

سلطان الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministre de l'enseignement supérieure 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 :

Mr KHARROUBI Ahmed

Thème

**L'influence du temps et de températures sur la
qualité physico-chimique et microbiologique
du lactosérum doux de vache et sur type
de yaourt Brassé**

JURY:

Présidente : Mme REZZOUG W

Promoteur : Mr ADDA M'hamed

Examinatrice : Mme MOKHTARI S

Année universitaire :2018/2019

Remerciements

Avant tout, je remercie "Allah" le tout puissant qui m'a accordé le courage, la volonté et la force pour accomplir ce modeste travail. Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite.

*j exprime toute ma reconnaissance et mon plus grand respect à **Mr Adda M'hamed** pour avoir assuré l'encadrement de ce mémoire, pour m'avoir fait confiance et pour m'avoir fait bénéficiaire de ses larges compétences, et notamment de ses précieux et judicieux conseils scientifiques et surtout pour sa patience dans la correction de ce mémoire.*

*Je ne peux que sincèrement vous exprimer mes respects et mes gratitude. Je suis particulièrement reconnaissant à **Mme Rezoug Waffa** d'avoir accepté d'examiner mon travail en tant que présidente ainsi que, **Mme MOKHTARI S** d'avoir voulu évaluer et examiner ce mémoire.*

*Je tiens à remercier les ingénieurs du laboratoire technologie alimentaire les clés de la faculté **Mr Benhalima Ahmed**, **Mr Aouali Houari** et **Mr Rghioui Bachir** qui m'ont facilité la réalisation de ce travail.*

*Je tiens aussi d'exprimer mes sincères remerciement à **M^{lle} Kheira** et **M^{lle} Zohra** d'avoir mis à ma disposition tout ce dans j'avais besoin au cours de ce travail.*

Enfin, nos remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail

Liste des abréviations

α -LA	: Alfa lactoglobuline
Abs	: Absence
AFNOR	: Association française de normalisation.
β -LG	: Beta lacoglobuline
BM	: bleu de méthylène
BP	: Baird Parker
BSA	: Bovin Serum Albumine
C.F	: Coliformes fécaux
Cm ³	: Centimètre cube
CP	: Centpoise
CRS	: Clostridium Sulfito-Reducteur
C.T	: Coliformes totaux
Cu ₂ O	: 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
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
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
<i>S. t</i>	: <i>Streptococcus thermophilus</i>
<i>S aureus</i>	: Staphylococcus aureus
<i>S Fécaux</i>	: <i>Streptococcus Fécaux</i>
S.S	: Gélose Salmonella Shigilla.
S/C	: Simple Concentration.
T	: Température.
TC	: Teneur en cendre
UFC	: Unité Formant Colonie
VRBL	: Gélose Lactosée Biliée au Cristal
Violet au Rouge neutre	
MR	: Rouge de Méthyle
P ₂ O ₃	: Acide phosphorique
µs/Cm	: Micro siemens par centimètre
µm	: Micro mètre

Liste des figures

Figure N°01 : Protocole expérimental.....	21
Figure N°02 : Schéma de la préparation du lactosérum doux.....	22
Figure N°03 : Evolution des valeurs de densités en fonction de la température au cours du temps	48
Figure N°04 : Evolution des valeurs l'indice de réfraction en fonction de la température au cours du temps	49
Figure N°05 : Evolution des valeurs de Taux de cendre en fonction de la température au cours du temps	50
Figure N°06 : Evolution des valeurs du pH en fonction de la température au cours du Temps	51
Figure N°07 : Evolution des valeurs de l'acidité en fonction de la température au cours du temps	52
Figure N°08 : Evolution des valeurs de la matière sèche en fonction de la température au cours du temps	
Figure N°09 : Evolution des valeurs de la conductivité électrique en fonction de la température au cours du temps.....	53
Figure N°10 : Evolution des valeurs du pH en fonction de la température au cours du temps	60
Figure N°11 : Evolution des valeurs d'acidité en fonction de la température au cours du temps .	61

Liste de photos

Photo N°01: Résultats de recherche des aérobies mésophiles par milieu PCA	55
Photo N°02 : Résultats de recherche des coliformes par milieu VRBL.....	
Photo N°03 : Résultat de recherche des streptocoques fécaux par milieu Rothe	
Photo N°04: Résultats de recherche de levures et moisissures par milieu OGA	
Photo N°05: Résultats de recherche de Staphylococcus aureus par milieu BP	
Photo N°06: Résultats de recherche de clostridium sulfito reducteur par milieu VF	
Photo N°07: Résultats de recherche de salmonelles par milieu SS.....	
Photo N°08: Les résultats des L.B bulgaricus et S T sur le milieu MRS et M17 a.....	
Photo N°09: Résultats de recherche des aérobies mésophiles par milieu PCA	
Photo N°10: Résultats de recherche des coliformes par milieu VRBL.....	
Photo N°11: Résultats de recherche de Staphylococcus aureus par milieu BP	
Photo N°12: Résultats de recherche de levures et moisissures par milieu OGA	
Photo N°13: Résultat de recherche des streptocoques fécaux par milieu Rothe	
Photo N°14: Résultats de recherche de salmonelles par milieu SS.....	
Photo N°15: Les résultats des L.B bulgaricus et S T sur le milieu MRS et M17	
Photo N°16: Résultats de recherche de clostridium sulfito reducteur par milieu VF	

Liste des Tableaux

Tableau N°01 : Différents types de lactosérum	04
Tableau N° 02 : Composition moyenne du lactosérum doux et acide	06
Tableau N°03 : Application des protéines de lactosérum	09
Tableau N°04 : Composition moyenne d'un yaourt.....	13
Tableau N°05 : Analyses microbiologiques	39
Tableau N°06 : Expression des résultats bactériologiques	54
Tableau N°07 : Expression des résultats des bactéries lactiques	59
Tableau N°08 : Expression des résultats Bactériologiques.....	62
Tableau N°09 : Expression des résultats Bactéries lactiques.....	67

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des photos

Liste des tableaux

Introduction

Partie I : Etude bibliographique

Chapitre I : Lactosérum

I. Définition de lactosérum	1
II. Types de lactosérum	1
II.1. Lactosérum acide	2
II.2. Lactosérum doux	2
III. Composition du lactosérum.....	2
III.1 lactose	3
III.2. Les minéraux	4
III.3. Les protéines du lactosérum	5
IV. Valorisation du lactosérum	5
IV.1. Introduction	5
IV.2. Alimentation Humaine	5
IV.3. Alimentation Animale	6
IV.4. Domaine biotechnologique	6
➤ Biotransformation de lactose.....	6
➤ Substrat de Fermentation.....	7
V. Pouvoir polluant	7

Chapitre II : Le Yaourt

1. Les laits fermentés.....	8
1.1. Généralités.....	8
1.2. Définition et réglementation.....	8
2. le yaourt.....	8
2.1. Historique	8
2.2. Définitions	9
3. Composition de yaourt	9
4. Classification des différents types de yaourts	10
4.1. Selon la teneur en matière grasse	10
Yaourt entier.....	10
Yaourt partiellement écrémé	10
Yaourt maigre.....	10
4.2. Selon leur goût	10
4.3. Selon leur texture	11
Les yaourts brassés.....	11

5. Caractéristiques sensorielles.....	11
Saveur.....	11
Odeur.....	11
Couleur.....	11
6. Les bactéries caractéristiques du yaourt.....	11
6.1. <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus</i>	12
6.2. <i>Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus</i>	12
Procédé de fabrication de yaourt.....	13
1.1. Matières premières et ingrédients.....	13
1.2. Etapes de fabrication.....	13
1.2.1. L'arrivée du lait à l'usine.....	13
1.2.2. Standardisation.....	13
1.2.3. Homogénéisation.....	13

Partie II : Partie expérimentale

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Objectifs de travail.....	14
2. Lieu et période de travail.....	14
3. Matériels.....	14
3.1. Matières premières utilisés.....	14
3.2. Appareillages, verreries et produits utilisés.....	15
Méthodes.....	15
4. Lactosérum Doux.....	16
4.1. Protocole expérimentale.....	16
4.2. Préparation du lactosérum doux.....	17
4.3. Méthodes d'analyses physicochimiques de lactosérum doux.....	18
4.3.1. Analyses physiques.....	18
4.3.1.1. Détermination de la densité.....	18
4.3.1.2. Détermination de l'indice de réfraction.....	19
4.3.1.3. Détermination de la teneur en matière sèche total.....	19
4.3.1.4. Détermination du taux de cendre.....	20
4.3.2. Analyses chimiques.....	20
4.3.2.1. Détermination de pH.....	20
4.3.2.2. Détermination de l'acidité titrable.....	21
4.3.2.3. Détermination de la conductivité électrique.....	21
4.4. Méthodes d'analyses bactériologiques.....	22
4.4.1. Dilution.....	22
4.4.2. Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophile totaux à 30°C.....	23
4.4.3. Dénombrement des coliformes totaux et fécaux.....	24
4.4.4. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux.....	25
4.4.5. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	26
4.4.6. Recherche et dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	27

4.4.7. Recherche et dénombrement des <i>Clostridium sulfito réducteurs</i>	27
4.4.8. Recherche de <i>Salmonella</i>	28
4.4.9. Recherche et dénombrement des <i>Streptococcus thermophilus</i>	29
4.4.5. Recherche et dénombrement des <i>Lactobacillus Bulgaricus</i>	30
5. Yaourt Brassé	31
5.1 Méthodes d'analyses physicochimiques du yaourt brasse	31
5.1.1 Les Analyses physico-chimiques	31
5.1.1.1. Détermination de pH	31
5.1.1.2. Détermination de l'acidité	31
5.1.2 Les Analyses Bactériologiques	32
5.1.2.1 Préparation de la suspension mère	32
5.1.2.2. Dilution.....	32
5.1.2.3 Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles	33
5.1.2.4 Recherche et dénombrement des Coliformes	34
5.1.2.5. Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus auréus</i>	35
5.1.2.6. Recherche et dénombrement des levures et moisissures.....	36
5.1.2.7. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux	37
5.1.2.8. Recherche et dénombrement des <i>salmonella</i>	38
5.1.2.9. Recherche et dénombrement des <i>S c. thermophilus</i>	39
5.1.2.10. Recherche et dénombrement des <i>Lactobacillus Bulgaricus</i>	40

Chapitre II : Résultats et Discussions

1. Résultats des analyses physicochimiques pour le Lactosérum Doux	41
1.1 La Densité	41
1.2 L'indice de Réfraction.....	42
1.3 Taux de Cendre	43
1.3 Le pH.....	43
1.4 L'acidité	44
1.5 La matière sèche	45
1.6 Conductivité électrique.....	46
2. Les Analyses Bactériologiques du Lactosérum doux	48
2.1. Les aérobies mésophiles	48
2.2. Les Coliformes	48
2.3. Streptocoques fécaux	48
2.4. Levures et moisissures	49
2.5. Staphylococcus aureus	50
2.6. Clostridium sulfito-réducteur à 44°C	50
2.7. Salmonelle.....	51
2.8. Les bactéries lactiques.....	51
3. Les analyses physicochimiques du Yaourt Brassé.....	52
3.1 Le Ph	52
3.2. L'acidité	53
4. Les analyses Bactériologiques du yaourt brassé	54

4.1. Germes aérobies mésophiles	55
4.2. Les coliformes totaux	56
4.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	57
4.4. Levures et moisissures	57
4.5. Streptocoques fécaux	58
4.6. Salmonelles	59
4.7. Les bactéries lactiques (<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus Bulgaricus</i>	60
4.8. Clostridium Sulfito-réducteurs	61
Conclusion	
Référence bibliographique	
Annexes	

Introduction

INTRODUCTION

En Algérie, le secteur agricole et alimentaire occupe une place stratégique en matière d'alimentation de la population ; alors que l'amélioration de la sécurité alimentaire demeure un objectif glorieux à atteindre. Il occupe ainsi la troisième place dans l'économie du pays derrière le secteur des hydrocarbures, et constitue l'une des priorités du programme de développement économique et social. L'industrie laitière fait le noyau central du secteur par développement des recherches appliquées sur le lait.

Le lait est le produit le plus proche du concept « aliment complet » au sens physiologique. Il renferme la quasi-totalité des nutriments indispensables à l'Homme ; il joue un rôle nutritionnel important dans l'alimentation, en particulier chez les enfants durant la croissance (**BRAHIM, 1982**).

Le lactosérum, également appelé petit-lait ou sérum, est la partie liquide issue de la coagulation du lait. Le lactosérum est un liquide jaune-verdâtre, composé d'environ 94 % d'eau, de sucre (le lactose), de protéines et de très peu de matières grasses.

Longtemps considéré comme un sous-produit encombrant, généré en grandes quantités par l'industrie fromagère et polluante, de nouvelles technologies permettent, en 2018, d'en séparer les principaux constituants afin d'en tirer des ingrédients très élaborés, comme les concentrés de protéines de lactosérum. Ceux-ci sont incorporés dans des transformations agroalimentaires.

L'industrie de lactosérum a connu un essor très important ces dernières années dans les pays développés. Ce développement est lié d'une part au potentiel énorme de pollution provoqué par ce produit et d'autre part au fait que la majorité de sa matière sèche est constituée d'éléments à valeur nutritive élevée (**Moetta, 2002**). De par sa richesse en éléments nutritifs tels que le lactose, les protéines hydrosolubles, les vitamines, et les éléments minéraux.

le lactosérum constitue un excellent milieu de culture pour les microorganismes, ce qui fait de ce produit un facteur de pollution redoutable (**Agnes, 1986**).

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

INTRODUCTION

boulangère (**ALAIS, 1981**). Il est utile de noter que le lactosérum entre aussi dans les compositions des aliments pour divers animaux d'élevage (**BOUDIER., LUQUET, 1980**).

La transformation de lait par la voie microbienne est à l'origine du yaourt. Le yaourt est un produit fermenté d'origine animale à base de lait. sa fabrication fait intervenir des bactéries lactiques dont l'action conduit à la formation d'acide lactique à partir du lactose ou sucre du lait et d'arômes, la fermentation lactique permet d'acidifier le lait (diminution du pH) et d'empêcher la prolifération de la flore d'altération dans le lait, d'où l'amélioration de son aptitude à la conservation (**FREDOT, 2005**). Avec les progrès technologiques réalisés, le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture. C'est un produit consommé par tout le monde (**BOUBCHIR-HADJ K, 2011**). Le contrôle de la qualité des matières premières et des produits finis est maintenant généralisé. Les produits finis sont systématiquement contrôlés d'un point de vue microbiologique mais aussi physico-chimique. Cependant, il est constaté que les commerçants ne respectent pas toujours les conditions d'entreposages de ces produits, Cette pratique ne présente-t-elle pas de danger sur la santé du consommateur d'autant plus que les produits laitiers sont facilement altérables ?

Dans ce contexte notre travail est subdivisé en trois parties telles :

La première partie consiste à une synthèse bibliographique qui permettra de rappeler la composition du lactosérum doux et le yaourt et leurs utilisations.

La seconde partie expose les différents matériels et méthodes nécessaires pour réaliser les travaux de cette recherche.

La dernière partie est consacrée aux résultats obtenus et leurs discussions.

Chapitre 1
Lactosérum

I. Définition du 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 et al., 2003**). La production de 10-20 Kg de fromage donne 80 à 90 Kg de lactosérum (**Ilker et al., 2006**). Il est estimé que 40-50% du lactosérum est utilisé comme engrais, le reste étant employé principalement en tant qu'alimentation des animaux (**Yebo et al., 2006**).

II. 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 : celui résultant de la coagulation des laits non acides, par la présure, et qu'on appelle "lactosérum doux" et celui résultant, de la fabrication des fromages à pâtes fraîches, à pâtes molles ou de la caséine lactique appelle "lactosérum acide" (**Tableau.1**) (**Linden et al., 1994**).

Tableau.1 : Différents types de lactosérum (**Adrian et al., 1991**).

Degré d'acidité	Type	pH	Production
<18° D	Lactosérum doux	6,5 ± 6,7	-Fromagerie à pâte pressée - Fromagerie à pâte cuite - Caséinerie présure.
>18° D	Lactosérum acide	4,5 – 5,5	-Fromagerie à pâte fraîche - Fromagerie à pâte molle - Caséinerie acide

II.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, 1999**). La caséine est combinée à des sels de calcium, l'acidification entraîne sa déminéralisation qui fait passer dans le sérum une part importante d'élément minéraux, notamment le calcium et le phosphore

(Sottiez ,1990). Les lactosérums acides sont moins riches en lactose et plus riche en minéraux. Ils sont aussi plusensemencés en germes lactiques et moins sujets à des fermentations que les lactosérums doux (Moletta, 2002). Les teneurs élevées en acide lactique et en minéraux posent des difficultés pour la déshydratation; aussi les lactosérums acides sont souvent utilisés à l'état liquide alors que les sérums doux sont généralement déshydraté (Moletta, 2002).Le lactosérum acide provient de la fabrication des pâtes fraîches et des pâtes molles, son pH varie entre 4.5 - 5 (Adrian et al., 1991).

II.2. Lactosérum doux

Il est obtenu après la coagulation de la caséine sous l'action de la présure sans acidification préalable, on obtient alors un sérum doux, pauvre en sels minéraux et riche en lactose et en protéines. En plus des protéines solubles du lait, ce type de lactosérum contient une glycoprotéine qui provient de l'hydrolyse de la caséine Kappa par la présure (Sottiez, 1990, De La Fuente et al., 2002).

Lorsque le lactosérum de fromagerie n'est pas traité avec toutes les 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 et al., 1993).

III. Composition du lactosérum

Selon le procédé de coagulation et la composition initiale du lait, la composition du lactosérum peut varier sensiblement (Bergel et al., 2004). D'après ce tableau (tableau.2) on constate que les lactosérums sont riches en lactose et potassium. Dans le lactosérum acide une partie du lactose a été transformé en acide lactique ; les lactosérums doux sont pauvres en calcium (reste dans le cahier pour participer à la coagulation des protéines), alors que les lactosérums acides sont riches en calcium (Morr et al., 1993).

Tableau.2 : Composition moyenne du lactosérum doux et acide (Morr et al., 1993; Linden et al., 1994).

	LACROSETUM DOUX	LACTOSERUM ACIDE
PH	6.8	4.6
Eau	93	93,5
Lactose	4.77	4.71
Protéines	0.82	0.75
MG	0.07	0.03
Acide lactique	0.15	0.55
Cendres	0.53	0.69
Calcium	0.05	0.13
Sodium	0.07	0.06
Potassium	0.13	0.15
Phosphore	0.06	0.09

III.1 Lactose

Le lactose est le principal constituant du lactosérum de fromagerie (Luquet et François, 1990) c'est un diholoside constitué par l'union d'une molécule de α ou β - Dglucose et d'une molécule de β -D-galactose, ce qui est à l'origine de la présence de deux lactoses stéréo-isomères réducteurs. Le lactose caractérisé par : - une solubilité limitée. -un pouvoir sucrant faible. A titre d'exemple, le fructose a un indice de 170, le saccharose 100, le glucose 75 et le lactose seulement 17 comme tous les composants des aliments de l'homme et des animaux, le lactose présente d'abord un intérêt nutritionnel. Sa seule source importante dans la nature est le lait. Il est le seul sucre présentant une importance biologique déterminante pour la vie de l'être humain et de nombreux autres animaux. Il contribue à stabiliser le pH intestinal (Visser et al., 1988). En plus de son apport énergétique, le lactose est considéré comme un sucre de structure (Vrignaud, 1983). En effet, il intervient dans la fixation du calcium et sa consommation permet par conséquent de lutter contre le rachitisme (Visser et al., 1988). Une fois digéré il fournit du galactose qui est indispensable pour la constitution des cellules nerveuses des jeunes animaux. Bien d'autre, aspects positifs sont présentés par le lactose. Cependant, il peut présenter une intolérance physiologique chez certains individus déficients en lactase. En effet, le lactose ne peut être assimilé par l'organisme qu'après son hydrolyse en oses plus simples par une enzyme spécifique appelé lactase ou β galactosidase de l'intestin grêle (Chaput, 1979), or, la sécrétion de cette enzyme maximale au moment de la naissance, décroît rapidement jusqu'à devenir nulle s'il y a arrêt de la consommation du lait. Les populations des pays de tiers monde souffrent généralement de

mal nutrition et leur consommation en lait souvent très insuffisante même pendant leur jeune âge. Le tube digestif se trouve dans ce cas moins ou pas du tout en contact avec le lactose et par conséquent perd sa capacité de sécréter la lactase. Le manque de cette enzyme se traduit par des troubles intestinaux dû à la fermentation par la flore intestinale, ce qui provoque des diarrhées, vomissement et ballonnement (**Roger et al., 1976 ; Goursaud, 1986 ; Lorient, 1998**).

Pour remédier à ce problème, plusieurs auteurs suggèrent l'emploi des laits, et ses dérivés à lactose hydrolysé (**Goursaud, 1986 ; Lorient, 1998 ; Ryder, 1988**). Ainsi l'hydrolyse du lactose présente un intérêt nutritionnel évident pour les individus alactasique. En outre, elle présente un intérêt technologique certain. L'hydrolyse du lactose permet l'amélioration du pouvoir sucrant, l'augmentation de la solubilité qui se traduit par la faciliter de conservation ainsi que la simplification des techniques de concentration et de séchage ; Puisqu'il n'y a plus à contrôler une éventuelle cristallisation du lactose (**Kadri, 1985 ; Ryder 1988**).

III.2. Les minéraux

Bien que selon certaines pratiques fromagères, il y'a ajout de sel, ce dernier avec toutes les matières minérales en solution dans le lait se retrouve dans le lactosérum. Les 8 à 10% des matières salines de l'extrait sec de sérum sont constitués pour plus de 50% de chlorures de sodium et de potassium et pour le reste de différents sels de calcium, principalement sous forme de phosphate de calcium (**Vrignaud, 1983**). D'après **Méreo, 1971**, ces sels minéraux constituent en quelques sortes les éléments indésirables « du sérum ». En effet, il semblerait qu'une quantité relativement élevée constitue un obstacle à l'utilisation du lactosérum dans l'alimentation humaine et infantile. Elle est également un écueil pour les traitements technologiques, notamment en vue de préparation de lactose pur et des protéines. Il est donc avantageux de déminéraliser le sérum partiellement grâce à des techniques physico-chimique, telle que l'électrodialyse (**Linden et al., 1994**).

III.3. Les protéines du lactosérum

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

La seconde famille les protéines solubles constituée essentiellement de β lactoglobuline (β - LG), α lactalbumine (α -LA), l'albumine sérique bovine (BSA), les immunoglobulines (Ig) et les protéoses peptones (**Tableau.3**) [(De Wit, 1981); (De Wit & Hontelez, 1981) ; (De Wit, 1989)]. A l'échelle industrielle, ces protéines solubles sont extraites à partir du lactosérum, le lactosérum contient environ 1% de protéines (Morr et al., 1993).

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, 1990)

IV. Valorisation du lactosérum

IV.1. Introduction

La valorisation du lactosérum en alimentation humaine et en industrie chimique est pharmaceutique est rendu possible grâce aux craquages pour obtenir, par fractionnement des composée protéiques et glucidique [(Moletta, 2002; Chistansen et al., 2004)].

IV.2. 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 (tableauI.4) [(Morr et Ha., 1993) ; (Marshall et al., 1998) ; (Bergel et Joel, 2004) ; (Firebaugh 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, en particulier en tant que texturant, foisonnant ou ingrédient nutritionnel [(Damodaran, 1997) ; (Mollet, 2002)].

Tableau 3 Application des protéines de lactosérum (Linden *et al.*, 1994).

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

IV.3. 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) (Zadow, 1989).

IV.4. 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 (**Zadow, 1989**). L'ensemble des procédés de fermentation du lactosérum montre que le système de production d'acide lactique est l'un des plus avantageux.

➤ **Substrat de fermentation**

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 (**Alais, 1975**) :

♣ **Les bactéries** : à titre d'exemple *Lactobacillus casei* pour la production d'acide lactique. (**Morabito, 1994**)

♣ **Les moisissures** : à titre d'exemple *Penicillium camemberti* producteur de protéases (**Mechakra et al., 1999**).

V. Pouvoir polluant du lactosérum

Pendant longtemps, le lactosérum constitue un effluent de l'industrie fromagère. Par sa composition riche en matière organique, son rejet dans l'environnement constitue une source de pollution à cause de sa demande biochimique en oxygène qui est très élevée entre 32000 à 60000 mg d'O₂/L, (**Cheryan, 1998**). Le lactosérum engendre une pollution organique importante soit : 1 litre correspond à environ 85% de la pollution journalière générée par un habitant (**Laplanche et al., 2006**). Plusieurs opérations membranaires sont proposées pour le traitement des effluents des laiteries telles que les opérations à un seul étage comme l'ultrafiltration (UF) (**Blanchard, 1991**), nano filtration (**Koyuncu et al., 2000**). Le coût de traitement de lactosérum en station d'épuration élève le prix de revient des spécialités fromagères issues du lait. L'épandage est également une destination envisagée mais les volumes annuels produits (on parle de 100 millions dans le monde) satureront vite cette solution. Enfin si on se réfère à la composition du lactosérum, on y retrouve des composés d'intérêt ; d'où la possibilité de valorisation (**Bergel et al., 2004**).

Chapitre 2
Le Yaourt

1. Les laits fermentés

1.1. Généralités

Il existe dans le monde une très grande variété de laits fermentés obtenus principalement à partir de lait de vache, mais aussi du lait de chèvre, de brebis, de bufflesse, d'ânesse et de chamelle. La dénomination « lait fermenté » est réservée au produit laitier préparé avec des laits écrémés ou non ou des laits concentrés ou en poudre écrémés ou non, enrichis ou non en constituants du lait (**LUQUETF. et CARRIEU., 2005**). Les laits fermentés constituent un mode d'utilisation du lait très ancien. Leur fabrication s'est industrialisée et la consommation s'est développée considérablement, depuis une vingtaine d'années, dans la plupart des pays. (**TREMOLIERES. et al., 1980**).

Les laits fermentés ont un effet bénéfique sur la santé humaine. Ils sont en effet utilisés comme ferments lactiques pour remédier aux troubles gastro-intestinaux. Les divers laits fermentés n'ont pas une longue durée de conservation ; on doit les garder à une température inférieure à 10°C (**CHEFTEL. et CHEFTEL., 1977**).

1.2. Définition et réglementation

Selon la réglementation française, un lait fermenté est un produit laitier composé exclusivement de matières premières d'origine laitière (lait et constituants du lait), ayant subi une pasteurisation et une fermentation par des micro-organismes spécifiques et caractérisé par une teneur en acide lactique minimale (0.6%). Il peut être additionné de certains ingrédients lui conférant une saveur spécifique (sucre, arôme, préparations de fruits), à condition que cette addition n'excède pas 30% du poids du produit fini (**JENTET. et al., 2007**).

2. Le yaourt :

2.1. Historique :

Les laits fermentés sont consommés depuis la plus haute antiquité. En particulier par certaines populations orientales (Asie, Europe centrale). Le yaourt s'est répandu dans les pays occidentaux aux débuts du XX^e siècle après les travaux de Metchnikov 1907 (**JEANTET. et al., 2008**). Dans le sillage des découvertes de Louis Pasteur sur la fermentation lactique, de nombreux chercheurs se sont intéressés aux microorganismes présents dans le lait. En 1902, RIS et KHOURY, deux médecins français, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien, **MECHNIKOFF (1845 -1916)** isole ensuite la bactérie spécifique du yaourt "le bacille bulgare", analyse l'action acidifiante du lait caillé et régulier (**ROUSSEAU., 2005**). De nombreux autres produits sont arrivés par la suite sur le marché : laits fermentés probiotiques, laits fermentés de longue conservation (pasteurisés, UHT, lyophilisés ou séchés)

et produits plaisirs (à boire, pétillants ou glaces). Dans les années (1960 -1970), sont apparus les produits sucrés puis aromatisés sur le marché. L'apparition du yaourt brassé a constitué une autre étape importante de la commercialisation des laites fermentées. En outre, le développement commercial des produits probiotiques est important et correspond à une demande du consommateur. (MAHAUT . et al., 2000).

2.2. Définitions

Les laits fermentés peuvent être classés en catégories selon les micro-organismes impliqués dans la fermentation, leur teneur en matière grasse, le lait utilisé pour leur fabrication, leur texture ou leurs arômes. Dans tous les cas ils sont considérés comme des produits laitiers frais et doivent à ce titre présenter une durée de vie limitée et être maintenus au froid (ANONYME, 2009). Selon la norme AFNOR NF V01-800 de l'année 2001 l'appellation yaourt est réservée aux produits fermentés avec les deux seules bactéries lactiques thermophiles

Lactobacillus bulgaricus et *Streptococcus thermophilus* présentant une teneur en acide lactique minimale de 0,7% et contenant au moins 10 millions de bactéries vivantes par gramme de produit au moment de la vente aux consommateurs (LUQUET., 1985).

3. Composition de yaourt

Tableau N° 04 : Composition moyenne d'un yaourt (TOME., 2002).

La composition	Les valeurs pour 100g
Apport calorique	42 à 115 kcal
Glucides	4-18g
Protéines	2.8-4.3g
Lipides	0-3.5g
Calcium	150mg
Phosphore	110mg
Sodium	60mg
Eau	80-90%

La composition en acides aminés indispensables confère aux protéines lactières une très bonne valeur nutritionnelle. Les vitamines A et D ne sont présentes que dans les produits issus de lait entier. Le rapport calcique /phosphore est de 1,5 ce qui est excellent (FREDOTE., 2005).

La qualité d'ingrédients non laitiers est fixée par le CA, la FIL et la plupart des pays à moins de 30% en poids du produit fini (AMELLAL., 2008).

4. Classification des différents types de yaourts

4.1. Selon la teneur en matière grasse

Yaourt entier

Comme sa dénomination on l'indique, ce yaourt est à base de lait entier, sa teneur en matière grasse est de 3,5% (35 g/l), c'est un yaourt très onctueux et crémeux (FREDOT.,2005)

Yaourt partiellement écrémé

Le yaourt partiellement écrémé est le plus fréquemment consommé. Il s'agit du yaourt fabriqué à partir de lait partiellement écrémé, il contient 1% de matière grasse (10 g/l), à 3% (30 g/l) (FREDOT., 2005).

Yaourt maigre

C'est un yaourt préparé à partir de lait écrémé, le yaourt maigre à une consistance gélifiée. Il est moins moelleux il ne contient plus de vitamines A et D, sa teneur en matière grasse au maximum 1% (10 g/l) (ANONYME, 1995).

- Selon leur teneur en matières grasses Les yaourts maigres: > 1 % de matières grasses.
- les yaourts ordinaires naturels : 1 % minimum de matières grasses.
- les yaourts au lait entier : 3,5 % de matières grasses (HADDAD., 2002).

4.2. Selon leur goût

- Les yaourts nature : ils ne subissent aucune addition.
- Les yaourts « sucrés » : ils sont additionnés de sucre.
- Les yaourts « aux fruits », « au miel », « à la confiture » : ils subissent une addition inférieure à 30 % de ces différents produits (FREDOT.,2005). Les yaourts « aromatisés » : ils contiennent des arômes naturels renforcés par un produit de synthèse (FREDOT ., 2005).

4.3. Selon leur texture

Les yaourts étuvés Dont la fermentation a lieu en pots. Les pots sont maintenus dans une enceinte à 40 - 45 °C puis refroidis à 4 °C... On obtient ainsi les yaourts dits '« traditionnels » à surface lisse(LAMBALLAIS., 1989).

Les yaourts brassés

Dont, la fermentation a lieu en cuve. Leur conditionnement en pot se fait avant ou après refroidissement. Le transfert du yaourt de la cuve dans les pots détruit la texture ferme du caillé, on obtient ainsi des yaourts plus liquides. (LAMBALLAIS C-M., 1989).

5. Caractéristiques sensorielles

Saveur

Le yaourt doit avoir la saveur caractéristique pour chaque type de présentation et ne pas avoir un goût excessivement acide en raison d'une sur maturation, une saveur amère ou toute autre saveur étrange.

Odeur

Le produit doit avoir l'odeur caractéristique de chaque type de présentation et être dépourvu d'odeur étrange.

Couleur

Le yaourt naturel doit être de couleur blanche ou légèrement jaunâtre ; les autres produits doivent avoir la couleur caractéristique de chaque type de présentation. Aspect. Le yaourt dans tous ses types de présentation doit avoir un aspect de coagulum uniforme, dépourvu de grumeaux et/ou de bulles et de petit-lait séparé. Le produit avec fruits doit avoir un aspect caractéristique avec les fruits uniformément répartis (ALVAREZ., 2003).

6. Les bactéries caractéristiques du yaourt

D'après DELLAGLIO. (1988). Les bactéries lactiques sont considérées comme étant « Le centre moteur » de toute l'industrie laitière. La technologie du yaourt est basée sur la mise en œuvre simultanée de deux espèces de bactéries lactiques *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* (VIGNOLA.,2002).

6.1. *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*

Lactobacillus est le genre principal de la famille des *Lactobacillaceae*. *Lb. Delbrueckii subsp. bulgaricus* est une bactérie lactique largement utilisée en industrie alimentaire. C'est un bacille Gram positif, immobile, asporulé, microaérophile, il est isolé sous forme de bâtonnets ou de chaînettes (BOUBCHIR., 2011). Il ne produit que de l'acide lactique au cours de la fermentation de lactose.

Lb. Delbrueckii subsp. Bulgaricus est une bactérie très exigeante en calcium et en magnésium et thermophile, sa température optimale de croissance est d'environ de 45 à 50 °C en acidifiant fortement le lait jusqu'à 1.8 % (pH voisin 4.5) (FAO, 1995). Cette bactérie a un rôle essentiel dans le développement des qualités organoleptiques et hygiéniques du yaourt (MARTTY. et al., 2000).

6.2. *Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus*

St. Salivarius subsp. Thermophilus est largement utilisé dans la production des produits lactés et fromages. C'est une cocci Gram positif, anaérobie facultatif, non mobile (ROUSSEL Y. et al., 1994). Il est isolé exclusivement du lait et des produits laitiers sous formes de coques disposées en chaînes de longueurs variables ou par paires. Sa température optimale de croissance varie entre 40 et 50 °C (LAMOUREUX, 2000). Le rôle principal du *St. Salivarius subsp. thermophilus* est la fermentation du lactose du lait en acide lactique et en plus de son pouvoir acidifiant, elle est responsable de la texture dans les laits fermentés. Elle augmente la viscosité du lait par production de polysaccharides (BERGAMAHER, 2002).

Procédé de fabrication de yaourt

1.1. Matières premières et ingrédients

La principale matière première pour la fabrication des yaourts est le lait dont, pour l'essentiel, le lait de vache. Il est constitué d'environ 88% d'eau et de 12 % de matière sèche contenant des glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (TAMIME. et ROBINSON., 1985).

1.2. Etapes de fabrication

1.2.1. L'arrivée du lait à l'usine

Le lait est collecté chaque jour dans les fermes pour être amené à l'usine grâce à des camions citernes de 20 000 litres. Dès l'arrivée du camion des prélèvements sont effectués. Des tests permettent de s'assurer de la bonne qualité du lait avant sa transformation. On recherche par exemple la trace d'antibiotiques qui auraient été administrés aux vaches. Le lait est ensuite refroidi et stocké dans des cuves avant son utilisation (**MARCILLE., 2003**).

1.2.2. Standardisation

Le lait de vache est constitué d'eau, de lactose, de matières grasses, de matières azotées protéiques (caséines et protéines sériques), non protéiques, et de minéraux. Sa composition moyenne peut varier selon la race, l'alimentation, et le stade de lactation de l'animal. En fabrication de yaourt, le lait doit être standardisé en matières grasses, enrichi en protéines, et éventuellement sucré, pour répondre aux spécifications nutritionnelles et organoleptiques des produits (**BEAL et SODINI., 2006**).

1.2.3. Homogénéisation

Elle a principalement des effets sur deux composantes du lait, soit la matière grasse et les protéines. Le tableau N°03 donne les causes possibles d'homogénéisation inadéquate d'un mélange et les incidences sur la qualité du yaourt.

Partie
Expérimentale

1. Objectifs de travail :

L'objectif de notre travail base sur : Une étude physico-chimique et microbiologique du lactosérum doux de lait de vache et le yaourt brassé a des différentes températures en fonction du temps.

2. Lieu et période de travail :

Notre travail expérimental a été effectué au niveau des laboratoires de technologies alimentaire 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 15-05-2019 jusqu'au 15-06-2019.

3. Matériels

3.1. Matières premières utilisés

- **Lait de vache cru**

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

- **Lactosérum**

Nous avons préparé 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 :

<p>Matériels</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Four - 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"> - Autoclave - Balance - Barreau magnétique - Etuve - Glacière - Réfractomètre - Thermomètre - Bec benzène - Chronomètre - Pince en bois - Pycnomètre - Papier filtre - Seringue graduée
<p>Verreries</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Béchers - Boîtes de pétris - Entonnoirs - Flacon en verre - tubes à essai 	<ul style="list-style-type: none"> -Erlenmeyers - Burettes graduée - Eprouvette - pipettes graduées
<p>Produits chimiques</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Les solutions tampon -NaOH -Eau distillée - Phénolphtaléine -Solution de jaune d'œuf -Tellurite de potassium -Ampoule d'alun de fer-Ampoule de Sulfite de Sodium 	
<p>Milieus de culture (Annexe N°01)</p>	<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

Méthodes

4. Lactosérum doux

4.1. Protocole expérimental

Le protocole expérimental est présenté dans la figure ci-dessous

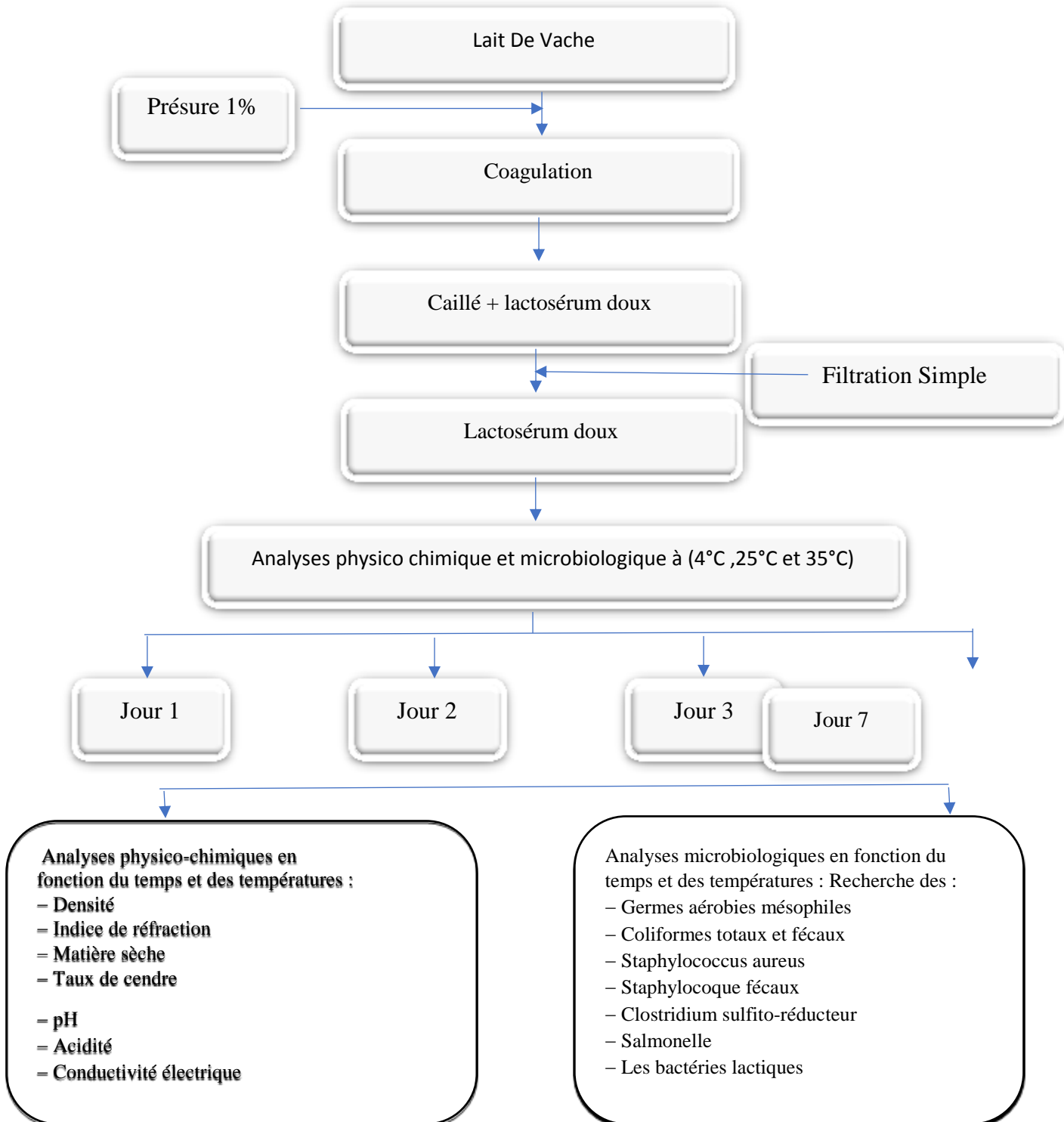


Figure N° 01 : Protocole Expérimental

4.2. Préparation du lactosérum doux :

- Prélever 100 ml de lait de vache ;
- Préparer une solution de la présure 1% (1 g 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 30°C pendant 24 heures ;
- Séparer le lactosérum doux par filtration simple ;
- Conserver le lactosérum à température (4°C) jusqu'à son utilisation.

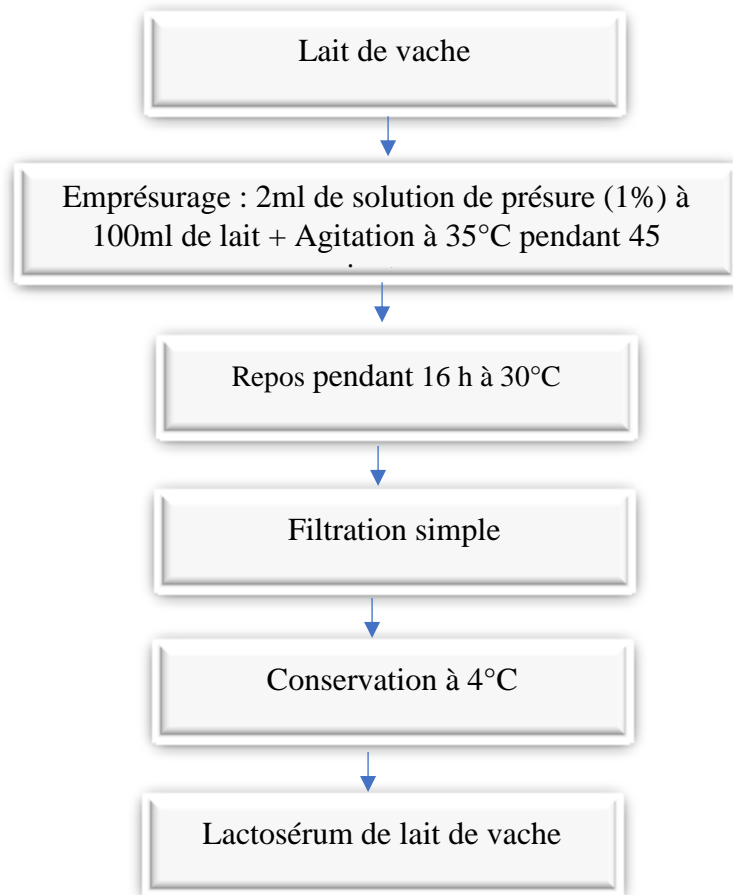


Figure N°02 : Schéma de la préparation du lactosérum doux.

Matériels et méthodes

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 :

$$D = \frac{P_1 - p}{p_0 - p}$$

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

P₁ : le poids du pycnomètre plein d'échantillon (LDV).

P : le poids du pycnomètre vide.

P₀ : le poids du pycnomètre plein d'eau distillée.

4.3.1.2. 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 égal à 1.333 à 25⁰C ;
- ✓ 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.

4.3.1.3. 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) :

$$MS = (M1 - M0) \cdot 1000 / V \text{ g/L}$$

D'où :

MS : Matière sèche en g/L du lactosérum doux.

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

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

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

4.3.1.4. 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 organiques 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 séché dans le dessiccateur.

Mode de calcul

La teneur en cendre est calculée par la formule suivante :

$$TC (g/l) = (M1 - M0) \cdot 1000 / v$$

TC : Teneur en cendre (g/l) ;

M0 : Masse en gramme de la capsule vide ;

M1 : Masse en gramme de la capsule après la mise en four ;

V : 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 phénolphaléine et tirer jusqu'à l'apparition d'une couleur rose persistante ;
- Noter le volume de solution tirant utilisée en ml.

Mode de calcule

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

$$A=V_1.10/V_0$$

D'où :

A : Acidité exprimée en (g) d'acide lactique par (1) du lactosérum ;

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

V₁ : 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.

4.4. Méthodes d'analyses Bactériologiques

Dans cette expérimentation le lactosérum est considéré comme suspension mère.

4.4.1. Dilution

But

Un produit peut contenir un nombre de bactérie très important très nombreuses, jusqu'au 290 000 par cm³. On comprendra facilement que 1 cm³ 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 (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 opération s'effectue de la même manière afin d'obtenir une dilution 10⁻³ (**PETRANSXIENE et LAPIED, 1981**).

4.4.2. 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 effectifs dégrader 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 °C ± 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 paillasse, 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 37 °C pendant 72 h avec:
- Première lecture à 24 h.
- Deuxième lecture à 48 h.
- Troisième lecture à 72 h.

Matériels et méthodes

Lecture :

Les colonies des GAMT se présentent sous forme lenticulaire en masse. Retenir les boîtes contenant moins de 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives, 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.

$$N = \frac{\sum C}{(n1 + n2)d}$$

Ou :

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

n1 : nombre des boîtes comptées dans la première dilution.

n2 : nombre des boîtes comptées dans la deuxième dilution.

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

4.4.3. 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

Matériels et méthodes

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 °C ± 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.

4.4.4. 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 décrit dans l'exposé de la colimétrie en milieux liquide (**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**).

4.4.5. Recherche et dénombrement des levures et moisissures

But

Le dénombrement de cette flore fongique permet d'apprécier la capacité de conservation des produites laitières (**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

Matériels et méthodes

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 boîtés 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**).

4.4.6. 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

4.4.7. 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 5ml de solution mère seront soumis : D'abord à un chauffage à 80 °C pendant 10 min, Puis à un refroidissement immédiat sous courant d'eau (choc thermique), dans le but d'éliminer les formes végétatives et garder uniquement les formes sporulées. A partir de ces conditions, ajouter environ 15 ml de gélose VF prêt à l'emploi. Ajouter en suite 0.5ml de Sulfite de Sodium et 0.1ml d'alun de Fer. Laisser sur la paillasse pendant 30 min. (BOURGOIE C.M et al., 1996).

Incubation

Ces tubes seront ainsi incubés à 44 °C pendant 24h.

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

Matériels et méthodes

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 réincuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24 h voire 48 h (JOFFIN et JOFFIN, 1999).

4.4.8. Recherche de *Salmonella*

Les salmonelles sont des entérobactéries bacilles à gram négatif, mobiles, anaérobies facultatifs 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 préenrichissement 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 perpendiculaires 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.

4.4.9. 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

Résultat

Au terme de ce processus, les bactéries à Gram (-) apparaissent roses et les bactéries à Gram (+) violettes Afin de déterminer leurs caractères cultureux (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).

4.4.10. 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).

5. Yaourt Brassé

5.1 Méthodes d'analyses physicochimiques du yaourt brasse

5.1.1 Les Analyses physico-chimiques

5.1.1.1. Détermination de pH

Principe

La mesure du pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du yaourt, l'action de bactérie lactique conduit donc à un abaissement du pH Cette méthode décrite la mesure électrométrie du pH mètre du produit à analyser (GOURSAUD., 1985).

Mode opératoire

Etalonner le pH mètre avec les solutions tampons ;

- Mettre le yaourt dans un bécher, plonger l'électrode de pH ;
- Lire les résultats.

5.1.1.2. Détermination de l'acidité

Principe

La détermination de l'acidité de yaourt permet d'apprécier la quantité d'acide produite par les bactéries, ou d'éventuelles fraudes (alcalinisation). L'acidité normale du yaourt est comprise entre 75 et 100 °D (LARPENT., 1997).

Mode opératoire

L'échantillon est amené à une température de 20-25°C puis mélanger. 10g de l'échantillon est placé dans un bécher de 50 ml additionné de 10ml d'eau et mélanger. Le mélange est ainsi titré avec du Na OH à 0,1N jusqu'au pH 8,30. Le volume de Na OH ainsi obtenu est noté en ml puis les résultats sont exprimés selon le calcul suivant :

$$D \text{ (g/l)} = (V \times 0,9) / m$$

V : volume en ml de Na OH

m : masse de la prise d'essai en g

0,9 : facteur de conversion pour l'acide lactique.

D : acidité exprime en (g) d'acide lactique par (l) de produit.

5.1.2 Les Analyses Bactériologiques

A l'arrivée au laboratoire près de bec benzène après la stérilisation de la paillasse a l'aide d'un chiffon Javellisé, on a préparé les suspensions mères du yaourt.

5.1.2.1 Préparation de la suspension mère

Afin d'analyser chaque qualité de yaourt, nettoyer la surface du pot avec l'alcool pour éviter toute contamination extérieure, puis homogénéiser le contenu à l'aide d'une spatule stérile, peser 10g de yaourt puis verse dans un flacon stérile et ajouter 90ml d'eau physiologique, agiter le mélange qui sert comme suspension mère (SM).

5.1.2.2. Dilution

But

Un produit peut contenir de très nombreuses bactéries, par exemple 290 000 par cm³. On comprendra facilement que 1 cm³ de ce produit, placé dans un milieu de culture d'une boîte de Pétri, ne permettra pas de compter 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 de la pipette de 10ml, prélever et introduire 9 ml de diluant dans chacun des 07 tubes de 20 x 200 mm ;
- Homogénéiser convenablement (manuellement ou mécaniquement) le produit à examiner ou sa 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 1/10(-1) ;
- Introduire dans un deuxième tube contenant 9ml de diluant : ainsi s'obtient une dilution (-)
- 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**).

Tableau N°05 : Analyses microbiologiques

Microorganisme	Milieu de culture Incubation	Qualité Dilution
Germes aérobies mésophiles	PCA 37 °C à 48 h	1ml, -1, -2
Coliformes totaux	VRBL 37 °C à 48 h	1ml -1, -2
Coliformes totaux	VRBL 44 °C à 48 h	1ml -1, -2
Staphylococcus aureus	BP 48 h à 37 °C	-1.-2 -3
Levure et moisissures	OGA 20 à 25 °C, 4 à 5 jours	-1.-2 -3
Streptocoques fécaux	Rothe 37 °C à 48 h	1ml -1, -2
Salmonella	S-S	1ml S M
Streptococcus thermophilus	M 17 37 °C à 48 h	-1-2-7
Lactobacillus Bulgaricus	MRS 30 °C à 48h	-1-2-7

5.1.2.3 Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles

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.

Principe

Le dénombrement de ces germes se fait en profondeur sur le milieu PCA (GUIRAUD .,1998).

Mode opératoire

A partir des dilutions décimales de 10^{-1} et 10^{-2} , porter aseptiquement 1 ml dans deux boîtes de pétri vides préparés à cet usage et numérotées. Compléter ensuite avec environ 20 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$: le choix des milieux dépend de la nature des denrées à analyser. 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.

Matériels et méthodes

- d- Incubation Les boites seront incubées en bas à 30°C pendant 72 heures avec :
- Première lecture à 24 heures.
 - Deuxième lecture à 48 heures.
 - Troisième lecture à 72 heures.

Lecture

Retenir les boites contenant moins de 300 colonies, au niveau de deux dilutions successives, il faut qu'une boite 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.

$$N = \sum C / (n_1 + 0,1 \cdot n_2) d$$

Ou :

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

n_1 : nombre des boites comptées dans la première dilution.

n_2 : nombre des boites comptées dans la deuxième dilution.

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

5.1.2.4 Recherche et dénombrement des Coliformes

But

L'intérêt de ces manipulations est de déterminer pour le produit teste une contamination fécale et d'apprécier l'ampleur. Les coliformes thermos tolérants survivent difficilement hors de l'intestin traduisant donc une contamination fécale récente (**JOFFIN. et JOFFIN., 1999**).

Principe

Le dénombrement de ces germes se fait en profondeur sur le milieu VRBL (**GUIRAUD.,1998**).

Mode opératoire

A partir des dilutions décimales de 10⁻¹ et 10⁻², porter aseptiquement une fois 1 ml dans une boite de Pétri vide préparée à cet usage. Compléter ensuite la boite environ 20 ml de gélose VRBL ou VRBG, fondue puis refroidie à 45 ± 1°C. Faire ensuite des mouvements

Matériels et méthodes

circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée.

Incubation

– La boîte sera incubée à 37°C, pendant 24 à 48 heures et servira à la recherche de Coliformes totaux.

– L'autre série incubée à 44°C pendant 24 à 48 heures et servira à la recherche des Coliformes fécaux.

e- Lecture Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs de dilution, de plus :

– Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 15 et 150 colonies (**PETRANSXIENE. et LAPIED., 1981**).

– Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

– Faire ensuite la moyenne arithmétique par l'inverse de sa dilution.

– Les Coliformes sont alors colorées en rouge violet foncé et doivent avoir également 0,5 mm de diamètre.

5.1.2.5. Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

But

La recherche et le dénombrement des *Staphylococcus aureus*, les seuls à produire éventuellement une entérotoxine protéique cause d'intoxications alimentaires, permettent donc de savoir si l'aliment présente des risques pour le consommateur.

Principe

Les staphylocoques sont dénombrés sur la gélose de Baird Parker additionnée au jaune d'œuf et au tellurite de potassium (**LABIOUI. et al., 2009**).

Mode opératoire

Introduire aseptiquement 0,1 ml de solution mère ou des dilutions sur des boîtes de pétri contenant de milieu de Baird Parker et étaler l'inoculum à l'aide d'un râteau stérile sur la surface.

d- Incubation L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures (**PETRANSXIENE. et LAPIEDL., 1981**).

Lecture

Les colonies apparaissent noires avec un halo clair. On ne peut pas apercevoir des rands opaques se développant dans les halos clairs avant 48 h d'incubation (**MERCK, 1986**)

5.1.2.6. 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 et on étalement sue milieu sélectif en surface (**LARPENT., 1997**).

Incubation

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

Lecture

Ne retenir que les boîtés 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**).

Identification

- Coloration au bleu de méthylène

Principe

La coloration au bleu de méthylène est intéressante pour l'observation rapide des frottis, mais elle permet seulement l'étude de la morphologie des bactéries (**RIGHL., 2006**).

5.1.2.7. 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., 2001**).

Principe

Les principes généraux de cette méthode sont ceux décrit dans l'exposé de la colimétrie en milieux liquide (**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., 2005**).

- Test confirmatif

Tous 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**).

5.1.2.8. Recherche et dénombrement des *salmonella* But

D'après **LECLERC H et al. (1976)**, le groupe des pathogènes comprend les *salmonella* agents des fièvres typhoïdes et des gastro-entérites d'origine hydrique ou alimentaire. Leur recherche et leur identification permettent donc de montrer le danger possible d'un produit.

Principe

Le nombre d'étant en général faible dans le produit, il est nécessaire de procéder à un pré-enrichissement et un enrichissement dans milieu sélective à température 43°C. L'isolement de salmonella et ensuite réaliser sur milieu sélective S-S (**JOFFIN. et JOFFIN., 1999**).

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

Lecture

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 verdâtre (MARCHAL. et BOURDON 1973).

5.1.2.9. Recherche et dénombrement des *S. c. 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 ci 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

- Coloration de Gram

Principe

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

Matériels et méthodes

Au terme de ce processus, les bactéries à Gram (-) apparaissent roses et les bactéries à Gram (+) violettes (**LEYRAL et VIERLING., 2001**). 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).

5.1.2.10. 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 1 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**).

Résultats & Discussion

Résultats et discussion

Pour caractériser les différents échantillons du lactosérum doux prélevés au niveau du laboratoire, l'évolution du changement des paramètres physicochimiques a 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 analyses physicochimiques pour le Lactosérum Doux :

1.1 La Densité

Les résultats obtenus au cours de notre travail sont représentés dans la figure suivante :

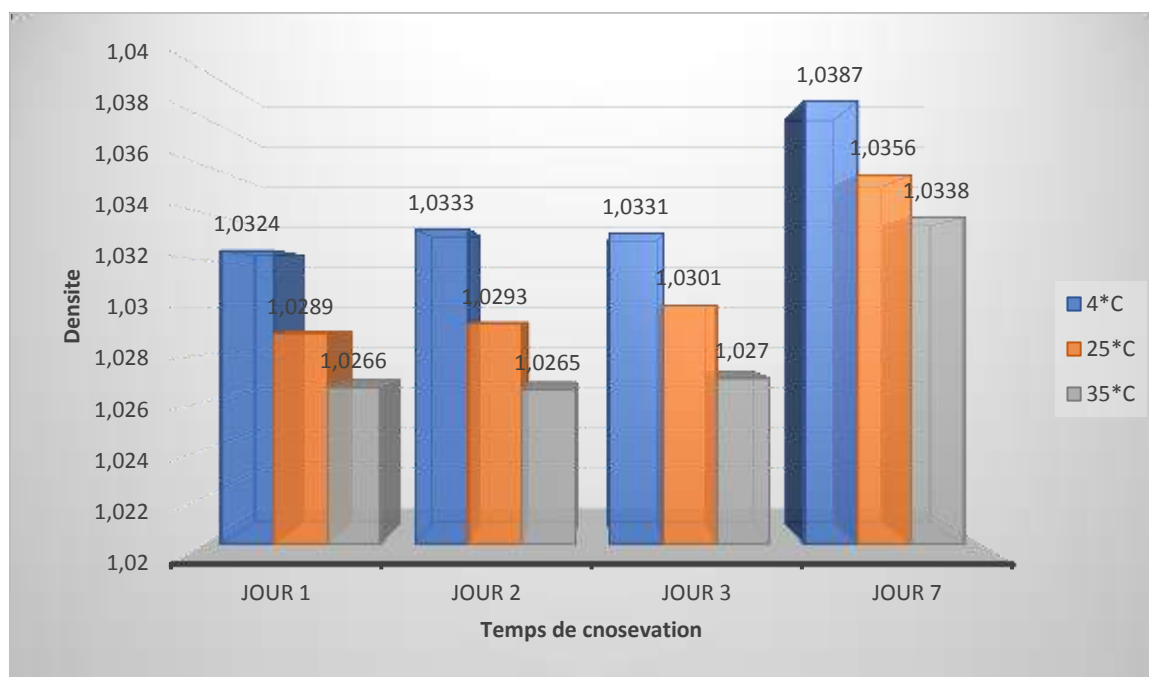


Figure N°03 : Evolution des valeurs de densités en fonction de la température au cours du temps

Les valeurs de la densité des échantillons conservés au cours de 1, 2, 3 et 7 jours se rapprochent. Par contre on remarque une Augmentation 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 et LUQUET ., 1980),

1.2 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 continu 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**).

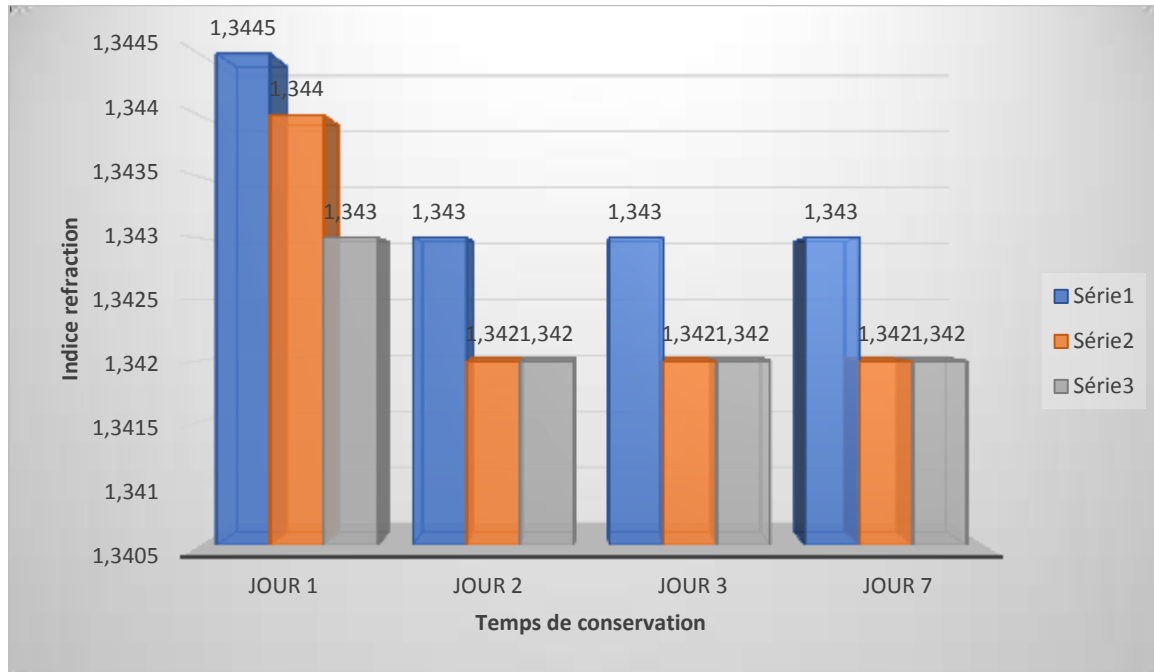


Figure N°04 : Evolution des valeurs l'indice de réfraction en fonction de la température au cours du temps

1.3. Taux de Cendre

Au regard de la figure ; les valeurs moyennes des cendres trouvées au niveau des échantillons conservés à **4, 25, 35°C** pendant 1jour sont respectivement (**7.2-7.1-6.9g/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 varie en fonction de la teneur du lactosérum en matière minérale.

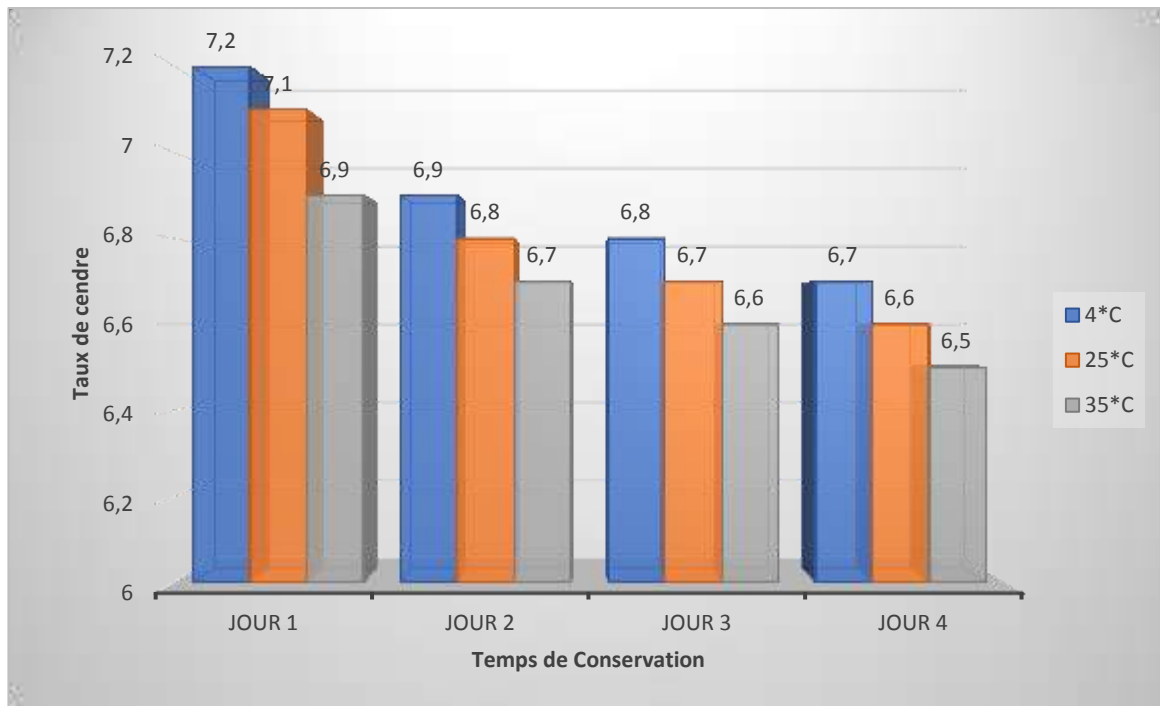


Figure N°05 : Evolution des valeurs de taux des cendres en fonction de la température au cours du temps

1.3 Le 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 3 et 7jours.
- Aux alentours de la norme (25°C ,35/1 2 et 3 jours).
- Inférieur à la norme (35°C 3 et 7jours). Ces résultats semblent normaux puisqu'au cour du temps et à des hautes températures la dégradation des composants du lactosérum s'accroît.

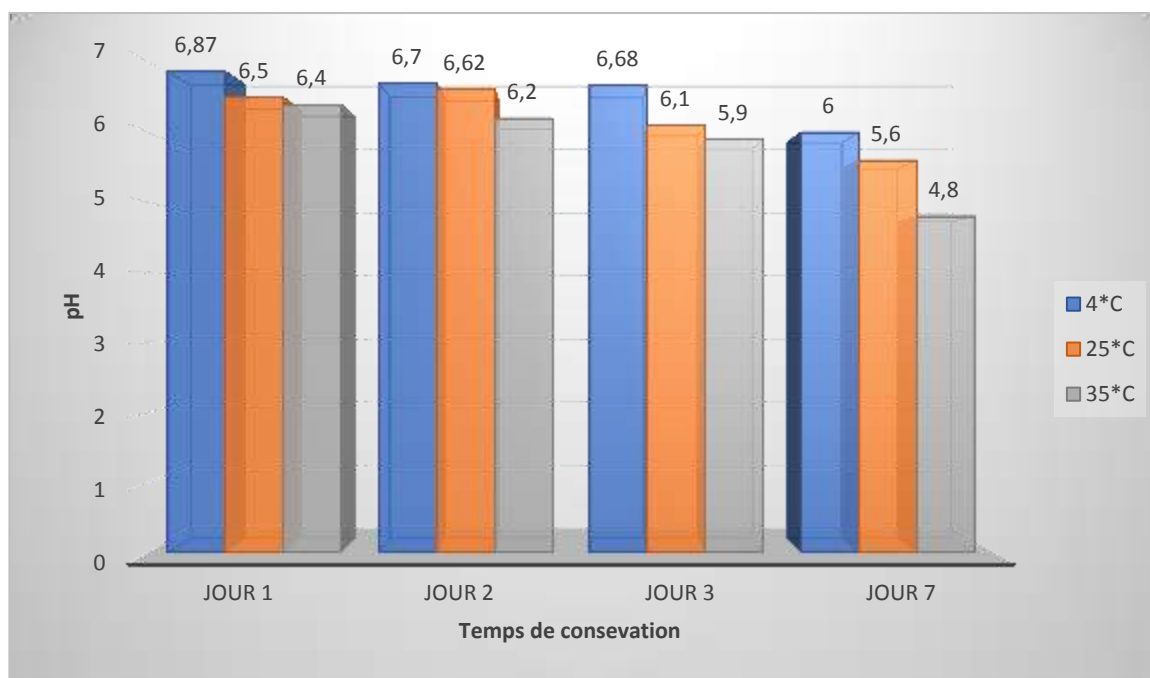


Figure N°06 : Evolution des valeurs du pH en fonction de la température au cours du temps

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, 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.

1.4 L'acidité

Il est à noter que pour les échantillons conservés à 4°C, 25°C et 35°C /J1, J2, J3 l'évolution de l'acidité au cours de la conservation reste dans l'ensemble conforme aux normes requises ($\leq 18^\circ\text{D}$), il n'en n'est pas de même pour les échantillons conservés à 35°C /J3 et J7, où les normes relatives à l'acidité sont dépassées. 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**).

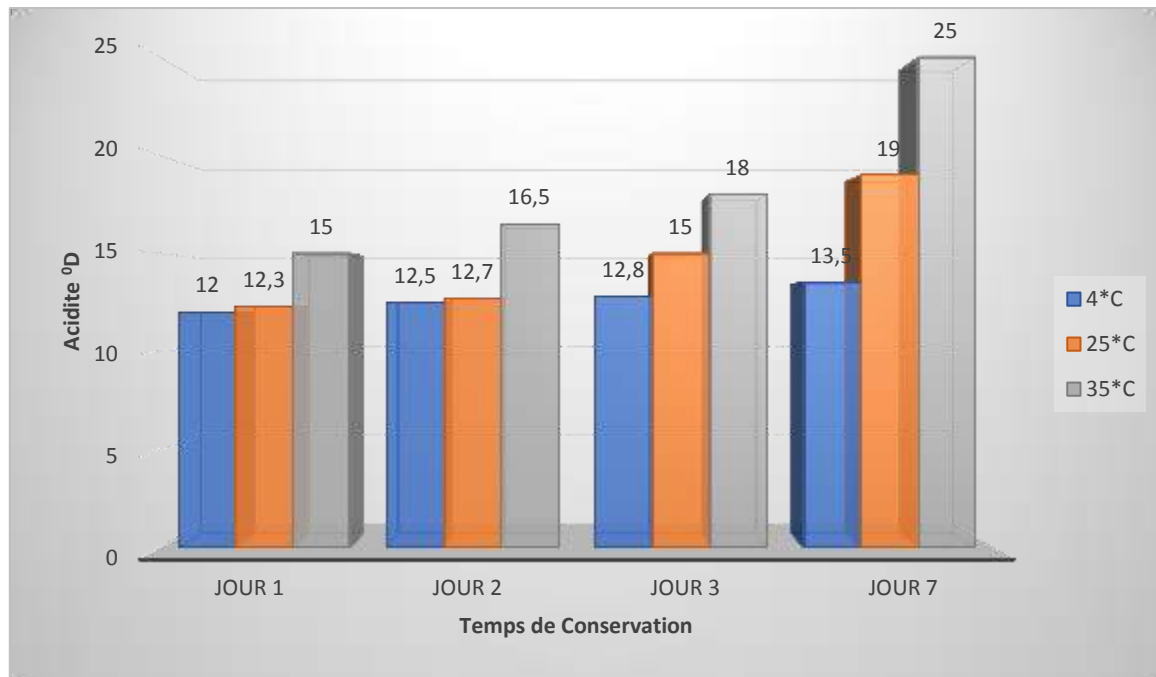


Figure N°07 : Evolution des valeurs de l'acidité en fonction de la température au cours du temps.

1.5 La matière sèche

La figure ci-dessous nous montre que les teneurs en matière sèche de nos échantillons augmentent 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 57.6 et une valeur minimale estimée à 49.2g/l, tandis qu'à 25°C elle varie entre 79.8 et 86.5g/l ainsi à 35°C une augmentation des valeurs obtenues dont on obtient 81-92g/l.

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

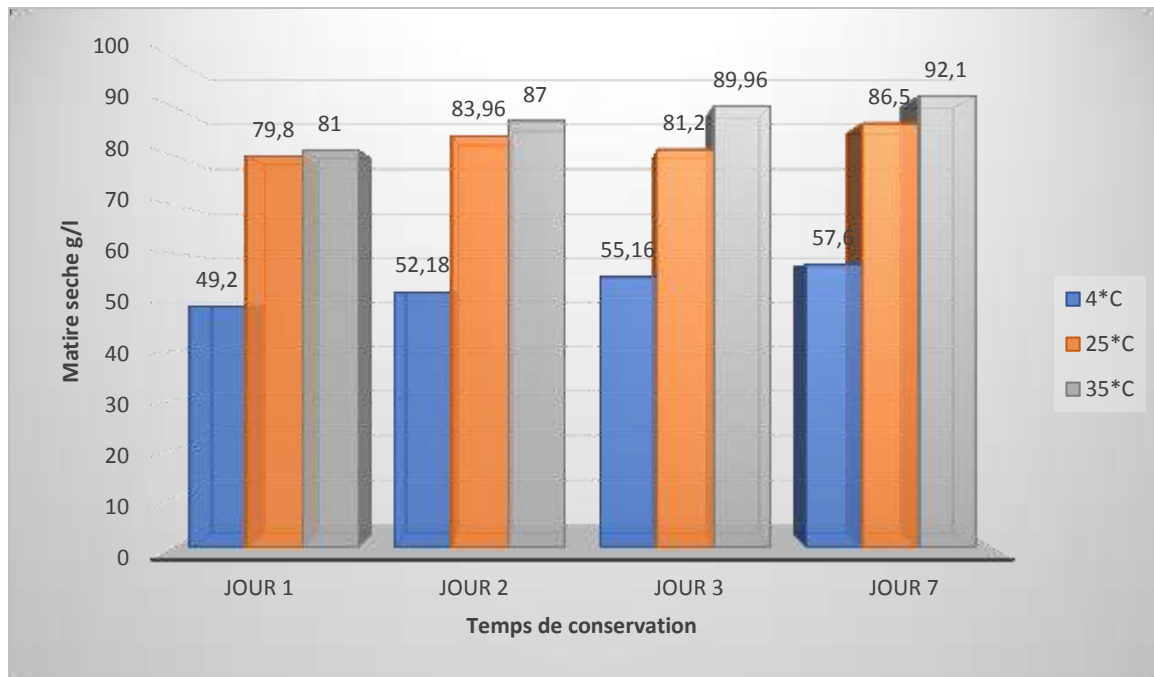


Figure N°08 : Evolution des valeurs de la matière sèche en fonction de la température au cours du temps

1.6 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).**

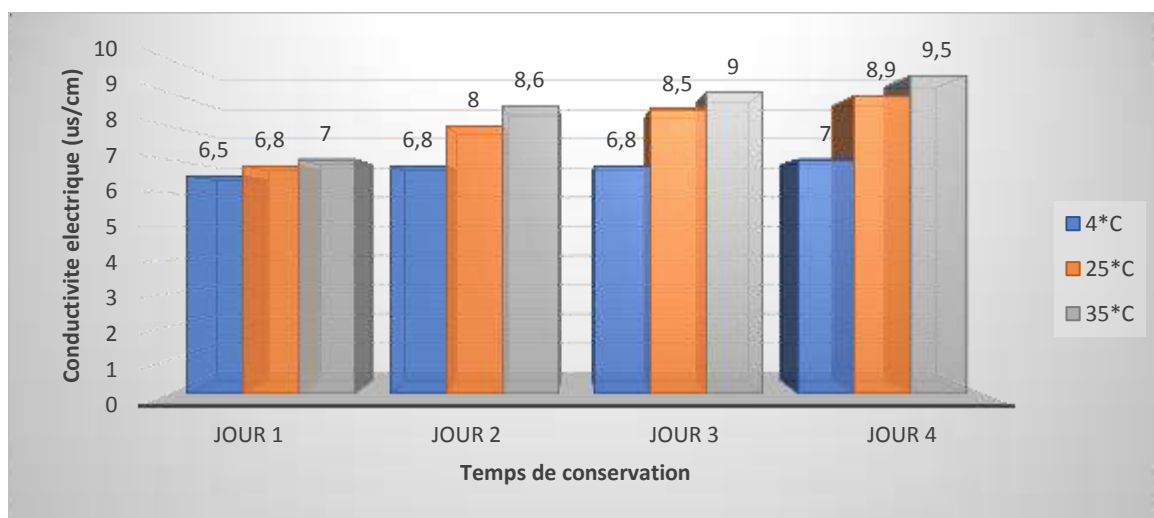


Figure N°09 : Evolution des valeurs de la conductivité électrique en fonction de la température au cours du temps.

Résultats et discussion

2. Les Analyses Bactériologiques du Lactosérum doux

Tableau N°06 : Expression des résultats bactériologiques

T°C	JOUR	Aérobies Mésophiles	CT	S a	S Féc	CSR	Sa	Levures
4	1	24.10 ⁷	16.10 ³	Abs	≥110	Abs	Abs	Abs
	7	400.10 ¹⁰	560.10 ¹⁰	Abs	≥110	Abs	Abs	NAPE
25	1	116.10 ⁷	44.10 ⁵	4.10 ¹	≥110	Abs	Abs	Abs
	7	864.10 ¹⁰	660.10 ¹⁰	25.10 ¹	≥110	Abs	Abs	NAPE
37	1	316.10 ⁷	840.10 ⁷	90.10 ¹	≥110	Abs	Abs	Abs
	7	CONTAMINATION DU LACTOSERUM						

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 atteste que notre lactosérum est de mauvaise qualité et dépasse les normes lors de la conservation 4°C/1er, au 7ème jour dont cette charge est dénombrée à environs (24×10⁷ UFC/ml a 400.10⁷ UFC/ml). Plus que ça le nombre à 25°C et 37°C le nombre de ces aérobies mésophiles commence à augmenter en fonction du temps de conservation (supérieur à 864.10⁷ UFC/ml) à 25°C/7jours (2×10⁵ UFC/ml). A 37°C /j 7 notre échantillon est complètement contaminé donc toute pratique bactériologique est inutile. (Voir photo).



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).



PHOTO N°1 : 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 présence des coliformes totaux. 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 présente.



PHOTO N°02 : Résultat des recherches Coliformes par milieu VRBL

2.3. Streptocoques fécaux

Présence totale des streptocoques fécaux dans tous les échantillons, Peut s'expliquer par le non-respect des conditions hygiéniques d'élevage et de production,



PHOTO N°03 : Résultat des recherches de streptocoques fécaux par milieu ROTHE.

2.4. Levures et moisissures

D'après le tableau N°06, 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 dépassées les normes (4°C/1 et 7 jours 25°C /1). Par contre le nombre de levures et moisissures des échantillons conservés à 25°C/7 a dépassé les normes.

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

Résultats et discussion

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 des recherches des levures par milieu OGA

2.5. *Staphylococcus aureus*

Les résultats montrés dans le tableau N°06, présentent une absence l'échantillon conserve a 4⁰C, Par contre une présence de ces germes dans les échantillons conservés a 25⁰C 37⁰C /J1 et 25⁰C J7.

D'après **DE BUYSER (1980)**, la présence des *Staphylococcus aureus* 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°5 : Résultats des recherches de *Staphylococcus aureus* par milieu BP

2.6. Clostridium sulfito-réducteur à 44°C

Les résultats présentés dans le tableau N°06, montrent une absence totale de Clostridium sulfito-réducteur dans tous les échantillons analysés.



PHOTO N°06 : Résultat des recherches de Clostridium sulfito-redcuteurs par milieu VF

D'après **PETRANSXIENE 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.

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.



PHOTO N°07 : Résultats des recherches des salmonelles par milieu SS

Résultats et discussion

2.8. Les bactéries lactiques

D'après le tableau ci-dessus on note que le nombre des deux bactéries (*Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*) diminue au cours du temps et des différentes températures avec une valeur maximale de ($2600 \cdot 10^{10}$ UFC/ml) à une valeur minimale de ($354 \cdot 10^{10}$ UFC/ml) respectivement. Notons que le nombre des *Streptococcus thermophilus* à été diminué à 37°C au bout du 7eme jour jusqu'à $66 \cdot 10^{10}$ 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).



PHOTO N°08 : Résultats des recherches des bactéries lactiques par milieu M17 et MRS

Tableau N°07 : Expression des résultats des bactéries lactiques

T	4°C		25°C		37°C
JOUR	1	7	1	7	1
ST (10^{10} UFC/ML)	2600	1000	600	500	354
LB (10^{10} UFC/ML)	900	644	752	464	66

3. Les analyses physicochimiques du Yaourt Brassé

3.1 Le pH

Les résultats obtenus au cours de notre travail sont représentés dans la figure suivante :

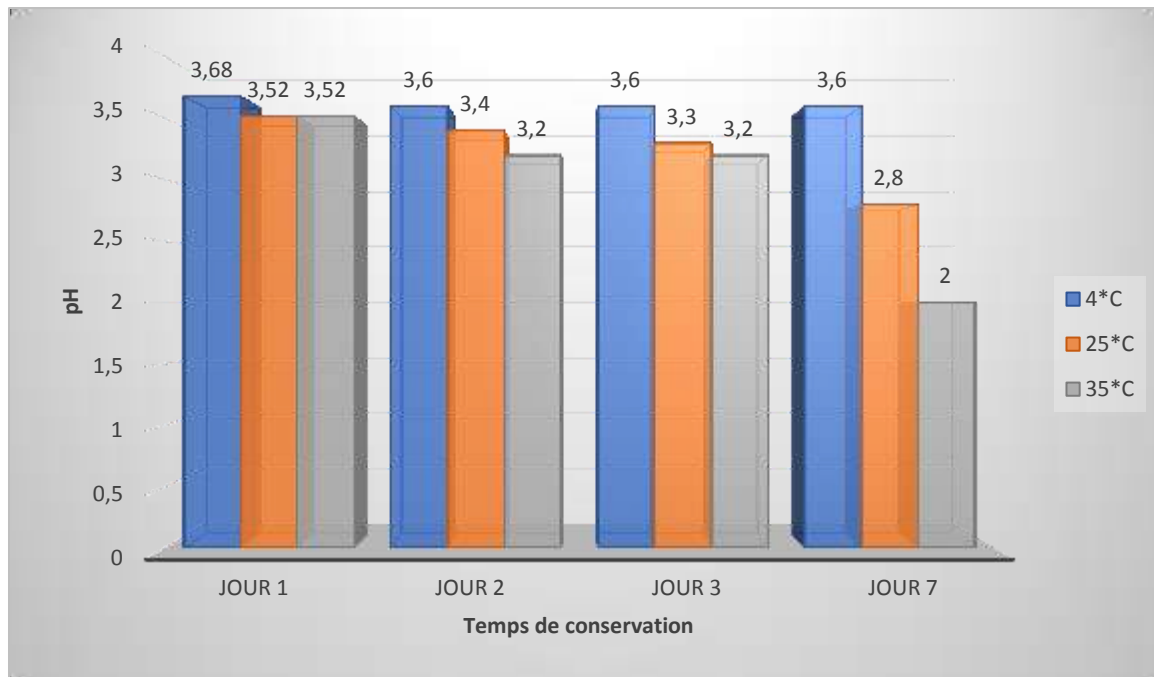


Figure N°10 : Evolution des valeurs du pH en fonction de la température au cours du temps

Selon les résultats obtenus, on remarque que le pH à 4°C pendant les jours de conservation (1/2/4 et 7^{ème} jours) est stable mais inférieure à la norme. Donc il se révéla que le conditionnement des pots de yaourt brassé n'est pas respecté.

Solen **BOURGEOIS et LEVEAU. (1994)**. La détérioration d'un produit alimentaire est étroitement liée à son pH d'où la classification des aliments laitiers en, aliments basiques avec pH supérieur à 5,0, aliments acides avec pH compris entre 4,0 et 4,5, aliments très acides avec pH inférieur à 4,0. La majorité des yogourts ont un pH compris entre 4,0 et 4,7 en fonction de la formule et de la technologie (yaourt ferme ou brassé) (**LUQUET., 2005**).

D'après la figure N° 05, on constate une baisse du pH au cours du stockage pour l'ensemble des pots analysés. Cette baisse est beaucoup plus importante pour les pots conservés à 25°C (3/ 7^{ème} jours) et 35 °C (3/ 7 -ème jours). Cette diminution du pH est certainement le résultat de l'augmentation d'acide dans le produit.

D'après **PACIKORA E. (2004)**. La fermentation lactique, entraînant une baisse de pH, induit des changements de structure du produit et modification de la composition en carbohydrates.

Résultats et discussion

La baisse de pH au-dessous d'une valeur égale à quatre, n'est pas souhaitable, car selon **BOURGEOIS et LARPENT (1996)**, cette valeur a un effet négatif sur le nombre de bactéries lactiques vivant du produit et elle est favorable pour le développement des moisissures et des bactéries anaérobies facultatives.

3.2. L'acidité

L'acidité est exprimée en °D, les résultats obtenus au cours de notre travail et représenté dans la figure N° 11 :

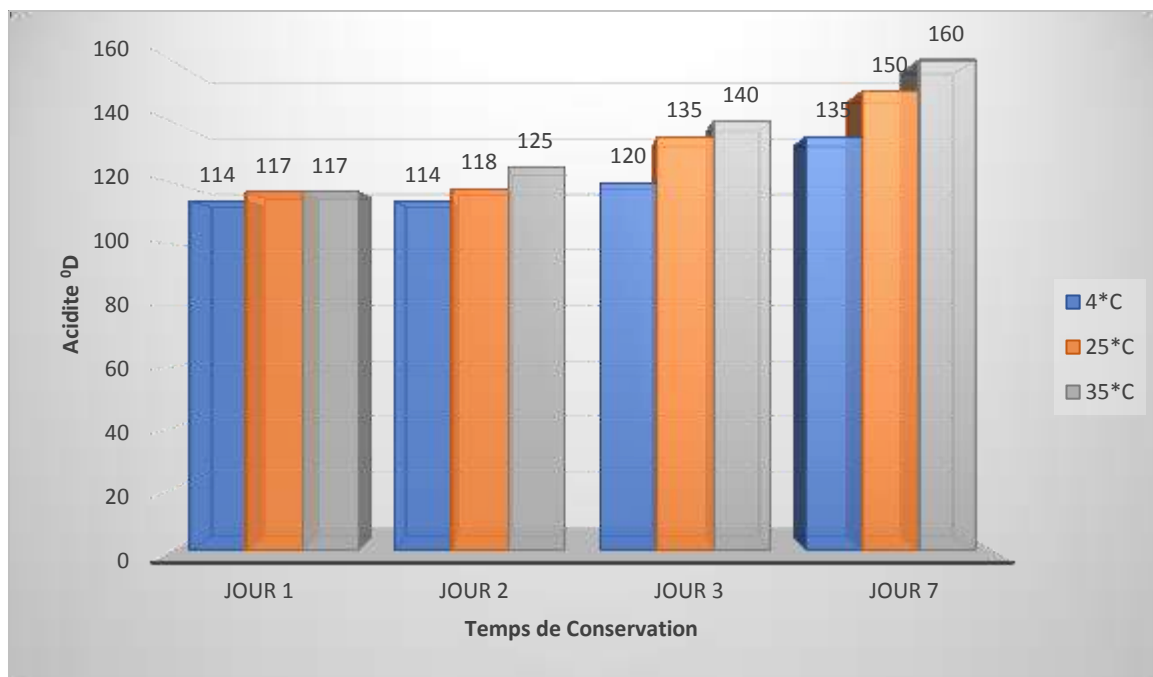


Figure N°11 : Evolution des valeurs d'acidité en fonction de la température au cours du temps

L'acidité normale du yaourt est comprise entre 75 et 100 °D (**LARPENT, 1997**).

Nos résultats ne correspondent pas à ces normes.

L'augmentation de l'acidité au cours de la conservation (\geq à 100 °D) est beaucoup plus remarquée pour les pots conservés à 25 °C et 35 °C, ou les normes relatives à l'acidité sont dépassées.

L'acidité augmente par la fermentation lactique (métabolisme microbien) et elle croit avec le nombre des germes, le temps et la température (**GAUTIER et RENAULT., 2004**). Dégradation des sucres en acide lactique avec libération de gaz qui peut être remarqué avec l'œil par le gonflement du couvert de pot. C'est ainsi que l'acide lactique produit à partir du

Résultats et discussion

lactose, cette activité acidifiante pourrait être attribué aux *S. thermophiles* car elle support mieux le milieu acide même à des températures basse (LARPENT, 1997).

4. Les analyses Bactériologiques du yaourt brassé

Notre travail expérimental a relevé les résultats présentant dans le tableau N° 08 :

Tableau N°08 : Expression des résultats Bactériologiques.

T°C	Jour	Aérobies mésophiles	C T	S.Aureus	Levures	S.Fecaux	C S	Salmonella
4°C	1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	3	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	7	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
25°C	1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	3	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	7	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
37°C	1	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	2	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	3	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs
	7	78.10 ⁵	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs

Selon (GUIRAUD .1998). Les échantillons sont classés en deux catégories : Catégorie satisfaisante, si le résultat d'analyse est inférieure au 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.

Les résultats des analyses bactériologiques du yaourt Brassé (SOUAM) sont indiqués dans le tableau N° 08

4.1. Germes aérobies mésophiles

. Les résultats d'analyses de yaourt à 4°C, 25°C et 37°C au cours de stockages sont considérés comme satisfaisants ne dépasse pas les normes (10⁵ UFC/ml) (Annexe V) et non satisfaisants pour les résultats obtenus au 7^{ème} jour à 37°C (78×10⁵)

Résultats et discussion

Selon la norme (nombre des aérobies mésophiles commence à augmenter en fonction du temps de conservation et température.



PHOTO N°9 : Résultats de recherches des GMAT par milieu PCA

Dénombrer la flore totale, c'est tenter de compter les microorganismes présents, afin d'apprécier la pollution microbienne du produit. (JOFFÏN. et JOFFÏN ., 1999). Cette flore est un bon indicateur de la qualité générale et de la stabilité des produits ainsi que l'état (propreté) des installations (GUIRAUD., 1998).

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).

4.2. Les coliformes totaux

L'absence totale des coliformes fécaux et totaux dans tous les pots de yaourt analysés, à des différentes températures en fonction du temps est due d'après CUQ. (1985), à une bonne pratique des conditions d'hygiène et un produit initialement sain.

Selon VEISSEYRE. (1975), la présence des coliformes fécaux traduit une contamination fécale récente car ces bactéries vivent principalement dans le milieu externe. Lorsque les coliformes sont en nombre élevés, ils peuvent provoquer des intoxications alimentaires causées à des doses importantes des troubles gastriques accompagnées de diarrhées et de vomissement (GUIRAUD., 2003).



PHOTO N°10 : Résultats des recherches des coliformes par milieu VRBL

4.3. *Staphylococcus aureus*

On remarque selon les résultats obtenus dans le tableau N° 08 l'absence totale des *Staphylococcus aureus* dans les pots analysés à des différentes températures au cours des jours de conservation.

D'après **DE BUYSER. (1980)**. La présence de ces germes dans le yaourt 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°11 : Résultat des recherches des *Staphylococcus aureus* par milieu BP

4.4 Levures et moisissures

Le tableau N° 08 permet d'apprécier la qualité bactériologique du yaourt au cours de l'entreposage à des différentes températures par l'absence des levures et moisissures.

Résultats et discussion

Selon **PETRANSXIENE. et LAPIED. (1981)**, une contamination du yaourt par les levures se traduit par :

- Un manque d'hygiène au niveau du conditionnement.
- Mauvaise qualité microbiologiques des levains.
- Le pH bas du yaourt constitue un véritable milieu sélectif pour le développement de ces germes.

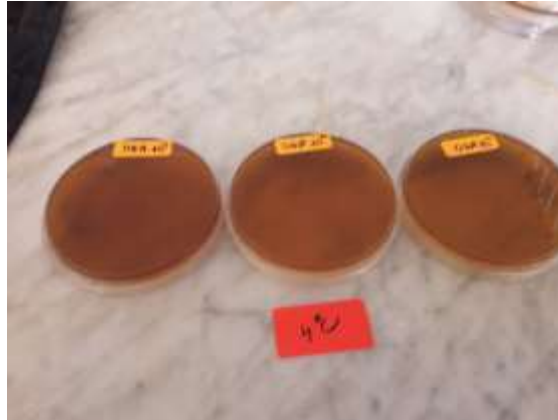


PHOTO N°12 : Résultats des recherches des levures et ; moisissures par milieu OGA

4.5. Streptocoques fécaux

Selon le tableau N°08 on note une absence totale des *Streptocoque fécaux*. Peut s'expliquer par des bonnes conditions hygiéniques d'élevage et de production. L'absence de la contamination par les germes d'origine fécale affirme l'efficacité du traitement thermique et aussi la propreté générale au niveau de la fabrication (**GUIRAUD., 2003**).

Streptocoques fécaux sont utilisés comme indice de contamination du produit. Du fait qu'ils se propagent aisément dans les aliments, et sur les matériels, servant aux traitements des denrées alimentaires, ils n'indiquent que rarement une contamination d'origine fécale. Leur présence dans le produit pourrait indiquer aussi une déféctuosité du traitement thermique (**PETRANSXIENE. et LAPIED., 1981**).



PHOTO N°13 : Résultats de recherches des st. Fécaux pat milieu ROTHE

4.6. Salmonelles

Nous constatons une absence des germes salmonelles dans le yaourt, s'explique par l'efficacité du traitement thermique et hygiène à différents stades de fabrication.

Selon **GLEDEL (1980)**. Les traitements thermiques modérés suffisent à détruire les salmonelles dans les denrées (30 min à 70°C).

La morbidité humaine due au salmonella provient d'erreur lors des dernières étapes de préparation des aliments.

Remarque L'absence totale des coliformes totaux et fécaux, des *Staphylococcus aureus*, des salmonelles, des moisissures et des streptocoques fécaux s'explique par l'absence de contamination au cours de la préparation.

Selon **GUIRAUD. (1998)**, L'absence des germes pathogènes pourrait s'expliquer soit par le fait que le lait de fabrication était de bonne qualité et exempt de germes pathogènes, soit par la destruction de ces germes par la pasteurisation au cours de fabrication, soit, enfin, par l'effet antagoniste des bactéries lactiques vis-à-vis de ces germes.

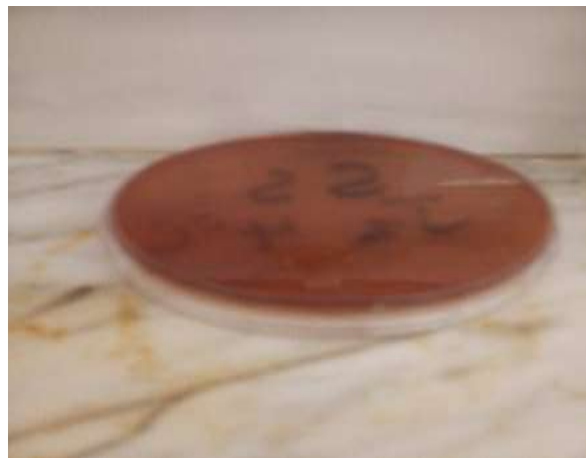


PHOTO N°14 : Résultats des recherches des salmonelles par milieu SS

4.7. Les bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus Bulgaricus*)

L'une des qualités essentielles du yaourt est de contenir en nombre important des ferments lactiques, d'où la nécessité d'étudier la survivance de ces bactéries dans des différentes périodes et des températures varies.

Résultats et discussion

Tableau N°09 : Expression des résultats Bactériologiques des bactéries lactiques

T°C	JOUR	Streptococcus thermophilus	Lactobacillus Bulgaricus
4°C	1	737.10 ⁷	289.10 ⁷
	2	985.10 ⁷	356.10 ⁷
	3	Incomptable	453.10 ⁷
	7	12,56.10 ¹⁰	821.10 ⁷
25°C	1	442.10 ⁷	253.10 ⁷
	2	980.10 ⁷	321.10 ⁷
	3	14,9.10 ¹⁰	122.10 ¹⁰
	7	256.10 ⁷	90.10 ⁷
37°C	1	717.10 ⁷	45.10 ⁷
	2	65.10 ⁷	40.10 ⁷
	3	52.10 ⁷	10.10 ⁷
	7	40.10 ⁷	10 ⁷

A 37°C, le nombre de cellules viables décroît brutalement dès les premiers jours de conservation. Cette chute s'explique par l'augmentation plus rapide du degré d'acidité à 37°C qu'à 4°C. En effet, Lusian et ses collaborateurs en 1974 ont constaté qu'un yaourt conservé à 5°C modifié peu la flore lactique pendant les 30 jours de conservation, en revanche une température plus élevée entraîne une baisse plus marquée de *Lb.bulgaricus* et *Stthermophilus*

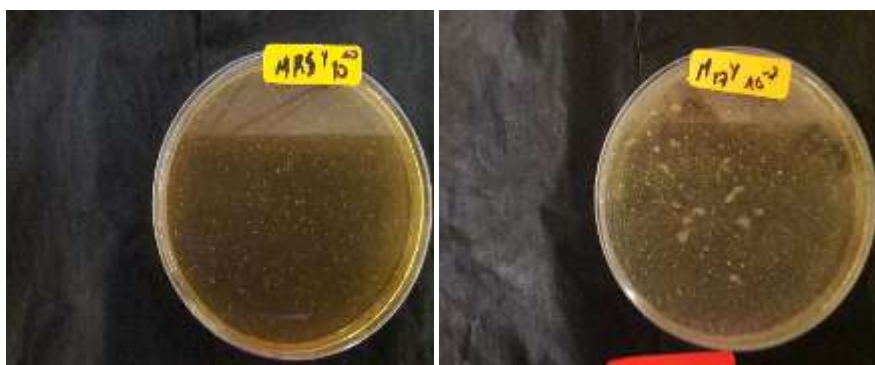


PHOTO N°15 : Résultats des recherches des bactéries lactiques par milieu M17 et MRS

Résultats et discussion

4.8. 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.



PHOTO N°16 : Résultats des recherches des Clostridium sulfito-réducteur à 46°C

Conclusion

Conclusion

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 Yaourt brassé (SOUMAM) et lactosérum doux préparé issu de lait de vache collecté de la région de (Dahmouni).

Les résultats des analyses physico-chimiques de notre lactosérum doux (la densité, la, matière sèche, indice de réfraction, Taux de cendre, PH,) ont été variés au cours du temps à des différentes températures de conservation 4°C ,25°C ,35°C/1er, 2ème, 3 et 7ème jour dont les paramètres les plus influencés de ce traitement sont le pH,

Par contre l'acidité mesurée et la conductivité électrique pour l'ensemble de nos échantillons augmentent dans toutes les conditions citées ci-dessus (12°D avec 6,5 us/Cm pour l'échantillon conservé à 4°C/1er jour à 25°D avec 9,5 us/Cm pour l'échantillon conservé à 35°C/7eme 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 non conformes à la norme. Au vu des normes algériennes (**JORA, 1998**), la présence du staphylococcus aureus dans tous les échantillons cela signifie que notre produit est en mauvaise qualité et représente un grand risque pour la sante humaine. Les levures et moisissures sont absents 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. Par contre le nombre de levures et moisissures des échantillons conservés à de hautes températures 25°C pendant le 7 -ème jour de conservation jusqu' il atteint un nombre indéfini des colonies (présence d'une nape).

Le yaourt est un aliment dont la consommation est en nette croissance dans la plupart des villes telle que Tiaret. Toutefois, il constitue un vecteur possible de germes dangereux. Cette étude avait pour but d'étudier l'évolution des qualités microbiologique, physico-chimique d'un yaourt industriel produit localement et commercialisé sur le marché de Tiaret.

Il s'agissait de façon spécifique de dénombrer la flore lactique mésophile présente dans le yaourt brassé de marque **SOUMAM**, d'identifier les microorganismes témoins de contamination fécale présents dans ce yaourt au cours de sa durée de conservation a des différentes températures, évaluer le pH et l'acidité titrable ainsi que

Conclusion

leur évolution au cours de la durée de conservation. Ainsi les analyses ont donné les résultats ci-après.

Pour les paramètres microbiologiques, tous les échantillons étudiés sont conformes aux normes relatives au journal officiel.

Une diminution remarquable des bactéries lactiques à 37°C cela signifie l'influence de la température sur leur activité.

Pour les analyses physico-chimiques, Des le 1 jour à 4°C Le yaourt est non conforme pour l'acidité titrable qui est à 114°D et Un pH de 3.68 .Cela prouve que le yaourt Brasse suivi est mal conditionné.

Références bibliographiques

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, 1995, 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 ,2èmeédition,Tec et Doc,LavoisierParis.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 6emeédition.Paris. pp :86-88.
9. **ANDELOT P.** (1983). Le contrôle laitier, facteurs d'amélioration technique, RevlaitFranç.416 :P15.
10. **ANONYME** (2009). Traite des vaches laitières : Matériel, installation, entretien. 1ereédition.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

Références bibliographiques

- 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 2ème 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 .Édition 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: TetraPak Processing Systems 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-

Références bibliographiques

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 caillés industriels 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 ème 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.

Références bibliographiques

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 éme 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.

Références bibliographiques

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 éme 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 Technology,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.

Références bibliographiques

W

70. WISEMAN D-W. APPLEBAUM T. (1983). Distribution and resistance to pasteurisation of aflatoxin M₁. In naturally contamination, whole milk, cream and skin milk. *Journal of food prod.*, 46 (6), 530-532.

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

Y

72. YEBO LI ; ABOLGHASEM S. ; CHARLES T-K. (2006). separation of cell and Pr

Annexes

Annexe N° 1

⊗ 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

⊗ 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 $7 \pm 0,1$ 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 neuter.....	0,03 g
Agar agar	12 à 15 g

ANNEXES

Eau distillée.....1000 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 $7\pm 0,1$ 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 viande5 g
Extrait de levure.....1 g
Chlorure de lithium.....5 g
Solution de pycocolle.....6 ml
Gélose20 g
Solution de tellurite.....1 ml
Solution de pyruvate5 ml
Eau distillée.....1000 ml
Emulsion de jaune d'oeuf5 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 viande5 g

ANNEXES

⊗ **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

ANNEXES

⊖ 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

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

Annexe N° 03

• 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.. 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 . 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)

ANNEXES

ANNEXE 4

Les normes des paramètres physicochimiques du lactosérum doux

Paramètres physicochimiques	Les Normes de lactosérum doux	Reference
Densité	1.026	ADDA, 2002
MS(g/l)	65.5 à 75	ECK, 1987
TC (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

Les normes des paramètres microbiologiques du lactosérum doux

Produit	n	m	M	
Coliformes	5	10 ³	10 ⁵	<i>JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 35 DU 27MAI 1998</i>
GAMT	1	10 ⁵	10 ⁶	
Coliformes fécaux	5 10 ³ 3. 10 ⁴	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	<i>AIT ABDELOUHAB N., 2001).</i>
Flore lactique	1	≥10 ⁷	-	

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

ANNEXES

ANNEXE N° 6

Table de Macridie

Tables NPP (d'après la norme ISO 7218 :1996(F))

Tableau 1 - Table NPP pour 3 x 1 g (ml), 3 x 0,1 g (ml) et 3 x 0,01 g (ml).

Nombre de résultats positifs			NPP	Catégorie lorsque le nombre d'essais de mesures est de 1 pour le lot considéré	Limites de confiance			
					>95%	>95%	>99%	>99%
0	0	0	<0,30		0,00	0,94	0,00	1,40
0	0	0	0,30	3	0,01	0,95	0,00	1,40
0	1	0	0,30	2	0,01	1,00	0,00	1,60
0	1	1	0,61	0	0,12	1,70	0,05	2,50
0	2	0	0,62	3	0,12	1,70	0,05	2,50
0	3	0	0,94	0	0,35	3,50	0,18	4,60
1	0	0	0,36	1	0,02	1,70	0,01	2,50
1	0	1	0,72	2	0,12	1,70	0,05	2,50
1	0	2	1,1	0	0,4	3,5	0,2	4,6
1	1	0	0,74	1	0,13	2,00	0,06	2,70
1	1	1	1,1	3	0,4	3,5	0,2	4,6
1	2	0	1,1	2	0,4	3,6	0,2	4,6
1	2	1	1,5	3	0,5	3,8	0,2	5,2
1	3	0	1,6	3	0,5	3,8	0,2	5,2
2	0	0	0,92	1	0,15	3,50	0,07	4,60
2	0	1	1,4	2	0,4	3,5	0,2	4,6
2	0	2	2	0	0,5	3,8	0,2	5,2
2	1	0	1,5	1	0,4	3,8	0,2	5,2
2	1	1	2,0	2	0,5	3,8	0,2	5,2
2	1	2	2,7	0	0,9	9,4	0,5	14,2
2	2	0	2,1	1	0,5	4,0	0,2	5,6
2	2	1	2,8	3	0,9	9,4	0,5	14,2
2	2	2	3,5	0	0,9	9,4	0,5	14,2
2	3	0	2,9	3	0,9	9,4	0,5	14,2
2	3	1	3,6	0	0,9	9,4	0,5	14,2
3	0	0	2,3	1	0,5	9,4	0,3	14,2
3	0	1	3,8	1	0,9	10,4	0,5	15,7
3	0	2	6,4	3	1,6	18,1	1,0	25,0
3	1	0	4,3	1	0,9	18,1	0,5	25,0
3	1	1	7,5	1	1,7	19,9	1,1	27,0
3	1	2	12	3	3	36	2	44
3	1	3	16	0	3	38	2	52
3	2	0	9,3	1	1,8	36,0	1,2	43,0
3	2	1	15	1	3	38	2	52
3	2	2	21	2	3	40	2	56
3	2	3	29	3	9	99	5	152
3	3	0	24	1	44	99	3	152
3	3	1	46	1	9	198	5	283
3	3	2	110	1	20	400	10	570
3	3	3	>110					
autres valeurs			non cité dans la table ISO 7218 : 1996 (F)					