

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945

Université 8 Mai 1945 Guelma

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologique

Département : Ecologie et Génie de l'environnement

Option : Microbiologie Appliquée

**Evaluation de la qualité microbiologique et physico-chimique du  
lait UHT et lait en poudre**

Présenté par :

Soutenu le 12/09/2021

- Boumrah Chaima
- Khirouni Rayane

Devant le jury composé de:

Président	Dr. Ben osman S.	M.C.B	Université de Guelma
Examineur	Dr. Rouaiguia M.	M.C.B	Université de Guelma
Encadreur	Dr. Djamaa F.	M.C.B	Université de Guelma

2020/2021

## **Remerciement**

*Avant toute chose, nous remercions «Allah» qui nous donné la patience, le courage et la volonté de mener à terme ce modeste travail.*

*Nous tiens aussi à présenter nos sincères remerciements à mes professeurs pour leur Aide et leurs conseils.*

*Nos remerciements s'adressent également à :*

*À notre président de jury **Dr. BEN OSMAN S**, Maître de conférences B à l'université de Guelma pour d'avoir fait l'honneur de présider le jury.*

*À notre examinatrice **Dr. ROUAIGUIA M**, Maître de conférences B à l'université de Guelma, pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail en acceptant d'examiner notre travail.*

***Dr. DJEMAA F**, notre promoteur pour avoir accepté d'encadrer*

*Ce travail et d'avoir dirigé cette étude ;*

*Par ses Conseils, ses encouragements, ses connaissances et sa patience tout au long de notre Travail.*

*Un merci particulier à **Dr. RAZKALLAH. Z**, Docteur à l'université de Guelma pour son aide, ses judicieux conseils et son soutien scientifique et moral.*

*Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de l'Université de Guelma*

*Enfin, nous remercions tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire de fin d'étude*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents, qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde gratitude pour leur amour, leur encourage et leur soutien tout au long de mes études, que DIEU les bénisse.*

*A mon mari **Hicham** qui m'a toujours soutenue et encouragée*

*A mes chères sœurs **Maissa, Nihèd et Iness***

*A mes chers frères **Fares et Ala eddine***

*A tous mes amies surtout **Rayane, Chahinez, Marwa et Hadjer** ; elles sont le meilleur amie qui existe, je te souhaite un avenir plein de joie, de réussite et de bonheur.*

*A toutes ma famille en entier **Boumrah** ainsi que la famille de mon mari **Mesekheur***

*A mon encadreur **Dr.Djamaa F**, Je remercie pour votre disponibilité et vos précieux conseils.*

*A tous mes collègues de promotion*

*A tous ceux que j'aime.*

**Chaima**

## *Dédicace*

*J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail*

*A la mémoire de mon cher père, mon bon exemple dans la vie, j'ai tellement de chance que tu sois mon père, je demande à dieu de te garder dans ces vaste paradis, et je sais que tu es fier de moi et d'où je suis maintenant.*

*A ma chère mère, à celle qui a sacrifié tout ce qui lui était cher pour m'apporter éducation, soutient, aide et encouragement pour être enfin qui je suis. A celui qui a joué le rôle de père et de mère, louange à dieu, un profond respect et fierté.*

*A mon frère **Haroune***

*A mes amis d'enfance **Imane** et **Nahla** et mes amis qui nous ont réunis les jours mon binôme **Chaima, Chahinez Marwa, Manal** et **Rayane**.*

*A tous ma famille en entier **Khirouni**.*

*A tous mes collègues de promotion*

*A tous ceux que j'aime.*

***Rayane***

## Table des matières

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

*Introduction* ..... 1

*Partie Bibliographique*

*Chapitre 01 : Généralités sur le lait*

*1. Définition du lait* ..... 3

*2. Importance nutritionnelle* ..... 3

*3. Composition du lait* ..... 4

*3.1. Eau* ..... 5

*3.2. Matière grasse* ..... 5

*3.3. Matière azotée* ..... 6

*3.4. Le lactose* ..... 7

*3.5. Les minéraux* ..... 8

*3.6. Vitamines* ..... 9

*3.7. Enzymes* ..... 9

*4. Lait de consommation* ..... 10

*4.1. Etapes de fabrication de lait* ..... 10

*4.1.1. Fabrication de lait UHT* ..... 10

*4.1.2. Fabrication de lait en poudre* ..... 11

*4.2. Les différents laits de consommation* ..... 14

*5. Méthodes de conservation* ..... 16

*5.1. Les techniques de conservation par le froid* ..... 16

*5.1.1. La réfrigération* ..... 16

5.1.2. <i>La congélation</i> .....	16
5.1.3. <i>La surgélation</i> .....	17
5.2. <i>Les techniques de conservation par la chaleur</i> .....	17
5.2.1. <i>La pasteurisation</i> .....	17
5.2.2. <i>L'Appertisation</i> .....	17
5.2.3. <i>La technique UHT</i> .....	17
5.2.4. <i>La stérilisation</i> .....	18
5.3. <i>Les techniques de conservation par séparation et élimination d'eau « déshydratation »</i> .....	18
5.3.1. <i>Le séchage</i> .....	18
5.3.2. <i>La lyophilisation</i> .....	19
 <i>Chapitre 02 :Qualité du lait</i>	
1. <i>Qualité microbiologique</i> .....	20
2. <i>Qualité organoleptique</i> .....	22
3. <i>Les propriétés physico-chimiques du lait</i> .....	23
3.1. <i>La masse volumique</i> .....	23
3.2. <i>La densité</i> .....	23
3.3. <i>Le point de congélation</i> .....	24
3.4. <i>Le point d'ébullition</i> .....	24
3.5. <i>L'acidité</i> .....	24
 <i>Partie Expérimentale</i>	
<i>Matériel et méthodes</i>	
1. <i>Objectif</i> .....	25
2. <i>Matériel et méthodes</i> .....	25
2.1. <i>Matériel et milieux utilisés</i> .....	25
2.1.1. <i>Matériel utilisés pour les analyses physico-chimiques</i> .....	25
2.1.2. <i>Matériels utilisés pour les analyses microbiologiques</i> .....	25

2.1.3. Milieux de cultures utilisés pour les analyses microbiologiques .....	26
3. Préparation des dilutions .....	26
4. Analyses physico-chimiques .....	29
4.1. Lactoscan .....	29
4.2. Détermination de pH et la température .....	29
4.3. Détermination de l'acidité.....	30
5. Analyses microbiologique .....	31
5.1. La recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FTAM).....	31
5.2. La recherche des coliformes totaux et fécaux .....	31
5.3. La recherche des staphylocoques.....	34
5.4. La recherche des Salmonelles .....	34
5.5. La recherche de Clostridium.....	35
5.6. La recherche des bactéries lactique .....	36
5.7. La recherche des levures et moisissures .....	37
6. Identification .....	38
6.1. Coloration de Gram .....	38
6.2. Mise en évidence des tests biochimiques .....	39
6.2.1. Teste oxydase .....	39
6.2.2. Teste catalase .....	40
6.2.3. Galerie API 20 .....	40
<i>Résultats et discussion</i>	
1. Résultats et discussion des analyses physico- chimiques du lait UHT .....	44
2. Résultats et discussion des analyses physico- chimiques du lait en poudre .....	45
3. Résultats et discussion des analyses microbiologique.....	45
3.1. Flore mésophile aérobie totale (FTAM).....	45
3.2. Les Coliformes .....	46
3.3. Les Staphylocoques .....	49

<b>3.4. Les Clostridium .....</b>	<b>50</b>
<b>3.5. Les Salmonelles .....</b>	<b>51</b>
<b>3.6. Les levures et moisissures .....</b>	<b>52</b>
<b>3.7. Les bactéries lactiques .....</b>	<b>53</b>
<b>4. Identification .....</b>	<b>53</b>
<b>4.1. Coloration de Gram .....</b>	<b>53</b>
<b>4.2. Mise en évidence des tests biochimiques .....</b>	<b>56</b>
<b>4.2. 1. Test catalase .....</b>	<b>56</b>
<b>4.2. 2. Test oxydase .....</b>	<b>56</b>
<b>4.2. 3. Galerie API 20 .....</b>	<b>57</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>62</b>

**Références bibliographiques**

**Resumé**

**Annexe**

## Liste des abréviations

**°C** : Degré Celsius

**ANP** : Azote Non Protéique

**Aw**: Activity water (Activité de l'eau)

**D°** : Degré Dornic

**FAO**: Food and Agriculture Organization

**g** : Gramme

**GEM RCN** : Groupe d'Etude des Marches de Restaurant Collective et de Nutrition

**HTST**: High Temperature Short Time

**LTLT**: Low Temperature Long Time

**Min**: Minute

**Pa** : Pascale

**pH** : potentiel d'hydrogène

**S**: Seconde

**tr/min** : tour par minute

**UFC** : Unité Formant Colonie

**UHT** : Ultra Haute Température

**UV** : Ultra-violet

**μ** : Micro

## Liste des tableaux

N° de Tableaux	Titre de tableaux	Page
<b>1</b>	Composition moyenne du lait entier	<b>4/5</b>
<b>2</b>	Les substances azotées non protéiques	<b>7</b>
<b>3</b>	La composition minérale dans le lait	<b>8</b>
<b>4</b>	Caractéristique des principaux enzymes du lait	<b>10</b>
<b>5</b>	Flore microbienne du lait	<b>21</b>
<b>6</b>	Les résultats des analyses physico-chimiques du lait UHT	<b>44</b>
<b>7</b>	Analyses physico-chimiques du lait en poudre	<b>45</b>
<b>8</b>	Résultats de dénombrement de la FTAM dans le lait UHT et lait en poudre	<b>46</b>
<b>9</b>	Résultats de dénombrement des coliformes totaux dans le lait UHT et en poudre	<b>47</b>
<b>10</b>	Résultats de dénombrement des CF dans le lait UHT et en poudre	<b>48</b>
<b>11</b>	Résultats de dénombrement des staph dans le lait UHT et en poudre	<b>49</b>
<b>12</b>	Résultats de dénombrement des clostridium dans le lait UHT et en poudre	<b>50</b>
<b>13</b>	Résultats de dénombrement des salmonelles dans le lait UHT et en poudre	<b>51</b>
<b>14</b>	Résultats de dénombrement des levures et moisissures dans le lait UHT/poudre	<b>52</b>
<b>15</b>	Résultats des tests biochimiques (catalase et oxydase)	<b>57</b>
<b>16</b>	Résultat de galerie API 20NE de la souche sur milieu PCA (lait UHT)	<b>58</b>
<b>17</b>	Résultats de galerie API 20NE de la souche sur milieu PCA (lait en poudre)	<b>58</b>
<b>18</b>	Résultats de la galerie API 20NE de la souche sur milieu M17 (UHT)	<b>58</b>
<b>19</b>	Résultats de la galerie API 20NE de la souche sur milieu M17 (poudre)	<b>59</b>
<b>20</b>	Résultats de la galerie API 20NE de la souche sur milieu MRS (UHT)	<b>59</b>
<b>21</b>	Résultats de la galerie API 20NE de la souche sur milieu MRS (poudre)	<b>60</b>
<b>22</b>	Résultats de la galerie API 20 STREP de la souche sur le milieu M17 (UHT)	<b>61</b>
<b>23</b>	Résultats de la galerie API 20STREP de la souche sur le milieu M17 (poudre)	<b>61</b>

## Liste des figures

N° de figure	Titre de figure	Page
<b>1</b>	Composition de la matière grasse du lait.	<b>6</b>
<b>2</b>	Processus de fabrication de lait en poudre.	<b>12</b>
<b>3</b>	Technique de préparation des dilutions décimales successives.	<b>27</b>
<b>4</b>	Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.	<b>28</b>
<b>5</b>	L'appareil Lactoscan.	<b>30</b>
<b>6</b>	pH-mètre.	<b>30</b>
<b>7</b>	La mesure de l'acidité.	<b>30</b>
<b>8</b>	Recherche des coliformes totaux.	<b>32</b>
<b>9</b>	Recherche des coliformes fécaux à partir d'un tube positif de BCPL.	<b>33</b>
<b>10</b>	Figure présenter la formation de l'anneau rouge après l'incubation.	<b>33</b>
<b>11</b>	Observation macroscopique de dénombrement de FTAM dans la gélose PCA.	<b>46</b>
<b>12</b>	Résultat de la présence des coliformes totaux.	<b>47</b>
<b>13</b>	Résultat de présence des coliformes fécaux.	<b>48</b>
<b>14</b>	Observation macroscopique des staphylocoques dans la gélose Chapman.	<b>49</b>
<b>15</b>	Observation macroscopique des staphylocoques dans la gélose viande fois (poudre).	<b>50</b>
<b>16</b>	Observation macroscopique des salmonelles dans la gélose SS (absence).	<b>51</b>
<b>17</b>	Observation macroscopique des levures et moisissures dans la gélose saburraud.	<b>52</b>
<b>18</b>	Observation macroscopique des lactobacilles et lactoscoques dans la gélose MRS et M17 (lait UHT et poudre).	<b>53</b>
<b>19</b>	Observation microscopique optique de frottis bactérien après de coloration de Gram sur milieu PCA de lait UHT et en poudre (objectif ×40).	<b>54</b>
<b>20</b>	Observation au microscope optique de frottis bactérien après coloration de Gram sur milieu Chapman du lait UHT et en poudre (objectif ×40).	<b>54</b>
<b>21</b>	Observation au microscope optique de frottis bactérien après coloration de Gram sur milieu Chapman du lait UHT et en poudre (objectif ×40).	<b>55</b>
<b>22</b>	Observation au microscope optique de frottis bactérien après coloration de gram sur milieu MRS du lait UHT et en poudre (objectif ×40).	<b>55</b>
<b>23</b>	résultat de test oxydase.	<b>56</b>
<b>24</b>	Observation des résultats de test oxydase.	<b>57</b>

<b>25</b>	Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu PCA (lait UHT).	<b>58</b>
<b>26</b>	Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu PCA (lait en poudre).	<b>58</b>
<b>27</b>	Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu M17 (lait en poudre).	<b>59</b>
<b>28</b>	Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu M17 (lait en poudre).	<b>59</b>
<b>29</b>	Résultat de la galerie API 20 NE de la souche sur milieu MRS (lait UHT).	<b>60</b>
<b>30</b>	Résultat de la galerie API 20 NE de la souche sur milieu MRS (lait en poudre).	<b>60</b>
<b>31</b>	Résultat de la galerie API 20 STREP de la souche sur milieu M17 (lait UHT).	<b>61</b>
<b>32</b>	Résultat de la galerie API 20 STREP de la souche sur milieu M17 (lait en poudre).	<b>61</b>

# *Introduction*

S'il existe un domaine où le contrôle de la qualité est une nécessité fondamentale, c'est bien celui des produits alimentaires en générale, et du lait en particulier. La transformation laitière, qu'elle porte sur du lait cru ou la poudre de lait importée, requiert donc le respect d'une hygiène stricte tout au long de la chaîne.

Les produits laitiers contribuent à l'équilibre nutritionnel de la famille, tant en milieu rural qu'en milieu urbain. Sources importantes en protéines, ils contribuent à environ 14% des protéines et 20% des calories des produits animaux (**Guigma, 2013**).

De tous les aliments, le lait est un aliment pratiquement complet, et celui qui se rapproche le plus d'un aliment idéal, il peut couvrir tous les besoins de l'organisme durant les premiers mois de vie, il contient principalement tous les éléments nécessaires à la croissance et au développement harmonieux de l'organisme humain. Cette richesse et cette diversité de constituants font donc du lait sous toutes ses formes un des éléments de base d'un régime alimentaire équilibré (**Benallegue et Debbeche, 2015**).

Le lait est aussi un aliment essentiel et indispensable à notre alimentation, il constitue un produit de base dans le modèle de consommation algérienne. En effet, L'Algérie est considérée le deuxième pays importateur de lait et produit dérivés après le Mexique dans le monde. En effet, aucun aliment ne contient autant de calcium indispensable au développement de l'enfant et de l'adolescent, autant de protéines biologique, autant de graisses lactiques digestibles, de vitamines et sels minéraux dans le lait UHT. Ainsi tous ces éléments de base font de lui un produit de base (**Benallegue et Debbeche, 2015**).

En fonction de divers traitements, les laits de consommation disponibles actuellement sur le marché algérien sont les suivant : le lait cru, le lait pasteurisé, le lait stérilisé, le lait stérilisé à Ultra Haute Température (U.H.T). Cependant, le lait peut faire l'objet d'un certain nombre d'altérations et de contaminations par des micro-organismes responsables d'intoxication ou de toxi-infection alimentaire : en effet, le lait s'il n'est pas seulement un élément nutritif, il souvent un milieu de culture idéal pour la croissance microbienne y compris les micro-organismes pathogènes pour l'homme dont l'ingestion peut causer différentes pathologies (**Benallegue et Debbeche, 2015**).

Donc, les consommateurs doivent être attentifs aux qualités sanitaires des laits. Ainsi, durant la traite, la collecte et les différentes étapes de transformation, le lait peut subir des

modifications des paramètres physico-chimiques et des contaminations microbiologiques pouvant constituer des risques sanitaires pour les consommateurs.

En Algérie ; la filière lait est considérée comme étant la plus importante après la filière céréale où la consommation augmente de 950 millions de litres en 1970 à 3700 millions de litres en 1985 pour redescendre à 3380 millions actuellement (**Benallegue et Debbeche, 2015**).

Malgré l'évolution des processus technologiques qui assurent une certaine garantie hygiénique du lait, le consommateur reste très attaché au produit naturel et frais comme le lait cru, et le lait U.H.T. depuis des dizaines d'années, tout le lait commercialisé est soumis au contrôle officiel de qualité. Ce contrôle fait l'objet d'une attention particulière et les exigences applicables à la commercialisation de ce produit sont déterminantes pour l'évaluation de sa qualité nutritive et hygiénique (**Benallegue et Debbeche, 2015**).

L'objectif de ce travail est l'étude de la qualité du lait U.H.T et lait en poudre.

Dans ce travail la qualité des deux types des laits a été évaluée par la réalisation de tests physico-chimiques (densité, température, pH, acidité titrable..) ainsi qu'une étude bactériologique. Ces derniers ont été effectués au niveau du laboratoire sur des échantillons prélevés sur des boîtes du lait achetées du commerce.

Cette étude nous a permis d'apprécier et de savoir : si les deux marques du lait répondent aux normes physico-chimiques et aux normes microbiologiques.

*Partie*

*Bibliographique*

***Chapitre 01 :***  
***Généralités sur le lait***

## **1. Définition du lait**

Le lait était défini en 1908 au cours du Congrès International de la Répression des Fraudes à Genève comme étant « Le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Le lait doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir du colostrum » (**Benissad et Djoudi, 2015**).

Le colostrum est le liquide sécrété par la glande mammaire dans les jours qui suivent la mise bas.

Le Codex Alimentarius en 1999, définit le lait comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou un traitement ultérieur.

Le lait est un liquide blanc, opaque, d'une odeur peu prononcée, d'un goût légèrement sucré et d'une viscosité égale à deux fois celle de l'eau. Ce complexe hétérogène, altérable et de composition variable, est le résultat de la sécrétion mammaire de femelles mammifères. En pratique, le lait a pour fonction d'être non seulement un aliment exclusif des jeunes, mais il doit être aussi présent dans l'alimentation humaine et comme matière première dans la transformation industrielle (**Bettayeb et Hamichi, 2019**).

Le Petit Larousse le définit tout simplement comme « liquide produit par les femelles des mammifères, aliment complet qui assure la subsistance du jeune au début de sa vie grâce à sa richesse en graisses émulsionnées, en protides, en lactose, en vitamines et en sels minéraux » (**Fournier et Goulet, 2004**).

## **2. Importance nutritionnelle**

Le lait joue un rôle très important dans l'alimentation humaine, tant au point de vue calorique que nutritionnel. Un litre de lait correspond à une valeur d'environ 750 kcal facilement utilisables. Comparativement aux autres aliments, il constitue un élément de haute valeur nutritionnelle. L'intérêt alimentaire du lait est :

- ✓ Une source de protides d'excellente valeur biologique.
- ✓ La principale source de calcium.
- ✓ Une source de matière grasse.
- ✓ Une bonne source de vitamines.

Ainsi, le lait est reconnu pour participer à :

- La santé osseuse.
- La réduction du risque de diabète de type 2.
- Le contrôle de la pression artérielle.
- La diminution des risques de maladies cardio-vasculaires et de cancer du côlon.
- La gestion du poids.
- Le maintien de la masse musculaire chez les séniors.
- La récupération après un effort physique [1].

Le lait est également une excellente source de minéraux intervenant dans divers métabolismes humains notamment comme cofacteurs et régulateurs d'enzymes. Le lait assure aussi un apport non négligeable en vitamines connues comme les vitamines A, D, E (liposolubles) et vitamines B1, B2, B3 (hydrosolubles). Il est néanmoins pauvre en fer et en cuivre et il est dépourvu de fibres (**Kara et Touatia, 2020**).

### 3. Composition du lait

Le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé contient une source de calcium et de protéines, il peut être ajouté à notre régime sous plusieurs formes (**Boudechiche et Dahmar, 2019**).

Les principaux constituants du lait par ordre croissant, de l'eau très majoritairement, des glucides représentés principalement par le lactose, des lipides essentiellement des triglycérides rassemblés en globules gras, des protéines : caséines rassemblés en micelles, albumines et globulines solubles, des sels minéraux à l'état ionique et moléculaire et des éléments à l'état de traces mais au rôle biologique : enzymes, vitamines, oligo-éléments (**Tableau 1**).

**Tableau 1** : Composition moyenne du lait entier (**Sehli, 2017**).

Composants	Teneurs (g / 100g)
<b>Eau</b>	89.5
<b>Dérivés azotés</b>	3.44
<b>Protéines</b>	3.27
<b>Caséine</b>	2.71
<b>Protéines solubles</b>	0.56
<b>Azote non protéique</b>	0.17

<b>Matières grasses</b>	3.5
<b>Lipides neutres</b>	3.4
<b>Lipides complexes</b>	<0.05
<b>Composés liposolubles</b>	<0.05
<b>Glucides</b>	4.8
<b>Lactose</b>	4.7
<b>Gaz dissous</b>	5% du volume du lait
<b>Extrait sec total</b>	12.8

En outre, le lait renferme des micro-organismes dont le nombre et la diversité sont fonction de l'état de santé de l'animal, de la conduite de traite et des manipulations ultérieures subies par le lait. Les microcoques saprophytes de la mamelle et les ferments lactiques sont constamment retrouvés dans le lait du fait de leur origine mammaire.

Il peut également véhiculer des virus, rickettsies ainsi que des parasites (**Mourou Madougou, 2010**).

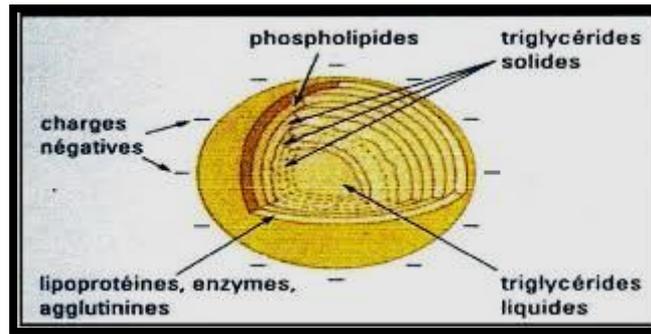
### 3.1. Eau

L'eau est le constituant le plus important du lait, en proportion. La présence d'un dipôle et de doublets d'électrons libres lui confère un caractère polaire. Ce caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaire telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines hydrophiles du sérum. Puisque les matières grasses possèdent un caractère non polaire (ou hydrophobe), elles ne pourront se dissoudre et formeront une émulsion du type huile dans l'eau (H/E). Il en est de même pour les micelles de caséines qui formeront une suspension colloïdale puisqu'elles sont solides.

Il est important de noter que l'eau forme un arrangement hexagonal précis lorsqu'elle atteint son point de congélation. Cet arrangement fait augmenter le volume de l'eau et diminuer sa masse volumique. Cette caractéristique est importante lors de la fabrication des produits laitiers glaciers, qui peut entraîner la formation de cristaux de glace (**Amiot et al., 2002**).

### 3.2. Matière grasse

Les matières grasses du lait se composent principalement de triglycérides (98%), de phospholipides (1%) et d'une fraction insaponifiable (1%) constituée en grande partie de cholestérol et de  $\beta$ -carotène (**Figure 1**) (**Maribal, 2010**).



**Figure 1** : Composition de la matière grasse du lait (Mayouf, 2019).

### 3.3. Matière azotée

La teneur moyen en protéines d'un lait normal est d'environ 3,2%, ce qui représente 95% de l'azote total de ce lait. Les autre représente 5% sont formés par la matière azotée non protéique (urée, créatine, créatinine, acides aminés, petits peptides, ammoniac) sont indiquées dans le tableau ci-dessous (**Tableau 2**).

Environ 80% des protéines du lait sont constituées de caséines qui précipitent à pH 4,6 et forment la matrice fromagère, les 20% restants forment les protéines du lactosérum qui sont solubles à toutes les valeurs de pH si elles ne sont pas dénaturées.

Les protéines du lait existent sous un grand nombre de structures différentes. Elles peuvent être toutefois subdivisées en deux grandes catégories, qui correspondent, à deux formes structurales très dissemblables. La première catégorie est constituée par les protéines solubles, dites protéines du lactosérum, qui ne précipitent pas lors de la coagulation enzymatique du lait, ou lors d'une acidification (**Ilboudou et al., 2012**).

La phase micellaire représente la caséine totale (environ 80% des protéines du lait) du lait. Elle est formée par quatre protéines individuelles :

- ✓ Alpha-caséines ou caséines  $\alpha_1$  36% et  $\alpha_2$  10%
  - ✓ Beta-caséine ou caséine  $\beta$  34%
  - ✓ Kappa-caséine ou caséine  $\kappa$  13%
  - ✓ Gamma-caséines ou caséines  $\gamma$  7% (produits de la protéolyse de la  $\beta$ -caséine)
- (**Benhedane, 2012**).

Tableau 2 : Les substances azotées non protéiques (Mathieu, 1998).

	Teneur du lait en azote Correspondant à chaque Constituant ou groupe de constituants, exprimée en g.l <sup>-1</sup>	Teneur du lait en chaque Constituant ou groupe de Constituants, exprimée en g.l <sup>-1</sup>
Urée	0,140	0,30
Acides aminés : Acide glutamique, glycineou glycocolle, arginine, acide aspartique, sérine, lysine, valine	0,044	0,29
Peptides	0,037	0,24
Créatine	0,027	0,09
Acide orotique	0,020	0,12
Créatinine	0,008	0,02
Ammoniac	0,005	0,01
Acide urique	0,005	0,02
Autre substances	0,006	
<b>Substances azotées non protéiques</b>	<b>0,29 (ANP)</b>	<b>1,5</b>

### 3.4. Le lactose

Le lactose est le principal sucre dans le lait et il représente plus de la moitié de l'extrait sec. Le lactose se forme dans les glandes mammaires à partir du glucose et du galactose. Il se trouve sous deux formes isomères en équilibre dans le lait : le lactose hydraté ou  $\alpha$ -lactose et le lactose anhydride ou  $\beta$ -lactose. Ces deux formes diffèrent par la configuration stérique de l'atome d'hydrogène et du groupe hydroxyle OH au niveau du carbone C1 du glucose.

A l'état sec, le lactose se présente sous différentes formes : amorphe s'il est séché suffisamment vite ou cristallisé sous des formes anhydres ( $\alpha$  et  $\beta$ ) ou encore monohydraté ( $\alpha$ ). Le lactose  $\alpha$ -monohydraté (L  $\alpha$ -H<sub>2</sub>O) est la forme naturelle stable du lactose à température ambiante, mais il peut se présenter aussi en cristaux sous de nombreuses formes (Alseny, 2017).

### 3.5. Les minéraux

Les minéraux du lait sont principalement constitués de bicarbonates, chlorures, citrates et bicarbonates de calcium, magnésium, potassium et sodium. Tous les minéraux sont répartis entre une phase soluble et une phase colloïdale et alors que les ions monovalents existent en grande partie, ou totalement, dans la phase soluble, jusqu'à 66% du calcium et 55% du phosphore peuvent être dans la phase colloïdale (**Tableau 3**). La répartition du calcium, du citrate, du magnésium et du phosphate entre les phases solubles et colloïdales et leurs interactions avec les protéines du lait ont des conséquences importantes sur la stabilité du lait et des produits laitiers (**Jane et al., 2001**).

**Tableau 3** : Répartition des minéraux du lait entre la phase colloïdal et aqueuse (**Jane et al., 2001**).

	<b>Soluble phase</b>	<b>Colloïdal phase %</b>
	<b>%</b>	
<b>Calcium totale</b>	33	67
<b>Calcium</b>	100	0
<b>Chloride</b>	100	0
<b>Citrate</b>	94	6
<b>Magnésium</b>	67	33
<b>Phosphore</b>	45	55
<b>Phosphore</b>	54	46
<b>Potassium</b>	93	7
<b>Sodium</b>	94	6

Le lait est une source importante de calcium alimentaire et il a été suggéré que l'association avec les caséines peut améliorer l'absorption dans le tractus gastro-intestinal. Le calcium est un facteur clé pour déterminer le développement sain des os et des dents chez les jeunes et un rapport adéquat est essentiel. Le statut calcique peut également être un facteur de développement de l'ostéoporose post-ménopausique chez la femme et de la consommation de lait de produits laitiers (produits laitiers enrichis) a été recommandé dans cette situation. Il est cependant douteux qu'un apport élevé en calcium plus tard dans la vie puisse inverser la détérioration des os qui est un facteur prédisposant à l'ostéoporose (**Jane et al., 2001**).

### 3.6. Vitamines

Le lait contient un grand nombre de vitamines :

- Des vitamines liposolubles (dissoutes dans la matière grasse) : A, D, E, K.

-Des vitamines hydrosolubles (dissoutes dans la fraction non grasse du lait) : thiamine (B1), riboflavine (B2), niacine (B3), acide pantothénique (B5), pyridoxine (B6), biotine (B7), acide folique (B9), cobalamine (B12), C.

Le lait est une excellente source de vitamines B15 (**José, 2014**).

- La vitamine A ou rétinol est active dans la transmission de la lumière par la rétine de l'œil, joue un rôle dans la protection de la peau et des muqueuses et a une action sur la croissance. Elle est thermosensible et sensible aux UV.
- La vitamine B1 ou thiamine intervient dans de nombreuses réactions du métabolisme intermédiaire et sa carence est responsable du béri-béri. C'est la plus thermosensible des vitamines ;
- La vitamine B2 ou riboflavine entre dans la composition d'un coenzyme transporteur d'hydrogène, le FAD. Elle est très sensible à la lumière ;
- La vitamine B12 ou cobalamine : la quantité contenue dans un litre de lait couvre 100% les besoins journaliers ;
- La vitamine D ou calciférol est la vitamine antirachitique. Elle intervient sur le métabolisme du calcium et du phosphore ;
- La vitamine E a une activité anti-oxydante (**Jeant *et al.*, 2008**).

### 3.7. Enzymes

Le lait contient principalement trois groupes d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases.

Le **tableau4** résume les différentes classes d'enzymes du lait ainsi le pH et la température d'activité maximale.

Tableau 4 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait (Makhoukh-Nabi, 2017).

Groupe d'enzymes	Classes d'enzymes	Ph	Température (°C)	Substrats
<b>Hydrolases</b>	<b><u>Estérase :</u></b>			
	Lipases	8,5	37	Triglycéride
	Phosphatase alcaline	9-10	37	Esters phosphoriques
	Phosphatase acide	4-	37	Esters phosphoriques
	<b><u>Protéases :</u></b>	5,2	37	phosphoriques
	Lysozyme		37	
	Plasmine	7,5		Paroi cellulaire microbienne
		8		Caséine
<b>Oxydases</b>	Sulfhydrileoxydases	7	37	Protéines, peptides
	Xanthine oxydases	8,3	37	Acide puriqueS
<b>Oxygénases</b>	Lactopéroxydase	6,8	20	Composés réducteurs+H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
	Catalase	7	20	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>

#### 4. lait de consommation

##### 4.1. Etapes de fabrication de lait

Avant d'arriver dans nos supermarchés, puis dans nos réfrigérateurs, le lait suit un parcours précis qui a pour but de le protéger. Élément fragile, afin d'éviter qu'il caille, on le pasteurise ou on le stérilise [2].

##### 4.1.1. Fabrication de lait UHT

- **La protection du consommateur**

A son arrivée en laiterie, le lait fait l'objet d'analyses drastiques pour écarter tout risque de contamination, puis il est pasteurisé ou stérilisé. La fabrication des produits laitiers, telle qu'elle est effectuée en France, vous garantit un produit sain [3].

- **La pasteurisation**

Le lait cru est stocké dans d'énormes citernes (ou tanks) pour être pasteurisé afin de supprimer les bactéries indésirables. On le chauffe précisément à 71,7°C pendant 15 secondes (procédé dénommé HTST). Puis il est réfrigéré autour de 3° à 4°

pour stopper la prolifération des germes restants. Ce traitement thermique est utilisé pour la fabrication des produits laitiers frais [3].

- **La transformation laitière se poursuit ensuite par l'écémage**

C'est l'écémeuse qui fait le travail en faisant tourner le liquide à très vive allure pour séparer la crème. On obtient ainsi soit du lait entier à 3,5% de matière grasse, soit du demi-écémé de 1,5% à 1,8% de matière grasse. Ou de l'écémé sans matière grasse. Vous le reconnaissez en magasin par la couleur de leur emballage (dans l'ordre : brique rouge, bleue ou verte) [3].

Le lait doit également répondre aux normes de composition. Selon la teneur en matière grasse, le conditionnement en France sera à dominante :

- verte pour le lait écémé, inférieur à 0,3% de matière grasse.
- bleue pour le lait demi-écémé ou allégé, compris entre 1,5 et 1,8%.
- rouge pour le lait entier à 3,5% de matière grasse [1].

- **La stérilisation UHT (Ultra Haute Température)**

C'est la dernière étape de la transformation laitière. On stérilise en chauffant à la vapeur d'eau ; la température doit atteindre 140°C pendant 2 secondes. C'est plus rapide que la pasteurisation et tous les micro-organismes sont, cette fois-ci, éliminés. La stérilisation est utilisée dans le cadre de la fabrication des briques de lait longue conservation également appelé lait UHT [3].

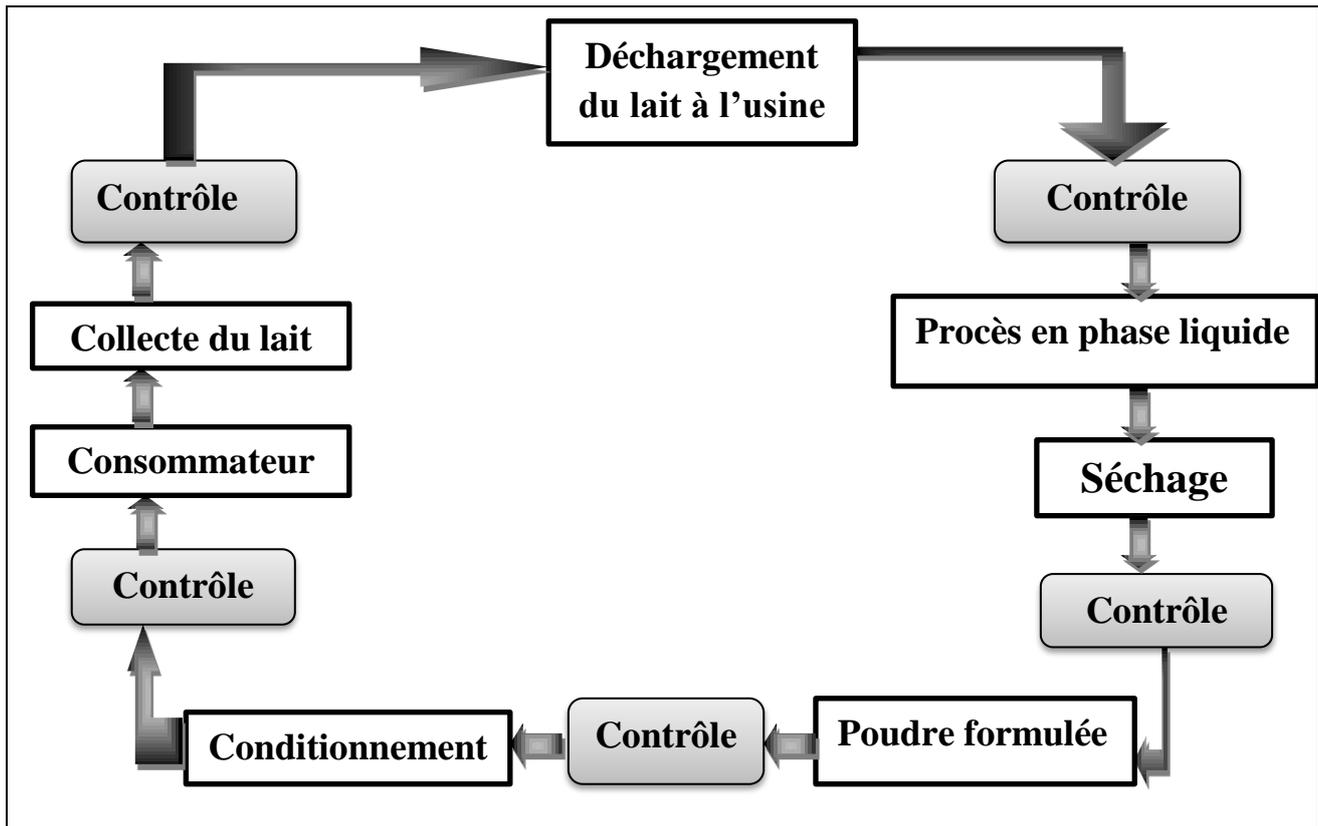
- **L'emballage**

Le lait est prêt à être emballé dans des briques ou des bouteilles le laissant à l'abri de l'air et de la lumière, afin de le conserver au mieux. Stocké, il peut ensuite être acheminé vers les épiceries et supermarchés [2].

#### 4.1.2. Fabrication de lait en poudre

➤ **Le processus**

Notre processus de production consiste en sept étapes essentielles (**Figure 2**) allant de la collecte du lait dans les fermes jusqu'à la finalisation du produit fini. Ces étapes se déroulent sur le même site de production ce qui nous permet de garantir la fraîcheur au produit fini. L'étape principale du processus de production est l'étape n° 4, le séchage par pulvérisation (MSD – sécheur à multi-niveaux) [5].



**Figure2** : Processus de fabrication de lait en poudre [4].

➤ **La collecte du lait**

La collecte du lait chez nos producteurs laitiers s'effectue quotidiennement. Le lait entrant dans la formulation de nos produits nutritionnels est spécifiquement sélectionné pour sa fraîcheur et sa qualité [4].

➤ **Le dépotage du lait à l'usine**

Après la traite, le lait liquide est immédiatement stocké à la ferme dans un tank réfrigéré pour être ensuite transporté vers la coopérative laitière par un camion-citerne. De la traite au dépotage, le lait liquide est stocké et transporté une température stable de 3 à 4°C et ce, afin d'éviter toute évolution microbologique et développement enzymatique [4].

➤ **La phase liquide**

La libération qualitative du lait liquide ne s'effectue que si les résultats des analyses en laboratoire sont conformes au cahier des charges. Celui-ci est alors dépoté et stocké rapidement dans de grands réservoirs avant sa mise en œuvre dans le processus de production.

Le lait liquide passe d'abord par la phase de l'écémage pour ensuite être pasteurisé ce qui va permettre de détruire les micro-organismes pathogènes et d'inactiver le développement enzymatique tout en maintenant le profil nutritionnel du lait.

Les étapes de production suivantes concernent l'ajout d'ingrédients nécessaires à la préparation de formules infantiles comme :

- les huiles végétales qui sont livrées sur base quotidienne.
- les protéines de lactosérum.

L'ajustement de la composition (phase de standardisation) et sa concentration par évaporation achèvent la phase de préparation dans la zone humide et avant une transition vers la zone sèche [4].

➤ **Séchage par pulvérisation**

Nos sites de production sont équipés d'outils modernes et notamment de tours de séchage par centrifugation (MSD).

Cette méthode de fabrication lente est le cadre industriel de la production de la poudre. Cela permet de collecter par les technologies de séchage et de fluidification des particules de poudre instantanée, avec une granulométrie et une composition régulières [4].

➤ **Poudre formulée**

Après la phase de séchage, la poudre est ensachée dans de grands containers souples de 800 kg et ce dans des conditions d'hygiène très élevées. Il s'agit d'un stockage intermédiaire afin de réaliser des analyses microbiologiques et physico-chimiques complètes avant la libération qualitative pour conditionnement [4].

➤ **Le conditionnement**

Après la libération par notre laboratoire, la poudre est conditionnée dans des boîtes métalliques ou dans des sachets. Sous gaz inerte afin d'assurer une durée de vie jusqu'à 3ans au produit. L'encaissage des boîtes dans le carton se fait automatiquement grâce à un système robotisé appelé « wrap-around » [4].

➤ **Le consommateur**

Une gamme de produits complète pour toute la famille [4].

#### 4.2. Les différents laits de consommation

Le lait peut être consommé sous diverses formes mais il peut également être transformé en une gamme de produits dérivés tels que les yaourts, le lait en poudre... Le lait est soumis à divers procédés afin d'obtenir différents produits dérivés (**Aurélie, 2011**).

➤ **Le lait cru**

Le lait cru ne peut pas être longtemps conservé, étant donné la mise en place rapide d'un processus d'altération par des bactéries responsables de la production d'acide lactique à partir de lactose. De plus, il peut contenir des germes pathogènes pour l'homme.

Il peut devenir coagulable à l'ébullition lorsqu'il y a une légère acidification avec un pH passant de 6,7 à 6,3 (**Aurélie, 2011**).

➤ **Le lait frais pasteurisé**

Pour obtenir ce type de lait, il faut appliquer un traitement thermique de 15 à 30 secondes à 72 – 75°C. La température permet de diminuer la flore classique, de détruire les germes pathogènes tels que les bacilles de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*) et d'inactiver la phosphatase alcaline.

Ce chauffage du lait a peu d'impact sur les constituants, mis à part une faible perte de thiamine (vit B1) et de vitamine C (7 à 10 %) (**Aurélie, 2011**).

➤ **Le lait micro filtré**

Ce lait n'est sur le marché que depuis peu.

Seule la fraction lipidique est traitée thermiquement, le reste subit une microfiltration tangentielle qui permet d'éliminer 95 à 99% de la flore bactériennes. Ce procédé permet de conserver les macromolécules protéiques et le potentiel biologique de lait (**Aurélie, 2011**).

➤ **Lait UHT**

Le lait subit un traitement à très haute température (UHT), soit 140– 150°C, pendant un temps très court de 1 à 5 secondes. Ainsi la stérilisation est obtenue avec très peu de

modification, cependant il est nécessaire de montrer et descendre en température de manière instantanée et de conditionner aseptiquement le lait à l'arrivée.

C'est un système de production du lait en flux continu. Sa conservation sur plusieurs mois fait du lait UHT un lait de grande consommation. Il est de couleur blanche avec un goût agréable, peut modifier par apport à un lait pasteurisé (**Aurélie, 2011**).

➤ **Le lait entier**

Le lait entier est un lait traité thermiquement qui en ce qui concerne sa teneur en matière grasse, répond l'une des formules suivantes :

- Lait entier normalisé : un lait dont la teneur en matière grasse s'élève à 3,5 % au minimum.
- Lait entier non normalisé : un lait dont la teneur en matière grasse n'a pas été modifiée depuis le stade de la traite, ni par adjonction ou prélèvement de matières grasses du lait, ni par mélange avec du lait dont la teneur naturelle en matière grasse a été modifiée (**GEM RCN, 2009**).

➤ **Lait en poudre**

Le lait en poudre est un produit solide obtenu par élimination de l'eau du lait entièrement ou partiellement écrémé, de la crème ou d'un mélange de ces produits, et dont la teneur en eau n'excède pas 5 % en poids du produit fini.

On distingue les laits en poudre suivants :

- Le lait en poudre riche en matières grasses: lait déshydraté contenant en poids, au moins 42 % de matières grasses.
- Le lait en poudre entier : lait déshydraté contenant en poids, au moins 26 % et moins de 42 % de matières grasses.
- Le lait en poudre partiellement écrémé : lait déshydraté dont la teneur de la matière grasse en poids, supérieur à 1,5 % et inférieur de 26 %.
- Le lait en poudre écrémé : lait déshydraté contenant en poids, au maximum 1,5 % de matières grasses (**GEM RCN, 2009**).

### ➤ Le lait concentré

Le lait peut être concentré par évaporation à basse température, sous vide pour une dilution et une consommation ultérieures. De tels laits n'ont pas encore eu un succès commercial significatif, bien que les laits condensés évaporés et sucrés en conserve soient largement consommés. Dans ce dernier cas, le lait est d'abord pasteurisé puis évaporé dans des cuves sous vide chauffées à la vapeur, après il est homogénéisé, mis en conserve et stérilisé. Ces laits, comme le lait stérilisé, ont une saveur cuite prononcée (**Harding, 1995**).

## 5. Méthodes de conservation

Il est de plus en plus courant, en Amérique, d'ajouter au procédé de fabrication des laits et crèmes pasteurisés des traitements annexes dans le but d'allonger la période de conservation en chaîne de froid de ces produits, et ce pour une période pouvant aller jusqu'à 60 jours selon l'approche utilisée.

Cette pratique répond aux besoins du consommateur, qui recherche un produit ayant une période de conservation plus longue, mieux adaptée à ses besoins, et préservant son goût et sa présentation usuelle. Elle est possible grâce à l'évolution des méthodes commerciales et de la logistique de production et de la distribution qui permet de réduire certains coûts tout en offrant un produit de première qualité (**Vignola, 2002**).

### 5.1. Les techniques de conservation par le froid

#### 5.1.1. La réfrigération

La réfrigération à une température de 2 à 5 °C est une opération qui interrompt tout développement bactérien sauf celui (fortement ralenti) des bactéries psychrophiles principalement *Listeria spp* et *Yersinia spp* (**Werner et al ., 2010**).

#### 5.1.2. La congélation

La congélation est l'action de soumettre un produit au froid de façon à provoquer le passage de l'eau qu'il contient à l'état solide. Cette opération a pour but d'augmenter la durée de conservation du produit et pour cela, plus de 80 % de l'eau doit être transformé en glace. Quand la congélation est très rapide et suivie d'un stockage à une température n'excédant pas -18 °C, on parle de surgélation (**Genot, 2000**).

### 5.1.3. La surgélation

La surgélation et la conservation à une température de -18 °C ou moins interrompt tout processus de dégradation, sauf l'autoxydation de la matière grasse (**Werner *et al.*, 2010**).

## 5.2. Les techniques de conservation par la chaleur

### 5.2.1. La pasteurisation

La pasteurisation a connu plusieurs évolutions technologiques ; on en distingue deux types :

- ❖ La pasteurisation basse (LTLT ou *low temperature long time*) est un chauffage à 63 °C pendant 30 min, elle est pratiquement abandonnée actuellement.
- ❖ La pasteurisation haute (HTST ou *high temperature short time*) est un chauffage à 75 °C pendant 15 s, ou encore à 80-85 °C pendant 5 s.

La pasteurisation détruit tous les germes pathogènes ainsi que l'essentiel de la flore saprophytes. Elle modifie peu les caractères physicochimiques, les caractères organoleptiques et les valeurs nutritionnelles du lait (**Fanica, 2008**).

### 5.2.2. L'Appertisation

L'appertisation est un procédé de conservation qui consiste à stériliser par la chaleur des denrées périssables dans des contenants hermétiques (boîtes métalliques, bocaux). L'appertisation ayant pour objet la conservation des aliments de longues périodes.

Les aliments sont chauffés à + 100°C en fonction de la nature des produits et du temps de chauffage. Les germes, les spores et les enzymes sont détruits, pour une conservation de longue durée, à l'abri de l'air et de la lumière (**Meghfour, 2014**).

### 5.2.3. La technique UHT

Le traitement UHT garantit que les produits sont exposés à des traitements thermiques de 135-150°C pendant quelques secondes, en utilisant des technologies qui seront discutées plus loin. La réglementation britannique traite du lait selon laquelle :

- Le lait doit être obtenu par un lait de transformation continue.

- Les conditions thermiques ne doivent pas être inférieures à 135°C pendant au moins 1 s ; tous les micro-organismes d'altération résiduels et leurs spores doivent être détruits.
- Les modifications chimiques, physiques et organoleptiques du lait doivent être minimales.

Il est également obligatoire que le lait UHT emballé dans de manière aseptique dans des récipients opaques immédiatement après le traitement thermique. Après une incubation de plusieurs jours dans un récipient fermé de 55°C, le lait doit être organoleptiquement normal et ne présente aucun signe de détérioration (**Early, 1998**).

#### **5.2.4. La stérilisation**

D'après (**FAO, 1995**) Elle a pour objectif la destruction totale des micro-organismes (y compris les spores), ainsi que des enzymes et des toxines. En fait, la destruction des germes dans les conditions de température et de durée appliquées de façon à altérer le moins possible le lait et notamment ses qualités organoleptiques risque de ne pas être absolue. Des micro-organismes vivants ou revivifiables peuvent subsister. Pour cette raison, le traitement de «stérilisation» vise, en pratique, à obtenir un produit restant stable au cours d'une longue conservation (de 5 à 6 mois).

### **5.3. Les techniques de conservation par séparation et élimination d'eau « déshydratation »**

#### **5.3.1. Le séchage**

La déshydratation des produits alimentaires permet d'en assurer une bonne stabilité par abaissement de l'Aw et permet de réduire les coûts de transport et de stockage. Elle peut se faire par :

- Par évaporation à la température d'ébullition à pression atmosphérique ou sous vide partiel (séchage par contact direct, sur cylindre chauffants par exemple).
- Par entraînement sous l'action couplée d'un transfert de chaleur de l'air chaud vers le produit et d'un transfert d'eau du produit vers l'air chaud et sec (séchage par pulvérisation par exemple).

- Par sublimation de la glace à des pressions partielles d'eau inférieures à celle du point triple (610,8 Pa), correspondant au passage directe de l'état solide à l'état gazeux (**Dolivet *et al.*, 2012**).

### **5.3.2. La lyophilisation**

La lyophilisation est une technique de dessiccation par sublimation de la glace de solutions, de suspensions, de tissus animaux ou végétaux, etc. préalablement solidifiés par congélation.

Conditions du procédé : basse température, pression réduite, absence de phase liquide intermédiaire éliminent en grande partie les facteurs d'altération et de dénaturation intervenant à des degrés divers dans les autres méthodes de dessiccation.

La lyophilisation est utilisée comme moyen de stabilisation et de conservation de produits biologique, etc. (**Broussard *et al.*, 2016**).

***Chapitre 02 :***  
***Qualité du lait***

En situation actuelle d'abondance quantitative et de quotas laitiers, l'alimentation de la vache laitière a pour première priorité de permettre de produire un lait d'excellente qualité et d'assurer la meilleure santé de la vache, sachant que ces deux aspects sont étroitement liés. La qualité se définit comme l'ensemble des propriétés recherchées par le consommateur. Elle implique tout à la fois la sécurité sanitaire (bactériologique et chimique), la valeur gastronomique (ou hédonique) et l'équilibre alimentaire (ou valeur nutritionnelle) (**Wolter, 1988**).

### 1. Qualité microbiologique

L'évaluation de la qualité microbiologique d'un produit alimentaire concerne deux aspects :

- ❖ La qualité hygiénique qui caractérise le risque pour la santé du consommateur ;
- ❖ La qualité commerciale qui caractérise l'existence ou le risque d'altération (**Jeantet et al., 2006**).

Du fait de sa composition physico-chimique, le lait est un excellent substrat pour la croissance microbienne. De ce fait on trouve que le lait comporte une flore originelle et une flore de contamination sont indiquées dans le **tableau 5 (Bordjah, 2011)**.

D'après (**FAO, 1995**), le lait peut êtreensemencé par de nombreuses espèces microbiennes. Pour certaines, il constitue un bon milieu de culture, ce qui leur permet de s'y développer. Pour d'autres germes banals ou pathogènes, il n'est qu'un véhicule occasionnel.

#### ❖ Flore indigène ou originelle

Le lait contient peut de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml). Il s'agit essentiellement des germes saprophytes du pis et aussi *Streptocoques* lactique (*Lactococcus* et *Lactobacilles*) (**Bennacef et Sahed, 2018**).

#### ❖ Flore de contamination

La flore contaminant est l'ensemble des microorganismes ajoutées au lait, de récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels de gout, d'arômes ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogènes capable de provoquer les malaises chez des personnes. Le lait au cours

de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine, est contaminé par une grande variété de microorganismes. Les principales sources de contamination sont les suivantes :

- Fèces et téguments de l'animal : Coliformes, *Bacillus*, *Clostridium*, *Salmonelle* ;
- Sol : *Streptomyces*, bactéries sporulées, spores de champignons ;
- Litières et aliments : flore banale, lactobacilles, *Clostridia* butyriques (ensilage) ;
- Air et eau : flores diverses ; Equipement de traite et de stockage du lait : flore lactique, microcoques, lactobacilles, *Chromobacterium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Acinitobacter*, levures ;
- Manipulateurs : staphylocoques des mains, germes d'expectoration et de contamination fécale ;
- Vecteurs divers : insectes en particulier.
- Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont : *Pseudomonas*, *Proteus*, les coliformes, soit principalement les genres *Escherichia* et *Enterobacter*, les sporulées telles que *Bacillus*, *Costridium* et certaines levures et moisissures (Tableau5) (Belarbi, 2011).

**Tableau 5 : Flore microbienne du lait (Smahi, 2016).**

Flore originale		Flore de contamination	
<b>Bactéries des canaux Galactotrophes</b>	Bactéries contaminant le lait pendant et après la traite	Bactéries d'origine fécale	Bactéries présentes sur l'animal malade
<b>Lactobacilles</b>	<i>Pseudomonas</i> , <i>Flavobacterium</i> ,	<i>Clostridium</i>	<i>Staphylococcus</i>
<b>Streptocoques lactiques</b>	<i>Enterobactéries</i> , Microcoques, Corynébactéries, <i>Bacillus</i> , Streptocoques <i>faecalis</i> , <i>Clostridium</i>	Coliformes fécaux <i>Salmonella</i> <i>Yersinia</i> <i>Campylobacter</i>	<i>aureus</i> <i>Brucella</i> <i>Listeria</i>

## 2. Qualité organoleptique

Les caractéristiques organoleptiques constituent la base de l'appréciation de la qualité du lait. Vierlinga rapporté que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'après une comparaison avec un lait frais (**Ahmed behalil et al., 2014**).

### ➤ Odeur

L'odeur est caractéristique le lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe es odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (**Bouزيد et Labidi, 2016**).

### ➤ Couleur

Le lait est un liquide de coloration blanc-jaunâtre. Cette coloration résulte du mélange de micelles de phosphocarséinate de calcium, de globules gras et de deux pigments : le carotène contenu dans la phase grasse et responsable de la coloration jaune.

La riboflavine dans le lactosérum, responsable de la coloration jaune vert-fluorescente.

Cet aspect caractéristique est celui du lait parfaitement normal, dans lequel presque toute la caséine se trouve sous forme micellaire.

Dans le lait écrémé l'absence de carotène le fait paraître blanc-bleuté. Le lait peut présenter des colorations anormales accidentelles dues au sang (rose) ou à des micro-organismes de contamination (coloration bleue, verte...) (**LatryFall, 1997**).

### ➤ Saveur

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

lait par suite de la pullulation de certains germes d'origine extra-mammaire (**Belmegdad et Bentayeib, 2018**).

### 3. Les propriétés physico-chimiques du lait

Les propriétés physicochimiques du lait et de ses dérivés sont déterminantes dans l'optimisation des procédés développés pour leur transformation et leur stabilisation. Elles sont dues à l'ensemble (masse volumique) ou une partie (pression osmotique, point de congélation) des constituants solubilisés et dispersés dans la phase aqueuse (**Jeantet et al., 2008**).

#### 3.1. La masse volumique

Selon Pointerie, la masse volumique d'un liquide est définie par le quotient de la masse d'une certaine quantité de ce liquide divisée par son volume. Elle est habituellement notée  $\rho$  et s'exprime en  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$  dans le système métrique. Comme la masse volumique dépend étroitement de la température, il est nécessaire de préciser à quelle température (T) elle est déterminée :  $T = m/v$

La masse volumique du lait entier à 20°C et en moyenne de  $1030 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$  (**Ghaoues, 2011**).

#### 3.2. La densité

Pour une même espèce, la densité n'est pas constante. Elle dépend de la richesse du lait en éléments dissous et en suspension ainsi que de la teneur en matière grasse

Elle varie aussi en fonction de la température. A 20°C, la densité des laits individuels peut prendre des valeurs entre 1,030 et 1,033.

Selon Allais, cette densité avoisine 1,032 pour les laits de mélange. Sa mesure à elle seule ne permet pas toujours la détection des fraudes dans la mesure où on peut combiner écrémage et mouillage et avoir une densité normale

Dans le commerce, la mesure de cette densité se fait à l'aide d'un thermo lactodensimètre qui réglé à une température de 20°C.

Pour une variation de 1°C, la densité varie de 0,0002 unités (**Laurent, 1992**).

### 3.3. Le point de congélation

Le point de congélation du lait est légèrement inférieur à celui de l'eau puisque la présence de solides solubilisés abaisse le point de congélation. Il peut varier de  $-0,530^{\circ}\text{C}$  à  $-0,575^{\circ}\text{C}$  avec une moyenne à  $-0,555^{\circ}\text{C}$ . Un point de congélation supérieur à  $-0,530^{\circ}\text{C}$  permet de soupçonner une addition d'eau au lait. On vérifie le point de congélation du lait à l'aide d'un cryoscopie (Amiot *et al.*, 2002).

### 3.4. Le point d'ébullition

D'après Amiot *et al.* (2002), on définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit  $100,5^{\circ}\text{C}$  (Kriou *et Kasria*, 2015).

### 3.5. L'acidité

Les protéines, surtout les caséines et la lactalbumine, de substances minérales telles que les phosphates,  $\text{CO}_2$  et l'acide citrique sont les éléments responsables de l'acidité naturelle. L'acidité est exprimée en degrés DORNIC, c.à.d. en décigrammes d'acide lactique par litre. Sous l'effet des bactéries lactiques, la taux d'acide lactique augmente et donne une nouvelle acidité nommée acidité développée (Kigmou *et Belaroussi*, 2019).

*Partie*  
*Expérimentale*

# *Matériel et méthodes*

## **1. Objectif**

La qualité du lait et ses dérivés est en relation étroite avec ses paramètres physico-chimiques et microbiologiques, donc le non-respect de l'un de ces derniers conduit à l'altération de la composition et la qualité organoleptique du lait.

Ainsi le but de cette étude consiste à suivre les paramètres physico-chimiques et microbiologiques des laits commercialisés (lait UHT et lait en poudre) afin de déterminer leurs qualités.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1. Matériel et milieux utilisés**

#### **2.1.1. Matériel utilisés pour les analyses physico-chimiques**

- ✓ Lactoscan ;
- ✓ pH mètre ;
- ✓ Pipettes de 1 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml ;
- ✓ Epprouvettes graduées (10 ml et 250 ml), béchers;

#### **2.1.2. Matériels utilisés pour les analyses microbiologiques**

- ✓ Pipettes graduées 1 ml, 10 ml ;
- ✓ Pipettes pasteur ;
- ✓ Micropipette ;
- ✓ Embouts ;
- ✓ Anse de platine;
- ✓ Tubes à essai en verre;
- ✓ Portoirs ;
- ✓ Flacon de verre de 500 ml et 250 ml ;
- ✓ Boîtes de pétri ;
- ✓ Etuves réglables à différentes températures;
- ✓ Autoclave;
- ✓ Réfrigérateur/Congélateur ;
- ✓ Bain marie ;
- ✓ Four pasteur ;
- ✓ Agitateur magnétique + plaque chauffante ;

- ✓ Barreau magnétique ;
- ✓ Balance analytique ;
- ✓ Spatule stérile ;
- ✓ Bec Bunsen ;
- ✓ Flacon pour milieu de culture ;
- ✓ Microscope optique ;
- ✓ Lames et lamelles ;

### 2.1.3. Milieux de cultures utilisés pour les analyses microbiologiques

#### ❖ EPT (Eau PeptonéeTomponée)

-Pour la préparation des suspensions mères de laits en poudre et concentrés, de yaourts, de produits laitiers, de produits d'origine animale et d'autres produits alimentaires.

-Egalement utilisé pour pré-enrichissement préalable aux phases d'enrichissement sélectif et d'isolement des salmonelles en permettant notamment de revivifier les microorganismes ayant subi des traitements sublétaux.

- Utilisé comme milieu de suspension et de revivification pour le dénombrement des *Listeria monocytogenes*.

-Aussi employé pour effectuer les dilutions en vue de l'examen microbiologique.

#### ❖ Milieu VF (Gélose Viande Foie + additifs sulfite de sodium et alun de fer)

#### ❖ Milieu PCA ( Plate Count Agar)

#### ❖ BCPL (Bouillon Lactosé Pourpe Bromocrésole)

#### ❖ Milieu SS (Gélose Salmonella-Shigella)

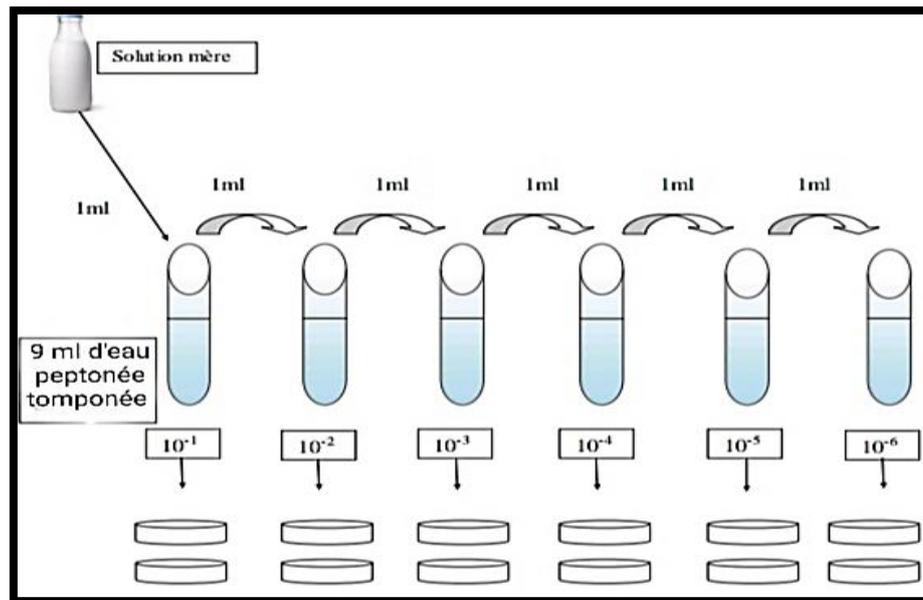
#### ❖ Milieu Chapman

#### ❖ Milieu Sabouraud

### 3. Préparation des dilutions

#### • Pour le lait UHT

Une série de dilutions est réalisée à partir de l'échantillon à l'aide d'une micropipette, 1 ml 'échantillon à analyser est prélevé, ensuite introduit dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau peptonée tomponée (EPT) stérile (dilution  $10^{-1}$ ) Répéter ces étapes jusqu'à la dilution  $10^{-6}$ (figure3) (Boudechiche et Dahmar, 2019).

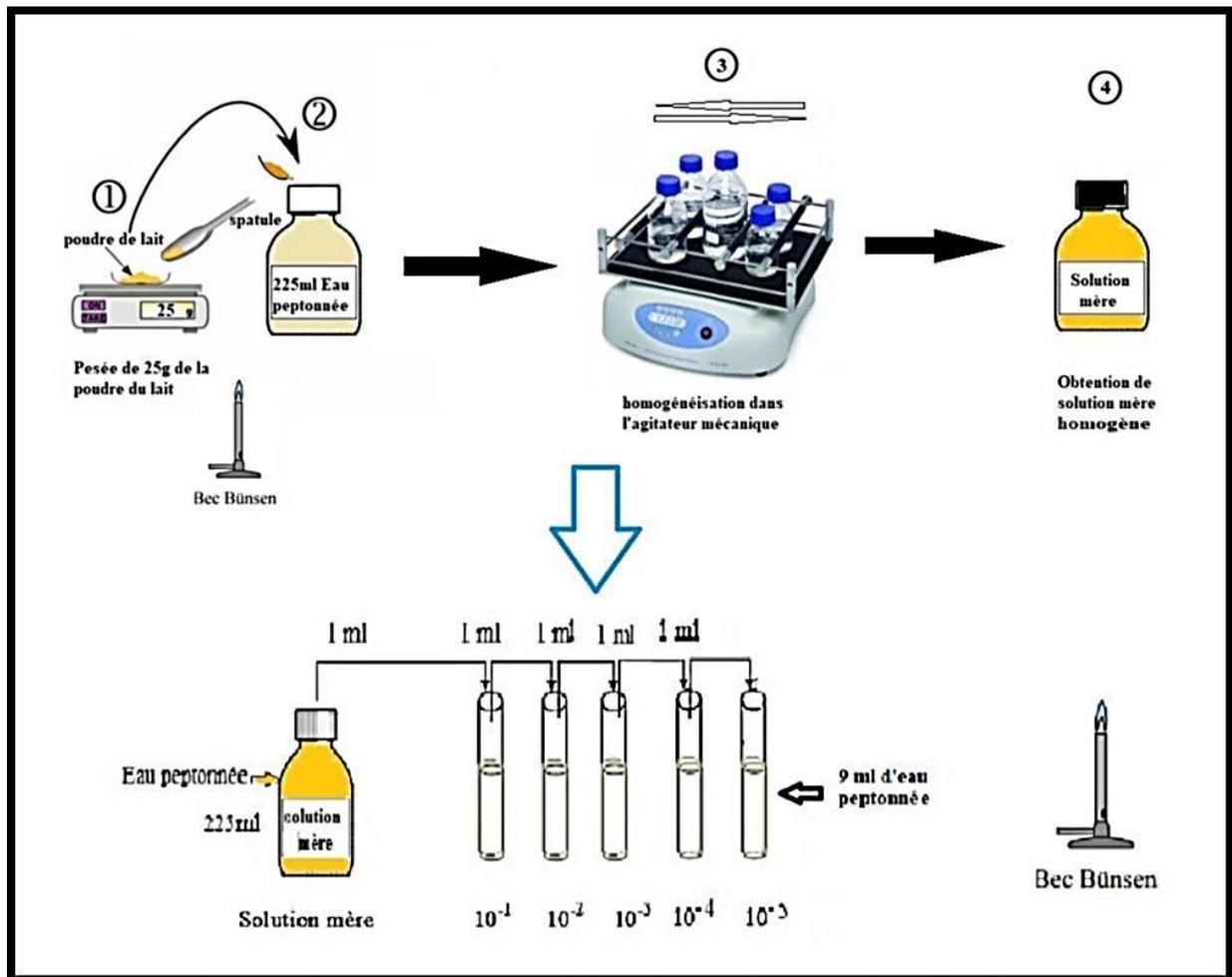


**Figure 3 :** Technique de préparation des dilutions décimales successives (Boudchiche, 2019).

- **Pour le lait en poudre**

Introduire et diluer aseptiquement 25 g de l'échantillon du produit laitier (poudre de lait) qui constitue l'unité d'analyse dans un sachet stérile, contenant au préalable 225 ml de dilution **EPT** qui va permettre de revitaliser les micro-organismes présents. On scelle ensuite ce sachet pour qu'il puisse être utilisé dans le stomacker. Cet appareil, par une action mécanique, va assurer le broyage et l'homogénéisation, afin d'obtenir une solution mère (Taleb, 2017).

Par la suite un millilitre de la solution mère a été prélevé aseptiquement à l'aide d'une micropipette avec des embouts stérile et introduit dans un tube à essai contenant 09 ml d'EPT stérile. On obtient ainsi la dilution  $10^{-1}$  et on répète la même procédure jusqu'à la sixième dilution (figure4) (Taleb, 2017).



**Figure 4 :** Préparation de la solution mère et des dilutions décimales (Benchikh, 2019).

En tenant compte que les boîtes contenant entre 10 et 300 colonies. Le nombre des microorganismes par ml est calculé à l'aide de la formule suivante (Chohri, 2018).

$$\frac{\sum c}{(n_1 + 0.1 n_2) d} \text{ UFC/ml}$$

Où :

$\Sigma c$  : Somme totale des colonies comptées.

$n_1$  : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution.

$n_2$  : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution.

$d$  : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus

## 4. Analyses physico-chimiques

### 4.1. Lactoscan

Certaines analyses physico-chimique sont été réalisées par l'appareil Lactoscan au niveau du laboratoire.

Le lactoscan est un analyseur de chimie moderne adapté à l'analyse de chaque type de lait (**figure5**).

Grace à la technologie ultrasonore utilisée, il est possible d'obtenir une précision dans la mesure quelle que soit l'acidité du lait, tandis que pour la température de l'échantillon on peut utiliser du lait de 05 à 40 C°.

Les résultats de l'analyse sont affichés dans les 50 secondes sur l'écran, mais peuvent être dessinés sur papier à l'aide d'une imprimante intégrée (**Kara et Touatia, 2020**).

#### ❖ Méthode d'utilisation

On introduit une quantité de lait à analyser dans un bêcher, puis on trompe l'électrode de lactoscan dans le bêcher et on appuie sur le bouton « Start » (**Kara et Touatia, 2020**).

### 4.2. Détermination de pH et la température

L'acidité ionique ou pH du lait évalue sa concentration en ions hydronium ce qui donne une information sur son état de conservation vis-à-vis aux altérations probables par les germes lactiques (**Sehli, 2017**).

#### ❖ Principe

L'évolution de l'acidité ou de l'alcalinité d'un lait ou encore l'activité métabolique des microorganismes dans le lait se fait mesure direct de son pH à 20 °C(**Figure6**) (**Sehli, 2017**).

#### ❖ Mode opératoire

- Etalonner le pH à l'aide des deux solutions tampons.
- Plonger l'électrode dans l'eau à analyser et lire la valeur du pH et de la température.
- Introduire l'électrode dans le bêcher contenant le lait à analyser.
- A chaque détermination du pH et de la température, retirer l'électrode, rincer avec l'eau distillée et sécher (**Sehli, 2017**).

### ❖ Expression des résultats

La valeur indiquée sur le pH-mètre (Sehli, 2017).

### 4.3. Détermination de l'acidité

L'acidité du lait ou produit laitier, c'est la quantité d'acide lactique libéré par transformation du lactose en acide lactique en présence des bactéries lactiques.

L'acidité titrable est mesurée par titrage avec NaOH en présence de phénolphtaléine, Elle est exprimée en pourcentage d'acide lactique(Figure7).

On prend 2 à 4 gouttes d'un indicateur coloré (phénolphtaléine) qui sont ajoutées à 10ml d'un échantillon de lait à analyser.

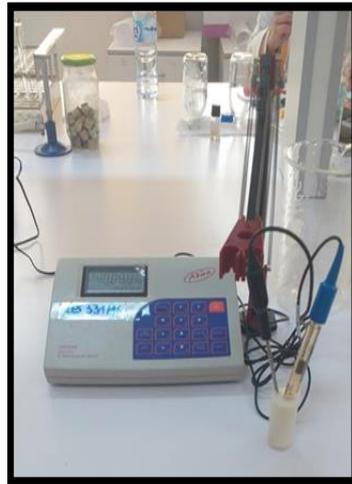
Le titrage est réalisée avec une solution de soude Dornic jusqu'au virage de la couleur blanche en rose claire. A ce moment, on note le volume de la soude écoulee et les résultats sont exprimés en degrés Dornic (°D).

$$^{\circ}\text{D} : \text{Acidité} = V_{\text{NaOH}} \cdot 10$$

Où  $V_{\text{NaOH}}$  est le volume de soude écoulee pour titre de lait, et  $1^{\circ}\text{D} = 0.1 \text{ g/l}$  de lactose (Chouhri, 2018).



**Figure 5:**  
L'appareil Lactoscan



**Figure 6 :** pH mètre



**Figure 7 :** La mesure de l'acidité

## 5. Analyses microbiologique

### 5.1. La recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale (FTAM)

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 20 et 40 °C (**Boudjir et Zehar, 2019**).

#### ❖ Principe

Les micro-organismes aérobies et aéro-anaérobies facultatifs, peuvent se développer dans un milieu nutritif non sélectif. Incubés à 37°C pendant 72h. Apparaissent sous forme de colonies de taille et de formes différentes. Le milieu choisi pour le dénombrement de la flore totale est le PCA (plate count agar) (**Boudjir et Zehar, 2019**).

#### ❖ Mode opératoire

- On prépare le milieu de culture (PCA) en le mettant dans un bain-marie, ensuite il est refroidi à 45°C devant un bec benzène et sur une paillasse bien stérile.
- On verse 1ml de chaque dilution dans les boites de pétrie vides et stérile à raison de deux boites pour chaque dilution.
- On ajoute 15ml de milieu de culture PCA dans les boites.
- Ensuite on mélange soigneusement en faisant des mouvements circulaires en forme de huit (8) pour pouvoir réaliser un ensemencement homogène pour bien mélanger la gélose avec l'inoculum et on laisse les boites jusqu'à ce que le contenu devienne solide.
- On Incube les boites à 37°C pendant 72h (**Boudjir et Zehar, 2019**).

#### ❖ Lecture

Les colonies de FTAM se présentent sous forme lenticulaire en masse (**Boudjir et Zehar, 2019**).

### 5.2. La recherche des coliformes totaux et fécaux

Les coliformes appartiennent à la famille des *Entérobacteriaceae*. Ce sont des bactéries Gram négatifs, anaérobies facultatifs vivant notamment dans l'intestin de l'homme et des animaux, ils se caractérisent par leur aptitude à fermenter plus ou moins rapidement le

lactose avec production d'acide et de gaz à une température de 37°C pendant 48h. Ils révèlent la probabilité d'une contamination, donc d'une mauvaise qualité hygiénique et même une présomption de la présence des microorganismes pathogènes beaucoup plus dangereux (Bennacef et Sahed, 2018).

### ❖ Principe

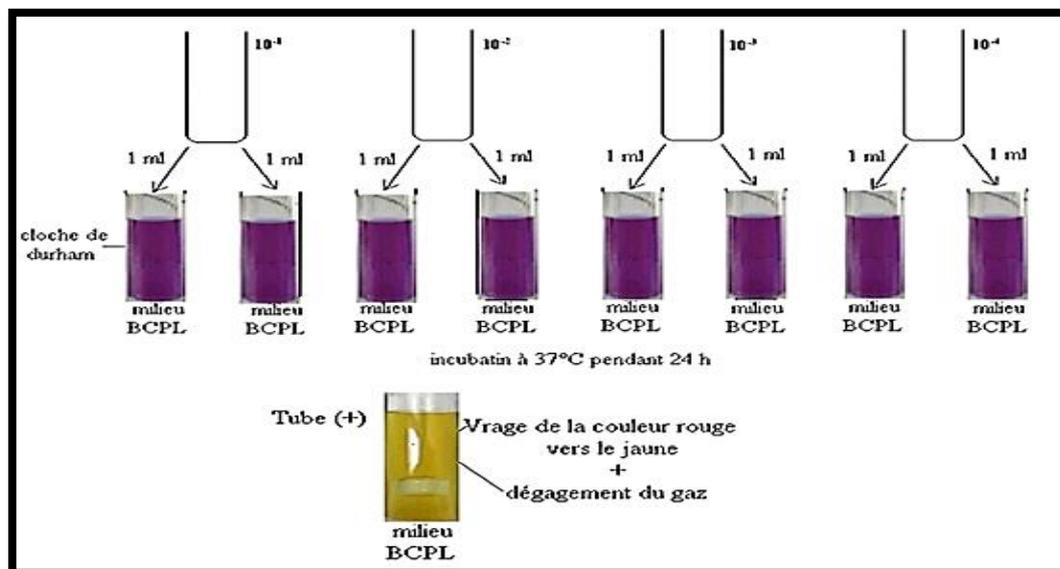
La colimétrie est l'ensemble des méthodes permettant la recherche et le dénombrement des coliformes, qui indique une contamination fécale.

Les coliformes ont la particularité de fermenter le lactose avec dégagement de gaz. Le développement des coliformes totaux acidifie le milieu qui se traduit par un virage de l'indicateur coloré. En outre, une production de gaz apparaît dans les cloches renversées (Bordjah, 2011).

### ❖ Mode opératoire

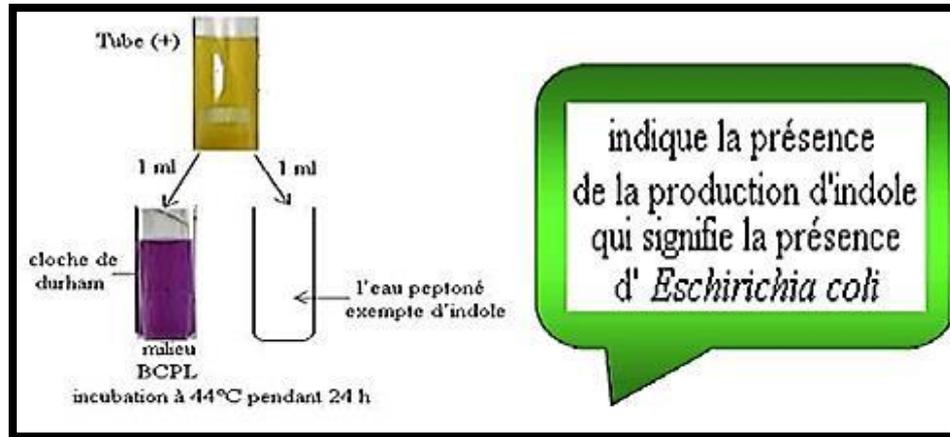
#### ❖ Test de présomption : (recherche des coliformes totaux(CT)).

- Ensemencer une série des tubes (avec cloche de Durham) de **BCPL** (Bouillon Lactose au Pourpe de Bromocrésolé) en double concentration avec 1 ml d'échantillon.
- Incuber à 37°C pendant 24h (**Figure8**) (Bordjah, 2011).



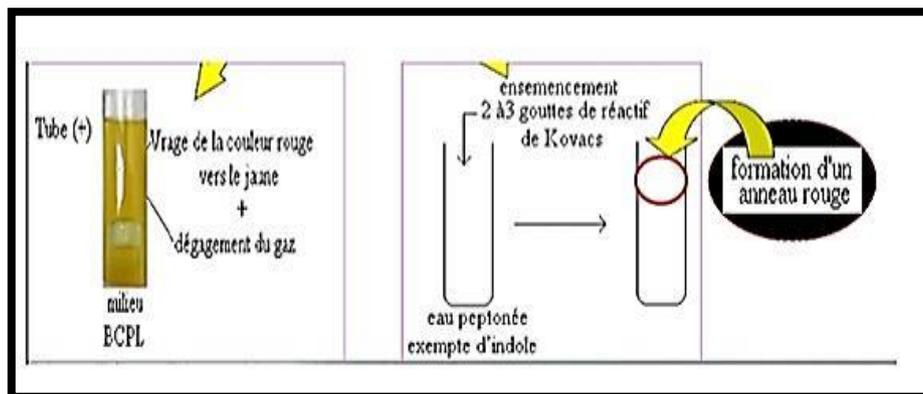
**Figure 8** : Recherche des coliformes totaux [5].

- ❖ **Test de confirmation** : (recherche des coliformes fécaux(CF)).
- A partir d'un tube positif de BCPL, ensemercer par un 1 ml de 10 ml contenant l'eau peptonée exempt d'indole + cloche de Durham.
- Incuber à 44°C pendant 24h(Figure9) (Bordjah, 2011).



**Figure 9** : Recherche des coliformes fécaux à partir d'un tube positif de BCPL [5].

- Après l'incubation, ajouter au tube quelques gouttes de réactif de KOVACS(Figure10) (Bordjah, 2011).



**Figure 10** : Figure présenter la formation de l'anneau rouge après l'incubation [5].

#### ❖ Lecture

- ✓ Virage de la couleur au jaune avec le trouble et production de gaz dans la série des tubes.
- ✓ Après l'incubation, on observe un trouble et changement de couleur dans le tube contenant l'eau peptonée exempte d'indole, et après l'addition de réactif de KOVACS on observe qu'il y a production de gaz et un anneau rouge à la surface de tube.

- ✓ Le nombre des coliformes est déterminé avec la table de **Mac Grady (Bordjah, 2011)**.

### 5.3. La recherche des staphylocoques

Le microorganisme *Staphylococcus* est une bactérie de la famille des Micrococcaceae de forme sphérique (coque), de 0,5µm à 1,5µm de diamètre (**Sehli, 2017**).

#### ❖ Principe :

Seul le dénombrement des colonies présumées de *Staphylococcus* a été effectué par un étalement (0,1 ml de la dilution décimale) en surface du milieu **chapman** par une pipette stérile (pipette râteau), et faire passer ensuite les boîtes à incubation de 37°C/48 heures (**Sehli, 2017**).

#### ❖ Lecture

Sont considérés comme positifs, les boîtes ayant virés au noir, brillants, voûtées de 1,5 à 2,5mm avec une bordure blanche mince, entourées d'un halo clair de 2 à 5mm de large (**Sehli, 2017**).

### 5.4. La recherche des Salmonelles

Ce sont des bactéries qui se présentent sous forme de bacilles à gram négatif et qui se développent à une température de 37°C de 24 à 72h sur milieu **SS**, formant de petites colonies, pigmentées en vert ou en bleu vert (**Taleb, 2017**).

#### ❖ Principe

Du fait de leur rareté, il s'applique un processus de revivification et de multiplication, correspondant à un enrichissement voire un pré enrichissement de cellules. Ces opérations sont suivies d'isolements sur divers milieux gélosés sélectifs (**Taleb, 2017**).

#### ❖ Mode opératoire

##### ❖ Pré enrichissement non sélectif

Cette première étape consiste à :

- ✓ Prélever 25 ml de produit à analyser (lait UHT) ou un fragment de « Poudre de lait » de 25g, avec une sonde stérile, qui constitue l'unité d'analyse, placer en suite ce dernier, dans un mélangeur avec 225ml d'EPT, et bien homogénéiser ;
- ✓ Laisser à température ambiante pendant 1h ;
- ✓ Incuber à 37°C pendant 18h (**Taleb, 2017**).

#### ❖ **Enrichissement sélectif**

Cette seconde étape consiste à :

- ✓ Prélever 10 ml de l'échantillon c.-à-d. du milieu de pré enrichissement incubé à l'aide d'une pipette stérile, et l'introduire dans un tube contenant 100 ml de bouillant de Sélénite;
- ✓ Homogénéiser la solution;
- ✓ Incuber le tube à 37°C pendant 24h (**Taleb, 2017**).

#### ❖ **Isolement**

Cette troisième étape consiste à :

- ✓ Mettre dans une boîte de pétrie l'échantillon (Sélénite+ 1 ml échantillon : du milieu d'enrichissement) à l'aide d'une l'ance de platine, contenant la gélose chapman;
- ✓ Prélever avec une pipette pasteur une goutte de l'échantillon et ensemer par technique de strie ;
- ✓ Incuber à 37°C pendant 24h ;
- ✓ La recherche des Salmonelles se fait donc par la méthode d'ensemencement en surface c.-à-d. en strie comme il vient d'être cité préalablement (**Taleb, 2017**).

#### ❖ **Lecture**

Soumettre à l'épreuve biochimique un nombre suffisant de colonies caractéristiques, colonies transparentes à centre noire (**Taleb, 2017**).

### **5.5. La recherche de *Clostridium***

Leur recherche est basée sur l'utilisation de milieu contenant du sulfite de sodium qu'elles réduisent en sulfures (**Benchikh, 2019**).

### ❖ Préparation du milieu

Au moment de l'emploi, faire fondre un flacon de la gélose VF (Viande Foie), la refroidir dans un bain d'eau à 45°C puis ajouter une ampoule d'Alun de Fer et une ampoule de sulfite desodium. Mélanger soigneusement et aseptiquement. Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation (Benchikh, 2019).

### ❖ Ensemencement

Les tubes contenant la solution mère et la dilution 1/10 seront soumis :

- D'abord à un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes au bain marie.
- Puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet (choc thermique), pour éliminer les formes végétatives.
- A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles, puis ajouter environ 15ml de gélose Viande Foie prête à l'emploi, dans chaque tube. Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 minutes (Benchikh, 2019).

### ❖ Incubation

Ces tubes seront ainsi incubés à 37°C pendant 16, 24 ou au plus tard 48 heures (Benchikh, 2019).

### ❖ Lecture

La première lecture doit se faire impérativement à 16 heures, car d'une part les colonies de *Clostridium* sont envahissantes et on se trouverait en face d'un tube complètement noire auquel cas l'interprétation devient impossible et l'analyse est à refaire. D'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussé en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5 mm. Dans le cas où il n'y a pas de colonie caractéristique ré-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bord de 24 h voire 48 h (Benchikh, 2019).

## 5. 6. La recherche des bactéries lactique

Les bactéries lactiques (LAB) occupent une place importante parmi les auxiliaires de fabrication alimentaire leurs caractères variés et leurs multiples propriétés sont largement

exploités dans l'agroalimentaire. Elles sont responsable de la fermentation des produits alimentaires c'est pourquoi on les appelle des ferments lactiques (**Bergheul et al., 2015**).

- **Mode opératoire**

- ❖ **Les lactobacilles**

- Transférer 1 ml du produit à analyser et de ses dilutions décimales dans des boîtes de Pétri stériles.
- Couler 15 ml de milieu MRS (de Man, Rogosa, Sharpe).
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Placer les boîtesensemencées dans les conditions spécifiées dans le mode opératoire choisi.
- Incuber 48h à 30C° (**Bergheul et al., 2015**).

- ❖ **Les lactocoques**

Sont recherchés sur gélose M17 pour le dénombrement et l'isolement, 0.1 ml de chaque dilution sontensemencé en surface, puis incubé à 30°C pendant 24 h (**Boudechiche et Dahmar, 2019**).

## **5.7. La recherche des levures et moisissures**

Les levures et moisissures sont des cellules eucaryotes rattachées au règne végétal parleur structure cellulaire. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être retrouvées aussi bien dans le lait cru, le lait en poudre que dans tous les autres produits laitiers (**Bennacef et Sahed, 2018**).

- **Principe**

Le milieu sélectif pour le dénombrement des moisissures et levures est le Sabouraud (**Bennacef et Sahed, 2018**).

- **Mode opératoire**

- ✓ Préparer le milieu de culture (Sabouraud) en le mettant dans un bain-marie, ensuite il est refroidi à 45°C devant un bec bunsen et sur une paillasse bien stérile.
- ✓ Mélanger soigneusement, Remplir avec 20ml le 1/3 de milieu de culture (Sabouraud).
- ✓ Laisser solidifier les boites sur paillasse.

- ✓ A partir des dilutions décimales, porter aseptiquement 0,1 ml pour chaque dilution sur la boîte de Pétri contenant le milieu Sabouraud correspondante, puis les étaler à l'aide d'un râteau stérile en commençant par la plus haute dilution.
- ✓ Incuber à 25°C pendant 24h pour les levures et 72 h-5 jours pour les moisissures
- ✓ Dans le cas échéant, dénombrer les colonies de levures à part et les colonies de moisissures à part (**Bennacef et Sahed, 2018**).

- **Lecture**

Les colonies des levures sont rondes et bombées, de couleurs différentes, la forme convexe ou plate et souvent opaque. Les colonies des moisissures sont épaisses, filamenteuses pigmentées ou non, à aspect velouté et sont plus grandes (**Boudechiche et Dahmar, 2019**).

## **6. Identification**

### **6. 1. Coloration de Gram**

#### **❖ Principe**

Sur le frottis bactérien se préparé, le premier colorant, le cristal violet oxalaté, va colorer en violet les bactéries, puis le lugol (solution iodo-iodurée) libère de l'iode qui va fixer le colorant précédent. Un complexe iode-cristal violet se forme ; il sera solubilisé par l'alcool à 95 °C lors de la phase de décoloration, uniquement pour les bactéries à Gram - (**Bordjiba et al., 2020**).

Ledeuxième colorant, dit de contraste, la safranine, va colorer en rose les bactéries à Gram-, les bactéries à Gram +, non décolorées par l'alcool, ont conservé leur couleur violette. La division du monde bactérien en deux groupes (Gram + et Gram -) est principalement liée à une différence de structure chimique des parois cellulaires des bactéries (**Bordjiba et al., 2020**).

#### **❖ Mode opératoire**

Le protocole est le suivant :

- Préparer un frottis d'un produit pathologique ou d'une culture bactérienne pure.
- Recouvrir le frottis de violet cristal oxalaté ; laisser agir 1 minute ; rincer à l'eau distillée.
- Verser du lugol et le laisser agir pendant 1 minute ; rincer à l'eau distillée

- Décolorer à l'alcool à 95°, entre 15 et 30 secondes ; rincer à l'eau distillée.
- Recolorer avec de la safranine pendant 10 à 30 secondes ; rincer à l'eau distillée.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec bunsen

La safranine peut être remplacée par de la fuchsine de Ziehl diluée au 1/10 pendant 1 minute. Observer au microscope à l'objectif x 100 à immersion. Avec cette coloration double, les bactéries «Gram +» apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries «Gram-» sont colorées en rose ou en rouge (**Bordjiba et al., 2020**).

## **6. 2. Mise en évidence des tests biochimiques**

### **6. 2. 1. Teste oxydase**

#### **❖ Principe et technique**

L'oxydase est une enzyme qui catalyse une réaction d'oxydoréduction impliquant une molécule de dioxygène (O<sub>2</sub>) comme accepteur d'électrons.

La mise en évidence de l'oxydase a été faite selon la méthode des disques d'oxydase qui consiste à :

- Déposer sur une lame un disque d'oxydase, et l'imbiber avec une goutte d'eau physiologique stérile.
- Prélever une colonie à l'aide d'une pipette Pasteur et l'étaler sur le disque (**Salmi et Sayah, 2019**).

#### **❖ Lecture**

La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit, en 20 à 60 secondes, par l'apparition d'une coloration rouge virant rapidement au violet très foncé.

Si la colonie reste incolore, le germe ne possède pas d'oxydase, le test est négatif (**Salmi et Sayah, 2019**).

### 6.2.2. Teste catalase

#### ❖ Principe et technique

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) avec dégagements d'oxygène. La recherche de la catalase est un test fondamental pour l'identification des bactéries à Gram positif.

Le test est réalisé en mettant une colonie d'une culture jeune sur une lame contenant une goutte d'eau oxygénée (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Salmi et Sayah, 2019).

#### ❖ Lecture

La formation de bulles d'oxygène indique que la bactérie possède une catalase, la réaction se fait selon l'équation suivante : (Salmi et Sayah, 2019).



### 6. 2. 3. Galerie API 20

#### ❖ Galerie API 20 NE

##### • Principe et technique

- L'API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex : Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium...), combinant 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation et une base de données.
- La galerie API 20 NE comporte 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés.
- Les tests conventionnels sont inoculés avec une suspension bactérienne saline qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.
- Les tests d'assimilation sont inoculés avec un milieu minimum et les bactéries cultivent seulement si elles sont capables d'utiliser le substrat correspondant.
- La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un logiciel d'identification (BioMérieux SA).

- La préparation de la galerie et de l'inoculum a été effectuée comme précédemment décrits pour l'API20E (**Salmi et Sayah, 2019**).

- **Inoculation de la galerie**

Remplir les tubules (et non les cupules) des tests NO<sub>3</sub> à PNPG avec la suspension bactérienne en utilisant une pipette Pasteur. Pour éviter la formation des bulles des fonds des tubules, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

- Ouvrir une ampoule d'API aux Medium et y transférer environ 200µl de la suspension précédente.
- Homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- Remplir les tubules et les cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- Remplir avec l'huile de paraffine les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 24 heures (Bio Mérieux SA) (**Salmi et Sayah, 2019**).

- **Lecture de la galerie**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture

- Noter sur la fiche des résultats toutes les réactions spontanées (GLU, ADH, URE, ESC, GEL, PNPG).
- La révélation des deux tests NO<sub>3</sub> et TRP doit se faire en mettant les tests d'assimilation à l'abri d'une contamination par l'air ; pour cela placer le couvercle de la boîte d'incubation au-dessus de ces tests, pendant la période de révélation des tests NO<sub>3</sub> et TRPT est NO<sub>3</sub>.
- Ajouter une goutte de réactifs NIT 1 et NIT 2 dans la cupule NO<sub>3</sub>.
- Après 5 minutes, une couleur rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.

- Une réaction négative peut être due à la production d'azote ; ajouter 2-3 mg de poudre de zinc dans la cupule NO<sub>3</sub>.

- Après 5 minutes, une cupule restée incolore indique une réaction positive à noter sur la fiche des résultats. Si la cupule devient rose-rouge, la réaction est négative, car les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le zinc (**Salmi et Sayah, 2019**).

#### ❖ **Test TRP**

Ajouter 1 goutte de réactif de James. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive (**Salmi et Sayah, 2019**).

#### ❖ **Tests d'assimilation**

Observer la pousse bactérienne. Une cupule trouble indique une réaction positive. Des pousses d'intensité intermédiaire peuvent être observées et notées +/- (BioMérieux SA) (**Salmi et Sayah, 2019**).

#### ❖ **Interprétation**

L'identification a été réalisée à l'aide du logiciel d'identification (**Salmi et Sayah, 2019**).

#### ❖ **Galerie API 20 Strep**

API 20 Strep est un système standardisé associant 20 tests biochimiques qui présentent un grand pouvoir discriminant. Il permet de faire un diagnostic de groupe ou d'espèce pour la plupart des streptocoques, entérocoques et pour les germes apparentés les plus courants. La liste complète des bactéries qu'il est possible d'identifier avec ce système est présente dans le tableau d'identification en fin de notice (bio Mérieux, 2010).

#### ❖ **Principe**

- La galerie API 20 Strep comporte 20 micros tubes contenant les substrats déshydratés pour la mise en évidence d'activités enzymatiques ou de fermentation de sucres.
- Les tests enzymatiques sont inoculés avec une suspension dense, réalisée à partir d'une culture pure, qui reconstitue les milieux. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

- Les tests de fermentation sont inoculés avec un milieu enrichi (contenant un indicateur de pH) qui réhydrate les sucres. La fermentation des carbohydrates entraîne une acidification se traduisant par un virage spontané de l'indicateur coloré.
- La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Ziane, 2016**).

#### ❖ Préparation de la galerie

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée [ou toute eau sans additif ou dérivés susceptibles de libérer des gaz (Ex : Cl<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub> ...)] dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (Ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation). Sortir la galerie de son emballage individuel et placer la galerie dans la boîte d'incubation (**Ziane, 2016**).

#### ❖ Préparation de l'inoculum

Ouvrir une ampoule d'API Suspension Medium (2 ml. A l'aide d'un écouvillon, prélever, toute la culture préalablement préparée. Réaliser une suspension très dense (**Ziane, 2016**).

#### ❖ Inoculation de la galerie

- Dans la première moitié de la galerie (tests VP à ADH), nous avons réparti la suspension précédente en évitant la formation de bulles :

- pour les tests VP à LAP : environ 100 µl dans chaque cupule ;
- pour les tests ADH : remplir uniquement le tube.

- Dans la deuxième moitié de la galerie tests RiB à GLYG :

- nous avons ouvert une ampoule d'APiGP Medium et y avons transféré le reste de la suspension, soit environ 0,5 ml ;
- nous avons réparti cette nouvelle suspension dans les tubes uniquement.

- nous avons rempli les cupules des tests soulignés ADH à GLYG avec de l'huile de

- paraffine puis refermé la boîte d'incubation à 37°C en anaérobiose pendant 24h (**Ziane, 2016**).

❖ **Lecture de la galerie**

Après 24 heures d'incubation, nous avons ajouté les réactifs :

- test VP : 1 goutte de VP1 et VP2
- test HiP : 2 gouttes de NIN
- test PYRA,  $\alpha$ -GAL,  $\beta$ -GUR,  $\beta$ -GAL, PAL, LAP : 1 goutte de ZYM A et ZYM B.

Après 10 mn, la lecture est effectuée en se référant au tableau de lecture.

- Réaction positive = +
- Réaction négative = - (**Ziane, 2016**).

# *Résultats et discussion*

## 1. Résultats et discussion des analyses physico- chimiques du lait UHT

Les résultats des analyses physico-chimiques du lait UHT sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 6** : les résultats des analyses physico-chimiques du lait UHT

Paramètres	Lait UHT
<b>MG (g/l)</b>	14.6
<b>PH</b>	6.78
<b>Densité</b>	1033.02
<b>AC (°D)</b>	20

MG : Matière grasse ; AC : acidité

Paramètres	Lait UHT
<b>TP</b>	33.2
<b>W</b>	00
<b>L</b>	49.9
<b>P.C (°C)</b>	0.597
<b>MS</b>	90.7
<b>S</b>	7.4
<b>T (°C)</b>	28.7
<b>C (ms/cm)</b>	5.23

TP : Taux de protéine ; W : water ; L : lactose ; P.C : point de congélation ; MS : matière sèche ; S : sels ; T : température ; C : conductivité

D'après les résultats obtenus, la teneur en MG du lait UHT est 14.6 g/l, ce résultat est également voisine à la norme indiquée par **AFNOR** (15-20 g/l).

On remarque un pH voisin de la neutralité 6.78 et une densité de 1033.02 ce qui signifie que le lait UHT conforme aux normes fixées par **AFNOR**.

Pour l'acidité, qu'est un paramètre qui nous renseigne sur la fraîcheur du lait, et sur sa richesse en diverses substances (protéines, phosphate, citrate, glucides), le résultat est affiche une acidité élevée (20 °D) par apport les normes **d'AFNOR** (14-18 °D).

AFNOR ne définit pas une norme pour les autres paramètres. Pour cela, nous essayerons de comparer nos résultats à d'autre étude similaire. On observe que nos résultats étaient proches à ceux obtenu par (Bounar, 2019) (Tp : 34.4, W : 00, L : 51.7, P.C : 0.483, MS : 94, S : 7.7, T : 19.9, C : 5.53), sauf la température, elle est élevée.

## **2. Résultats et discussion des analyses physico-chimiques du lait en poudre**

Les résultats des analyses physico-chimiques du lait en poudre sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 7 : Analyses physico-chimique du lait en poudre**

<b>Paramètre</b>	<b>Lait en poudre</b>
<b>Matière grasse (%)</b>	18
<b>PH</b>	6.93
<b>Acidité (°D)</b>	45
<b>Densité</b>	52.80

D'après les résultats obtenus, la teneur en MG du lait en poudre, la teneur de la matière grasse est 18%, ce résultat est également voisine à la norme indiquée par **AFNOR** (26%).

On remarque le pH dépassée le point de neutralité avec 6.93 et **AFNOR** rapport que le pH est entre (6.5 - 6.7) et une acidité avec 45° dépassée l'intervalle des normes (12-14) par **AFNOR**.

La teneur de la densité appartiennent au l'intervalle indiquée par le Journal officiel N°54 (360).

La valeur d'acidité et de pH il peut être affecté dans l'emballage ou dans le transport, ce qui contribue à modifier leur qualité.

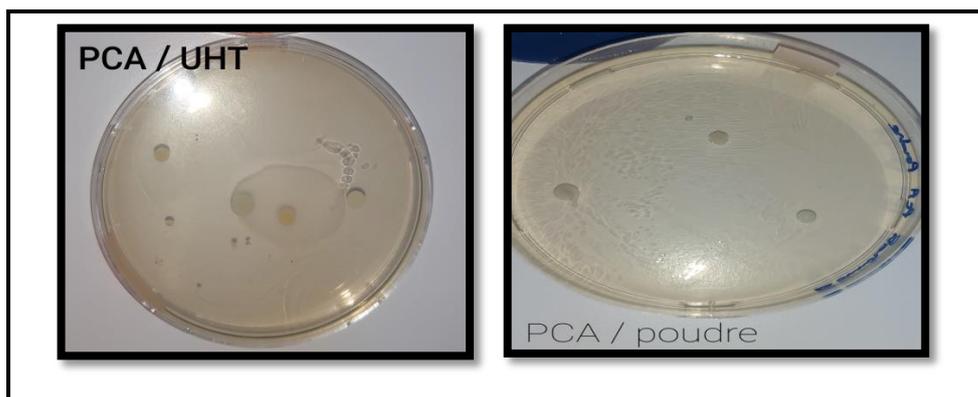
## **3. Résultats et discussion des analyses microbiologique**

### **3.1. Flore mésophile aérobie totale (FTAM)**

Après comptage des germes mésophiles aérobies totaux contenus dans des boites de Pétri (gélose PCA) après 72h d'incubation à une température de 30°C. Les résultats sont notés sur le tableau 9.

**Tableau 8:** Résultats de dénombrement de la FTAM dans le lait UHT et lait en poudre.

	Résultat UFC/ml
Lait UHT	$3.06.10^2$
Lait en poudre	$1.27.10^2$



**Figure 11 :** Observation macroscopique de dénombrement de FTAM dans la gélose PCA.

La FTAM c'est la flore la plus recherchée dans les analyses microbiologiques qui nous renseigne sur la qualité hygiénique du lait UHT et lait en poudre.

La charge de FTAM dans l'échantillon du lait U.H. Test de :  $3.06 \times 10^2$  UFC/ml, cette valeur est élevée par rapport à la norme (10/0.1 ml) indiqué par **JORA N° 96,1993** et dépasse le seuil de contamination. Donc elle considérée comme étant de qualité microbiologique inacceptable.

Pour la recherche du FTAM dans le lait en poudre, le résultat obtenu ( $1.27.10^2$ ) est inférieur et ne dépasse pas la norme indiqué par **JORA N°35/ 27 mai 1998** ( $5.10^4$ ). Cette valeur signifie que le lait en poudre est conforme à la norme.

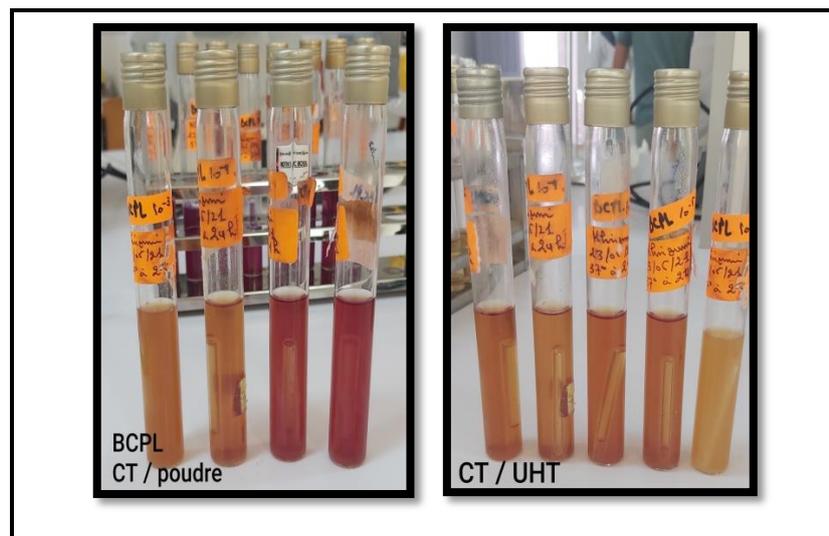
### 3.2. Les Coliformes

#### Les Coliformes totaux (CT)

Après l'incubation des coliformes totaux à une température de 37°C pendant 24 h dans des tubes contenant le bouillon BCPL, les résultats sont rapportés sur le tableau 9.

**Tableau 9 :** Résultats de dénombrement des coliformes totaux dans lait UHT et lait en poudre.

	Résultat UFC/ml
Lait UHT	$2.10^4$
Lait en poudre	4



**Figure12:** résultat de la présence des coliformes totaux.

Les résultats montrent que le nombre de coliformes totaux dans le lait UHT est  $2.10^4$  UFC/ml. Ce nombre est plus élevé comparé aux valeurs indiquées par la norme : absence totale dans le lait UHT d'après **JORA N° 69, 1993**, donc cet échantillon du lait est considéré comme étant de qualité microbiologique inacceptable.

Pour le lait en poudre le nombre des germes (4 UFC/ml) ne dépassent pas la indiquée par la norme de **JORA N°35/ 27 mai 1998** (5 UFC/ ml). Donc le lait en poudre est de bonne qualité microbiologique.

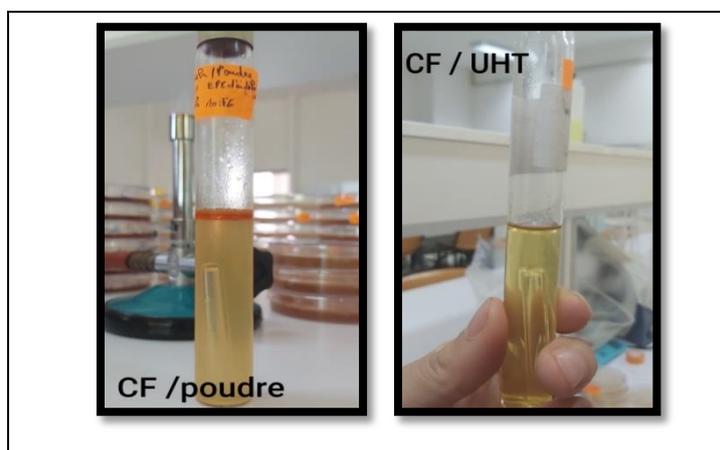
La présence des coliformes totaux n'est pas obligatoirement une indication directe de la contamination fécale mais peut être causé par les mauvaises conditions de transport et le manque d'hygiène pendant la fabrication.

### Les Coliformes fécaux (CF)

Les coliformes fécaux sont incubés dans des tubes contenant l'Eau Peptonée Exempt d'Indole pendant 24 h à une T° de 44°C. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau 10.

**Tableau 10** : Résultat de dénombrement des coliformes fécaux dans lait UHT et lait en poudre.

	Résultat UFC/ml
Lait UHT	15.10 <sup>3</sup>
Lait en poudre	4



**Figure 13** : résultat de présence des coliformes fécaux.

Les résultats du dénombrement des coliformes fécaux dans le lait UHT est 15.10<sup>3</sup>UFC/ml, cette valeur est plus élevée et dépasse la norme de **JORA N° 69, 1993** : absence totale dans le lait UHT.

Pour le lait en poudre le nombre des germes ne dépassent pas la indiquée par la norme de **JORA N°35/ 27 mai 1998**(4 UFC/ ml). Donc le lait en poudre est de bonne qualité microbiologique.

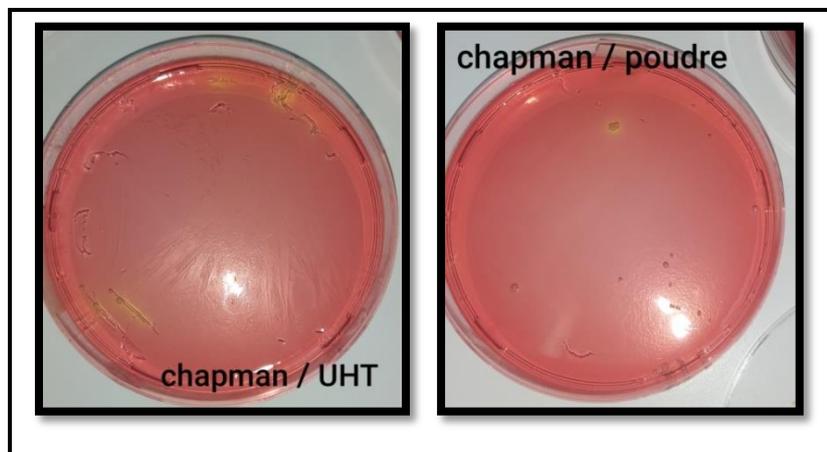
La présence des coliformes fécaux est considérée comme un indice de contamination fécale. Leur présence dans les produits traités thermiquement peut être due également à l'inefficacité du traitement thermique (notamment la pasteurisation).

### 3.3. Les Staphylocoques

Après incubation des staphylocoques sur des boîtes de Pétri contenant la gélose Chapman pendant 24h à une température de 37°C. Les résultats sont notés sur le tableau au-dessous :

**Tableau 11** : Résultat de dénombrement des staphylocoques dans lait UHT et lait en poudre.

	Résultat UFC/ml
Lait UHT	$4.26.10^2$
Lait en poudre	$5.04.10^3$



**Figure 14**: Observation macroscopique des staphylocoques dans la gélose Chapman.

Pour les Staphylocoques on remarque que le nombre de ces germes est dépassé la norme pour le lait UHT avec ( $4.26.10^2$ ) et pour le lait en poudre cette résultat ( $5.04.10^3$ ) bien que les normes de **JORA N° 69, 1993** et **JORA N°35/ 27 mai 1998** indique l'absence dans les deux échantillons.

Selon (**Karra et touatia.2020**), les Staphylocoques sont considérés comme des bactéries pathogènes majeures, causant des infections mammaires, ces dernières s'accompagnent d'une augmentation de la perméabilité entre le compartiment sanguin et le lait qui a pour conséquence des modifications de la composition du lait. Les principales sources de contamination sont en premier lieu la mamelle. Les infections mammaires à staphylocoques représentent la principale source de contamination du lait à la production, d'autres sources de contaminations sont également à considérer tel que la machine à traire.

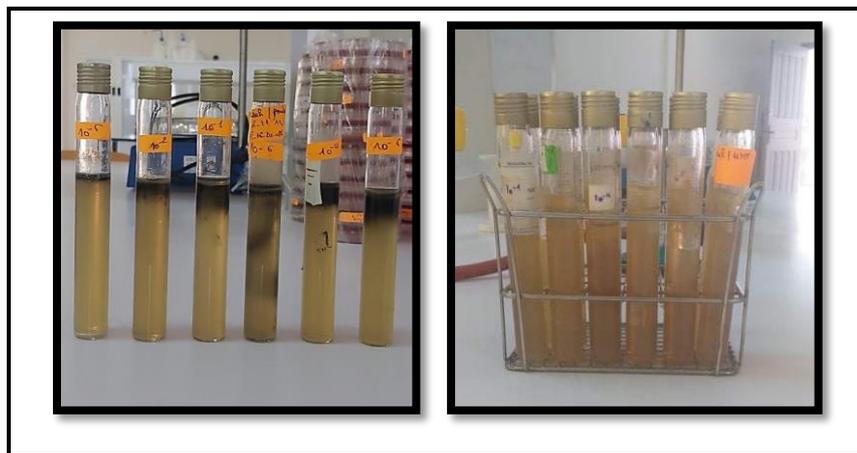
Donc la présence de ces germes, montre la qualité microbiologique de ces laits est inacceptable.

### 3.4. Les Clostridium

Les *Clostridium* sont incubés dans des tubes contenant la gélose Viande foie pendant 48 h à une T° de 37°C. Les résultats sont notés dans le tableau ci- dessous :

**Tableau 12 :** Résultat de dénombrement des staphylocoques dans lait UHT et lait en poudre.

	Résultat UFC/ml
Lait UHT	ABS
Lait en poudre	Indénombrable



**Figure 15:** Observation macroscopique des *clostridium* dans la gélose viande foie (poudre et UHT).

Le lait UHT est dépourvu de *Clostridium*, donc il est conforme à la norme du (JORA N°69, 1993) qui indique l'absence totale dans le lait UHT.

L'absence des *Clostridium* indique que l'échantillon du lait est de bonne qualité microbiologique, peut être dû à une bonne hygiène lors des différentes étapes de fabrication et de conditionnement et de stockage.

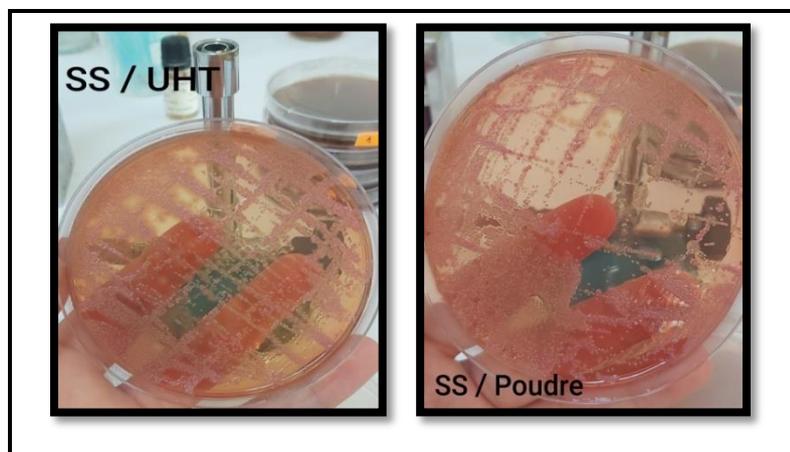
La charge de *clostridium* dans l'échantillon du lait en poudre est indénombrable, cette valeur est plus élevée par rapport à la norme (JORA N°35/ 27 mai 1998) qui indiquée l'absence totale dans le lait. Donc elle considéré comme étant de qualité microbiologique inacceptable.

### 3.5. Les Salmonelles

Les Salmonelles sont incubés dans des boites de Pétri contenant la gélose SS pendant 24 h à une T° de 37°C. Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau suivant :

**Tableau 13 :** Résultat de dénombrement des staphylocoques dans lait UHT et lait en poudre.

	Résultat UFC/ml
Lait UHT	ABS
Lait en poudre	ABS



**Figure 16:** observation macroscopique des salmonelles dans la gélose SS (absence).

Les salmonelles sont totalement absentes dans les deux laits à analysés. Donc le lait UHT et le lait en poudre sont conformes à les normes (**JORA N°69, 1993**) et (**JORA N°35/27 mai 1998**).

Les salmonelles sont des germes qui se mettent difficilement en évidence. Ceci peut être une explication possible de cette absence. Cela prouve que l'opération de pasteurisation et de stérilisation appliquée dans la fabrication du lait UHT, ont été faite d'une manière convenable du point de vu temps/température, et que ces traitements thermiques ont éliminé presque la totalité des flores banales et mêmes pathogènes (**Boudechiche et Dahmar, 2019**).

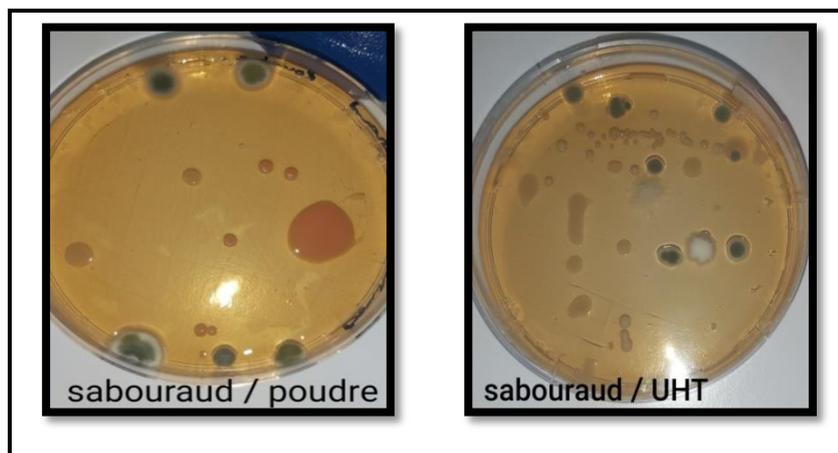
L'absence ou la faible présence de la flore pathogène peut trouver son explication dans le fait que la contamination initiale va subir l'effet de l'abaissement du pH et de l'antagonisme des bactéries lactiques. On aboutit à un faible taux de la flore pathogène, voire leur absence (**Boudechiche et Dahmar, 2019**).

### 3.6. Les levures et moisissures

Après incubation pendant 72h (24h pour les levures) à une température d'environ 25°C sur la gélose Sabouraud, les résultats de la recherche des levures et moisissures sont montrés dans le tableau 15 :

**Tableau 14 :** Résultats de dénombrement des levures et moisissures dans le lait UHT et lait en poudre.

	Résultat UFC/ml
Lait UHT	$6.165.10^3$
Lait en poudre	$5.36.10^3$



**Figure 17:** Observation macroscopique des levures et moisissures dans la gélose sabouraud.

Les résultats de la recherche des levures et moisissures montrent une présence importante de ces germes dans les échantillons des laits,  $6.165. 10^3$ UFC/ ml pour le lait UHT et  $5.36. 10^3$ UFC/ ml pour le lait en poudre. Ce dernier résultat est plus haut à celle de la norme du **JORA N° 69, 1993** pour le lait en poudre et **JORA N° 35/ 27mai 1998** ne mettre pas une norme pour le lait UHT.

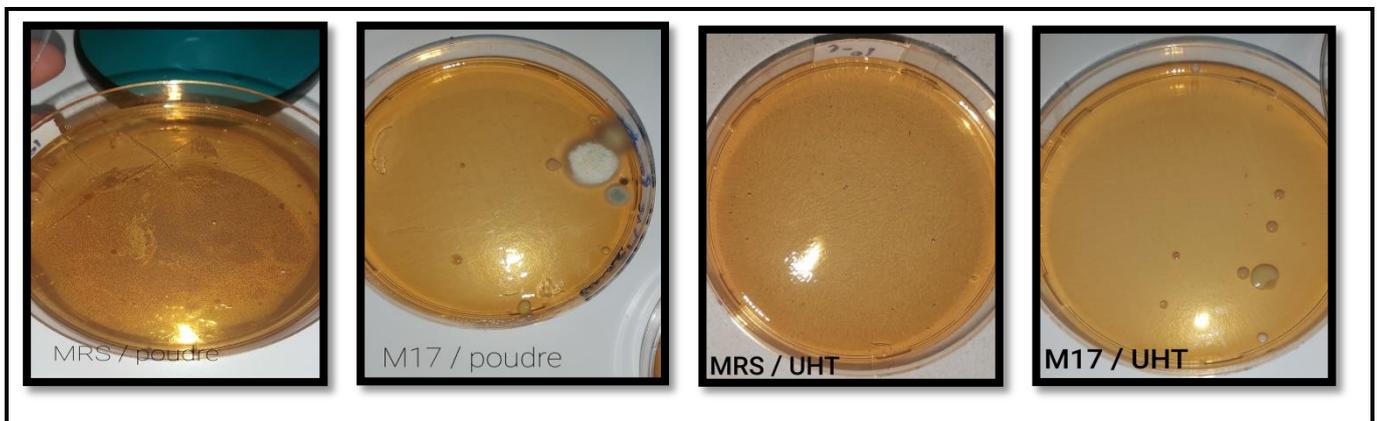
Il est difficile de mettre une conclusion pratique de ces résultats, car ce sont des éléments permanents de l'environnement, ils traduisent eux aussi le fait qu'au cours de la fabrication le lait est très exposé à l'air ambiant.

La présence massive des levures peut être due à une forte contamination extérieure et une mauvaise hygiène des locaux de fabrication et de stockage.

### 3.7. Les bactéries lactiques

Après l'incubation à une température de 30°C pendant 24-72h réalisé sur les boîtes de Pétri contenant les lactobacilles (gélose MRS) et autre contenant les lactocoques (gélose M17), on a observé la présence des quelques colonies de lactobacilles dans le lait UHT et lait en poudre.

Les cultures obtenues sur les milieux de culture sont observées à l'œil nu. Les observations ont révélé des petites colonies blanches avec une forme ronde pour les lactobacilles et des colonies rondes à différents tailles et différents couleur pour les lactocoques. La figure montre les résultats obtenus :



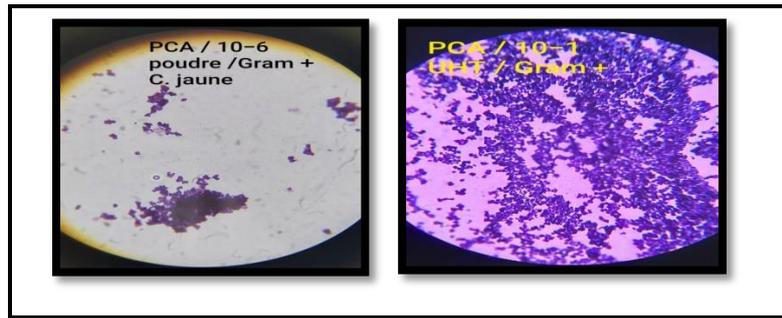
**Figure 18:** Observation macroscopique des lactobacilles et lactocoques dans la gélose MRS et M17 (lait UHT et poudre).

## 4. Identification

### 4.1. Coloration de Gram

Les résultats obtenus par observation microscopique après coloration de Gram, montré que les souches se présentent sous formes

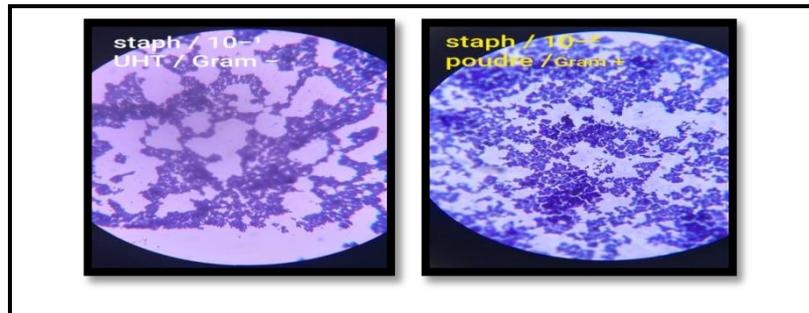
➤ Sur milieu PCA



**Figure 19** : observation microscopique optique de frottis bactérien après de coloration de Gram sur milieu PCA de lait UHT et en poudre (objectif ×40)

	Lait UHT	Lait en poudre
<b>La morphologie</b>	- formes rondes (coques)	- formes rondes (coques)
<b>Mode de groupement</b>	- cocci en amas - cocci en chaine	- cocci en amas

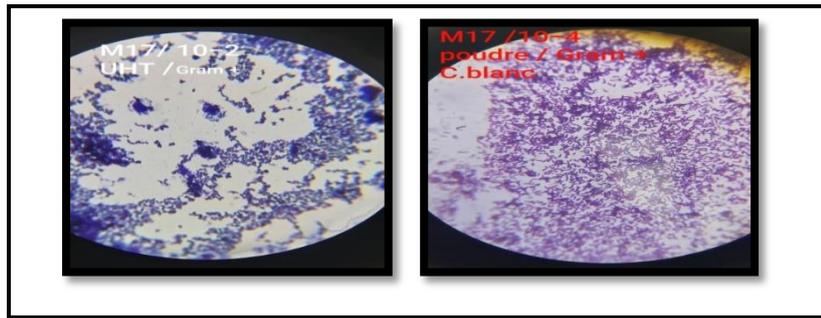
➤ Sur milieux Chapman



**Figure 20**: Observation au microscope optique de frottis bactérien après coloration de Gram sur milieu Chapman du lait UHT et en poudre (objectif ×40).

	Lait UHT	Lait en poudre
<b>La morphologie</b>	- Formes rondes (coques)	- Formes rondes (coques)
<b>Mode de groupement</b>	- cocci en amas - cocci en chaine	- cocci en amas - cocci en chaine - cocci/ diplocoques

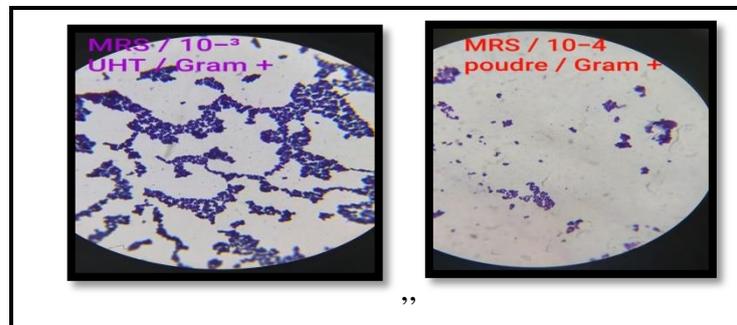
➤ Sur milieu M17



**Figure 21:** Observation au microscope optique de frottis bactérien après coloration de Gram sur milieu M17 du lait UHT et en poudre (objectif  $\times 40$ )

	Lait UHT	Lait en poudre
<b>La morphologie</b>	- formes rondes (coques)	- formes allongées (bacilles)
<b>Mode de groupement</b>	- diplocoques - cocci en chaîne - cocci en amas	- Bacilles

➤ Sur milieu MRS



**Figure 22 :** Observation au microscope optique de frottis bactérien après coloration de gram sur milieu MRS du lait UHT et en poudre (objectif  $\times 40$ ).

	Lait UHT	Lait en poudre
<b>La morphologie</b>	- Formes rondes (coques)	- formes rondes (coques)
<b>Mode de groupement</b>	- cocci en chaîne - cocci en amas	- cocci - cocci en chaîne - cocci en amas

## 4.2. Mise en évidence des tests biochimiques

### 4.2. 1. Test catalase

Toutes les bactéries isolées, testées pour la production d'une catalase, ont décomposé l'eau oxygénée en eau et en oxygène qui se dégage. Ce qui se traduit par le dégagement des bulles de gaz.

Les résultats obtenus sont présentés dans la figure

**Figure :** Observation des résultats de test catalase (la formation de bulle de gaz).

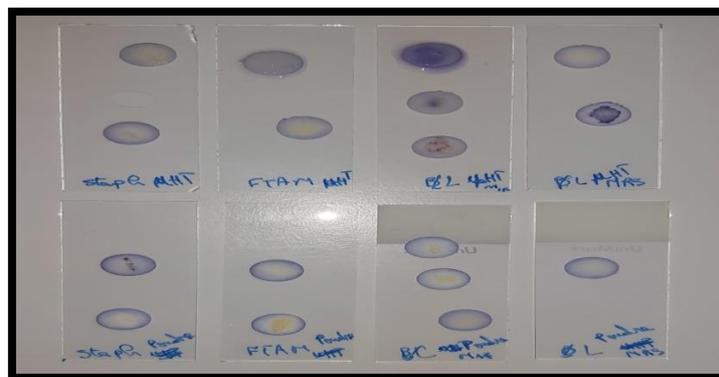
### 4.2. 2. Test oxydase



**Figure 23:** résultat de test oxydase.

Si les bactéries oxydent le disque, le disque deviendra violet à l'endroit où la colonie a été déposée soit immédiatement, soit quelques secondes après, indiquant un test positif. Aucun changement de couleur, indique un test négatif.

Les résultats obtenus sont présentés dans la **figure 24**.



**Figure 24 :** Observation des résultats de test oxydase.

**Tableau 15 :** Résultats des tests biochimique (catalase et oxydase).

Tests Milieu	Catalase		Oxydase	
	Lait UHT	Lait en poudre	Lait UHT	Lait en poudre
PCA	+	+	-	-
Chapman	+	+	-	+
M17	+	+	+	-
MRS	+	+	+	-

### 4.2. 3. Galerie API 20

#### ❖ Galerie API 20 NE

L'identification bactérienne réalisée par galerie API 20 NE nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches.

Les résultats obtenus après l'incubation sont les suivants :

#### ➤ Sur milieu PCA

#### ❖ Lait UHT

**Tableau 16 :** Résultat de la galerie API 20NEde la souche sur milieu PCA (lait UHT).

<b>Tests</b>	NO <sub>3</sub>	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	
<b>Résultats</b>	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
<b>Tests</b>	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
<b>Résultats</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Chryseobacterium indologenes*.



**Figure 25:** Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu PCA (lait UHT).

❖ Lait en poudre

**Tableau 17 :** Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu PCA (lait en poudre).

<b>Tests</b>	NO <sub>3</sub>	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	
<b>Résultats</b>	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	
<b>Tests</b>	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
<b>Résultats</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Chryseobacterium indologenes*.



**Figure 26 :** Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu PCA (lait en poudre).

➤ Sur milieu M17

❖ Lait UHT

**Tableau 18 :** Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu M17 (lait UHT).

<b>Tests</b>	NO <sub>3</sub>	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	
<b>Résultats</b>	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	
<b>Tests</b>	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
<b>Résultats</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Chryseobacterium indologenes*.



**Figure 27:** Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu M17 (lait UHT).

❖ Lait en poudre

Tableau 19 : Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu M17 (lait en poudre).

Tests	NO <sub>3</sub>	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	
Résultats	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
Tests	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
Résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Moraxella lacunata*.



Figure 28: Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu M17 (lait en poudre).

➤ Sur milieu MRS

❖ Lait UHT

Tableau 20 : Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu MRS (lait UHT).

Tests	NO <sub>3</sub>	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	
Résultats	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
Tests	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
Résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Moraxella lacunata*.

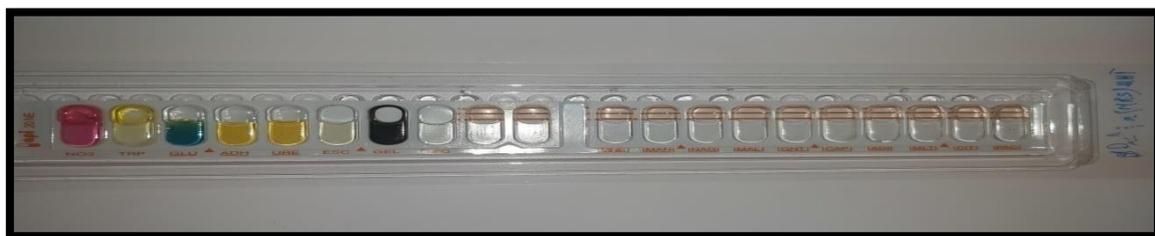


Figure 29 : Résultat de la galerie API 20 NE de la souche sur milieu MRS (lait UHT).

❖ Lait en poudre

Tableau 21 : Résultat de la galerie API 20 NEde la souche sur milieu MRS (lait en poudre).

Tests	NO <sub>3</sub>	TRP	GLU	ADH	URE	ESC	GEL	PNG	GLU	ARA	
Résultats	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	
Tests	MNE	MAN	NAG	MAL	GNT	CAP	ADI	MLT	CIT	PAC	OX
Résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Moraxella lacunata*.



Figure 30: Résultat de la galerie API 20NE de la souche sur milieu MRS (lait en poudre).

❖ Galerie API 20 STREP

➤ Sur milieu M17

❖ Lait UHT

Lorsqu'il ya un manque des réactifs NIN, ZYM A et ZYM B, les tests HIP, PYRA, aGAL, bGUR, bGAL, PAL et LAP ne sont pas effectués.

Tableau 22 : Résultat de la galerie API 20 STREP de la souchesur milieu M17 (lait UHT).

Tests	VP	HIP	ESC	PYRA	aGAL	bGUR	bGAL	PAL	LAP	ADH
Résultats	-	?	-	?	?	?	?	?	?	-
Tests	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
Résultats	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Streptococcus mitis 1*.



Figure 31 : Résultat de la galerie API 20 STREP de la souche sur milieu M17 (lait UHT).

❖ Lait en poudre

Tableau 23 : Résultat de la galerie API 20 STREP de la souche sur milieu M17 (lait en poudre).

Tests	VP	HIP	ESC	PYRA	aGAL	bGUR	bGAL	PAL	LAP	ADH
Résultats	-	?	-	?	?	?	?	?	?	-
Tests	RIB	ARA	MAN	SOR	LAC	TRE	INU	RAF	AMD	GLYG
Résultats	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A partir du catalogue analytique, il s'avère que la souche correspond à l'espèce *Biotrophia adiacens*.



Figure 32: Résultat de la galerie API 20 STREP de la souche sur milieu M17 (lait en poudre).

# *Conclusion*

Notre étude est portée sur le contrôle des paramètres physico-chimiques et microbiologiques du lait UHT et lait en poudre.

Le lait quel que soit sa forme d'utilisation représente pour l'homme une excellente denrée dont les vertus ne constituent plus un secret pour le grand public.

C'est un produit accessible par son prix, il vient combler le déficit en protéine animale et assurer une ration alimentaire plus au moins équilibré.

D'après les résultats des analyses physico-chimiques du lait UHT, la teneur en MG et le pH et la densité sont également voisine aux les normes indiquées par AFNOR. Et pour l'acidité le résultat est affiche une acidité élevée. Et pour les autres paramètres analysées (Activity water, lactose, taux de protéine, point de congélation, matière sèche, conductivité.), on observe que nos résultats sont voisines a d'autre étude similaire, sauf la température, elle est élevée.

Et pour les résultats des analyses physico-chimiques du lait en poudre, la teneur en MG et densité est également voisine à la norme d'AFNOR et le journal officiel, et pour l'acidité et le pH dépasse les normes indiquée et cette changement est peut-être à cause de transport ou d'emballage.

D'après les résultats des analyses microbiologiques, le dénombrement de FTAM est présente dans le lait UHT et en poudre et beaucoup plus dans le UHT, et aussi pour les coliformes totaux et fécaux, Donc elle considéré comme étant de qualité microbiologique inacceptable pour le lait UHT et de bonne qualité microbiologique pour le lait en poudre.

On remarque aussi la présence des staphylocoques dans les deux types du lait, et ces derniers sont considérés comme des bactéries pathogènes majeures, et c'est pour ça la qualité microbiologique est inacceptable. Et pour les *clostridium*, nous avons trouvé que chez le lait UHT est absente et cette résultat est identique avec les normes et indénombrable dans le lait en poudre bien que les normes indique l'absence aussi. Pour les salmonelles l'absence totale dans les deux types du lait sont conformes à la norme ; et pour les levures et les moisissures on remarque une présence importante de ces germes et cette présence peut-être due à une forte contamination extérieure des locaux de fabrication et de stockage.

Et pour les bactéries lactiques on observe la présence des quelques colonie dans les deux types du lait est sont observées à l'œil nu.

Enfin, le lait est un produit de large consommation et son altérabilité peut avoir des conséquences néfastes pour le consommateur. Afin de garantir sa qualité, il est impératif de passer par toutes ces démarches analytiques avant sa mise en consommation.

À l'avenir il serait intéressant d'effectuer des analyses physico-chimiques et microbiologiques au cours de différents stades de fabrication en vue de vérifier la conformité des résultats aux normes afin de garantir une fabrication des produits de qualité satisfaisante.

# *Références bibliographiques*

**A**

- 📖 **Ahmed behalil A et al., 2014.** Evaluation de la qualité du lait cru et transformé au cours de la conservation. Mémoire de Master. Université 8 mai 1945-Guelma. P 17.
- 📖 **Ali Saoucha Ch, 2017.** Qualité physico-chimique et microbiologique et aptitude de transformation du lait (vache et chèvre) en yaourt. Mémoire de Master. Université Mohamed Boudiaf- M'sila. P 31-32-33.
- 📖 **Alseny B, 2017.** Contribution à l'étude des propriétés physico-chimiques du lait cryoconcentré et évaluation de son potentiel d'application technologique. Thèse de Doctorat. Canada. P 5-6.
- 📖 **Amiot J et al., 2002.** Science et technologie du lait : transformation de lait. Vignola carole L. Ecole polytechnique de Montréal. ISBN 2-553-01029-X. P 3-4-29.
- 📖 **Aurlie L, 2011.** Les différents laits et leur complexité. Les protéines du lait de vache : aspect nutritionnel et allergie alimentaire. Thèse d'Etat de docteur en pharmacie. Université de Limoges. P 19-20.

**B**

- 📖 **Belarbi F, 2011.** Isolement et sélection des souches de bactéries lactiques productrices des métabolites antibactériennes. Université d'Oran Es-Senia. P 6.
- 📖 **Belmegdad Met Bentayeib Ch, 2018.** Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de 3 marques de lait UHT (Candia, Ramy, Soummam). Mémoire de Master. Université Ibn Badis-Mostaganem. P 12.
- 📖 **Benallegue H et Debbeche S, 2015.** Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique de 3 marques de lait UHT (Candia, Obei et Hodna). Mémoire de master. Université des Frères Mentouri Constantine. P 1-2-33.
- 📖 **Benchikh Kh et Fandi S, 2019.** Contribution à l'évaluation des risques microbiologiques et de la stabilité physicochimique pour quelques marques du lait infantile en poudre (premier âge), commercialisées en Algérie. Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. P 27-33-34.
- 📖 **Benhedane N, 2012.** Qualité microbiologique du lait cru destiné à la fabrication d'un type de camembert dans une unité de l'est algérien. Université Mentouri- Constantine. P 4.
- 📖 **Benissad Gh et Djoudi A, 2015.** Analyse physico-chimique et microbiologique du lait stérilisé UHT demi-écrémé produit par tchin-lait/Candia. Mémoire de master. Université A.MIRA- Bejaia. P 2.

- 📖 **Bennacef A et Sahed F, 2018.** Evaluation des qualités physico-chimiques et microbiologiques du lait pasteurisé partiellement écrémé produit par la laiterie Medjana Wilaya de bordj Bou Arreridj. Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. P 7-8-20-21-24-25.
- 📖 **Bergheul H et al., 2015.** Evolution de la qualité de jus d'orange en fonction des conditions de conservation. Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. P 22.
- 📖 **Bettayeb S et, Hamichi Ch, 2015.** Evaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait pasteurisé conditionné et lait de vache conditionné fabriqués par la laiterie fromagerie de boudouaon. Mémoire de master. Université Akli Mohand Oulhadj-Bouira. P 3.
- 📖 **Boumar A, 2019.** Evaluation de la qualité physico-chimique et bactériologique du lait pasteurisé et du lait UHT pendant la période de consommation. Mémoire de master. Université 8 mai 1945-Guelma. P 36.
- 📖 **Bordjah A, 2011.** Analyse physico-chimique et microbiologique de lait UHT demi écrémé. P 5-47.
- 📖 **BordJiba kh et al., 2020.** Recherche et identification des bacilles thermophiles dans le lait de vache pasteurisé et le lait recombinaé pasteurisé. Mémoire de master. Université 8 mai 1945-Guelma. P 43-44.
- 📖 **Boudechiche Y et, Dahmar S, 2019.** Evaluation de la qualité microbiologique d'un lait pasteurisé et un lait UHT selon la durée de conservation. Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. P 2-15-20-30.
- 📖 **Boulaouad N et Belouahrikh Kh, 2019.** Evaluation de la qualité physico-chimique du lait de vache de la région de Bordj El Ghedir (Bordj Bou Arreridj). Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. P 23-24.
- 📖 **Boudjir I et Zehar S, 2019.** Evaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait de brebis. Mémoire de Master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. P 33.
- 📖 **Bouziid A et Labidi H, 2016.** Caractérisation physico-chimique et organoleptique du lait des espèces laitières dans la région du Souf (Wilaya d'El Oued). Mémoire de Master. Université Echahid Hamma Lakhdar- El Oued. P 17.
- 📖 **Brossard D et al., 2016.** Pharmacie galénique : bonnes pratiques de fabrication des médicaments. 10<sup>e</sup> édition. Elsevier Masson. ISBN : 978-2-294-74900-1 issy. P 185.

**C**

- 📖 **Chohri H, 2018.** Etude de l'effet micro-onde sur la qualité physico-chimique et microbiologique de lait cru. Mémoire de Master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. P 26-27-28.

**D**

- 📖 **Dolivert A et al., 2012.** Les poudres laitières et alimentaires : technique d'analyse. Lavoisier, 2012. ISBN: 978-2-7430-1419-3. P 7.

**E**

- 📖 **Early R, 1998.** The technology of dairy products. Second edition. Thomson science 2-6- Boundary Row. London SE18HN, UK. ISBN : 075140344X. P 18.

**F**

- 📖 **Fanica PO, 2008.** Le lait, la vache et le citadin du XVII<sup>e</sup> au XX<sup>e</sup> siècle. Editions Quae. ISBN : 978-2-7592-0114-3. Paris. P 392.
- 📖 **FAO, 1995.** Le lait et produits laitiers dans la nutrition humaine. Collection FAO : Alimentation et nutrition. P 99-119.
- 📖 **Fournier S et Goulet J, 2004.** Symposium sur les bovins laitiers- lait de qualité. P 2.

**G**

- 📖 **GEM RCN, 2009.** Spécification technique de l'achat public. Direction des affaires juridiques.. Décision n° 2009-03 du comité exécutif de l'OEAP. P 7-11.
- 📖 **Genot C, 2000.** Congélation et qualité de la viande. Edition Quae. ISBN: 2-7380-0931-X. P 11.
- 📖 **Ghaoues S, 2011.** Evaluation de la qualité physico-chimique et organoleptique de cinq marques de laits reconstitués partiellement écrémés commercialisés dans l'est Algérien. Mémoire de master. Université Mentouri-Constantine. P 13.
- 📖 **Guigma W, 2013.** Appréciation de la qualité physico-chimique du lait frais en rapport avec les pratiques d'élevage dans les élevages autour de la ville de Koalack au Sénégal. Thèse d'Etat pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine Vétérinaire. Ecole inter- Etats des sciences et médecine vétérinaires/Dakar. P 1.

**H**

- 📖 **Harding F, 1995.** Milk quality. Springer science +Business media Dordrecht. First edition. ISBN 978-1-4613-5920-3. P 113.

**I**

- 📖 **Ilboudo A.J et al., 2012.** Place de la matière azotée dans le mécanisme de la coagulation présure du lait. International Journal of Biological and Chemical Sciences.6 (6):6075-6087. ISSN 1991-8631. P 6076-6077.

**J**

- 📖 **Jane P et al., 2001.** Milk and milk products:technology,Chemistry and microbiology. An aspen publication. Corpyright, 1994, 2001. ISBN : 0-8342-1955-7. America.
- 📖 **Jeantet R et al., 2006.** Science des aliments : Biochimie-Microbiologie-procédés-produits. Volume 1 : stabilisation biologique et physico-chimique. Lavoisier. Paris. ISBN : 2-7430-0833-4.
- 📖 **Jeantet R et al., 2008.** Les produits laitiers. 2<sup>e</sup> édition. Lavoissier, 2008. ISBN : 978-2-7430-1032-4. P 10.
- 📖 **Jeantet R et al., 2008.** Fondements physicochimiques de la technologie laitière. Lavoisier, 2008.ISBN : 978-2-7430-1033-1. P 5-6.
- 📖 **José R, 2014.** A propos du lait cru. Lait et produits laitiers. Filière wallonne. P 17.

**K**

- 📖 **Kara S et Touatia M, 2020.** Etude de la qualité physico-chimique et microbiologique des laits commercialisés dans l'ouest d'Algérie-Mostaghanem. Mémoire de master. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaghanem. P 2-27-28-38.
- 📖 **Kigmou A et Belaroussi A, 2019.** Caractéristiques physico-chimique et microbiologique de lait pasteurisé de la laiterie d'Adrar. Mémoire de Master. Université d'Adrar. P 5.
- 📖 **Kriou H et Kasria O, 2015.** Influence de la température de stockage sur la qualité du lait de vache (lait entier, partiellement écrémé et écrémé) pasteurisé conditionné et le lait reconstitué conditionné. Mémoire de Master. Université Djilali Bounaama-Khemis Miliana. P 13-14.

**L**

- 📖 **Latry fall C, 1997.** Etude des fraudes du lait cru : mouillage et écrémage. Mémoire de l'Etat pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Cheikh Anta Diop-Dakar. P 7.

- 📖 **Lauret S, 1992.** Contrôle de qualité du lait et des produits laitiers fabriqués par la Soca. Mémoire de l'Etat pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. P 7.

**M**

- 📖 **Makhoukh S et Nabi L, 2017.** Effet de la qualité physicochimique et microbiologique du lait de vache et de chèvre sur le fromage à pâte moule type camembert. Mémoire de Master. Université Moiloud Mammeri de Tizi-ouzou. P 8.
- 📖 **Maribal A, 2010.** Influence de quelques paramètres de production (alimentaire et race) sur la composition du lait aptitude à la coagulation par des succédanés de la présure. Ecole National Supérieure d'Agronomie-El Hrrach-Alger. P 22.
- 📖 **Mathieu J, 1998.** Initiation à la physicochimie du lait-Présentation des constituants du lait. ISBN : 2-7430-0233-6. Paris. P 21.
- 📖 **Mayouf L, 2019.** Effet du stade de lactation sur la composition physico-chimique du lait de vache holstein dans la région de M'Sila. P 6.
- 📖 **Meghfour S, 2014.** Les dates de préemption des produits alimentaires. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid- Telemcen. P 30-31.
- 📖 **Morou Madougou A, 2010.** Evaluation de la qualité microbiologique de deux laits de consommation commercialisés sur la marche de Niamey (Niger) : le yaourt et le lait en poudre. Mémoire de master. Université Cheikh Antra Diop De Dakar. P 4.

**S**

- 📖 **Salmi S et Sayah M, 2019.** Etude de la contamination bactérienne de l'environnement hospitalier (hopital de Sidi Okba-Biskra-). Mémoire de Master. Université Mohamd Khider de Biskra. P 13-14-16-17-18.
- 📖 **Sehli S, 2017.** Caractéristique microbiologique et physico-chimique du lait pasteurisé El-Mouroudj de la région de Telemcen. Mémoire de Master. Université Abou Bekr Belkaid-Telemcen. P 2-3-22-23.
- 📖 **Smahi A, 2015.** Etude microbiologique de bactéries sporulées dans le lait pasteurisé de la laiterie ZAHRA Remchi (Telemcen). Mémoire de master. Université de Telemcen. P 15.

**T**

- 📖 **Taleb A, 2017.** Contrôle et qualité d'un lait déshydraté. Mémoire de master. Université Abou Bekr Belkaid-Telemcen. P 36-43-44.

**V**

 **Vignola CL, 2002.** Science et technologie du lait : transformation du lait. Presses internationales polytechnique. Canada. ISBN : 2-553-01029-X. P 284-285.

**W**

 **Walter R, 1988.** Alimentation de la vache laitière 3<sup>e</sup> édition/ INRA. Paris, 1988. ISBN : 2-85557-035-2. Editions France agricole. P 189.

 **Werner J et al., 2010.** Science et technologie des aliments. Principes de chimie des constituants et de technologie des procédés. Presses polytechniques et universitaires romandes, 2010. 1<sup>er</sup> édition. ISBN : 987-2-8807-754-1. P 597-598.

**Z**

 **Ziane M, 2016.** Etude de la flore constitutive de la plaque supra-gingivale chez les adultes sains et cariés. Mémoire de Master. Université de Telemcen. P 27-28-2

- 📖 [1] <https://www.fitsa-group.com/produit/laits-liquides>
- 📖 [2] [www.produits-laitiers.com](http://www.produits-laitiers.com)
- 📖 [3] [www.alsace-lait.com/etapes-dr-transformation-laitiere](http://www.alsace-lait.com/etapes-dr-transformation-laitiere)
- 📖 [4] [www.fasska.com/fr/production/processus](http://www.fasska.com/fr/production/processus)
- 📖 [5] [http://fsnv.univ-bouira.dz/wp-content/uploads/2020/04/M1.AACQ\\_.microbiologie-alimentaire.courstp.-IAZZOURENE.pdf](http://fsnv.univ-bouira.dz/wp-content/uploads/2020/04/M1.AACQ_.microbiologie-alimentaire.courstp.-IAZZOURENE.pdf)

Une étude de quelques caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques a été entreprise sur le lait UHT et lait en poudre, à cet effet 2 échantillons de lait analysés au niveau du laboratoire universitaire. L'analyse physico-chimique des échantillons de lait étudiés a été réalisée en mesurant le pH, l'acidité titrable, la densité, La masse volumique, La densité, Point de congélation, Point d'ébullition Acidité du lait, l'humidité, la teneur en matière grasse. L'analyse microbiologique a pour but la détection et le dénombrement des microorganismes d'altération (coliformes totaux et fécaux) et les microorganismes pathogènes (staphylocoques, salmonelles, *clostridium*), rencontrés dans l'industrie laitière. D'après nos résultats on constate que le lait UHT est riche en matière grasse (15-16 g/l) et le lait en poudre est partiellement écrémé (18% et la norme dit 26%) et il y'a des germes pathogène tel que staphylocoque dans les deux type du lait et les *clostridium* présent uniquement dans le lait en poudre et pour les salmonelles absence dans les deux types du lait.

**Mot clés :** Lait UHT, Lait en poudre, Analyse physico-chimique, Analyse microbiologique.

أجريت دراسة لبعض الخصائص الفيزيائية والكيميائية والمكروبيولوجية على الحليب المعقم والحليب المجفف، لهذا الغرض تم تحليل عينتين من الحليب في معمل الجامعة. تم إجراء التحليل الفيزيائي والكيميائي العينات الحليب المراد دراستها عن طريق قياس الأس الهيدروجيني، الحموضة المعايرة، الكثافة، نقطة التجمد، درجة الغليان، حموضة الحليب، الرطوبة، محتوى الدهن الغرض من التحليل الميكروبيولوجي هو اكتشاف وتعداد الكائنات الحية الدقيقة الفاسدة (القولونيات الكلية والبرازية) والكائنات الدقيقة المسببة للأمراض (المكورات العنقودية، السالمونيلا، المطثية) الموجودة في صناعة الألبان. من نتائجنا نرى أن الحليب المعقم (UHT) غني بالدهون (15-16 جم / لتر) ومسحوق الحليب منزوع الدسم جزئياً (18% والمعيار يقول 26%) وأن هناك بكتيريا ممرضة مثل المكورات العنقودية في كلا النوعين من الحليب والمطثية الموجودة فقط في الحليب المجفف وغياب السالمونيلا في كلا النوعين من الحليب.

**الكلمات المفتاحية:** الحليب المعقم، الحليب المجفف، التحليل الفيزيائي الكيميائي، التحليل الميكروبيولوجي.

A study of certain physical, chemical and microbiological properties was carried out on sterilized milk and powdered milk, for this purpose two milk samples were analysed at the university laboratory. The physical and chemical analysis of the milk samples to be studied was carried out by measuring the pH, titrated acidity, density, density, density, freezing point, boiling point, acidity of the milk, humidity, fat content. The purpose of microbiological analysis is to detect and enumerate spoilage microorganisms (total and fecal coliforms) and pathogenic microorganisms (*staphylococcus*, *salmonella*, and *clostridium*) present in the dairy industry. From our results, we see that UHT milk is rich in fat (15-16 g / L) and partially skimmed milk powder (18% and the standard says 26%) and that there are pathogenic bacteria. such as *staphylococcus* in both types of milk and *Clostridium* which is present only in powdered milk and the absence of *Salmonella* in both types of milk.

**Keywords:** UHT milk, powdered milk, Physico-chemical analysis, Microbiological analysis.

# *Annexe*

- **Gélose PCA** (Plate count agar) : utiliser pour dénombrement des germes totaux dans les laits et produits laitiers.

La composition (g/l) se présente comme suit :

- composition du milieu PCA

Peptone pancréatique de caséine	05g
Extrait de levure déshydratée	2.5g
Glucose anhydre	01g
Lait écrémé en poudre	10g
Agar-agar	14g
Eau distillée	1000ml

- **Milieu BCPL** (Bouillon pourpre de bromocresol) : utiliser pour le dénombrement des Coliformes dans l'eau.
- **Gélose Chapman** : Est un milieu sélectif permet l'isolement et l'enrichissement des staphylocoques pathogènes dans les produits biologiques (lait).

La composition (g/l) se présente comme suit :

- Composition du milieu Chapman

Peptone	10g
Extrait de viande	01g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	10g
Rouge de phénol	0.025g
Agar-agar	15g
Eau distillée	1000ml

## ➤ Eau peptonée tamponnée

Digestat enzymatique de tissus animaux	10g
Chlorure de sodium (NaCl)	5g
Hydrogène phosphates disodique dodécahydraté	9g
Dihydrogène phosphates de potassium	1.5g
Eau	1000ml

## ➤ Gélose viande-foie

Composition	g/l
<b>Extrait viande-foie</b>	<b>30</b>
<b>peptone</b>	<b>2</b>
<b>amidon</b>	<b>2</b>
<b>agar</b>	<b>12</b>
Dissoudre 41 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121°C ; pH=7.	

## ➤ Sabouraud

Composition	g/l
<b>Extrait de levure</b>	<b>5</b>
<b>glucose</b>	<b>20</b>
<b>chloramphénicol</b>	<b>10.1</b>
<b>agar</b>	<b>11</b>
Dissoudre 56g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121°C ; pH=7.	

➤ **Gélose MRS (Man, Rogosa, Sharp)**

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Peptone</b>	<b>10</b>
<b>Extrait de viande</b>	<b>8</b>
<b>Extrait de levure</b>	<b>4</b>
<b>Citrate d'ammonium</b>	<b>2</b>
<b>Tween 80</b>	<b>1 ml</b>
<b>Hydrogenophosphate de potassium</b>	<b>2</b>
<b>Sulfate de magnésium</b>	<b>0.2</b>
<b>Sulfate de manganèse</b>	<b>0.05</b>
<b>Agar</b>	<b>10</b>
Dissoudre 70.3 g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121°C ; pH=7.	

**Eau physiologique**

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Chlorure de sodium</b>	<b>9</b>

➤ **Gélose M17**

<b>Composition</b>	<b>g/l</b>
<b>Tryptone</b>	<b>2.5</b>
<b>Peptone pepsique de viande</b>	<b>2.5</b>
<b>Peptone papainique de soja</b>	<b>5</b>
<b>Extrait autolytique de levure</b>	<b>2.5</b>
<b>Extrait de viande</b>	<b>5</b>
<b>Lactose</b>	<b>5</b>
<b>Glycérophosphate de sodium</b>	<b>19</b>
<b>Sulfate de magnésium</b>	<b>0.25</b>
<b>Acide ascorbique</b>	<b>0.50</b>
<b>Agar</b>	<b>15</b>
Dissoudre 57.2g dans un litre d'eau distillée, autoclaver 15 min à 121°C ; pH=7.	

## ➤ Notice de la galerie API 20 Strep

TABLEAU DE LECTURE							
TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS			
				NEGATIF		POSITIF	
VP	sodium pyruvate	1,9	production d'acétoïne (Voges Proskauer)	VP 1 + VP 2 / jusqu'à 10 min (3)			
				Incolore		Rose-Rouge	
HIP	acide hippurique	0,4	hydrolyse (acide HIPpurique)	NIN / jusqu'à 10 min			
				Incolore/Bleu pâle Gris-bleuté		Bleu foncé/Violet	
ESC	esculine citrate de fer	1,16 0,152	hydrolyse β-glucosidase (ESculine)	4 h	24 h	4 h	24 h
				Incolore Jaune pâle	Incolore Jaune pâle Gris clair	Noir Gris	Noir
PYRA	acide pyroglutamique-β-naphtylamide	0,0256	PYRrolidonyl Arylamidase	ZYM A + ZYM B / 10 min (PYRA à LAP) (1) au besoin décoloré par éclaircissement intense			
				Incolore ou Orange très pâle		Orange	
αGAL	6-bromo-2-naphtyl-α-D-galactopyranoside	0,0376	α-GALactosidase	Incolore		Violet	
βGUR	acide naphtol-ASBI-glucuronique	0,0537	β-GIUcuRonidase	Incolore		Bleu	
βGAL	2-naphtyl-β-D-galactopyranoside	0,0306	β-GALactosidase	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
PAL	2-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	Incolore ou Violet très pâle		Violet	
LAP	L-leucine-β-naphtylamide	0,0256	Leucine AminoPeptidase	Incolore		Orange	
ADH	L-arginine	1,9	Arginine DiHydrolase	Jaune		Rouge	
				4 h	24 h	4 h	24 h
RIB	D-ribose	1,4	acidification (RIBose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
ARA	L-arabinose	1,4	acidification (ARABinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (MANnitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
SOR	D-sorbitol	1,36	acidification (SORbitol)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACTose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (TREhalose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
INU	inuline	5,12	acidification (INUline)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
RAF	D-raffinose	3,12	acidification (RAFfinose)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
AMD	amidon (2)	2,56	acidification (AMIDon)	Rouge	Orange/ Rouge	Orange/ Jaune	Jaune
GLYG	glycogène	1,28	acidification (GLYcoGène)	Rouge ou Orange		Jaune franc	

(1) Lors d'une deuxième lecture après 24 heures d'incubation, on peut remarquer un dépôt dans les tubes où ont été ajoutés les réactifs ZYM A et ZYM B. Ce phénomène est normal et ne doit pas être pris en considération.

(2) L'acidification de l'amidon est fréquemment moins forte que celle des autres sucres.

(3) Une coloration rose pâle obtenue après 10 minutes doit être considérée négative.

- Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.
- Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale, notamment des peptones.

➤ **Tableau de lecture de la galerie Api 20NE**

TABLEAU DE LECTURE					
TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS/ENZYMES	RESULTATS	
				NEGATIF	POSITIF
NO <sub>3</sub>	potassium nitrate	0,136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + NIT 2 / 5 min	
			réduction des Nitrates en azote	incolore	rose-rouge
				Zn / 5 min	
				rose	incolore
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRYptophane)	JAMES / immédiat	
				incolore	rose
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
ADH	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noir
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-β-D-galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-β-D-Galactopyranosidase)	incolore	jaune
[GLU]	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
[ARA]	L-arabinose	1,4	assimilation (ARABinose)	transparence	trouble
[MNE]	D-mannose	1,4	assimilation (MANnosE)	transparence	trouble
[MAN]	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
[NAG]	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-ACétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
[MAL]	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
[GNT]	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
[CAP]	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
[ADI]	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIrique)	transparence	trouble
[MLT]	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
[CIT]	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	transparence	trouble
[PAC]	acide phénylacétique	0,8	assimilation (acide PhénylACétique)	transparence	trouble
OX	(voir notice du test oxydase)	-	cytochrome-oxydase	(voir notice du test oxydase)	

• Les quantités indiquées peuvent être ajustées en fonction des titres des matières premières.  
• Certaines cupules contiennent des composants d'origine animale notamment peptone bovine/porcine.

➤ **Table de Mac grady :**

Nombre caractéristique	Nombre de micro-organismes		
000	0,0	230	3,0
001	0,3	231	3,5
010	0,3	232	4,0
011	0,6	300	2,5
020	0,6	301	4,0
100	0,4	302	6,5
101	0,7	310	4,5
102	1,1	311	7,5
110	0,7	312	11,5
111	1,1	313	16,0
120	1,1	320	9,5
121	1,5	321	15,0
130	1,6	322	20,0
200	0,9	323	30,0
201	1,4	330	25,0
202	2,0	331	45,0
210	1,5	332	110,0
211	2,0	333	140,0
212	3,0		
220	2,0		
221	3,0		
222	3,5		
223	4,0		