

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret-
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: "Sciences Biologiques"

Spécialité: "Toxicologie et Sécurité sanitaire des aliments "

Présenté et soutenu publiquement par

M^{elle} MAKHLOUF Kahina

Intitulé du mémoire

L'influence du temps et de températures sur la qualité physico-chimique et microbiologique du lactosérum issu du lait de vache pasteurisé

JURY:

- Présidente: M^{me} REZZOUG W
- Promoteur: M^r ADDA M'hamed
- Examineur: M^r KADIS

Année universitaire: 2016–2017

Remerciement

*Avant tout, je remercie Dieu le tout puissant, le Miséricordieux, de
m'avoir
donné le courage, la force, la santé et la persistance pour mener à
terme ce travail*

*Mes remerciements s'adressent à mon encadreur monsieur Mr ADDA
M'hamed, qui ma guidé, orienté et consacré des efforts tout au long
de la réalisation de ce travail.*

*J'exprime toute ma gratitude à M^{me} REZZOUG.W pour m'avoir
faite l'honneur de présider mon jury*

*Mes remerciements vont également à M^r KADIS pour avoir
accepté d'examiner ce travail et de prendre part au jury de ce travail*

*Je tiens à exprimer mes profondes remerciements aux ingénieurs de
laboratoire de technologie alimentaire et de microbiologie Mr
BENHLIMA.A, Mr AOUALI H, RGHIOUI B et M^{me} Khaira qui mon
facilités la réalisation de ce travail*

*Un grand et spécial remerciements à tous les membres de
l'universitaire de Tiaret pour leurs soutiens et leurs aides.*

*En fin, mes remerciements vont également à tous ceux qui ont
contribué de
près ou de loin à la réalisation de ce travail*

Dédicace s:

Je dédie ce modeste travail

A la mémoire de mon père, que dieu l'accueille en son vaste Paradis.

A Ma chère mère, symbole de courage et de volonté, qui a consacré et sacrifié sa vie pour mon bien être.

A Ma très chère Amina qui ma entourée avec sa tendresse, aide et qui a été toujours présente dans les moments difficiles. Sans oublié ma chère tante Fadhila, mon oncle Mohamed.

A Mes adorables sœurs Pour leur soutien morale: Nadia Sabah

A mes frères qui ont partagé mes joies et mes peines, qui ont été toujours à mes cotés, qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui Farid, Massinissa et Saber.

A la mémoire de mon frère « Fdir » qui nous à quitter à la fleur d'âge mais qui est toujours vivant dans le cœur de chacun d'entre nous.

Je clos ces remerciements en dédiant ce travail à mes ami (es) que j'ai eu la chance d'avoir à mes côtés : Khadidja Lefrad, Malika, Salima, Nawel.

A toute personne ayant participé de pré ou de loin à ma formation et à tous ceux qui ma apporté leurs soutien et encouragements durant la réalisation de ce travail.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Introduction

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Lait de vache

1. Définition de lait de vache	3
2. Composition du lait de vache	3
3. Variations dans la composition du lait	7

Chapitre II : Lactosérum

1. Définition de lactosérum	8
2. Différents types de lactosérum	8
2.1. Lactosérum acide	8
2.2. Lactosérum doux	8
3. Composition des lactosérums	9
3.1. Composition en lactose	9
3.2. Composition en protéines	9
3.3. Composition en sels minéraux et vitamines	10
3.4. Constituants indésirables	11
4. Valorisation du lactosérum	11
4.1. Alimentation humaine	11
4.2. Alimentation animale	12
4.3. Domaine biotechnologique	12
4.4. Intérêt médical	13

Chapitre III : Microbiologie de lait de vache et du lactosérum

1. Microbiologie de lait de vache	14
1.2. Classification des principaux micro-organismes de lait de vache selon leur importance	14
1.2.1. Flore originelle	14
1.2.2. Flore de contamination	15

1.2.3. Flore d'altération	16
1.2.4. Flore pathogène	16
2. Microbiologie de lactosérum.....	17
2.1. Germes de lactosérum	17
2.1.1. Germes produisent des fermentations favorable	17
2.1.2. Germes produisant des fermentations « indésirables »non dangereuses.....	17

Partie I : Etude Expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Objectifs de travail	19
2. Lieu et période de travail.....	19
3. Matériels.....	19
3.1. Matières premières utilisés.....	19
3.2. Appareillages, verreries et produits utilises	20
4. Méthodes	21
4.1. Protocole expérimentale	21
4.2. Préparation du lactosérum doux	22
4.3. Méthodes d'analyses physicochimiques de lactosérum doux	23
4.3.1. Analyses physiques	23
4.3.1.1. Détermination de la densité.....	23
4.3.1.2. Détermination de la Viscosité	24
4.3.1.3. Détermination de l'indice de réfraction	25
4.3.1.4. Détermination de la teneur en matière sèche total	25
4.3.1.5. Détermination du taux de cendre	26
4.3.2. Analyses chimiques.....	26
4.3.2.1. Détermination de pH	26
4.3.2.2. Détermination de l'acidité titrable.....	27
4.3.2.3. Détermination de la conductivité électrique.....	27
4.3.3. Méthodes d'analyses biochimiques.....	28
4.3.3.1. Dosage du lactose.....	28
4.3.3.2. Dosages des protéines par méthode de BRADFORD	29
4.4. Méthodes d'analyses microbiologiques	31
4.4.1. Préparation de la suspension mère	31
4.4.2. Dilution.....	31
4.4.3. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophile totaux à 30°C	32

4.4.4. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux	33
4.4.5. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	34
4.4.6. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	35
4.4.7. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	36
4.4.8. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium sulfito réducteurs</i>	36
4.4.9. Recherche de <i>Salmonella</i>	38
4.4.10. Recherche et dénombrement des <i>Streptococcus thermophilus</i>	39
4.4.11. Recherche et dénombrement des <i>Lactobacillus Bulgaricus</i>	40

Chapitre02 : Résultats et discussion

1. Résultats des paramètres physico-chimiques	41
1.1. Densité.....	41
1.2. Viscosité.....	42
1.3. Matière sèche.....	42
1.4. Indice de réfraction.....	43
1.5. Taux de cendre	44
1.6. PH.....	44
1.7. L'acidité	45
1.8. Conductivité électrique	46
1.9. Teneur en lactose.....	47
1.10. Teneur en protéines	47
2. Résultats d'analyse microbiologique	49
2.1. Aérobie mésophile	49
2.2. Coliformes.....	50
2.3. Streptocoques	51
2.4. Levures et moisissures	51
2.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	52
2.6. <i>Clostridium sulfito-réducteur</i> à 46°C	52
2.7. Salmonelle.....	53
2.8. Bactéries lactiques	53

Conclusion

Référence bibliographique

Annexes

Liste des abréviations

α -LA : Alfa lactoglobuline

Abs : Absence

AFNOR : Association française de normalisation.

β -LG : Beta lactoglobuline

BM : bleu de méthylène

BP: Baird Parker

BSA: BOVIN SERUM ALBUMINE

C.F : Coliformes fécaux

Cm³ : Centimètre cube

CP : Centropoise

CRS : Clostridium Sulfito-Reducteur

C.T : Coliformes totaux

Cu₂O : Oxyde de cuivre

°C : Degré Celsius

D : Densité

°D : degré Dornic

DBO : Demande biochimique en oxygène

D/C/ : Double Concentration

DCO : Demande Chimique en oxygène

E. coli : *Escherichia coli*

FAO : Food agriculture organisation

g : gramme

g/l : gramme par litre

GAMT : Germe Aérobie Mésophile Totaux

h : heure

Hcl : hydrure du chlore

Ig : Imuno-globuline

ISO : International Organisation for Standardisation

J.O.R.A : Journal Officiel république algérienne.

J : joule

K cal : Kilo calorie

KJ : kilo joule

Kg : Kilogramme

l: litre

L.b : Lactobacillus

LDV : Lactosérum du lait de vache

mg : milli gramme

ml : millilitre

Min : minute

M 17 : Gélose Terzaghi et Sandium

MRS: Gélose de Man, Rogosa and Shar.

MS : Matière sèche

Ms/cm : Milisiemens par centimètre

N° : Numéro

NaCl : chlorure de sodium

NaOH : Hydroxyde sodium

Nd : Non Déterminé

OMS : Organisation Mondiale de Santé

OGA : gélose a la terramycine

PCA : Gélose Plate Count Agar

pH : Potentiel d'hydrogène

SM : Suspension mère

S. t: *Streptococcus thermophilus*

S aureus : Staphylococcus aureus

S Fécaux :*Streptococcus Fécaux*

S.S : Gélose Salmonella Shigilla.

S/C : Simple Concentration.

T : Température.

TC : Teneur en cendre

UFC : Unité Formant Colonie

V : Viscosité

VRBL : Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet au Rouge neutre

MR : Rouge de Méthyle

P₂O₃ : Acide phosphorique

us/Cm : Micro siemens par centimètre

µm: Micro mètre

VRBL : Gélose lactosé au Vert Brillant et à la Bile

VF : Viande Foie

Liste des figures

Figure N°01 : Protocole expérimental.....	21
Figure N°02 : schéma de la préparation du lactosérum doux.....	22
Figure N°03 : l'évolution des valeurs de densités en fonction de la température au cours du temps.....	41
Figure N°04 : l'évolution des valeurs de la viscosité en fonction de la température au cours du temps.....	42
Figure N°05 : l'évolution des valeurs de la matière sèche en fonction de la température au cours du temps.....	43
Figure N°06 : l'évolution des valeurs l'indice de réfraction en fonction de la température au cours du temps.....	43
Figure N°07 : l'évolution des valeurs de taux des cendres en fonction de la température au cours du temps.....	44
Figure N°08 : l'évolution des valeurs du pH en fonction de la température au cours du temps.....	45
Figure N°09 : l'évolution des valeurs de l'acidité en fonction de la température au cours du temps.....	46
Figure N°10 : l'évolution des valeurs de la conductivité électrique en fonction de la température au cours du temps.....	46
Figure N°11 : l'évolution des teneurs en lactose en fonction de la température au cours du temps.....	47
Figure N°12 : l'évolution des teneurs en protéines en fonction de la température au cours du temps.....	48

Liste des photos

Photos N°01 : Résultats de recherche des aérobies mésophiles par milieu PCA.....	50
Photo N°02 : Résultats de recherche des coliformes par milieu VRBL.....	50
Photo N°03 : Résultat de recherche des streptocoques fécaux par milieu Rothe	51
Photo N°04 : Résultats de recherche de levures et moisissures par milieu OGA	52
Photo N°05 : Résultats de recherche de Staphylococcus aureus par milieu BP.....	52
Photo N°06 : Résultats de recherche de clostridium sulfito reducteur par milieu VF	53
Photo N°07 : Les résultats des L.B bulgaricus sur le milieu MRS	54
Photo N°08 : Les résultats des S.T sur le milieu M17	54

Liste des Tableaux

Tableau N°01 : Composition moyenne du lait de vache.....	6
Tableau N°02 : Composition des différents types de lactosérum	9
Tableau N°03 : Teneur en composés protéiques du lactosérum	10
Tableau N°04 : Application des protéines de lactosérum	12
Tableau N°05 : Flore originelle du lait cru	14
Tableau N°06 : Germes contaminant le lait cru	15
Tableau N°07 : principaux agents pathogènes pouvant être présent dans le lactosérum.....	18
Tableau N°08 : Préparation des solutions pour la courbe d'étalonnage	30
Tableau N°09 : Expression des résultats microbiologique	49
Tableau N°10 : Expression des résultats de recherche de bactéries lactique.....	54

Introduction

Introduction

L'industrie de lactosérum a connu un essor très important ces dernières années dans les pays développés. La stimulation de ce développement est liée d'une part au potentiel énorme de pollution provoquée par ce produit et d'autre part au fait que la majorité de sa matière sèche est constituée d'éléments à valeur nutritive élevée (**LOUISFERT S., 1994**).

Les quantités de lactosérum disponibles dans le monde sont considérables, puisqu'elles représentent au moins 85% du lait transformé en fromage. La composition de ce dérivé varie avec la fabrication dont il provient. Ainsi par sa richesse en éléments nutritifs tels que le lactose, les protéines solubles, les vitamines hydrosolubles, les éléments minéraux et la matière grasse le lactosérum constitue un excellent milieu de culture pour les microorganismes, ce qui lui fait un facteur de pollution redoutable avec une demande biologique en oxygène (DBO) estimée à environ 40g/l et une demande chimique en oxygène (DCO) 50 à 70g/l (**ALAIS C., 1981**). D'autre part cette richesse lui a qualifié d'être classé parmi les aliments nobles à être valorisés.

En Algérie l'inexistence d'une mise en valeur du lactosérum se pose avec acuité en raison de l'absence d'une réglementation stricte, émanant des pouvoirs publics, pouvant interdire le rejet de ce produit dans la nature. Le rejet de lactosérum dans les égouts représentant une perte sèche de l'élément nutritif.

Le lactosérum peut être utilisé dans les aliments destinés à l'homme comme substituant du lait écrémé dans les boissons, dans les produits laitiers, dans les pâtes alimentaires, en pâtisserie et biscuiteries, en panification en charcuterie, tandis que les produits de fractionnement sont utilisés dans l'industrie pharmaceutique comme produit diététique, dans les productions d'alcool et la levure boulangère (**ALAIS C., 1981**). Il est utile de noter que le lactosérum entre aussi dans les compositions des aliments pour divers animaux d'élevage (**BOUDIER J. F., LUQUET, 1980**).

Au cours de ces dernières années, plusieurs travaux apportant de nouvelles connaissances sur la valorisation du lactosérum ont été réalisés au niveau des universités algériennes. Malheureusement aucune réalisation pratique n'a été faite jusqu'à présent.

Dans ce contexte notre travail consiste à faire un suivi du comportement de ce lactosérum doux de lait de vache suite à:

- Des caractérisations physico-chimiques de ce produit au cours du temps de conservation à différentes températures

- Une étude microbiologique de suivi selon les conditions d'entreposage de ce coproduit.

Partie bibliographique

Chapitre I :
Généralité sur le lait
de vache

1. Définition de lait de vache

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 S. et GOURSAUD J., 2001**).

Selon **ABOUTAYEB R. (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. Le lait cru de vache est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite.

2. Composition du lait de vache

Le lait de vache est un lait caséineux. Sa composition générale est représentée au tableau N°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 (**ROUDAUT H. et LEFRANCQ E., 2005**).

2.1. L'eau

L'eau est l'élément quantitativement le plus important : 900 à 910 g/l. (**MATHIEU J., 1998**).

2.2. Matière grasse

La matière grasse ou taux butyreux représente 25 à 45 g /l (**LUQUET F-M., 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 J., 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 J-L., 2008**).

Cet état globulaire est fragile ; toute altération de la membrane par voie chimique, physique et microbienne conduit à la déstabilisation de l'émulsion. Cette évolution peut être accidentelle, elle se traduit alors le plus souvent par une séparation de la phase grasse sous

forme d'huile ou d'agrégats et/ou par l'apparition de saveurs indésirables (rancidité oxydation) ; lorsqu'elle est dirigée, elle permet la concentration de la phase grasse sous forme de beurre après barattage, ou sous forme d'huile de beurre et de matière grasse laitière anhydre après chauffage et centrifugation (MADJI A., 2009).

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 J., 1985).

Selon DEBRY G. (2001). 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).

2.4. Les glucides

Selon LUQUET F-M. (1985). Le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale. Sa teneur s'élève en moyenne à 50g /l. C'est un disaccharide constitué par de l' α ou β glucose uni à du β galactose, ce qui est à l'origine de la présence de 2 lactoses:

α Glu + β Gal α Lac hydraté : C₁₂ H₂₂ O₁₁ + H₂O

β Glu + α Gal β Lac anhydre : C₁₂ H₂₂ O₁₁

Le lactose est fermentescible par de nombreux micro-organismes et il est à l'origine de plusieurs types de fermentations pouvant intervenir dans la fabrication de produits laitiers (MORRISSEY P-A., 1995).

2.5. Matière minérale

La matière minérale du lait (7g à 7,5g/l) est fondamentale d'un point de vue nutritionnel et technologique. (LUQUET F-M., 1985).

Les minéraux sont présents, soit en solution dans la fraction soluble, soit sous forme liée dans la fraction insoluble (ou colloïdale). Certains minéraux se trouvent exclusivement à l'état dissous sous forme d'ions (sodium, potassium et chlore) et sont particulièrement

biodisponibles. Les ions calcium, phosphore, magnésium et soufre existent dans les deux fractions (**MATHIEU J., 1998**).

Il existe un équilibre entre les formes solubles et colloïdales, d'une part, et entre les formes ionisées et non dissociées d'autre part. Cet état est précaire parce qu'il est sensible à divers facteurs, notamment au pH, à la température, et à la concentration ou à l'addition de calcium. Toute altération de ces équilibres modifie la stabilité du lait, notamment les propriétés de la caséine native (**MATHIEU J., 1998**).

2.6. Biocatalyseurs

2.6.1. Enzymes

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Plus de 60 enzymes principales ont pu être isolées du lait ou dont l'activité a été déterminée. La moitié d'entre elles sont des hydrolases (**BLANC B., 1982 ; POUGHEON S., 2001**).

2.6.2 Vitamines

Selon **DEBRY G. (2001)**. Ce sont des molécules complexes de taille plus faible que les protéines, de structure très variées ayant un rapport étroit avec les enzymes, car elles jouent un rôle de coenzyme associée à une apoenzyme protéique.

On classe les vitamines en deux grandes catégories :

- les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait.
- les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie.

Tableau N°01 : Composition moyenne du lait de vache (ALAIS C. *et al.*, 2008).

	Composition (g/l)	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre solvant plus eau liée (3.7%)
Glucides (lactose)	49	Solution
Lipides		
-Matière grasse proprement dite.	35	-Emulsion des globules gras (3 à 5 μ m)
-Lécithine (phospholipides).	34	
-Insaponifiable (stérole, carotène tocophérol)	0.5	
Protides		
-Caséines	34	-Suspension micellaire
-Protéines solubles (globuline albumine)	27 2.5	-Phosphocaseinate de calcium (0.08 à 12 μ m)
-Substances azotées non protéiques	1.5	-Solution colloïdale
Sels	9	
-De l'acide citrique en acide	2	
-De l'acide phosphorique(P ₂ O ₃)	2.6	Solution ou état colloïdale
-De chlorure de sodium(NaCl)	1.7	
Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous)	Traces	
Extrait sec total	127	
Extrait sec non gras	92	

3. Variations dans la composition du lait

Le lait qui arrive à l'usine, constitue une matière première dont la composition n'est pas fixe. Ce caractère rend donc l'utilisation de cette matière première assez difficile, diminue les rendements et modifie les caractères organoleptiques des produits finis (WOLTER R., 1988).

Deux grands types de variation existent, au stade de l'animal et au stade du traitement du lait. La composition chimique du lait et ses caractéristiques technologiques varient sous l'effet d'un grand nombre de facteurs (**STOLL W., 2003**).

Ces principaux facteurs de variation sont bien connus. Ils sont soit intrinsèques liés à l'animal (facteurs génétiques, stade de lactation, état sanitaire, etc.), soit extrinsèques liés au milieu et à la conduite d'élevage (saison, climat, alimentation). Cependant, si les effets propres de ces facteurs ont été largement étudiés, leurs répercussions pratiques sont parfois plus difficiles à interpréter compte tenu de leurs interrelations (**WOLTER R., 1988**).

Chapitre II :
Généralité sur le
lactosérum

1. Définition de lactosérum

La fabrication des fromages nécessite une étape de coagulation de la caséine par une acidification du lait obtenu par ajout de ferments lactiques ou par action de la présure. Traditionnellement, l'opération qui suit l'étape de coagulation consiste à séparer la phase coagulée du reste du lait au cours d'une opération d'égouttage: la fraction liquide ainsi recueillie s'appelle le lactosérum (**BERGEL et al., 2004**).

Le lactosérum est un liquide jaune verdâtre, contenant une quantité importante de protéines de lait environ 20% (6g/l) et riche en élément nutritif (**MULLER A. et al., 2003**).

La production de 10-20 Kg de fromage donne 80 à 90 Kg de lactosérum (**YEBO L. et al., 2006**).

Il est une excellente source de plusieurs minéraux facilement assimilable par les humains comme le calcium, le phosphore, le potassium et le sodium. C'est aussi une bonne source de vitamine du complexes B, la riboflavine et l'acide pantothénique. Cependant, la composition et les caractéristiques du lactosérum varient de la source et de procédé de fabrication (**SISO, 1996**).

2. Différents types de lactosérum

Le lactosérum doit être considéré comme un produit dérivé plutôt qu'un sous-produit de la fabrication des fromages, ou de la caséine on distingue deux types de lactosérums (**LINDEN G. et al., 1994 ; DE LA FUENTE M-Y., 2002**).

2.1. Lactosérum acide

Obtenu après la coagulation du lait par précipitation des caséines à leur pH isoélectrique de 4.6 par ajout d'acide fort ou d'acide lactique (**VIOLLEAU V., 1999**).

2.2. Le lactosérum doux

Il est obtenu après la coagulation de la caséine sous l'action de présure sans acidification préalable, on obtient alors un sérum doux, pauvre en sels minéraux et riche en lactose et en protéine (**SOTTIEZ P., 1990 ; DE LA FUENTE M-Y. et al., 2002**).

Lorsque le lactosérum de fromagerie n'est pas traité avec toutes précautions nécessaires, la poursuite de la fermentation naturelle augmente son acidité. Le lactosérum doux issu de la fabrication de fromage à pâte pressée cuite ou non cuite (Emmenthal, Saint paulin, Edam...etc), est de pH variant entre 5 et 6.3 (**MORR C-V. et al., 1993**).

3. Composition des lactosérums

La composition du lactosérum varie selon la source du lait, les différents traitements appliqués on pour principe de le transformer en produits consommable tout en utilisant les procédés de fabrication (LAPLANCHE J., 2004).

Tableau N°02 : Teneur approximative (en %) des différents composants contenus dans les deux principaux type de lactosérum (BYLUND G., 1995 ; WIT, 1981).

Constituants	Lactosérum doux	Lactosérum acide
Solides totaux	6.4	6.5
Eau	93.6	93.5
Matière grasse	0.05	0.04
Protéine	0.55	0.55
Azote non-protéique	0.18	0.18
Minéraux		
- Calcium	0.045	0.12
-Phosphore	0.04	0.065
-Sodium	0.05	0.05
-Potassium	0.16	0.16
-Chlorure	0.11	0.11

3.1. Composition en lactose

Le lactose est le principal constituant du lactosérum de fromagerie (LUQUET F-M. et FRANÇOIS M., 1990), c'est un diholoside constitue par l'union d'une molécule de α ou β -D-glucose et d'une molécule β -D-galactose, ce qui est a l'origine de la présence de deux lactoses stéréo-isomères réducteurs (VISSER R-A. et al., 1988).

3.2. Composition en protéines

Deux grandes familles de protéines entrent dans la composition du lait, la première est constituée de caséines qui représentent environ 80% des protéines totales de lait.

La seconde famille les protéines solubles constituées essentiellement de β -lactoglobuline, α -lactalbumine, l'albumine sérique bovine, les immunoglobulines et les protéases-peptones (SOTTIEZ P., 1990). Le tableau ci-dessous énumère quelques caractéristiques de ces protéines.

Tableau N°03 : Teneur en composés protéiques du lactosérum (SOTTIEZ P., 1990).

Composés protéiques	Masse moléculaire(KDa)	Teneur en %	Point isoélectrique
Protéines			
β-LG	18.362	50	5.2
α -LA	14.147	22	4.5-4.8
BSA	69.000	5	4.7-4.9
Ig	150.00-1000.00	12	5.5-8.3
Lactoférine	80.000	≥ à 1	8.4-9.0
Enzymes			
Lactopéroxydases	78	≥à 1	9.5
Lysozyme	18		9.5
Phosphatases alcaline	160-190		Nd
Catalase	60		5.7
Sulphydryle oxydase	89		Nd
Plasmine	Nd		Nd
Peptides			
Protéases-peptones	Nd	Nd	Nd
Glycomacropéptides	7	10	Nd

Nd : Non Déterminer.

Les protéines ne forment pas la fraction la plus abondante du lactosérum, mais elle est la plus intéressante sur le plan économique et nutritionnel qui est supérieures aux protéines du blanc d'œuf, prise comme protéines de référence. Leurs compositions en acide aminé, très riche (SOTTIEZ P., 1990).

3.3. Composition en sels minéraux et vitamines

Les sels minéraux principaux présents dans le lactosérum sont : le sulfate, chlorures, phosphates, citrates de calcium, sodium, magnésium et potassium. (BYLUND G., 1995; JOST, 1993).

Le lactosérum contient également des vitamines essentielles pour notre organisme et plus précisément des vitamines B2, B5, B12, B6 et C, qui peuvent être utilisées en industrie pharmaceutique ou alimentaire. (VRIGNAUD Y., 1983)

3.4. Constituants indésirables

En plus des composants hydrosolubles du lait, on retrouve dans le lactosérum une variété de constituants indésirables issus d'une ou plusieurs étapes de la production fromagère. Ils sont considérés comme indésirables puisqu'ils n'ont pas de valeur technologique ou sont carrément des contaminants. Les principaux constituants indésirables sont les matières grasses, les particules de fromage (fines), les bactéries et les bactériophages (**GARNEAU et MOINEAU, 2011**).

4. Valorisation du lactosérum

La valorisation du lactosérum en alimentation humaine et en industrie chimique est pharmaceutique est rendu possible grâce aux craquage pour obtenir, par fractionnement, des composée protéiques et glucidique (**MOLETTA, 2002 ; CHISTANSEN K-F. et al., 2004**).

4.1. Alimentation humaine

Les protéines, en particulier les albumines présentent un intérêt par leur propriétés fonctionnelles solubilité sur une large gamme de pH, pouvoir moussant ou texturant, capacité de rétention d'eau, aptitude à la gélification. En plus, de leur haute valeur nutritionnelle liée en particulier à la présence de protéines riche en acides aminés essentiels dont la lysine et le tryptophane (**MORR C-V. et HA E-W., 1993 ; MARSHAL A-D. et al., 1998 ; FIREBAUGH J-D. et al., 2005**).

Les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles des protéines du lactosérum ont rendu son utilisation possible dans de nombreux domaines de l'industrie agroalimentaire, (**Tableau N°4**) en particulier en tant que texturant, foisonnant ou ingrédient nutritionnel (**DAMODARAN S., 1997**).

Tableau N°04 : Application des protéines de lactosérum (LINDEN G. et al., 1994).

Produits	Fonctions
Produits de boulangerie-biscuiterie	Apport protéique, rétention d'eau, gélifiant, texture (interaction avec gluten)
Pâtes alimentaires	Apport protéique, texture
Pâtisserie (meringue, génoise)	Emulsifiant, moussant, rétention d'eau, gélifiant.
Confiserie (caramel, nougats ... Chocolat au lait	Emulsifiant, arôme, texture, dispersibilité
Potages, sauces	Epaississant (interaction avec amidon), émulsifiant
Plats cuisinés	Epaississant, émulsifiant, rétention d'eau
Farines lactées	Apport protéique, solubilité
Boissons lactées ou fruitées	Soluble à chaud ou / et pH acide Epaississant
Aliments diététiques et infantiles (alimentation entérale)	Apport protéique, solubilité, épaississant
Fromages naturels et fondus	Emulsifiant, épaississant, gélifiant
« imitation cheese, dip », pâtes à tartiner, coffee whitener, crèmes glacées	Emulsifiant, épaississant
Crèmes desserts, flans, yaourts	Emulsifiant, épaississant, gélifiant
Produits carnés (saucisse, pâtes, hamburgers)	Emulsifiant, épaississant, liant, gélifiant, rétention d'eau et de matières grasses

4.2. Alimentation animale

Les poudres de lactosérum sont utilisées dans les aliments d'allaitement pour veaux. Elles sont également employées, de même que les concentrés liquides, en mélange avec d'autres aliments (hachis de paille, farine,..) pour animaux d'élevage (bovins, porcins, volailles) (VRIGNAUD Y., 1983).

4.3. Domaine biotechnologique

■ Biotransformation de lactose

Production des solvants, des vitamines, des polysaccharides du méthane, des enzymes, des acides aminés et organiques et de nombreux autres composés à partir de lactose de lactosérum. L'ensemble des procédés de fermentation du lactosérum montre que le système de production d'acide lactique est l'un des plus avantageux (VRIGNAUD Y., 1983).

▀ Substrat de fermentation

Selon **ALAIS C. (1975)**. Le lactosérum par sa composition biochimique possède d'intéressantes propriétés comme milieu de fermentation pour plusieurs microorganismes assimilant le lactose comme source de carbone et d'énergie:

- **Les bactéries**: à titre d'exemple *Lactobacillus casei* pour la production d'acide lactique.
- **Les moisissures** : à titre d'exemple *Penicillium camemberti* producteur de protéases.

4.4. Intérêt médical

Actuellement, les scientifiques évaluent les effets bénéfiques des fractions de protéines de lactosérum. L'utilisation de ces fractions est efficace contre les maladies du cœur (réduction du cholestérol et de la tension artérielle), les cancers, etc (**LINDEN G. et al.,1994**)

Chapitre III :
Microbiologie de lait
de vache et du
lactosérum

1. Microbiologie de lait de vache

L'étude de la microbiologie permet de caractériser et ainsi de mieux contrôler les quarts principaux groupes de micro-organismes (virus, bactéries, levures et moisissures (LUQUET F-M., 1985)

Les microorganismes, principalement, présents dans le lait sont les bactéries mais, on peut aussi trouver des levures et des moisissures, voire des virus. De très nombreuses espèces bactériennes sont susceptibles de se développer dans le lait qui constitue, pour elles, un excellent substrat nutritif. Au cours de leur multiplication dans le lait, elles libèrent des gaz, des substances aromatiques, de l'acide lactique, diverses substances protéiques, voire des toxines pouvant être responsables de pathologie chez l'homme (ANONYME, 2009).

L'importance et la nature des bactéries contaminants le lait, dépendent, de l'état sanitaire de l'animal, de la nature des fourrages (AGABRIEL C. et al., 1995), mais aussi des conditions hygiéniques observées lors de la traite, de la collecte, de la manutention et de la température de conservation du lait (ROBINSON R-K., 2002).

1.2. Classification des principaux micro-organismes de lait de vache selon leur importance

1.2.1. Flore originelle

La flore originelle des produits laitiers se définit comme l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis, les genres dominants sont essentiellement des mésophiles. Il s'agit de microcoques, mais aussi streptocoques lactiques et lactobacilles. (VIGNOLA C., 2002)

Ces microorganismes, plus ou moins abondants, sont en relation étroite avec l'alimentation (GUIRAUD J-P., 2003) et n'ont aucun effet significatif sur la qualité du lait et sur sa production (VARNAM A-H. et SUTHERLAND P., 2001). Le tableau N°05 regroupe les principaux microorganismes originels du lait avec leurs proportions relatives.

Tableau N°05 : Flore originelle du lait cru (VIGNOLA C., 2002).

Microorganismes	Pourcentage (%)
<i>Micrococcus sp.</i>	30-90
<i>Lactobacillus</i>	10-30
<i>Streptococcus</i> ou <i>Lactococcus</i>	< 10
Gram négatif	< 10

1.2.2. Flore de contamination

Cette flore est l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération, qui causera des défauts sensoriels ou qui réduira la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (VIGNOLA C., 2002).

Tableau N°06 : Germes contaminant le lait cru (JAKOB E. et al., 2009).

<i>Sources de contamination</i>		<i>Psychrotrophes</i>
Germes Gram positifs		
– Germes sporulés Aérobie	Terre, poussière, foin (très répandu)	Certaines espèces
– Germes sporulés 3	Ensilage, fourrage vert en fermentation, boue	Non
– Anaérobies(clostridies)		
– Entérocoques	Fèces, résidus de lait	Non
– Staphylocoques	Peau, muqueuses	Certaines espèces
– Microcoques	Peau, résidus de lait	Non
– Bactéries propioniques	Peau, résidus de lait, fourrage vert en fermentation, ensilage	Non
– Bactéries lactiques	Plantes, ensilages, résidus de lait, muqueuses	Non
– Bactéries corynéformes	Peau, sol	Certaines espèces
Germes Gram négatifs		
– Colibactéries (E. coli)	Fèces, eaux usées	Non
– Entérobactéries	Plantes, fèces, eaux usées	Certaines espèces
– Pseudomonas	Eau, sol (très répandu)	Oui
– Alcaligenes, Flavobacterium,	Eau, sol (très répandu)	Oui
Levures	Sol, plantes, résidus de lait (très répandues)	Oui

1.2.3. Flore d'altération

Suivant le degré de dégradation des constituants du lait sous l'effet des microorganismes, on distingue quatre états bactériologiques du lait.

1.2.3.1. Phase de latence (bactériostatique)

Du fait des substances antibactériennes du lait et des bactériocines produits par les bactéries lactiques, les autres germes tendent à stagner ou à régresser. C'est une phase d'adaptation. Le lait peut alors se conserver pendant longtemps sous réfrigération. Toutefois,

cette durée est réduite considérablement à une température élevée (**PETRANSXIENE D. et LAPIED L., 1981**).

1.2.3.2. Phase d'acidification

Durant cette phase, l'acidité ionique diminue et le degré Dornic augmente. La fermentation du lactose par les espèces du groupe lactique principalement, aboutit à la production d'acide lactique. Les streptocoques sont les premiers germes acidifiants intervenant par abaissement du pH et par augmentation de l'acidité, puis viennent les lactobacilles acidophiles qui, en proliférant, abaissent davantage le pH et entravent la croissance d'autres germes. Cette phase se poursuit jusqu' à la coagulation du lait par acidification (maximum pH 4,6) (**PETRANSXIENE D. et LAPIED L., 1981**).

1.2.3.3. Phase de neutralisation

Les levures acidophiles jouent un rôle désacidifiant. Leur prolifération dans le lait, élève sensiblement le pH et entraîne la production d'alcool. C'est la phase de neutralisation. Elle correspond à une reprise d'activité des germes de putréfaction. Ce stade est à éviter si l'on veut conserver les qualités hygiéniques et marchandes du produit (**DIENG M., 2001**).

1.2.3.4. Phase d'alcalinisation

Elle est également dite de putréfaction et se traduit par une production d'hydrogène sulfuré, indice de dégradation systématique du lait, car il affecte aussi bien les caractères hygiéniques qu'organoleptiques (**PETRANSXIENE D. et LAPIED L., 1981**).

1.2.4 : La flore pathogène

Comme la flore d'altération, la flore pathogène est incluse dans la flore contaminante du lait. La présence de micro-organismes pathogène peut avoir trois sources : l'animal, l'environnement et l'homme (**ANDELOT P., 1983**).

Les principales microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont : *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Brucelles p*, *Bacterium tuberculosis*, *Clostridium botulinum* et *Clostridium perfringens*, *Bacillus vereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Echirichia coli*, *Campylobacter jejuni*, *Shigella sonei*, *Brucella abortis*, *Micobacterium tuberculosis* et Certaines moisissures qui élaborent des mycotoxines thermostables et liposolubles donc difficiles à éliminer une fois formées. C'est ainsi que (**WISEMAN D-W. et APPLEPAUM T., 1983**) confirment la résistance de l'aflatoxine M1,

élaborée par *Aspergillus flavus*, à la pasteurisation des laits et produits laitiers lui reconnaît des propriétés hépatotoxiques et cancérigènes. (ABDESSALAM D., 1995)

2. La microbiologie de lactosérum

L'utilisation du lactosérum par l'alimentation peut poser un certains nombre de problèmes spécifiques du fait d'un risque sanitaire lié a la contamination du lactosérum en agents pathogènes. (MOREL F., 1984)

2.1. Les germes de lactosérum

Le lactosérum est une solution qui contient de substances nutritives pour les micro-organismes : glucides, protides, acides organiques, sels et peut de matière grasses. Il contient aussi des facteurs de croissances indispensable, tels que les vitamines de groupes B, c'est donc assez bon milieu de culture pour nombreux germes, qui appartiennent pour la plupart au groupe des bactéries, mais aussi a ce des levures et moisissures (MOREL F., 1984).

Selon LOUISFERT S. (1994). On distingue trois grandes classes de germes :

2.1.1. Les germes produisent des fermentations favorables

Elles conduisent à la production d'acide lactique à partir du lactose. Elles sont produites par les bactéries lactiques homofermentaires utilisées comme levain en technologie laitière. Ces fermentations sont qualifiées de « favorable » à l'évolution de la composition du lactosérum pour les raison suivantes :

- Le rendement de transformation de lactose en acide est supérieur à 95% donc la perte de substances nutritives est faible.
- L'acide lactique, en abaissant le pH, inhibe le développement de certains gènes pathogènes.

2.1.2. Les germes produisant des fermentations « indésirables »non dangereuses

Ces fermentations, causées par des germes qui produisent d'autres composés que l'acide lactique (comme l'acide acétique, de l'alcool et surtout du gaz carbonique en abondance) entraînent une perte de valeur nutritive du lactosérum. Ce sont des germes hétérofermentaires que l'on trouve aussi bien parmi les bactéries que parmi les levures et moisissures. Souvent, ces fermentations se développent aisément dans les milieux neutres (lactosérum doux) et les composés formés pour la plupart responsables de mauvaises odeurs.

-Les germes pathogènes : Les plus dangereux sont des bactéries et des virus qui peuvent se développer dans les lactosérums. Ces contaminations du lactosérum en agents pathogènes peuvent être le fait :

*De contamination initiale du lait à la sortie de la mamelle, soit agents des mammites, soit des maladies générales susceptibles d'infester la mamelle.

* De contaminations ultérieures du lait ou du lactosérum par des bactéries de l'environnement venant de l'animal, de ses fèces, de sa peau, venant de l'homme, de l'atmosphère ou du matériel de traite et de l'atelier de fabrication.

Le tableau n°07 présente les principaux agents pathogènes susceptible d'être rencontrés dans le lactosérum et les maladies qu'ils peuvent provoques.

Tableau N°07 : principaux agents pathogènes pouvant être présent dans le lactosérum (LEYRAL G. et VIERLING E., 2001)

Contamination du lait à la sortie de la mamelle	
Agents bactériens : - <i>Brucella</i> - <i>Mycobacterium</i> - <i>Coxiella burnetti</i> - <i>Staphylococcus aureus</i>	-Brucellose -Tuberculose -Fievre Q Mammite
Agents viraux : -Virus aphteux - <i>Maedi visua</i> Agent de CAEN -Virus de la leucose	-Fièvre aphteuse -atteinte nerveuse et pulmonaire du mouton -arthrite,encephalite caprine -Leucose bovine
Contamination du lait après la sortie de la mamelle	
Agents bactériens : <i>EC</i> <i>Listeria monocytogène</i> <i>Salmonella</i>	Diarrhee,septicemie Listerose(avortement,encephalite) Salmonellose

Partie expérimentale

Chapitre I :

Matériels et méthodes

1. Objectifs de travail

Les objectifs fixés de notre travail se résument comme suit :

Une étude physico-chimique et microbiologique du lactosérum doux de lait de vache pasteurisé en fonction du temps et des différentes températures.

2. Lieu et période de travail

Notre travail expérimental à été effectué au niveau des laboratoires de technologies alimentaire, biochimie et microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l université Ibn Khaldoun-Tiaret.Ce travail s'est déroulé du 02-04-2017 jusqu'au 11-05-2017

3. Matériels

3.1. Matières premières utilisés

■ Lait de vache pasteurisé

Le lait de vache utilisé dans notre expérimentation nous y est parvenu d'une ferme de souguer-Tiaret.

■ Lactosérum

Nous avons préparés le lactosérum doux à partir de lait de vache.

■ Présure

La présure animale, constitue l'enzyme coagulante du lait.

3.2.Appareillages, verreries et produits utilisés :

Matériels	<ul style="list-style-type: none"> - Acidimètre - Agitateur magnétique chauffant - Bain marie - Balance électrique - Conductimètre - Four pasteur - pH-mètre - Réfrigérateur - Viscosimètre - Capsule - Dessiccateur - Portoir pour tube tubes à essais - Spatule 	<ul style="list-style-type: none"> - Four - Autoclave - Balance - Barreau magnétique - Etuve - Glacière - Réfractomètre - Thermomètre - Bec benzène - Chronomètre - Pince en bois - Pycnomètre - Papier filtre - Seringue graduée
Verreries	<ul style="list-style-type: none"> - Bêchers - Boîtes de pétris - Entonnoirs - Flacon en verre - tubes à essai 	<ul style="list-style-type: none"> - Erlenmeyers - Burettes graduée - Eprouvette - pipettes graduées
Produits chimique	<ul style="list-style-type: none"> - Acétone-Les solutions tampon_-NaOH-Eau distillée - Fehling A - Fehling B -Permanganate de potassium - Phénolphtaléine-Hyéxanocyanoferrate de potassium - Acétate de zinc-Hcl-Cu₂O-Solution ferrique acide - BSA-Solution de jaune d'œuf auTellurite de potassium-Ampoule d'alun de fer-Ampoule d'alun de potassium 	
Les milieux de culture (Annexe N°01)	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu PCA - Milieu PCA - Milieu Rothe - Milieu S-S - Milieu M17 	<ul style="list-style-type: none"> - Milieu VRBL - Milieu BP - Milieu OGA - Milieu MRS - Milieu Eva litsky

4. Méthodes

4.1. Protocole expérimentale

Le protocole expérimental est présenté dans la figure ci-dessous

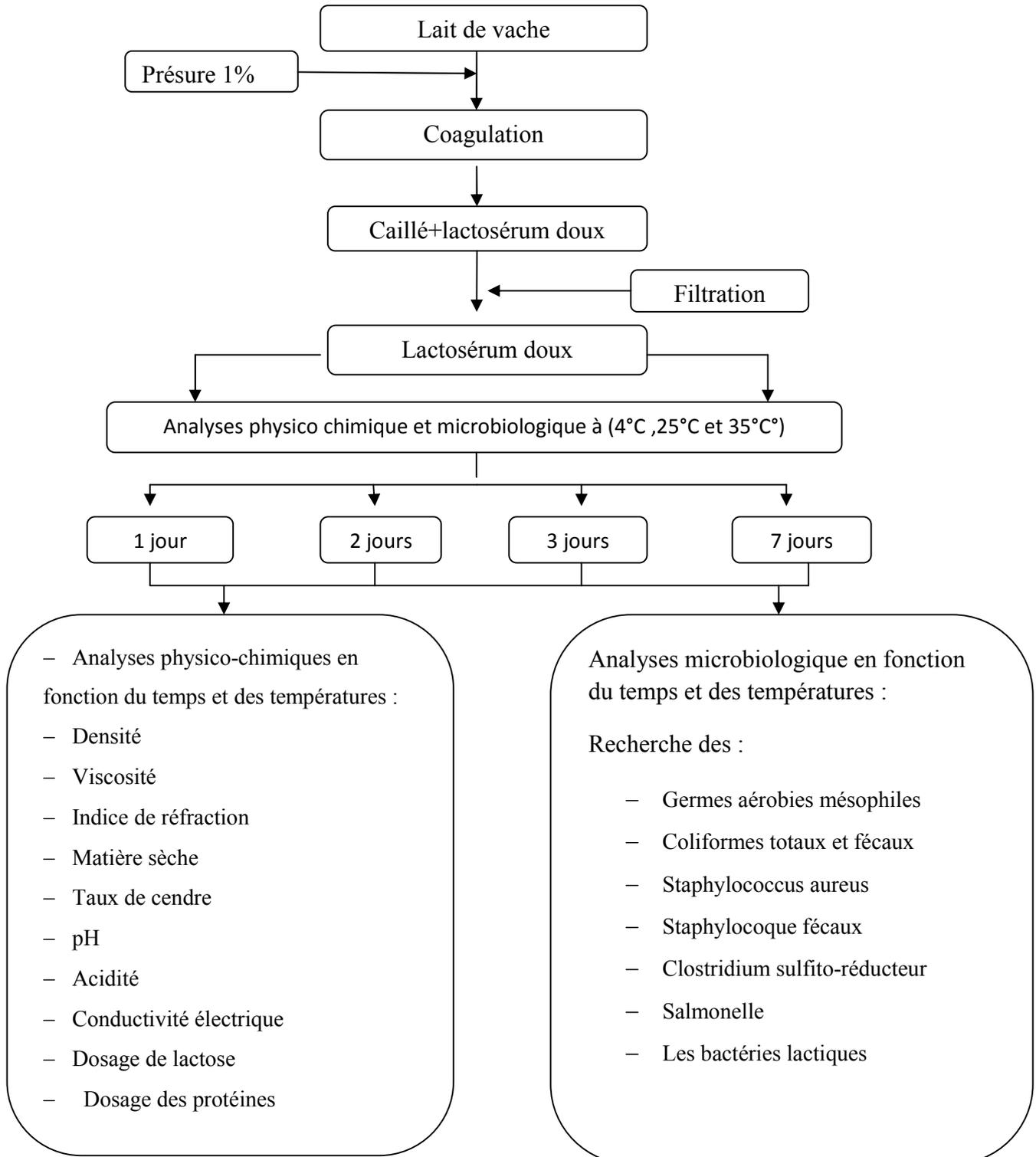


Figure N°01 : Protocole expérimental

4.2. Préparation du lactosérum doux :

- ▀ Prélever 100 ml de lait de vache ;
- ▀ Préparer une solution de la présure 1% (1g de présure par 100 ml d'eau distillée avec une agitation) ;
- ▀ Ajouter 2 ml de la solution présure (1%) à 100 ml de l'échantillon de lait de vache ;
- ▀ Placer l'échantillon sur agitateur magnétique chauffant à 35°C pendant 45 minutes ;
- ▀ Laisser reposer à température ambiante 25°C pendant 18heurs ;
- ▀ Séparer le lactosérum doux par filtration simple ;
- ▀ Conserver le lactosérum à température (4°C) jusqu'à son utilisation.

Le schéma suivant présente la préparation de lactosérum doux issu de lait de vache

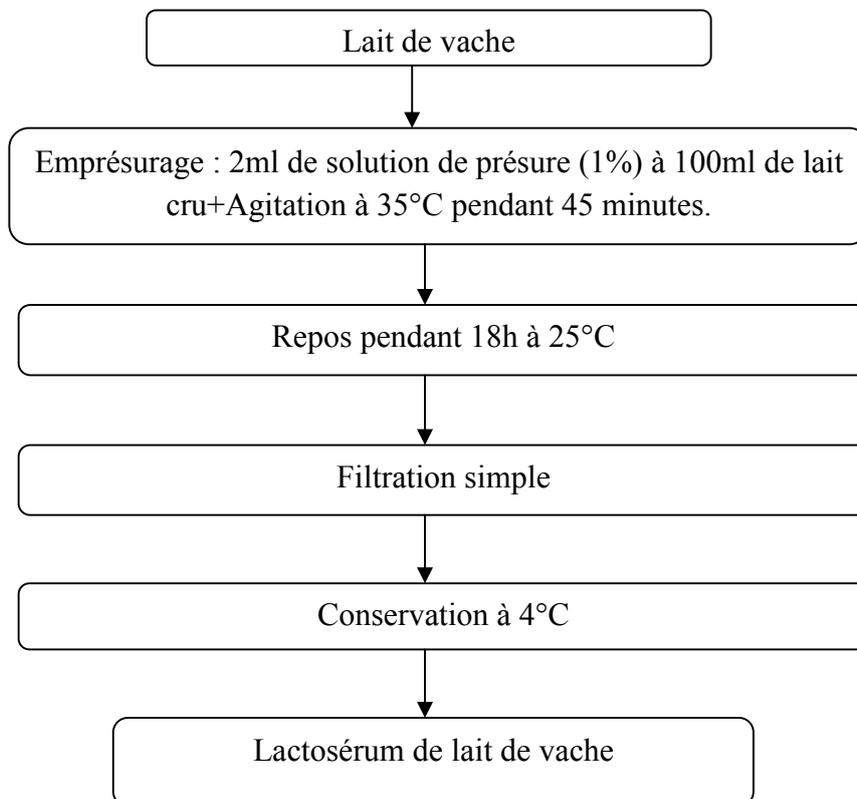


Figure N°02 : schéma de la préparation du lactosérum doux

Selon CHEFTEL. (1983), pour juger et contrôler la quantité des produits, on fait appel à des critères et à des méthodes d'évaluation de divers types :

- Les analyses physicochimiques, qui offrent souvent la possibilité de donner une évaluation quantitative de la valeur nutritionnelle.
- Les essais microbiologiques, qui révèlent présence ou risque de prolifération de microorganismes indésirables.

4.3. Méthodes d'analyses physicochimiques de lactosérum doux

4.3.1. Les analyses physiques

4.3.1.1. Détermination de la densité

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

■ Mode opératoire

- ✓ Peser le pycnomètre parfaitement propre, vide et sec ;
- ✓ Peser le pycnomètre remplie de l'eau distillée ;
- ✓ Vider le pycnomètre ;
- ✓ Peser le pycnomètre remplie de l'échantillon de lactosérum de lait de vache ;
- ✓ Vider le pycnomètre, le sécher soigneusement à l'alcool, puis au chloroforme.

■ Mode de calcul

La densité est calculée par la formule suivante :

$$D = \frac{P_t - p}{p_o - p}$$

Soit :

D : la densité de l'échantillon à température du laboratoire (20°C).

P_t : le poids du pycnomètre plein d'échantillon(LDV).

P : le poids du pycnomètre vide.

P_o : le poids du pycnomètre plein d'eau distillée.

4.3.1.2. Détermination de la Viscosité

La viscosité est définie comme étant la mesure de la fraction interne d'un fluide (VINCENT A., 2008)

▀ Mode opératoire

- Remplir le flacon porte tube avec l'échantillon considéré ;
- Fixer la température à 20°C ;
- Choisir une bille pour laquelle son écoulement à travers l'échantillon dans le tube viscométrique doit être lent que possible ;
- Laisser la bille s'écouler librement et mettre le chronomètre en marche ;
- Lorsque la bille atteint le repère situé à la partie inférieure du tube viscométrique, noter le temps de chute de la bille.

La relation poids, densité de la bille et la constante d'étalonnage par gravité du tube

Poids de la bille(g)	Densité de la bille(D1)	Constante d'étalonnage par gravité du tube(K)
4.43	2.223	0.074998

▀ Mode de calcul

La formule suivante représente la viscosité :

$$V = t \cdot (D_1 - D_2) \cdot k$$

V : la viscosité en CP.

t : le temps en seconde entre les repères annulaires supérieurs et inférieurs déterminés à l'aide d'un compte-seconde.

D₂ : la densité du liquide.

D₁ : la densité de la bille.

K : constante de la bille.

4.3.1.3. Détermination de l'indice de réfraction

L'indice de réfraction reflète le degré de pureté d'un liquide, il est mesuré à l'aide d'un réfractomètre : la technique consiste à :

▀ Mode opératoire

- Etalonner le réfractomètre avec l'eau distillée dont l'indice de réfraction est égale à 1.333 à 25 °C ;
- Nettoyer les prismes à l'acétone et les essuyer avec un papier hygiénique ;
- Mettre deux ou trois gouttes d'échantillon entre les prismes ;
- Déplacer la lunette de visée pour que la ligne de séparation de la zone claire et la zone sombre se situent à la croisée des fils du réticule ;
- Enfin, lire l'indice de réfraction du corps à étudier à 25°C.

4.3.1.4. Détermination de la teneur en matière sèche total (MS)

Selon **AUDIGIER et al., (1980)**. La détermination de la matière sèche repose sur l'évaporation d'un volume de lactosérum dont le résidu est pesé par la suite.

▀ Mode opératoire

- Peser 5ml de lactosérum séché ;
- Placer la capsule pendant 30min dans un bain marie bouillant puis mettez-la dans l'étuve à 130°C pendant 3heures ;
- Refroidir la capsule dans un dessiccateur ;
- Enfin, peser la capsule.

▀ Mode de calcul :

La forme suivante représente la matière sèche(MS) :

$$MS = (M_1 - M_0) \cdot 1000 / V \quad \text{g/L}$$

D'où :

MS : la matière sèche en g/L du lactosérum doux.

M₀ : la masse en (g) de la capsule vide.

M₁ : la masse en(g) de capsule et le résidu après la dessiccation et refroidissement.

V : le volume de la prise d'essai en (ml).

4.3.1.5. Détermination du taux de cendre

Les cendres totales sont le résidu de composés minéraux qui reste après l'incinération d'un échantillon contenant des substances organique d'origine animal, végétale ou synthétique (AUDIGIER *et al.*, 1980)

▀ Mode opératoire

- Peser la capsule vide et prendre son poids ;
- Placer 5 ml de lactosérum dans la capsule ;
- Mettre la capsule dans le four à 530°C pendant 2 heures ;
- Peser la capsule après avoir séchage dans le dessiccateur.

▀ Mode de calcul

La teneur en cendre est calculée par la formule suivante :

$$TC \text{ (g/l)} = (M_1 - M_0) \cdot 1000/v$$

TC : la teneur en cendre (g/l) ;

M₀ : est la masse en gramme de la capsule vide ;

M₁ : est la masse en gramme de la capsule après la mise en four ;

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

4.3.2. Les analyses chimiques

4.3.2.1. Détermination de pH

Le pH représente l'acidité du lait à un moment donné. On le mesure habituellement à l'aide d'un pH-mètre (VIGNOLA *et al.*, 2002).

▀ Mode opératoire

- Etalonner le pH mètre à l'aide des solutions tampon à pH= 7±0,1 ;
- Régler la température de l'appareil à 20°C ;
- Introduire l'électrode dans le récipient contenant l'échantillon à 20°C ;
- Attendre la stabilisation du pH pour effectuer la lecture.

4.3.2.2. Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable du lactosérum peut être exprimé de plusieurs manière, on emploie exclusivement les degrés dornic (GUIRAUD, 1998).

$$1^{\circ}D=0.1g \text{ d'acide lactique/litre du lait}$$

▀ Mode opératoire

- Remplir la burette de Na OH (N/9) ;
- Mettre 10 ml du lactosérum doux dans un bécher, puis ajouter 5 gouttes de la solution phénolphthaléine et tirer jusqu'à l'apparition d'une couleur rose persistante ;
- Noter le volume de solution tirant utilisé en deuxième de ml.

▀ Mode de calcul

L'acidité du lactosérum comme celle du lait est donnée par l'expression suivante :

$$A=V1.10/V0$$

D'où :

A : acidité exprimé en (g) d'acide lactique par(1) du lactosérum ;

V₀ : le volume en (ml) de la prise d'essai ;

V₁ : le volume de la base NaOH (1/5) versé en (ml).

4.3.2.3. Détermination de la conductivité électrique

La conductivité électrique est liée à la présence d'ion en solution, elle augmente avec la température de la concentration en sels dissout (RAUDIER et MALLEIN, 1973).

▀ Mode opératoire

L'analyse s'effectue sur un prélèvement du lactosérum dont le volume doit être suffisant pour prolonger la sonde de conductimètre.

- Régler la température à 22°C ;
- Prendre la mesure affichée sur l'écran ;
- La conductivité électrique exprimée en micro siemens (us/Cm) à 20°C.

4.3.3 Méthodes d'analyses biochimiques

4.3.3.1. Dosage du lactose

Le dosage de lactose est partiellement hydrolysé, comme le cas de notre produit, il est nécessaire d'hydrolyser complètement le lactose en milieu acide et à chaud et de doser le galactose et le glucose formés par la méthode de **BERTRAND (LECOQ, 1965)**. Ce dosage comprend les étapes suivantes:

▀ Défécation du lactosérum

Dans une fiole jaugée de 200 ml, introduire dans l'ordre:

- 20 ml du produit (lactosérum) ;
- 2 ml d'hyéxanocyanoferrate de potassium à 150 g/l ;
- 2 ml de solution d'acétate de zinc à 300 g/l ;
- Environ 100 ml d'eau distillée ;
- Agiter, puis ajuster à 200 ml. Ajouter 2 ml d'eau distillée (afin de tenir compte du volume du précipité ;
- Agiter et laisser reposer pendant 15 minutes, puis filtrer.

▀ Hydrolyse du lactose

Introduire dans un ballon de 100 ml à col rodé 25 ml de liquide déféqué, ajouter 10 ml d'HCl (3N). Adapter le réfrigérant et plonger pendant 4 heures dans un bain marie bouillant. Neutraliser la solution acide par addition de NaOH environ 3 N (une quantité de 10 ml) Transvaser le contenu du ballon dans une fiole jaugée de 50 ml, rincer le ballon et compléter jusqu'à 50 ml.

▀ Oxydation du lactose et lavage du précipité Cu_2O

Dans une fiole d'erlenmeyer de 150 ml à col étroit, introduire:

- 20 ml de solution cuivrique (A) (Annexe N° 02)
- 20 ml de solution tartro-sodique (B) (Annexe N° 02)
- 10 ml de la dilution précédente (issu de l'hydrolyse) ;
- 10 ml d'eau distillée ;
- Agiter, porter à l'ébullition douce pendant 3 minutes exactement ;
- Laisser reposer dans une position inclinée, le surnageant doit être bleu ;
- Ensuite le lavage doit s'effectuer par décantation à l'eau distillée en évitant tout contact avec l'air ;
- Répéter l'opération de lavage plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'eaux de lavage incolore.

■ Réoxydation de Cu₂O et dosage du sel ferreux formé

- Laver la fiole à vide ;
- Dissoudre dans la fiole d'ermeneyer où il se trouve le précipite Cu₂O par 20 ml de lution ferrique acide (Annexe N° 02)
- Verser cette solution sur le filtre ;
- Rincer à deux reprises avec 10 ml de solution ferrique acide ;
- Faire passer sur le filtre, et rincer à l'eau distillée ;
- Enfin titrage par une solution de permanganate de potassium 0,1 N environ, jusqu'à coloration rose pâte, stable 10 à 20 secondes.

■ Expression des résultats

Correction de chute de burette, soit V la chute de burette, on V' la chute de burette corrigée de permanganate exactement 0,1 N

$$V' \text{ ml} = V \cdot T_n / 0,1$$

((T_n) de permanganate: 0,0959 N)

C'est en fonction du nombre de ml de permanganate de potassium trouve qu'on détermine la qualité du mélange de galactose et de glucose exprimes en mg (soit x mg). Ces x mg de mélange de galactose et de glucose correspondent à x mg de lactose, la quantité de lactose hydrate par litre de produit est de x grammes.

A l'aide de la table (Annexe N°03), on détermine la masse de lactose (en g) correspondant à la chute de burette corrigée (V').

4.3.3.2. Dosages des protéines par méthode de BRADFORD

Cette méthode permet de colorer les protéines (les liaisons peptidiques) par le bleu de coomassie (G250), l'intensité de la coloration augmente avec la concentration en protéines.

La courbe d'étalonnage est réalisée avec le BSA , la concentration de la solution est de 1mg/ml.

■ Mode opératoire

On prépare 18 tubes à essais : les premiers tubes contiennent la solution de BSA avec des concentrations différentes à celle de l'étalant (voir tableau N°08).

Tableau N°08 : Préparation des solutions pour la courbe d'étalonnage (Annexe N°03)

Concentration de l'échantillon (g/l)	La quantité de la solution BSA (µl)	La quantité d'eau distillée (µl)
0.05	100	100
0.33	100	200
0.25	100	300
0.20	100	400
0.16	100	500
0.14	100	600
0.12	100	700
0.11	100	800
0.10	100	900

Dans le reste des tubes à essai on a préparé à l'avance 100µl de chaque solution diluée et ajouter à chaque tube 1.9ml de réactif de BRADFORD et laisser les tubes pendant 10min avant la lecture sur le spectrophomètre, sans oublier la préparation du blanc (témoin) la solution du blanc est composé de:

- 100µl de l'eau distillée ;
 - 1.9µl de réactif de BRADFORD ;
 - On à régler l'appareil à une longueur d'onde égale 595nm ;
- Pour le dosage des protéines du lactosérum on à réaliser les étapes suivantes :
- Diluer 100fois l'échantillon tel que 50µl du lactosérum +5ml d'eau distillée ;
 - Agitation ;
 - 100µl du mélange +1.9µl de la solution de BRADFORD et laisser reposer pendant 10 min ;
 - La lecture sur le spectrophomètre.

4.4. Méthodes d'analyses microbiologiques

A l'arrivée au laboratoire près de bec benzène, on a préparés les suspensions mères de lactosérum.

4.4.1. Préparation de la suspension mère

Prendre 10 ml du lactosérum dans un flacon stérile et ajouter 90ml de TSE, agiter le mélange qui sert comme suspension mère(SM).

4.4.2. Dilution

■ But

Un produit peut contenir un nombre de bactérie très important très nombreuses, jusqu'au 290 000 par cm^3 . On comprendra facilement que 1 cm^3 de ce produit, placé dans un milieu de culture d'une boîte de Pétri, ne permettra pas de compter toutes les 290 000 colonies bactériennes. Seule une nappe rassemblant toutes les colonies sera visible, est donc nécessaire de diluer, par exemple au 1/1000, auquel cas on observera 290 colonies environ sur le milieu. On retrouvera ce problème en biochimie ou en sérologie (**LABIOUI et al, 2009**).

■ Mode opératoire

- A l'aide d'une pipette de 10 ml, prélever et introduire 9 ml de diluant dans chacun des 05 tubes de 20 x 200 mm ;
- Homogénéiser convenablement (manuellement ou mécaniquement) le produit à examiner en suspension ;
- Puis, à l'aide d'une pipette de 1ml stérile, prélever 1ml de produit. Aspirer doucement afin de ne pas dépasser le volume de 1ml ;
- Introduire aseptiquement le volume prélevé dans un tube contenant 9ml de diluant ;

Ainsi s'obtient une dilution au 1/10. Le tube est agité manuellement pour rendre la dilution homogène. Rejeter la pipette dans un récipient contenant de l'eau javellisée ;

- Puis, à l'aide d'une nouvelle pipette stérile ;
 - Prélever 1ml de la dilution au 10^{-1} ;
 - Introduire dans un deuxième tube contenant 9ml de diluant: ainsi s'obtient une dilution 10^{-2}
- Une troisième ,quatrième et cinquième opération s'effectuent de la même manière afin d'obtenir une dilution, au (-3) au (-4) et (-5) (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

4.4.3. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophile totaux à 30°C

Appelée aussi "Flore totale" ou nombre très approximatif des germes qui se trouvent dans les produits alimentaires. Ces micro-organismes peuvent par leurs effectif dégradent la denrée, altèrent sa qualité organoleptique, marchande et provoquent des troubles digestifs ou allergiques chez le consommateur. La flore peut être saprophyte ou pathogène, originelle ou apportée lors des manipulations (AFNOR, 1999).

■ But

Le dénombrement des germes totaux à 30°C reste la meilleure méthode permettant d'estimer l'indice de salubrité et de la qualité des aliments dans le contrôle industriel (BONNYFOY *et al.*, 2002).

■ Mode opératoire

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée. Compléter ensuite avec 12 à 15 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à $45\text{ °C} \pm 1$. Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée.

Laisser solidifier sur la pailleuse, puis rajouter une deuxième couche d'environ 5 ml de la même gélose, cette double couche à un rôle protecteur contre les contaminations diverses (AFNOR, 1999).

■ Incubation :

- Les boîtes seront incubées dans un couvercle en bas à 30 °C pendant 72 h avec:
- Première lecture à 24 h.
- Deuxième lecture à 48 h.
- Troisième lecture à 72 h.

■ Lecture:

Les colonies des GAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse.

Retenir les boites contenant moins de 300 colonies, au niveau de deux dilutions successive, il faut qu'une boîte renferme au moins 15 colonies.

Calculer le nombre N, de micro-organismes dénombrés à 30°C par ml ou par g de produit en tant que moyenne pondérée.

$$N = \sum C / (n1 + n2) d$$

Ou :

$\sum C$: somme totale des colonies comptées.

n1 : nombre des boites comptées dans la première dilution.

n₂ : nombre des boîtes comptées dans la deuxième dilution.

d : facteur de dilution à partir duquel les première dilution.

4.4.4. Recherche des coliformes totaux et fécaux (en milieu solide)

Les coliformes totaux sont des bacilles à Gram négatifs, aérobies ou anaérobies facultatifs, non sporulés, ne possèdent pas d'oxydase, capables de se multiplier en présence de sels biliaries et capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 à 48 h à une température comprise entre 36 et 37 °C, selon la norme ISO (**GUIRAUD, 1998**).

Les coliformes fécaux ont les mêmes caractères des coliformes totaux, mais ils sont capables de fermenter le lactose avec production d'acide et de gaz en 24 h à une température de l'ordre de 44 °C.

Rappelons également qu'*Escherichia coli* est un coliforme thermo tolérant qui produit en plus, de l'indole à 44 °C.

■ But

L'intérêt de la recherche et le dénombrement des coliformes totaux et contamination fécaux (*E.coli*), est de déterminer pour le produit testé une contamination fécale (**JOFFIN et JOFFIN, 1985**). Leur présence dans l'eau permet de déceler une contamination fécale (**BERTRAND, 2008**).

■ Mode opératoire

Selon **JOFFIN et JOFFIN(1985)**.A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée. Cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution car:

La première série de boîtes sera incubée à 37 °C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux.

– La deuxième série de boîtes sera incubée à 44 °C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.

– Compléter ensuite avec environ 15 ml du gélose VRBL fondue puis refroidie à $45\text{ °C} \pm 1$.

– Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour bien mélanger la gélose à l'inoculum.

– Laisser solidifier les boîtes sur la paillasse, puis couler à nouveau environ 5 ml de la même gélose.

■ Incubation :

- ✓ Les boîtes de pétri seront donc incubées couvercle en bas pendant 24 à 48 h à :
37 °C pour la première série (recherche des coliformes totaux).
- ✓ 44 °C pour la deuxième série (recherche des coliformes fécaux).

■ Lecture:

Les colonies des coliformes totaux et fécaux apparaissent en masse sous forme de petites colonies de couleur rouge foncé et de 0,5 mm de diamètre.

4.4.5. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux :**■ But**

Les Streptocoques fécaux sont considérés comme un témoin de contamination fécale, entraîne très souvent une très forte protéolyse (AIT ABDELOUAHAB, 2001).

■ Principe

Les principes généraux de cette méthode sont ceux décrits dans l'exposé de la colimétrie en milieux liquides (GUIRAUD, 1998).

■ Mode opératoire

Le dénombrement des Streptocoques fécaux fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

– Test de présomption

A partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :

- 3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE D/C.
- 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.
- 3 fois 0,1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu ROTHE S/C.

Bien mélanger le milieu et l'inoculum.

■ Incubation

L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (BOURGEOIS et LEVEAU, 1994).

■ Lecture

Les tubes présentant un trouble microbien pendant cette période sont présumés contenir un streptocoque fécal et sont soumis au test confirmatif (RODIER et COLL, 2005).

– Test de confirmatif

Tout les tubes présentant une louche microbienne sur le milieu de Rothe se repiquent à l'anse bouclée sur des tubes de milieu de Eva Litsky, Placer les tubes à l'étuve à 37°C pendant 48 h.

▀ Lecture

Il y a présence de streptocoques fécaux lorsque le milieu de Eva Litsky est trouble avec ou sans dépôt blanchâtre ou muove (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

4.4.6. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

▀ But

Le dénombrement de cette flore fongique permet d'apprécier la capacité de conservation des produits laitiers (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

Le dénombrement consiste à déterminer le nombre des microorganismes présents par unité de volume de suspension (ml) ou par (g) de poids de matière analysée.

▀ Principe

Ces germes peuvent être dénombrés sur des milieux rendus sélectifs par acidification ou addition de substances antibactériennes (**CUQ, 2002**). Parmi ces milieux sélectifs OGA (**GUIRAUD, 1998**).

▀ Mode opératoire

On verse dans une boîte de pétri le milieu de culture préalablement fondu et refroidit à 45°C, on introduit dans la boîte de pétri 0,1 ml de la solution mère ou des dilutions décimale de 10^{-2} et 10^{-3} et on étale sur milieu sélectif en surface (**LARPENT, 1997**).

▀ Incubation

Les boîtes de pétri sont placées à l'étuve à 20- 25 °C pendant 5 jours (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

▀ Lecture

Ne retenir que les boîtes ayant entre 30 et 300 colonies (**LARPENT, 1997**).

Levures : les colonies présentent des morphologies différentes ainsi leur couleur peut être crème, blanche et leur texture mucilagineuse compact (**BOURGEOIS et al, 1990**).

Moisissures : colonies pigmentées, à l'aspect velouté plus ou moins proéminent (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

4.4.7. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus*

Les *Staphylococcus aureus* appartiennent à la famille de Micrococcaceae. Ce sont des cocci à Gram positif, non sporulés, aéro-anaérobies facultatifs, immobiles, halophiles, se divisent en plusieurs plans en formant des amas irréguliers, coagulase, protéase et catalase positives. (BOURGEOIS C.M et al., 1996), il est moins fréquemment retrouvé mais il est pathogène, le nom d'espèce (aureus signifie « or ») vient que sur gélose, les colonies de *S.aureus* sont pigmentées (couleur dorée) alors que les autres espèces forment des colonies blanches (SCHAECHTER et al., 1999).

■ But

L'étude des staphylococcus aureus permet de savoir si le produit présente des risques pour le consommateur ils sont les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique causant l'intoxication alimentaire (GUIRAUD, 1998).

■ Mode opératoire

On utilise le milieu Baird Parker

■ Préparation du milieu d'enrichissement

Après avoir fondue un flacon contenant 100ml de gélose Baird Parker, on le refroidit dans un bain d'eau à 45°C et on ajoute 5ml d'une solution de jaune d'œuf au Tellurite de potassium à 1%.

Porter 0.1ml de la solution mère, répartir en surface dans une boîte qui contient le milieu Baird Parker, puis étaler à l'aide d'un étaleur.

■ Incubation

L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 h.

■ Lecture

Compter les colonies noires, brillantes, entourées d'une zone transparente, de taille 0.5 à 2 mm

4.4.8. Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfito réducteurs*

Les Anaérobies Sulfite – Réducteurs sont des bactéries anaérobies strictes, de forme bacille à gram positif, catalase négative, mobiles, sporulés, appartenant à la famille des Bacillacea, hôte habituel du tube digestif de l'homme, leurs spores ont une résistance considérablement dans les milieux naturels, ils ont un pouvoir de détruire le sulfite de sodium et donner en présence du fer, du sulfure de fer d'où une coloration noire. (BOURGOIE C.M et al., 1996)

■ Mode opératoire

– Préparation du milieu

Selon **SCHAECHTER et al., (1999)**. Au moment de l'emploi, faire fondre un flacon de gélose viande foie (VF), le refroidir dans un bain d'eau à 45 °C puis ajouter une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfate de sodium. Mélanger soigneusement et aseptiquement.

Le milieu est ainsi prêt à l'emploi, mais il faut le maintenir dans une étuve à 45 °C jusqu'au moment de l'utilisation.

■ Enrichissement

Les tubes contenant les dilutions 10-2 et 10-1 seront soumis :
D'abord à un chauffage à 80 °C pendant 8 à 10 min, Puis à un refroidissement immédiat sous courant d'eau, dans le but d'éliminer les formes végétatives et garder uniquement les formes sporulées.

A partir de ces conditions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles de 16 mm de diamètre, puis ajouter environ 15 ml de gélose VF prêt à l'emploi. Laisser sur la paillasse pendant 30 min. (**BOURGOIE C.M et al., 1996**)

■ Incubation

Ces tubes seront ainsi incubés à 46 °C pendant 16, 24 ou au plus tard 48 h.

■ Lecture

Les colonies des Anaérobies Sulfite – Réducteurs apparaissent de couleur noire. La première lecture doit se faire impérativement à 16 h, car, d'une part ces colonies sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse est à refaire. D'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussée en masse et d'un diamètre supérieur à 0,5 mm (**JOFFIN et JOFFIN, 1999**).

Dans le cas où il n'y a pas de colonie caractéristique ré incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 h voire 48 h (**JOFFIN et JOFFIN, 1999**).

4.4.9. Recherche de *Salmonella*

Les salmonelles sont des entérobactéries bacilles à gram négatif, mobiles, anaérobies facultatif à forte contagiosité et mobiles grâce à une ciliature péritriche (ANONYME, 2009)

■ But

La recherche des salmonelles permet de savoir si le produit est propre à consommer ou non (LEVEAU et BOUIX, 1993), car les salmonelles sont responsables de gastro-entérites, de toxiinfections alimentaires, des fièvres typhoïde et paratyphoïde (ANONYME, 2009).

■ Mode opératoire

La recherche de *Salmonella* nécessite une prise d'essai à part.

■ Pré-enrichissement non sélectif

La prise d'essai du produit(en général 25g parfois 10g) est placée dans un milieu non sélectif (eau péptonée) de façon à ce que la dilution (soit au 1/10(soit un volume de 225cm³)) (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

Incuber la bouilleensemencée à 37°C pendant 16 heures au moins et 20 heures au plus (RODIER et COLL, 2005)

■ Enrichissement

Les bouillons d'enrichissement sontensemencés : avec 10 cm³ de la culture pré enrichissement dans 100 cm³ de bouillon sélénite-cystine.

L'incubation sera faite à 37°C pendant 24 heures.

■ Isolement

-Prélèvement une petite goutte à la surface du milieu d'enrichissement sélectif(SS).

-Déposer au bord de la boîte, pratiquer une strié de quelques centimètres puis des stries perpendiculaire jusqu'au bout de la boîte, l'espacement des stries sera 5mm environ (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

■ Lecture

Selon MARCHAL et BOURDON (1973).Les milieux sont examinés après 24 heures puis en cas de résultat négatif après 48h (jamais après un temps plus long). Les colonies lactose négatives donc suspectes, dans le cas de la recherche des salmonella sont rouges. Les colonies lactose positives sont jaune verdâtres.

4.4.10. Recherche et dénombrement des *Streptococcus thermophilus*

■ But

Ces espèces sont utilisées en industrie laitière pour la fabrication de certains produits laitiers, mais aussi les espèces qui peuvent les altérer.

■ Principe

La recherche est favorisée par l'emploi de la gélose M 17.

■ Mode opératoire

- Préparer et inoculer autant de boîtes de Pétri qu'il y a de dilutions à examiner (par exemple pour le yaourt, dilution - 5 à - 7 ;
- Couler ensuite la gélose M 17 fondue au préalable et refroidie à 45-46 °C. Bien homogénéiser le milieu avant son utilisation ;
- Mélanger l'inoculum au milieu. Laisser refroidir.

■ Incubation

Placer les boîtes de Pétri à l'étuve à 37 °C pendant 48 h (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

■ Lecture

Les *Streptococcus* se développent en donnant des colonies rondes ou lenticulaires à contours réguliers blanc crème.

■ Identification

- **Test de catalase** (Annexe N°04).
- **Coloration de Gram** (Annexe N°04).

■ Principe

Coloration de Gram permet de différencier les bactéries à Gram (+) des bactéries Gram (-) au sein du prélèvement.

Technique (Annexe N° 04).

■ Résultat

Au terme de ce processus, les bactéries à Gram (-) apparaissent roses et les bactéries à Gram (+) violettes. Afin de déterminer leurs caractères culturels (couleur, disposition forme et aspect), les colonies sont observées à la loupe binoculaire. Après la coloration de Gram, les cellules sont examinées au microscope optique (x 100). (**LEYRAL et VIERLING, 2001**).

4.4.11. Recherche et dénombrement des *Lactobacillus Bulgaricus*

▀ Principe

Le dénombrement des *Lactobacillus Bulgaricus* suit les exigences imposées par la norme AFNOR V 08-030. Les ensemencements sont réalisés sur une gélose Man, Rogosa et Sharpe (MRS) en utilisant les dilutions décimales obtenues à partir de la suspension mère.

▀ Mode opératoire

- Préparer des dilutions de 5 à – dilution 7 ;
- Introduire 1 ml de chacune des dilutions dans une boîte de Pétri ;
- Couler ensuite la gélose MRS fondue au préalable ci refroidie à 45-46 °C ; Bien homogénéiser le milieu avant son utilisation.

▀ Incubation

Les boîtes de pétri sont incubées à 30 °C pendant 48 à 72h (**ADIV et OFIVAL, 2004**).

▀ Lecture

Les colonies très petites, mais peuvent être nombreuses. Elles ont une surface plutôt rugueuse et des bords irréguliers (**OLDS, 1979**).

▀ Identification

- **Test de catalase** (Annexe N°4).
- **Coloration de Gram** (Annexe N°04).

Chapitre II :

Résultats et discussion

Pour caractériser les différents échantillons du lactosérum doux prélevés au niveau du laboratoire, l'évolution du changement des paramètres physicochimiques et à été suivi à des différentes températures 4, 25,35°C pendant des périodes étalées sur 1, 2,3 et 7 jours. Ainsi, les résultats obtenus sont recueillis dans les figures suivantes :

1. Résultats des paramètres physico-chimiques

1.1. La densité

Au regard des résultats escomptés (figure N°03), les valeurs de la densité des échantillons conservés au cours de 1, 2, 3 et 7 jours se rapprochent à celle trouvés par **ADDA ,2002** (1.026).Par contre on remarque une diminution de la densité de tous les échantillons conservés au cours de 7 jours.

La densité dépend grandement de la teneur en matière sèche, matière grasses, et aussi de la température (**BOUDIER J F et LUQUET F M ., 1980**), en cas de mouillage la densité diminue (**EMILI, 2007**).

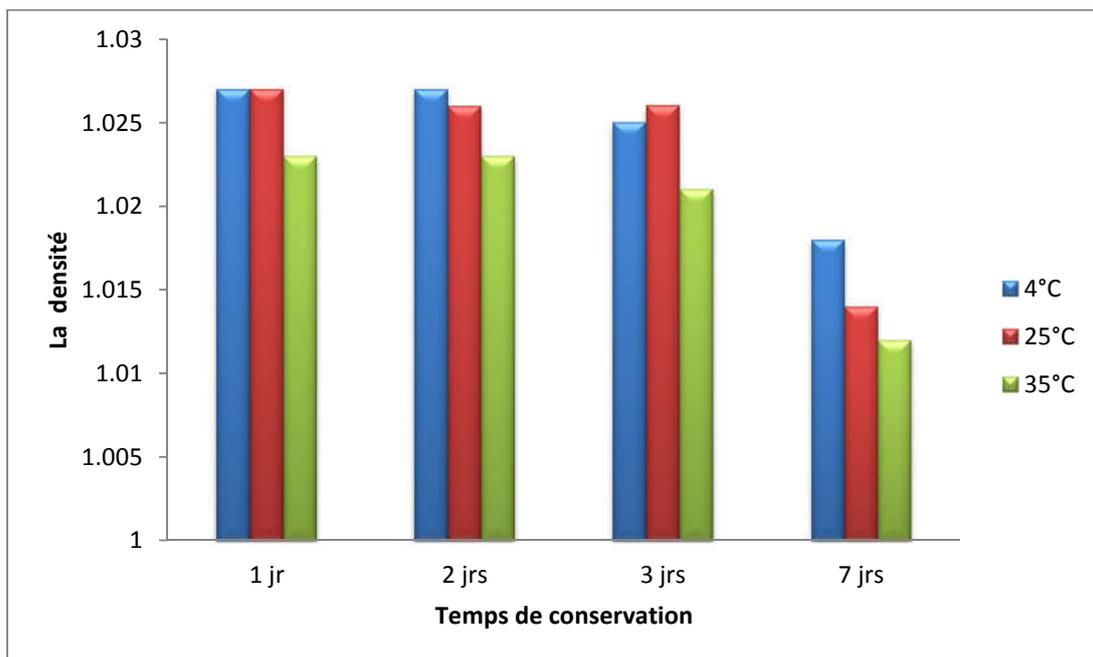


Figure N°03 : l'évolution des valeurs de densités en fonction de la température au cours du temps

1.2. La viscosité

Il se révèle des résultats montrés dans la figure N° 04 que les valeurs de la viscosité des échantillons conservés à 4°C pendant les 1, 2, et 3 jours et à 25°C pendant les 1 et 2 jours se rapprochent entre elles. Notons que les valeurs de la viscosité des autres échantillons sont diminuées par rapport aux autres.

La viscosité est due à la présence des protéines et de matière grasses, diminue lorsque la température augmente. La viscosité varie selon la race et l'alimentation (EMILIE, 2007).

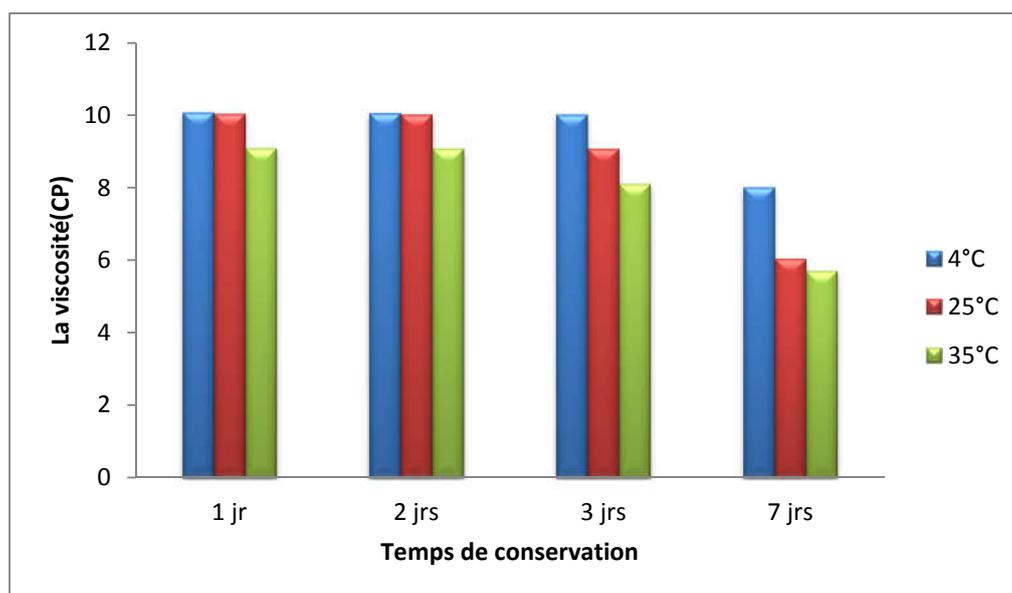


Figure N° 04 : l'évolution des valeurs de la viscosité en fonction de la température au cours du temps

1.3. Matière sèche

La figure ci-dessous nous montre que les teneurs en matière sèche de nos échantillons diminuent au cours du temps et aux différentes températures d'analyse. Ces teneurs varient d'une température à l'autre tel pour 4°C avec une valeur maximale de 54,78 et une valeur minimale estimée à 50,7g/l, tandis qu'à 25°C elles varient entre 48,22- 40,26g/l ainsi à 35°C la diminution des valeurs obtenues continue dont on obtient 42,52- 40,13g/l au cours des deux temps mis en évidence le 1^{er} et le 7^{ème} jour respectivement.

D'après ECK (1987), La variation de la matière sèche dépend de l'origine de lactosérum c'est-à-dire selon la composition initiale du lait.

La matière sèche est abaissée (inférieure à 75g/l) dans les laits mouillés avec de l'eau ou du lactosérum de fromagerie. (GAUDIER ET RENAULT, 1961)

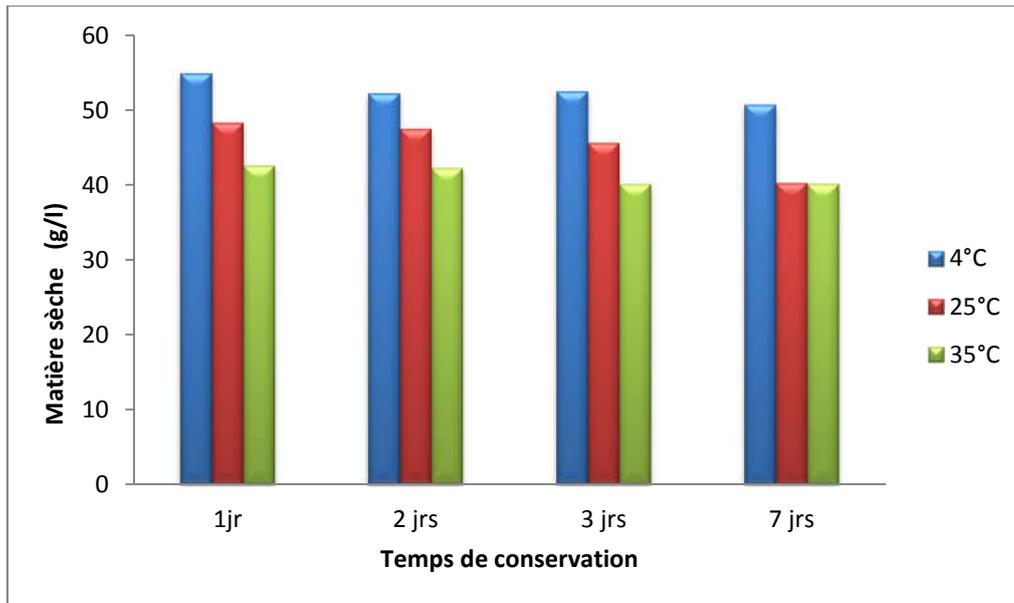


Figure N°05 : l'évolution des valeurs de la matière sèche en fonction de la température au cours du temps

1.4 .L'indice de réfraction

Il se ressort de l'examen des résultats montrés dans la figure ci-dessous (figure N°06) que les valeurs d'indice de réfraction en baisse continue dans tous les cas de températures (4,25 ,35°C).

L'indice de réfraction varie généralement suivant la composition chimique des corps gras et de la température du lactosérum (ADRIAN et al, 1995).

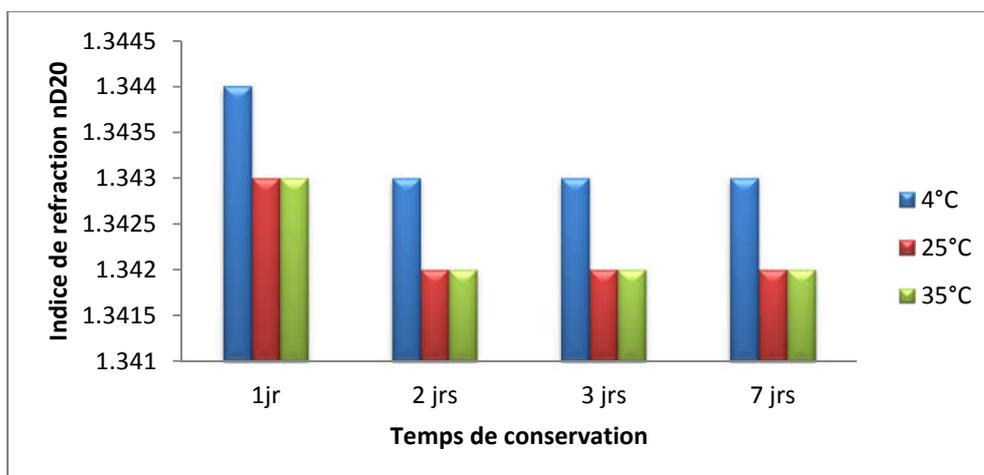


Figure N°06 : l'évolution des valeurs l'indice de réfraction en fonction de la température au cours du temps

1.5. Taux de cendre

La figure N°07 révèle que les valeurs moyennes des cendres trouvées au niveau des échantillons conservés à 4, 25, 35°C pendant 1jour sont respectivement (6.7-6.5-6.2g/l), ces valeurs se rapprochent entre elles et au cours des autres jours de conservations ces valeurs commencent à diminuées.

Généralement les taux de cendres du lactosérum varient en fonction de la technologie d'obtention, ainsi que l'acidification du lait provoque une déminéralisation plus importante du caillé (ADRIAN et al, 1995) ; le taux de cendre vari en fonction de la teneur du lactosérum en matière minérale.

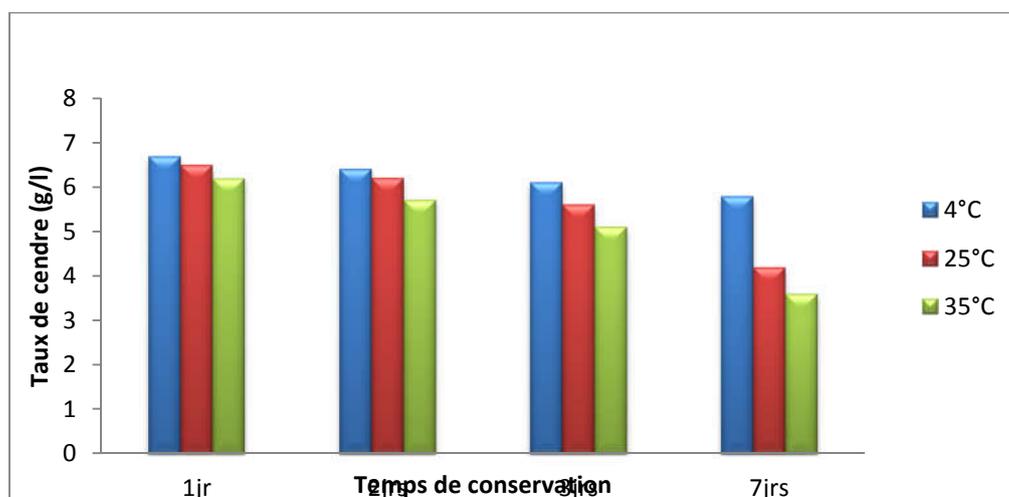


Figure N°07 : L'évolution des valeurs de taux des cendres en fonction de la température au cours du temps

1.6. PH

Les valeurs du pH prennent une ampleur décroissante pendant les jours de suivi en fonction des différentes températures prescrites (4,25 et 35°C).

L'évolution du pH des échantillons faite apparaitre trois intervalles de la variation des valeurs :

- Conforme à la norme à une température de 4°C pendant 1,2 et 3 jours.
- Aux alentours de la norme (4°C/7jours ; 25°C ,35/1 et 2 jours).
- Inférieur à la norme (25,35°C/7jours).

Ces résultats semblent normaux puisqu'au cour du temps et à des hautes températures la dégradation des composants du lactosérum s'accroît.

Le pH permet d'exprimer le caractère acide ($\text{pH} < 7$) ou basique ($\text{pH} > 7$), la baisse de pH au-dessous d'une valeur égale à 4, n'est pas souhaitable, car selon **LACROSSE** cité par **ZOUACHI (1983)**, elle pourrait affecter négativement le nombre de bactéries lactiques vivant dans le produit et elle est favorable pour le développement des moisissures et des bactéries anaérobies facultatives.

Cette diminution du pH graduelle pour les différents échantillons s'explique par la production de l'acide lactique par les bactéries lactiques.

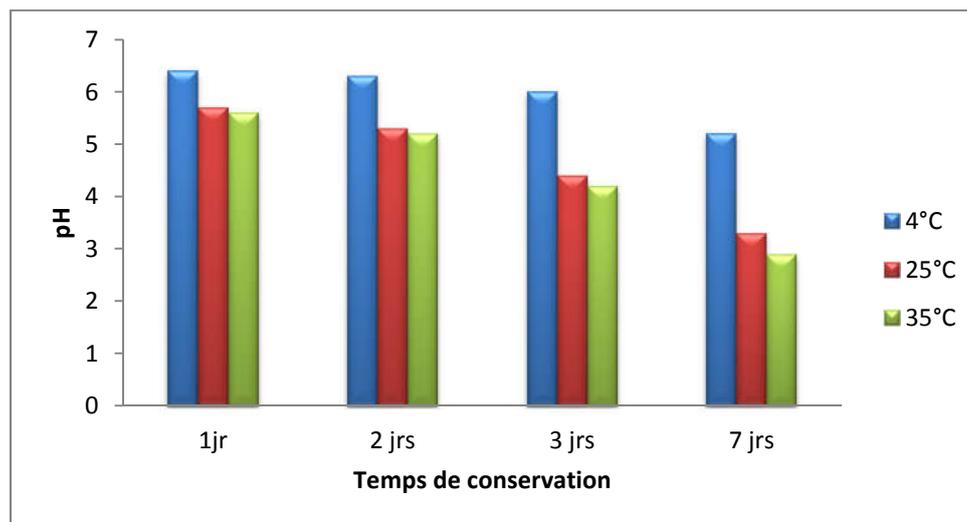


Figure N°08 : l'évolution des valeurs du pH en fonction de la température au cours du temps

1.7. L'acidité

Il est à noter également que pour les échantillons conservés à 4°C, l'évolution de l'acidité au cours de la conservation reste dans l'ensemble conforme aux normes requises (\leq à 18°D) et ne dépassent que rarement les valeurs souhaitées (20°D/7jrs), il n'en n'est pas de même pour les échantillons conservés à 25/1 et 2 jrs ; 35°C/1 jr, ou les normes relatives à l'acidité sont dépassés. Notons que les normes des autres échantillons sont largement dépassées (figure N°09).

Selon **LINDEN** et **LORIENT(1994)**, l'acidité dépend étroitement du mode de la coagulation, elle est inférieure à 18°D pour le lactosérum doux.

Le pH et l'acidité dépendent de la teneur en caséine, en sels minéraux et en ions (**ALAIS, 1984**) et des conditions hygiéniques lors de la traite, de la flore microbienne totale et de son activité métabolique (**MATHIEU, 1998**)

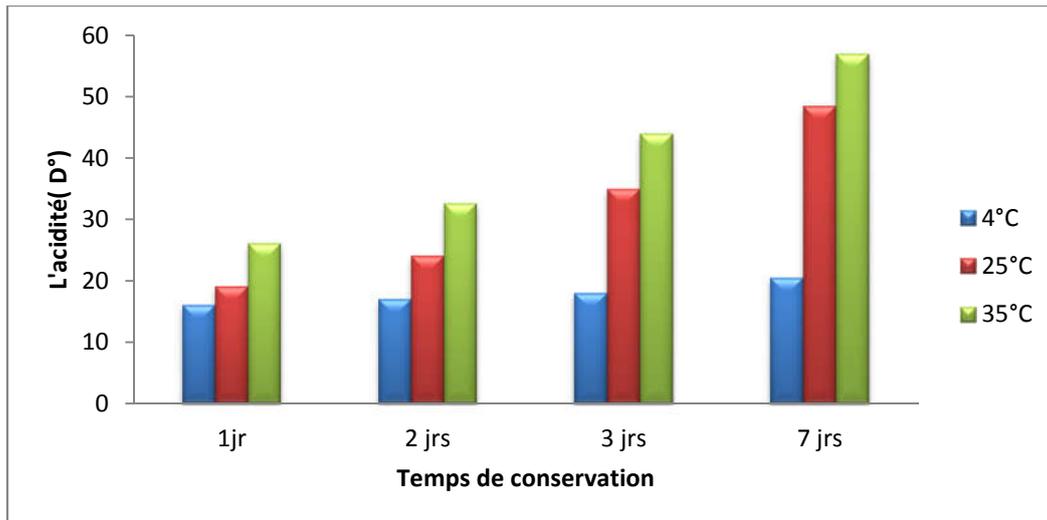


Figure N°09 : L'évolution des valeurs de l'acidité en fonction de la température au cours du temps

1.8. Conductivité électrique

D'après la figure N°10, nous avons noté qu'il y a une augmentation des valeurs de la conductivité électrique de nos échantillons au cours des différentes températures et jours de conservation.

La conductivité électrique est liée à la présence d'ions en solution, elle augmente avec la température et la concentration en sel dissout. (RAUDIER ET MALLEIN, 1973)

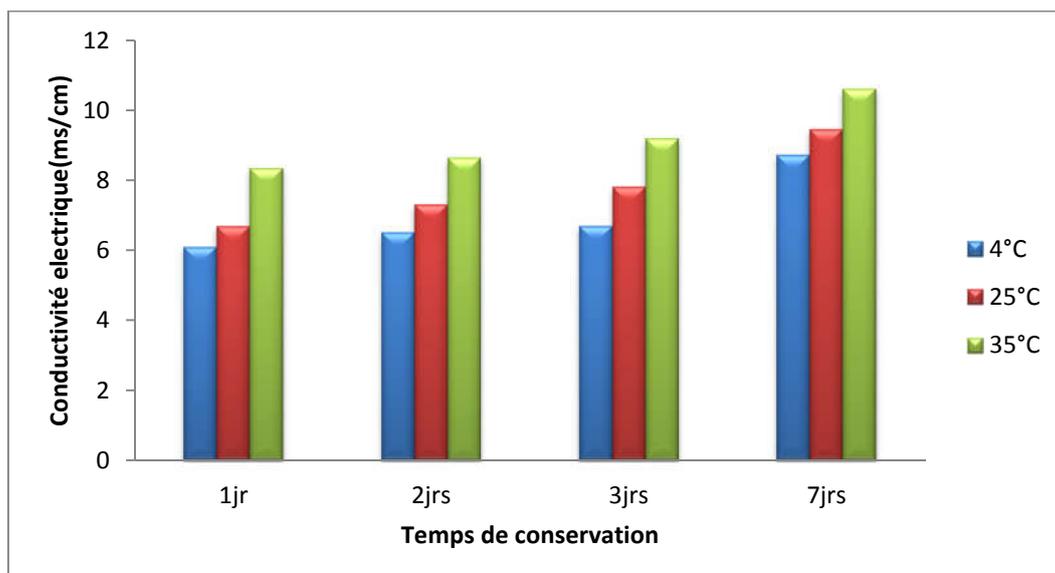


Figure N°10 : l'évolution des valeurs de la conductivité électrique en fonction de la température au cours du temps

1.9. Teneur en lactose

D'après la figure N°11, les teneurs en lactose varient de la valeur la plus importante estimée à 35.7 g/l pour l'échantillon conservé à 4°C du 1^{er} jour et une valeur minimale estimée à 12g/l dans le cas 35°C pendant 7 jours. Donc sur ceux il est bien constaté que ces valeurs varient sensiblement d'une manière décroissante d'un jour à un autre pour chaque échantillon en fonction du temps et des différentes températures de conservation.

Le lactose est le sucre principale du lait sa teneur moyenne est de 45-50g/l (VEISSEYER, 1975).la diminution des teneurs en lactose due à la transformation continue du lactose (glucose-galactose) en acide lactique.

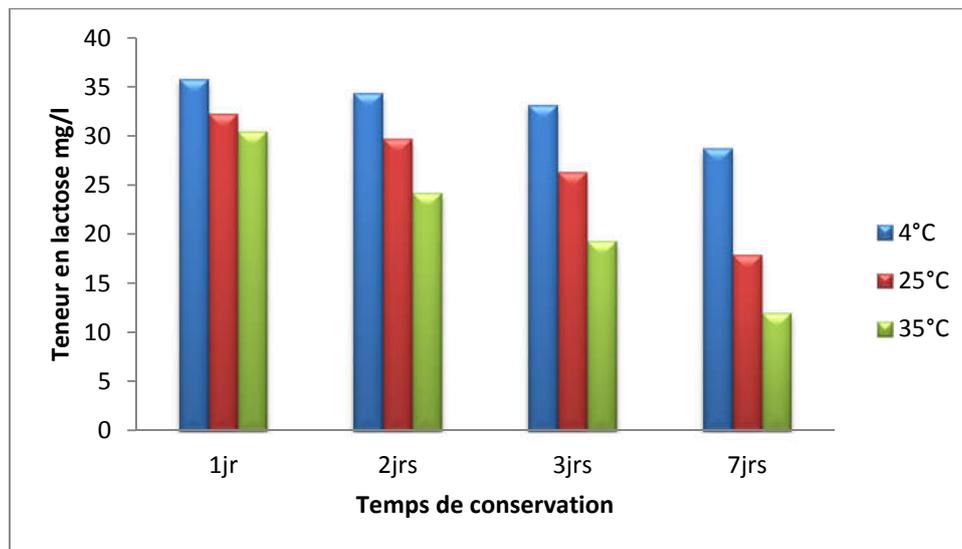


Figure N°11 : l'évolution des teneurs en lactose en fonction de la température au cours du temps

1.10. Teneur en protéines

Il se révèle de la figure N°12 que le taux des protéines des échantillons analysés le plus élevé est constaté à la température 4°C avec des valeurs qui varient de (7.3, 7.1, 6.7 à 5.3g/l) pendant (1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème} et 7^{ème} jour) respectivement; tandis que pendant les autres jours à différentes températures la contenance en protéines de ces échantillons diminue de plus en plus jusqu'au 7^{ème} jour et qui s'estime à d'une haute valeur à la plus basse de 6.2 g/l à 3.8g/l et de 5.4g/l à 1.4g/l aux températures de 25°C et 35°C respectivement. Cette différence remarquée par une diminution de taux des protéines à des différentes températures au cours du temps s'explique aussi par la présence de la charge microbienne qui aboutit à leur dégradation massive.

Ainsi selon **MATHIEU(1998)**.La stabilité des protéines dépend du pH, la force ionique et la température.

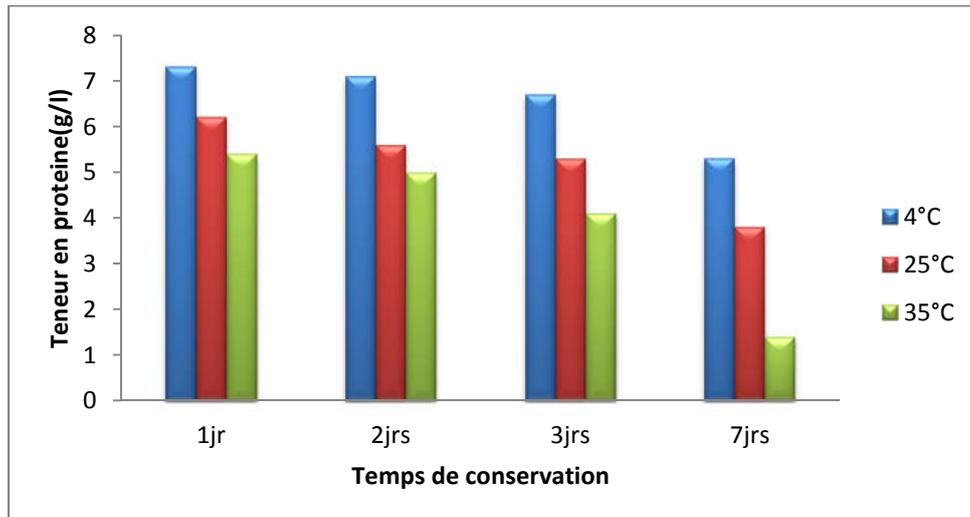


Figure N°12 : L'évolution des teneurs en protéines en fonction de la température au cours du temps

2. Les résultats d'analyses microbiologiques

Les résultats des analyses microbiologiques des échantillons du lactosérum analysés exprimés en UFC/ml sont présentés, dans le tableau N°09. Ils représentent la charge en différentes microflores recherchées.

Tableau N°09 : Expression des résultats microbiologique

		Nombre de colonies UFC/ml								
T°C	Jours	Aérobies mésophiles	CT	CF	S aureus	S féciaux	CSR	S féciaux	salmonella	Levures et moisissures
4°C	1	1.01×10^2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1.5×10^2
	2	8.1×10^2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1.8×10^2
	3	9.72×10^2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	2×10^2
	7	2×10^2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	6.2×10^2
25°C	1	8.83×10^2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	2.6×10^2
	2	4×10^3	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	5.5×10^2
	3	9.4×10^4	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1.3×10^3
	7	2×10^5	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	8.7×10^4
35°C	1	2.82×10^3	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	3.2×10^2
	2	7.091×10^5	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	5.3×10^2
	3	In (7.091×10^5)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	6.7×10^3
	7	In (7.091×10^5)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	7.1×10^5

D'après **GUIRAUD (1998)**. Les échantillons sont classés en deux catégories :

- **Catégorie satisfaisante**, si le résultat d'analyse est inférieur à la norme; le produit est propre à la consommation.
- **Catégorie non satisfaisante**, lorsque le résultat d'analyse est supérieur à la norme; le produit est déclaré impropre à la consommation.

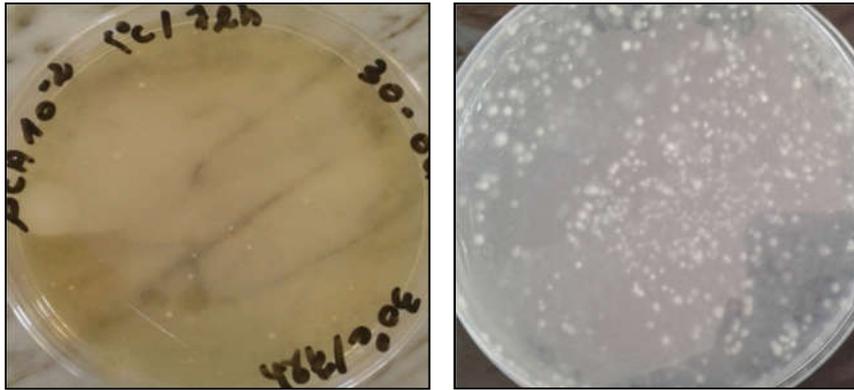
2.1. Les aérobies mésophiles

Le dénombrement des aérobies mésophiles aux différents points de conservation de nos échantillons attestent que notre lactosérum est de bonne qualité et ne dépasse pas les normes lors de la bonne conservation 4°C/1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème} même au 7^{ème} jour dont cette charge est dénombrée à environs (2×10^2 UFC/ml). Mais à 25°C et 35°C le nombre de ces aérobies mésophiles commence à augmenter en fonction du temps de conservation où ce nombre a dépasser les normes (supérieur à 10^5 UFC/ml) à 25°C/7jours (2×10^5 UFC/ml) et à

35°C/2jours (7.091×10^5 UFC/ml) et de 3 et 7jours les chiffres sont incomptable ($+ 7.091 \times 10^5$ UFC/ml).

Une charge microbienne nettement inférieure aux normes peut s'expliquer par les bonnes pratiques d'hygiène lors de la traite et la manipulation du lait, ainsi que les bonnes conditions hygiéniques d'élevage et de production (JEANTET, et COLL, 2008).

L'amélioration de l'hygiène de la traite, de la collecte et la conservation rapide au froid permettraient de réduire la charge microbienne (FAO, 2004).



Photos N°01 : Résultats de recherche des aérobies mésophiles par milieu PCA

2.2 .Les Coliformes

D'après le tableau N°09, il est bien lisible que les échantillons du lactosérum doux analysés présentent une absence totale des coliformes totaux et fécaux.

La norme algérienne concernant les coliformes fécaux étant fixée à 10^3 UFC/ml, nous constatons que la contamination du lactosérum par ces germes est nettement absente et que tous les échantillons présentent une conformité à la norme. Leur absence signe une bonne hygiène (JOFFIN et JOFFIN ,1999).

Leur présence dans un aliment cuit ou pasteurisé signifie que la contamination est postérieure au traitement thermique. Il reste alors à trouver l'origine de la contamination (manipulateur, plan et instruments de travail, contact avec des produits crus) (CUQ, 2002).



Photo N°02 : Résultats de recherche des coliformes par milieu VRBL**2.3. Streptocoques fécaux**

L'absence totale des streptocoques fécaux dans tous les échantillons, Peut s'expliquer par les bonnes pratiques d'hygiène lors de la traite, ainsi que les bonnes conditions hygiéniques d'élevage et de production, et on constate une absence totale des Streptocoques fécaux du lactosérum due à un traitement thermique efficace pendant sa préparation.

Leur présence dans le produit pourrait indiquer aussi une défectuosité du traitement thermique (PETRANSXIENE et LAPIED, 1981).

L'absence de la contamination par les germes d'origine fécale d'un produit affirme l'efficacité du traitement thermique et aussi la propreté générale au cours de la fabrication (GUIRAUD, 2003).

**Photo N03 : Résultat de recherche des streptocoques fécaux par milieu Rothe****2.4. Levures et moisissures**

D'après le tableau N°09, le nombre des levures et moisissures recherchés lors de la conservation de nos échantillons montre que les échantillons qui sont conservés à de bonnes conditions n'ont pas dépassés les normes (5°C/1, 2, 3 et 7 jours) de 1.5×10^2 UFC/ml jusqu'à 6.2×10^2 UFC/ml respectivement .par contre le nombre de levures et moisissures des échantillons conservés à 25 et 35°C à dépassé les normes de 1.3×10^3 UFC/ml à 6.7×10^3 UFC/ml au bout du 3eme jour et de 8.7×10^4 UFC/ml à 7.1×10^5 Au cours du 7^{eme} jour de conservation.

Levures et moisissures ont un pH optimal situé entre 4,5 et 6,5 (9).ce qui leur permet de se développer parfaitement dans les produits laitiers et de leur provoquer des altérations.

En effet, selon **BOURGEOIS et LARPENT** .De nombreuses moisissures ne sont pas gênées par l'acidité et disposent, avec le saccharose et le lactose 'résiduels, d'une source abondante d'énergie.

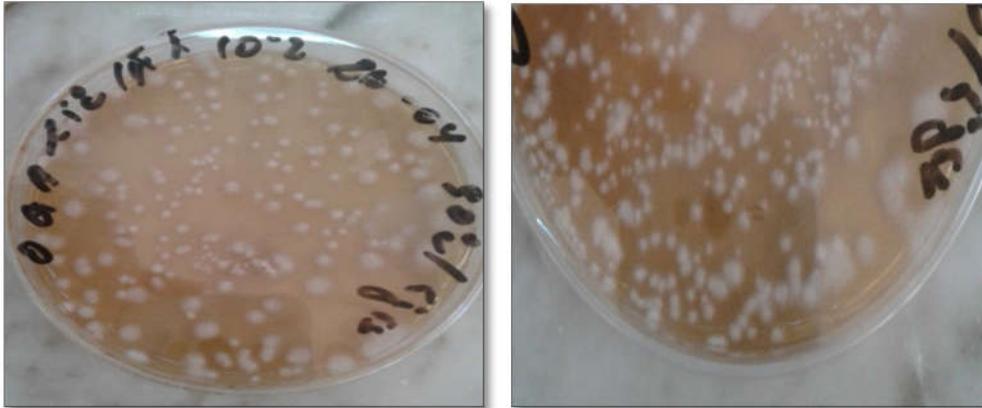


Photo N°04 : Résultats de recherche de levures et moisissures par milieu OGA

2.5. Staphylococcus aureus

Les résultats montrés dans le tableau N°09, présentent une absence totale dans tous les échantillons. Cela veut dire que le lactosérum conforme à la norme. Cette conformité est l'œuvre d'une bonne hygiène du personnel chargé à la traite.

D'après **DE BUYSER (1980)**,.La présence de ces germes dans le lactosérum ne peut constituer qu'une présomption de danger pour le consommateur. Seule la mise en évidence des entérotoxine peut affirmer la responsabilité de l'aliment d'une toxi-infection à Staphylococcus.



Photo N°05 : Résultats de recherche de Staphylococcus aureus par milieu BP

2.6. Clostridium sulfito-réducteur à 46°C

Les résultats présentés dans le tableau N°09, montrent une absence totale de Clostridium sulfito-réducteur dans tous les échantillons analysés.

D'après **PETRANSIENE et LAPIED, (1981)**. L'absence totale de ce genre de microorganisme dans le produit laitier analysé montre que la nourriture des vaches est dépourvue d'ensilage ou des balles rondes enrubannées mal conservées.

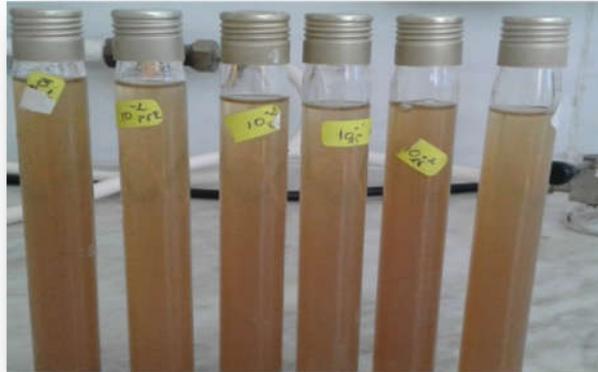


Photo N°06: Résultats de recherche de clostridium sulfite reducteur par milieu VF

2.7. Salmonelle

D'après les résultats précédents mentionnés dans le tableau N°09 On note une absence totale dans tous les échantillons répond aux normes, ce qui indique que notre lactosérum est de bonne qualité microbiologique, hygiénique.

Enfin, on peut dire que la combinaison d'un traitement thermique efficace, d'une bonne qualité microbiologique de matière première et d'une préparation dans des bonnes conditions opératoires et hygiéniques offre une meilleure qualité microbiologique aux produits.

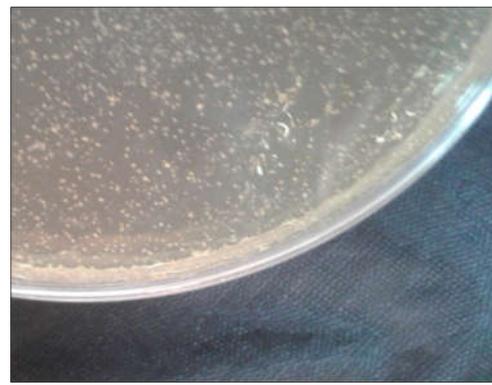
2.8. Les bactéries lactiques

D'après le tableau ci-dessus on note que le nombre des deux bactéries (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) augmente au cours du temps et des différentes températures avec une valeur minimale de $(4,14. 10^6 \text{ UFC/ml}; 2,2. 10^6 \text{ UFC/ml})$ à une valeur maximale de $(67,4.10^6. \text{ UFC/ml}; 26,6. 10^6 \text{ UFC/ml})$ respectivement. Notons que le nombre des *Streptococcus thermophilus* a été diminué à 35°C au bout du 7^{ème} jour jusqu'à $43,8. 10^6 \text{ UFC/ml}$.

La présence de la flore totale dans le lait peut s'expliquer par l'existence d'une flore originale qu'il s'agit des *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (**Guiraud J- P., 2003**).

Tableau N°10 : Expression des résultats des bactéries lactique

T°	4°C				25°C				35°C			
Jours	1	2	3	7	1	2	3	7	1	2	3	7
ST(10 ⁶) (UFC/ml)	4,14	6,67	9,61	12,2	17,4	33,05	47,2	52,6	47,3	52,6	67,4	43,8
LB(10 ⁶) (UFC/ml)	2,2	4,4	5,3	7,3	4,7	9,2	13,9	19,5	6,7	9,3	12,7	26,6

**Photo N°07** : Les résultats des L.B bulgaricus sur le milieu MRS**Photo N°08** : Les résultats des S.T sur le milieu M17

Conclusion

Conclusion

Les effluents produits par les unités de production du lait et de fromage sont parmi les rejets les plus polluants pour l'environnement. Cette charge polluante est due à la composition organique et minéralogique de ce type d'effluent. Ceci dit, le lactosérum qui est un des rejets principal des unités laitières, qui représente le 1/3 des effluents, se compose principalement de l'eau, le lactose, en plus des protéines, les minéraux et peu de la matière grasse.

Cette étude a porté sur l'effet de la température en fonction du temps de conservation (4°C, 25°C, 35°C/1, 2, 3 et 7 jours) sur la qualité physico-chimique et microbiologique du lactosérum doux préparé à partir du lait de vache pasteurisé issu de la région de (Sougueur-Tiaret).

Les résultats des analyses physico-chimiques de notre lactosérum doux (la densité, la viscosité, matière sèche, indice de réfraction, Taux de cendre, PH, , teneur en lactose, Teneur en protéine) ont été diminués au cours du temps à des différentes températures de conservation 4°C, 25°C, 35°C/1^{er}, 2^{ème}, 3 et 7^{ème} jour dont les paramètres les plus influencés de ce traitement sont le pH, le lactose et le taux de protéines avec des valeurs maximales et minimales classées de l'ordre de (6.4 à 2.9; 35.7 à 12g/l; 7.3 à 1.4g/l) respectivement.

Par contre l'acidité mesurée et la conductivité électrique pour l'ensemble de nos échantillons augmentent dans toutes les conditions citées ci-dessus (16°D avec 6.1 us/Cm pour l'échantillon conservé à 4°C/1^{er} jour à 57°D avec 10.6 us/Cm pour l'échantillon conservé à 35°C/7^{ème} jour).

Les résultats des analyses microbiologiques des échantillons du lactosérum doux à (4°C /1, 2, 3 et 7 jours ; 25°C/1,2 et 3 jours ; 35°C/1 jour présentent une charge microbienne en Germes aérobies mésophiles totaux conforme à la norme. Au vu des normes algériennes (**JORA, 1998**), par contre les autres échantillons dépassent les normes.

Le nombre des levures et moisissures contenus dans les échantillons qui sont conservés à de bonnes conditions 4°C à n'importe quel jour sont conformes aux normes prescrites par le Journal Officiel Algérien avec une valeur maximale enregistrée de 1.5×10^2 UFC/ml pendant le premier jour et une valeur maximale estimée à 6.2×10^2 UFC/ml pendant le 7^{ème} jour.

Par contre le nombre de levures et moisissures des échantillons conservés à de hautes températures 25°C et 35°C s'élève dès les premiers jours de conservation jusqu' il atteint 8.7×10^4 UFC/ml et 7.1×10^5 UFC/ml au bout du 7^{ème} jour pour les deux cas de température respectivement.

Pour les bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacilles bulgaricus*) leurs nombre commence à augmenter dans toutes les conditions de conservation.

Concernant la recherche des germes pathogènes (coliformes totaux fécaux, streptococcus fécaux, staphylococcus aureus, clostridium sulfito-réducteur et de salmonelle), nos résultats ont révélé l'absence totale de ces germe dans tous nos échantillons.

En fait le lactosérum demeure un coproduit noble de la transformation alimentaire (lait) de point de vue constitution riche en matière très chères de nécessité absolue (protéines et sucre.....) sa valorisation révèle un débouché de récupération des substances largement utilisées dans l'alimentation humaine que des éléments d'incorporation d'amélioration de valeur nutritionnelle (α - lactalbumine et β -lactoglobuline) ainsi son utilisation dans l'industrie microbienne comme levain.

Références bibliographique

Références bibliographiques

A

1. **ABDESSALAM A-D. (1995).** Contribution à l'étude du lait des ceintures laitières Jériurbaines de la zone cotonnière du Sénégal. Th. Méd. Vét., Dakar, *IQ95*, n021, 126 p.
2. **ACEM K. (2001).** Etude des propriétés émulsifiante du lactosérum en vue de sa valorisation dans le domaine cosmétique thèse magister C.U Tiaret.P :89.
3. **ADDA M. (2002).** Contribution à l'étude de la fixation des protéines des lactosérums doux acide par la bentonite de M'zila brute et traitée Thèse de doctorat.université Ibn khaldoun tiaret.p 04
4. **ADRIAN J.; POTUS J.; FRENGINE R. (1995).** La science alimentaire de A à Z, 2^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier Paris. pp 21-39-69-243-244-353.
5. **AFNOR (1999).** Lait et produits laitiers, vol 1.- Paris : AFNOR.- 622 p.
6. **AGABRIEL C.; COULON J-B.; BRUNSCHWIG G.; SIBRA C. et NAFIDI C. (1995).** Relations entre la qualité du lait livré et les caractéristiques des exploitations. INRA Prod. Anim., 8 (4). pp :251-258.
7. **AIT ABDELOUAHAB N. (2001).** Microbiologie alimentaire, office des publications universitaires .Édition : 1.04.4362, Alger. P 18, 22, 26, 102, 138.
8. **ALAIS C. ; LINDEN G. et MICLO L. (2008).** Biochimie alimentaire, Dunod 6^{ème} édition. Paris. pp :86-88.
9. **ANDELOT P. (1983).** Le contrôle laitier, facteurs d'amélioration technique, Rev lait Franç. 416 :P15.
10. **ANONYME (2009).** Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1^{ere} édition. France Agricole, institut de l'élevage : 554p
11. **AUDIGIER C.L.; FAGERELLA J.ZONZAIN F. (1980).** Manipulation d'analyses biochimique. Edition tec et Doc, Lavoisier. paris. P :270.

B

12. **BLANC B. (1982).** Les protéines du lait à activité enzymatique et hormonale. International dairy journal, 62. pp : 350-395
13. **BONNYFOY C.; GUILLET F.; LUYRAL G. et BOURDIS E-V. (2002).** Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires. Aquitaine : Doin, Paris. 248p.
14. **BOUDIER J-F. et LUQUET F M. (1980).** Dictionnaire laitière 2^{ème} édition. Tec et Doc .Lavoisier Paris : 66P.

- 15. BOURGEOIS C-M. et LEVEAU J-Y. (1994).** Technologie d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaire; le contrôle microbiologique .Éducation Tec et Doc. Lavoisier, Paris. P 331.
- 16. BOUTONNIER J-L. (2008).** Matière grasse laitière Composition, organisation et propriétés. Dans Techniques de l'ingénieur, Traité Agroalimentaire (F 6320), Paris
- 17. BYLUND G. (1995).** The chemistry of milk. In T. AB (Ed.), Dairy Processing handbook (pp. 13-36). Lund,Suède: TetraPakProcessingSystems AB.

C

- 18. CAYOT P. et LORIENT D. (1998).** Structures et Technofonctions des Protéines du Lait. Edition Tec et Doc Lavoisier. Paris.
- 19. CHEFTEL H. (1983).** Introduction à la biochimie et à la technologie des aliments.Volum.I.tech et doc.Lavoisier, P : 59.
- 20. CHRISTIANSEN K-F.; VEGARUG G.; LANGSRUD T.; ELLEKJAER M-R. (2004).**stabilizers in High pressure processed depressing, food hydrocolloid 18, 757
- 21. CUQ J-L. (2002).** Microbiologie alimentaire contrôle microbiologique des aliments Université Montpellier. P : 21-22, 40, 43, 49, 81.

D

- 22. DAMODARAN S. (1997).**protein stabilized foams and emulsions, in Damodaran. &Paraf, (Eds), food proteins and their application, New York, USA: Marcel Dekker Inc,pp 57- 110
- 23. DEBRY G. (2001).** Lait, nutrition et santé. Edition Tec et Doc Lavoisier, Paris.
- 24. DE LA FUENTE M-A.Y. HEMARM.; TAMEHANA P-A. ; MUNRO H. (2002).**Singh. Process Induced changes in whey proteins during the manufacture of whey protein Concentrates. International dairy journal 12. pp361-
- 25. DE WIT J-N. (1981).**structure and functional behavior of whey proteins Netherlands milk and Dairy journal, 35(1981), 47- 64
- 26. DIENG M. (2001).** Contribution à l'étude de la qualité microbiologique des laits caillésindustriels commercialisés sur le marché Dakarois. Thèse Docteur vétérinaire, Université deDakar Sénégal.pp 45-46.

E

27. **ECK A. (1987).** Le fromage, Ed Tec et Doc ,Lavoisier.Paris
28. **EMILIE.F (2007).** Connaissance des aliments bases alimentaire et nutritionnelles de la diététique ; Ed technique et documentation. France,LAVOISIER ,P :10,30.

F

29. **FIREBAUGH J-D. (2005).**DaubertC.R. Emulsifying and foaming properties of a derivatized Whey protein ingredient, Int. j. food. Prop 8. P243

G

30. **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.
31. **GUIRAUD J. et GALZY P. (1980).** L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p.
32. **GUIRAUD J-P. (1998).** Microbiologie alimentaire.Dunod,Paris.P :310-321
33. **GUIRAUD J-P. (2003).** Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. pp : 136-139.

J

34. **JAKOB E.; WINKLER H. et HALDEMANN J. (2009).**Critères Microbiologiques Pour LaFabrication Du Fromage. Edition, AgroscopeLiebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77.F. pp :5-31.
35. **JOFFIN C. et JOFFIN J-N. (1999).**Microbiologie alimentaire. 5 éme édition : centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. P 21, 62, 114, 126,132.

L

36. **LABIOUI H.; ELMOUALDI L.; BENZAKKOUR A.; BERNY E. et OUHSSINE M. (2009).** Etude physicochimique et microbiologique de laits crus. Maroc. P 09, 10.
37. **LAPLANCHE J. (2004).** système d'épuration du lactosérum d'alpage par culture fixée sur lit de compost. Revue suisse Agric.36(5),P :22- 224.
38. **LARPENT J-P. (1997).** Microbiologie alimentaire; Techniques de laboratoire Tec et Doc, lavoisier. Paris. P 136, 267, 465, 471.

- 39. LECOQ R. (1965).** Manuel d'analyses alimentaires d'expertises usuelles. édition. Doin. Paris. P 938, 2185.
- 40. LEYRAL G. et VIERLING E. (2001).** Microbiologie et toxicologie des aliments ; hygiène et sécurité alimentaire. 3^{ème} édition : centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. P 29, 44.
- 41. LINDEN G et LORIENT D.(1994).**biochimie agro industrielle; valorisation alimentaire de la Production agricole. Masson Paris Milan Barcelone.
- 42. LOUISFERT S. (1994).** Recyclage du lactosérum issu de transformation fromagère dans l'alimentation, risque sanitaires et modalités pratique d'alimentation. Analyses bibliographique.CR institut de l'élevage n° 97045 :31 p
- 43. 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.
- 44. LUQUET F-M. et FRANCOIS M. (1990).** lait et les produits laitiers, vache, brebis, chèvre. Tome II. Techniques et documentation- Lavoisier, 621p

M

- 45. MADJI A. (2009).** Séminaire sur les fromages AOP ET IGP.INAT. Tunisie.
- 46. MARCHAL N. et BOURDON J-L. (1973).** Milieux de culture et identification biochimique des bactéries Doin édition. Paris. P 116.
- 47. MARSHAL A-D. ;MUNRO P-A. (1993).** The effect of proteins fouling in MF And UF on permeate flux, protein retention and selectivity. A literaturereview, Desalination, 91 pp 65-108.
- 48. MATHIEU J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait. Guides Technologiques des IAA. Edition Lavoisier Tec et Doc, Paris P 35-77.
- 49. MOREL D'ARLEUX F. ; PLACE M. (1984).**Etude de la stabilité physico-chimique et bactériologique du lactosérum doux.CRITEB-ULPAC n° 84061 :22p
- 50. MORRISSAY P-A. (1995).** Lactose: chemical and physicochemical properties. Dans: Developments in dairy chemistry 3. (FOX PF). Elsevier, London.
- 51. MORR C-V. AND,; HA E. Y. W. (1993).**Whey protein concentrates and isolates: processing and Functional properties.Critical reviews in food science and nutrition, 33 (6) pp431- 476.
- 52. MULLER A.; BERNARD CHAUFER; UZI ERIN ;GEORGES DAUFIN (2003).** Prepurification of alpha actalbumine with UF ceraic membranes from acid casein whey: study of operating conditions .lait 83, 111-129.

O

53. OLDS R.J. (1979).Atlas en couleurs de microbiologie. Edition maloune S.A. Paris. P 44, 220.

P

54. PETRANSXIENE D. et LAPIED L. (1981). La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers; analyses et tests. 2^{ème} édition : Tec et Doc, Lavoisier. Paris. P 51, 52, 62,63, 67, 68.

55. POINTURIER H (2003).La gestion matière dans l'industrie laitière, Tec et Doc, Lavoisier, France :p64(388 pages)

56. POUGHEON S. (2001). Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière. Thèse doctorat d'état en médecine vétérinaire, université Paul Sabatier de Toulouse, France.

57. POUGHEON S. et GOURSAUD J. (2001).Le lait caractéristiques physicochimiques *In DEBRY G.*, Lait, nutrition et santé, Tec et Doc, Paris : 6(566 pages).

R

58. RAUDIER J. ; MULLEIN R. (1973). In Ahmed H et Marih A.2004 ; étude des paramètres physiques et chimique de falsification du lait cru de vache, Mémoire DES Tiaret.

59. ROBINSON R-K. (2002). Dairy microbiology handbook. The microbiology of milk and milk products. Third edition. Edition John Wiley and sons, INC. New York.780p.

60. RODIER J. et COLL (2005).l'analyse de l'eau; eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer. 8^{ème} édition : Dunod. Paris. P 379, 832.

61. ROUDAUT H. et LEFRANCQ E. (2005). Alimentation théorique. Edition Sciences des Aliments.

S

62. SISO, M.I.G The biotechnological utilisation of cheese whey :a review.Bioresource Thechnology,1996.57 :p.1-11.

63. SOTTIEZ P. (1990).produit dérivés des fabrications fromagères, lait et produits laitiers, tome 2. Ed ; Lavoisier, Paris. pp 357- 392.

64. STOLL W. (2003). Vaches laitières: l'alimentation influence la composition du lait. RAP Agri. N° 15/2003, vol. 9, Suisse.

V

65. VARNAM A-H. et SUTHERLAND P. (2001). Milk and Milk Products: Technology, Chemistry, and Microbiology. Volume 1 Food products series. An Aspen Publication. New York. pp: 35- 37.

66. VIGNOLA C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition PressesInternationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

67. VIOLLEAU V.(1999).valorisation du lactosérum par électrodialyse. Thèse de doctorat. Montpellier.

68. VEISSEYER R-A. (1988),NAN DEN BOS M.J. et FERGUSON W.P. lactose and its chemical Derivates. bults of I.D.F, n°233, pp:33-44.

69. VRIGNAUD Y. (1983).valorisation du lactosérum, une longue histoire. revue laitière française n°422, pp : 41-46.

W

70. WISEMAN D-W. APPLEBAUM T. (1983). Distribution and resistance to pastorisation of aflatoxin MI. In naturally contamination, whole milk, cream and skin milk. Journal of food prad., 46 (6), 530-532.

71. WOLTER R. (1988). Alimentation de la vache laitière. 3ème édition. Editions France Agricole. Paris.

Y

72. YEBO LI ; ABOLGHASEM S. ; CHARLES T-K. (2006). separation of cell and Proteins from fermentation broth using ultrafiltration.Journal of food Engineering 75. P 574-580

ANNEXES

Annexe N° 01

❖ Dilution décimales TSE (Tryptone sel eau)

Préparation des dilutions décimales est effectuée avec le diluant suivant:

❖ Composition

Eau distillée.....	1000 ml
Peptone pancréatique de caséine (Tryptone).....	1 g
Chlorure de sodium.....	8,5g

❖ Milieux de culture PCA (Plate Count Agar)

❖ Composition

Peptone pancréatique de caséine (Tryptone).....	5,0 g
Extrait de levure déshydratée.....	2,5 g
Glucose anhydre.....	1,0 g
Lait écrémé en poudre (exempt de substances inhibitrices).....	1 g
Ou lait écrémé (exempt de substances inhibitrices).....	10 ml
Eau distillée.....	1000 ml
Agar-agar.....	12 à 18 g

❖ Preparation

Faire dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à l'ébullition. Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7 \pm 0,1$ à 25°C .

Repartir à raison de 250ml dans des flacons de capacité. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Le milieu peut être conservé trois fois au maximum et à l'obscurité entre 0°C et 5°C .

❖ VRBL (Gélose Lactosée Biliée au Cristal Violet au Rouge neutre)

❖ Composition

Peptone.....	10g
Lactose.....	10 g
Désoxycholate de sodium.....	0,5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Citrate de sodium.....	2 g
Rouge neutre.....	0,03 g
Agar agar.....	12 à 15 g
Eau distillée.....	1000 ml

❖ **Preparation**

Faire dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à l'ébullition. Si nécessaire, ajouter le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7 \pm 0,1$ à 25°C .

Repartir à raison de 250ml dans des flacons de capacité. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Refroidir le milieu l'en maintient dans un bain marie à 45°C .

❖ **BP(Gélose Baired Parker)**

❖ **Composition**

Peptone.....	10g
Extrait de viande	5 g
Extrait de levure.....	1 g
Chlorure de lithium.....	5 g
Solution de pycocolle.....	6 ml
Gelose	20 g
Solution de tellurite.....	1 ml
Solution de pyruvate	5 ml
Eau distillée.....	1000 ml
Emulsion de jaune d'oeuf	5 ml

❖ **Préparation**

Faire dissoudre les composants ou le milieu complet déshydraté dans l'eau en portant à l'ébullition. Si nécessaire, ajouter le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,4 \pm 0,1$ à 25°C . Repartir à raison de 250ml dans des flacons de capacité. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.

❖ **OGA (Gélose Oxytetracycline Glucose Agar)**

❖ **Composition**

Chlorure de lithium.....	5 g
Peptone.....	10g
Extrait de levure.....	1 g
Extrait de viande	5 g

❖ **Bouillon de Rothe (S/C):**

❖ **Composition**

Peptone	20 g.
Glucose.....	5 g.

Chlorure de sodium.....	5 g.
Phosphate mono potassique	2,7 g.
Azide de sodium.....	0,2 g
Phosphate dipotassique	2,7 g.

❖ **Préparation**

Faire dissoudre les composants dans l'eau en chauffant légèrement. Repartir en tubes à essais (9ml). Autoclaves 15 minutes à 120°C. pH = 7, pour préparer le bouillon de Rothe (D/C), multiplier par deux les proportions ci-dessus.

❖ **EVA Litsky**

❖ **Composition**

Peptone	20 g
Glucose.....	5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Phosphate dipotassique	2,7 g
Azothydrate de sodium.....	0,3g
Ethyle violet.....	0,2 g
Eau distillé.....	1000ml

❖ **SS (Gélose Salmonella, Shigella)**

❖ **Composition**

Peptone pancreatique de casiene	10g
Extrait de viande	5 g
Lactose	10 g
Sels biliaires	0,6 g
Citrate de sodium	8,5g
Citrate de fer ammoiacal.....	1g
Thiosulfate de sodium.....	8,5g
Rouge neuter.....	0,025g
Eau distillée.....	1000 ml
Vert brillant.....	0,00033g

❖ **Milieu MRS: (gélose Man, Rogosa et Sharpe).**

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	10g
Glucose.....	20g

Extrait de levure.....	5g
Tween 80 (polysorbate 80).....	1ml
Phosphate dipotassique.....	2g
Acétate de sodium.....	5g
Gélose.....	15g
Sulfate de magnésium.....	200g
Sulfate de manganèse.....	50mg
Citrate trimmonique.....	2g

pH=6.5. Autoclaver 15 minutes à 120°C.

❖ **Milieu M 17 (gélose Terzaghi et Sandine)**

Peptone de farine de soja	5g
Peptone de viande.....	2,5g
Peptone de caséine tryptique.....	2,5g
Extrait de levure	5g
Extrait de viande.....	5g
Lactose.....	5g
Acide ascorbique.....	0,5g
Glycérophosphate de sodium	19g
Sulfate de magnésium.....	0,25g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

Annexe N° 02

Les réactifs

1. Phénophtaléine

Solution à 1 g dans 100 ml d'éthanol à 95-96 % (en volume)

2. Solution d'hydroxyde de sodium

Cette solution dite "Soude Dornic" ;solution titrée (0.1 N) est 1 ml de NaOH correspond à 0.01 g d'acide lactique .Elle peut être préparée en diluant à 1000 ml ; 100 ml de solution d'hydroxyde de sodium N. le dosage peut aussi être effectué au moyen d'une solution d'hydroxyde de sodium 0.1 N

3. Solution chimique de la méthode. BERTRAND

Solution A : Solution cuivrique

Les ingrédients	Composition
- $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	40 g
- H_2SO_4 concentré	5 ml
- Eau distillé	1000 ml

Solution B : Solution tartaro-sodique

Les ingrédients	Composition
- Tartrate double potassium et sodium	200 g
- Lessive de soude à 33%	375 ml
- Eau distillée	1000 ml

Solution C : Solution ferrique

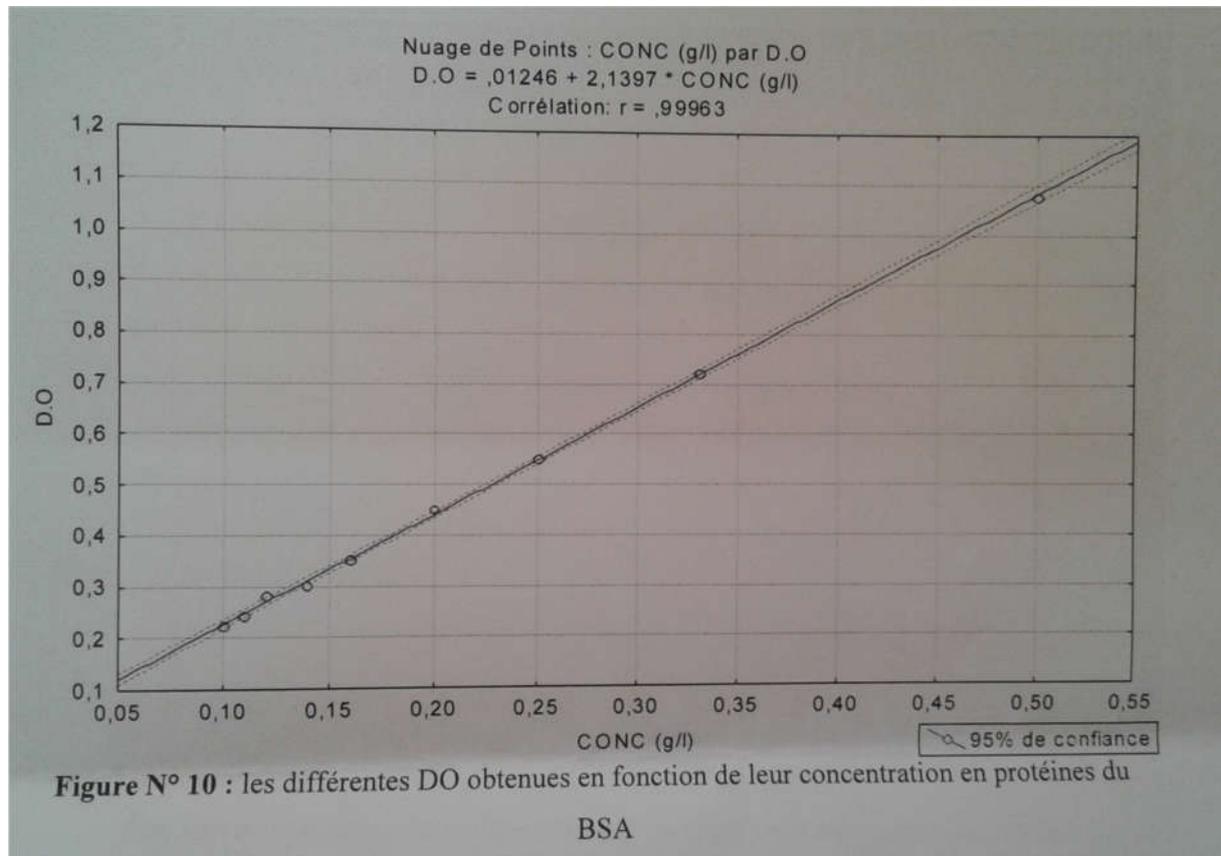
Les ingrédients	Composition
- $\text{Fe}(\text{SO}_4)_3$	50 g
- H_2SO_4 concentré	200 ml
- Eau distillé	1000 ml

Annexe N° 03

La table présentant la quantité du lactose en mg.

ml KMnO ₄ 0,1 N	mg de lactose						
3,0	9,59	7,5		12,0	40,32	16,4	56,31
3,1	9,92	7,6	24,53	12,1	40,68	16,5	56,67
3,2	10,25	7,7	24,97	12,2	41,04	16,6	57,05
3,4	10,58	7,8	25,32	12,3	41,40	16,7	57,42
3,5	10,91	7,9	25,66	12,4	41,77	16,8	57,69
3,6	11,24	8,0	26,00	12,5	42,13	16,9	58,16
3,7	11,57	8,1	26,34	12,6	42,49	17,0	58,53
3,8	11,90	8,2	26,68	12,7	42,85	17,1	58,90
3,9	12,23	8,3	27,05	12,8	43,21	17,2	59,27
4,0	12,56	8,4	27,37	12,9	43,57	17,3	59,64
4,1	12,89	8,5	27,72	13,0	43,93	17,4	60,01
4,2	13,22	8,6	28,06	13,1	44,29	17,5	60,38
4,3	13,55	8,7	28,40	13,2	44,65	17,6	60,75
4,4	13,89	8,8	28,75	13,3	45,01	17,7	61,12
4,5	14,22	8,9	29,09	13,4	45,37	17,8	61,50
4,6	14,55	9,0	29,44	13,5	45,73	17,9	61,87
4,7	14,89	9,1	29,78	13,6	46,09	18,0	62,25
4,8	15,22	9,2	30,12	13,7	46,45	18,1	62,63
4,9	15,55	9,3	30,47	13,8	46,81	18,2	63,00
5,0	16,22	9,4	30,81	13,9	47,17	18,3	63,38
5,1	16,55	9,5	31,16	14,0	47,53	18,4	63,76
5,2	16,88	9,6	31,51	14,1	47,89	18,5	64,14
5,3	17,21	9,7	31,86	14,2	48,25	18,6	64,51
5,4	17,55	9,8	32,20	14,3	48,61	18,7	64,89
5,5	17,88	9,9	32,55	14,4	48,97	18,8	65,27
5,6	18,21	10,0	32,90	14,5	49,34	18,9	65,65
5,7	18,55	10,1	33,25	14,6	49,70	19,0	66,03
5,8	18,88	10,2	33,60	14,7	50,06	19,1	66,41
5,9	19,22	10,3	33,95	14,8	50,43	19,2	66,78
6,0	19,56	10,4	34,30	14,9	50,79	19,3	67,15
6,1	19,90	10,5	34,66	15,0	51,16	19,4	67,53
6,2	20,23	10,6	35,01	15,1	51,53	19,5	67,91
6,3	20,57	10,7	35,36	15,2	51,90	19,6	68,29
6,4	20,90	10,8	35,72	15,3	52,27	19,7	68,67
6,5	21,24	10,9	36,07	15,4	52,64	19,8	69,05
6,6	21,57	11,0	36,77	15,5	53,00	19,9	69,43
6,7	21,92	11,1	37,13	15,6	53,37	20,0	69,80
6,8	22,24	11,2	37,48	15,7	53,73	20,1	70,17
6,9	22,58	11,3	37,84	15,8	54,10	20,2	70,55
7,0	22,92	11,4	38,19	15,9	54,47	20,3	70,93
7,1	23,26	11,5	38,54	16,0	54,84	20,4	71,69
7,2	23,60	11,6	38,90	16,1	55,21	20,5	72,07
7,3	23,95	11,7	39,25	16,2	55,57	20,6	72,46
7,4	24,29	11,8	39,61	16,3	55,94	20,7	72,85
		11,9	39,96				

Courbe d'étalonnage : Les différentes DO obtenues en fonction de leur concentration en protéines du BSA (ADDA M., 2002).



Annexe N° 04

- **Test de coagulase**

Technique

Le contenu d'anse de *Staphylococcus aureus* a été dissocié dans l'eau de façon à former une suspension épaisse et homogène sur une lame. On a ajouté le contenu d'une petite anse de plasma humain non dilué.

Lecture

Lorsque la préparation de *S. aureus* a été agglutinée en gros agrégats à la lame : c'est la réaction positive.

L'agglutination qui en résulterait demanderait plus de 20 secondes pour apparaître **(OLDS, 2001)**.

La réaction négative : suspension homogène **(MARCHAL. N. et al, 1987)** et ne manifesterait pas de tendance à adhérer à la lame du fait du fait de fibrine.

- **Test de catalase**

Technique

Prendre une lame porte objet propre, déposer sur celle-ci une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes et émulsionner un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose **(DELARRAS, 2007)**.

Lecture

Si la souche examinée possède une catalase, on observe un dégagement immédiat de bulles gazeuses **(MARCHAL N. et al, 1987)**.

- **La coloration au bleu de méthylène**

La coloration au bleu de méthylène est une coloration rapide, économique et d'usage courant.

- Sur le frottis fixé et refroidi, faire couler la solution de bleu de méthylène jusqu'à ce que toute la lame soit recouverte ;
- Laisser agir 1 minute ;
- Rincer abondamment la lame avec le jet d'une pissette d'eau distillée jusqu'à élimination des colorants en excès ;
- Sécher à l'air ou sur une platine chauffante, ou encore sécher délicatement entre deux feuilles de papier-filtre fin, sans flotter ;

- Observation microscopique (**RIGHI, 2006**).

Coloration de Gram

Les différentes étapes de cette coloration sont les suivantes :

- Couvrir le frottis avec une solution de violet de gentiane, et laisser agir une minute ;
- Ajout du lugol, en couvrir le frottis et laisser agir une minute ;
- Décoloration par l'alcool ;
- Recoloration par la fuchsine diluée (colorant rose) (3 minutes) (**BOULAHBAL, 1994**).

Annexe N° 05

		Paramètres physico-chimique									
T°	Jours	La densité	La viscosité (CP)	MS (g/l)	IR (nD ₂₀)	TC (g/l)	pH	A (D°)	CE (ms/cm)	Teneur en lactose (g/l)	Teneur en protéines (g/l)
4°C	1	1.027	10.08	54.78	1.344	6.7	6.4	16	6.1	35.7	7.3
	2	1.027	10.04	52.23	1.343	6.4	6.3	17	6.5	34.3	7.1
	3	1.025	10.01	52.4	1.343	6.1	6	18	6.7	33.1	6.7
	7	1.018	8	50.7	1.343	5.8	5.2	20.5	8.72	28.7	5.3
25°C	1	1.027	10.04	48.22	1.343	6.5	5.7	19	6.69	32.2	6.2
	2	1.026	10.01	47.5	1.342	6.2	5.3	24	7.29	29.7	5.6
	3	1.026	9.06	45.52	1.342	5.6	4.4	35	7.82	26.3	5.3
	7	1.014	6.03	40.26	1.342	4.2	3.3	48	9.45	17.9	3.8
35°C	1	1.023	9.09	42.52	1.343	6.2	5.6	26	8.34	30.4	5.4
	2	1.023	9.06	42.23	1.342	5.7	5.2	32.5	8.63	24.2	5
	3	1.021	8.09	40.01	1.342	5.1	4.2	44	9.2	19.3	4.1
	7	1.012	5.7	40.13	1.342	3.6	2.9	57	10.6	12	1.4

Annexe N° 06

Tableau : Les résultats obtenus dans les paramètres physico-chimiques de lactosérum doux

paramètres physico-chimiques	Les Normes de lactosérum doux	Reference
Densité	1.026	ADDA, 2002
Matière sèche (g/l)	65.5 à 75	ECK, 1987
Taux de cendres (g/l)	7	ADRIAN J. ET AL, 1995
Viscosité (centipoises)	1.7634 à 25°C	ACEM, 2001
Indice de réfraction	1.343	ADDA, 2002
pH	6 à 6.5	VEISSEYRE, 1975
L'acidité (°D)	< 18°D	LINDEN ET LORIET, 1994
Teneur en lactose g/l	40 à 55	VEISSEYRE, 1975

Tableau : Les Normes microbiologique du lactosérum doux

Produit	n	m	M	Reference
Coliformes	5	10 ³	10 ⁴	JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35 DU 27MAI 1998.
Germes aerobie totaux	1	10 ⁵	10 ⁶	
Coliformes fécaux	5	10 ³	3. 10 ⁴	
S.aueus	5	Absence	Absence	
Salmonella	5	Absence	Absence	
Levures	5	< 10 ³	<3.10 ³	
Moisissures	5	Absence	Absence	
Flore lactique	1	≥10 ⁷	-	AIT ABDELOUHAB N., 2001).

m : le seuil minimal admis.

M : le seuil maximal admis.

n : nombre d'unité composant l'échantillon.

m = 10m milieu solide.

M = 30 m milieu liquide.

Annexe N°07



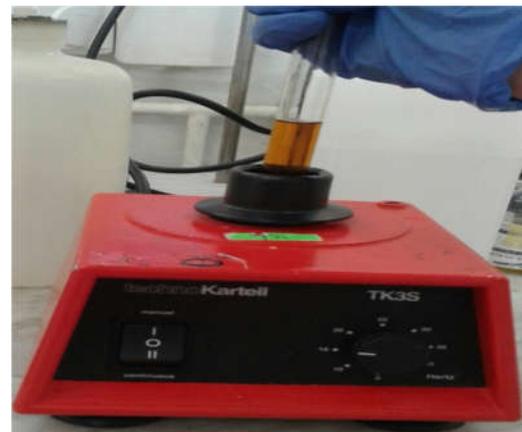
Agitation (lait + présure)



Filtration du lactosérum doux



Réfrigération dans un bain marie



Agitation par vortex



Manipulation



Boîtes de pétries

Résumé :

L'industrie agro-alimentaire doit faire face à un problème devenu au fil de ces dernières années de plus en plus crucial. Il s'agit de la pollution créée par les déchets et les rejets de cette transformation du lait. La fromagerie en fait compte la majeure partie de celle-ci, puisqu'elle est à l'origine de la production de grandes quantités de lactosérum.

Dans cette étude une caractérisation physico-chimique et microbiologique du lactosérum doux issu de lait de vache pasteurisé a été réalisée afin d'évaluer sa qualité par ces paramètres au cours du temps à des différentes températures de conservation qui varient de (4°C, 25°C, 35°C) pendant (1^{er}, 2^{ème}, 3^{ème} et 7^{ème}) jours.

Sur le plan physico-chimique le PH, la teneur en lactose, la teneur en protéine ont été diminués au cours du temps à des différentes températures de conservation. Par contre l'acidité mesurée pour l'ensemble de nos échantillons augmentent dans toutes les conditions.

Sur le plan microbiologique on constate la présence d'une flore microbienne trop chargés par les GAMT et les levures et moisissures surtout dans les échantillons conservés à 25°C et 35°C mais sans agents pathogène majeur (Coliforme totaux et fécaux, streptocoques fécaux, staphylococcus aureus, clostridium sulfito-réducteur et salmonelle).

Mots clé :

Lait de vache, Lactosérum doux, Analyses physico-chimique, Analyses microbiologique, températures de conservation, Temps de conservation

ملخص

أصبحت صناعة المواد الغذائية تواجه عدة مشاكل في السنوات الأخيرة، وهذا راجع للتلوث الناتج عن تصنيع كميات كبيرة من مصال اللبن أثناء صناعة الأجبان.

تتميز هذه الدراسة في التحاليل الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية لمصل اللبن الحلو المأخوذ من حليب البقرة المبستر لتقييم تطورات الجودة في درجات حرارة مختلفة (4 درجة مئوية ، 25 درجة مئوية و 35 درجة مئوية) أثناء مدة التخزين (1، 2، 3، 7) أيام.

على المستوى الفيزيوكيميائي سجلنا تناقص في تركيز اللاكتوز وتركيز البروتينات بتزايد درجات الحرارة أثناء مدة التخزين مقارنة بالحموضة التي كانت تتزايد في كل الشروط المتوفرة

وعلى المستوى الميكروبيولوجي لاحظنا وجود نسبة معتبرة من البكتريا الهوائية معتدلة الحرارة ، الخمائر والفطريات و خاصة في العينات المخزنة عند 25 درجة مئوية و 35 درجة مئوية ولكن يخلو من العوامل المسببة للأمراض الرئيسية (بكتريا القولون البرازية والمجاميع، العقديات البرازية ، المكورات العنقودية الذهبية، كلوستريديوم سلفيت- ريديكتور والسالمونيلا).

الكلمات المفتاحية

حليب البقرة، مصال اللبن الحلو، التحاليل الفيزيوكيميائية ، التحاليل الميكروبيولوجية ، درجات حرارة التخزين، مدة التخزين .