

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 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/Option: Qualité des produits et sécurité alimentaire
Département: Biologie

Thème : Evaluation de la qualité physicochimique et microbiologique d'une
marque de lait commercialisée dans l'est Algérien (SAFIA)

Présenté par :

Mlle : Benomar Manel

Mlle : Makabrou Marwa

Devant le jury composé de :

| | | |
|-------------------------------------|------------|-----------------------------|
| Présidente : Mme Messiad.R | MAA | Université de Guelma |
| Examinatrice: Mme Slimani.A | MAA | Université de Guelma |
| Encadreur : Mme Zidi.S | MAA | Université de Guelma |
| Co-encadreur : Mme Bedioui.S | MAA | Université de Guelma |

Juin 2016

Introduction

Chapitre 01

Chapitre 02

Chapitre 03

Conclusion et perspectives

Annexes

Références bibliographiques

Introduction

Avec sa composition équilibrée en nutriments de base (protides, lipides et glucides) et sa richesse en vitamines et minéraux notamment le calcium, le lait occupe une place stratégique dans l'alimentation quotidienne de l'homme. Considéré comme l'aliment le plus consommable dans le monde, plusieurs catégories de lait se vendent sur le marché ; parmi elles on trouve le lait conditionné pasteurisé qui est réparti en : lait reconstitué pasteurisé et lait de vache pasteurisé. **(Mathieu, 1998).**

Notre étude vise à établir une analyse microbiologique et autre physicochimique pour ces deux variétés de lait d'une marque commercialisée dans l'est algérien « Guelma » et enfin comparer les différents résultats trouvés.

Pour cela on a choisi de partager notre travail en deux parties :

- La première partie comporte un chapitre intitulé recherche bibliographique : il est consacré essentiellement à présenter les principales caractéristiques physicochimiques, bactériologiques, nutritionnelles, et types de lait commercialisés.
- Et la deuxième partie contient deux chapitres :
 - Le premier est intitulé matériel et méthodes, qui décrit le matériel et les méthodes utilisées pour l'analyse physicochimique et microbiologique du lait.
 - Le deuxième chapitre est intitulé résultats et discussions, qui illustre les résultats des analyses bactériologiques (dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (FMAT), des Coliformes totaux et fécaux, Streptocoques fécaux, Staphylocoques, Clostridium sulfite-réducteurs, bactéries lactiques, et enfin les moisissures et les levures) et des analyses physicochimiques qui servent à la détermination de différents paramètres (la densité, la teneur en matière sèche totale, la teneur en matière grasse, la température, le lactose, les protéines et enfin l'acidité dornic) avec leurs interprétations.

Conclusion et perspectives

Le lait est un aliment complet et riche en plusieurs éléments nutritionnels. Il pourrait être responsable de toxi-infections alimentaires dans le cas d'une contamination.

Sur le territoire national, on trouve différentes marques de lait reconstitué qui doivent répondre à des critères de qualité internationaux. Dans notre étude nous avons choisi une marque de lait commercialisée à l'est algérien et plus précisément dans la Wilaya de Guelma « Laiterie Safia ». Cette étude s'est étendue sur une période de trois mois.

Notre travail porte sur l'analyse physicochimique et microbiologique de deux types de lait de la même marque et leur comparaison: un lait reconstitué pasteurisé conditionné et un lait de vache pasteurisé conditionné.

Pour l'analyse physicochimique, l'étude comparative des deux laits montre une différence dans le pH, la teneur en matière grasse, l'acidité Dornic, le taux de lactose et de protéines. L'acidité Dornic, la teneur en matière grasse et le taux de lactose et de protéines sont plus élevés dans le lait de vache pasteurisé que le lait reconstitué pasteurisé alors que le pH est plus élevé dans ce dernier.

Pour les deux types de lait, l'analyse microbiologique, a révélé la présence de plusieurs germes de la microflore normale (bactéries lactiques) et autres anormaux mais à des taux acceptables (ne nuisant pas à la santé du consommateur) et un peu plus élevé dans le lait de vache pasteurisé. La présence de ces derniers pourrait être la conséquence d'une contamination post pasteurisation probablement due à une faute de manipulation dans les étapes de conditionnement (mauvaise hygiène).

Les résultats obtenus permettent de dire que le lait « SAFIA » semble être stable, propre et conforme.

En conclusion finale, on pourrait dire que le lait de vache pasteurisé est plus riche par sa composition nutritionnelle et vitaminique et sa teneur en matière grasse mais sa composition microbiologique fera qu'il se détériorera probablement plus rapidement.

Comme perspectives, il serait intéressant :

- ✓ D'évaluer la qualité organoleptique et gustative de ce lait.
- ✓ Rechercher d'autres germes pathogènes.
- ✓ Dosage des antibiotiques dans le lait.

Sommaire

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des abréviations

Introduction

Chapitre 01 : Recherche bibliographique

| | |
|--|--|
| 1. Généralité sur le lait..... | |
| 1.1. Définition | |
| 1.2. Composition..... | |
| 2. Caractéristiques microbiologiques du lait | |
| 3. Les laits commercialisés..... | |
| 3.1. Lait pasteurisé | |
| 3.2. Lait stérilisé..... | |
| 3.3. Lait concentré sucré | |
| 3.4. Lait aromatisé..... | |
| 3.5. Lait fermenté | |
| 3.6. Lait en poudre | |

Chapitre 02: Matériel et méthode

| | |
|--|--|
| 1. Analyse physicochimique | |
| 1.1. Prélèvement..... | |
| 1.2. Détermination de la densité | |
| 1.3. Mesure de la teneur en matière sèche totale | |
| 1.4. Mesure du pH..... | |
| 1.5. Acidité Dornic..... | |
| 1.6. Lactose, protéine, matière grasse | |

Chapitre 03 : Résultat et Discussion

| | |
|---|--|
| 2. Analyse Microbiologique..... | |
| 2.1. La recherche et le dénombrement de La flore mésophile aérobie totale (FMAT)..... | |
| 2.2. La recherche des coliformes totaux | |
| 2.3. La recherche des streptocoques fécaux..... | |
| 2.4. La recherche et l'identification des staphylocoques | |

| | | |
|------|---|--|
| 2.5. | Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs | |
| 2.6. | La recherche des bactéries lactiques | |
| 2.7. | Dénombrement des levures et moisissures | |
| 2.8. | Identification des germes | |
| 1. | Analyses physico-chimiques | |
| 1.1. | Densité | |
| 1.2. | Teneur en matière sèche totale..... | |
| 1.3. | Le pH | |
| 1.4. | Matière Grasse | |
| 1.5. | Acidité Dornic..... | |
| 1.6. | Lactose et protéines..... | |
| 2. | Analyses microbiologiques | |
| 2.1. | Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale | |
| 2.2. | Dénombrement des bactéries lactiques | |
| 2.3. | Résultats de l'identification des germes..... | |

Conclusion et perspectives

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Annexes

Annexe n°1

Formules des milieux de culture (Institut Pasteur,2003)

Gélose nutritive

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|---|-----------------|
| Peptone | 10 |
| Extrait de viande | 3 |
| Extrait de levure | 3 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Agar | 18 |
| Dissoudre 39 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=7,3±0,2 | |

Gélose Chapman

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|---|-----------------|
| Extrait de viande | 3 |
| Extrait de levure | 3 |
| Tryptone | 5 |
| Peptone bactériologique | 10 |
| Chlorure de sodium | 70 |
| Mannitol | 10 |
| Rouge de phénol | 0,05 |
| Agar | 18 |
| Dissoudre 119 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,4±0,1 | |

Gélose SS

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|---|-----------------|
| Proteose peptone | 5 |
| Extrait de levure | 3 |
| Extrait de viande | 5 |
| Lactose | 10 |
| Sels biliaires | 2 |
| Sodium citrate | 8,5 |
| Vert brillant | 0,33 |
| Rouge neutre | 0,025 |

| | |
|--|----|
| Agar | 18 |
| Dissoudre 31,83 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=7,2±0,2 | |

Gélose Mannitol Mobilité

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|---|-----------------|
| Peptone de viande | 15 |
| Extrait de viande | 3 |
| Mannitol | 10 |
| Potassium nitrate | 1 |
| Rouge de phénol | 0,05 |
| Agar | 5 |
| Dissoudre 34 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=7,8 | |

Citrate de Simmons

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|--|-----------------|
| Ammonium dihydrogenophosphate | 1 |
| Phosphate dipotassique | 1 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Citrate de Sodium | 2 |
| Sulfate de magnésium | 0,2 |
| Bleu de Bromothymol | 0,08 |
| Agar | 18 |
| Dissoudre 27,28 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=6,6±0,1 | |

Bouillon Clark et Lubs

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|--|-----------------|
| Tryptone | 2 |
| Peptone bactériologique | 5 |
| Phosphate dipotassique | 5 |
| Glucose | 5 |
| Dissoudre 17 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7 | |

Bouillon Rothe simple concentration

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|---|-----------------|
| Peptone de caséine | 20 |
| Extrait de viande | 1,5 |
| Glucose | 4 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Phosphate dipotassique | 2,7 |
| Phosphate monopotassique | 2,7 |
| Azide de sodium | 0,2 |
| Dissoudre 36,1 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=6,9±0,1 | |

Bouillon Litsky

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|---|-----------------|
| Tryptone | 20 |
| Glucose | 1,5 |
| Extrait de viande | 4 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Phosphate dipotassique | 2,7 |
| Phosphate monopotassique | 2,7 |
| Azide de sodium | 0,2 |
| Dissoudre 36,1 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=6,8 | |

Eau physiologique

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|---|-----------------|
| Chlorure | 9 |
| Dissoudre 9 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7 | |

Bouillon Urée Indole

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|---|-----------------|
| L-Tryptophane | 3 |
| Phosphate dipotassique | 1 |
| Phosphate monopotassique | 1 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Urée | 20 |
| Rouge de phénol | 2,5 |
| Dissoudre 32,5 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ;Ph=6,7 | |

Eau peptonée exempte d'indole

| Composition et Préparation : Constituants | Quantité en g/l |
|--|-----------------|
| Peptone de viande | 10 |
| Tryptone | 10 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Dissoudre 25 g dans un litre d'eau distillée ; autoclaver 15min à 121°C ; Ph=7,2 | |

Annexe 2

Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API20E

| tests | substrat | caractère recherché | résultats | |
|----------------------------------|----------------------------------|--|--|---------------------------|
| | | | Négatif | Positif |
| ONPG | Ortho-nitro-phenyl-galactosidase | Beta-galactosidase | incolore | jaune |
| ADH | Arginine | Arginine dihydrolase | jaune | Rouge/orangé |
| LDC | lysine | Lysine décarboxylase | jaune | orangé |
| ODC | ornithine | ornithine décarboxylase | jaune | rouge/orangé |
| CIT | citrate de sodium | utilisation du citrate | vert pâle/jaune | bleu-vert/vert |
| H ₂ S | Thiosulfate de sodium | production d'H ₂ S | Incolore/ grisâtre | Dépôt noir/ fin liseré |
| URE | urée | uréase | jaune | rouge/orangé |
| TDA | tryptophane | tryptophane désaminase | TDA/immédiat | |
| IND | Tryptophane | production d'indole | jaune | marron foncé |
| VP | pyruvate de sodium | production d'acétoïne | VP1 + VP2 /10mn | |
| | | | incolore | rosé-rouge |
| GEL | Gélatine de Kohn | Gélatinase | non diffusion | diffusion du pigment noir |
| GLU | Glucose | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| MAN | Mannitol | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| INO | Inositol | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| SOR | Sorbitol | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| RHA | Rhamnose | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| SAC | Saccharose | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| MEL | Melibiose | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| AMY | Amygdaline | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| ARA | Arabinose | Fermentation/oxydation | Bleu/bleu-vert | jaune |
| OX | sur papier filtre | cytochrome-oxydase | Ox/5-10mn | |
| | | | incolore | anneau violet |
| NO ₃ -NO ₂ | Tube Glu | production de NO ₂ Réduction au stade N ₂ | NIT1 + NIT2 /2-3mn | |
| | | | jaune | rouge |
| | | | Zn | |
| | | | rouge | jaune |
| MOB | Microscope | Mobilité | Immobile | Mobile |
| MAC | Milieu de MacConkey | culture sur | Absence | Présence |
| OF | Glucose | Fermentation : sous huile Oxydation : à l'aire | vert | jaune |
| | | | vert | jaune |
| CAT | | possession d'une catalase | H ₂ O ₂ / 1-2 mn | |
| | | | Pas de bulles | Bulles |

Liste des abréviations

Abs:Absence.

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ASR : Anaérobies sulfito-réductrices.

AW:*Activity of water* (activité de l'eau).

BCPL : Bouillon lactosé au bromocrésol-pourpre.

°C : Degré Celsius.

DLC :La date limite de consommation.

°D : Degré Dornic.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nation.

FIL : Fédération International de Laiterie.

FMAT :Flore mésophile aérobie totale.

GN :Gélose Nutritive.

H₂O₂ :Eau oxygéné.

H₂S : Hydrogène sulfure.

HTST :High Température Short Time.

LDC :Lysine décarboxylase.

LRP :Lait reconstitué pasteurisé.

LVP : Lait de vache pasteurisé.

MG :Matière Grasse.

MRS : Man Rogossa Sharpe.

NaCl :Le chlorure de sodium.

NF : Norme française.

NPP : Le nombre le plus probable.

ODC : Enzyme ornithine décarboxylase.

ONPG : Orthonitrophenyl- β -D-galactopyranoside.

pH : Potentiel de l'hydrogène.

RM : Rouge de méthyle.

T : Température.

TDA : Enzyme tryptophane désaminase.

UFC : Unité Formant Colonie.

UHT : Ultra haut température.

VP : Voges-Proskauer

Liste des tableaux

| Tableau | Titre | page |
|------------------|--|-------------|
| Tableau01 | Composition moyenne du lait entier (Fredot, 2006) | 2 |
| Tableau02 | Composition minérale du lait de vache (Jeantet et al., 2007) | 4 |
| Tableau03 | Composition vitaminique moyenne du lait cru (Amiot et al., 2002) | 5 |
| Tableau04 | Caractéristiques des principaux enzymes du lait (vignola, 2002) | 6 |
| Tableau05 | Composition microbiologique du lait. (Bennefoyet al., 2002) | 7 |
| Tableau06 | Composition des laits en poudre (% m/m) (FAO, 2010). | 12 |
| Tableau07 | les données des échantillons | 18 |
| Tableau08 | les tests de la galerie classique (Marchal et al., 1991). | 28 |
| Tableau09 | les différentes techniques des tests complémentaires. (Marchal et al., 1991) | 29 |
| Tableau10 | Résultats des analyses physicochimiques du lait reconstitué pasteurisé(LRP) et lait de vache pasteurisé (LVP).(Alais, 1984 ;norme AFNOR, 1980). | 32 |
| Tableau11 | Résultats des analyses microbiologiques du lait reconstitué pasteurisé et lait de vache pasteurisé. | 40 |
| Tableau12 | Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées à partir du LRP | 43 |
| Tableau13 | Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées à partir du LVP | 45 |
| Tableau14 | Résultat du profil biochimique des bactéries lactiques. | 47 |
| Tableau15 | Résultat d'identification des souches isolées | 48 |
| Tableau16 | Identification des caractères biochimiques (Galerie api20E) | 50 |
| Tableau17 | Identification des caractères biochimiques (Galerie api20E) pour les prélèvements de lait de vache pasteurisé (LVP) | 53 |

Liste des figures

| Figure | Titre | Page |
|-----------------|---|-------------|
| Figure01 | Mesure de la densité | 15 |
| Figure02 | Recherche et dénombrement des germes totaux. (Guiraud, 1998 ;Lapied et Petranxiene, 1981) | 20 |
| Figure03 | Recherche et dénombrement des coliformes.(Guiraud, 1998 ;Lapied et Petranxiene, 1981) | 22 |
| Figure04 | La galerie Api20E | 30 |
| Figure05 | La densité des deux types du lait | 33 |
| Figure06 | La teneur en matière sèche totale des deux types de lait | 34 |
| Figure07 | Taux de ph des deux types du lait. | 35 |
| Figure08 | Teneur en matière grasse des deux types du lait. | 36 |
| Figure09 | Variation de l'acidité dornic des deux types du lait en fonction des prélèvements | 37 |
| Figure10 | La teneur en lactose des deux types de lait | 38 |
| Figure11 | Taux des protéines des deux types du lait | 39 |
| Figure12 | Variation du nombre de la flore totale en fonction des prélèvements | 41 |
| Figure13 | Variation du nombre des lactobacilles en fonction des prélèvements | 42 |
| Figure14 | Colonies bombées lisse blanchâtre à contour régulier | 43 |
| Figure15 | Colonies bombées blanchâtre de taille différentes | 43 |
| Figure16 | Bacilles à gram négative. | 43 |
| Figure17 | Bacilles à Gram positif. | 43 |
| Figure18 | Colonies bombées blanchâtre petites et moyennes de formes différentes avec un contour régulier. | 43 |
| Figure19 | Colonies bombée lisse blanchâtres | 43 |
| Figure20 | Bacilles à Gram négatif | 44 |
| Figure21 | Coccus à Gram positif | 44 |
| Figure22 | Colonies blanchâtres de taille différentes plates avec un contour irrégulier | 44 |

| | | |
|------------------|---|----|
| Figure23 | Colonies de grande taille lisse blanchâtres | 44 |
| Figure24 | Bacilles à Gram négatif | 44 |
| Figure25 | Coccus à Gram positif | 44 |
| Figure26 | Colonies bombées lisses jaunâtres avec un contour irrégulier | 44 |
| Figure27 | Colonies petites et moyenne taille bombées blanchâtres | 44 |
| Figure 28 | Bacille à Gram négatif | 44 |
| Figure29 | Cocci à Gram positif. | 44 |
| Figure30 | Colonies bombées petites et moyennes tailles lisse blanchâtre à contour régulier. | 45 |
| Figure31 | Colonies bombées blanchâtre | 45 |
| Figure32 | Bacilles à gram négative | 45 |
| Figure33 | Cocci à Gram positif. | 45 |
| Figure34 | Colonies bombées blanchâtre de différentes formes | 46 |
| Figure35 | Colonies bombée lisse blanchâtres. | 46 |
| Figure36 | Bacilles à Gram négative | 46 |
| Figure37 | Cocci à Gram positif | 46 |
| Figure38 | Colonies blanchâtres plates | 46 |
| Figure39 | Colonies de différentes tailles lisses blanchâtres | 46 |
| Figure40 | Bacilles à Gram négatif | 47 |
| Figure41 | Coccus à Gram positif | 47 |
| Figure42 | Colonies bombées lisses jaunâtres. | 47 |
| Figure 43 | Colonies petites et moyenne taille bombées blanchâtres | 47 |
| Figure44 | Bacilles à Gram négatif | 47 |
| Figure45 | Cocci à Gram positif | 47 |
| Figure 46 | Profil biochimique (galerie classique) | 48 |
| Figure47 | Résultats de la galerie classique | 50 |
| Figure48 | Les tests complémentaires. | 51 |
| Figure49 | Résultats de l'api20e | 51 |
| Figure50 | Résultat de l'api20e | 51 |
| Figure51 | Les tests complémentaires | 52 |

| | | |
|-----------------|-----------------------------------|----|
| Figure52 | Résultat de la galerie classique | 52 |
| Figure53 | Les tests complémentaires | 53 |
| Figure54 | Résultats de l'api20e | 53 |
| Figure55 | Résultats de l'api20e | 54 |
| Figure56 | Les tests complémentaires | 54 |
| Figure57 | Résultats de la galerie classique | 55 |
| Figure58 | Les tests complémentaires | 55 |
| Figure59 | Résultats de l'api20e | 55 |
| Figure60 | Résultats de la galerie classique | 56 |
| Figure61 | Les tests complémentaires | 56 |
| Figure62 | Résultats de l'api20e | 57 |
| Figure63 | Résultats de l'api20e | 57 |
| Figure64 | Les tests complémentaires | 58 |

Références bibliographiques :

-A-

-**Aboutayeb. R., (2009).**Technologie du lait et dérivés laitiers.

-**AFNOR., (1980).** Recueil des normes françaises. Lait et produits laitiers.

-**Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H., (2002)**Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait *In Vignola C.L*, Science et technologie du lait – Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN:3-25-29 (600 pages).

-**Alais C ,(1984).**science du lait. Principe des techniques laitières.4ème éd.2dédition Publicité France p162-163

-**Alais, C. (1984).** Science du lait - principes des techniques laitières. Paris, Editions Sepaic. 4c éd. 814 pages

-**Attallah, A., Belyagoubi, L. (2003).** Isolement et caractérisation de souches de *Listeria* dans le lait cru provenant de différentes régions de l'Ouest Algérien au niveau de la réception de G. P.I. Lait de Tlemcen. Mémoire d'ingénieur, Institut de Biologie, Université de Tlemcen. 63 pages

-B-

-**Bennefoy, C Guillet, F.Loyral, G et Bondais, E, (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire. Doin en centre régional de documentation pédagogique d'aquitaine France, 245p.

-**Boutonnier JL. (2008).** Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris.

-**Brule G., (2004)**Progrès technologiques au sein des industries alimentaires impact sur la qualité des produits–La filière laitière, Rapport commun de l'Académie des technologies et de l'Académie d'Agriculture de France : 8 (24 pages).

-**BylundGosta, (2000).** Handbook-of-dairy-processing. Editor: Teknotext AB lustrations: Origrit AB .pp 20-45,60-75,87-120.

-C-

--**Cayot P. et Lorient D. (1998).** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.

-**Codex Alimentarius. (1999).** Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206-1999. pp :1 -4.

-**Claude Michel J., Pouliot M., Richard J. et Vallerand C., (2002)** Lait de consommation In **Vignola C. L.,** Science et technologie du lait-transformation du lait, Ecole polytechnique de Montréal, ISBN:298 (600 pages).

-**Commission des Communautés européennes (1992).**– Lesrègles sanitaires pour la production et la mise sur le marché du lait cru, de lait traité thermiquement et de produits à base de lait. Directive 92/46/CEE. *J. off. Comm. européennes*, L 268/1, 14.09.1992.

-**CNERNA., (1981)** Centre National de Coordinations des Etudes et Recherches sur la Nutrition et l'Alimentation, Lait de consommation-Conférence de presse du 5 novembre 1981, Paris.

-D-

-**Derafa C. (2012).** Travaux pratiques de systématique bactérienne. Université Farhatabbassétif. 35p.

-E-

-**Eck A. (1987).** - Le fromage. Technique et documentation, Lavoisier, Paris, 540 pp.

-**El houssain.B (2009)** « Contribution à l'évaluation des pratiques frauduleuses dans le lait à la réception » Gharb Chrarda BniHcen Maroc, Edilivre-Aparis, 2009,204p

-F-

-**FIL, 1991(Fédération Internationale de Laiterie).**The significance of pathogenic microorganisms in raw milk .A10/A11 p14-20,50-67

-**FAO, (2010)** Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Lait de consommation

-**Fredot E., (2006)** Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et Doc,Lavoisier: 25 (397 pages).

-G-

-Galeslootte., Hassing F., 1961. Enkeleverschillen in gedragtussenzuursels met aisaromabacterie *Streptococcus diacetylactis* of *Betacoccus cremoris*. *Neth. Milk Dairy J.*, 15, 225-247.

-Gaucheron.F, (2004)Minéraux et produits laitiers, Tec et Doc, Lavoisier:783 (922 pages).

-Gervoson.P, (2007)Les laits fermentés-vos aillés pour une meilleure santé, Esco news, pileje-37 quai de Grenelle-75015, Paris:3 (7pages).

-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 Magister en Sciences Alimentaires, sous la direction de NAMOUNE H, Institut de La Nutrition, de L'alimentation et des Technologies Agro-Alimentaires I.N.A.T.A.A, Université MENTOURI – Constantine, 2011, 129p.

-Goursaud J, (1985). Composition et propriétés physico-chimiques. Dans Laits et produits laitiers vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits de la mamelle à la laitière. Luquet F.M.. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.

-Goy D., Häni JP. , Wechsler D. et Jakob E. (2005). Valeur de la teneur en caséine du lait de fromagerie. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions Gruyère N°27f .

-Guiraud 1998 : Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologiques. Ed, Dunod.

-Guiraud, 2003 : Méthode d'analyse en microbiologie alimentaire. In : Microbiologie alimentaire. Paris

- Guiraud J-P, 2003 : Microbiologie alimentaire .Edition Dunod, Paris, P359-722.

-Guiraud J-P, 2003 : Microbiologie alimentaire .Edition Dunod, Paris, P651-662

-H-

-Harding F., (1995)Milk quality, Blackie academic etprofessional: 113(166 pages).

-Hoden P., et COULON H., (1991)Composition chimique du lait.

-J-

-Jean Christian M., (2001)Le lait pasteurisé, Groupe de recherche et d'échanges technologiques, Paris.

-Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brule G., (2007)Science des aliments-technologie des produits alimentaires tec et doc, Lavoisier : 17 (456pages).

-Jeantet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G., (2008) Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: 1-3-13-14-17 (185 pages).

-J.Guiraud, P.Galzi, 1980 : les analyses microbiologiques dans les industries alimentaires. ED. Usine nouvelle, Paris.

-JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE., (2001) Bulletin officiel n° 4862 du 9 chaoual 1421 (4 janvier 2001), Décret n° 2-00-425 du 10 ramadan 1421 (7 décembre 2000) relatif au contrôle de la Production et de la commercialisation du lait et produits laitiers.

-K-

-KIM H., HARDY J., NOVAK G., RAMET J.P. et WEBER .W., (1982) Les goûts anormaux du lait frais et reconstitué, Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rom, ISBN, FAO 15 (50 pages).

-L-

-LeseurR., et Melik N., (1999)Lait de consommation In Luquee F.M, Laits et produits laitiers vache brebis chèvre, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 5 (637 pages).

-Luquet F. M. (1985). Laits et produits laitiers - Vache, brebis, chèvre. Tome 1 : Les laits De la mamelle à la laiterie. Tech. & Doc., Coll. STAA, Lavoisier, Paris.

-M-

-Madji A. (2009). Séminaire sur les fromages AOP ET IGP.INAT. Tunisie.

-Marchal, N., Bourdon, J.L.et Richard, CL. (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed. , Doin éditeurs, Paris.

-Mathieu J. (1998). Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris.

-Mathieu J.,(1999)Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris: 3-190 (220 pages).

-Mehlman I.J., Fismbein M., Gorbach S.L., Sanders A.C., Eide E.L. & Olson J.C. (1976). - Pathogenicity of *Escherichia coli* recovered from food. *J .Assoc. off. anal. Chem.*, **59** (1), 67-80.

-P-

-Petranxiene et Lapied, (1981) : la qualité bactériologique du lait et des produits laitiers. ED. Tec et Doc. .Lavoisier, Paris.

-Pfiffner A., (2009)Lait en poudre, <http://www.hls-dhs-dss.ch/textes>

-Pougheon S .et Goursaud J., (2001)Le lait caractéristiques physicochimiques *In* **DebryG.,**Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).

-Pointurier H., (2003)La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France : 64 (388 pages).

-Pougheon S., (2001) Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France: 34 (102 pages).

-R-

-Richard j, (1983) .Nature de la flore dominante et sous dominante des laits crus très pollués. *Le Lait.* 1983, 63, 148-170.

-Roudaut H. et Lefrancq E., (2005) :Alimentation théorique - L'évaluation sensorielle un outil pour le contrôle de la qualité des produits alimentaires, Doin, France

-S-

-Sanaa M, (1993). Epidémiologie de la contamination du lait à la ferme par *listeria monocytogenes*. Thèse de Doctorat Université paris p25, 26, 35, 163, 179.

-Singh E, (1972).astudy on the nitrogen distribution in goat' s milk. *Milchwissenschaft*, p167-167

- **Singleton, P, (1999)**.Bactériologie.4eme Edition. Dunod, Paris. 317 pages.

-**Sommellier et Huchel, (1999)**. Caractérisation microbiologique et aptitudes technologiques du lait ultra propre. Compte rendu institut de l'élevage N°9983118, p32

-**Stadhouders J, (1974)**. Dairy starter cultures. *Milchwissenschaft*, 29, 329-337.

-V-

-**Vierling E., (1999)**Aliment et boisson-science des aliments, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine, France:11(270 pages).

-**Vierling E., (2003)**Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine:11(270 pages).

-**Vignola. L Carole., (1984)**.« Science et technologie du lait, transformation du lait » 1^{ère} éd, école polytechnique de Montréal, 1984, 532pages, P86-87, P93-94.

-**Vignola.L. C, (2002)** Science et technologie du lait –Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, ISBN : 29-34 (600 pages).

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier « Dieu » le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

*En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur **Mme Zidi.S**, maitre-assistant au département de biologie à l'université de Guelma, pour l'orientation, la confiance et la patience qui ont constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port.*

*Je remercie particulièrement notre co-encadreur **Mme Bedioui.S**, maitre-assistant au département de biologie à l'université de Guelma pour l'honneur qu'elle nous a fait en dirigeant ce travail, pour ses aides, ses conseils, tout au long de l'élaboration de ce modeste travail.*

*Nos reconnaissances, nos vives gratitudee et nos sincères remerciements vont à Madame la présidente : **Slimani.A** et Madame l'examinatrice **Messiad.R**, pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre recherche en*

acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, je remercie, tous ceux qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce mémoire A :

La plus chère au monde, ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

La mémoire de mon père que son âme repose en paix,

Mes chers sœurs Safa et Asma.

Toute ma famille.

Tous mes chers amis.

Marwa.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A la plus chère au monde ma mère,

A mon très cher père que son âme repose en paix,

*A mes chères sœurs NADJETTE et NADIA, et leurs enfant
MINIAR et IYED*

*A mes chers frères YASSINE, SAID et ses femmes FAHIMA et
SIHEM et leurs enfants YASMMINE, NOURHANE et
SALAH ainsi a mon cher frère YOUNES*

A ma tante GHANIA et sa famille

A ma binôme MARWA,

A tous mes collègues

*NOUR, SAIDA, SARA, HAYEM, RYM, IMÉNE, SAFA,
TAREK,*

Et A tous mes amis et connaissances, proche et lointains.

Manel.

1. Généralité sur le lait

1.1. Définition

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 » (**Pougheon et Goursaud, 2001**).

Le Codex Alimentarius en 1999, le définit 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 à un traitement ultérieur.

Selon **Aboutayeb (2009)**, le lait est un liquide blanc, opaque, de saveur légèrement sucrée, constituant un aliment complet et équilibré, sécrété par les glandes mammaires de la femme et par celles des mammifères femelles pour la nutrition des jeunes.

1.2. Composition

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée dans le Tableau 01. Les données sont des approximations quantitatives, qui varient en fonction d'une multiplicité de facteurs : race animale, alimentation et état de santé de l'animal, période de lactation, ainsi qu'au cours de la traite. Il reste que la composition exacte d'un échantillon de lait ne peut s'obtenir que par analyse (Tableau 01) (**Roudaut et Lefrancq, 2005**).

Tableau 1 : Composition moyenne du lait entier (**Fredot, 2006**)

| Composants | Teneurs (g/100g) |
|----------------------------|------------------|
| Eau | 89.5 |
| Dérivés azotés | 3.44 |
| Protéines | 3.27 |
| Caséines | 2.71 |
| Protéines solubles | 0.56 |
| Azote non protéique | 0.17 |

| | |
|------------------------------|----------------------|
| Matière grasses | 3.5 |
| Lipides neutres | 3.4 |
| Lipides complexes | <0.05 |
| Composés liposolubles | <0.05 |
| Glucides | 4.8 |
| Lactose | 4.7 |
| Gaz dissout | 5% du volume du lait |
| Extrait sec total | 12.8g |

Le lait est donc composé de :

1.2.1. L'eau

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g par litre. Dans la quelle sont dispersés tous les autres constituants du lait, tous ceux de la matière sèche (**Mathieu, 1998**).

1.2.2. Matière grasse

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g par litre (**Luquet, 1985**).

Elle est constituée par 98,5% de glycérides (esters d'acide gras et de glycérol), 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles : cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E, et K (**Goursaud, 1985**).

La matière grasse est dispersée en émulsion, sous forme de microgouttelettes de triglycérides entourées d'une membrane complexe, dans la phase dispersante qu'est le lait écrémé (**Boutonnier, 2008**).

1.2.3. Matière azotée

La matière azotée du lait englobe deux groupes, les protéines et les matières non protéiques qui représentent respectivement 95% et 5% de l'azote minéral du lait (**Goursaud, 1985**). Les protéines se répartissent en deux phases : une phase micellaire et une phase soluble. 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 α_1 36 %

et α_2 10 % - Bêta-caséine ou caséine β 34 % - Kappa-caséine ou caséine κ 13 % - Gamma-caséines ou caséine γ 7 % (produits de la protéolyse de la β -caséine)

L'autre fraction protéique (environ 17%) du lait est présente dans le lactosérum. Les deux principales protéines sériques sont la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine (**Goy et al. 2005**).

1.2.4. Glucides

Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. (**Luquet, 1985**).

Mathieu(1999) : évoque que le lait contient des glucides essentiellement représentés par le lactose, son constituant le plus abondant après l'eau. Sa molécule $C_{12}H_{22}O_{11}$, est constituée d'un résidu galactose uni à un résidu glucose.

Le lactose est quasiment le seul glucide du lait de vache et représente 99% des glucides du lait de monogastriques. Sa teneur est très stable entre 48 et 50 g/l dans le lait de vache.

Cette teneur présente de faibles variations dans le sens inverse des variations du taux butyreux. Le lactose est un sucre spécifique du lait (**Hoden et Coulon, 1991**).

1.2.5. Matière minérale

Selon **Gaucheron(2004)**, le lait contient des quantités importantes de différents minéraux. Les principaux minéraux sont le calcium, le magnésium, le sodium et le potassium pour les cations aussi que le phosphate, le chlorure et citrate pour les anions (Tableau 2).

Tableau 2 : Composition minérale du lait de vache (**Jeantet et al., 2007**)

| <i>Eléments minéraux</i> | <i>Concentration (mg.kg-1)</i> |
|------------------------------|--------------------------------|
| Calcium | 1043-1283 |
| Magnésium | 97-146 |
| Phosphate inorganique | 1805-2185 |
| Citrate | 1323-2079 |
| Sodium | 391-644 |
| Potassium | 1212-1681 |
| Chlorure | 772-1207 |

1.2.6. Biocatalyseurs

✚ Les vitamines

Selon **Vignola (2002)**, les vitamines sont des substances biologiquement indispensables à la vie puisqu'elles participent comme cofacteurs dans les réactions enzymatiques et dans les échanges à l'échelle des membranes cellulaires. L'organisme humain est incapable de les synthétiser. On distingue d'une part les vitamines hydrosolubles (vitamine du groupe B et vitamine C) en quantité constantes, et d'autre part les vitamines liposolubles (**A, D, E et K**) (tableau 3) (**Jeantet et al., 2008**).

Tableau 3 : Composition vitaminique moyenne du lait cru (**Amiot et al., 2002**)

| <i>Vitamines</i> | <i>Teneur moyenne</i> |
|---|-----------------------|
| <i>Vitamines liposolubles</i> | |
| Vitamine A (+carotènes) | 40µg/100ml |
| Vitamine D | 2.4µg/100ml |
| Vitamine E | 100µg/100ml |
| Vitamine K | 5µg/100ml |
| <i>Vitamines hydrosolubles</i> | |
| Vitamine C (acide ascorbique) | 2mg/100ml |
| Vitamine B ₁ (thiamine) | 45µg/100ml |
| Vitamine B ₂ (riboflavine) | 175µg/100ml |
| Vitamine B ₆ (pyridoxine) | 50µg/100ml |
| Vitamine B ₁₂ cyanocobalamine) | 0.45µg/100ml |
| Niacine et niacinamide | 90µg/100ml |
| Acide pantothénique | 350µg/100ml |
| Acide folique | 5.5µg/100ml |
| Vitamine H (biotine) | 3.5µg/100ml |

✚ Les Enzymes

Pougheon(2001) : définit les enzymes comme des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Environ 60 enzymes principales ont été répertoriées dans le lait dont 20 sont des constituants natifs. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes : la distinction entre éléments natifs et éléments extérieurs n'est donc pas facile (Tableau 4).

Tableau 4 : Caractéristiques des principaux enzymes du lait (**Vignola, 2002**)

| Groupes d'enzymes | Classes d'enzymes | pH | Température (°C) | Substrats |
|------------------------------------|----------------------|---------|------------------|---|
| Hydrolases | Estérases | | | |
| | Lipases | 8.5 | 37 | Triglycérides |
| | Phosphatase alcaline | 9-10 | 37 | Esters phosphoriques |
| | Phosphatase acide | 4.0-5.2 | 37 | Esters phosphoriques |
| | Protéases | | | |
| | Lysozyme | 7.5 | 37 | Parois cellulaire microbienne |
| | Plasmine | 8 | 37 | Caséines |
| Déshydrogénases ou oxydases | Sulphydriile oxydase | 7 | 37 | Protéines, peptides |
| | Xanthine oxydase | 8.3 | 37 | Bases puriques |
| Oxygénases | Lactoperoxydase | 6.8 | 20 | Composés réducteurs+H ₂ O ₂ |
| | Catalase | 7 | 20 | H ₂ O ₂ |

2. Caractéristiques microbiologiques du lait

La flore microbiologique du lait

Le lait contient peu de Microorganismes 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 de pis et des canaux galactophores : microcoques, streptocoques lactiques, lactobacilles. Des germes pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire peuvent être présents lorsque le lait est issu d'un animal malade (Streptocoque pyogène, Carynebactéries pyogènes, des Staphylocoques) qui sont des agents des mammites et peuvent s'agir aussi de germes d'infection générale *Salmonella*, *Brucella*, et exceptionnellement *Listeria monocytogene*, mycobactérie, *Bacillus anthracis* et quelque virus (Guiraud, 2003).

Tableau 05 : Composition microbiologique du lait. (Bennefoy *et al.*, 2002)

| | Famille | Forme | Habitat | coloration de Gram | Rôle |
|----------------------------|---------|---------------|-----------------------|-----------------------|---|
| Bactéries lactiques | - | cocci/bacille | les produits laitiers | Gram(+) | production de l'acide lactique, dégradation du sucre glucose en AC. Lactique et formation de biomasse, elles possèdent deux type de fermentation : homofermentation et hétérofermentation |

| | | | | | |
|---------------------------------------|-------------------------|----------|---|---------|--|
| Lactobacille | <i>Lactobacillaceae</i> | Bacilles | la cavité naturelle de l'homme et les produits laitiers | Gram(+) | la fabrication des produits laitiers par l'abaissement du pH (la production de l'acides lactique, responsable de la fermentation homo et hétéro lactique) la production de plusieurs arômes. |
| Clostridium sulfito-réducteurs | <i>clostridium</i> | Bacille | niche écologique : eau douce, sol ainsi que l'intestin de l'homme | Gram(+) | |
| Coliformes | Entérobactérie | Bacille | Les coliformes se répartissent en deux groupes distincts : - les non fécaux dont l'origine est l'environnement général des vaches, ils sont détectés dès 30°C. - les fécaux dont l'origine essentielle est le tube digestif. Ils sont plus thermo-tolérants | Gram(-) | fermentent le lactose avec production de gaz |

| | | | | | |
|--|--------------------------|------------------------------------|--|---------|---|
| | | | (détectés à 44°C). | | |
| Staphylocoque | <i>Staphylococcaceae</i> | Cocci | chez la vache, ils sont présents sur la peau de la mamelle et des trayons | Gram(+) | coagulent le plasma de lapin |
| flore mésophile aérobie totale (FMAT) | - | De formes et de taille différentes | | - | |
| Streptocoques fécaux | <i>Streptococcaceae</i> | cocci | colonisent les intestins du bétail, des chevaux, et de la volaille et parfois chez l'humain. | Gram+ | Agents de fermentation lactique. catalase négatives |

3. Les laits commercialisés

Le terme "Laits de consommation" désigne les différentes catégories de laits vendus à l'état liquide. Ces laits sont présentés obligatoirement en emballages fermés jusqu'à la remise au consommateur (CNERNA, 1981).

D'après Vierling (1999), les laits de consommation sont des laits destinés à être consommés en l'état.

L'évolution des processus technologiques, des techniques de conservation et de distribution a permis l'élaboration d'une large gamme de lait de consommation qui se

distinguent par leur composition, leur qualité nutritionnelle et organoleptique et leur durée de conservation (Jeantet *et al.*, 2008).

3.1.Lait pasteurisé

Harding (1995) évoque : la pasteurisation a pour objectif la destruction de toutes les formes végétatives des micro-organismes pathogènes du lait sans altérer la qualité chimique, physique et organoleptique de ce dernier.

Le lait pasteurisé, fabriqué à partir de lait cru ou de lait reconstitué, écrémé ou non, est un lait qui a subi un traitement thermique (pasteurisation) qui détruit plus de 90 % de la flore (jusqu'à 98 %) contenue dans le lait (notamment tous les germes pathogènes non sporulés, tels que les germes de la tuberculose et de la brucellose) (**Jean Christian, 2001**).

D'après **Jeantet et al., (2008)**, on distingue trois types de traitements :

- **Pasteurisation basse (62-65°C/30min)** : elle n'est réalisable qu'en batch et est abandonnée en laiterie.
- **Pasteurisation haute (71-72°C/15-40s) ou HTST (High Température Short Time)** : elle est réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan organoleptique et nutritionnel, la pasteurisation haute n'a que peu d'effets. Au niveau biochimique, la phosphatase alcaline est détruite par contre la peroxydase reste active et les taux de dénaturation des protéines sériques et des vitamines sont faibles. La date limite de consommation (DLC) des laits ayant subi une pasteurisation haute est 7 jours après conditionnement (bouteille en verre ou en carton, polyéthylène ou aluminium).
- **Flash pasteurisation (85-90°C/1-2s)** : elle est pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne ; la phosphatase et la peroxydase sont détruites.

3.2.Lait stérilisé

Leseur et Melik (1999) ont montré que selon le procédé de stérilisation, on distingue le lait stérilisé et le lait stérilisé UHT. Ces laits doivent être stables jusqu'à la date limite de consommation.

- **Lait stérilisé** : C'est un lait conditionné- stérilisé après conditionnement dans un récipient hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes par la chaleur, laquelle doit détruire les enzymes les microorganismes pathogènes. La

stérilisation est réalisée à une température de 100 -120°C pendant une vingtaine de minutes.

- **Lait stérilisé UHT** : C'est un lait traité par la chaleur, qui doit inactiver les enzymes, détruire les microorganismes pathogènes, et conditionné ensuite aseptiquement dans un récipient stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes. Le traitement thermique peut être soit direct (injection de vapeur d'eau), soit indirect. Il est réalisé à 135-150°C pendant 2.5 secondes environ (**Leseur et Melik, 1999**).

3.3.Lait concentré sucré

Lait concentré c'est le produit provenant de la concentration du lait propre à la consommation. La concentration du lait peut se faire avec ou sans addition de sucre (**Journal Officiel de la République Algérienne, 2001**).

Selon **Jeantet et al., (2008)**, la stabilité du lait peut être assurée par réduction de l'activité de l'eau (a_w). On y parvient par élimination partielle de l'eau et ajout de sucre. Le principe consiste à effectuer une évaporation sous vide afin d'abaisser la température d'ébullition. L'évaporation s'effectue dans des évaporateurs tubulaires ou à plaques. L'addition de saccharose assure la conservation du produit sans étape de stérilisation en limitant le développement des micro-organismes par abaissement de l' a_w .

Leur teneur en eau est de 24% environ, les constituants ont une concentration proche du triple de celle du lait, la teneur en saccharose atteint plus de 40% (**Vierling, 2003**).

3.4.Lait aromatisé

Vierling (1999) rappelle que cette dénomination est réservée aux boissons stérilisées préparées à l'avance, constituées exclusivement de lait écrémé ou non , sucré ou non , additionné des colorants généralement autorisés et de substances aromatiques naturelles qui peuvent être renforcées artificiellement : abricot , ananas, fraise, prune, cerise, framboise. Les laits aromatisés peuvent avoir subi l'addition d'agar-agar, alginates, carraghénanes et pectines comme stabilisants. Les laits aromatisés sont généralement obtenus par stérilisation en récipients ou par stérilisation UHT.

Ce sont tous des laits stérilisés auxquels on a ajouté des arômes autorisés (notamment cacao, vanille, fraise) (**Leseur et Melik, 1999**).

3.5.Lait fermenté

D'après **Fredot (2006)**, la dénomination lait fermenté est réservée au produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre écrémés ou non sous forme liquide, concentré ou en poudre. Ils pourront être enrichis avec des constituants tels que la poudre de lait ou les protéines de lait.

Le lait subit alors un traitement thermique au moins équivalent à la pasteurisation et estensemencé avec des microorganismes caractéristiques de chaque produit. La coagulation des laits fermentés ne doit pas être obtenue par d'autres moyens que ceux qui résultent de l'activité des microorganismes qui sont pour la plupart du probiotique c'est-à-dire bénéfique pour la santé.

Pour **Brule (2004)**, le lait fermenté le plus consommé dans les pays occidentaux est le yaourt. De nombreux autres produits sont arrivés sur le marché : laits fermentés probiotiques, laits fermentés de longue conservation (pasteurisés, UHT, lyophilisés) et produits « plaisirs » (à boire, à sucer, pétillants ou glacés).

La dénomination "yaourt" ou "yoghourt" est strictement réservée aux laits dont la fermentation est obtenue par des bactéries lactiques *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*. Ces bactéries doivent êtreensemencées simultanément et se trouver vivantes dans le produit fini à raison d'au moins 10 millions de bactéries par gramme et ceci jusqu'à la date limite de consommation (**Gervoson, 2007**).

3.6.Lait en poudre

Pfiffner (2009) évoque que la production de lait condensé avait débuté dans les années 1860, celle de lait en poudre commença plus tardivement (Industrie laitière). Les essais de dessiccation de lait entier, demi-écrémé ou écrémé entrepris dans la seconde moitié du XIXe s. avaient donné des produits insatisfaisants à la réhydratation. C'est au début du XXe s. que l'on mit au point des procédés aptes à un usage industriel, dont les plus importants restent aujourd'hui encore l'atomisation et le séchage sur cylindres chauffants, qui réduisent la teneur en eau du lait de 88% à 2-4% (Tableau 06).

Selon la loi sur les aliments et drogues du Canada, les poudres de lait sont des produits résultants de l'enlèvement partiel de l'eau du lait. On répartit les poudres en trois groupes : La

poudre de lait entier, la poudre de lait partiellement écrémé et la poudre de lait écrémé (Claude Michel et *al.*, 2002).

Tableau 06: Composition des laits en poudre (% m/m) (FAO, 2010).

| Composants | Lait entier | Lait partiellement écrémé | Lait écrémé |
|--------------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| Matière grasse laitière | | | |
| Minimum | 26 | >1,5 | |
| Maximum | <40 | <26 | 1,5 |
| Eau maximum | 5 | 5 | 5 |

1. Analyse physicochimique

Notre travail porte sur la comparaison physicochimique entre les deux variétés de lait : Lait reconstitué pasteurisé (LRP) et lait de vache pasteurisé (LVP).

1.1.Prélèvement

Les analyses physicochimiques ont été effectuées au niveau de l'unité « SAFIA » avec un nombre de quatre échantillons pour chaque variété de lait.

Le prélèvement pour ces analyses nécessite l'emploi d'une louche qu'on plonge à l'intérieur du tank par son ouverture supérieure.

1.2.Détermination de la densité

Définition

La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau (**Pointurier, 2003**).

Principe

La densité est déterminée à 20°C par lactodensimètre.

Appareillage

- Lactodensimètre avec thermomètre incorporé,
- Epruvette cylindrique sans bec, de hauteur apportée à celle de lactodensimètre et de diamètre intérieur supérieur de 9 mm au moins au diamètre de la carène de lactodensimètre.

Mode opératoire

- ✓ Verser le lait dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse.
- ✓ Remplir l'éprouvette jusqu'au niveau de la carène de lactodensimètre.

- ✓ Placer l'éprouvette remplie en position verticale, il est recommandé de la plonger dans le bain à 20°C dans le cas d'une température comprise entre 18°C - 22°C,
- ✓ Attendre une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation (Figure 01).

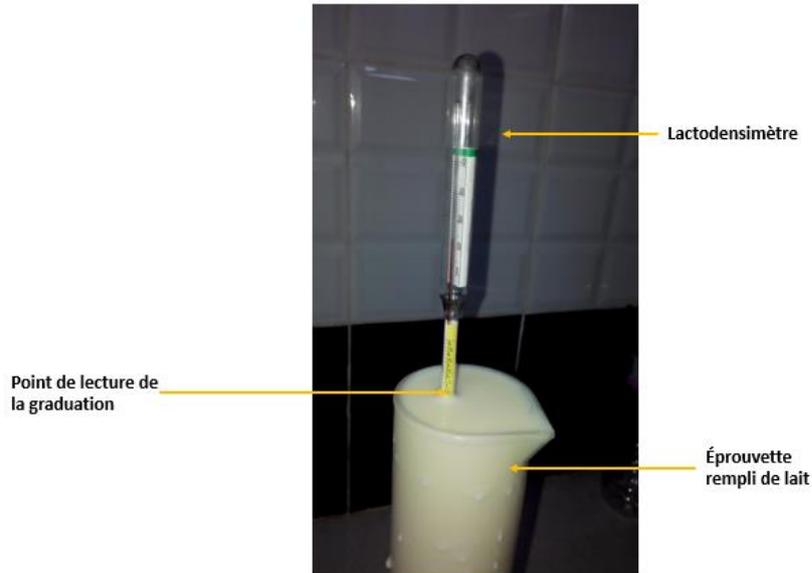


Figure01 : Mesure de la densité.

Expression des résultats

La densité du lait est une grandeur sans dimension.

Corrections

Si le lactodensimètre est utilisé à une température autre que 20°C, une correction de la lecture doit être faite :

- ✓ Si la température est supérieure à 20°C, le lait est plus fluide, donc plus léger la densité brute doit être augmentée de 0,0002
- ✓ Si la température du lait au moment de la mesure est inférieure à 20°C, le lait est plus visqueux donc plus dense, la densité brute doit être diminuée de 0,0002.

1.3.Mesure de la teneur en matière sèche totale

Définition

« on entend par matière sèche du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la présente norme » (AFNOR, 1985).

• Appareillage

- ✓ Capsule en platine ou en autre matière inaltérable dans les conditions de l'essai de forme cylindrique de préférence avec couvercle,
 - ✓ Bain-marie à niveau constant, fermé par un couvercle métallique dans lequel sont ménagées des ouvertures circulaires,
 - ✓ Étuve à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,
 - ✓ Dessiccateur,
 - ✓ Balance analytique,
 - ✓ Pipette à lait de 5ml.

• Mode opératoire

Le principe de la méthode utilisée consiste en une dessiccation par évaporation à l'étuve ($103 \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 3h) d'une certaine quantité de lait.

- ✓ Chaque échantillon de lait (LRP et LVP) a été prélevé (5ml) et a été mis dans une capsule en platine placée dans un bain marie pendant 30minutes environ puis dans l'étuve.
- ✓ Peser la capsule séchée, effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé.

• Expression des résultats

La matière sèche exprimée en grammes par litre de lait est égale à:

$$(M_1 - M_0) \times V \text{ Où :}$$

M₀ : la masse en grammes de la capsule vide.

M₁ : la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

V : est le volume en millilitres de la prise d'essai.

- ❖ Les paramètres suivants ont été réalisés à l'aide d'un appareil appelé « Lactoscan »

1.4. Mesure du pH

- **Principe**

La mesure du pH du lait sert à renseigner sur l'état du lait, un pH plus élevé que la normal est un mauvais signe dans ce cas il y a risque d'une prolifération bactérienne.

- **Norme**

Le lait frais contient peu d'acide et son pH est voisin de la neutralité donc les normes de mesure du pH du lait cru sont 6.5-6.8 (**Alias 1984**).

- **Mode opératoire**

- remplir le bêcher à moitié avec l'échantillon à analyser.

- introduire la sonde du Lactoscane.

- appuyer sur le bouton Start

- rincer l'électrode à l'eau distillée.

1.5. Acidité Dornic

L'industrie laitière utilise le degré Dornic pour quantifier l'acidité d'un lait. Cette unité doit son nom à Pierre Dornic (1864 – 1933), ingénieur agronome français. Un degré Dornic (1 °D) correspond à 0,1 g d'acide lactique par litre de lait. Pour être considéré comme frais, un lait doit avoir une acidité inférieure ou égale à 18 °D.

Entre 18 °D et 40 °D, le lait caille (il « tourne ») lorsqu'on le chauffe ; c'est la caséine qui floccule. Au-delà de 40 °D, il caille à température ambiante.

- **Mode opératoire**

On prend le bêcher contenant la quantité de lait à analyser puis on trempe l'électrode du lactoscane dans le bêcher puis on appuie sur le bouton Start, le résultat de la lecture sera affiché sur l'écran de l'appareil dans quelques minutes.

1.6.Lactose, protéine, matière grasse

Elles sont déterminées à l'aide d'un lactoscan (Milkanalyzer) par la méthode suivante :

- ✓ Introduire une quantité de lait à analyser dans un bêcher.
- ✓ porter le bêcher au Lactoscan et tromper l'électrode du Lactoscan dans le bêcher puis appuyer sur le bouton Start.
- ✓ Attendre 2minutes et 30 secondes pour que l'appareil absorbe à l'aide d'une sonde une quantité de l'échantillon.

- **Expression des résultats**

Les résultats seront affichés sur l'écran du Lactoscan.

2. Analyse Microbiologique

Ces analyses sont effectuées au niveau des laboratoires de notre université (8 mai 1945 Guelma).

Prélèvement :

Notre recherche porte sur la comparaison microbiologique entre un échantillon de lait reconstitué pasteurisé demi écrémé conditionné pris au hasard d'un magasin et un autre échantillon de lait de vache pasteurisé de la même marque (lait de sachet SAFIA).

Les échantillons doivent être transportés dans une glacière avec des glaçons le temps de transport ne dépasse pas 2h, tout en respectant les conditions d'asepsie, les prélèvements des échantillons sont faite dans les périodes définit sur le Tableau 07.

Tableau 07 : les cordonnées des échantillons

| Echantillon | Date de prélèvement |
|--|---------------------|
| 1 ^{er} échantillon (1 LRP+1LVP) | 08/02 /2016 |
| 2 ^{ème} échantillon (1 LRP+ 1LVP) | 28/02/2016 |
| 3 ^{ème} échantillon (1LRP+1LVP) | 19/03/2016 |
| 4 ^{ème} échantillon (1LVP+ 1LRP) | 08/04/2016 |

🌈 Méthodes d'analyses

Préparation des dilutions

Une série de dilution, a été réalisée à partir de l'échantillon après une homogénéisation. (Giraud, 1998)

- Prélever aseptiquement 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une pipette graduée stérile de 1 ml munie d'une poire; et effectuer une autre homogénéisation (selon la norme NF ISO 7218).
- refaire pour les autres tubes, en utilisant une autre pipette. Ou par des systèmes de pipetage automatique munis de cônes à usage unique.

2.1.La recherche et le dénombrement de La flore mésophile aérobie totale (FMAT)

Principe

Les micro-organismes aérobies et aéro-anaérobie facultatifs, peuvent se développer dans un milieu nutritif non sélectif. Incubés à 30°C pendant 72h. Ils apparaissent sous forme de colonies de taille et de formes différentes (Lapied et Petranxiene 1981).

Mode opératoire

- La liquéfaction du milieu (Gélose nutritive) à 45°C puis le refroidir à une température ambiante.
- Ecoulement du milieu dans des boites de pétri.
- Ensemencement par trois types des inoculations en masse, strie et piqure centrale (0.1ml) de chaque échantillon sur le milieu.
- Incuber à 30°C pendant 72h.

Lecture

- ✓ Les germes totaux aérobies apparaissent sous forme de colonies blanchâtres de tailles différentes.
- ✓ Le dénombrement des colonies par ml de l'échantillon se fait en tenant en compte le degré de dilution.

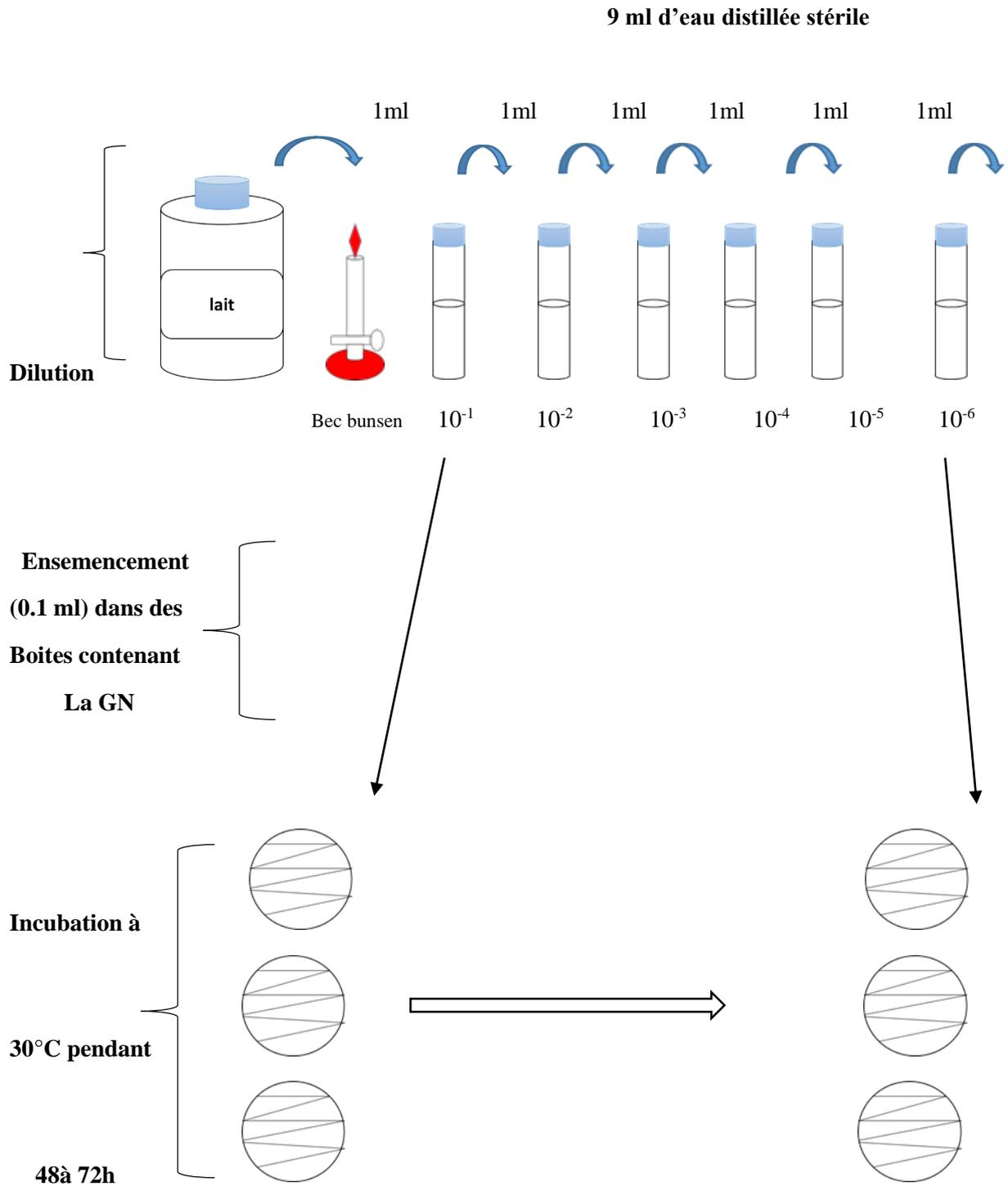


Figure 02 : recherche et dénombrement des germes totaux. (Guiraud, 1998 ;Lapied et Petranxiene, 1981)

2.2.La recherche des coliformes totaux

Les coliformes totaux sont des bâtonnets, à Gram négatif, aero-anaerobis facultatifs, non sporulés. (J.Guiraud, P.Galzy, 1980).

Les coliformes fécaux se distinguent des coliformes totaux par leur température de prolifération qui est de 44° C (Lapied et Petransxiene, 1981).

Principe

La colimétrie est l'ensemble des méthodes permettant la recherche et le dénombrement des coliformes, leur présence indique une contamination fécale. Les coliformes ont la particularité de fermenter le lactose avec un dégagement de gaz. Le développement des coliformes totaux acidifie le milieu qui se traduit par un virage de l'indicateur coloré de violet en jaune. En outre, une production de gaz apparaît dans les cloches renversées. (L. lapied, D. Petransxiene, 1981).

Mode opératoire

- Ensemencer 1ml à partir des dilutions décimales (de 10⁻¹ jusqu'à 10⁻⁶, 3 tubes pour chaque dilution) une série de 18 tubes de BCPL simple concentré (avec cloche de Durham).
- Incuber les tubes à 37°C pendant 48 h pour les coliformes totaux et à 44°C pendant 48h pour les coliformes fécaux.

Test présomptif

- A partir d'un tube positif de BCPL, prélever 1ml d'un tube positif puis à partir de celui-ci ensemencer par incorporation dans un milieu contenant 10 ml d'eau peptonée exempte d'indole avec une cloche de Durham.
- Incuber à 37°C pendant 24 h.
- Après l'incubation, ajouter au tube 2à3 gouttes de réactif de KOVACS.

Lecture

- ✓ virage de la couleur vers le jaune avec un trouble et une production de gaz indique une activité biologique positive.

- ✓ Dans le cas d'un tube positif et l'addition du réactif précédent l'apparition d'un anneau rouge traduit la présence des coliformes thermotolérants.
- ✓ Illustration du nombre le plus probable (NPP) se fait par la table de Mac Grady.

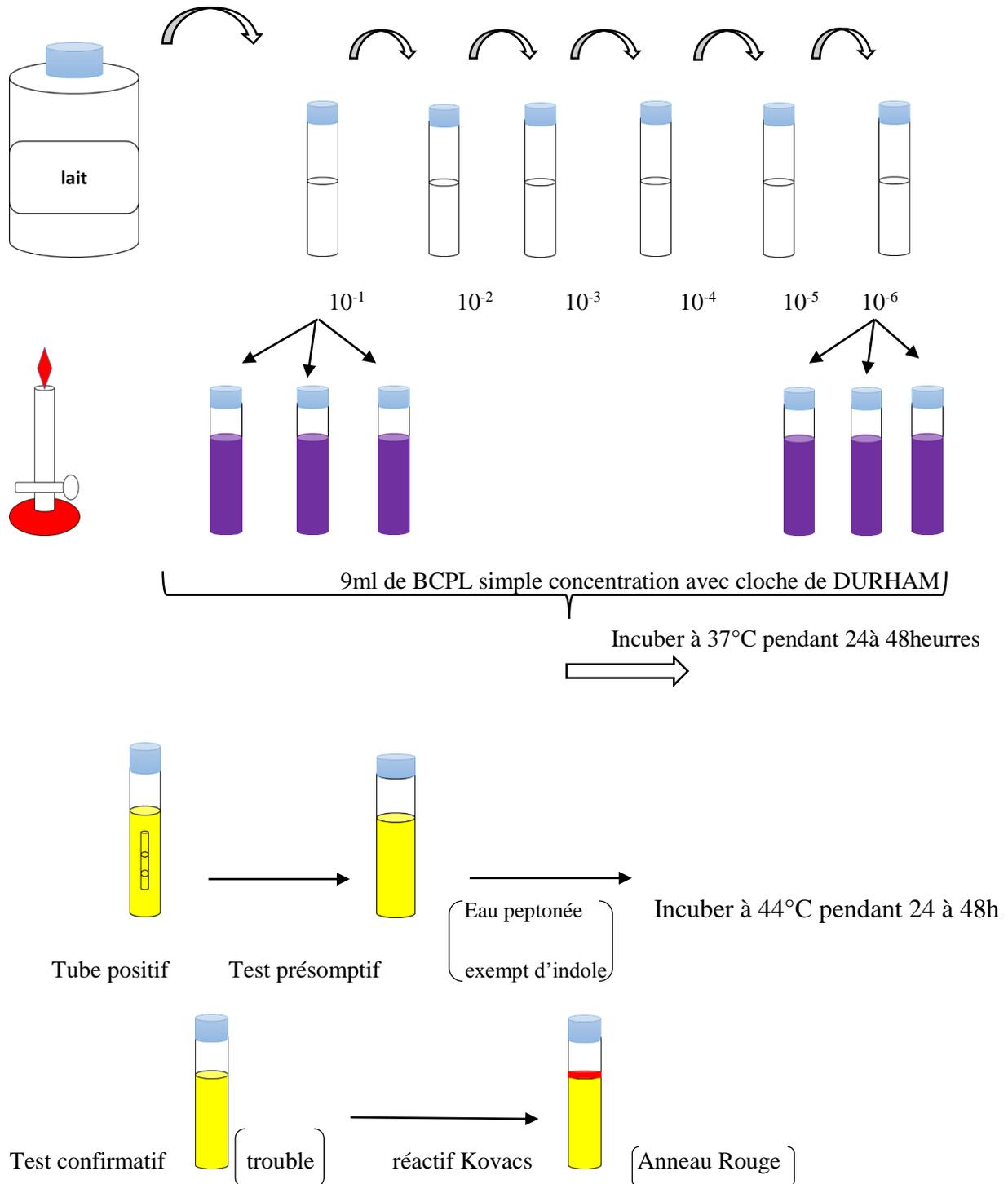


Figure 03: Recherche et dénombrement des coliformes. (Guiraud, 1998 ; Lapiéd et Petranxiene, 1981)

2.3. La recherche des streptocoques fécaux

Les streptocoques constituent la famille des *streptococcaceae* qui regroupe des genres très fréquents dans l'industrie alimentaire comme contaminants et surtout comme agents de fermentation lactique.

Les *streptococcaceae* sont des coques à Gram positif, asporulées généralement groupés en paires ou surtout en chaîne de longueur variable, généralement immobiles. Ils sont catalase négatives, certains pédiocoques possèdent un pseudo catalase et peuvent apparaître catalase positive. La différenciation entre genres est basée sur l'arrangement des cellules et sur le type de fermentation lactique (homo ou hétéro lactique). (Guiraud et Galzy, 1980).

Principe

La recherche des streptocoques nécessite l'utilisation d'un milieu Roth et d'un milieu de confirmation Eva Litsky.

Mode opératoire

- Ensemencer une série de 18 tubes contenant le milieu Rothe avec 1ml de dilution décimale (3 tubes pour chaque dilution).
- Incubation à 37°C/48h (présomption).

Test de confirmation

- L'apparition d'un trouble nécessite un test confirmatif sur le milieu EVA Litsky
- Incubation à 37°C/24h.

Lecture

- ✓ Les tubes de Rothe présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs (présence de streptocoques).

2.4.La recherche et l'identification des staphylocoques

L'isolement sélectif des staphylocoques a été réalisé sur la gélose Chapman qui contient un inhibiteur : fortes concentrations en chlorure de sodium (75g.l), ce qui permet un isolement sélectif de staphylococcus tolérant les fortes concentrations en Na Cl.

L'ensemencement doit être en masse en strie.

On peut étudier la fermentation du mannitol par virage au jaune de l'indicateur coloré, le rouge de phénol, autour des colonies. (Guiraud et Galzy, 1980)

Lecture

- ✓ mannitol positif veut dire présence de colonies de staphylocoques → virage de la couleur du milieu du rouge vers le jaune (auréole jaune).
- ✓ Présence des colonies pigmentées en jaune.

Identification

Pour l'identification des staphylocoques

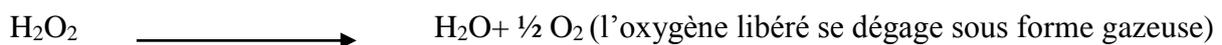
➤ L'examen microscopique

Ce sont des cocci Gram positif, regroupés en amas (grappe de raisin).

➤ La recherche de la catalase

Principe

Cette enzyme empêche en effet l'accumulation de l' H_2O_2 elle le dégrade selon la réaction suivante



Ce test est à la base de l'identification des bactéries à Gram (+).

Techniques

- Sur une lame propre et séchée déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes
- A l'aide d'une pipette pasteur, ajouter l'inoculum bactérien.
- Surveiller l'apparition d'un dégagement d'oxygène sous forme de bulles gazeuses.

Lecture

- ✓ Dégagement immédiat de bulles gazeuses : le test catalase est positif.
- ✓ Pas de dégagement de bulles gazeuses : le test catalase est négatif.

2.5. Recherche des Clostridium sulfito-réducteurs

La recherche des clostridiiums sulfito-réducteur peut s'effectuer par des formes sporulées sur milieu : Agar Viande-Foie.

La flore d'accompagnement est éliminée par pasteurisation. L'amidon facilite la germination des spores, le sulfite est réduit en sulfure par les clostridium sulfito-réducteurs et réagit avec les ions ferriques en provoquant le noircissement des colonies. Les anaérobies sulfito-réductrices (ASR) se présentent sous formes de bactéries à Gram(+), se développant en 24 à 48heures (**Guiraud et Galzy, 1980**).

Mode opératoire

- Pasteuriser l'échantillon au bain-marie à 80°C pendant 5minutes.
- Introduire 5ml de lait à examiner dans 2 tubes.
- Additionner 20 ml de gélose viande-foie dans chaque tube.
- Créer l'anaérobiose par l'introduction à la surface des 2 tubes contenant le milieu de culture, de la paraffine.
- Préparer un autre tube comme témoin.
- Incuber à 37°C pendant 72heures.

Lecture :

Les clostridiiums sulfio-réducteurs apparaissent sous formes de grosses colonies noires.

2.6. La recherche des bactéries lactiques

Le genre lactobacille a été isolé à partir du milieu sélectif MRS (Man Rogossa Sharpe) après la réalisation d'une culture pure. (**Guiraud et Galzy, 1980**)

Mode opératoire

- Liquéfaction du milieu à 45°C puis refroidissement à une température ambiante.
- Ecoulement du milieu MRS dans des tubes à essai inclinés.
- Ensemencement par pique centrale (0.1ml) de l'échantillon dans le milieu
- La mise des tubes dans un dessiccateur avec une bougie pour la création d'une anaérobiose

- Incubation à 37°C pendant 24h à 72h.

Lecture

Dans le cas d'un résultat positif, les lactobacilles apparaissent sous formes des colonies blanchâtres lisses de tailles différentes.

2.7.Dénombrement des levures et moisissures

Les moisissures et les levures peuvent être présentes dans le lait dans le cas d'une contamination. Elles ont été isolées à partir du milieu sélectif Sabouraud chloramphénicol. (Lapied et Petransxiene, 1981).

Mode opératoire

- Liquéfaction du milieu à 45°C puis refroidissement à une température ambiante.
- Ecoulement des boites de pétri.
- Inoculation par deux types d'inoculations en masse et par strie (0.1ml) de l'échantillon dans le milieu sabouraud chloramphénicol
- Homogénéisation du contenu des boites.
- Incubation à 25°C-33°C pendant 5jours.

2.8. Identification des germes

Elle se base sur :

2.8.1. L'observation macroscopique

Est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. L'aspect des colonies dépend du milieu utilisé, de la durée et de la température de l'incubation.

On peut distinguer à l'œil nu les caractéristiques d'une colonie : la taille, la forme, l'opacité, la consistance, la couleur et pigmentation, l'aspect des colonies en profondeur, et leur aspect en surface ... (Attallah et belyagoubi, 2003).

2.8.2. L'examen microscopique

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce bactérienne.

➤ **L'examen à l'état frais**

C'est l'examen microscopique de bactéries vivantes, en milieu liquide. Il permet d'apprécier leur mobilité (ou immobilité) et leur morphologie. (**Attallah et belyagoubi, 2003**).

- Déposer une goutte d'eau physiologique stérile sur une lame.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine une colonie poussée sur sa gélose.
- Effectuer une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant l'inoculum.
- Recouvrir d'une lamelle en évitant la formation des bulles d'air.
 - l'observation s'effectue à l'objectif X10 puis X40

➤ **Coloration de gram**

C'est la coloration de base en bactériologie qui permet de distinguer les bactéries en Gram positif et en Gram négatif. En effet, le violet de gentiane se fixe sur des composants cytoplasmiques et après ce temps de coloration, toutes les bactéries sont violettes. Chez les bactéries à Gram négatif, la paroi, riche en lipides, laisse passer l'alcool (ou le mélange alcool + acétone) qui décolore le cytoplasme alors que, chez les bactéries à Gram positif, la paroi constitue une barrière imperméable à l'alcool et le cytoplasme demeure coloré en violet (**Singleton, 1999**).

Mode opératoire

- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme
 - Verser le Violet de Gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute.
 - Rincer le colorant avec l'eau du robinet, ajouter le Lugol et laisser agir environ 1 min.
 - Jeter le Lugol et rincer la préparation à l'alcool, puis immédiatement à l'eau.
 - Recouvrir la préparation de Safranine ou de la fuschine, laisser agir environ 1 min.
- Laver abondamment.
- Sécher au-dessus de la flamme d'un bec Bunsen

Résultats

A l'issue de cette coloration, on peut distinguer :

- Des bactéries colorées en violet foncé ; elles ont gardé le violet, elles sont dites 'à Gram positif'.
- Des bactéries colorées en rose ou rouge pâle ; elles ont perdu le violet, elles sont dites 'à Gram négatif'.

2.8.3. Détermination des caractères biochimiques des germes pathogènes :

🚩 Les galeries classiques

Le tableau 08 représente les milieux et les techniques et les résultats de la galerie classique

Tableau 08: les tests de la galerie classique (Marchal et al., 1991).

| Les milieux | Ensemencement | Caractères recherchés | Résultats |
|---------------------------|---|--|--|
| Urée Indole | -Incorporation (addition de 0.1ml de la suspension bactérienne) puis incubation à 37°C pendant 24h | -l'uréase enzyme hydrolysant l'urée formation de l'indole | -Virage de la couleur vers le rose (uréase+) -apparition d'un anneau rouge(indole+) |
| Citrate de Simmons | -strie sur la pente à l'aide d'une pipette pasteur fermée. -Incuber 24h à 37°C (bouchon dévissé) | -Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. | -Virage de la couleur vers le bleu : (citrate+) |
| Mannitol mobilité | -Piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur fermée -Incuber 24h à 37°C | -La fermentation du mannitol -La mobilité de la souche | -Virage au jaune (mannitol+) -Formation d'une voile autour de la piqure (mobilité) |

| | | | |
|----------------------|--|---|--|
| TSI | -par strie et une simple pique. -mettre à l'étuve à 37°C pendant 24h. | -fermentation du : Glucose, lactose et/ou saccharose -la production d'hydrogène sulfure (H ₂ S) et du gaz. | -le rouge de phénol est l'indicateur colorant -virage du rouge au jaune pour un résultat positif -le noircissement du culot indique la présence d' H ₂ S. |
| Clark et lubs | -par incorporation -incuber à 37°C pendant 24h. 1. Test VP : Ajouter 2 à 3 gouttes de VP1 et VP2. -Attendre quelques minutes à une heure 2. Test RM : -Ajouter 2 à 3 gouttes du rouge de méthyle. | Production de l'acétone. La réaction de vogesproskeur (vp) consiste à mettre en évidence une réaction colorée, le butanediol et l'acétone. Mise en évidence de la voie des fermentations acides mixtes par le test RM (rouge de méthyle). | 1. Test VP : Virage de couleur vers le rose (VP+) 2. Test RM : Virage de couleur vers le rouge (RM+). |

✚ Les tests complémentaires

➤ Recherche des enzymes

Tableau 09 : les différentes techniques des tests complémentaire. (Marchal et al., 1991)

| Recherche de l'enzyme bêta-galactosidase | Recherche de l'enzyme respiratoire Catalase | Oxydase |
|--|---|--|
| Ce test permet de rechercher la présence d'une enzyme endocellulaire | la catalase est une enzyme qui dissocie le H ₂ O ₂ en H ₂ O* et O ₂ selon : $\text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2} \text{O}_2$ | Le test consiste à mettre en évidence la capacité que possède la bactérie à oxyder un réactif incolore (la NN- |

| | | |
|---|---|--|
| <p>A-galactosidase (ONPG hydrolase) qui permet l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose.</p> <p>➤ Technique</p> <p>Préparer une suspension bactérienne dense dans l'eau distillée mise dans un tube à hémolyse.</p> <p>-mettre dedans le disque ortho-nitrophenyl béta-galactosidase (ONPG)</p> <p>-placer à l'étuve à 37°C et lire après 24h</p> <p>➤ Résultat</p> <p>-coloration jaune : présence de l'enzyme béta-galactosidase</p> <p>-Incolore : absence de l'enzyme (ONPG-)</p> | <p>➤ Technique</p> <p>-déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (=peroxyde d'hydrogène) à l'aide d'une pipette pasteur.</p> <p>-prélever une colonie à l'aide de l'anse ensuite dissocier la colonie dans la goutte.</p> <p>➤ Résultat</p> <p>-Présence des bulles de gaz : catalase+.</p> <p>-Absence des bulles de gaz : Catalase-.</p> | <p>diméthyle-paraphénulène diamine) en un dérivé rose violacé.</p> <p>➤ Technique</p> <p>-Déposer un disque pré-imprégné par le réactif N diméthyle –paraphénulène diamine (disque Oxydase) sur une lame propre</p> <p>-Imbiber le disque d'une goutte d'eau distillée stérile.</p> <p>-Déposer au-dessus une colonie à l'aide d'une pipette pasteur.</p> <p>-Etaler la colonie sur le disque.</p> <p>➤ Résultat</p> <p>-Présence d'une couleur rose violette : oxydase+</p> <p>-Absence de couleur : Oxydase- .</p> |
|---|---|--|

🚩 Identification des germes avec la galerie Api20E

Galerie de 20 micro tubes prêts à l'emploi permettant de réaliser 23 tests biochimiques afin d'identifier les germes recherchés



Figure 04 : La galerie Api20E.

Mode opératoire

- Préparer l'inoculum par l'introduction d'une colonie prélevée de son milieu dans 5ml d'eau distillée stérile
- Pour ensemer la galerie, Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile ouverte, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles
- Remplir de suspension le tube et la cupule Pour les tests CIT, VP, GEL, et faire recouvrir d'huile de paraffine les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S et URE afin de créer une anaérobiose
- Refermer la boîte et incuber à 37°C pendant 24h
- Après 24h d'incubation à 37°C, on doit rajouter des réactifs pour voir si les résultats sont positifs ou négatifs (**Derafa, 2012**).

La lecture

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés, sauf certaines sont révélées par l'addition de réactifs :

- Test VP : VP1 + VP2
- TDA et IND : Réactif de Kovacs
- Test NO₂ : NIT1 + NIT2

La lecture de la galerie doit se faire en se référant :

- Au tableau de lecture.
- Ou avec le catalogue analytique : Les tests sont regroupés en groupe de 3, et une valeur (1,2 ou 4) est indiquée par chacun.
- Additionner à l'intérieur de chaque groupe les nombres correspondants aux tests positifs. On obtient un nombre 7 chiffres qui servira comme code d'identification
- Soit avec un logiciel d'identification : tableau de la galerie miniaturisée Api 20E (Annexe 02).

Notre étude a été consacrée à l'analyse physicochimique et microbiologique de deux types d'échantillons : lait pasteurisé reconstitué conditionné et lait de vache pasteurisé conditionné.

1. Analyses physico-chimiques

Tableau 10 : Résultats des analyses physicochimiques du lait reconstitué pasteurisé(LRP) et lait de vache pasteurisé (LVP). (Alais, 1984 ; norme AFNOR, 1980).

| Prélèvements | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | Normes Internationales | |
|-------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|------------------------|-----------|
| | LRP | LVP | LRP | LVP | LRP | LVP | LRP | LVP | LRP | LVP |
| Type du lait | | | | | | | | | | |
| Contenant réel | 01litre | | 01litre | | 01litre | | 01litre | | - | |
| Densité (à 20°C) | 1028.2 | 1029 | 1030.1 | 1028.1 | 1029.7 | 1029.3 | 1029.9 | 1030.5 | Min 1028 | |
| EST (g/l) | 88g/l | 80g/l | 84 g/l | 86g/l | 97g/l | 82g/l | 92g/l | 84g/l | 107- 112 g/l | |
| pH | 6.6 | 6.55 | 6.7 | 6.58 | 6.6 | 6.50 | 6.8 | 6.65 | 6.6-6.8 | |
| Acidité (°D) | 16°D | 16.5°D | 16°D | 17.5°D | 16°D | 16.0°D | 16°D | 17.2°D | 15-18°D | |
| MG (g/l) | 15.3 g/l | 31.9g /l | 18.4 g/l | 30.8 g/l | 15.4 g/l | 32.1 g/l | 19.7 g/l | 29.9 g/l | 15-20 g/l | 34-36 g/l |
| Lactose (g/l) | 3.51g /l | 4.41g/l | 3.80g /l | 4.38 g/l | 4.40 g/l | 4.55 g/l | 4.33 g/l | 4.44 g/l | 4.6g/l | |
| Protéines (g/l) | 2.79g /l | 2.92g/l | 2.81g /l | 3.03g/l | 2.80g/ l | 3.28g/ l | 2.81g/ l | 3.04g/l | 3.4g/l | |

EST : extrait sec totale. **MG** : Matière Grasse

1.1.Densité

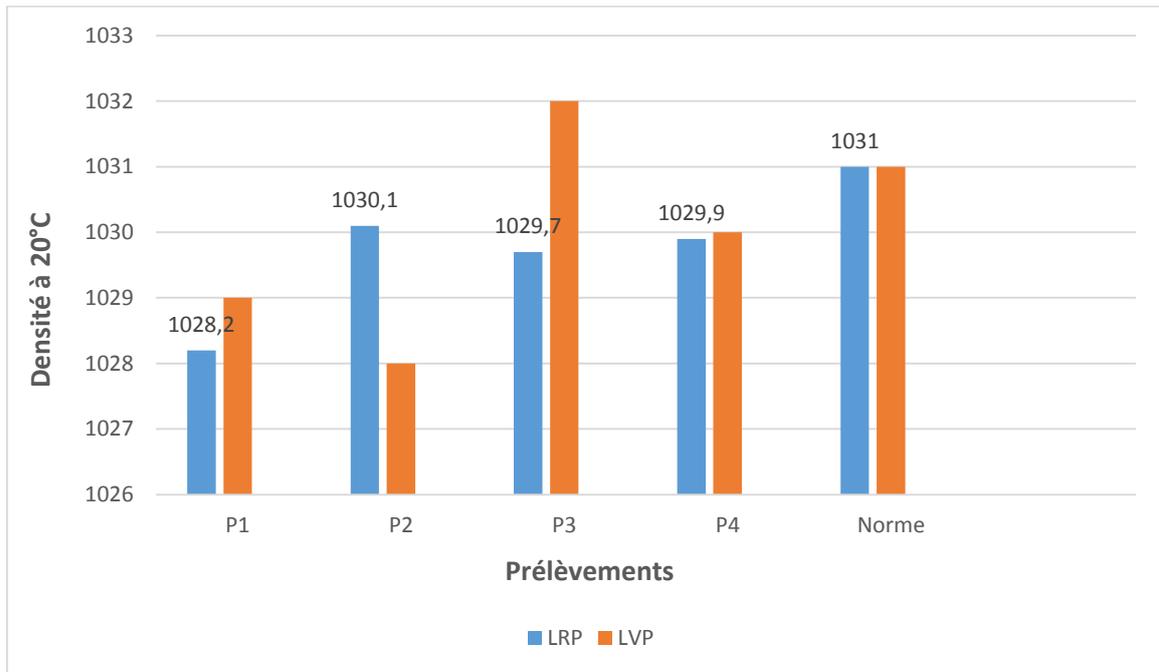


Figure 05 : Taux de La densité des deux types du lait en fonction des prélèvements.

Les résultats illustrés dans le Tableau 10 montrent que la densité du lait varie entre 1028 et 1031 avec une moyenne de 1029.47 pour le lait reconstitué et 1029.22 pour le lait de vache. On constate que ces valeurs sont similaires à celle rapportée par la **FAO (2010)**, et concordent avec ceux de **(Ghaoues S, 2011)**

D’après la figure (05) on trouve que : La densité du lait de vache pasteurisé est relativement supérieure à celle du lait reconstitué pasteurisé.

La densité du lait:

- Ne dépend pas de l’âge ni de la race de la vache mais dépend de l'alimentation.

- Elle est liée à la richesse en matière sèche et en matière grasse

Un lait riche en matière grasse a une faible densité alors qu'un lait écrémé a une densité élevée, l'addition de l'eau au lait (mouillage) diminue la densité (El Houssain.B, 2009).

1.2.Teneur en matière sèche totale

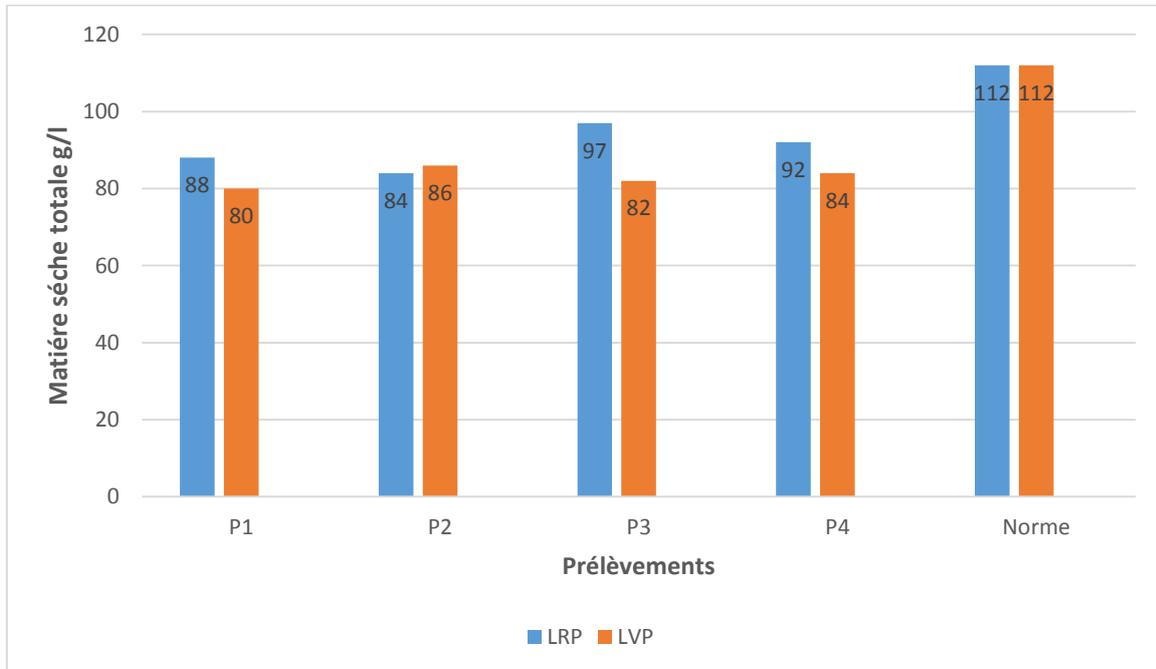


Figure 06 : La teneur en matière sèche totale des deux types de lait.

La teneur en matière sèche totale du lait doit être comprise dans l'intervalle 107- 112 g/l (AFNOR, 1980). D'après les résultats indiqués dans le tableau 10 nous observons que toutes les valeurs de la teneur en matière sèche totale sont non conformes aux normes.

La diminution de la teneur en matière sèche totale est due notamment à une réduction de la poudre de lait (entier ou écrémé) lors de la reconstitution du lait et aussi due au taux de mouillage élevé (Ghaoues S, 2011).

1.3.Le pH

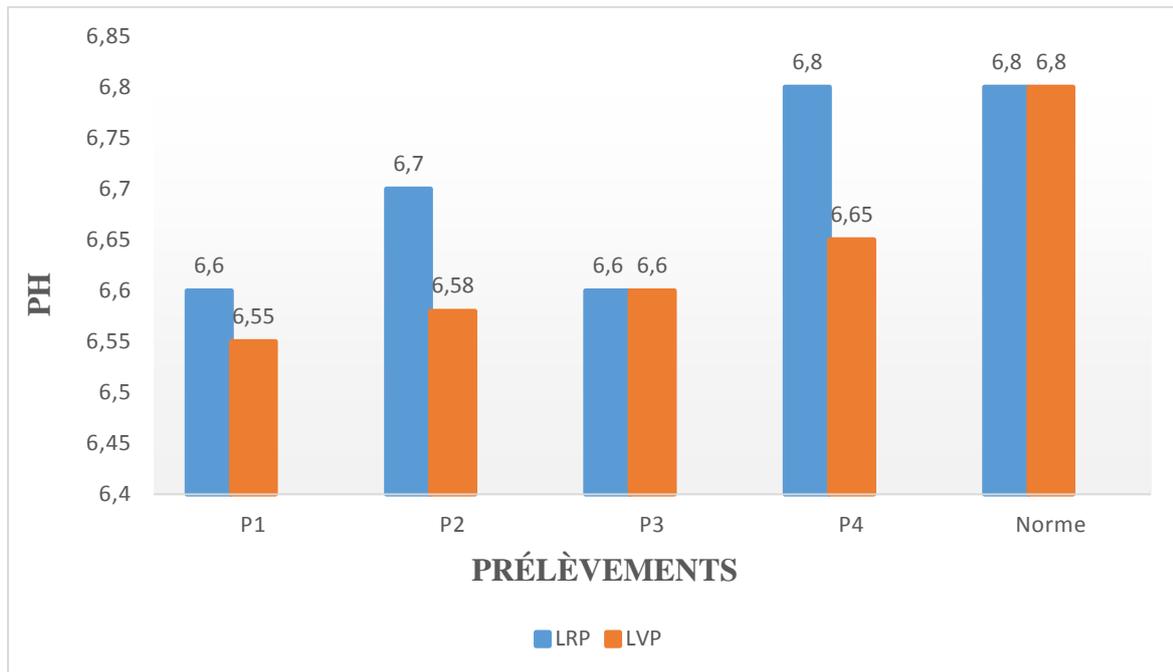


Figure 07 : Taux de pH des deux types du lait.

Selon le tableau 10 les résultats montrent que le ph du lait reconstitué pasteurisé se situe entre (6.6 et 6.8) et celui du lait de vache pasteurisé est compris entre (6.55 et 6.65). Ces valeurs sont similaire à celles rapporté par (**Alias.1984**) soit (6.6-6.8)

D'après la figure précédente (figure07) on peut dire que les deux variétés de lait ont un taux de pH légèrement différent :

- Le taux de pH du lait de vache pasteurisé est légèrement inférieur à celui du lait pasteurisé. Le pH du lait d'une espèce donnée vari selon le stade de lactation, il diminue vers la fin du cycle suite à l'augmentation du taux de caséines et de phosphates. (**Singh E, 1972**).

1.4.Matière Grasse

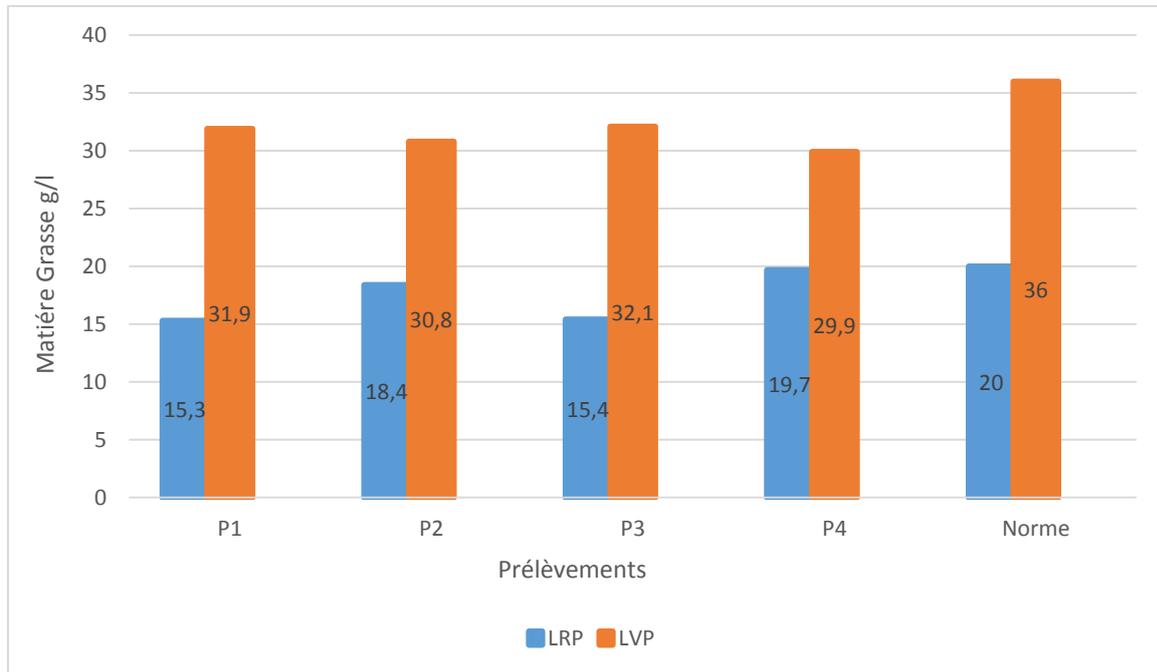


Figure 08 : La teneur en matière grasse des deux types du lait.

L'examen des résultats mentionnés dans le tableau 10 montre que la teneur en matière grasse du lait reconstitué pasteurisé se situe dans l'intervalle 15-19 g/l et celle du lait de vache pasteurisé est comprise entre 30 et 32 g/l.

- On remarque que les résultats du lait reconstitué pasteurisé sont admises dans la fourchette de la norme (AFNOR, 1980) soit (15 à 20 g/l).
- Pour les résultats du lait de vache pasteurisé on constate que ces derniers sont conformes aux normes **FIL-AFNOR** (34-36 g/l) du lait, ces valeurs se situent entre 30 à 32 g/l.

La reconstitution consiste à mélanger de l'eau et du lait en poudre écrémé et entier de façon à obtenir un lait partiellement écrémé présentant le rapport matière grasse /matière sèche dégraissée conformes au produit désiré.

Nous rappelons que la majorité des laiteries utilisent pour la préparation du lait reconstitué partiellement écrémé la poudre écrémée (0% de MG), la poudre de lait entier (26% de MG), le lait de vache écrémé ou entier et l'eau (Ghaoues S, 2011).

- La comparaison des taux de matière grasse des deux types du lait a abouti une différence entre les deux types du lait avec un taux élevé de la matière grasse dans le lait de vache pasteurisé.

Le stade de lactation peut avoir une influence sur le taux des butyreux. Les taux les plus faibles se situent pendant le deuxième et le troisième mois de lactation et plus élevés en début et surtout en fin de lactation.

Une alimentation rationnelle des animaux conditionne le bon rendement laitier, peut avoir une influence plus ou moins significative sur la teneur de certains composants et donc sur la qualité du lait (Alais C, 1984).

1.5. Acidité Dornic

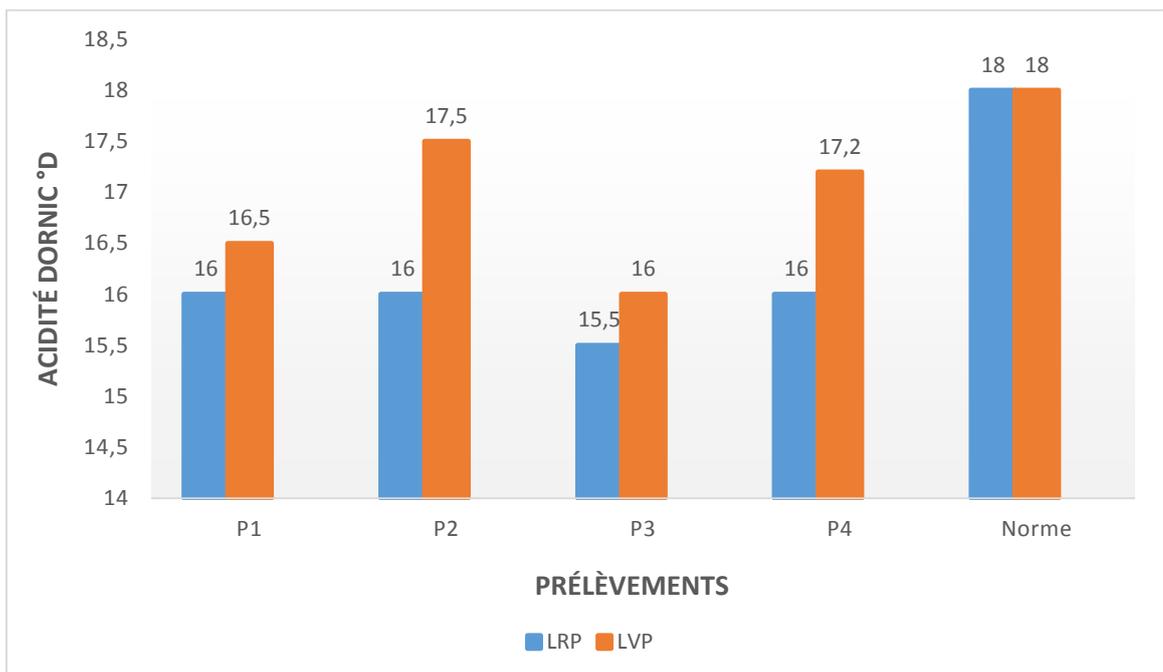


Figure 09 : variation de l’acidité dornic des deux types du lait en fonction des prélèvements.

D’après Aboutayeb (2009), un lait frais peut avoir comme acidité entre 15 et 18°D. La FAO (2010) rapporte que l’acidité du lait est en moyenne 16 (15-17 °D). Donc on peut dire que toutes les valeurs d’acidité des deux types du lait sont conformes à celles citées par la FAO (2010).

Toutefois nos résultats montrent que : L'acidité du lait de vache pasteurisé est légèrement supérieure à celle du lait pasteurisé

On rappelle que l'acidité titrable = acidité naturelle + acidité développée. Les constituants du lait qui contribuent à l'acidité naturel sont les phosphates (0,09%), les caséines (0,05- 0,08%), les autres protéines (0,01%), les citrates (0,01%) et le bioxyde de carbone (0,01%). À cette acidité naturelle s'ajoute l'acidité développée qui est la résultante d'un développement des bactéries lactiques qui forment de l'acide lactique par fermentation du lactose. (Kim et al.,1982)

1.6.Lactose et protéines

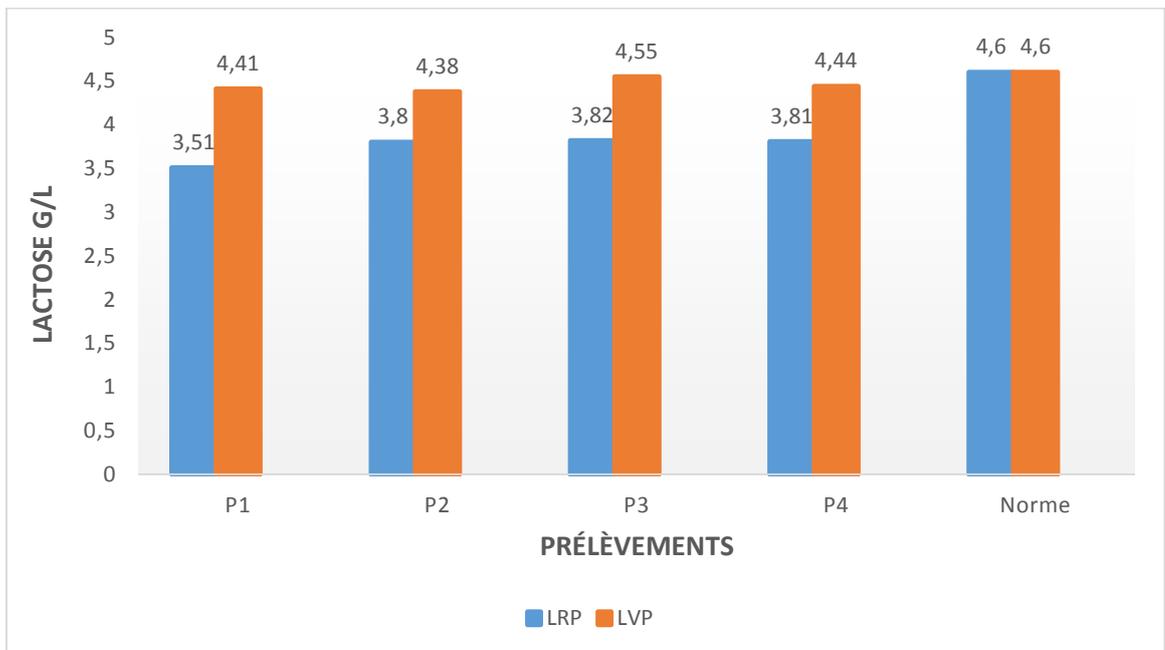


Figure 10 : la teneur en lactose des deux types de lait.

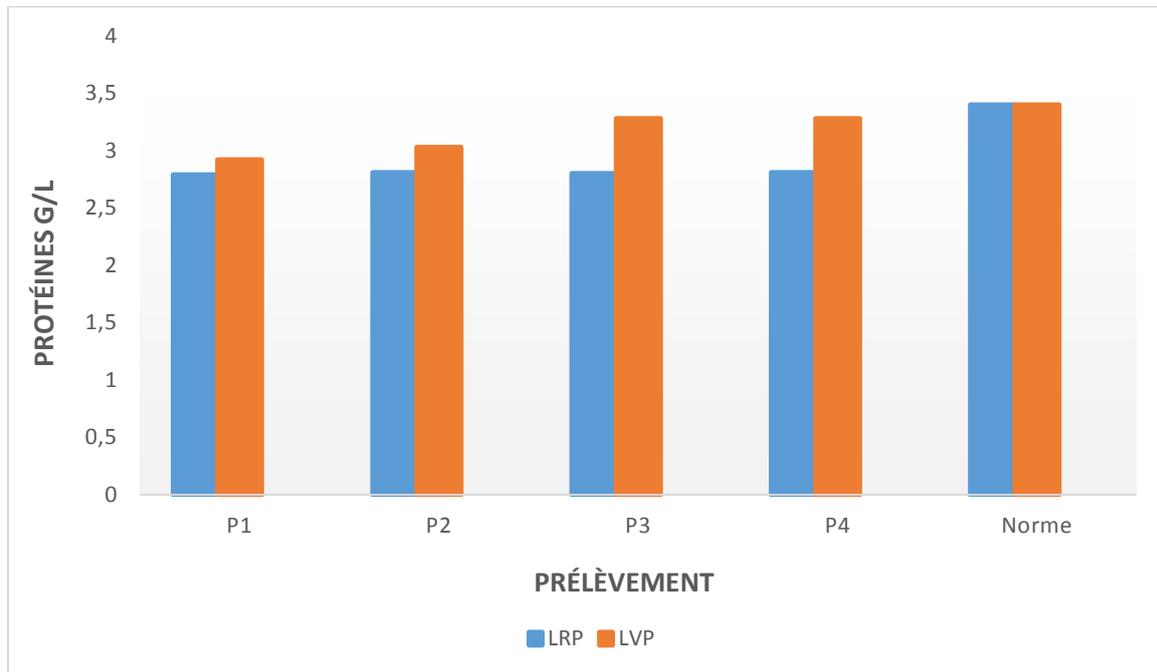


Figure 11 : Taux des protéines des deux types du lait.

Les résultats dans le tableau 10 montrent une différence remarquable entre les échantillons de laits au niveau de la teneur en lactose et en protéine. On note que les valeurs obtenus sont légèrement inférieurs à celles citées par la norme (AFNOR, 1980) soit : 4.6g /l pour le lactose et 3.4 pour les protéines.

-la comparaison entre les laits a déduit que la teneur en lactose et en protéine dans le lait de vache pasteurisé est plus importante que celle du lait reconstitué.

2. Analyses microbiologiques

Tableau 11: Résultats des analyses microbiologiques du lait reconstitué pasteurisé et lait de vache pasteurisé.

| Prélèvements | 1 | | 2 | | 3 | | 4 | | Normes internationales |
|---|-------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------|---------------------|-------------------|----------------------|------------------------|
| | LRP | LVP | LRP | LVP | LRP | LVP | LRP | LVP | |
| Type d'échantillon | | | | | | | | | |
| FMAT | 1.10 ³ | 1.6.10 ³ | 2.10 ³ | 2.3.10 ³ | 9.10 ² | 1.5.10 ³ | 9.10 ² | 2.10 ³ | ≤ 30.000/ml |
| Coliformes totaux (sortie usine) | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | ≤10/ml |
| Coliforme fécaux (sortie usine) | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs |
| Clostridium sulfito-réducteurs à37°C | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | ≤ 9 spores/ml |
| Staphylocoque | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | ≤ 9 spores/ml |
| streptocoque | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs |
| Lactobacille | 3.10 ³ | 4.10 ³ | 2.5.10 ³ | 6.10 ³ | 4.10 ³ | 5.5.10 ³ | 3.10 ³ | 8.6 .10 ³ | 10 ⁶ UFC |
| moisissures et levures | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs | Abs |

LRP : lait reconstitué pasteurisé. **LVP** : lait de vache pasteurisé. **Abs** : absence. **FMAT** : Flore mésophile aérobie totale.

2.1. Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

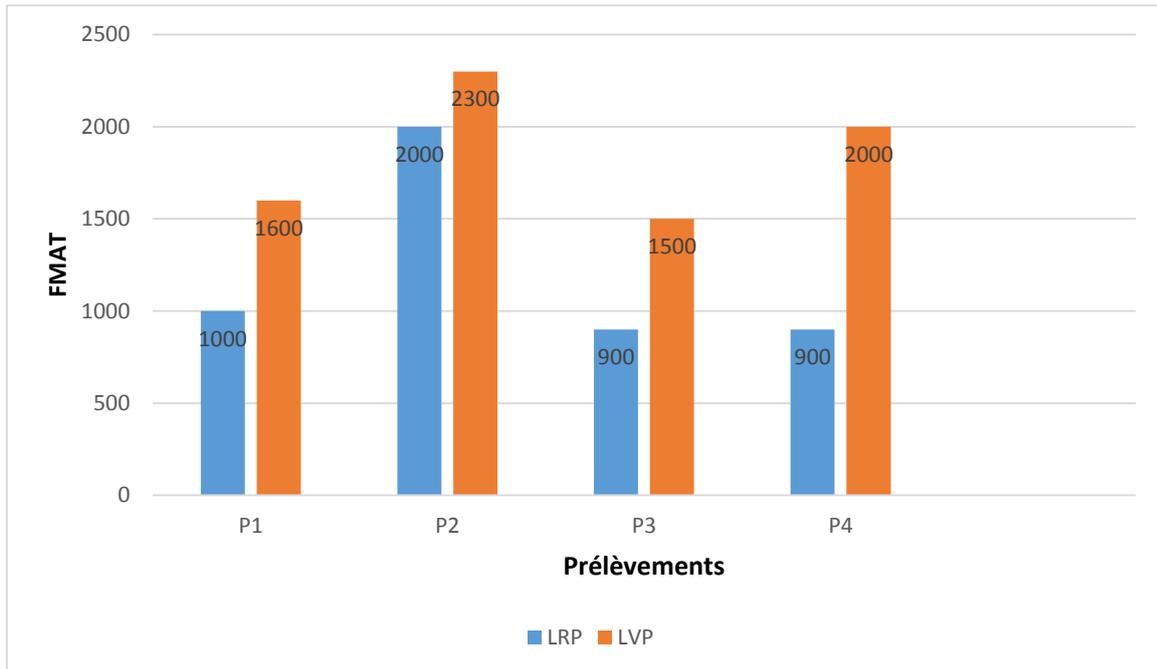


Figure 12 : Variation du nombre de la flore totale en fonction des prélèvements.

Selon les résultats obtenus lors de l'analyse microbiologique des deux types de lait (lait reconstitué pasteurisé et lait de vache pasteurisé) on trouve que le nombre de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) présent dans le lait reconstitué pasteurisé est compris entre (900 et 2000 UFC/ml) tandis que celui de lait de vache est compris entre (1500 et 2300 UFC/ml).

Les seuils de contaminations en flore totale ne dépassent pas la norme fixée. Ils sont également inférieurs aux charges maximales tolérées par les deux réglementations françaises et américaines qui sont respectivement de 3.10^4 UFC/ml (Alais, 1984).

2.2.Dénombrement des bactéries lactiques

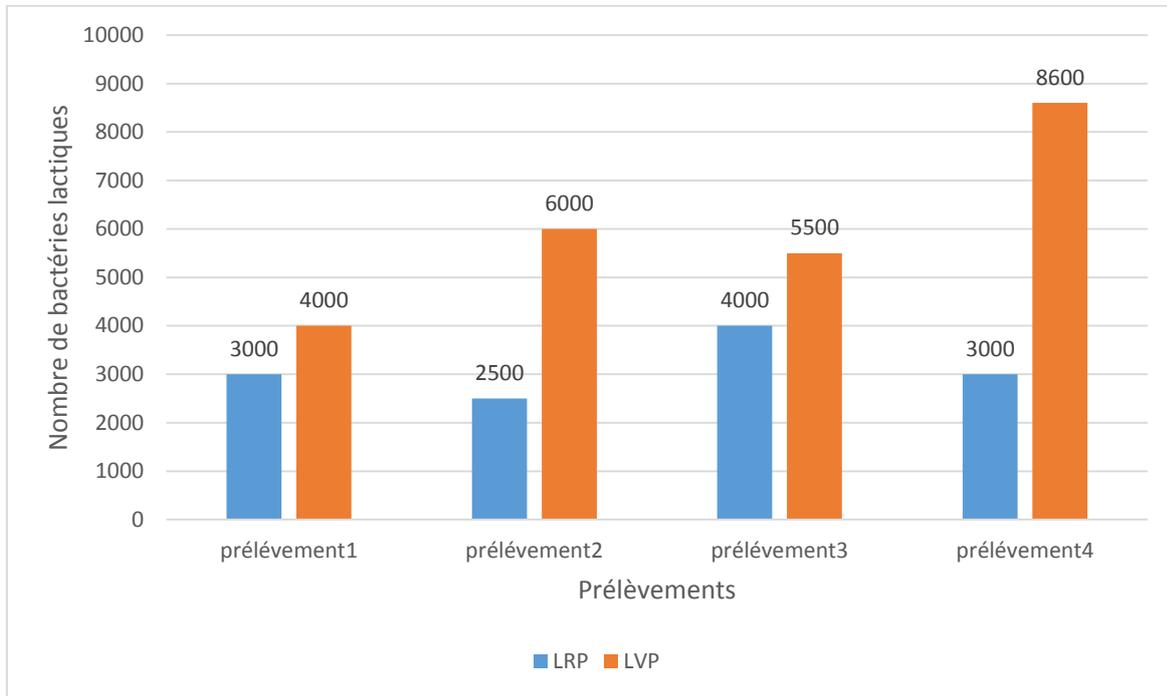


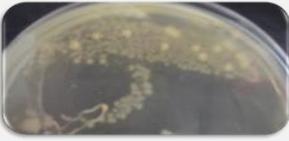
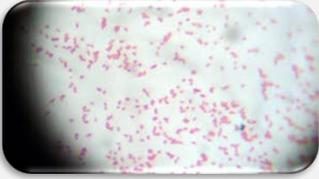
Figure 13 : Variation du nombre des lactobacilles en fonction des prélèvements.

D’après les résultats illustrés dans le tableau 11 on remarque que le nombre des lactobacilles présent dans chaque type étudié soit le lait de vache pasteurisé varie entre 4000 et 8600 UFC/ml et le lait reconstitué pasteurisé avec une valeur comprise entre 2500 et 4000 UFC/ml Ces valeurs sont conforme aux normes internationales libérés par et la **FAO (2010)**.

- La figure 13 montre une légère différence dans le nombre des lactobacilles des deux variétés de lait, le nombre dans le lait de vache est légèrement supérieur à celui du lait reconstitué pasteurisé.

2.3.Résultats de l’identification des germes

Tableau 12 : Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées à partir du LRP :

| Prélèvement 01 | Gélose Nutritive | MRS |
|----------------------|---|--|
| Aspect macroscopique |  <p>Figure 05 : Colonies bombées lisse blanchâtre à contour régulier.</p> |  <p>Figure 06: Colonies bombées blanchâtre de taille différentes.</p> |
| Aspect microscopique |  <p>Figure 07 : Bacilles à gram négative.</p> |  <p>Figure 08: bacilles à Gram positif.</p> |
| Prélèvement 02 | Gélose nutritive | MRS |
| Aspect macroscopique |  <p>Figure 09 : Colonies bombées blanchâtre petites et moyennes de formes différentes avec un contour régulier.</p> |  <p>Figure 10 : Colonies bombée lisse blanchâtres.</p> |
| Aspect microscopique |  <p>Figure 11 : Bacilles à Gramnégative</p> |  <p>Figure12 : Coccus à Gram positif</p> |

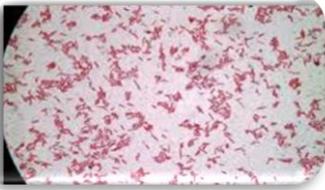
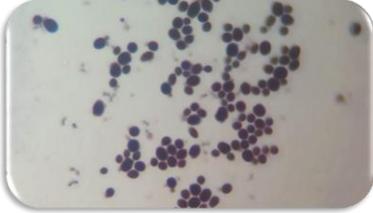
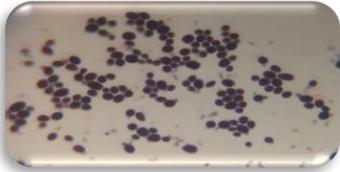
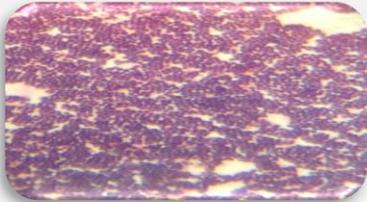
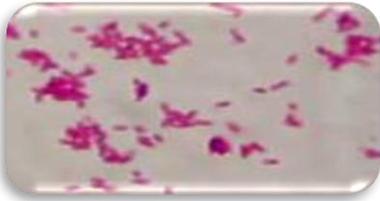
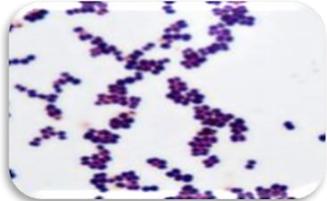
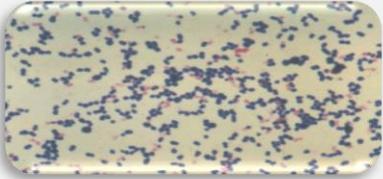
| Prélèvement 03 | Gélose nutritive | MRS |
|----------------------|--|---|
| Aspect macroscopique |  <p>Figure13 : Colonies blanchâtres de taille différentes plates avec un contour irrégulier.</p> |  <p>Figure14 : Colonies de grande taille lisse blanchâtres.</p> |
| Aspect microscopique |  <p>Figure15 : Bacilles à Gram négatif</p> |  <p>Figure 16: Coccus à Gram positif</p> |
| Prélèvement 04 | Gélose nutritive | MRS |
| Aspect macroscopique |  <p>Figure 17 : Colonies bombées lisses jaunâtres avec un contour irrégulier.</p> |  <p>Figure18 : Colonies petites et moyenne taille bombées blanchâtres.</p> |
| Aspect Microscopique |  <p>Figure 19 : bacille à Gram négatif</p> |  <p>Figure 20 : Cocci à Gram positif.</p> |

Tableau 13 : Aspect macroscopique et microscopique des colonies bactériennes isolées à partir du LVP :

| Prélèvement 01 | Gélose Nutritive | MRS |
|----------------------|--|--|
| Aspect macroscopique |  <p>Figure 21: Colonies bombées petites et moyennes tailles lisse blanchâtre à contour régulier.</p> |  <p>Figure 22 : Colonies bombées blanchâtre.</p> |
| Aspect microscopique |  <p>Figure 23: Bacilles à gram négative.</p> |  <p>Figure 24 : Cocci à Gram positif.</p> |
| Prélèvement 02 | Gélose nutritive | MRS |
| Aspect macroscopique |  <p>Figure 25: Colonies bombées blanchâtre de différentes formes.</p> |  <p>Figure 26 : Colonies bombée lisse blanchâtres.</p> |
| Aspect microscopique |  <p>Figure 27 : Cocci à Gram négative</p> |  <p>Figure 28 : Cocci à Gram positif</p> |

| Prélèvement 03 | Gélose nutritive | MRS |
|----------------------|--|--|
| Aspect macroscopique |  <p>Figure 29: Colonies blanchâtres plates.</p> |  <p>Figure 30 : Colonies de différentes tailles lisses blanchâtres.</p> |
| Aspect microscopique |  <p>Figure 31 : Bacilles à Gram négatif.</p> |  <p>Figure 32 : Coccus à Gram positif.</p> |
| Prélèvement 04 | Gélose nutritive | MRS |
| Aspect macroscopique |  <p>Figure 33 : Colonies bombées lisses jaunâtres.</p> |  <p>Figure 34: Colonies petites et moyenne taille bombées blanchâtres.</p> |
| Aspect Microscopique |  <p>Figure 35 : Bacilles à Gram négatif.</p> |  <p>Figure 36 : Cocci à Gram positif.</p> |

2.3.1. Résultat de l'identification des bactéries lactiques

Tableau 14 : Résultat du profil biochimique des bactéries lactiques.

| Prélèvements | Mannitol mobilité | | Clark et lubs | | Urée d'indol | Citrate de Simmons | TSI | | | | | Test De catalase |
|--------------|-------------------|----------|---------------|----|--------------|------------------------|------------------|-----|---------|------------|---------|------------------|
| | Mannitol | Mobilité | RM | VP | Indole | Utilisation de citrate | H ₂ S | Gaz | Glucose | Saccharose | Lactose | Catalase |
| P1(LRP) | - | - | + | - | - | - | - | - | + | + | + | - |
| P2(LRP) | + | + | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - |
| P3(LRP) | - | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P4(LRP) | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - |
| P1(LVP) | + | + | + | - | - | + | - | - | + | + | + | - |
| P2(LVP) | + | - | + | - | - | - | - | - | + | + | + | - |
| P3(LVP) | - | + | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| P4(LVP) | + | - | + | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

P : Prélèvement.



Figure 37 : Tests biochimiques (galerie classique)

- Selon les tests d'identification de la flore lactique du lait, nous avons identifié les espèces suivantes : *Lactococcus sp*, *Lactobacillus sp* et *Leuconostoc sp*.

Tableau 15 : Résultat d'identification des souches isolées :

| | |
|-----------------|-------------------------|
| P1(LRP) | <i>Lactobacillus sp</i> |
| P2 (LRP) | <i>Leuconostoc sp</i> |
| P3 (LRP) | <i>Lactococcus sp</i> |
| P4 (LRP) | <i>Leuconostoc sp</i> |
| P1 (LVP) | <i>Leuconostoc sp</i> |
| P2 (LVP) | <i>Leuconostoc sp</i> |
| P3 (LVP) | <i>Lactococcus sp</i> |
| P4 (LVP) | <i>Lactococcus sp</i> |

Les bactéries lactiques Constituent un groupe divers de ferments lactiques laitiers, ont néanmoins un nombre de caractéristique communes :

-Elles fermentent les sucres en produisant principalement de l'acide lactique

- Elles sont Gram positives et catalase négatives.

-Elles sont hétérotrophe.

Ces microorganismes sont principalement des mésophiles appartenant à la flore originelle. Ils ne sont généralement pas thermoduriques et sont donc presque totalement détruits par un traitement thermique adéquat, on notant que le compte initial total ne soit pas trop élevé. Dans le cas contraire, ces microorganismes sont la cause du surissement du lait. Durant sa conservation après la pasteurisation (**Vignola. L Carole, 1984**).

Les genres : *Lactococcus sp*, *Lactobacillus sp* et *Leuconostoc sp* sont communément employés dans la fermentation lactique des produits laitiers. (**Vignola. L Carole, 1984**).

Les Leuconostocs rentrent dans la composition de la flore bactérienne des levains lactiques mésophiles. (**Galeslout et Hassing ,1961**). Les principales fonctions demandées aux levains lactiques sont d'après **Stadhouders (1974)**: la production d'acide, la protéolyse, la lipolyse, la production de gaz et d'arôme et l'inhibition des bactéries indésirables (pathogènes entre autres).

L'acidification du lait est bon indice pour évaluer la qualité microbiologique et le respect de la chaîne de froid du lait cru. C'est pour cette raison que l'industrie laitière évaluera le pH ou l'acidité titrable du lait à la réception comme indice de la qualité microbiologique de cette matière première (**Vignola. L Carole, 1984**).

2.3.2. Résultat de la recherche des entérobactéries

Tableau 16: Identification des caractères biochimiques pour le LRP :

résultats de la galerie classique/ api20E

| Milieu Gélose nutritive | |
|---------------------------|--|
| Prélèvement 1 |  <p>Figure 38 : résultats de la galerie classique</p> <p>Mannitol Mobilité : virage de couleur vers le jaune avec formation des voiles (mobilité+ et Mannitol+)</p> <p>TSI : coloration en jaune et formation des bulles de gaz, absence des zones noires (lactose, saccharose+ et gaz + et H₂S-)</p> <p>Urée indole : absence de couleur rose, formation d’anneau rouge à la surface (uréase – et indole+)</p> <p>Clark et Lubs : absence de couleur rouge après l’addition de VP et l’apparition de couleur rouge après l’addition de RM (VP6 et RM+)</p> <p>Citrate de Simmons : le milieu reste bleu vert (citrate-)</p> |
| les tests complémentaires |  <p>Figure 39 : Les tests complémentaires.</p> <p>ONPG : apparition de couleur jaune (ONPG+)</p> <p>Oxydase : absence de couleur rose-violet (oxydase-)</p> <p>Catalase : apparition des bulles du gaz (catalase+)</p> |
| l’espèce | <i>Escherichia coli</i> |

Prélèvement 2



Figure 41 : résultat de l’API20E

ONPG+: apparition de couleur jaune

GLU+ : présence de gaz lors de fermentation du glucose

LDC- : absence de l’enzyme Lysine décarboxylase pas de dégradation du substrat lysine

ODC+ : la présence de l’enzyme ornithine décarboxylase qui dégrade l’ornithine

CIT- : le milieu reste bleu vert

H₂S - : Absence de désaminase, de lysine-décarboxylase et de production de H₂S

TDA- absence de l’enzyme tryptophane désaminase qui dégrade le tryptophane

UREE- et **IND+** : absence de couleur rose, formation d’anneau rouge à la surface (uréase – et indole+)

VP- : absence de couleur rouge après l’addition de VP

les tests complémentaires



Figure 42 : les tests complémentaires

Oxydase : absence de couleur rose-violet (oxydase-)

Catalase : apparition des bulles du gaz (catalase+)

l’espèce

Escherichia coli

Prélèvement 3



Figure 43 : résultat de la galerie classique

Mannitol Mobilité : virage de couleur vers le jaune avec formation des voiles (mobilité+ et Mannitol+)

TSI : coloration en jaune et formation des bulles de gaz, absence des zones noires (lactose, saccharose+ et gaz + et H₂S-)

Urée indole : absence de couleur rose, formation d'anneau rouge à la surface (uréase – et indole+)

Clark et Lubs : absence de couleur rouge après l'addition de VP et l'apparition de couleur rouge après l'addition de RM (VP6 et RM+)

Citrate de Simmons : le milieu reste bleu vert (citrate-)

les tests complémentaires



Figure 45 : les tests complémentaires

ONPG : apparition de couleur jaune (ONPG+)

Oxydase : Absence de couleur rose-violet (oxydase-)

Catalase : apparition des bulles du gaz (catalase+)

l'espèce

Escherichia coli

Prélèvement4



Figure 46 : résultats de l'API20E

Glu + présence de gaz lors de la fermentation du glucose

ONPG+ : apparition de couleur jaune

VP + : présence de couleur rouge après l'addition de VP

CIT –: Absence d'utilisation du citrate comme seule source de carbone sur milieu citrate-Simmons

Mannitol et Mobilité + : virage de couleur vers le jaune avec formation des voiles (mobilité+ et Mannitol+)

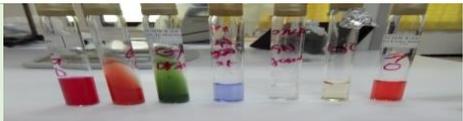
UREE+ et IND+ : présence de couleur rose, formation d'anneau rouge à la surface (uréase+ et indole+)

| | |
|-----------------|--|
| | H₂S -Absence de désaminase, de lysine-décarboxylase et de production de H ₂ S |
| l'espèce | <i>Yersinia enterocolitica</i> |

Tableau 17: Identification des caractères biochimiques pour les prélèvements de lait de vache pasteurisé (LVP)

résultats de la galerie classique/ api20E

| Milieu Gélose nutritive | |
|----------------------------------|---|
| Prélèvement 1 |  <p>Figure 50 : résultats de la galerie classique</p> <p>Mannitol Mobilité : virage de couleur vers le jaune avec formation des voiles (mobilité+ et Mannitol+)</p> <p>TSI : coloration en jaune et formation des bulles de gaz, absence des zones noires (lactose, saccharose+ et gaz + et H₂S-)</p> <p>Urée indole : absence de couleur rose, formation d'anneau rouge à la surface (uréase – et indole+) couleur rouge après l'addition de VP et l'apparition de couleur rouge après l'addition de RM (VP6 et RM+)</p> <p>Citrate de Simmons : le milieu reste bleu vert (citrate-)</p> <p>Clark et Lubs : absence de de couleur rouge après l'addition de VP et l'apparition de couleur rouge après l'addition de RM (VP6 et RM+)</p> |
| les tests complémentaires |  <p>Figure 51 : Les tests complémentaires</p> <p>ONPG : apparition de couleur jaune (ONPG+)</p> <p>Oxydase : absence de couleur rose-violet (oxydase-)</p> |

| | |
|----------------------|--|
| | Catalase : apparition des bulles du gaz (catalase+) |
| l'espèce | <i>Escherichia coli</i> |
| Prélèvement 2 |  <p>Figure 52 : résultats de l'api20E</p> <p>ONPG+ apparition de couleur jaune</p> <p>ODC- l'absence de l'enzyme ornithine décarboxylase qui dégrade l'onithine</p> <p>Mannitol mobilité -:absence de virage de couleur vers le jaune et absence de la formation des voiles</p> <p>H²S-Absence de désaminase, de lysine-décarboxylase et de production de H₂S</p> <p>CIT+ virage de couleur qui indique l'utilisation du citrate comme seule source de carbone sur milieu citrate-Simmons</p> <p>VP+présence de couleur rouge après l'addition de VP</p> <p>UREE +présence de couleur rose</p> <p>IND- absence de formation d'anneau rouge à la surface</p> |
| l'espèce | <i>micrococcaceae sp.</i> |
| prélèvement 3 |  <p>Figure 53 : résultat de la galerie classique</p> <p>Mannitol Mobilité : virage de couleur vers le jaune avec formation des voiles (mobilité+ et Mannitol+)</p> <p>TSI : coloration en jaune et formation des bulles de gaz, absence des zones noires (lactose, saccharose+ et gaz + et H₂S-)</p> <p>Urée indole : absence de couleur rose, formation d'anneau rouge à la surface (uréase – et indole+)</p> |

| | |
|---|---|
| | <p>Clark et Lubs : absence de couleur rouge après l'addition de VP et l'apparition de couleur rouge après l'addition de RM (VP6 et RM+)</p> <p>Citrate de Simmons : le milieu reste bleu vert (citrate-)</p> |
| <p>les tests complémentaires</p> | <div data-bbox="475 472 970 748" data-label="Image"> </div> <p>Figure 54 : les tests complémentaires</p> <p>ONPG : apparition de couleur jaune (ONPG+)</p> <p>Oxydase : absence de couleur rose-violet (oxydase-)</p> <p>Catalase : apparition des bulles du gaz (catalase+)</p> |
| <p>l'espèce</p> | <p><i>Escherichia coli</i></p> |
| <p>Prélèvement4</p> | <div data-bbox="464 1081 1362 1178" data-label="Image"> </div> <p>Figure 55 : résultats de l'API20E Glu + présence de gaz lors de la fermentation du glucose</p> <p>ONPG+ : apparition de couleur jaune</p> <p>VP + : présence de couleur rouge après l'addition de VP</p> <p>CIT - : Absence d'utilisation du citrate comme seule source de carbone sur milieu citrate-Simmons</p> <p>Mannitol et Mobilité + : virage de couleur vers le jaune avec formation des voiles (mobilité+ et Mannitol+)</p> <p>UREE+et IND+ : présence de couleur rose, formation d'anneau rouge à la surface (uréase + et indole+)</p> <p>H₂S- Absence de désaminase, de lysine-décarboxylase et de production de H₂S</p> |
| <p>l'espèce</p> | <p><i>Yersinia Enterocolitica</i></p> |

D'après les résultats obtenus lors de la recherche des caractères biochimiques des colonies poussées dans le milieu gélose nutritive, on remarque la présence de deux espèces bactériennes dans les deux types de lait : *E. coli* et *Yersinia enterocolitica* qui est un signe de contamination pouvant être due soit à une mauvaise pratique d'hygiène ou bien à une faute de manipulation de notre part, lors de l'incubation dans l'étuve contenant d'autres boîtes de pétri contaminées (car la température de pasteurisation dépasse leur température de croissance optimale). Ces deux flores sont considérées normales lorsque leur nombre ne dépasse pas les normes internationales. Les traitements de pasteurisation (72 °C pendant 15 s) éliminent les bactéries pathogènes sous forme végétative, mais celles qui se présentent sous forme sporulée résistent (Eck, 1987).

Le genre *Escherichia coli* forme un groupe de bacilles mobiles ou immobiles, à Gram négatif, de la famille des *Enterobacteriaceae*. Il peut se multiplier à des températures comprises entre 4 °C et 46 °C, avec un optimum de croissance à 37 °C et à un pH compris entre 4,6 et 9,5. Il constitue 80% de la flore banale intestinale chez les humains. L'acidification entraîne une inhibition de la croissance des *E. coli*. L'*E. Coli* présente une dose infectieuse lorsqu'elle atteint le nombre 10^6 - 10^{10} (Mehlman, 1976).

Yersinia enterocolitica quant à eux sont des bâtonnets à coloration de Gram négative, souvent sous une forme coccobacillaire, non capsulés, immobiles à 37 °C et mobiles à 30 °C, elles peuvent se multiplier en présence ou en absence d'oxygène. Elles possèdent une uréase très active qui est la clef de leur diagnostic bactériologique et forment des colonies punctiformes (<1mm) en 24 h. Bien que leur température optimale de croissance soit entre 28-29°C, il s'agit de bactéries psychrotrophes qui peuvent survivre à des températures très basses (au congélateur) (Eck, 1987).

On a remarqué la présence dans le lait de vache pasteurisé du genre *Micrococcus* : Il comprend des microcoques qui sont également des hôtes normaux de la peau et des muqueuses de l'homme ainsi que quelques aliments notamment le lait avec un pourcentage variant entre 30-90% (Vignola, 2002).

Résumé :

Le lait est considéré comme le produit alimentaire le plus consommé en Algérie. Des échantillons de lait ont été analysés dans le but d'évaluer leur qualité physicochimique et microbiologique. Cette approche est basée sur une étude comparative entre deux variétés de laits conditionnés (lait reconstitué pasteurisé et lait de vache pasteurisé) de la laiterie « SAFIA ». Du point de vue physicochimique et microbiologique les résultats obtenus ont montré que le lait reconstitué pasteurisé fabriqué à partir de la poudre de lait est plus stable, plus propre et conforme par rapport au lait de vache pasteurisé. D'autre part le lait de vache pasteurisé est plus riche du point de vue nutritionnel et vitaminique.

Abstract :

Milk is considered as the most consumed food product in Algeria. Milk samples were analyzed for the purpose of assessing their physicochemical and microbiological quality. This approach is based on a comparative study between the two varieties of milk (reconstituted and pasteurized milk and pasteurized cow milk) from the dairy "SAFIA". From the physicochemical and microbiological point of view the results have shown that the reconstituted pasteurized milk made from milk powder is more stable cleaner and consistent compared to pasteurized cow's milk. Moreover pasteurized cow's milk is richer in nutritional point of view.

Keywords : Reconstituted milk, pasteurized, physicochemical parameters, microbiological analyzes.

ملخص

يعتبر الحليب الغذاء الأكثر استهلاكاً في الجزائر وقد تم تحليل عينات من الحليب لغرض تقييم جودتها الفيزيائية والميكروبيولوجية. ويستند هذا النهج على دراسة مقارنة بين نوعين من الحليب (الحليب المبستر المعاد تركيبه وحليب البقرة المبستر) من الملبنة "صافية". من وجهة النظر الفيزيوكيميائية والميكروبيولوجية أظهرت النتائج أن الحليب المبستر المصنوع من مسحوق الحليب أكثر استقراراً وانسجاماً بالمقارنة مع حليب البقرة المبستر. وعلاوة على ذلك حليب البقرة المبستر هو أكثر ثراءً في منظور القيمة الغذائية والفيتامينات.

كلمات مفتاحية: حليب مبستر معاد تشكيله، المعلمات الفيزيائية، تحاليل الميكروبيولوجية.