

# Facteurs de maîtrise de l'acidification dans les technologies fromagères fermières (caillés lactiques) utilisant du lactosérum comme ferment

C. LAITHIER (1), Y.M. CHATELIN (2), V. DAVID (2), H. TORMO (3), Y. LEFRILEUX (4), Y. GAUZERE (5)

(1) Institut de l'Élevage, Actipôle, 5 rue Hermann Frenkel, 69 364 Lyon cedex 07

(2) Institut de l'Élevage, 149 rue de Bercy, 75 595 Paris cedex 12

(3) Centre Fromager de Carmejane, 04 510 Le Chaffaut Saint Jurson

(4) PEP Caprin Rhône Alpes, 4 avenue de l'Europe Unie, BP 114, 07 001 Privas

(5) ENIL de Poligny, Place du Champs de Foire, BP 49, 39 801 Poligny cedex

**RESUME** - Ce travail a été réalisé dans des exploitations laitières fabriquant des fromages de chèvres fermiers à technologie lactique. Il a duré une lactation à 4 périodes clefs et un des ses objectifs était d'identifier les facteurs ayant une incidence sur l'acidification, afin d'en améliorer la maîtrise. Les paramètres d'acidification sont issus des courbes d'acidification obtenues dans les exploitations. Les pratiques d'élevage et de fabrication ont été enregistrées et des analyses de lait et de lactosérum ont été réalisées. La température de caillage est un des paramètres clefs de la capacité acidifiante du lactosérum, ce qui a été vérifié directement en exploitations. Ce paramètre est pourtant souvent difficilement maîtrisable par les éleveurs. La pratique de la prématuration induit des vitesses maximales d'acidification plus faibles. Ce phénomène peut s'expliquer par le fait que les températures de prématuration utilisées dans les exploitations suivies étaient basses (inférieures à 12°C). L'activité acidifiante dépend également de la composition microbiologique des laits : lorsque les flores acidifiantes augmentent, la vitesse maximum de décroissance est atteinte plus rapidement. En présence d'une flore de *leuconostocs* plus importante, l'acidification est ralentie et moins importante (pH finaux plus élevés). Elle est également ralentie en présence d'une forte quantité de coliformes dans le lait. La composition microbiologique des lactosérums influe également sur la courbe d'acidification : la présence de coliformes en quantité élevée ainsi que les *leuconostocs* tendent à ralentir l'acidification. L'acidification est aussi moins importante en présence d'une quantité élevée de coliformes. En revanche, plus la flore acidifiante totale est forte, plus l'acidification est rapide et importante (pH finaux plus faibles). Les changements alimentaires sont aussi associés à des modifications au niveau des courbes d'acidification. Ces résultats sur l'alimentation restent difficiles à interpréter et il serait intéressant de poursuivre ces investigations en conditions plus contrôlées.

## Control factors of acidification in cheese farm technology (lactic coagulation) using whey as a ferment

C. LAITHIER, Y.M. CHATELIN, V. DAVID, H. TORMO, Y. LEFRILEUX, Y. GAUZERE

Institut de l'Élevage Actipôle, 5 rue Hermann Frenkel, 69 364 Lyon cedex 07

**SUMMARY** - This work was realised on farms where goat cheeses with lactic coagulation and the use of whey as ferment are produced. The study lasted for one lactation with 4 key periods and one of the objectives was to identify the factors affecting the acidification, in order to improve the control of it. The parameters of acidification result from the curves of acidification obtained on the farms. The practices of breeding and manufacture were recorded and the analyses of whey and milk were realised. Curdling temperature is one of the key parameters of the acidifying capacity of the whey on farms. This parameter is, however, often not easily controllable by the farmers. The use of prematuration induced lower maximum speeds of acidification. This phenomenon can be explained by the low prematuration temperatures (lower than 12°C) used on the farms studied. The acidifying activity also depends on the microbiological composition of the milks: if the acidifying flora increase then the maximum speed of decrease is reached more quickly. In the presence of a more important flora of *leuconostocs*, the acidification is slowed down and less important (higher final pH). It is also slowed down in the presence of a strong quantity of coliforms in milk. The microbiological composition of the wheys also influences the acidification curve : the presence of coliforms in high quantities as well as the *leuconostocs* tend to slow down the acidification. The acidification is also less important with a high quantity of coliforms. On the contrary, the stronger is the total acidifying flora, the faster and more important is the acidification (final pH is weaker). Feeding is in association with the value of the acidification parameters. However, the results obtained on feeding remain difficult to explain and additional studies on experimental farms need to be performed in order to better understand this role.

## INTRODUCTION

La production fermière est reconnue à l'heure actuelle comme une activité économique à part entière, s'intégrant dans la politique de diversification du territoire. Plus de 50 % de sa production (85 % en production fermière caprine) est constituée de fromages à coagulation lactique. Pour ces produits, une des étapes déterminantes de la maîtrise de la Qualité est l'acidification du lait sous l'action des bactéries lactiques. La technologie lactique fermière utilise traditionnellement un levain de ferme, le lactosérum (Le Jaouen J.C, 1990). Celui-ci est souvent cité comme étant un élément majeur de la diversité organoleptique et de la typicité des produits fermiers, comme cela a été démontré en pâtes pressées cuites (Beuvier *et al.*, 1997 ; Demarigny *et*

*al.*, 1997). Ces lactosérums sont spécifiques d'une exploitation et ils participent au maintien d'une diversité floristique (Guéguen *et al.*, 1997 ; Tormo, 1999). Leur intérêt technologique n'est d'ailleurs plus à démontrer (Spinnato et Tormo, 1994 ; Tormo, 1999). Cependant, la maîtrise empirique et imparfaite de cette pratique conduit bon nombre de fermiers à l'abandonner au profit de ferments du commerce. La présente étude pilotée par l'Institut de l'Élevage réalisée dans le cadre d'un programme ACTA / ACTIA a été conduite pour identifier les facteurs ayant une incidence sur l'acidification des laits dans les technologies fromagères fermières (caillés lactiques) utilisant le lactosérum comme ferment afin d'en améliorer la maîtrise. Elle contribuera à en maintenir l'utilisation.

## 1. MATERIEL ET METHODES

### 1.1. SUIVI DE 5 EXPLOITATIONS

Cinq exploitations ont été sélectionnées, répondant aux critères suivants : production de fromages de chèvre fermiers au lait cru à coagulation lactique, utilisation d'une machine à traire, réalisation d'un seul caillage par jour, pas de problèmes majeurs de qualité sanitaire du lait et des fromages. Par ailleurs, l'exploitant devait être motivé pour participer à l'étude. Quatre exploitations étaient localisées en PACA et la cinquième était la Ferme expérimentale du Pradel. Toutes présentaient un changement alimentaire important au printemps. Ces exploitations ont été suivies à 4 périodes clefs de la lactation (début de lactation, changement de régime alimentaire au printemps et en été, fin de lactation). Il faut noter que l'éleveur 5 était décalé dans le temps par rapport aux autres éleveurs, la première et la seconde période étant confondues pour celui-ci. Sur toute la période de suivi de 35 jours, des enregistrements automatiques de pH et de température ont été effectués toutes les 30 minutes pendant le caillage (durée totale moyenne : 24 heures) directement dans les élevages suivis. Les pratiques d'élevage (quantité et nature des fourrages et des concentrés, nature et durée du pâturage journalier ; pratiques de traite) et technologiques (acidités et heures des différentes étapes de la fabrication, dose de ferment et de présure, quantités de lait transformées, pratique ou non de la prématuration...) étaient enregistrées quotidiennement par les éleveurs pendant les périodes de suivi. Une puce permettait de connaître la T°C de prématuration du lait. Les éleveurs ont prélevé du lait (fabrications 11 et 25) et du lactosérum (fabrications 11, 18 et 25) pour analyses microbiologiques : flore mésophile aérobie revivifiable, flore lactique mésophile acidifiante, coliformes, *Leuconostocs* (dénombrement sur milieu MRS + vancomycine), entérocoques, levures et moisissures et pour analyses physico-chimiques. L'analyse des relations entre les analyses physico-chimiques réalisées au niveau des laits et lactosérums et les paramètres d'acidification ont fait l'objet d'autres traitements. Ces résultats ne sont pas présentés ici.

### 1.2. TRAITEMENT DES RESULTATS

#### 1.2.1 Extraction des paramètres d'acidification et classification des courbes de températures

Les courbes d'acidifications enregistrées en élevage ont été ajustées à partir d'un modèle de Weibull afin de remédier aux artefacts liés aux mesures et surtout de résumer convenablement ces courbes par deux paramètres, l'un lié à la vitesse maximale d'acidification, l'autre étant le temps nécessaire pour atteindre le point d'inflexion de la courbe c'est-à-dire cette vitesse maximale. En fait, la loi de Weibull a un troisième paramètre, que l'on a approché par la différence entre les deux valeurs extrêmes du pH. D'autres paramètres ont été calculés dont certains découlent directement des paramètres de la loi de Weibull : durée entre le point d'inflexion et la fin de la courbe, ralentissement en fin de courbe (durée entre pH final + 0,1 et pH final = RFC), durée entre pH = 5,5 et pH = 4,8, pH final, vitesse maximale d'acidification (vmax). Les paramètres issus des courbes obtenues en exploitation sont corrélés entre eux (Laithier *et al.*, 2003). Leurs valeurs dépendent de l'éleveur en suivi, de la période étudiée et l'effet de la période n'est pas le même suivant l'éleveur considéré. Pour examiner les relations

entre l'acidification et les facteurs potentiellement influents, trois paramètres ont été analysés : le temps pour atteindre le point d'inflexion de la courbe, la vitesse maximale d'acidification et le pH final.

Une typologie basée sur une classification ascendante hiérarchique a permis de répartir en 8 classes les courbes de température relevées dans les bacs de caillage.

#### 1.2.2. Mise en relation des paramètres d'acidification avec les pratiques enregistrées quotidiennement

Dans un premier temps, à l'aide du logiciel SPAD, les paramètres d'acidification ont été caractérisés par les variables continues ou nominales potentiellement explicatives. Ceci a permis une présélection des variables pouvant expliquer les paramètres d'acidification. Des variables quantitatives ainsi triées présentaient des valeurs manquantes. Si elles n'étaient pas trop fréquentes, ces dernières ont été reconstituées à l'aide de l'algorithme NIPALS. L'effet Eleveur étant aléatoire, un modèle mixte a été appliqué grâce à la procédure Mixed de SAS. Vu le grand nombre de tests statistiques effectués sur les données, les analyses permettent uniquement d'obtenir les grandes tendances, la probabilité de 0,05 étant retenue pour dégager les facteurs actifs dans le modèle.

A chaque paramètre d'acidification correspondait alors un modèle où étaient incluses toutes les variables potentiellement explicatives, dont la fréquence d'enregistrement était quotidienne. Les données correspondant à la composition des laits et des lactosérums ont dû faire l'objet d'autres traitements statistiques. En effet, la fréquence d'enregistrement pour ces analyses n'était pas quotidienne pendant les périodes de suivi.

#### 1.2.3. Mise en relation des paramètres d'acidification avec les compositions des laits et lactosérums

Deux traitements ont été réalisés car la fréquence d'analyse des laits différait de celle des lactosérums.

L'analyse des relations entre les paramètres d'acidification et les compositions du lait ou du lactosérum a été réalisée grâce à des régressions multiples. Les variables sont sélectionnées par étapes. On obtient le R<sup>2</sup> du modèle final, correspondant à la part qu'explique le modèle par rapport à la variable considérée.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. MISE EN RELATION DES PARAMETRES D'ACIDIFICATION AVEC LES PRATIQUES

453 courbes d'acidification étaient disponibles. On a retenu les 264 pour lesquelles l'ensemble des paramètres associés aux courbes avait pu être estimé et où toutes les pratiques correspondantes étaient renseignées. La période 2 est un peu plus représentée dans l'analyse.

La fabrication, la traite, l'alimentation sont traitées ci-dessous séparément, même si toutes les pratiques ont été étudiées dans un seul modèle par paramètre de fabrication.

#### 2.1.1. La fabrication

Comme le montre le tableau 1, l'influence de la température de caillage est primordiale, agissant sur les 3 paramètres d'acidification. Des températures faibles tendent à ralentir l'acidification et à la rendre moins importante (pH final plus élevé). La répartition des classes de température est particulière à chaque éleveur et à la période considérée, les températures les plus élevées étant observées en été.

La température de caillage est difficilement maîtrisable par les éleveurs, même si ce facteur est déterminant pour l'acidification. Le rôle des volumes de lait mis en fabrication est certainement à relier à l'effet de la Période, influente sur tous les paramètres. Une acidité Dornic élevée à

l'emprésurage traduisant une activité importante des bactéries lactiques permet de diminuer le temps pour atteindre le point d'inflexion de la courbe. Les volumes de bacs sont aussi en liaison avec le temps pour atteindre le point d'inflexion, en lien certainement avec l'homogénéisation du lait.

**Tableau 1** : pratiques technologiques associées aux paramètres d'acidification ( $p < 0,05$ )

Paramètres d'acidification	Facteurs influents	F	P	Ce qui tend à augmenter le paramètre considéré (variables nominales) / Coefficient de corrélation (variables continues)
pH final	Classes de Température de caillage	5,56	< 0,0001	Classes correspondant aux températures faibles
Temps pour atteindre le point d'inflexion (N)	Classes de Température de caillage	16,43	< 0,0001	Classes correspondant aux températures faibles
	Acidité Dornic à l'emprésurage	20,79	< 0,0001	- 11,63
	Volume total de lait	4,26	0,0462	- 0,83
	Volume du bac suivi	5,25	0,0229	2,0014
Vitesse maximale d'acidification (V max)	Classes de température	4,25	0,0005	Classes présentant des températures élevées dans la deuxième moitié de la période de caillage
	Pratique de la prématuration	6,81	0,0097	Pas de prématuration

F : valeur du test de Fisher – P : probabilité associée

La pratique de la prématuration du lait induit des vitesses maximales d'acidification plus faibles, ce qui peut s'expliquer par le fait que les températures de prématuration utilisées dans les exploitations suivies sont basses (inférieures à 12°C), ne permettant pas une acidification normale du lait. Les températures peuvent également favoriser le développement d'autres flores que les flores lactiques, en particulier les psychrotrophes, qui peuvent gêner la multiplication des bactéries lactiques, comme cela a été observé par ailleurs en espèce bovine (Guéguen *et al.*, 1997) et en espèce caprine (Viguie *et al.*, 1992).

### 2.1.2. L'alimentation des chèvres

**Tableau 2** : pratiques alimentaires associées aux paramètres d'acidification ( $p < 0,05$ )

Paramètres d'acidification	Facteurs alimentaires influents	P *
PH final	Pratique du parcours	0,0054
	Pâturage de luzerne	0,0177
	Luzerne dans la ration	0,0386
	Quantité d'orge	0,0317
Temps pour atteindre le point d'inflexion	Pâturage de luzerne	0,0020
	Luzerne dans la ration	0,0055
	Quantité de foin de luzerne	0,0060
	Sainfoin dans la ration de foin	0,0037
	Quantité d'orge	0,0003
	Quantité de concentré industriel	0,0059
	Quantité de maïs en concentré	0,0376
Vitesse maximale d'acidification	Quantité totale de concentré	0,0051
	Quantité de foin de prairie permanente	0,0093
	Quantité de concentré industriel	0,0053
	Quantité de maïs en concentré	0,0095
	Quantité totale de concentré	0,004

\* P : probabilité associée au test de Fisher

La quantité de concentrés mais aussi la nature des concentrés interviennent sur les trois paramètres étudiés. Des changements de rationnement en luzerne (foin, pâturage) sont aussi associés à des modifications au niveau du pH final et du temps pour arriver au point d'inflexion de la courbe. La pratique du parcours a pour conséquence de faire varier les valeurs des paramètres d'acidification, de même que la présence de sainfoin dans la ration de foin et la quantité de foin de prairie permanente. Ainsi, les modifications de pratiques alimentaires sont associées de façon importante à des changements de profil d'acidification en élevage. Il est cependant difficile d'interpréter tous ces résultats car peu de références existent sur le sujet et nous ne disposons pas des valeurs azotées et énergétiques des aliments distribués par les éleveurs.

On peut émettre comme hypothèse que l'association mise en évidence entre l'alimentation et les paramètres d'acidification peut être due à des modifications au niveau des flores microbiennes des laits mais aussi de sa physico-chimie. En effet, chaque fromagerie fermière constitue une niche écologique particulière abritant une flore microbienne qui lui est propre (Corrolier *et al.*, 1998 ; Tormo, 1999) : celle-ci est apportée par l'environnement végétal de la ferme : herbe, foin, ensilages, céréales, par les chèvres, le matériel de traite et de fromagerie sur lesquels les bactéries forment des biofilms. La flore lactique pourrait venir des végétaux. Pucet et Lefrileux, (2000) ont montré que des laits UHT ayant macéré dans des graminées comportaient  $10^9$  UFC / ml de lactocoques et  $10^7$  UFC / ml de leuconostocs. Ceci dit, la relation entre les flores des laits et l'alimentation n'a pas pu être étudiée dans le cadre de cette étude.

### 2.1.2. Les pratiques de traite

**Tableau 3** : pratiques de traite associées aux paramètres d'acidification ( $p < 0,05$ )

Paramètres d'acidification	Pratiques de traite influentes	P *
PH final	Nombre de trayeurs (matin)	0,0258
	Durée de la traite du matin	0,0439
Temps pour atteindre le point d'inflexion	Durée de la traite du matin	0,0394
	Autres changements sur la machine à traire	0,0121
Vitesse maximale d'acidification	Durée de la traite du soir	0,0005
	Type de nettoyage de la machine à traire le soir	0,002

\* P : probabilité associée au test de Fisher

Des associations ont été mises en évidence entre la durée de la traite et les valeurs des paramètres d'acidification. Cela peut être lié à l'effet de la Période en général mais ces durées peuvent avoir un rôle direct en impliquant des durées de caillage plus ou moins longues. Le facteur Nettoyage est difficile à prendre en compte car il est très lié à l'effet Eleveur. Les changements sur la machine à traire induisent des temps pour atteindre le point d'inflexion plus longs, cette liaison pouvant être soit directe (changements des biofilms au niveau de la machine à traire) ou indirecte (changements consécutifs à des problèmes de Qualité du lait). Les analyses réalisées sur les laits n'étaient pas assez fréquentes pour répondre à cette question.

## 2.2. MISE EN RELATION DES PARAMETRES D'ACIDIFICATION AVEC LES ANALYSES DE LAIT ET DE LACTOSERUM

**Tableau 4** : microflores des laits associées aux paramètres d'acidification

Paramètres	Flores influentes	Coeff reg	R <sup>2</sup> modèle
pH final	<i>Leuconostocs</i>	4,28	0,1475
N	Flore totale	72,8	0,1396
	Flore acidifiante	-142,7	0,2359
	Coliformes	47,92	0,3188
V max	<i>Leuconostocs</i>	-0,000046	0,1014
	Entérocoques	0,00028	0,1863

La microflore des laits et des lactosérums a un rôle sur les 3 paramètres étudiés caractérisant la courbe d'acidification, comme le montrent les tableaux 4 et 5.

L'observation des R<sup>2</sup> montre cependant que l'influence des flores des lactosérums est plus importante sur les paramètres d'acidification que les flores des laits.

**Tableau 5** : microflores des lactosérums associées aux paramètres d'acidification

Paramètres	Flores influentes	Coeff reg	R <sup>2</sup> modèle
pH final	Flore acidifiante	-0,06918	0,1018
	Coliformes	0,05786	0,2238
	Levures et moisissures	-0,03214	0,2688
N	Flore totale	-126,69	0,3911
	Entérocoques	25,24	0,5161
	Coliformes	46,77	0,5451
V max	<i>Leuconostocs</i>	-0,0004	0,0707
	Flore acidifiante	0,00037	0,1846
	Coliformes	-0,00016	0,2735

Ainsi, les *leuconostocs* issus du lait ou du lactosérum tendent à réduire la vitesse maximale d'acidification, ce qui est cohérent avec les connaissances sur ce germe (Devoyod et Poullain, 1988). Les *leuconostocs* dans le lait tendent aussi à réduire la valeur du pH final. Les coliformes dans le lait ou le lactosérum nuisent à l'acidification : elle est retardée, avec une vitesse maximale d'acidification moindre et elle est moins importante (pH finaux plus élevés). Les coliformes ont effectivement un rôle acidifiant (Masle et Gobin, 2001) mais leur quantité peut être très importante dans cette étude. Ils rentrent alors certainement en compétition avec les lactocoques plus acidifiants, même si ces derniers restent majoritaires. La flore acidifiante joue bien sûr un rôle contraire à ces deux flores, ce qui est bien connu par ailleurs (Biancho Salvadori, 1996). On peut remarquer que l'augmentation du niveau de flore totale au niveau du lactosérum induit des temps plus courts pour arriver au point d'inflexion Ceci est certainement en lien avec une augmentation de la flore acidifiante qui suit la même évolution que la flore totale au niveau des lactosérums. Il n'en est pas de même au niveau du lait. Les entérocoques sont des germes acidifiants ce qui peut expliquer le fait que leur nombre en augmentation dans le lait tend à faire augmenter la vitesse maximale d'acidification. Cependant, ceux contenus dans le lactosérum tendent à retarder le début de l'acidification, ce qui est difficile à interpréter.

Les levures et moisissures en quantité plus importante tendent à faire diminuer les pH finaux. Cet effet est certainement indirect, les levures / moisissures ayant comme propriété de stimuler la croissance des lactocoques (Hermier *et al.*, 1992).

## CONCLUSION

L'activité acidifiante du lactosérum en exploitation est très liée aux conditions de fabrication, en particulier à la température de caillage. Celle-ci semble difficilement maîtrisable par les éleveurs, ce qui est à prendre en compte dans le cadre du conseil apporté aux éleveurs. Les conditions de prématuration pratiquées dans les élevages suivis ne sont pas satisfaisantes pour l'acidification et méritent d'être davantage explorées. Cette étude a permis de mettre en évidence aussi l'influence importante de la composition microbiologique du couple lait-lactosérum sur l'acidification. Des indicateurs (coliformes, *leuconostocs*, flore acidifiante) peuvent être utilisés lors d'appuis techniques. Les changements de pratiques alimentaires ont été associés à des modifications de profil d'acidification mais il serait intéressant de poursuivre ces investigations en conditions plus contrôlées.

*Cette étude a été conduite avec le soutien financier de l'enveloppe Recherche de l'A.C.T.A et de l'A.C.T.I.A, du ministère de l'Agriculture et de la Pêche et du ministère de la Recherche. Nous remercions tous les éleveurs ayant participé à l'étude.*

- Beuvier E., Berthaud K., Cegarra S., Dasen A., Pochet S. Buchin S., Duboz G., 1997.** Int. Dairy Journal, 7(5), 311 – 323.
- Bianchi Salvadori B., 1996.** Ann. Microbiol. Enzimol., 46, 79-95.
- Corroler D., Mangin I., Desmazures N., Gueguen M., 1998.** Applied and Environmental Microbiol., Dec 1998, 4729-4735.
- Demarigny Y., Beuvier E., Buchin S., Pochet S., Grappin R., 1997.** Le Lait, hors série 77, 151-168.
- Devoyod J.J., Poullain F., 1988.** Le Lait, 68(3), 249-280.
- Guéguen M., Desmazures N., Corroler D., 1997.** Comptes rendus de l'Académie d'Agriculture de France, 83(5), 41-58.
- Hermier J., Lenoir J., Weber F., 1992.** Les groupes microbiens d'intérêt laitier. CEPIL, 184-185.
- Laithier C., Chatelin Y.M., Tormo H., Lefrileux Y., Gaüzère Y., 2003.** Actes Renc. Rech. Ruminants, 10, 233.
- Le Jaouen J.C., 1990.** La fabrication du fromage de chèvre fermier. ITOVIC, 5<sup>ème</sup> édition, Paris. 209 pages.
- Martin B., Coulon J.B., Chamba J.F., Bugaud C., 1997.** Le Lait, 77, 505-514.
- Masle I., Gobin F., 2001.** Aptitude à l'acidification et caractérisation des laits et des sérums mis en oeuvre dans la fabrication des Sainte Maure de Touraine. ITPLC, rapport d'étude.
- Masle I., Morgan F., 2001.** Le Lait, 81, 561-569.
- Pucet S., Lefrileux Y., 2002.** Influence de la flore indigène du lait cru sur son acidification. PEP Caprin R. Alpes, rapport d'étude.
- Spinnato N., Tormo H., 1994.** Aptitude fermentaire des laits crus de chèvre et de leurs lactosérums. Centre Fromager de Carnejeane, rapport d'étude.
- Tormo H., 1999.** Le lactosérum, levain naturel en technologie lactique au lait de chèvre. Université Claude Bernard Lyon I et E.N.V de Lyon, rapport de DEA.
- Viguie S., Breau S., Jaubert G., 1992.** Revue ENIL, 159, 17-21.