant ainsi à une demande croissante pour des produits éthiques.

0.6. Subdivision du travail

A cote de l’introduction, la conclusion et quelques recommandations (suggestions et perspectives d’avenir) ce travail comprend trois chapitres, le premier chapitre porte sur la revue de la littérature sur le lait, le fromage, papayer et *Ananas comosus* ainsi que les enzymes papaïne et Bromélaïne.

Le deuxième chapitre décrit le matériel et méthodes utilisés pour réaliser cette étude. Le troisième chapitre présente les résultats obtenus et discussion avant d’en tirer des conclusions et les recommandations.

0.7. Délimitation du travail

Notre étude s'est déroulée dans la province de BURUNGA plus précisément dans la coopérative de Développement Laitier de kiryama (CDLK en sigle) sis à kiryama en commune Matana de cette province là où la production fromagère est abondante. Les feuilles de *Carica papaya* ont été trouvées sur la colline Kiryama et *l'Ananas comosus* sur le petit marché de cette colline. Ce travail a été mené sur une période de neuf mois en date du 24/07/2024 jusqu'au 24/04/2025

L'analyse microbiologique des fromages obtenus a été réalisée au niveau du laboratoire de CNTA en date du 31/01/2025 au 03/02/2025.

CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE

I.1. Le Lait

I.1.1. Définition

Le lait est un aliment de couleur blanchâtre produit par les cellules sécrétrices des glandes mammaires des mammifères femelles, il est destiné à l'alimentation des nourrissons, il est riche en protéines et en glucides, le lait sécrété dans les premiers jours après la parturition s'appelle le colostrum. De nombreux produits laitiers sont fabriqués à partir du lait, Ses composants sont utilisés en ingrédient dans les produits industriels (Vilain, 2010).

Le lait est la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou de plusieurs traites sans rien y ajouter ou en soustraire, destinée à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur, c'est un liquide opaque blanc, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en β carotènes, il a une odeur peu marquée, mais caractéristique, Son goût, variable selon les espèces animales est agréable et douceâtre**,** en 1909 le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini par le Congrès International de la Répression des Fraudes, comme étant le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum (Kalandi *et al*., 2015)**.**

I. 1.2. La Composition du lait de vache

La capacité d'un lait à être transformé en fromage dépend fortement de la composition de ses éléments, en effet, plus la matière sèche totale du lait est élevée, plus il est riche, ce qui améliore son rendement en fromage. D'après Vignola (2002), le lait de vache présente une composition riche en divers nutriments indispensables. Le tableau suivant présente un résumé des composants majeurs du lait de vache ainsi que leur proportion moyenne.

Tableau 1 : La Composition globale du lait de vache (Vignola ,2002)

Constituants majeurs	**Variations limites (%)**	**Valeurs moyennes (%)**
Eau	85,5 -89,5	87,6
Matières grasses	2,4-5,5	3,7
Protides	2,9-5,0	3,2
Glucides	3,6-5,5	4,6
Minéraux	0,7-0,9	0,8
Constituants mineurs	Vitamines, enzymes, pigments	Cellules diverses, Gaz

En général, le lait est composé de quatre types de constituants essentiels :

- ✓ Les lipides : qui sont principalement constitués de graisses ordinaires (triglycérides),
- ✓ Les protides : caséine, albumine et globuline
- ✓ Les glucides : principalement le lactose et
- ✓ Les sels minéraux.

La composition du lait peut varier en fonction de plusieurs facteurs liés aux animaux, notamment, la race, les périodes de lactation, l'alimentation, la saison, l'âge et l'espèce (FATIHA, 2015). D'après FATIHA (2015), les proportions de matières grasses, de protéines, de glucides et minéraux varient non seulement d'une espèce à l'autre, mais aussi en fonction de paramètres comme la nutrition et le milieu environnant.

Tableau 2 : variation de la composition du lait en fonction de l'espèce (FATIHA, 2015)

Animaux	**Eau (%)**	**MG (%)**	**Protéines (%)**	**Glucides (%)**	**Minéraux (%)**
Vache	87,5	3,7	3,2	4,6	0,8
Chèvre	87,0	3,8	2,9	4,4	0, 9
Brebis	81,5	7,4	5,3	4,8	1,0
Chamelle	87,6	5,4	3,0	3,3	0,7
Jument (F. cheval)	88,9	1,9	2,5	6,2	0,5

I.1.2.1. La matière grasse du lait de vache

La matière grasse du lait est principalement constituée de triglycérides, qui se présentent sous forme de gouttelettes entourées d'une membrane interfaciale composée de phospholipides et de protéines formant les globules gras (Ruiz-Sala *et al*., 1996).

Ces globules gras varient en taille de 0,1 à 10 µm, avec une moyenne d'environ 3,4 µm, la membrane interfaciale joue un rôle clé dans la stabilisation des globules gras, formant ainsi une émulsion avec la phase aqueuse du lait (Doudies, 2019)

Comme chez tous les mammifères, la composition en acides gras du lait de vache est influencée par divers facteurs tels que :

- ✓ L'alimentation de la vache,
- ✓ La race,
- ✓ La saison et la région géographique

La composition en lipides du lait de vache est un élément crucial qui affecte ses caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques. D'après les recherches de la FAO (1998) et Amine 2021, le lait de vache se caractérise par une variété d'acides gras qui ont un impact crucial sur la qualité des produits dérivés du lait.

Tableau 3 : Constituant lipidique du lait de vache. (FAO, 1998)(Amine, 2021)

Constituants lipidiques	**Proportions%**
Triglycérides	96-98
Diglycérides	0,3-1,6
Monoglycérides	0,0-0,1
Phospholipides	0,2-1,0
Cérébrosides	0,0-0,08
Stéroïdes	0,2-0,4
Acides gras libres	0,1-0,4

I.1.2.2. Les protéines du lait de vache

Le lait de vache, ainsi que celui d'autres espèces comme la bufflonne, contient deux groupes de protéines distincts :

- ✓ Les para-caséines : qui sont des phosphoprotéines insolubles à un pH de 4,6, et
- ✓ Les protéines du lactosérum (solubles),

Environ 80 % de l'azote total dans le lait de vache est constitué de caséine, composée de quatre protéines principales : alpha S1, alpha S2, bêta (β) et kappa (κ), dans des proportions respectives 40 :10 :35 :12, ces caséines sont toutes phosphorylées et, en raison de leur concentration élevée

en phosphate, les caséines alpha S1, alpha S2 et β forment des liaisons solides avec le Ca2+, ce qui entraîne leur précipitation (Aktayeva *et al*., 2018)**.**

Toutefois, la caséine κ, qui ne renferme qu'un seul phosphate, présente une capacité de liaison au calcium diminuée et demeure plus soluble à des concentrations élevées d'ions Ca2+, la caséine κ possède également la capacité de stabiliser les caséines α-S1, α-S2 et β par des interactions hydrophobes, ce qui permet de les maintenir en solution dans un rapport supérieur à dix fois son poids, ce qui empêche leur précipitation en formant des agrégats colloïdaux grossiers (Aktayeva *et al*., 2018)**.**

I. 1.3. Traitement thermique du lait

L'application d'un traitement thermique entraîne une diminution du pH en raison de trois réactions (Belletti *et al*., 2009) :

- ✓ L'oxydation thermique du lactose en acides organiques, qui contribue à 50 % de cette baisse,
- ✓ L'hydrolyse du phosphate organique (phosphosérines), responsable de 30 %, et enfin
- ✓ La précipitation du phosphate de calcium tricalcique, qui libère simultanément des ions H+, représentant 20 % de l'abaissement du pH**.**

La stabilité thermique exceptionnelle des principales protéines du lait, notamment les caséines, permet de réaliser des traitements thermiques intenses sur de nombreux produits laitiers (Phadungath, 2005).

I.1.4. La Coagulation du lait

La coagulation du lait consiste à déstabiliser les micelles du caséine pour les regrouper dans le réseau tridimensionnel appelé « Gel » ou « Coagulum » (Lucey *et al*., 2003)

Il existe trois processus cinétiques dans la coagulation du lait :

I.1.4.1. L’hydrolyse enzymatique de la caséine :

La coagulation du lait est caractérisée par l'hydrolyse sélective des κ-caséines, qui conduit à la solidification de la caséine et à la formation de caillé, en général, l'activité de coagulation des extraits végétaux est plus lente que celle obtenue à partir de la présure animale, mais les enzymes de coagulation d'origine végétale se caractérisent par une activité protéolytique élevée contre les

caséines du lait, qui génère des peptides capables d'affecter la texture du fromage et de contribuer au développement d'une saveur amère (Pacifico *et al.*, 2024).

La coagulation induite par l'enzyme présure, se déroule en trois phases (Touatia, 2017) :

- ✓ La première phase, enzymatique, consiste en l'hydrolyse spécifique de la caséine κ, notamment à la liaison entre la phénylalanine et la méthionine (PHE105-MET106), ce qui donne naissance à la para-caséine et au caséinomacropeptide composé de 65 acides aminés,
- ✓ La seconde phase : pendant laquelle les micelles de caséine, dont la charge est modifiée après hydrolyse de la caséine κ, s'agrègent pour former le gel appelé caillé,
- ✓ Enfin, la troisième phase consiste en l'organisation et la réticulation du gel, impliquant des liaisons intermoléculaires, et est connue sous le nom de phase de durcissement en fromagerie**.**

I.1.4.2. La floculation des micelles de caséine

Il est généralement reconnu que les caséines κ sont principalement présentes à la surface des micelles, avec une partie hydrophile à l'extrémité C-terminale qui s'étend dans la phase aqueuse du lait, portant des charges négatives qui empêchent l'agglomération des micelles en raison de leur répulsion mutuelle, lorsque 80% des caséines κ qui portent ces charges sont coupées, cela constitue le point de floculation, grâce à des mécanismes de répulsion électrostatique et stérique, cette région hydrophile, d'une épaisseur de 5 à 10 nm, joue un rôle essentiel dans la stabilisation des micelles de caséines(de Kruif *et al*, 1996)

La micelle de caséine bovine constitue une structure complexe qui est essentielle à la stabilité et au fonctionnement du lait. D'après le modèle de Schmidt proposé en 1980 et décrit par Mouloud et ses collaborateurs (2015), cette micelle est formée de diverses fractions de caséine, agencées pour maximiser les caractéristiques physico-chimiques du lait.

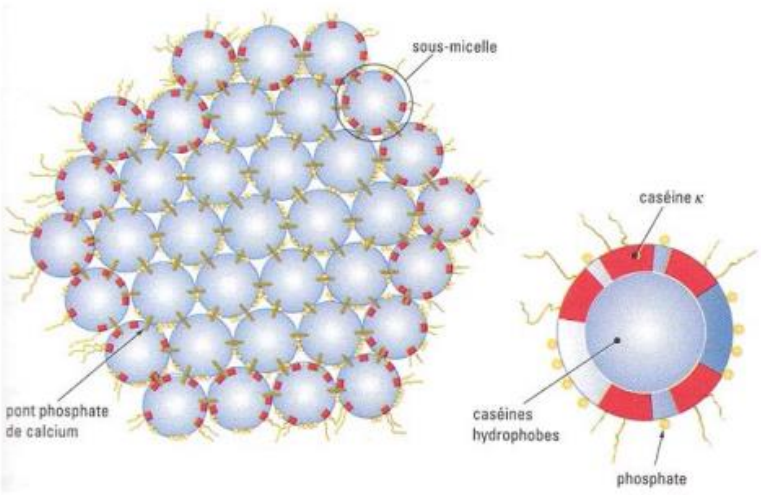


Figure1.1. : Représentation de la micelle de caséine bovine selon le modèle de SCHMIDT (1980) (FATIHA, 2015)

À l'heure actuelle, les micelles sont composées de sous-micelles, qui regroupent entre 10 et 100 molécules de caséines suivant le modèle actuel. La connexion entre ces sous-micelles est assurée par des ponts de phosphate de calcium. Les sous-micelles ont une composition différente en fonction de leur position : au centre de la micelle, la concentration de caséines β et αs1 est plus élevée, formant ainsi un cœur hydrophobe, tandis que la partie externe, plus hydrophile, est principalement constituée de caséines αs1, αs2 et κ) (Filion, 2006)

Les micelles de caséine sont responsables de l'aspect blanc turbide du lait et sont sécrétées par l'appareil de Golgi des glandes mammaires de chaque espèce de mammifères (Doudies, 2019).

I.1.4.3. La formation et le développement d'un gel de lait réticulé

La coagulation du lait joue un rôle essentiel dans la production du fromage, cette étape permet de convertir le lait liquide en un gel, appelé coagulum ou caillé, qui, après plusieurs étapes de transformation, donnera lieu à la production du fromage. La coagulation est provoquée par l'incorporation d'un coagulant à un taux spécifique dans le lait, tout cela dans des conditions de température et de pH contrôlées.

Les 4 caséines principales (αs1-, αs2-, β- et κ-CN) sont regroupées dans des structures globulaires connues sous le nom de micelles de caséine, ces micelles, stabilisées à la surface par

la région C-terminale de κ-CN, constituent le substrat de la coagulation du lait, un processus qui débute par l'hydrolyse de κ-CN par la chymosine de présure (Caroli *et al*., 2009)**.**

Lorsqu' environ 80% du κ-CN est hydrolysé, cela entraîne l'agrégation des micelles de para caséine en présence de calcium ionique (coagulation) et la formation d'un réticulum, qui représente la phase soluble et les globules de graisse , l'augmentation du nombre d'interactions secondaires dans le caillé entraîne une contraction (synérèse) et une expulsion partielle du lactosérum (Amalfitano *et al*., 2019).

I.1.5. Le lactosérum

Le lactosérum est un coproduit de l'industrie fromagère et de la production de caséinates, anciennement appelé petit lait (Amine, 2021). La découverte de ce produit remonte à plus de 3000 ans avant Jésus-Christ. Lorsque des Bédouins transportaient du lait, l'acidification et la coagulation par la chaleur créaient une phase liquide au-dessus du caillé de lait (le sérum) (Szpendowski et *al*., 2006)

Il s'agit d'un liquide vert translucide qui se détache du caillé après la coagulation du lait pendant la fabrication du fromage, on obtient environ neuf litres de lactosérum à partir des dix litres de lait nécessaires pour produire un kilogramme de fromage. Grâce à la nouvelle technologie, le lactosérum et les fractions de lactosérum sont devenus des ingrédients alimentaires très importants et polyvalents (Woo, 2002).

Le lactosérum est un liquide jaune verdâtre riche en nutriments, qui représente 90 % du volume initial de lait utilisé en fromagerie, Il contient environ 20 % de protéines de lait et est très susceptible à la fermentation. En effet, il représente entre 85 et 90 % du volume de lait utilisé (Raphalen, 1983).De plus, il renferme près de 50 % des nutriments du lait d'origine (protéines solubles, lactose, vitamines et minéraux(Yasmine, 2019).

I. 2. Généralités sur les coagulants naturels : la Papaïne et bromélaïne

Toutes les enzymes de coagulation du lait d'origine animale en particulier le lait de vache largement utilisées dans la fabrication du fromage appartiennent aux protéases acides, montrant une activité maximale dans un environnement de P^H acide. Ces enzymes végétales ont un P^H optimal de 5 à 7 pour la papaïne et de 6,0 à 6,8 pour la bromélaïne et une température optimale de 50 à 65 °C.

L'agent de coagulation pour le lait de vache comme la papaïne a une spécificité similaire à la présure. Il se caractérise par une teneur élevée en acides aminés dicarboxyliques et une faible teneur en acides aminés basiques. On les appelle également protéases aspartiques, car leur centre actif contient deux résidus d'aspartate (Gore & Michaud, 2019)

I.2.1. Brève description des plantes : Papayer et *Ananas comosus*

I.2 .1.1. PAPAYER (*Carica papaya)*

Carica papaya est une plante tropicale et herbacée succulente, possédant des tiges autoportantes qui poussent dans tous les pays tropicaux et dans de nombreuses régions subtropicales du monde, dans laquelle on extrait la papaïne. Son fruit la papaye est disponible presque partout dans le monde sans limitation due à la saison .La papaïne est fabriquée à partir du latex du papayer et est capable de décomposer les molécules organiques constituées d'acides aminés, appelées polypeptides, et joue ainsi un rôle crucial dans divers processus biologiques dans les états physiologiques et pathologiques, la conception de médicaments (Amri & Mamboya, 2012).

Papayer (*Carica papaya*) appartient à la famille des caricaceae avec plus de 22 espèces tandis qu'un seul membre du genre carica est cultivé comme arbre fruitier (Oyeleke, 2013).

La papaïne : une protéase présente dans le latex de la papaye du *Carica papaya* a un mécanisme de digestion plus efficace que les enzymes pancréatiques. Elle est présente en grande quantité dans presque toutes les parties de la plante (*Carica papaya*), comme le fruit, la tige, les feuilles, la peau du fruit et les graines (Müller *et al*., 2016).

Il s'agit d'une plante inestimable qui est utilisée dans toute l'Afrique tropicale, pratiquement chaque partie de la plante a une valeur économique et son utilisation varie en fonction du besoin. Les fruits sont populairement utilisés comme dessert ou transformés en confiture, en purée ou en vin, tandis que les fruits verts sont cuits comme légumes (Nwofia *et al*., 2012).

Figure 1. 2: plante : *Carica papaya*



Tableau 4: Récapitulatif de la classification des Caricacées (Reveal & Chase, 2011).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Eu-Dicotylédones
Division	Rosides
Classe	Malvides
Ordre	Brassicales
Famille	Caricaceae

I.2 .1.2. La composition des feuilles de papayer

Les feuilles du Papayer se présentent sous la forme d'un bouquet terminal à l'extrémité du tronc, elles peuvent atteindre jusqu'à soixante centimètres de longueur, la feuille possède un long pédoncule pouvant atteindre jusqu'à un mètre, située juste avant la feuille proprement dite.

Elles sont divisées en sept ou neuf lobes, leur conférant une apparence semblable à celle d'une main ou d'une palme.

On connaît les feuilles de papayer pour leur forte teneur en nutriments et leurs vertus bénéfiques pour la santé. Leur composition variée en vitamines, minéraux et autres composés bioactifs en fait un aliment précieux. Pour 100 grammes de matière fraîche, le tableau suivant résume la valeur nutritionnelle des feuilles de papaye :

Tableau 5 : Tableau récapitulatif de la composition des feuilles de papayer pour cent grammes de matière fraîche (FABERT, 2011)

Composantes	Feuille%
Calories (cal)	74
Eau (g)	77,5
Protéines (g)	7
Graisses (g)	2
Carbohydrates (g)	11,3
Fibres (g)	1,8
Cendres (g)	2,2
Calcium (mg)	344
Phosphore (mg)	142
Fer (mg)	0,8
Sodium (mg)	16
Potassium (mg)	652
β-carotène (µg)	11,565
Thiamine (mg)	0,09
Riboflavine (mg)	0,48
Niacine (mg)	2,1
Vitamine C (mg)	140
Vitamine E (mg)	36

Le latex des espèces tropicales de *Carica papaya* est reconnu comme une source riche en endopeptidases à cystéine, notamment la papaïne et la chymopapaïne, ces enzymes se trouvent dans les laticifères à une concentration supérieure à un millimolaire et constituent plus de quatre-vingts pour cent de la fraction enzymatique du latex (FABERT, 2011).

En général, la papaïne et la chymopapaïne présentent une similarité structurelle, car toutes deux possèdent trois liaisons disulfures et leurs sites actifs sont presque identiques (Aktayeva *et al*., 2018).

Elles sont synthétisées sous forme de précurseurs inactifs, qui se transforment en enzymes actives seulement deux minutes après la blessure de la plante, entraînant ainsi une sécrétion rapide de latex (FABERT, 2011).

Figure1. 3: Feuilles de Papayer (FABERT, 2011)



I.2 .1.2 Les ananas (*Ananas comosus*)

L'ananas (*Ananas comosus*) est un fruit tropical très apprécié pour son arôme unique et son goût sucré, il est connu comme un fruit savoureux car il contient un certain nombre de composés volatils en petites quantités et des mélanges complexes. L'ananas est également une riche source de minéraux et de vitamines qui offrent un certain nombre de bienfaits pour la santé. Il contient des quantités considérables de composés bioactifs, de fibres alimentaires, de minéraux et de nutriments. Les principaux composés bioactifs présents dans l'ananas sont les composés phénoliques et les flavonoïdes présents dans sa morphologie (Mohd Ali *et al*., 2020).

Malgré son goût sucré, l'ananas renferme de nombreux nutriments essentiels tels que le potassium, le calcium, la vitamine C, le folate, les glycanes, les fibres et d'autres éléments nutritifs (Wali, 2018).

L'ananas et ses sous-produits (pelures, noyau, tiges, taille et couronnes) sont riches en biomolécules d'intérêt, les enzymes (en particulier la bromélaïne) étant la plus connue, faisant partie du groupe des cystéines, avec de nombreuses applications industrielles à l'appui (Campos *et al*., 2020).



Figure1. 4 : ***Ananas comosus***

L'enzyme bromélaïne est une enzyme protéolytique qui peut aider à l'hydrolyse des protéines en acides aminés, en outre, l'enzyme bromélaïne peut aider dans le processus d'agglutination du lait, qui peut être utilisé dans la production de fromage. La recherche vise à comparer son caractère coagulant à celui de la papaïne pour la fabrication du fromage en utilisant l'enzyme de bromélaïne d'ananas comme coagulant naturel (Komansilan *et al*., 2024).

Tableau 6 : Valeur nutritionnelle de l'ananas, selon le Département américain de l'Agriculture ((USDA, 2016) (Wali, 2018)

Nutriment	Unité	Valeur pour 100 g
Eau	G	86
Énergie	Kcal	50
Énergie	KJ	209
Protéine	G	0.54
Lipide total	G	0.12
Glucides par différence	G	13.12
Total des sucres	G	9.85
Calcium	Mg	13
Potassium	Mg	109
Magnésium	Mg	12
Phosphore	Mg	8
Vitamine C	Mg	47.8
Niacine	Mg	0.500
Acide pantothénique	Mg	0.213

I.2 .2. Description des enzymes naturels : La Papaïne et bromélaïne

I. 2 .2. 1.Papaïne

La papaïne est une enzyme capable d'hydrolyser les protéines, c'est-à-dire de couper une longue chaîne d'acides aminés en fragments plus courts , cette action aboutit à la solubilisation des matières azotées primitivement insolubles (ANDRE, 1952).

La papaïne est une enzyme protéolytique végétale qui catalyse plusieurs types de réactions vis-à-vis du substrat (non spécifique) surtout l'hydrolyse des liaisons peptidiques de la plupart des protéines. La papaïne peut être trouvée dans différentes parties de la plante (*Carica papaya*), avec une concentration significative dans le fruit, la tige, les feuilles, la peau du fruit et les graines (Müller *et al*., 2016).

La papaïne est une enzyme endolytique de cystéine protéase végétale isolée du latex de papaye (*Carica papaya*). Elle est obtenue en coupant la peau de la papaye non mûre, puis en collectant et en séchant le latex qui s'écoule de la coupe ou en broyant les feuilles du papayer. Plus le fruit est vert, plus la papaïne est active (Amri & Mamboya, 2012).

I .2 .2. 1 .1. La structure de la papaïne

La papaïne, une enzyme protéolytique provenant du latex de la papaye, est appréciée pour sa capacité à décomposer les protéines. D'après Amri et Mamboya (2012), la structure de la papaïne est caractérisée par un agencement spécifique d'acides aminés qui confère à l'enzyme ses propriétés fonctionnelles.

Figure1. 5 : Structure de la papaïne (résumé de la structure protéique)(Amri & Mamboya, 2012)

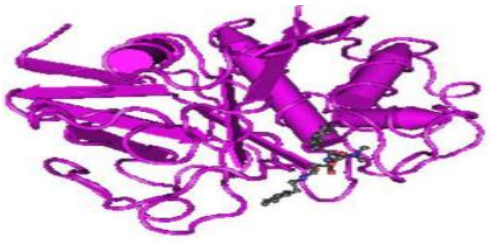
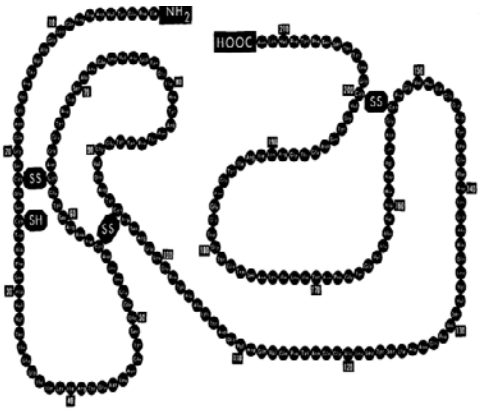


Figure 1.6 :La séquence des 212 résidus d'acides aminés de la papaïne (Drenth *et al*., 1971)



La protéine est stabilisée par trois ponts disulfures permettant à la molécule de se replier le long de ces liaisons et créant ainsi des interactions fortes entre les chaînes latérales, ce qui contribue à la stabilité de l'enzyme (Amri & Mamboya, 2012).

I. 2 .2 1.2. Le rôle et mode d'action de la papaïne en agroalimentaire

En tant qu'enzyme protéolytique, la papaïne revêt une importance cruciale dans de nombreux processus biologiques vitaux dans tous les organismes vivants. La papaïne présente une activité protéolytique étendue envers les protéines, les peptides à chaîne courte, les esters d'acides aminés et les liaisons amides et est utilisée dans les domaines de l'alimentation et de la médecine. Elle coupe préférentiellement les liaisons peptidiques impliquant les acides aminés basiques, en particulier l'arginine, la lysine et les résidus suivant la phénylalanine , la structure unique de la papaïne lui confère une fonctionnalité qui aide à comprendre le fonctionnement de cette enzyme protéolytique et qui est utile à diverses fins (Amri & Mamboya, 2012).



Figure1. 6 : Fromage fabriqué avec la Papaïne

Cette enzyme à une température optimale de 50 à 65 °C. L'agent naturel de coagulation pour le lait de vache comme la papaïne a une spécificité similaire à la présure, qui coupe les liaisons peptidiques de la caséine, et a également un coefficient catalytique similaire avec la caséine (Fernández-Lucas *et al*., 2017).

I. 2 .2. 2. Bromélaïne

I. 2 .2. 2 .1. Définition :

La bromélaïne est le terme utilisé pour désigner les enzymes protéolytiques communément associées à des endopeptidases plus spécifiques présentes dans les tissus de la famille des Broméliacées. La plante la plus importante appartenant à cette famille est l'ananas (*Ananas comosus),* la bromélaïne a été identifiée pour la première fois en 1876, mais elle n'a été complètement isolée, purifiée et caractérisée que beaucoup plus tard (Varilla *et al*., 2021).

C'est le nom donné aux principales protéases obtenues à partir du jus du fruit de l'ananas (*Ananas comosus*) y compris ses parties non utilisables telles que le noyau, la coque, la couronne et les feuilles (Vergara-álvarez et *al*., 2019)

I. 2 .2. 2 .2. Le Rôle de la bromélaïne en agroalimentaire

L'utilisation de la bromélaïne dans différents processus de l'industrie alimentaire en fait une molécule précieuse. Par exemple, elle peut être utilisé pour clarifier la bière, dégrader le gluten dans la boulangerie, attendrir la viande ou améliorer les propriétés du fromage (Campos *et al*., 2020).

La quantité de l'enzyme dans les fromages a un impact sur la couleur, l'odeur, le goût et la texture. De ce fait, plus la quantité d'enzymes est faible, plus le consommateur l'apprécie. La concentration du coagulant est prise en considération lors de l'évaluation de la qualité organoleptique. on peut ainsi obtenir des saveurs allant du sucré au légèrement sucré, en passant par l'acide, le piquant ou l'amer(Vergara-álvarez et *al*., 2019).

I.3. FROMAGE (Technologie fromagère)

Le fromage est selon la norme Codex STAN 283-1978, le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure qui peut être enrobé et dans lequel le rapport protéines de lactosérum/caséines ne dépasse pas celui du lait, on l'obtient par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de la présure ou d'autres agents coagulants appropriés et par égouttage partiel du lactosérum résultant de cette coagulation ; ou alors par emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation du lait ou des produits provenant

du lait, de façon à obtenir un produit fini ayant des caractéristiques physiques, chimiques et organoleptiques correspondant à la définition précédente (Touatia, 2017).

La transformation du lait en fromage s'effectue généralement en quatre étapes principales (Touatia, 2017):

- ✓ La coagulation,
- ✓ L'égouttage,
- ✓ Le salage et
- ✓ L'affinage,

En fonction du type de lait utilisé et des paramètres techniques appliqués à chaque étape, il est possible d'obtenir une vaste gamme de fromages (Touatia, 2017).

Le fromage est un produit que l'humanité élabore depuis des millénaires. Son existence est étroitement liée à la domestication des animaux laitiers et à la compréhension empirique des bienfaits nutritionnels du lait, la transformation du lait en fromage répond également au besoin de conserver cet aliment (Gillis & Coordonnateurs, 2018).

I.3.1. Origine du fromage

Le mot "fromage" est issu du latin "formaticus", qui signifie "former ou mouler". Les ethnologues affirment que l'homme a connu le processus de coagulation du lait depuis longtemps, comme en témoignent des moules à caillé de 5000 ans retrouvées sur les rives du lac Neuchâtel en Suisse (Moulai, 2023).

Les fromages ont été probablement produits pour la première fois accidentellement en transportant du lait dans des sacs fabriqués à partir d'estomacs de mammifères. En effet, c'était une pratique courante dans les temps anciens en Europe de l'Est et en Asie de l'Ouest, pour transporter le lait (Chahira, 1945)

I.3.1.1. La coagulation

Durant la fabrication de fromage, le partage des matières solides du lait est à peu près équivalent entre le caillé (48 %) et le lactosérum (52%) (vignola, 2002).

Lors de cette procédure, l'une des premières étapes consiste à dissocier le phosphate de calcium $Ca_3(PO_4)_2$ en réduisant le pH du lait à 6,5-5,2 et à 5,2-4,6. Le phosphate de calcium stabilise les

micelles de caséine. Lorsque de la chymosine ou d'autres enzymes de coagulation (comme la papaïne ou la bromélaïne) sont ajoutées au lait, l'hydrolyse spécifique au niveau de Phe105-Met106 de la caséine-κ expose sa surface hydrophobe, ce qui facilite l'agrégation de la caséine et la formation de caillé (Pacifico *et al*., 2024)**.**

I.3.2. Température d'emprésurage et de coagulation

La température est un facteur de l'activité enzymatique, ce qui signifie que l'efficacité de la présure dépend de la température à laquelle les processus d'emprésurage et de coagulation sont effectués. L'activité maximale de la présure se situe entre 30 et 42 °C et son action est inhibée à des températures supérieures à 55 °C (Filion, 2006).

La papaïne et la bromélaïne, qui sont des agents naturels de coagulation du lait, ont une température d'activité optimale de 50 à 65 °C, avec une spécificité similaire à celle de la présure en coupant les liaisons peptidiques de la caséine (Fernández-Lucas *et al*., 2017).La papaïne est efficace dans une variété de températures (10-90 °C)(Gore & Michaud, 2019).

I.3 .3. L'égouttage

L'égouttage du caillé assure une déshydratation partielle du gel obtenu par séparation d'une partie du lactosérum (Haythem *et al*., 2007).

L'égouttage est influencé par des facteurs directs, tels que des traitements mécaniques et thermiques, ainsi que des facteurs indirects comme l'acidification et la coagulation enzymatique. De plus, il dépend également des propriétés de la matière première, notamment la teneur en caséine, en protéines solubles et en matière grasse (Touatia, 2017).

I.3.4. Le salage

Le salage est une étape importante dans la fabrication de nombreux fromages à l'exception de la plupart des fromages frais qui ne sont généralement pas salés, ce processus vise à enrichir la pâte en chlorure de sodium dont les rôles principaux sont (Touatia, 2017):

- ✓ Compléter l'égouttage des fromages,
- ✓ Agir sur le développement des microorganismes et l'activité des enzymes,
- ✓ Apporter son goût caractéristique et ainsi que la propriété de masquer la sapidité de certaines substances apparaissant au cours de maturation du fromage.

En pratique, on distingue quatre méthodes de salage (Lamber, 1988) :

- ✓ Le salage à sec.
- ✓ L'incorporation de sel dans le caillé broyé avant le moulage.
- ✓ La dissolution du sel dans le lait avant l'emprésurage ou le mélange d'eau salée avec le lait avant la coagulation.
- ✓ Le salage en saumure du fromage déjà moulé (Méthode employée lors de la fabrication de ce fromage du type Gouda).

I.3.5. L'affinage

L'affinage désigne une étape de digestion enzymatique durant laquelle, grâce à des enzymes majoritairement produites par la flore microbienne, les composants du caillé sont décomposés. Cette transformation modifie l'apparence, la texture et la consistance de la pâte, permettant ainsi d'obtenir un produit final appelé fromage, l'affinage résulte essentiellement de trois processus biochimiques qui se déroulent simultanément (FATIHA, 2015) :

- ✓ La dégradation des protéines,
- ✓ L'hydrolyse des matières grasses et
- ✓ La fermentation du lactose

Pour le Gouda à consommer, la méthode de maturation (procédure d'affinage) visant à renforcer les propriétés gustatives et texturales dure généralement au moins 3 semaines minimum à une température variant de 10 à 17 °C, selon le niveau de maturité souhaité (Stan, 1995).

I.4. Les principaux enzymes coagulants le lait de vache

Le processus de fabrication du fromage implique la coagulation de la caséine du lait avec une enzyme de coagulation ou l'acidification avec des bactéries ou des acides. L'enzyme habituellement utilisée est la présure, mais la papaïne et la bromélaïne sont également capables de coaguler le lait de vache dans la fabrication du fromage (Sheryl & Setiadi, 2020).

I.4.1. Les enzymes d'origine animale

I.4.1.1 La présure

Différentes enzymes protéolytiques peuvent coaguler le lait, mais la présure est la plus couramment utilisée. Elle se compose de deux enzymes : la chymosine, qui hydrolyse la caséine κ, et la pepsine (Ruettimann & Ladisch, 1987).

Le processus de coagulation du lait par la présure se décompose en trois étapes (Filion, 2006):

- ✓ L'hydrolyse enzymatique,
- ✓ L'agrégation et
- ✓ La formation du gel.

Il a été démontré que, durant la coagulation enzymatique, la présure hydrolyse la caséine κ au niveau de la liaison (Phe105-Met106), ce qui entraîne une déstabilisation des micelles de caséines, ces dernières finissent par floculer, formant ainsi un gel ferme, compact et bien cohésif (Haythem *et al*., 2007).

I.4.1.2. Source de la présure

La présure utilisable pour la coagulation du lait est extraite à partir de la caillette de veaux (Quatrième compartiment de l'estomac des veaux) nourris au lait. Elle est utilisée comme l'agent coagulant dans le monde fromager, ce qui limite davantage la disponibilité de la présure et la rend plus coûteuse. L'utilisation de la papaïne et de la bromélaïne comme coagulants naturels dans la fabrication du fromage présente des avantages, tant sur le plan technique (moins coûteuse que la présure et facile à exécuter pratiquement) que nutritionnel (Gasteiz, 2021).

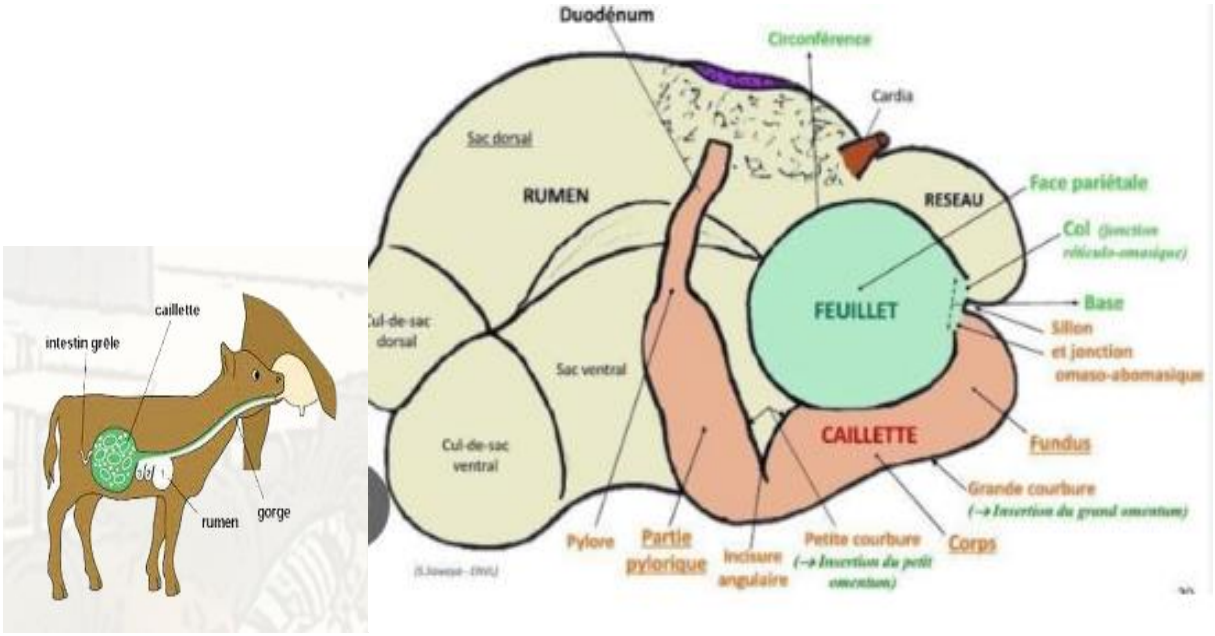


Figure1. 7 : Quatrième compartiment de l'estomac des vaches (source de la présure)

http://www.avi.malka.vocavi.fr/tal_fromage.html

I.4.2. Les enzymes d'origine végétales

Dans la préparation des fromages, l'utilisation d'enzymes végétales comme agents coagulants, en remplaçant la présure traditionnelle, a suscité beaucoup d'intérêt. Les extraits de jus de fruits et d'autres parties de la plante jouent un rôle important dans l'apparition des arômes et des textures dans les fromages (Vergara-álvarez *et al*., 2019)



Figure1.8 : Fromage fabriqué avec la bromélaïne

La concentration des enzymes influe sur la couleur, l'odeur, le goût et la texture des fromages, de sorte que plus la concentration est faible, plus l'acceptation du consommateur est grande (Vergara-álvarez *et al*., 2019).

Comme l'activité de la présure est liée à la température, la bromélaïne est aussi active à un pH de 6,0 à 8,5 et à une température de 50 à 60 °C(Gore & Michaud, 2019).

I.4.3. L'influence du pH

L'effet du pH est double. Premièrement, le pH optimal pour l'activité de la chymosine se situe entre 5,3 et 5. Lorsque le lait est acidifié à un pH de 6,3, cela améliore les propriétés de coagulation lors de l'utilisation de la présure (Renault et *al*., 2000). On observe aussi une augmentation de la vitesse d'hydrolyse enzymatique, une réduction du temps de coagulation et la formation d'un gel plus ferme (Filion, 2006).

L'acidification entraîne une neutralisation des charges de répulsion, car le nombre de charges positives augmente, cela déstabilise les micelles et favorise une attraction électrostatique accrue entre elles (Renault et *al*., 2000).

L’acidification du lait touche particulièrement les caséines, même une légère acidification modifie suffisamment la structure micellaire pour que les caséines deviennent instables à la chaleur (vignola.,2002).

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Ce chapitre présente la Méthodologie de l'étude dans son ensemble, il décrit les techniques utilisées pour fabriquer les fromages de types gouda en utilisant les coagulants végétaux, les diagrammes de fabrication de ce fromage et les analyses microbiologiques pour vérifier les niveaux de contamination des produits obtenus.

II.1 Matériels

II.1 .1. Le lait

Le processus de fabrication du fromage implique le lait comme matière première, en particulier le lait de vache. Dans notre cas, nous avons utilisé le lait de la ferme laitière CDLK de Kiryama pour être sûre de la sécurité de traitement du lait.

II.1 .2. Les coagulants naturels

Les feuilles fraîches de *Carica papaya*, le jus de l*'Ananas comosus*, pesées et broyées à des quantités différentes et filtrées ont été utilisées pour coaguler un litre de lait de vache pour chaque cas.

II.1 .3. Les ustensiles de travail

- Pour écraser les feuilles de *Carica papaya* : On a besoin de mortier et de pilon, de tamis pour filtrer le lait et broyer des feuilles de papayer,
- On a besoin de pots, de bols, de moules, d'un agitateur manuel et d'une louche, glaciaires isotherme, Thermomètre.

II.1 .4. Matériels de laboratoire

- Compteur de colonie, extracteur du jus des fruits, le thermomètre, une balance sensible, étuve,
- Béchers, Pipette graduée, Pipette Seringue graduée, Bain-marie, Autoclave, Distillateur,
- Incubateur, eau distillée, Erlenmeyer, bombonne à gaz, bec de bunsen, micropipette, frigo,
- Papier aluminium, Marqueur, tube à essai, pointe à Micropipette.
- Téflon, éprouvette graduées, agitateur des dilutions.

II.2. METHODES

II.2.1. Fabrication des fromages

Les Diagrammes de fabrication du fromage :

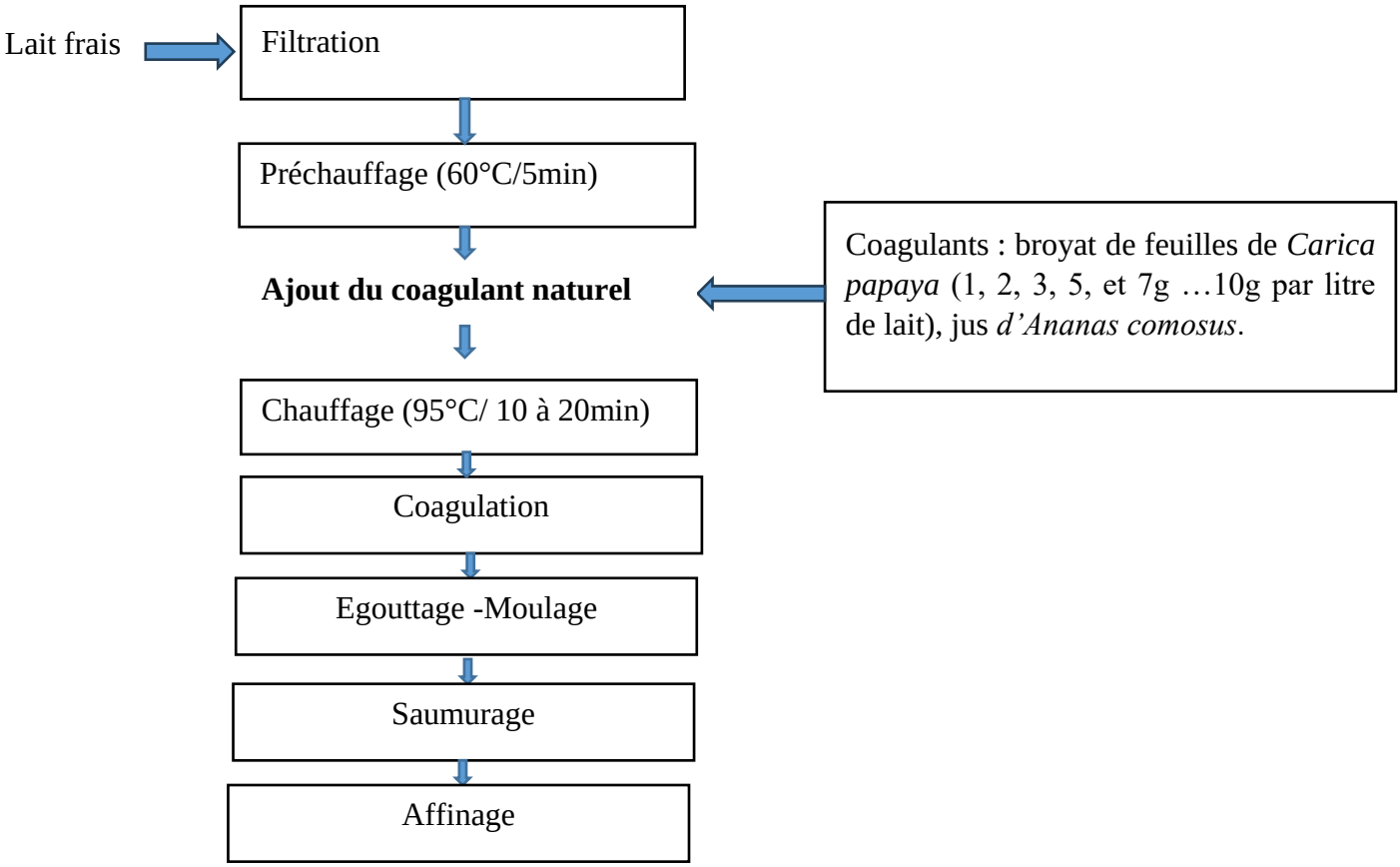
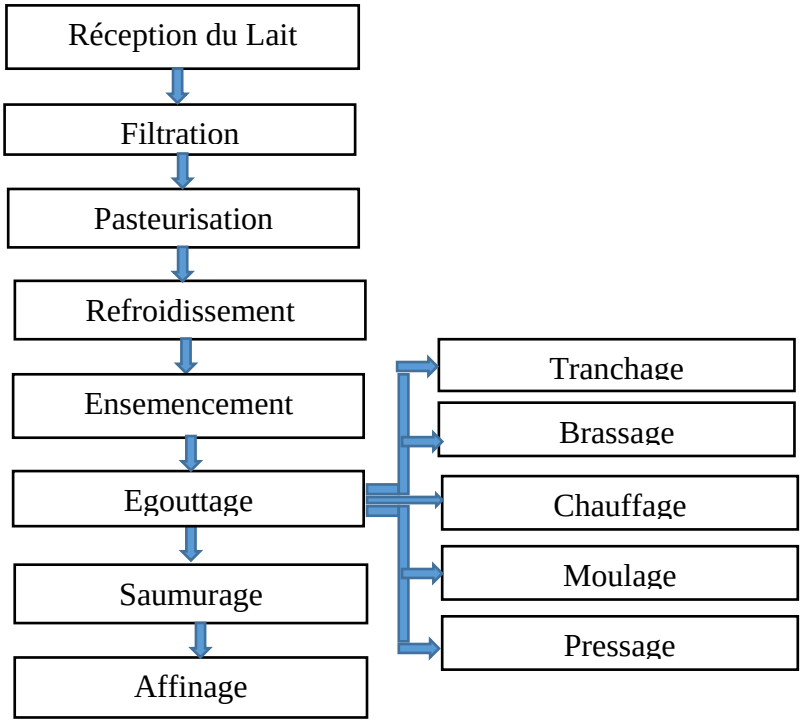


Diagramme de fabrication des fromages : type Gouda



II.2.2. Préparation des coagulants naturels : Bromélaïne et papaïne

II.2.2.1. Bromélaïne

Pour extraire le jus *d'Ananas comosus*, le fruit a été haché pour faciliter le processus de liquéfaction, puis filtré.

Autre moyen possible est l'obtention l'extrait en poudre, en effectuant la lyophilisation des petits morceaux d'ananas à -80 °C, ensuite les transformer en poudre en utilisant le moulin de laboratoire.

Lors de l'incorporation du coagulant, la quantité du jus d*'Ananas comosus* a été variée jusqu'à trouver une dose qui ne modifie les qualités organoleptiques.

II.2.2.2. La Papaïne

La préparation de la papaïne a été fait par la cueillette des feuilles de papayer, les laver, les peser puis les piler dans un mortier propre, Par après on a mélangé le broyat avec une petite quantité du lait frais, le mélange obtenu ont été filtré à l'aide d'un tamis puis ajouter directement au lait sur le feu.

Autre moyen possible est : On a mélangé le broyat avec du lait sur le feu à 60^0c et on a continué à chauffer jusqu'à atteindre 95°C pendant 10 à 20 minutes, dans ces conditions, un caillé s'est formé et est flotté au-dessus du lactosérum. L'étape suivante a consisté à retirer le caillé du feu et de le laisser reposer pendant 30 minutes.

Après ce temps de refroidissement, on a incorporé de l'eau chaude à 95°C, dans ce cas, les broyats ont flotté au-dessus du caillé et ont été récupérés à l'aide d'un tamis afin de conserver un véritable caillé apte à l'égouttage. Nous avons adopté la deuxième méthode au cours du présent travail.

Lors de l'incorporation du coagulant, la quantité des feuilles de *Carica papaya* a été variée de 1, 2, 3, 4, 5……et 10g dans un litre de lait de vache jusqu'à trouver une dose qui ne modifie les qualités organoleptiques.

II. 3. Analyses microbiologiques des fromages obtenus

II .3.1. Préparation des échantillons

Conformément à la norme de l'ISO 6887-1 des solutions mères diluées à 10^{-1} ont été préparées, ces solutions ont été obtenues en mélangeant 5 g de fromage avec 45 ml d'eau peptonée tamponnée, elles ont servi ensuite à réaliser les dilutions 10^{-2}, 10^{-3} et 10^{-5}, permettant ainsi la recherche de différents germes.

II .3.2. Germes recherchés

II .3.2.1 Coliformes totaux

- La recherche a été effectuée selon la méthode de double couche conformément à la norme de l'ISO 15214 :1998(F) dans des boîtes de Pétri vides, 1 ml des dilutions 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} a été inoculé, suivi de l'ajout d'une couche de gélose VRBL qu'on a laissé couler, homogénéiser et se solidifier. Une seconde couche de gélose a été ensuite versée et également laissée à solidifier. Les boîtes ont été incubées 37^0C pendant 24 heures.

II .3.2.2. Staphylococcus aureus

On a préparé 500 ml de milieu Baird-Parker, Cette solution est versée dans des boîtes de pétri, en répartissant environ 15 ml par boîte (ensemencement en surface).

Une fois le milieu solidifié, 0,1 ml des dilutions 10^{-1}, 10^{-2} et 10^{-3} ont été étalé sur la surface gélosée à l'aide d'un étaleur stérile, l'incubation a été lieu à 37°Cpendant 24heures, des colonies de couleur (de l'or) jaune indique la présence de Staphylococcus aureus (ISO6887_1/ 1999).

II .3.2.3. Flore lactique

Comme pour les coliformes, la méthode en double couche a été effectuée conformément à la norme de l'ISO 15214 :1998(F), Pour cela, 0,5 ml des dilutions 10^{-1}, 10^{-2} et 10^{-3} ont été inoculés sur le milieu gélosé Man Regossa Sharpe (MRS), puis l'incubation a été réalisée à 30°C pendant 72 heures. À la fin de l'incubation, des colonies de lactobacilles, qui peuvent être rondes ou lenticulaires apparaîtront.

II .3.2.4. Levures et moisissures

Selon la norme de l'ISO 6611. 2004. IDF 94 :2004 la gélose glucosée à l'oxytétracycline ont été versée dans une boîte de Pétri vide. Une fois solidifiée, les boîtes ont été inoculées en surface avec 0,1 ml des dilutions 10^{-1} ,10^{-2}, 10^{-3}, puis incubées à 30°C pendant 3 à 5 jours. La lecture permet d'apprécier les levures d'aspect velouté, ayant des formes convexes ou plates et pigmenté, souvent opaques.

CHAPITRE III : PRESENTATION ET DISCUSSION DES RESULTATS

Dans ce chapitre, les résultats obtenus lors de ce travail sont présentés et discutés. Les résultats concernent principalement la comparaison des fromages fabriqués en utilisant les différentes quantités de coagulants naturels à savoir la papaïne et la bromélaïne ainsi que leur qualité organoleptique, microbiologique et la dose la plus optimale de ces coagulants.

III.1. Présentation des résultats

L'évaluation sensorielle a été effectuée à CDLK kiryama par le biais du jury de dégustation sur les quatre paramètres à savoir la couleur, texture, goût et odeur, sur 3 échantillons des fromages fabriqués, ces paramètres ont été sélectionnées par le fait qu'ils sont les plus recherchés par les consommateurs des fromages et en particulier pour les fromages de types gouda.

Les scores des tableaux 7, 8, 9 ont été attribués en fonction des appréciations des membres du jury de dégustation sur chacun des paramètres évalués et suivant certains codes d'appréciation :

- ✓ Commencer par l'observation de l'échantillon,
- ✓ Déguster échantillon par échantillon,
- ✓ Apprécier ou pas l'échantillon,
- ✓ Rincer la bouche après chaque dégustation

III. 1.1. Conservabilité pendant l'affinage

L'impact du jus d'*Ananas comosus* et des feuilles de papayer sur la coagulation du lait de vache et la durée de conservation du fromage élaboré à partir de ces derniers a été détecté à l'aide des analyses organoleptiques avec un intervalle de 3mois entre ces évaluations pendant 9mois d'affinage, en raison de la présence d'enzymes dans les jus et latex de ces plantes fruitières, notamment la bromélaïne et la papaïne, qui peuvent modifier la texture et le goût du fromage.

Tableau 7 : Evaluation organoleptique des fromages obtenus : Après 3mois d'affinage

Paramètres	**Notes sur 3 des cinq personnes du jury de dégustation**				
	FP1	FP2	FP3	FA1	FA2
Couleur	Pas de caillé	Caillé insignifiant	1,2,1,1,1	3,1,2,2,3	3,3,2,3,3
Texture			2,2,2,1,2	2,2,1,1,2	2,1,2,2,2
Goût			2,1,1,1,1	1,2,1,1,2	3,2,2,3,3
Odeur			3,3,3,3,3	3,3,3,3,3	3,3,3,3,3

Tableau 8 : Evaluation organoleptique des fromages obtenus : Après 6mois d'affinage

Paramètres	**Notes sur 3 des cinq personnes du jury de dégustation**		
	FP3	FA1	FA2
Couleur	1,1,1,1,1	3,2,2,2,2	3,3,3,3,2
Texture	2,1,1,1,2	2,2,1,1,1	2,2,1,1,2
Goût	1,1,1,1,1	2,1,1,1,2	3,3,3,2,3
Odeur	3,3,3,2,3	3,3,3,3,3	3,3,3,3,3

Tableau 9: Evaluation organoleptique des fromages obtenus : Après 9mois d'affinage

Paramètres	**Notes sur 3 des cinq personnes du jury de dégustation**		
	FP3	FA1	FA2
Couleur	1,1,1,1,1	3,2,2,2,2	3,3,2,2,2
Texture	1,2,1,1,1	1,1,1,2,1	2,1,2,1,1
Goût	1,1,0,1,1	1,1,2,1,1	2,2,3,1,1
Odeur	3,3,3,3,3	3,3,3,3,3	3,3,3,3,3

Les chiffres de codages indiquent les points attribués par les cinq membres du jury de dégustation pour chacun des trois échantillons déguster.

FP1 : Fromage avec 1g de feuilles de papayer pour un litre de lait

FP2 : Fromage avec 2g de feuilles de papayer pour un litre de lait

FP3 : Fromage avec 3g de feuilles de papayer pour un litre de lait

FA1 : Fromage avec 54 ml de jus *d'Ananas comosus* pour un litre de lait

FA2 : Fromage avec 40ml de jus *d'Ananas comosus* pour un litre de lait

Les analyses sensorielles des fromages fabriqués avec des coagulants naturels ont été effectués avec un intervalle de 3mois et ont révélées des différences remarquables en termes de goût, de texture, couleur et d'arômes en fonction des quantités de coagulants utilisées :

- Après 3mois d'affinage :

Pour le fromage FP1 coagulé par 1g de feuilles de papayer : pas de caillé visible.

Pour le fromage FP2 coagulé par 2g de feuilles de papayer : on a un caillé insignifiant

Pour le fromage FP3 coagulé par 3g de feuilles de papayer : la couleur 1,2,1,1,1 points, texture 2,2,2,1,2 points, le goût 2,1,1,1,1points, odeur 3,3,3,3,3points.

Pour le Fromage FA1 coagulé avec 54ml de jus d*'Ananas comosus* :la couleur 3,1,2,2,3points, la texture 2,2,1,1,2points, goût 1,2,1,1,2point, odeur 3,3,3,3,3points.

Pour le fromage FA2 coagulé avec 40ml de jus d*'Ananas comosus* :la couleur 3,3,2,3,3points, la texture 2,1,2,2,2points, le goût 3,2,2,3,3points et odeur 3,3,3,3,3points.

- Après 6mois d'affinage :

  Pour le fromage FP3 coagulé par 3g de feuilles de papayer : la couleur 1,1,1,1,1point, texture 2,1,1,1,2points, le goût 1,1,1,1,1points, odeur 3,3,3,2,3points

  Pour le Fromage FA1 coagulé avec 54ml de jus d*'Ananas comosus* :la couleur 3,2,2,2,2points, la texture 2,2,1,1,1points, goût 2,1,1,1,2points, odeur 3,3,3,3,3points

  Pour le fromage FA2 coagulé avec 40ml de jus d*'Ananas comosus* :la couleur 3,3,3,3,2points, la texture 2,2,1,1,2points, le goût 3,3,3,2,3points et odeur 3,3,3,3,3points
- Après 9mois d'affinage :

  Pour le fromage FP3 coagulé par 3g de feuilles de papayer : la couleur 1,1,1,1,1point, texture 1,2,1,1,1points, le goût 1,1,0,1,1point, odeur 3,3,3,3,3points.

  Pour le Fromage FA1 coagulé avec 54ml de jus d*'Ananas comosus* :la couleur 3,2,2,2,2points, la texture 1,1,1,2,1point, goût 1,1,2,1,1points, odeur 3,3,3,3,3points.

Pour le fromage FA2 coagulé avec 40ml de jus d*'Ananas comosus* :la couleur 3,3,2,2,2points, la texture 2,1,2,1,1points, le goût 2,2,3,1,1points et odeur 3,3,3,3,3points

Après analyse de l'évaluation sensorielle qui a été effectuée à CDLK kiryama par le biais du jury de dégustation, le fromage dont le litre de lait a été coagulé avec 40 ml de jus *d'Ananas comosus* (FA2) a plus de point pour les critères goût, odeur et couleur en général pour les trois analyses effectuées après 3,6 et 9mois. Ce fromage FA2 a une couleur Jaune et avec un goût agréable par contre, le fromage FP3 dont le litre de lait a été coagulé avec 3g de feuilles de papayer a donné une texture dure, facile à s'effriter (réduire en poussière) et un goût un peu amer. Le paramètre odeur n'a pas varié entre fromage de papayer et Fromage *d'Ananas comosus*, il est resté presque identique à celui du fromage du type gouda coagulé par la présure habituellement utilisée.

N.B : Nous avons demandé aux dégustateurs non experts de déterminer ces différentes caractéristiques des produits obtenus et à ce moment le silence et la concentration de la part de chacun étaient obligatoire pour une bonne dégustation.

III. 1.2. Analyse statistique du profil sensoriel

L'analyse statistique des résultats a été effectué à l'aide des logiciels statistique SPSS 2021, Excel, ainsi que Mendeley pour la gestion des références. L'analyse de variance (ANOVA) a été réalisée pour voir si les différences au niveau des données sont significatives au seuil $\alpha = 0,05$. L'ANOVA a été complété par le test de comparaison multiple de Duncan, pour détecter les niveaux de différence. Les résultats ont été exprimés sous forme de valeurs moyennes ± erreur standard**.**

Tableau 10: Résultats des analyses statistiques après 3mois d'affinage

Paramètres	**FP3**	**FA1**	**FA2**
Couleur	$1,2\pm0,44^{b}$	$2,2\pm0,8^{a}$	$2,8\pm0,4^{a}$
Texture	$1,8\pm0,44^{a}$	$1,6\pm0,54^{a}$	$1,8\pm0,44^{a}$
Goût	$1,2\pm0,44^{b}$	$1,4\pm0,54^{b}$	$2,6\pm0,54^{a}$
Odeur	3^{a}	3^{a}	3^{a}

❖ **Interprétation des résultats**

Un jury de cinq membres a attribué des notes pour trois sortes de fromages obtenus, après une période de conservation de trois mois. Une évaluation des fromages a été faite sur base de quatre paramètres : la couleur, la texture, le goût et l'arôme. On a noté que, pour la couleur, les fromages de couleur jaune ont enregistré la meilleure note et sont FA1 et FA2, alors que celui qui a eu la moins bonne évaluation est le fromage FP3($P<0,05$) de couleur verte. En ce qui concerne la texture, les résultats ont indiqué qu'il n'existe aucune différence significative entre les divers types de fromages ($P<0,05$).

En ce qui concerne le goût, le fromage FA2 a reçu une évaluation nettement supérieure par rapport aux deux autres fromages ($P<0,05$) de goût en peu amer.

Concernant l'odeur, les résultats ont indiqué qu'il n'y avait pas de différence notable entre les divers types de fromages ($P>0,05$). Tous ont une odeur agréable semblable à l'odeur du fromage gouda.

Tableau 11 : Résultats des analyses statistiques après 6mois d'affinage

Paramètres	**FP3**	**FA1**	**FA2**
Couleur	1 ± 0^{b}	$2,2\pm0,44^{a}$	$2,8\pm0,44^{a}$
Texture	$1,40\pm0,54^{a}$	$1,40\pm0,54^{a}$	$1,60\pm0,54^{a}$
Goût	1 ± 0^{b}	$1,40\pm0,54^{b}$	3 ± 0^{a}
Odeur	$2,80\pm0,44^{a}$	3 ± 0^{a}	3 ± 0^{a}

❖ **Interprétation des résultats**

Après une durée de conservation de 6mois, un jury composé de cinq membres a procédé à l'attribution des notes pour trois types de fromages. Les fromages ont été évalués selon quatre critères : la couleur, la texture, le goût et l'odeur. Il a été observé qu'en ce qui concerne la couleur, le fromage ayant obtenu la note significativement la plus élevée est le fromage FA2 de couleur jaune, tandis que le fromage ayant reçu la note la plus basse est le fromage FP3($P<0,05$) de couleur tendant le vert.

Concernant la texture, les résultats ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différents types de fromages (P<0,05).

Pour ce qui est du goût, le fromage FA2 a obtenu une note significativement plus élevée par rapport aux autres fromages (P<0,05) de goût amer.

Enfin pour l'odeur, les résultats ont révélé qu'il n'y avait pas de différence significative entre les différents types de fromages(P>0,05).

Tableau 12 : Résultats des analyses statistiques après 9mois d'affinage

Paramètres	**FP3**	**FA1**	**FA2**
Couleur	1 ± 0^{b}	$2{,}2 \pm 0{,}44^{a}$	$2{,}40 \pm 0{,}54^{a}$
Texture	$1{,}20 \pm 0{,}44^{a}$	$1{,}20 \pm 0{,}44^{a}$	$1{,}40 \pm 0{,}31^{a}$
Goût	$0{,}80 \pm 0{,}44^{b}$	$1{,}20 \pm 0{,}44^{ab}$	$1{,}80 \pm 0{,}83^{a}$
Odeur	3^{a}	3^{a}	3^{a}

❖ **Interprétation des résultats**

Avec une période de maturation de neuf mois, un jury constitué de cinq membres a attribué des scores pour trois types de fromage. Une évaluation des fromages a été faite en fonction de quatre paramètres : la couleur, la texture, le goût et l'arôme. On a noté que, pour la couleur, le fromage qui a enregistré la meilleure note est le FA2, alors que celui qui a eu la moins bonne évaluation reste toujours FP3(P<0,05). En ce qui concerne la texture, les résultats ont indiqué qu'il n'existe aucune différence significative entre les divers types de fromages (P<0,05).

En ce qui concerne le goût, le fromage FA2 a reçu une évaluation nettement supérieure par rapport aux deux autres fromages (P<0,05).

Concernant l'odeur, les résultats ont indiqué qu'il n'y avait pas de différence notable entre les divers types de fromages (P>0,05). L'odeur est la même que celle de fromage type gouda.

NB :D'après les résultats des analyses du profil sensoriel, une conservation des fromages fabriqués par ces enzymes pendant 9mois n'a aucune influence négative sur la qualité organoleptique. En revanche, grâce aux propriétés antimicrobiennes du jus d'ananas, leur durée de conservation pourrait se prolonger.

III.1.3. Influence de la quantité des coagulants naturels sur le poids des fromages obtenus

Les doses de 1g et 2g de feuilles de papayer ont produit une coagulation insignifiante, donc elles ont été écartées après l'évaluation de la consistance du caillé, cependant, à partir de 3g de feuille de papayer, la coagulation était normale mais cela change le goût du produit final au fur et à mesure que la quantité du coagulant augmente. Ainsi pour le fromage *d'Ananas comosus* les doses de 54ml pour le fromage FA1 et de 40ml de celui FA2 pour un litre de lait ont été utilisées.

Tableau 13 : Poids du fromage après 3mois d'affinage

Poids du fromage	**Fromage de feuilles papayer FP3(3g de coagulant naturels)**	**Fromage *d'Ananas comosus* FA1(54 ml de coagulant naturels)**	**Fromage d'*Ananas comosus* FA2 (40ml de coagulant naturels)**
Après 3mois d'affinage	250g	190g	200g

En ce qui concerne le poids des fromages obtenus, 5 litres de lait ont été utilisés pour faciliter les processus de production de ce fromage à partir des matériaux disponibles, selon le tableau précédent : 200g de fromage FA2 *d'Ananas comosus* ont été produits à partir de 5 litres de lait après 3 mois d'affinage et cela a nécessité 200ml de ce coagulant, soit environ 40 ml par litre de lait, par contre le fromage FA1 a été fabriqué avec 270ml du jus *d'Ananas comosus* ,soit environ 54ml par litre de lait mesure 190g ,un poids moindre par rapport au fromage FA2 . Puis, pour la fabrication du fromage FP3 de feuille de papayer à partir de 5 litres de lait, nous avons obtenu 250g, ce qui représente environ 50g par litre du lait de vache et cela a nécessité 3g de feuilles de papayer. Plus la quantité du Coagulant (Bromélaïne) augmente plus la masse du fromage produit diminue.

III.1.4. Caractéristiques microbiologiques des fromages obtenus

Nous avons retenu les boites de pétri contenant un nombre de colonies entre 15 et 300

Pour étudier la qualité microbiologique des fromages obtenus, nous avons utilisé deux échantillons de fromage à savoir : FP3 fromage avec les feuilles de papayer, FA2 fromage avec *l'Ananas comosus.*

Tableau 14 : Niveau de contamination des fromages par les germes recherchés après dénombrement.

Microorganismes (UFC/g)	**FP3 fromage avec les feuilles de papayer**	**FA2 fromage avec *l'Ananas comosus***
Coliformes totaux	< à 3	< à 3
Staphylococcus aureus	Absence	Absence
Flore lactique	$2,7x10^5$	$2,8x\ 10^5$
Levures et moisissures	$1,2x10^2$	$1,03x10^2$

Tableau 15 : Analyse statistique des caractéristiques microbiologiques

Paramètres	FP3	FA2
Coliformes totaux	< à 3	< à 3
Staphylococcus aureus	Absence	Absence
Flore lactique	$2,7.10^5 \pm 45825^a$	$2,8.10^5 \pm 17320^a$
Levures et Moisissures	$1,2.10^2 \pm 26,4^a$	$1.10^2 \pm 7,7^a$

❖ **Interprétation des résultats**

Après l'analyse statistique des caractéristiques microbiologiques, les résultats de notre étude ont montré qu'ils ne présentent pas de différence significative sur les deux paramètres flore lactique ainsi que les levures et moisissures, les deux échantillons FP3 et FA2 sont à des niveaux presque égaux pour le développement des microorganismes utiles.

Comme l'indique le Tableau 14, les échantillons montrent une absence totale de coliformes totaux et de staphylococcus aureus mais par contre ils sont très chargés en flore lactique, et aussi par les levures et moisissures.

III.2. Discussions des résultats.

III.2.1. Effet des enzymes naturelles la papaïne et la bromélaïne sur la coagulation du lait

Les résultats de cette étude illustrent clairement que les deux enzymes naturelles, la papaïne et la bromélaïne, ont effectivement la capacité de coaguler le lait de vache, de plus, ce phénomène varie en fonction de la quantité du coagulant (papaïne ou bromélaïne) utilisée : Concernant le fromage FP1 coagulé avec 1 g de feuilles de papayer : on a constaté une absence visible de caillé. Pour le fromage FP2 coagulé avec 2g de feuilles de papayer, la coagulation était négligeable, tandis qu'à 3g, un véritable caillé propice à l'égouttage pour fabriquer du fromage commence à se former, ces résultats sont en accord avec les travaux de Mallaye (2016) qui a travaillé sur les fromages frais.

Le fromage élaboré à partir d'un litre de lait coagulé avec 40ml de jus d'*Ananas comosus* (fromageFA2) a obtenu une évaluation supérieure en ce qui concerne le goût, l'odeur et la couleur par rapport au fromage coagulé avec 3 g de feuilles de papayer comme l'indique Campos et *al*. (2020), l'utilisation de la bromélaïne dans différentes applications de l'industrie alimentaire lui confère une certaine valeur, par exemple pour améliorer les caractéristiques du fromage.

Il est conseillé d'employer une faible dose de ces enzymes naturelles afin d'assurer l'acceptation du produit par le consommateur, en effet, une concentration élevée de ces enzymes tend à détériorer la qualité organoleptique du fromage, cela est en accord avec les travaux de Vergara-álvarez et *al.,* 2019.

D'après les analyses organoleptiques effectuées à CDLK Kiryama, on considère que 3g de feuilles de papayer et 40ml de jus d'*Ananas comosus* par litre de lait vache représentent les doses optimales.

Comparée à la bromélaïne, la papaïne a une activité protéolytique supérieure (plus forte), bien que l'analyse sensorielle révèle que le produit coagulé par la bromélaïne est plus apprécié, il suffit en réalité d'une petite dose de 3g pour déclencher l'agglutination des protéines laitières et

former un gel appelé caillé pour un litre de lait, tandis que pour la bromélaïne, il faut 40ml de ce coagulant (extrait du jus *d'Ananas comosus*) par litre de lait.

C'est la première fois que du fromage de type gouda est fabriqué à partir de coagulants naturels, les fromages frais sont les plus courants. Parmi les défis auxquels nous avons été confrontés lors de cette tentative de production : manque des instruments de mesure des paramètres rhéologiques pour détecter la consistance des fromages obtenus, l'extraction (isolement) de ces enzymes naturelles la papaïne et la bromélaïne, afin de les dissocier d'autres substances présentes dans ces fruits, la texture du produit final s'avère plus dure en comparaison avec le fromage du type gouda élaboré à partir de présure animale. Comme le montre (Pacifico et *al*., 2024), les enzymes de coagulation d'origine végétale se caractérisent par une activité protéolytique élevée contre les caséines du lait, ce qui génère des peptides capables d'affecter la texture du fromage et de contribuer au développement d'une saveur amère. Ainsi, les résultats indiquent que l'activité protéolytique est supérieure pour les coagulants végétaux étant donné que la masse des fromages obtenus est moins importante en comparaison à celle du fromage coagulé avec de la présure animale.

III.2.2. Caractéristiques microbiologiques des fromages obtenus

La qualité microbiologique du fromage est principalement déterminée par la qualité microbiologique des matières premières utilisées, les normes d'hygiène respectées lors de sa fabrication, le choix du matériel d'emballage et les conditions de conservation.

La fabrication du fromage consiste à sélectionner et à favoriser le développement des germes utiles, tout en limitant la contamination par des germes nuisibles et en entravant leur développement.

La contamination du produit peut provenir des porteurs sains ou infectés, des surfaces et des équipements, ou même à l'environnement de production selon le germe :

- **Staphylocoques**

L’absence de staphylocoques dans les fromages obtenus après les analyses marque un atout pour les consommateurs car la détection de staphylocoques dans les fromages constitue une menace pour la santé des consommateurs, étant donné que certaines variétés, surtout celles appartenant à

l'espèce Staphylococcus aureus, génèrent des toxines dont l'ingestion peut entraîner une toxi-infection alimentaire due aux staphylocoques**.**

L'hypothèse est soutenue par les travaux de Poutrel et *al*., (2004) qui démontre que les produits laitiers, y compris le fromage, ne deviennent toxiques que s'ils sont infectés par des souches productrices de toxines Staphylococciques et s'il existe des conditions favorables à une prolifération bactérienne significatives et à la production de toxines.

- **Coliformes**

Le dénombrement des coliformes aide à détecter une population d'origine fécale, signalant ainsi un risque de contamination par des entérobactéries pathogènes sensibles à la chaleur. Ainsi, ces bactéries servent d'indicateur pour mesurer l'efficacité des traitements thermiques ou des processus de décontamination**.**

L'absence de coliformes totaux signale une relation entre l'activité des enzymes et la température. La bromélaïne et la papaïne sont également efficaces à des températures allant de 50 et 60 °C, comme confirmé par Gore & Michaud 2019, Cela a un impact sur le processus thermique des fromages, car le diagramme de fabrication du fromage indique qu'on chauffe jusqu'à 95 °C, ce qui témoigne de l'efficacité du traitement thermique.

- **Les levures et les moisissures**

Les levures et les moisissures sont des contaminants courants dans les produits laitiers y compris le fromage, l'équilibre du développement des levures et des moisissures favorise efficacement la protéolyse et la lipolyse de la pâte pendant le processus d'affinage grâce à leurs activités enzymatiques variées et intenses.

Les levures jouent un rôle dans le processus de maturation des fromages en fermentant le lactose, en consommant l'acide lactique, en produisant des substances stimulantes et grâce à leurs actions protéolytiques, lipolytiques et génératrices de composés aromatiques comme l'affirme NUNEZ et *al*., (1981).

Les moisissures peuvent aussi jouer un rôle important dans l'affinage des fromages : elles aident à neutraliser la pâte, produisent des protéases et des lipases grâce à l'oxydation des acides gras.

- **Flores lactiques**

Les différents milieux tels que les muqueuses des mammifères (intestin, bouche, vagin), ainsi que les produits laitiers et ses dérivés (yaourt, fromage) sont colonisés par des flores lactiques.

Les flores lactiques sont des microorganismes habituels dans les produits laitiers qui se distinguent par leurs capacités à fermenter le lactose en produisant de l'acide lactique, ce qui engendre une baisse du pH. Les Caractéristiques telles que Gram négatif, anaérobies facultatifs ou micro-aérophiles et hétérotrophes sont essentielles pour leur croissance rapide et leur permettent de surpasser les espèces qualifiées de nuisibles en termes de développement comme l'indique Saied ℘ Boudabous, (1994).

Comparativement le niveau de multiplication par les flores lactiques des deux fromages analysés est presque identique et sont très chargés en flore lactique.

Les bactéries lactiques entraînent une hausse des protéines solubles dans le milieu et l'apparition de peptides et d'acides aminés qui, en plus de favoriser la croissance des microorganismes, participent à la création de certains composés aromatiques, cela est en accord avec Rijnen et *al*, (2003).

Conclusion générale et suggestions

Le fromage est un aliment qui joue un rôle majeur dans l'alimentation humaine, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale et est perçu comme un acteur important de l'industrie agroalimentaire.

Cependant, la transformation de ce produit essentiel nécessite l'utilisation d'un coagulant d'origine animale, généralement de la présure. Cette enzyme provenant des veaux nourris au lait et issue du quatrième compartiment de leur estomac, rend plus complexe la disponibilité des fromages et entraîne une augmentation de leur coût.

Cette étude vise à comparer le caractère coagulant des enzymes naturelles à savoir la papaïne et la bromélaïne et leurs influences sur la conservation pendant la période d'affinage dans le processus de production du fromage, dans cette optique, l'analyse organoleptique a examiné les paramètres, Couleur, Texture, goût et odeur.

Par rapport à la bromélaïne, la papaïne possède un caractère coagulant plus fort que la bromélaïne. Bien que l'analyse du profil sensoriel indique que le produit caillé par la bromélaïne est plus apprécié. Une petite quantité de 3 g de papaïne seulement suffit pour provoquer l'agglutination des protéines du lait et créer un gel nommé caillé pour un litre de lait, alors qu'il en faut 40 ml de la bromélaïne (extrait du jus *d'Ananas comosus*) pour chaque litre de lait lorsqu'on utilise la bromélaïne.

En fonction des critères pris en compte pour la comparaison des produits obtenus, le fromage FA2 se distingue par une note supérieure et une différence significative est remarquable pour les paramètres couleurs et goût, Le fromage le plus apprécié est le FA2, coagulé par la bromélaïne, qui présente une couleur jaune et un goût agréable. À l'inverse, le FP3, qui a été coagulé par la papaïne et est moins apprécié, a une saveur amère et une couleur allant vers le vert.

Pour chaque litre de lait de vache, 3g de feuilles de papayer et 40ml de jus *d'Ananas comosus* ont été considérés comme les doses optimales de coagulations du lait de vache pour préserver les qualités organoleptiques des fromages transformés.

D'après les résultats des analyses du profil sensoriel, une conservation des fromages fabriqués par ces enzymes pendant 9mois n'a aucune influence négative sur la qualité organoleptique.

Il serait même possible que, grâce aux propriétés antimicrobiennes du jus d'ananas, cette durée de conservation puisse être large.

L'analyse de la qualité microbiologique des fromages obtenus indique qu'il n'y a pas de staphylocoques ni de coliformes nocifs pour la santé des consommateurs. Cependant, ils sont fortement peuplés en flore lactique et ainsi que par les levures et les moisissures. Les conditions d'affinage et stockage orientent le développement microbien.

Comptes tenus des résultats obtenus nous recommandons :

1. **Au chercheur :**

- La poursuite de la recherche des méthodes pour adoucir le caractère plus ferme du fromage produit à l'aide de coagulants d'origine végétale la papaïne et la bromélaïne.
- Explorer les méthodes d'atténuer la protéolyse des enzymes naturelles afin d'améliorer le rendement, semblable à celui de la présure.

2. **A l'EANSI :**

- Fournir du matériel pour l'extraction des enzymes végétales, ainsi que des instruments de mesure des paramètres rhéologiques et de leurs accessoires, pour évaluer la texture la plus ferme des produits obtenus.

Références

Aktayeva, S., Akishev, Z., & Khassenov, B. (2018). Proteolytic Enzymes in Cheese Making. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, *1*. https://doi.org/10.11134/btp.1.2018.2

Amalfitano, N., Cipolat-Gotet, C., Cecchinato, A., Malacarne, M., Summer, A., & Bittante, G. (2019). Milk protein fractions strongly affect the patterns of coagulation, curd firming, and syneresis. *Journal of Dairy Science*, *102*(4), 2903–2917. https://doi.org/10.3168/jds.2018-15524

Amine, B. M. El. (2021). *Étude comparative : valorisation du lactosérum comme sous produit de l'industrie laitière*.

Amri, E., & Mamboya, F. (2012). Papain, a plant enzyme of biological importance: A review. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, *8*(2), 99–104. https://doi.org/10.3844/ajbbsp.2012.99.104

ANDRE, P. (1952). *Préparation - Propriétés - Usages LA PAPAÏN E*. 57–61.

Belletti, N., Gatti, M., Bottari, B., Neviani, E., Tabanelli, G., & Gardini, F. (2009). The size of native milk fat globules affects physico-chemical and sensory properties. *Journal of Food Protection*, *72*(10), 2162–2169. https://doi.org/10.1051/lait

Campos, D. A., Ribeiro, T. B., Teixeira, J. A., Pastrana, L., & Pintado, M. M. (2020). Integral valorization of pineapple (Ananas comosus L.) By-products through a green chemistry approach towards Added Value Ingredients. *Foods*, *9*(1). https://doi.org/10.3390/foods9010060

Caroli, A. M., Chessa, S., & Erhardt, G. J. (2009). Invited review: Milk protein polymorphisms in cattle: Effect on animal breeding and human nutrition. *Journal of Dairy Science*, *92*(11), 5335–5352. https://doi.org/10.3168/jds.2009-2461

de Kruif a,,, Ekatherina B. Zhulina b, 1. (1996). Colloids and. *Elsevier Science B.V*, *117*.

Doudies, F. (2019). *Filtration de dispersions de micelles de caséine : propriétés physiques, rhéologiques et cohésives des couches accumulées à la surface de la membrane*. https://hal.inrae.fr/tel-02789181

Drenth, J., Jansonius, J. N., Koekoek, R., & Wolthers, B. G. (1971). The structure of papain. *Advances in Protein Chemistry*, *25*(C), 79–115. https://doi.org/10.1016/S0065-3233(08)60279-X

FABERT, C.-M. (2011). *LE PAPAYER , CARICA PAPAYA L ., DE LA MEDECINE TRADITONNELLE A LA MEDECINE ACTUELLE . ETUDES BOTANIQUE ET Claire-Marie FABERT*. *93*.

FATIHA, H. (2015). *Evolution de la lipolyse et protéolyse et recherche d'activité anti-oxydante au cours de l'affinage des fromages à pate mole type camembert*.

Fernández-Lucas, J., Castañeda, D., & Hormigo, D. (2017). New trends for a classical enzyme: Papain, a biotechnological success story in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, *68*(2017), 91–101. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.017

Filion, M. (2006). Amélioration de la stabilité thermique du lait par modulation du potentiel d'oxydoréduction. *Thesis*, 12.

Gillis, J.-C., & Coordonnateurs, A. A. (2018). *Le fromage 4 e édition*.

Gore, E., & Michaud, P. (2019). *Réduire le potentiel acidifiant des fromages pour améliorer leurs fonctionnalités nutritionnelles : identification des leviers biochimiques et perspectives technologiques To cite this version : HAL Id : tel-02331414*.

Haythem, M., Modélisation, R., Paris-grignon, I. N. A., & Paris-grignon, I. N. A. (2007). *biochimiques et physico-chimiques intervenant lors de l ' affinage d ' un fromage de type pÂte molle croÛte lavÉe Mohamed Haythem Riahi To cite this version : HAL Id : pastel-00003114*.

Kalandi, M., Sow, A., Guigma, W., Zabre, M., Bathily, A., & Sawadogo, G. (2015). Evaluation de la qualité nutritionnelle du lait cru dans les élevages traditionnels de Kaolackau Sénégal. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, *9*(2), 901. https://doi.org/10.4314/ijbcs.v9i2.28

Komansilan, S., Sakul, S., Ma'Ruf, W., & Pontoh, J. (2024). Potential antioxidant activity and physical of cottage cheese using bromelain enzyme pineapple [Ananas comusus] as a natural coagulant. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, *1341*(1), 95–

100. https://doi.org/10.1088/1755-1315/1341/1/012037

Lucey, J. A., Johnson, M. E., & Horne, D. S. (2003). Invited review: Perspectives on the basis of the rheology and texture properties of cheese. *Journal of Dairy Science*, *86*(9), 2725–2743. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73869-7

Mohd Ali, M., Hashim, N., Abd Aziz, S., & Lasekan, O. (2020). Pineapple (Ananas comosus): A comprehensive review of nutritional values, volatile compounds, health benefits, and potential food products. *Food Research International*, *137*(September), 109675. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109675

Moulai, H. (2023). *Formulation de fromage à base de lait de chèvre par l ' incorporation des plantes aromatiques*.

Müller, A., Barat, S., Chen, X., Bui, K. C., Bozko, P., Malek, N. P., & Plentz, R. R. (2016). Comparative study of antitumor effects of bromelain and papain in human cholangiocarcinoma cell lines. *International Journal of Oncology*, *48*(5), 2025–2034. https://doi.org/10.3892/ijo.2016.3411

Nwofia, G. E., Ojimelukwe, P., & Eji, C. (2012). Chemical composition of leaves , fruit pulp and seeds in some Carica papaya (L) morphotypes. *Int. J. Med. Arom. Plants*, *2*(1), 200–206.

Oyeleke, G. . (2013). Evaluation of Some Chemical Composition of Pawpaw (Carica Papaya) Seeds under Normal Storage Ripening. *IOSR Journal Of Environmental Science, Toxicology And Food Technology*, *4*(6), 18–21. https://doi.org/10.9790/2402-0461821

Pacifico, S., Caputo, E., Piccolella, S., & Mandrich, L. (2024). Exploring New Fruit- and Vegetable-Derived Rennet for Cheese Making. *Applied Sciences (Switzerland)*, *14*(6). https://doi.org/10.3390/app14062257

Phadungath, C. (2005). Casein micelle structure : a concise review. *Journal of Science and Technology*, *27*(May 2004), 201–212.

Raphalen, D. (1983). Contribution à la valorisation du lactosérum. *Lait*, 463–472.

Renault, C., Gastaldi, E., Cuq, J. L., & Tarodo De La Fuente, B. (2000). Effect of temperature of milk acidification on rennet gel properties. *Journal of Food Science*, *65*(4), 630–634.

https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb16063.x

Reveal, J. L., & Chase, M. W. (2011). APG III: Bibliographical information and synonymy of Magnoliidae. *Phytotaxa*, *19*, 71–134. https://doi.org/10.11646/phytotaxa.19.1.4

Ruettimann, K. W., & Ladisch, M. R. (1987). Casein micelles: structure, properties and enzymatic coagulation. *Enzyme and Microbial Technology*, *9*(10), 578–589. https://doi.org/10.1016/0141-0229(87)90109-8

Ruiz-Sala, P., Hierro, M. T. G., Martínez-Castro, I., & Santa-María, G. (1996). Triglyceride composition of ewe, cow, and goat milk fat. *JAOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society*, *73*(3), 283–293. https://doi.org/10.1007/BF02523421

Sheryl, A. F., & Setiadi. (2020). Improving the texture of cheese product from cow's milk through the coagulation process using a combination of papain and transglutaminase enzyme. *AIP Conference Proceedings*, *2255*. https://doi.org/10.1063/5.0014713

Stan, C. (1995). *Norme Codex Pour Le Couscous*. 1–3.

Szpendowski, J., K^{3}obukowski, J., Cichosz, G., & Staniewski, B. (2006). Characteristics of Nitrogen Compounds and Nutritive Value of Whey and Permeate Obtained in the Production of Cottage Cheeses. *POLISH JOURNAL OF FOOD AND NUTRITION SCIENCES Pol. J. Food Nutr. Sci*, *1556*(1), 223–228.

Touatia, B. S. (2017). *Mémoire de fin d ' études Valorisation et optimisation de l ' utilisation d ' un coagulant végétal pour la fabrication d ' un fromage traditionnel Remerciements*.

Varilla, C., Marcone, M., Paiva, L., & Baptista, J. (2021). Bromelain, a group of pineapple proteolytic complex enzymes (Ananas comosus) and their possible therapeutic and clinical effects. a summary. *Foods*, *10*(10). https://doi.org/10.3390/foods10102249

Vergara-álvarez, W., Arteaga-Márquez, M., & Hernández-Ramos, E. J. (2019). Sensory acceptance and shelf life of fresh cheese made with dry bromelain extract as a coagulating agent. *DYNA (Colombia)*, *86*(210), 270–275. https://doi.org/10.15446/dyna.v86n210.76949

Vilain, A. C. (2010). What's milk? *Revue Francaise d'Allergologie*, *50*(3), 124–127. https://doi.org/10.1016/j.reval.2010.01.032

Wali, N. (2018). Pineapple (Ananas comosus). In *Nonvitamin and Nonmineral Nutritional Supplements* (Vol. 1). Elsevier Inc. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812491-8.00050-3

Woo, A. (2002). *La grande diversité du lactosérum*.

Yasmine, R. (2019). *Caractérisation physico-chimique du lactosérum bovin issu de la fabrication du fromage blanc de la laitière Giplait, Tlemcen*.