

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche

Scientifique

Université Abderrahmane Mira de Bejaia



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Etat en

Génie biologique

Thème

**Contribution à l'étude de l'effet de la rupture de
la chaîne du froid sur la qualité physico-
chimique et microbiologique d'un lait de vache
pasteurisé**

Présenté par :

M^{elle} AKCHICHE Samira

M^{elle} BOUCHIFAT Karima

Membre de Jury :

Président : M^r KECHA M.

Examinatrice : M^{me} KERAMANE B.

Promotrice: M^{me} YAHIAOUI H.

Co-promoteur: M^r BENDJEDDOU K.

Promotion 2013/2014

Remerciements

D'abord nous tenons à remercier, le bon Dieu de nous avoir permis d'arriver à ce jour et de nous avoir accordé la santé, le courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nos remerciements s'adressent également à M' KECHA d'avoir accepté de présider le jury ainsi que M^{me} KIRAMANE B. d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous exprimons nos vifs remerciements à notre promotrice M^{me} YAHIAOUI H. et notre Co-promoteur M' BENDJEDOU K. pour l'honneur qu'ils nous ont accordé en nous encadrant, pour leurs orientations et conseils et pour nous avoir guidées durant la réalisation de cette étude.

Comme nous tenons à remercier M' BEN KHLIFA CHERIF, Responsable du laboratoire de l'entreprise ORLAC d'Amizour et tout le personnel de nous avoir permis de réaliser notre travail au sein de l'unité, pour leur accueil, gentillesse et leurs précieux conseils durant notre stage.

Enfin, nous remercions ceux qui nous ont aidés de près ou de loin dans la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

A la source de la tendresse et de l'amour ; A celle qui m'a offert une enfance très heureuse et celle qui a toujours su être à mes côtés dans la joie et la peine, ma maman, que dieu te garde pour nous.

Amon cher père, qui a toujours été mon appui moral et qui n'a jamais cessé de m'encourager et de m'aider dans ma vie et surtout dans mes études, que dieu te protège pour nous.

A ceux qui m'ont donné joie, bonheur et aide :

Mes très chers frères et sœurs : Mouh, Kamel, Sabrina et Malika ;

A mes oncles : Hamid et Mustapha,

Mes très chères tantes ;

A mes cousins et cousines ; Salima et Fadila

A ma grand-mère " Nana bika " que DIEU la protège ;

A mes amies qui me sont chères : Farida, Sihem, Sika, Ouardia, Chafiaa, Célia, Lydia ;

A mon cher ami Younes

A mes copines de chambre : Farida, Samira, Assia, Kahina ;

A mon amie et binôme Samira et sa famille;

A toute la promotion génie biologique 2013-2014 ;

A ceux qui m'ont encouragé ; tous les enseignants qui m'ont accompagné tout au long de mon cursus d'études, merci pour vos efforts.

A tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment je dédie ce modeste travail.

Karima

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A mon étoile filante, qui exauce mes rêves, la personne de qui j'ai tiré la force, celle qui a toujours su être à mes côtés dans la joie et la peine, celle qui m'a éclairé le chemin, rien que pour toi maman que j'aime tant, que tous les mots du monde ne suffiront pas pour te remercier, que dieu te garde pour nous.

A mon cher père, qui a toujours été mon appui moral, et qui n'a jamais cessé de m'encourager et de m'aider dans ma vie et surtout dans mes études, que dieu te garde pour nous.

A ceux qui m'ont donné joie, bonheur et aide : mes très chers frères Yacine, Lounis, Hakim et sa femme Dahbia

A ma très chère sœur Samia qui n'a jamais cessé d'être à mes côtés à tout moment ainsi qu'à son mari Hamid

A mes neveux : Assirem, Aïmed, et Adam

A mes tantes, oncles, cousins et cousines que j'aime

A ma coupine et binôme Karima ainsi qu'à sa famille

A mes grands parents jedi Mouloud et setti tajkoukth que dieu les protège du mal et les garde pour nous

A mes copines de chambre que je considère comme ma deuxième famille avec lesquelles j'ai passé des moments inoubliables : Lydia, Cylia (el hoba), Ouardia, Saliha, Kiki ainsi qu'à Kenza et Meliha

A mes amis pour votre présence et vos bons conseils : Fahima, Louiza, Nabila, Nabil, Kenza, Larbi, Houria, Fatiha, Djamel, Imane et Chafiaa.

A toute la promotion Génie biologique 2013/2014 et à tous ceux qui connaissent et estiment «Samira».

Samira

Liste des abréviations

BLBVB : Bouillon Lactose Bilié au Vert Brillant

BP : Baird Parker

ESD : Extrait Sec Dégraissé

EST : Extrait Sec Total

FTAM : Flore Totale Aérobie Mésophile

JORA : Journal Officiel de la République Algérienne

MG : Matière Grasse

ORLAC : Office Régional du lait du centre

PCA : Plat Count Agar

UHT : Ultra haute température

UFC: Unité Formant Colonie

Fig: Figure

VF : Viande foie

S/C : Simple concentration

D/S : Double concentration

NPP : Nombre le plus probable

Liste des figures

Figure N°1 : Process de fabrication de lait de vache pasteurisé à la laiterie d'Amizour.....	09
Figure N°2 : Organigramme de la laiterie d'Amizour.....	11
Figure N°3 : Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	14
Figure N°4 : Dénombrement des coliformes totaux sur milieu BLBVB	16
Figure N°5 : Recherche des coliformes fécaux et d'éventuelle souche d' <i>E. coli</i>	17
Figure N°6 : Dénombrement des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
Figure N°7 : Recherche des <i>Clostridium</i> sulfito-réducteur.....	20
Figure N°8 : Recherche des streptocoques D.....	22
Figure N°9 : Schéma représentant la mesure de l'acidité titrable.....	24
Figure N°10 : Evolution de la FTAM pour les trois lots en fonction du temps.....	26
Figure N°11 : Evolution des coliformes pour les trois lots en fonction du temps.....	28
Figure N°12 : Résultats de la recherche et de dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i> pour les trois lots.....	29

Liste des tableaux

Tableau I : : Composition moyenne du lait de vache.....	2
Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques moyenne de lait cru.....	3
Tableau III : Propriétés des principaux nutriments du lait.....	4
Tableau IV : Résultats du pH du lait pasteurisé pour les trois lots.....	32
Tableau V : : Résultats de l'acidité du lait pasteurisé pour les trois lots	32
Tableau VI : Teneur en matière grasse de lait de vache pasteurisé pour les trois lots.....	33
Tableau VII : Teneur en extrait sec totale du lait de vache pasteurisé pour les trois lots.....	34
Tableau VIII : pH et acidité des lots qui ont subi une rupture de la chaîne de froid.....	35

Sommaire

Introduction

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le lait

I-1-Définition du lait cru.....	2
I-1-1-Composition chimique	2
I-1-2-Propriétés physicochimique	3
I-1-3-Propriétés organoleptiques	3
I-1-4-Valeur nutritionnelle du lait.....	3
I-1-5- La microflore du lait.....	5
I-1-6- Qualité du lait cru.....	5
I-1-7-Les dégradations de la qualité du lait cru.....	6
I-1-8-Techniques de conservation du lait	6
a)- Réfrigération	6
b)-Congélation.....	7
a)- La stérilisation.....	7
b)-La pasteurisation.....	7
I-2-Lait pasteurisé	8
I-2-1- Définition	8
I-2-2- Process de fabrication de lait de vache pasteurisé à la laiterie d' Amizour	8

Partie pratique

Chapitre II : Matériel et méthodes

II-1-Présentation de l'organisme d'accueil.....	10
II-1-1-Historique	10
II-1-2-Les principaux produits de la laiterie sont :	10
II-2-Matériel et méthodes	12
II-2-1-Techniques de prélèvement et choix des échantillons	12
II-2-2-Analyses microbiologiques (normes J.O.R.A N°35, 1998).....	12
II-2-2-1-Préparation des dilutions décimales	13

II-2-2-2-Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile	13
II-2-2-3-Dénombrement des coliformes totaux sur milieu liquide.....	15
II-2-2-4- Recherche des coliformes fécaux	15
II-2-2-5-Recherche et dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	18
II-2-2-7- Recherche des Streptocoques totaux	21
II-2-3-Analyses physico-chimiques.....	23
II-2-3-1-Mesure du pH	23
II-2-3-2-L'acidité titrable	23
II-2-3-3-Détermination de la matière grasse(MG) (Méthode acido-butyrométrique GERBER....	24
II-2-3-4-Détermination de l'extrait sec total (EST).....	25

Chapitre III : Résultats et Interprétation

III-1-Résultats des analyses microbiologiques du lait pasteurisé	26
III-1-1- Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)	26
III-1-2-Dénombrement des coliformes totaux.....	28
III-1-3-Dénombrement des <i>Staphylococcus aureus</i>	29
III-1-4-Recherche de <i>Clostridium</i> sulfito-réducteurs	31
III-1-5-Recherche des streptocoques totaux	31
III-2-Résultats des analyses physico-chimiques.....	31
III-2-1-pH	31
III-2-2-Acidité titrable	32
III-2-3-Matière grasse.....	33
III-2-4- Extrait sec total	34

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Introduction

Le lait est un aliment complet du point de vue nutritionnel. Il est nécessaire à tous les âges de la vie, non seulement pour sa richesse incontournable en calcium mais également pour sa contribution à la couverture des besoins en protéines de haute valeur biologique, en vitamines, en oligoéléments et en eau (**Debry, 2006**).

La consommation algérienne en lait connaît une évolution croissante depuis l'indépendance. La poussée démographique ainsi que l'amélioration du niveau de vie de la population ont conduit à une forte demande en ce produit de base (**Siboukeur, 2005**).

Afin d'assurer une bonne protection pour le consommateur, il convient de maîtriser les conditions de conservation et les conditions d'hygiène de la traite jusqu'au produit fini (**Guiraud, 1998**).

Le lait ne peut être conservé longtemps en raison de sa richesse en nutriments car il constitue un excellent milieu de culture pour la prolifération des micro-organismes, c'est pour cette raison que les altérations d'origine microbiennes sont plus fréquentes ((**Veisseyre, 1975**)).

Afin d'éviter ces altérations et le rendre mieux conservable, il est soumis à plusieurs traitements thermiques tel que la stérilisation et la pasteurisation qui est le traitement thermique le plus fréquents, dont le but est de ramené le nombre de microorganisme dangereux dans le lait à un niveau tel qu'il ne présente pas de danger pour la santé .Elle censée de prolonger la durée de conservation du lait (**codex alimentaire,2000**).

Malgré tous les traitements thermiques réalisés par les industries agro-alimentaires afin de conserver le lait, des accidents peuvent survenir et affecter sa qualité. Il est donc important de réaliser un contrôle rigoureux et régulier non seulement tout au long de sa transformation mais également durant sa conservation et son stockage (**Oudot, 1999**).

Notre stage effectué au sein de la laiterie d'Amizour a pour but d'étudier l'effet de la rupture de la chaîne de froid sur la stabilité de la qualité physico-chimique et microbiologique d'un lait de vache pasteurisé conditionné. La première partie de notre travail est consacrée à une synthèse bibliographique sur le lait. La partie pratique concerne le suivi de l'évolution de la flore microbienne et des paramètres physico-chimiques sur du lait conservé à 4°C et sur du lait ayant subi une rupture de la chaîne de froid.

I-1-Définition du lait cru

Selon la réglementation algérienne, la dénomination «lait» est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenu par une ou plusieurs traites, sans addition, ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique. Le lait, destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire (**JORA, N° 69 du 27/10/1993**).

Le lait cru, aussi appelé lait de ferme, est le produit provenant de la traite d'une ou de plusieurs vaches. Il n'est soumis à aucun traitement qui pourrait modifier sa flore bactérienne et toutes ses propriétés nutritionnelles et gustatives. Il s'agit du lait tel qu'il sort du pis des animaux (**Anonyme, 2011**).

I-1-1-Composition chimique

Le lait est un aliment complexe composé essentiellement d'eau, de matières grasses, de micelles de caséine, de protéines solubles, de glucides, de minéraux, de vitamines et hormones

La proportion de ces différents éléments diffère selon l'espèce animale (**Amiot et al ., 2002**).

Le tableau I présente la composition moyenne du lait de vache

Tableau I : Composition moyenne du lait de vache (**Mahaut et al., 2003**).

Constituants	Teneur (g/Kg)
Eau	870-875
Matières azotées :	
Caséines	12.5-13.0
Protéines soluble	5.0-6.0
Azotes non protéiques	1.5-2.0
Matières grasses	35-45
Matière saline (minéraux)	8.0-9.5
Lactose	48-50

I-1-2-Propriétés physicochimique

Le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau. Il a une saveur sucrée et une odeur peu accentuée.

Les principales caractéristiques physico-chimiques du lait sont résumées dans le tableau II

Tableau II : Caractéristiques physico-chimiques moyenne du lait cru (**Anonyme, 2009**).

Paramètres	Valeurs moyennes
Densité à 20°C	1,028 à 1,034
Point d'ébullition	+100,55°C
pH	6,6 à 6,8
Acidité (exprimée en degré Dornic)	16 à 18°D
Valeur énergétique	275 KJ/ml

I-1-3-Propriétés organoleptiques

➤ Couleur

Le lait est un liquide blanc-jaunâtre ou blanc mât à cause des micelles de caséine. Il est franchement jaunâtre quand il est riche en lactoflavine (**Luquet, 1985 ; Fridot, 2005**).

➤ Odeur

Il a une odeur peu marquée mais caractéristique due à la présence de la matière grasse dans le lait. Au cours de la conservation, le lait est caractérisé par une odeur due à l'acidification par l'acide lactique. Elle est aussi variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice (**Vigniola, 2002 ; Fridot, 2005**).

➤ Saveur

Le lait présente une saveur légèrement sucrée, due à sa richesse en lactose dont le pouvoir sucrant est inférieur à celui du saccharose (**Luquet, 1985 ; Fridot, 2005**).

1-1-4-Valeur nutritionnelle du lait

Le lait est un aliment liquide mais sa teneur en matière sèche (10-13 %) est proche de celle de nombreux aliments solides. Sa valeur énergétique est de 700 Kcal/l. Ses protéines possèdent une valeur nutritionnelle élevée vue leur richesse en acides aminés soufrés.

Le lait représente une excellente source de calcium, de phosphore mais également de

vitamines telles que la riboflavine, thiamine, cobalamine et vitamine A. Il contient au contraire peu de fer et de cuivre, peu d'acide ascorbique, de niacine et relativement peu de vitamine D (Cheftel et Cheftel, 1977 ; Dupin et Michaud, 2000).

Les principales propriétés des nutriments du lait sont présentées dans le tableau III.

Tableau III : Propriétés des principaux nutriments du lait (Vignola, 2005).

Nutriments	Fonctions	Bienfaits pour la santé
Minéraux Calcium	Formation de l'os ; -contraction musculaire ; -coagulation du sang ; -régulation d'enzymes.	Prévention de l'Ostéoporose et de fractures, de l'hypertension artérielle, du cancer du colon.
Phosphores	Métabolisme énergétique (ATP) ; -coenzyme NADP ; -phospholipides des membranes cellulaires	Développement de maintien de la masse osseuse.
Vitamines Vit A	-Constituant d'un pigment visuel de la rétine ; -développement des os, des dents et de la peau.	-Prévention contre la cécité, les infections, le dessèchement de la peau et des yeux.
Vit D	-Facteur favorisant le système actif d'absorption intestinale du calcium.	-Prévention de problème de développement osseux
Protéines Ile, Leu, Lys, Met, Thr, Trp, Phe, Val	-Sources d'acides aminés essentiels à la synthèse des protéines, des parois cellulaires, fibres musculaires, enzymes et hormones.	-Prévention contre les retards de croissances ; -résistance et défense contre les infections.

I-1-5- La microflore du lait

Les micro-organismes du lait, selon leur importance sont repartis en deux grandes classes : la flore indigène ou originelle et la flore de contamination (**Guiraud, 1998**).

➤ La flore originelle

Le lait provenant d'un animal sain et prélevé dans des conditions aseptiques, devrait contenir moins de 5.10^3 UFC/ml. La flore indigène est l'ensemble des microorganismes retrouvés dans le lait à la sortie du pis. Parmi eux : *Micrococcus* sp, *Lactobacillus*, *Streptococcus*...etc (**Vignola, 2002**).

➤ La flore de contamination

Au cours de la traite, du transport et du stockage à la ferme ou à l'usine, le lait est contaminé par une grande variété de micro-organismes (**Bourgeois et al., 1996**). Ces contaminants peuvent être d'origine fécale entraînent la présence de *Clostridium*, d'entérobactéries coliformes et d'entérobactéries pathogènes : *Salmonella*, *Yersinia*, *Compylobacter*.

Les laits provenant d'animaux malades peuvent contenir des germes pathogènes pour l'homme : *Streptococcus galactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Brucella*, *Bacillus anthracis* et *Listeria*. Ceci explique l'importance d'un contrôle sanitaire rigoureux (**Leyral et Vierling, 2007**)

I-1-6- Qualité du lait cru

La qualité est l'ensemble des propriétés et caractéristiques d'un service ou d'un produit qui lui confèrent l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés (ex : sensoriels) ou implicites (ex : salubrité) **Hamama (2002)**.

Dans l'agroalimentaire, la qualité est définie par les quatre «S» de Main Guy : Satisfaction-Sécurité-Service-Santé + R « régularité» (**Abiazar, 2007**).

En Algérie, la qualité du lait cru est liée à un certain nombre de spécifications indiquées par le **JORA N° 69 du 18 août 1993**.

Le lait cru ne doit pas :

- être coloré, malpropre ou malodorant ;
- provenir d'une traite opérée moins de sept (07) jours après le vêlage ;
- provenir d'animaux atteints de maladies contagieuses ou de mammite ;
- contenir notamment des résidus antiseptiques, antibiotiques et pesticides ;
- coaguler à l'ébullition ;

- subir un écrémage même partiel.

I-1-7-Les dégradations de la qualité du lait cru

➤ Les fraudes sur le lait ou les falsifications du lait cru

a) Mouillage

Consiste en l'addition d'une quantité d'eau au lait cru. C'est la fraude la plus fréquente. Elle est particulièrement grave, car elle diminue la valeur nutritive du produit. Le mouillage abaisse naturellement la densité et la teneur du lait en ses divers constituants, ainsi le point de congélation se rapproche de celui de l'eau (0°C) (**Kodio 2005**).

b) Ecrémage

Un lait écrémé est un lait dont la matière grasse a été partiellement ou entièrement enlevée (**Hamama, 2002**). On met en évidence cette fraude par la détermination de la teneur en matière grasse (**Kodio, 2005**). Dans un lait écrémé, on note une augmentation de la densité et une diminution de la matière sèche totale et de la matière grasse (**Abiazar, 2007**).

c) Addition de conservateurs chimiques

Les conservateurs chimiques agissent de deux façons différentes. Certains conservateurs ont pour rôle de neutraliser l'acide lactique formé au cours de l'acidification du lait. Il s'agit des carbonates et bicarbonates alcalins. D'autres conservateurs sont des substances antiseptiques qui permettent de freiner ou stopper toute prolifération microbienne telle que les eaux oxygénées, le formol, l'acide borique et l'acide salicylique. (**Anonyme 2005**)

d) Addition de lait provenant d'une autre espèce ou la substitution

Elle consiste à remplacer le lait de vache par un autre lait de qualité moindre.

I-1-8-Techniques de conservation du lait

Parmi ces techniques :

➤ Conservation par le froid

Actuellement, le froid est un moyen très pratique de conserver les aliments, tout en préservant leurs qualités nutritionnelle et organoleptique.

a)- Réfrigération

La réfrigération est une technique de semi conservation, elle consiste à placer les denrées dans une enceinte maintenue vers +5°C, cette température freine le développement des

germes mésophiles, par contre le traitement est sans effet sur les psychrophiles, qui se développent à la température de réfrigération (**Gosta, 1995**).

b)-Congélation

Est un procédé physique qui a pour but la conservation prolongée par le froid, il est très important que le lait destiné à être conservé par le froid soit de bonne qualité hygiénique.

Le but d'emploi du froid est souvent d'inhiber, retarder ou arrêter d'une part les réactions enzymatiques dans le produit alimentaire et d'autre part la croissance des microorganismes (**Gosta, 1995**).

➤ **Conservation par la chaleur**

Contrairement à l'action du froid, la chaleur permet de détruire les microbes et non d'inhiber simplement leur développement. En outre, elle vise à détruire les enzymes qui peuvent impliquer la détérioration du lait, ce qui permet l'amélioration de la qualité du lait (**Parcalin et Galantier, 1986**).

a)- La stérilisation

Le but de la stérilisation est la destruction des microorganismes pouvant se développer lors de l'entreposage. Pour la stérilisation commerciale du lait UHT, on vise la réduction du nombre de thermophiles, cela afin de prévoir une certaine marge de sécurité au cas où il se formerait des dépôts sur la paroi de l'échangeur de chaleur. La destruction des microorganismes est fonction de deux paramètres : la durée du traitement thermique et la température (**Jeantet et al 2011**).

b)-La pasteurisation

La pasteurisation a pour but la destruction des formes végétatives incluant certains pathogènes (*Salmonella, Brucella, Listeria*, etc) et la réduction de la flore banale. Trois zones de couple temps-température sont pratiquées : pasteurisation basse (62-65°C/30min), pasteurisation haute (71-72°C/15-40s) et flash pasteurisation (85-90°C/1-2 s). L'activité résiduelle des enzymes du lait est un bon indicateur de la nature du traitement thermique. Ainsi, un traitement de pasteurisation doit inactiver la phosphatase alcaline, mais préserver la peroxydase (lait dit de « haute qualité ») (**Jeantet et al 2011**).

I-2-Lait pasteurisé

I-2-1- Définition

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

I-2-2- Process de fabrication de lait de vache pasteurisé à la laiterie d'Amizour

Dès l'arrivée du lait de vache, la mesure de l'acidité est effectuée pour qu'il soit réceptionné, les étapes suivantes sont ensuite effectuées :

a)-Filtration

Sert à éliminer les corps étrangers qui se trouvent dans le lait (débris des aliments (paille), les poils).

b)-Pasteurisation

Le barème de traitement thermique le plus utilisé appliqué est de 85-90°C/1-2 s (**Jeanet, et al 2011**).

c)-Refroidissement

Après la pasteurisation, le refroidissement du lait à une température voisine du point de réfrigération favorise une plus longue conservation. Le refroidissement limite les effets des traitements thermiques (**Fridot, 2005**).

d)-Conditionnement :

Le lait pasteurisé est conduit vers des machines automatiques qui forment des sachets de capacité d'un litre. L'emballage doit avoir certaines qualités particulières non seulement présenter une forme et une apparence attrayante mais aussi offrir une protection efficace contre les chocs physiques, la lumière et la chaleur, l'emballage doit aussi être facile à ouvrir et être fait de matière inerte. Il doit transmettre aux consommateurs des informations relatives au contenu (lait) (**Vignola, 2002**).

Le lait est transporté dans des camions frigorifiques vers les points de vente.

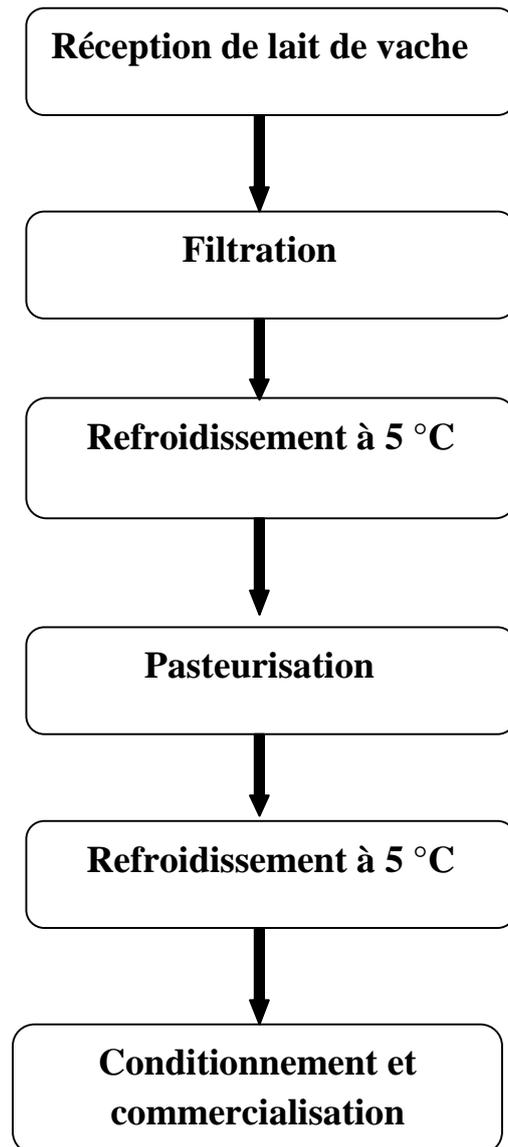


Fig.1 Process de fabrication de lait de vache pasteurisé à la laiterie d'Amizour

Conclusion

II-1-Présentation de l'organisme d'accueil**II-1-1-Historique**

La laiterie d'Amizour se situe à 8Km du chef-lieu d'Amizour sur la route menant à Amizour Semaoun, Ilmathen. Sa superficie est de 6400 m². Elle est délimitée au sud : village agricole l'est Coopsel (coopsel d'élevage) ; au nord : oued Amassine ; à l'ouest oued Amassine.

La laiterie d'Amizour a été créée par l'unité UPL 03 de Draa Ben Khedda qui est-elle-même une unité de l'office régional du lait de centre (ORLAC). Au début l'unité UPL 03 a créé une entente de commercialisation du lait pasteurisé au niveau de chef-lieu de wilaya de Bejaia, par suite ce projet, fut développé en une unité de conditionnement du lait et ce niveau d'Amizour. Les travaux ont commencé en juillet 1993, après acquisition des locaux destinés à la création d'un centre vétérinaire, l'aménagement de ces locaux a pris fin en décembre 1994 et la mise en activité en janvier 1995. L'activité principale de cette annexe de L'UPL 03 est le conditionnement du lait pasteurisé de Draa Ben Khedda transporté par citerne, puis L'UPL a réceptionné le matériel récupéré d'autres laiteries afin de reconstituer le lait sur place. Le 21 septembre L'UPL 06 d'Amizour devient laiterie d'Amizour après sa filialisation.

Organisation de l'unité ORLAC d'Amizour :

La laiterie d'Amizour est gérée par un PDG qui dirige les différents services incluant l'administration générale, service technique et commercial.

Selon les renseignements recueillis au près de l'administration, l'entreprise fonctionne avec un effectif total de 80 personnes ; sa production journalière est de 120000 litres de lait pasteurisé.

II-1-2-Les principaux produits de la laiterie sont :

- Lait pasteurisé, conditionné en sachets de 1 litre (DIALY).
- Lait de vache pasteurisé, conditionné en sachets de 1 litre.
- Lait fermenté pasteurisé, conditionné en sachets de 1 litre (L'BEN).

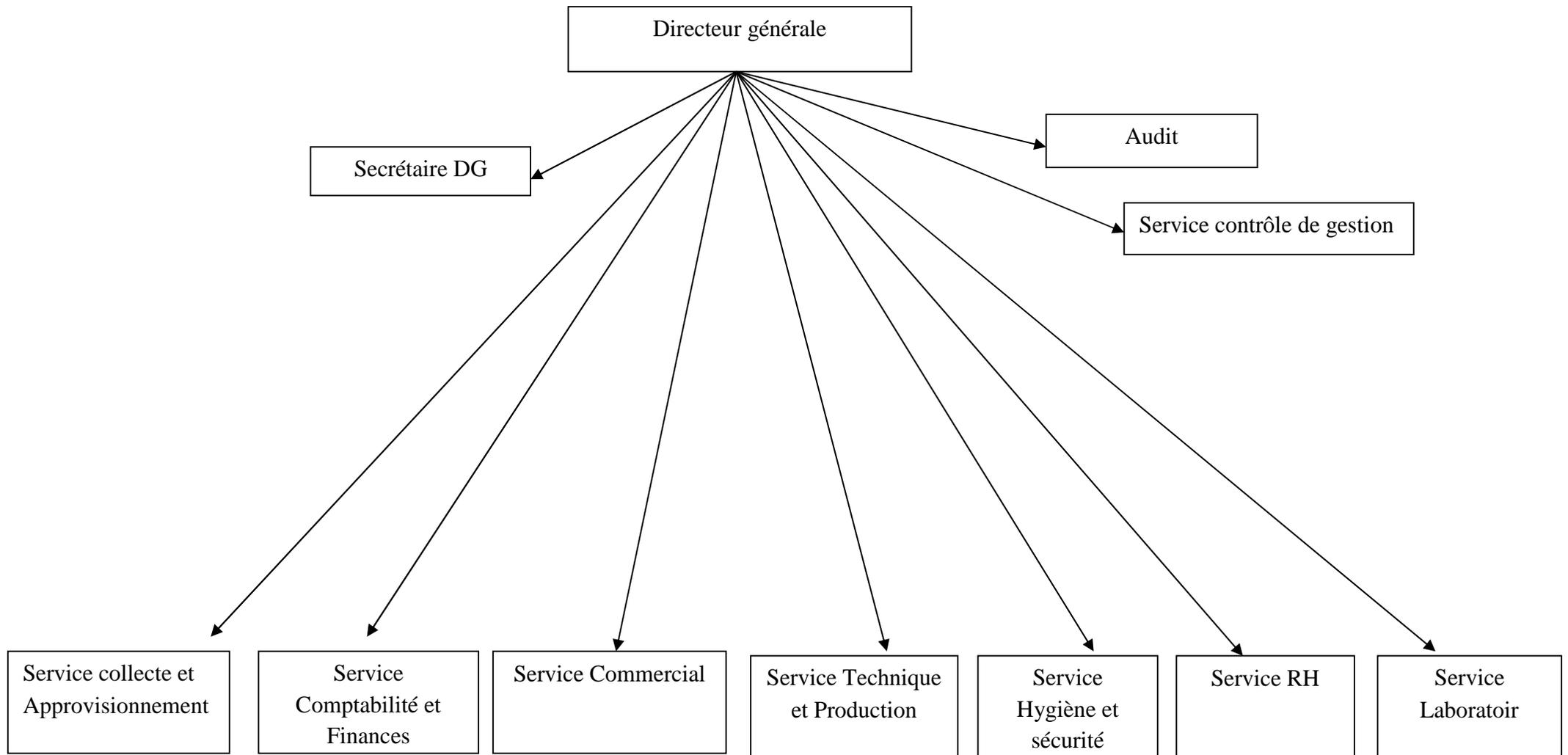


Fig.2 : Organigramme de la laiterie d'Amizour

II-2-Matériel et méthodes

Dans le but d'étudier l'effet de la rupture de la chaîne de froid sur la qualité physico-chimique et microbiologique de lait de vache pasteurisé conditionné, des analyses sur le produit fini ont été effectuées pendant une période de 6 jours, sur un lait qui a subi une rupture de froid à différentes températures, pendant 2 heures.

II-2-1-Techniques de prélèvement et choix des échantillons

Les échantillons à analyser sont récupérés juste à la sortie de la conditionneuse et acheminé au laboratoire pour les analyser.

Dès l'arrivée des échantillons au laboratoire, ils sont répartis en 3 lots de 6 sachets chacun, puis étiquetés. Les mentions suivantes sont portées sur chaque étiquette : date de prélèvement, température de conservation, température et temps de rupture de la chaîne de froid.

Pour simuler la moyenne de la température de l'été et entre l'hiver et le printemps, nous avons choisi deux températures, une de 30°C et l'autre de 20°C respectivement.

Une fois étiquetés, le premier lot (lot 1) est conservé immédiatement au réfrigérateur à 4°C et utilisé comme témoin. Le deuxième lot (lot 2) est laissé à température ambiante (20°C) pendant 2h, le troisième (lot 3) est incubé à 30°C pendant 2h. Ces deux lots sont ensuite stockés au réfrigérateur à 4°C pendant six jours.

Chaque jour et avant chaque analyse, le sachet de lait est bien agité afin de rendre le produit homogène (**Guiraud, 1998**). Le contenu est ensuite transféré dans des flacons stériles fermés hermétiquement. Ces flacons destinés aux analyses microbiologiques servent aussi, par la suite, aux analyses physico-chimiques.

II-2-2-Analyses microbiologiques (normes J.O.R.A N°35, 1998)

Les produits alimentaires peuvent contenir une flore microbienne plus ou moins abondante, qui peut être nuisible pour leur qualité microbiologique ou organoleptique. L'analyse microbiologique est indispensable, pour assurer au produit une bonne conservation, ainsi que pour garantir la qualité hygiénique et donc la sécurité du consommateur en permettant la détection des microorganismes et des toxines microbiennes (**Guiraud, 1998**).

II-2-2-1-Préparation des dilutions décimales

1ml de lait est introduit dans un premier tube contenant neuf ml d'eau physiologique, nous réalisons ainsi la dilution 10^{-1} . A partir de ce tube homogénéisé à son tour, nous prélevons 1ml que nous avons introduit dans un autre tube pour réaliser la dilution 10^{-2} , l'opération est ainsi répétée pour un certain nombre de fois en fonction de l'échantillon.

II-2-2-2-Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile

La flore totale aérobie mésophile peut se développer dans un milieu nutritif non sélectif après incubation à 30°C pendant 72h apparaissant sous forme de colonies de taille et de forme différentes (**Petranxiene et Lapier, 1981**).

Le milieu PCA est le plus employé comme gélose de numération (**Guiraud, 1989**).

Pour ce faire, 1mL d'une dilution, correspondante à chaque produit, est introduit dans une boîte de Petri, ensuite, le milieu PCA en surfusion est coulé dans la boîte. Cette dernière est ensuite homogénéisée avec des mouvements de huit et laissée solidifiée. Par la suite, elles sont incubées à 30°C pendant 72 heures

Ce test est réalisé en utilisant deux boîtes par dilution (fig. 1). Le dénombrement est réalisé pour les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies et exprimé en UFC/ml (**Delarras, 2003**)

Le calcul du nombre de bactéries présentes dans l'échantillon par essai (N), en tant qu'une moyenne pondérée à partir de deux dilutions successives, se fait à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum C}{(n_1 + 0,1n_2)d}$$

Où :

C : la somme des colonies comptées sur toutes les boîtes retenues ;

n_1 : le nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

n_2 : le nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution ;

d : le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue.

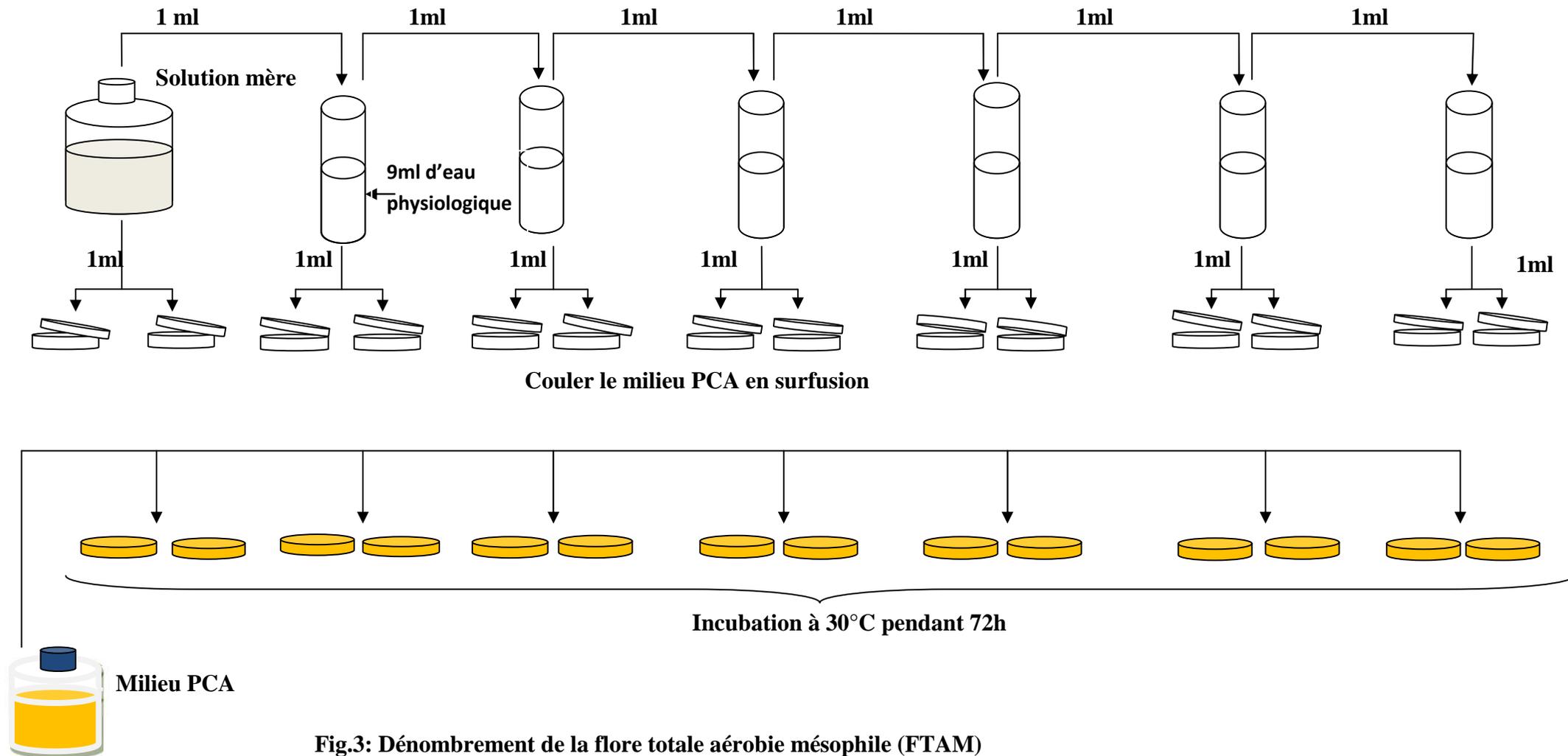


Fig.3: Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

II-2-2-3-Dénombrement des coliformes totaux sur milieu liquide

La colimétrie est une technique permettant la recherche et le dénombrement des coliformes. Elle renseigne sur une contamination d'origine fécale (**Petranxiene et Lapied, 1981**).

Les coliformes fermentent rapidement le lactose avec un dégagement gazeux, ce dernier est perçu dans les cloches de Durham avec un trouble bactérien dans les tubes. Ces deux observations indiquent un résultat positif (fig. 2).

Pour ce faire, trois tubes du milieu BLBVB muni d'une cloche chacun sont ensemencé avec 1ml de chaque dilution (de 10^{-1} jusqu'à 10^{-6}) puis incubation à 37°C pendant 24-48h.

Pour le dénombrement, on prend comme référence la table de Mac Grady.

II-2-2-4- Recherche des coliformes fécaux

Les coliformes fécaux ou les coliformes thermotolérants sont des coliformes capables de se développer a 44°C .Dans cette catégorie, on trouve essentiellement *Escherichia coli*. Leur mise en évidence est faite par le test de Mac kenzie qui permet la détection d'*Escherichia coli*.

A partir d'un tube positif de BLBVB, on prélève 1ml qu'on ensemence dans un autre tube contenant le même milieu.

L'incubation est faite à 44°C pendant 24h-48h (**Petranxiene et Lapied, 1981**).

Après l'incubation, on ajoute quelques gouttes du réactif de kovacs. Le résultat positif se manifeste par la formation d'un anneau rouge (Fig.3)

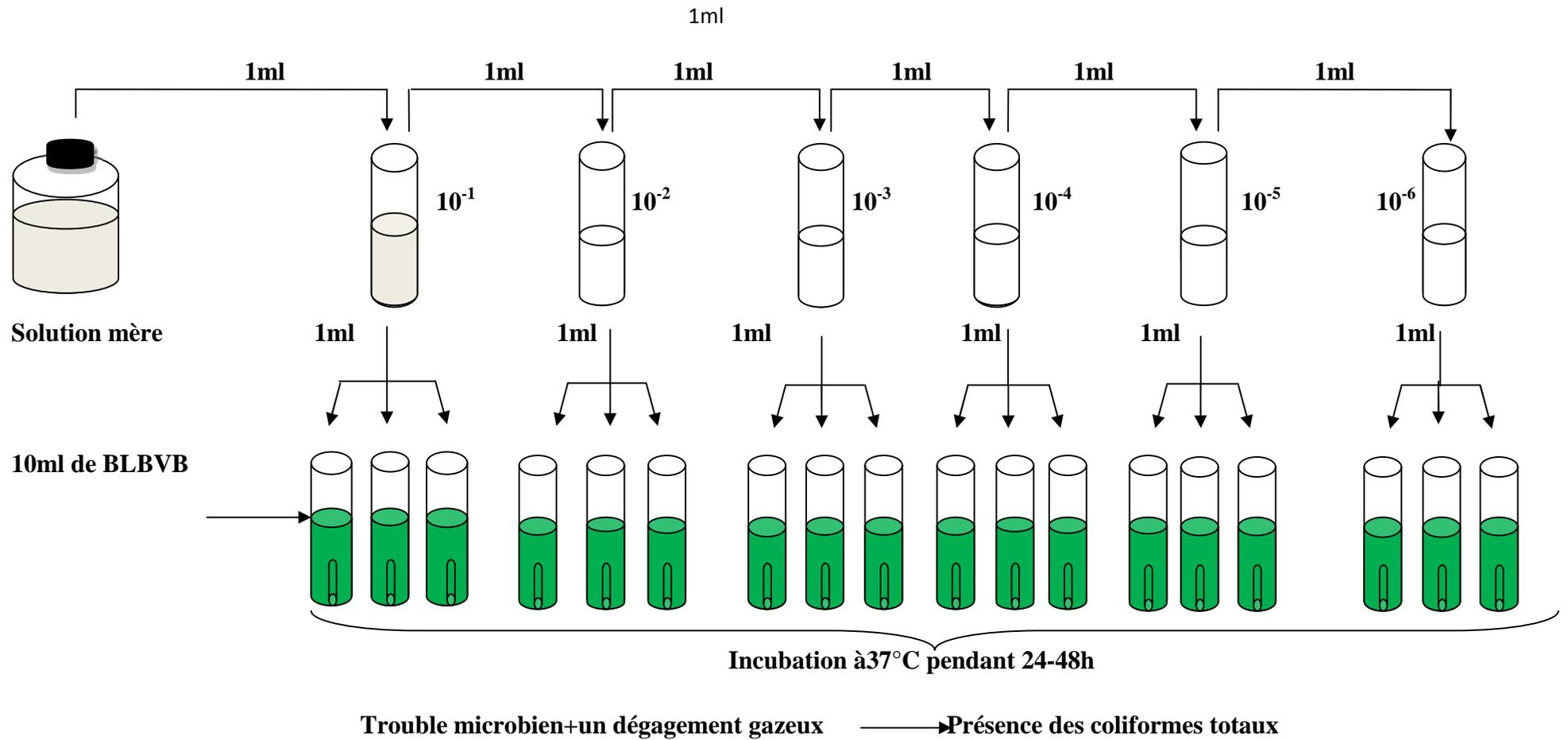


Fig.4 : Dénombrement des coliformes totaux sur milieu BLBVB

Repiquage des tubes positif

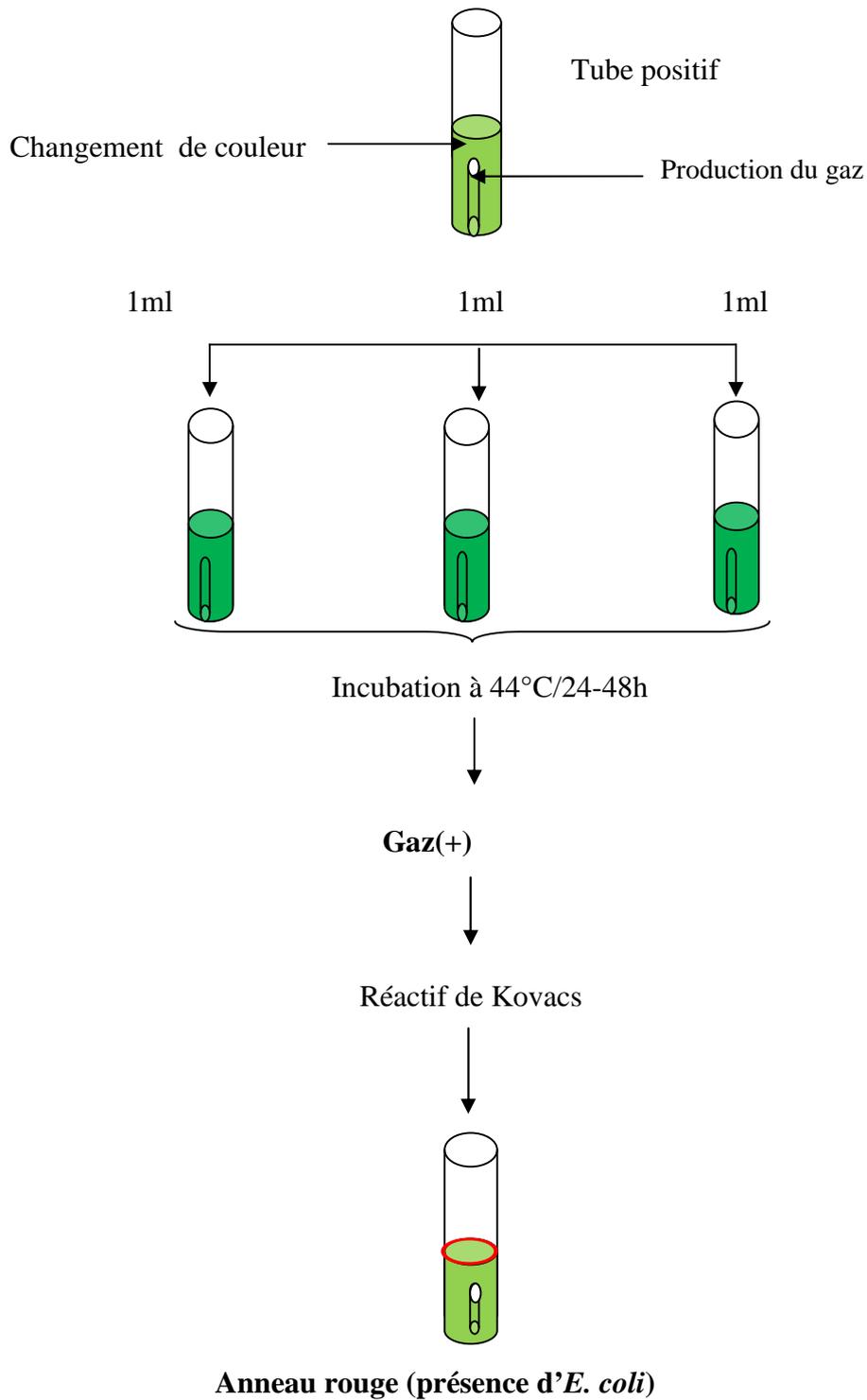


Fig.5 : Recherche des coliformes fécaux et d'éventuelle souche d'*E. coli*

II-2-2-5-Recherche et dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Les souches de *Staphylococcus aureus* se développent dans le milieu Baird Parker(BP) additionné de sel de tellurite de potassium et de jaune d’œuf après incubation à 37°C pendant 48h .Ces microorganismes réduisent ce sel en tellure noire et hydrolysent les protéines du jaune d’œuf conduisant à la formation d’un halo clair autour des colonies (Guiraud, 1998)

Les souches de *Staphylococcus aureus* sont dénombrées par la technique de numération sur milieu solide. 0,1 ml de la dilution 10⁻¹ est étalé à la surface d’une boîte de Petri préalablement coulée par le milieu Baird Parker. Cette boîte est ensuite incubée à 37°C pendant 24h. Les colonies noires, présentant un halo clair ont été dénombrées.

Ce test est réalisé en utilisant deux boîtes par dilution. Le mode opératoire est schématisé dans la fig.4.

La lecture s’effectue suivant la technique de numération sur milieu solide décrite dans le dénombrement de la FTAM.

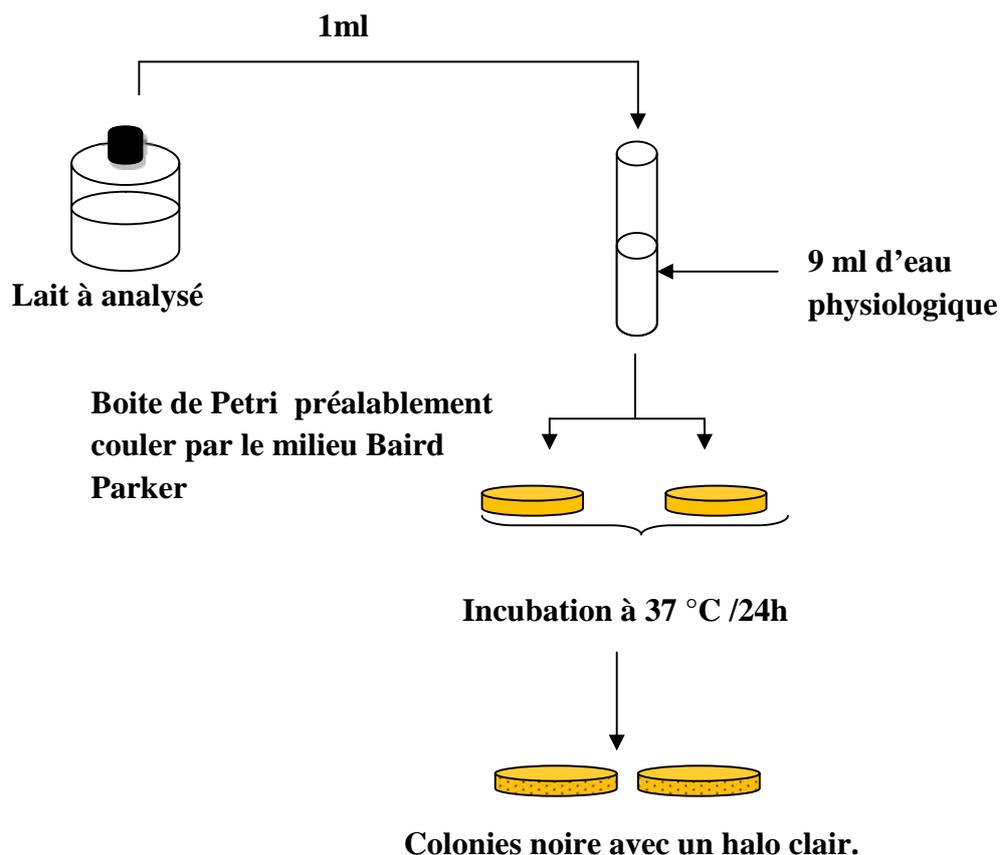


Fig.6 : Dénombrement des souches de *Staphylococcus aureus*.

II-2-2-6- Dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs

Ce dénombrement se fait par comptage des colonies noires sur la gélose VF, après incubation à 46°C/48h. Leur mise en évidence est basée sur le pouvoir des *Clostridium* à réduire le sulfite contenu dans leur milieu et à produire de l' H₂S (**NF EN ISO 6887-1; NF ISO 7402**).

Pour ce faire, du lait pasteurisé ayant été chauffé à 80°C pendant 10 minutes (élimination des formes végétatives) est réparti dans quatre tubes à raison de 1 ml chacun. Par ailleurs, 200 ml de milieu VF, fondu et refroidi, sont additionnés de 2 ml d'alun de fer et de 5 ml de sulfite de sodium. Ce milieu VF modifié va être additionné aux tubes précédents de façon à avoir un volume final de 20 ml chacun. Après agitation, la paraffine est ajoutée afin de créer l'anaérobiose. Par la suite, les tubes sont incubés à 46°C pendant 48h (Fig.5).

Les tubes présentant des colonies entourées d'un halo noir proviennent de la germination et du développement de spores qui ne sont pas détruites au cours du traitement thermique.

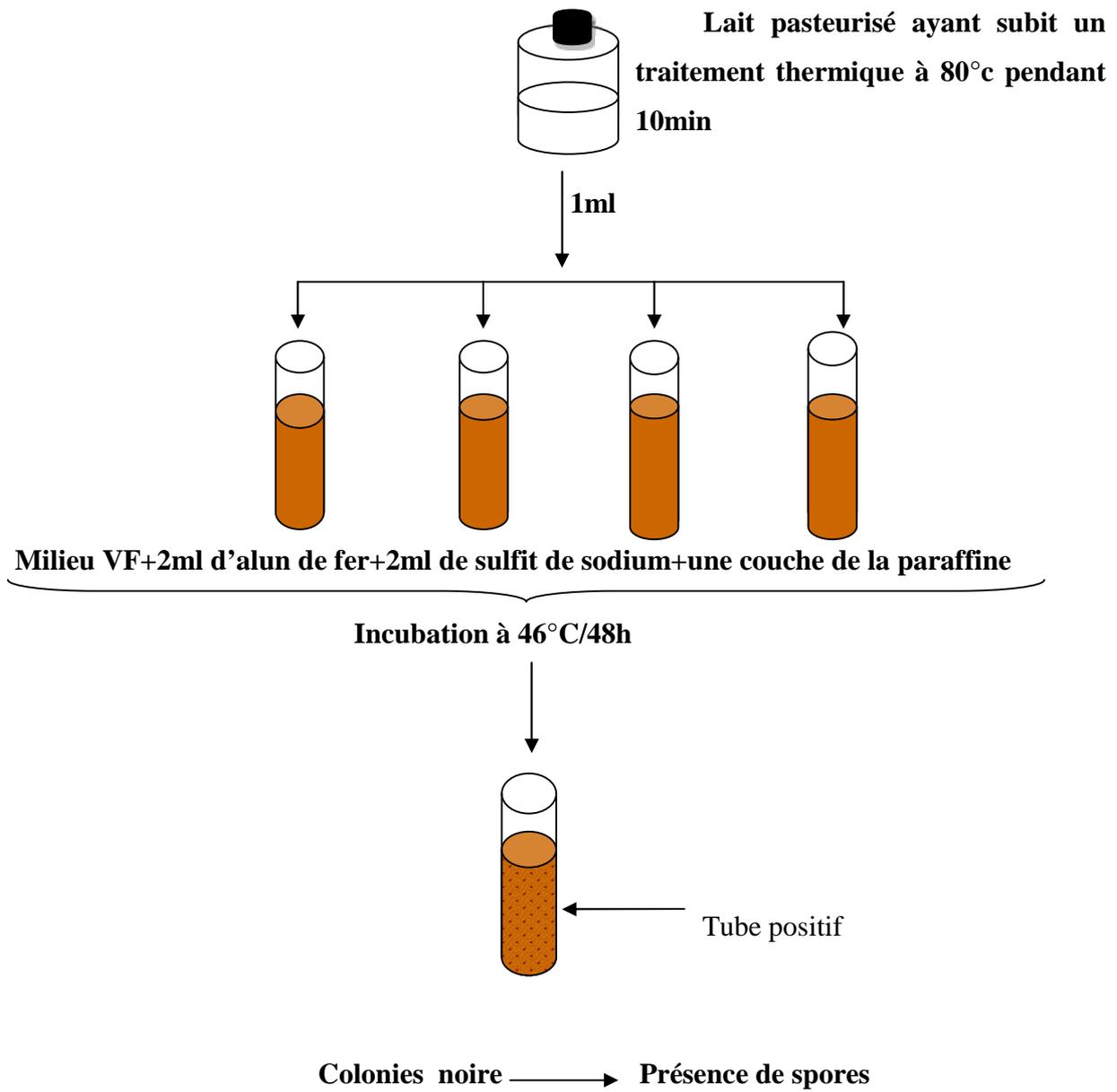


Fig.7 : Recherche des *Clostridium* sulfito-réducteur.

II-2-2-7- Recherche des Streptocoques totaux

La recherche des *Streptocoques* totaux est basée sur l'utilisation d'un milieu contenant un agent sélectif des *Streptocoques* qui est l'azide de sodium. Après 48heures d'incubation à 37°C, la présence des *Streptocoques* se traduit par un trouble.

La confirmation de la présence de coliformes fécaux est réalisée sur un milieu plus sélectif contenant une plus forte concentration en azide de sodium et en éthyle violet (EVA Litsky). Pour ce faire, deux tests sont utilisées ;

➤ Test présomptif

L'ensemencement d'une série de 9 tubes est effectué comme suit :

-03 tubes contenant 10ml de Rothe D/C + 10ml d'échantillon à analyser;

-03 tubes contenant 10ml de Rothe S/C + 1ml d'échantillon ;

-03 tubes contenant 10ml de Rothe S/C + 0,1ml d'échantillon ;

L'incubation est effectuée à 37°C pendant 48 h. La présence des *Streptocoques* se manifeste par la présence d'un trouble dans les tubes (Fig.6).

Le nombre de tubes positifs est noté dans chaque série et la lecture se fait grâce à la table de Mac Grady.

➤ Test confirmatif

A partir des tubes Rothe positifs, 2 à 3 gouttes servent à ensemercer dans un bouillon à l'éthyle violet et à l'azide de sodium, puis les tubes sont incubés à 37°C pendant 24heures.

La présence de *Streptocoques* se traduit par un trouble et éventuellement la formation d'une pastille violette au fond des tubes.

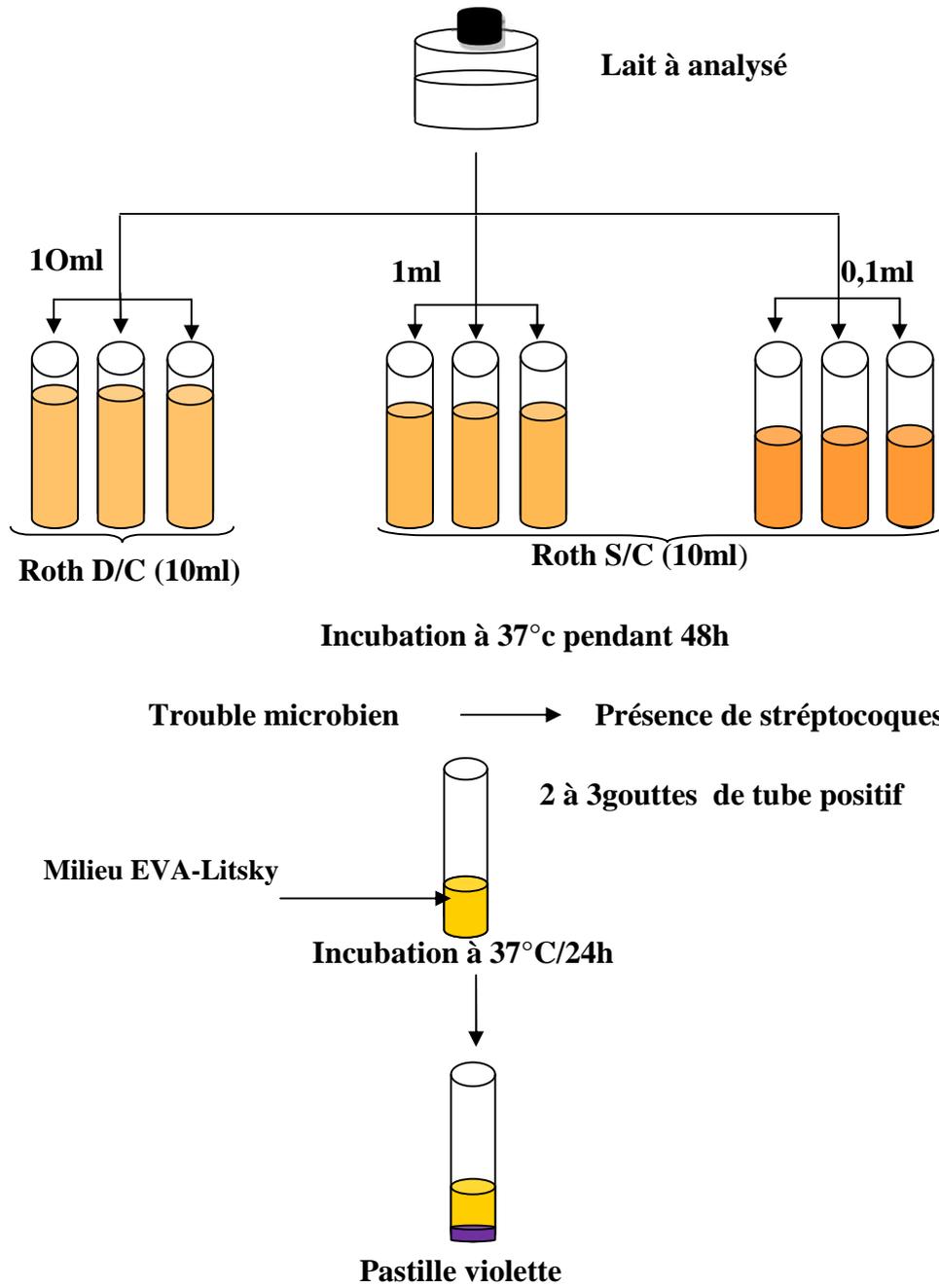


Fig.8 : Recherche des streptocoques D

II-2-3-Analyses physico-chimiques

Le contrôle physico-chimique a pour objectif de vérifier au produit sa stabilité et sa consistance en ce qui concerne ses caractéristiques organoleptiques.

II-2-3-1-Mesure du pH

Le pH est la concentration en ions hydrogène (H^+) d'une solution ionisée. La mesure du pH renseigne sur le degré de fraîcheur du produit (**Dearigny et al ., 1994**). Il doit être compris entre 6,6 et 6,8 pour un lait frais.

La mesure du pH est faite à l'aide du pH-mètre HANNA. Elle est basée sur une réaction mettant en jeu les ions H^+ libres d'une solution. Afin de réaliser cette mesure, le pH-mètre est préalablement étalonné à l'aide de deux solutions tampons 7 et 4.

Avant chaque détermination du pH, l'électrode doit être soigneusement rincée avec de l'eau distillée puis séchée avec du papier absorbant. La valeur du pH de la solution à analyser est directement lue sur le cadran du pH-mètre.

II-2-3-2-L'acidité titrable

La mesure de ce paramètre s'effectue par dosage de l'acide lactique en utilisant du NaOH N/9 en présence de phénolphtaléine (**Aboutayeb, 2009**).

Bien que l'acide lactique ne soit pas le seul acide présent, l'acidité titrable peut être exprimée en grammes d'acide lactique par litre de lait ou en degré Dornic ($^{\circ}D$). $1^{\circ}D=0,1g$ d'acide lactique par litre de lait (**Jean et Dijon, 1993**).

Afin de réaliser cette analyse, 10ml de lait sont mis dans un bécher. Deux à trois gouttes de phénolphtaléine sont ajoutées. La titration est réalisée avec du NaOH N/9 jusqu'à l'apparition de la couleur rose pâle qui doit persister au moins 10 secondes. Le volume du NaOH est lu sur la burette.

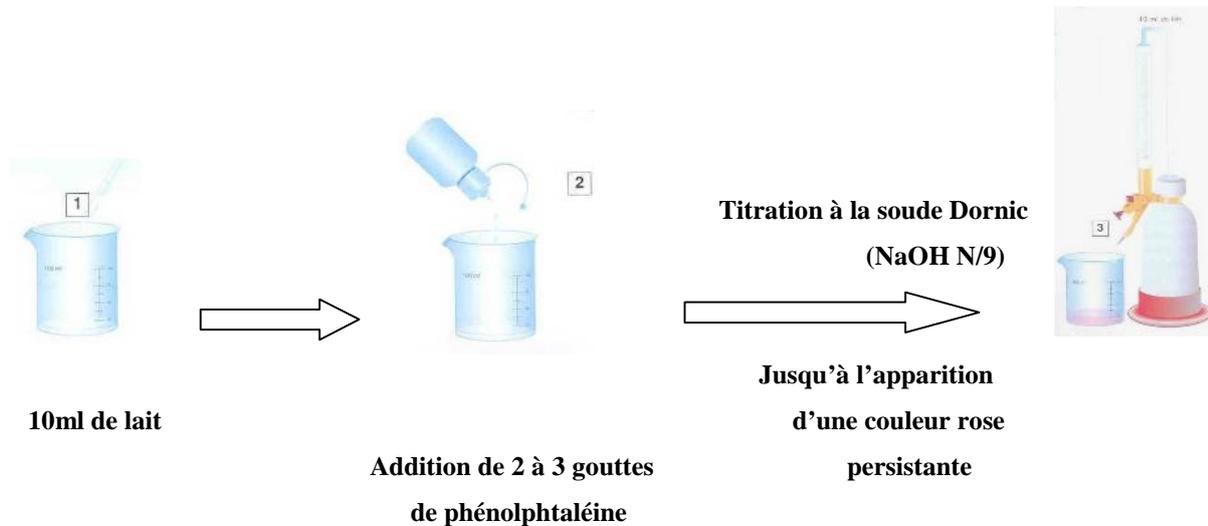


fig .9 : Schéma représentant la mesure de l'acidité titrable

L'acidité titrable est exprimée en degré Dornic, elle est donnée selon la formule suivante :

$$A = V \times 10$$

A : Acidité Dornic

V : Volume en millilitres de la solution sodique utilisé pour le titrage.

II-2-3-3-Détermination de la matière grasse(MG) (Méthode acido-butyrométrique GERBER)

La méthode utilisée est celle de l'acido-butyrométrie (Gerber) qui consiste en la séparation de la matière grasse du lait par centrifugation (1000tr/min) dans un butyromètre .Après dissolution des protéines du lait par l'acide sulfurique, cette séparation des phases est favorisée par l'addition d'une quantité d'alcool iso-amylique (AFNOR, 1986).

Pour ce faire, 10ml d'acide sulfurique(H_2SO_4) sont prélevés à l'aide d'un doseur puis introduits dans le butyromètre, 11ml de lait sont introduits délicatement à l'aide d'une pipette sans mouiller le col du butyromètre et en évitant un mélange prématuré du lait avec l'acide. 1ml d'alcool iso-amylique est ensuite versé à la surface du lait en évitant de mélanger les liquides. Une homogénéisation par retournement est réalisée, suivie d'une centrifugation de 1000 rpm pendant 10 min. La valeur est directement lue sur le butyromètre.

La teneur en matière grasses est exprimée en g/l et chaque graduation du butyromètre correspond à 1g/l de matière grasse.

II-2-3-4-Détermination de l'extrait sec total (EST)

Cette analyse permet de déduire la quantité d'extrait sec total dans un échantillon. La matière sèche est le produit résultant de la dessiccation de l'échantillon par évaporation de l'eau dans une étuve à 103°C pendant 3h. Elle est exprimée en pourcentage ou en g/l (AFNOR ,1985)

Pour réaliser cette analyse, une capsule en aluminium est pesée vide puis, repesée après y avoir versé 5ml de lait. La capsule est ensuite mise dans l'étuve à 103°C pendant 3h puis repesée encore une fois.

La teneur en extrait sec total a été déterminée selon cette formule :

$$\text{EST} = \frac{\text{PE} - \text{P}}{\text{P}'} \cdot 1000 (\text{g/L})$$

Tel que :

EST : Extrait sec total

P : Poids de la capsule vide

P' : Poids de la capsule avec le produit.

PE : Poids après la prise d'essai.

III-1-Résultats des analyses microbiologiques du lait pasteurisé

III-1-1- Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM)

La flore totale aérobie mésophile représente l'ensemble des microorganismes se développant en présence d'oxygène à une température optimale de 30°C (multiplication active de 10°C à 45°C). Cette appellation peut donc regrouper aussi bien des microorganismes pathogènes que d'altération. Le dénombrement de la FTAM reflète la qualité microbiologique générale du lait.

Selon Sutra 1998, des valeurs élevées n'indiquent pas nécessairement la présence de pathogènes. Aussi, des valeurs basses peuvent s'accompagner par la présence de pathogènes à des niveaux dangereux

Les résultats du dénombrement de la flore totale aérobie mésophile effectué sur les trois lots analysés sont représentés dans la figure 7.

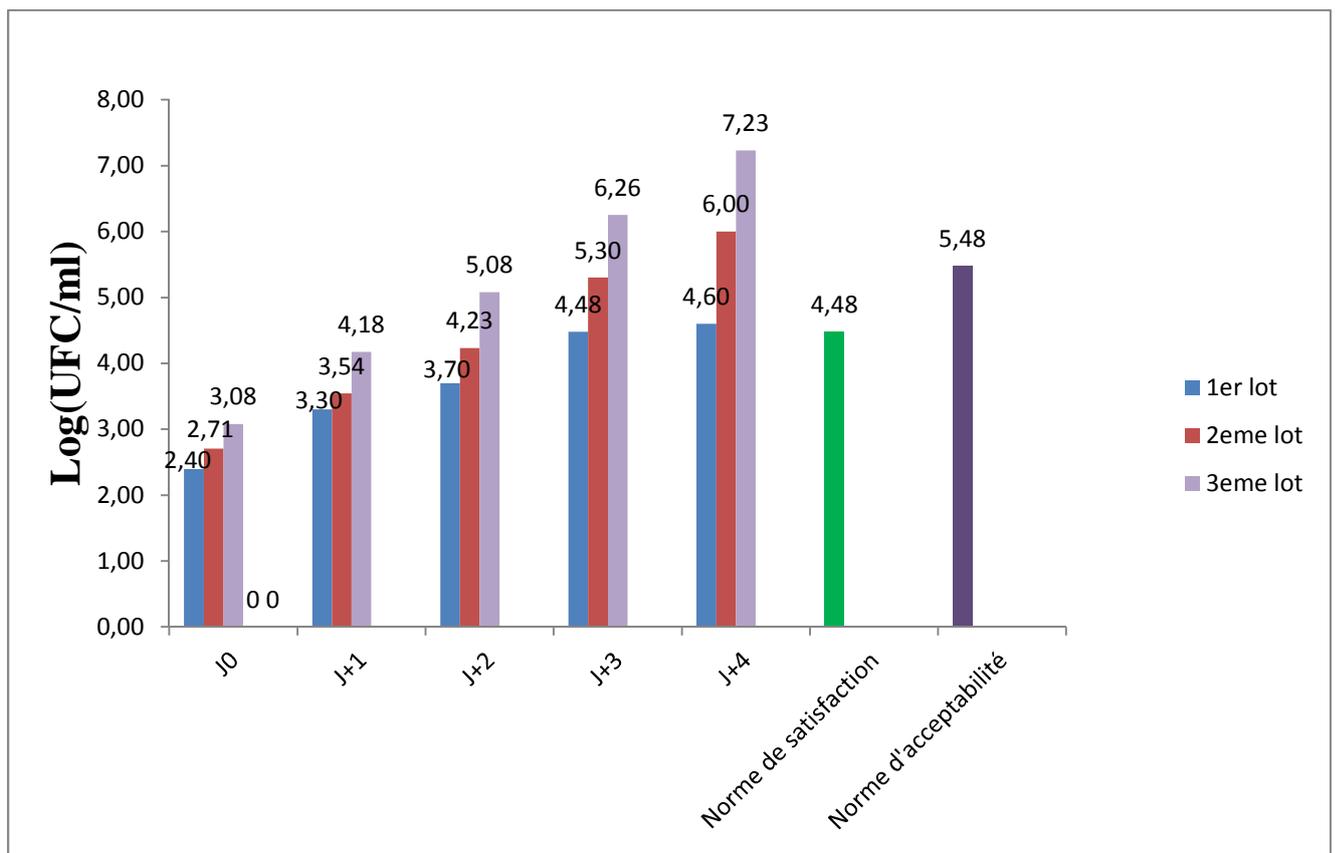


Fig.10 : Evolution de la FTAM pour les trois lots en fonction du temps

✓ Cas du premier lot

Ce lot est stocké à 4°C (lot témoin).

La charge microbienne initiale de ce lot à J_0 est de $2,5 \cdot 10^2$ UFC/ml. Le nombre de germes augmente en fonction du temps de stockage jusqu'à ce qu'il atteigne, au quatrième jour, une valeur de $3 \cdot 10^4$, puis augmente jusqu'à atteindre son maximum avec une valeur de $4 \cdot 10^4$ UFC/ml au cinquième jour.

L'évolution de la FTAM en fonction du temps de stockage à 4°C a montré que ce paramètre répond aux normes du J.O.R.A. Cependant, à la fin du cinquième jour, le nombre de germes aérobies mésophiles dépasse le seuil de satisfaction recommandé par le J.O.R.A correspondant à $3 \cdot 10^4$ UFC/ml mais pas celui d'acceptabilité qui est de $3 \cdot 10^5$ UFC/ml. Cela signifie que le produit est d'une qualité microbiologique non satisfaisante mais reste toujours acceptable.

✓ Cas du deuxième lot

Ce lot a subi une rupture de la chaîne de froid pendant 2h à 20°C puis stocké à 4°C pendant 6 jours.

Le nombre de germes initial à J_0 est de $2,5 \cdot 10^2$ UFC/ml. Une rupture de 2h à 20°C fait passer ce nombre à une valeur de $5,1 \cdot 10^2$ UFC/ml. A l'issue du troisième jour, le résultat du dénombrement de la FTAM est de $1,7 \cdot 10^4$ UFC/ml. Ce nombre de germes est conforme à la norme de satisfaction qui est de $3 \cdot 10^4$ UFC/ml. La charge microbienne atteint la valeur de 10^6 , au cinquième jour. Ce qui rend la qualité du lait inacceptable, car la limite d'acceptabilité $3 \cdot 10^5$ UFC/ml est dépassée.

✓ Cas du troisième lot

Ce lot est incubé à 30°C pendant 2h puis stocké au réfrigérateur

Les résultats obtenus ont montré que la charge bactérienne de ce dernier lot est élevée par rapport aux résultats du premier et deuxième lot. Le nombre de germes juste après la rupture est de $1,2 \cdot 10^3$ UFC/ml. Il dépasse la charge initiale de $2,5 \cdot 10^2$ germe/ml. Cette charge microbienne croît ensuite jusqu'à atteindre son maximum au bout du cinquième jour avec une valeur de $1,7 \cdot 10^7$ UFC/ml.

Les résultats de ce paramètre répondent aux normes de satisfaction exigées par le J.O.R.A au bout des deux premiers jours de stockage. Le produit est d'une qualité non satisfaisante mais acceptable au troisième jour. Au-delà, la qualité du lait est inacceptable.

Les résultats du premier lot sont conformes aux normes exigées par la réglementation en vigueur (1998) qu'il s'agisse de la norme de satisfaction (3.10^4 UFC/ml) ou de la norme d'acceptabilité (3.10^5 UFC/ml). Par contre, en ce qui concerne les résultats du deuxième et troisième lot, la rupture de la chaîne de froid a une influence sur la qualité microbiologique du produit.

III-1-2-Dénombrement des coliformes totaux

La recherche des coliformes est très importante car elle constitue un indicateur de contamination fécale. Leur absence indique la bonne qualité du lait (Rodier et al ,2005).Les résultats obtenus pour les trois lots sont représentés dans la figure 8.

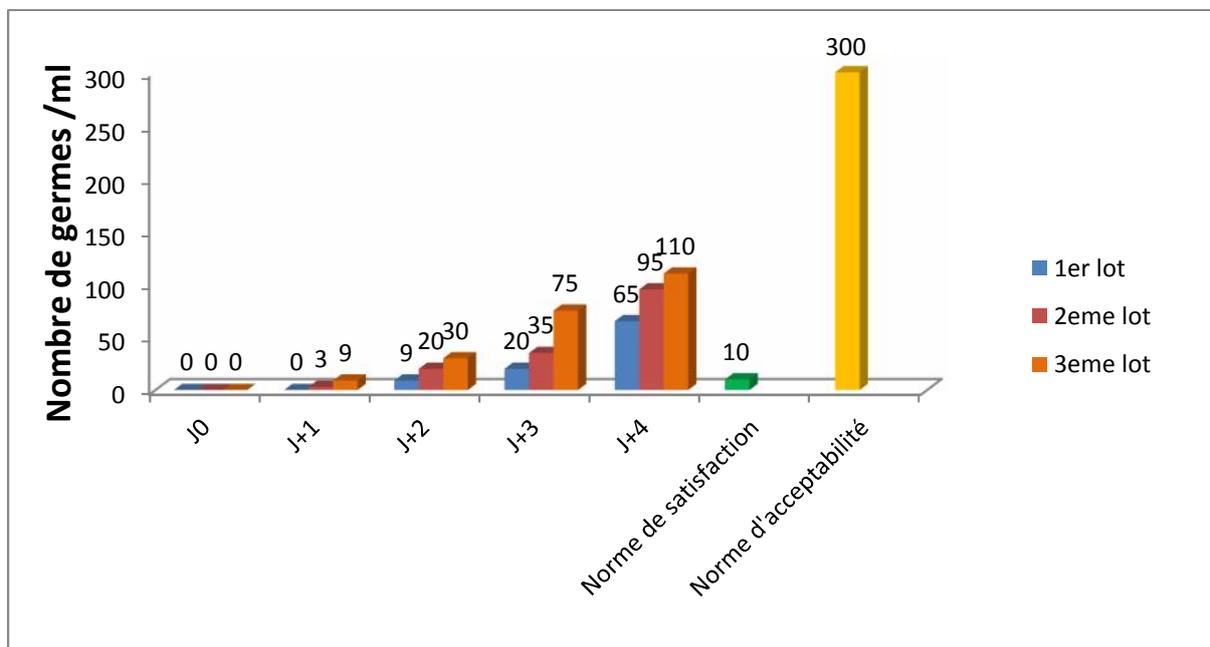


Fig.11 : Evolution des coliformes pour les trois lots en fonction du temps

✓ **Cas du lot témoin**

Nous constatons l'absence de coliformes totaux après deux jours de stockage. Au bout du troisième jour, le nombre de germes détectés n'est que de 9 germes/ml. Ce nombre atteint son maximum de 65 germes/ml, au cinquième jour.

A J₀, le nombre de coliformes est de 0 germe/ml. Ce qui est conforme à la valeur de satisfaction fixé par le J.O.R.A régissant le lait pasteurisé conditionné à la sortie d'usine et qui est limitée à 1germe/ml. Au troisième jour, le nombre de coliformes détectés est inferieur à la valeur des coliformes donnée par la norme de satisfaction du lait exposé à la vente qui est

limitée à 10germes/ml. Cependant, à partir du quatrième jour, le produit n'est pas satisfaisant mais acceptable.

✓ **Cas du deuxième lot**

Une absence totale de coliformes totaux est observée le premier jour. Cependant, ils commencent à proliférer pour atteindre au deuxième jour une valeur de 3 germes/ml. Une valeur de 20 germes/ml est observée le troisième jour. La charge microbienne atteint son maximum le cinquième jour avec 95 germes/ml. Le lait pasteurisé répond à la réglementation en vigueur du J.O.R.A à la sortie d'usine le premier jour. Après, le nombre de coliformes totaux dépasse la valeur de satisfaction fixé par le J.O.R.A, bien qu'il reste toujours acceptable jusqu'au cinquième jour.

✓ **Cas du troisième lot**

De même que pour le deuxième lot, nous avons noté une absence totale de coliformes totaux au premier jour.

Cependant, ces germes commencent à proliférer dès le deuxième jour avec un nombre de 9 germes/ml, qui est dans la norme de satisfaction exigé par le J.O.R.A. Au bout du cinquième jour, le nombre de germes atteint une valeur de 110 germes/ml. Ce qui signifie que le produit n'est plus satisfaisant mais acceptable.

En comparant les résultats des trois lots, nous constatons que la rupture de la chaîne de froid a un effet négatif sur la qualité microbiologique du lait pasteurisé. En effet, cette rupture le rend non satisfaisant mais il reste toujours dans les normes d'acceptabilité exigées par la réglementation du J.O.R.A.

III-1-3-Dénombrement des *Staphylococcus aureus*

Les résultats du dénombrement de *Staphylococcus aureus* pour les trois lots sont représentés dans la fig9.

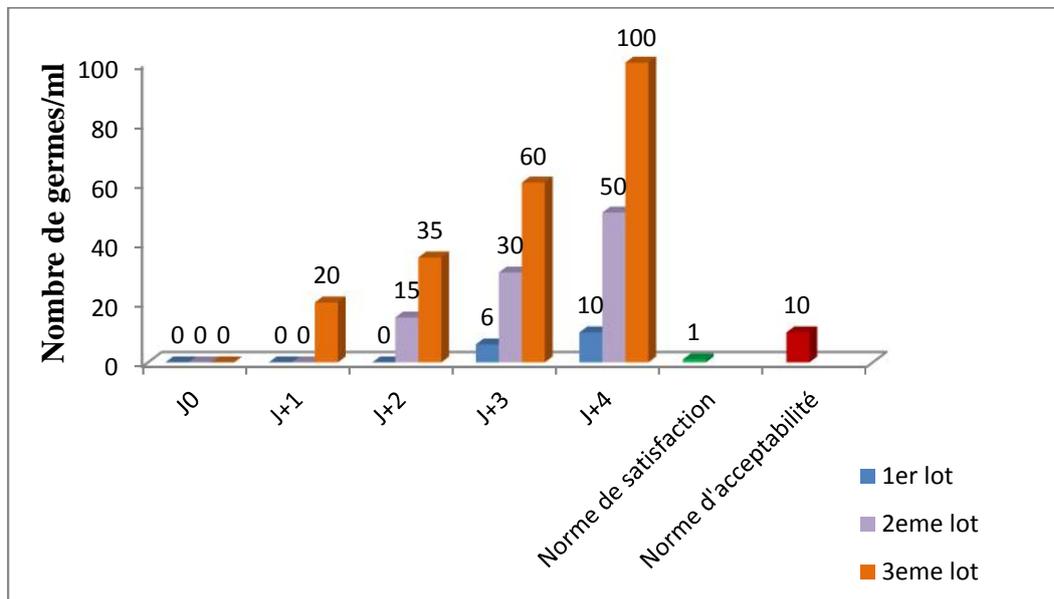


Fig.12 : Résultats de la recherche et de dénombrement de *Staphylococcus aureus* pour les trois lots.

✓ **Cas du premier lot**

Les résultats obtenus pour le dénombrement de *Staphylococcus aureus* montrent leur absence dans les trois premiers jours et leur présence au quatrième jour avec 6 germes/ml. Cette charge microbienne augmente jusqu'à atteindre 10 germes/ml le cinquième jour. Cette valeur dépasse la norme de satisfaction et qui est à la limite de la norme d'acceptabilité du J.O.R.A. Par conséquent, au-delà de cinq jours, le lait n'est plus acceptable.

✓ **Cas du deuxième lot**

Les résultats de ce lot montrent l'absence de ce germe au premier et deuxième jour. Celui-ci commence à se développer dès le troisième jour avec une valeur de 15 germes/ml jusqu'à atteindre 50 germes/ml le cinquième jour. Ce qui dépasse largement la norme exigée par le J.O.R.A.

✓ **Cas du troisième lot**

L'absence de *Staphylococcus aureus* est notée le premier jour. C'est à partir du deuxième jour qu'il commence à se développer avec un nombre de 20 germes/ml qui dépasse la norme de satisfaction ainsi que la norme d'acceptabilité.

Au cinquième jour, ces normes sont très largement dépassées puisque le nombre de *Staphylococcus aureus* atteint 100 germes/ml.

III-1-4-Recherche de *Clostridium* sulfito-réducteurs

Nous notons l'absence totale des *Clostridium*s sulfito-réducteurs dans tous les lots analysés et ce, pendant toute la durée de l'étude.

III-1-5-Recherche des streptocoques totaux

De même que pour les *Clostridium*s sulfito-réducteurs la recherche des streptocoques dans le lait de vache pasteurisé étudié a révélé leur absence totale dans tous les lots.

D'après les résultats des analyses microbiologiques obtenues pour les trois lots, nous constatons que pour le premier lot le produit est consommable au bout de cinq jours. Cependant, pour le deuxième et troisième lot, le lait n'est consommable qu'au bout de deux et un jour respectivement.

III-2-Résultats des analyses physico-chimiques

Afin d'évaluer l'effet de la rupture de la chaîne du froid sur la qualité physico-chimique du lait pendant la durée précédant sa date limite de consommation (DLC) qui est de six jours, des analyses physico-chimiques ont été effectuées pendant six jours

III-2-1-pH

La mesure du pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait frais normal est neutre ou à tendance légèrement acide vis-à-vis de l'eau pure (pH 7 à 20°C). S'il y a action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait est dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH (Luquet, 1998)

Les résultats obtenus pour la mesure du pH sont représentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau IV : Résultats du pH du lait de vache pasteurisé pour les trois lots

Jour d'analyse	pH			Norme de J.O.R.A
	lot 1	lot 2	lot 3	
J	6,60	6,60	6,55	6,6-6,8
J+1	6,60	6,55	6,50	
J+2	6,55	6,55	6,50	
J+3	6,50	6,50	6,40	
J+4	6,40	6,40	6,35	
J+5	ND	ND	ND	

J : jour du conditionnement.

ND : non déterminé

Les résultats obtenus dans le premier lot sont conformes à la norme de J.O.R.A et ce, pendant les trois premiers jours. Cette norme indique que le pH du lait pasteurisé doit être compris entre 6,6-6,8. Le pH commence à diminuer à partir du quatrième jour où il atteint une valeur de 6,50 jusqu'à la mesure ne puisse plus être prise à cause de la coagulation du lait.

Concernant le deuxième lot, les pH sont légèrement acides dès le deuxième jour en comparaison à ceux du premier lot.

Cependant, les résultats du dernier lot montrent une différence importante du pH en comparaison au pH du premier lot.

III-2-2-Acidité titrable

Les résultats obtenus pour l'acidité du lait de vache pasteurisé sont représentés dans le tableau V.

Tableau V: Résultats de l'acidité du lait de vache pasteurisé pour les trois lots

Jour de l'analyse	Acidité			Norme de J.O.R.A
	lot1	lot 2	lot 3	
J	16	16	16,5	15-18°D
J+1	16	16,5	17	
J+2	16,5	16,5	17	
J+3	17	18	20	
J+4	20	21	23	
J+5	ND	ND	ND	

L'acidité est un paramètre qui renseigne sur la fraîcheur du lait et sa teneur en acide lactique. En effet, plus le lait est riche en acide lactique plus l'acidité est importante.

Pour le premier lot, d'après les résultats du tableau V, les sachets de lait analysés sont conformes aux normes pendant quatre jours compris dans la période de conservation. Le lait devient acide puisque l'acidité augmente jusqu'à atteindre 20°D au cinquième jour. Concernant le deuxième lot, les résultats sont proches de ceux du premier lot qui dépassent la limite de la norme exigée par le J.O.R.A qui est de 18°D. Les valeurs du dernier lot sont un peu supérieures par rapport au premier et deuxième lot qui atteint une acidité de 23°D le cinquième jour.

Nous constatons qu'il y a une augmentation de l'acidité par rapport au premier jour d'analyse. Ceci peut être expliqué par la production d'acide lactique suite à un développement de microorganismes.

III-2-3-Matière grasse

L'analyse de la matière grasse du lait de vache pasteurisé a révélé les teneurs représentées dans le tableau VI ci-dessous

Tableau VI : Teneurs en matière grasse du lait de vache pasteurisé pour les trois lots

Jour d'analyse	Matière grasse			Norme de J.O.R.A
	lot1	lot 2	lot 3	
J	34	34	34	34g/l
J+1	34	34	34	
J+2	34	34	34	
J+3	34	34	34	
J+4	34	34	34	
J+5	ND	ND	ND	

La teneur en matière grasse du lait analysé est constante pour tous les lots, tout au long de la période de stockage. Ce résultat indique que la pasteurisation a détruit les lipases responsables de la lipolyse de la matière grasse présentes dans le lait cru.

III-2-4- Extrait sec total

L'analyse d'extrait sec total du lait de vache pasteurisé a révélé les teneurs représentées dans le tableau VII ci-dessous

VII-Teneurs en extrait sec total du lait pasteurisé pour les trois lots

Jour de l'analyse	EST			Norme J.O.R.A
	lot 1	lot 2	lot 3	
J	114,6	114,6	114,2	>115 g/l
J+1	114,2	114,1	113,5	
J+2	114,06	113,5	113,1	
J+3	113,56	113,2	112,4	
J+4	112,8	111,8	110,7	
J+5	ND	ND	ND	

Les résultats de l'analyse d'extrait sec total sont tous proches pour les trois lots allant d'une valeur de 114,6g/l jusqu'à 110,7g/l. Les résultats obtenues sont inférieures à la norme d'extrait

sec total exigé par le J.O.R.A. Cela est peut être est dû à un déséquilibre dans l'alimentation du bétail puisque les éléments qui composent le lait proviennent de l'alimentation

Remarque : A partir du cinquième jour les paramètres physico-chimiques ne sont pas déterminé, parce que le lait est acide et par conséquent début de coagulation.

Les analyses physico-chimiques effectuées sur les lots ayant subit la rupture ont donné des résultats proches de ceux du lait conservé à 4°C, sauf pour le pH et l'acidité.

Le pH diminue au cours de la conservation et l'acidité augmente .Ce qui signifie que les teneurs en acide essentiellement l'acide lactique augmente en fonction du temps dans le lait analysé suite à une prolifération microbienne .Laisser le lait à 30°C même pendant 2h devient impropre à la consommation (pH et acidité dépasse la norme), car les conditions sont favorable au développement des microorganismes. C'est pour cette raison nous n'avons pas continué les analyse jusqu'au septième jour.

Tableau VIII : pH et acidité des lots qui ont subit une rupture de la chaîne de froid

Jour de l'analyse	Lot 2		Lot 3	
	pH	Acidité °D	pH	Acidité °D
J	6,60	16	6,55	16,5
J+1	6,55	16	6,50	17
J+2	6,55	16,5	6,50	17
J+3	6,50	18	6,40	20
J+4	6,40	20	6,30	23
Norme	6,6-6,8	15-18	6,6-6,8	15-18

Ce tableau montre les valeurs du pH et d'acidité de deux lots qui ont subit une rupture de la chaine du froid.

Conclusion

L'objectif de notre travail a été d'étudier l'effet de la rupture de la chaîne de froid sur la qualité physico-chimique et microbiologique d'un lait de vache pasteurisé après conditionnement. Concernant l'étude physico-chimique, nous avons constaté que l'extrait sec total ainsi que la matière grasse restent pratiquement constants pendant la durée de l'étude, en l'occurrence pendant six jours. Néanmoins, nous avons noté une variation du pH et de l'acidité, au cours du temps, particulièrement les derniers jours.

Par ailleurs, les résultats obtenus pour les analyses microbiologiques sont conformes aux normes du J.O.R.A pour une durée de Cinq jour pour le lait conservé directement à 4°C. Celui-ci présente donc une qualité acceptable. Cependant, la qualité du lait ayant subi une rupture n'est pas stable. En effet, une prolifération importante de germe est observée dans les deux cas (20 et 30°C).

En faisant une synthèse entre les résultats de la physico-chimie et ceux de l'analyse microbiologique, nous pouvons conclure que le lait conservé directement à 4°C est consommable pendant quatre jours, celui laissé à 20°C pendant deux heures l'est au bout de deux jours. Cependant, le lait qui a subi une rupture à 30°C pendant deux heures n'est bon à être consommé que le jour même.

En recommandation, il faut éviter la rupture de la chaîne de froid,

- ✓ Respecter les conditions de stockage, et éviter de consommer le lait exposé à l'air libre surtout pendant les périodes chaudes.
- ✓ l'entreprise devrait réaliser un contrôle microbiologique à la réception du lait cru
- ✓ il faut consommer le lait pasteurisé les premiers jours suivant sa mise en conditionnement

Références bibliographique

Abiazar R. (2007). Complexations des protéines laitières par les extraits de gousses vertes de caroubier. Thèse de doctorat. Ecole doctorale Abies.

Aboutayeb R. (2009). Technologie du lait et dérivés laitiers. www.azaquar.com

AFNOR, 1986. Association Française de Normalisation recueil des normes françaises. Contrôle de qualité des produits laitiers.

Alais C., (1984). Science du lait : principes des techniques laitières. 4^{ème} éd., édition SEPAIC, Paris, 814p.

Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R et Turgeon H. (2002).

Composition, propriétés physico-chimiques, valeur nutritive, qualité technologique et techniques d'analyse du lait. In : Science et technologie du lait. Vignola C. Ed, Presses internationales polytechnique, Québec, 574p.

Anonyme. (2005). Guide de bonnes pratiques d'hygiène. République du Sénégal, 105 p.

Anonyme. (2009): <http://www.infoconseil.sn/Qualite-du-lait-et-produits.html>.

Anonyme (2009). Traite des vaches laitières, Ed. France Agricole. Paris. 555 p.

Anonyme. (2011). Quel lait choisir ? CRIOC, Edition Référence catalogue : 1-14 p

Bourgeois C., Mescle J.F et Zucam J. (1996). Microbiologie Alimentaire. Ed, Tec et Doc, Lavoisier, Paris, 422p.

Cheftel J.Cl et Cheftel H, (1986) : Introduction à la biochimie et à technologie des aliments

Codex alimentarius. (2000). Définitions des traitements thermique. Comité du codex sur le lait et les produits laitiers. Edition OMS et FAO.pp 4-8

Debry G., (2006). Lait, nutrition et santé. Edition Lavoisier, Paris, 18p.

-Dupin H. et Michaud C. (2000). Aliment, Alimentation et Santé, Questions / Réponses. Edition 2 Lavoisier, Paris : 50 p.

Fridot E. (2005). Connaissances des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique Edition Lavoisier, Paris, 65 p.

Guiraud J.P. (1998) .Microbiologie alimentaire .Techniques d'analyses microbiologique. Edition Dunos, Paris, 76p

Références bibliographique

Guiraud J.P. (2003). Microbiologie alimentaire. Edition : Dunod .Paris .pp337 ,338.

Guiraud J.P et Rosec J.P. (2004). Pratique des normes en microbiologie alimentaire Edition AFNOR, 50 p.

Gosta B., (1995). Lait longue conservation. In manuel de transformation du lait. Ed: Tétra Packs Processing Systems A.B, Suède, 442 p.

Hamama A. (2002). Hygiène et prophylaxie dans les étables laitières. Cours de formation de technicien de l'office régionale de mise en valeur agricole l'Haouz. Marrakech.

J.O.R.A N°63 (1993). Arrêté interministériel du 18/08/1993, relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

JORA , N° 69 du 18/08/1993). Classification et spécification des laits. Section III

Jean C ; et Dijon C. (1993) : Au fil du lait, ISBN 2-86621-172-3

Jeantet R., T. Croguennec, M. Mahaut, P. Schuck et G. Brulé (2008). Les produits laitiers. 2^{ème} Ed. Tec et Doc- Lavoisier. Paris. 185p.

Jeantet R., G. Brulé, G. Delaplace (2011) .Génie des procédés applique a l'industrie laitière, Lavoisier ; 2^éédition, Paris. 197 p.

Kodio A. (2005). Qualité des produits laitiers de production industrielle et artisanale. Thèse de doctorat en pharmacie, Université du Mali, 100 p.

Lapied, L. et Petransxiene, D.(1981). La qualité bactériologique du lait et des produits laitiers .Ed : Lavoisier, Paris, pp 49-62.

Leyral G et Vierling E. (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaire. 4^{ème} Edition : Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine. 87 p

Luquet F.M. (1985). Lait et produits laitiers vache, brebis, chèvre **1**, Edition Lavoisier, Paris, 389 p.

Luquet F.M. (1985). Lait et produits laitiers , Edition Lavoisier, Paris, 533-539p.

Références bibliographique

Mahaut M., Jeantet R. et Brulé G et Schuck P. (2000). Les produits industriels laitiers.

Edition : Tec et Doc-Lavoisier. Paris. P 1-23.

Mahaut M., Jeantet R. et Brulé G. (2003). Initiation à la technologie Fromagère. Edition :

Tec et Doc Lavoisier, Paris, 197p

Oudot C., (1999). Génie alimentaire, la transformation des aliments. Edition Casteilla, Paris, 31-62p.

Parcalin J et Galantier M., (1986). Valeur nutritionnelle du lait et produits laitiers. In lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre. Vol 3. Ed : Tec et DOC, Lavoisier – Paris.

Sutra L., Federighi M. et Jouve J.L. (1998). Manuel de bactériologie alimentaire. Edition Polytechnica. 9 p.

Siboukeur O (2005). Etude de lait camelin collecté localement : caractéristiques physico-chimiques et microbiologique. Aptitude à la coagulation. Thèse de Doctorat en sciences agronomiques. Institut national agronomique EL Harrach, Alger, 128p.

Vierling E., (2004). Aliment et boisson, technologie et aspect. 3^{ème} éd., édition Doin, Centre régional de documentation pédagogique d'Aquitaine, 162. 163p.

-Vignola C.L. (2002). Science de la technologie du lait : Transformation du lait. Edition École polytechnique de Montréal. 600 p.

Vignola C.L. (2010). Science et Technologie du lait. Ed. Fondation de Technologie laitière. Québec. 600 p.

Veisseyre, Roger. (1975). Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait. Paris. La Maison Rustique. PP184-241.

Matériel utilisé :

- **Appareillage :**
 - ❖ Etuves (NUVE)
 - ❖ Bain marie ;
 - ❖ Bec bunsen ;
 - ❖ Plaque d'agitation(IKIMAG)
 - ❖ Hotte ;
 - ❖ Autoclave (CBM2195)
 - ❖ Réfrigérateur (ENIEM)
 - ❖ Centrifuge(GERBER) ;
 - ❖ pH mètre(HANNA)
 - ❖ Balance analytique ;
 - ❖ Dessiccateur(Denver).
- **Verrerie :**
 - ❖ Boites de Petri ;
 - ❖ Tubes à essai ;
 - ❖ Cloches de Durham ;
 - ❖ Pipettes Pasteur ;
 - ❖ Pipettes ;
 - ❖ Flacons ;
 - ❖ Butyromètre ;
 - ❖ Burette ;
 - ❖ Portoir ;
 - ❖ Spatule ;
 - ❖ Capsules en verre ;
 - ❖ Barreaux magnétiques ;
 - ❖ Fioles.

Annexes

Réactifs et milieux de cultures :

- ❖ Alcool ;
- ❖ Acide sulfurique ;
- ❖ Alcool iso amylique ;
- ❖ Phénolphtaléine ;
- ❖ Eau distillée ;
- ❖ Liquide EVA-Llitsky ;
- ❖ Milieu BLBVB (Institut Pasteur d'Alger) ;
- ❖ Milieu VF et additifs (alun de fer et sulfite de sodium ;
- ❖ Milieu Roth (D/C, S/C) (Institut Pasteur d'Alger).
- ❖ Milieu PCA (Institut Pasteur d'Alger)
- ❖ Milieu Baird Parker et additifs (jaune d'œuf et tellurite de potassium.

Composition des milieux de culture et mode de préparation :

- **Milieu BLBVB :**

Peptone	7.00
Extrait de levure.....	3.00
Sel biliaire N°03.....	1.50
Lactose.....	10.00

pH final à 25°C : 7.4 ±0.2

- **Mode de préparation :**

Mettre 8.3 de la poudre de BLBVB dans 200ml de l'eau distillée le tout dans un flacon, puis mettre le flacon dans de l'eau chaude jusqu'à ce que la poudre soit bien dissoute et le mettre dans l'autoclave à 121 °c pendant 15min.

- **PCA (Plat Count Agar) g/l :**

Peptone de caséine.....	5
Extrait de levure.....	2.5
Glucose.....	1

Annexes

Agar.....	18
pH=7	

Mode de préparation :

Mettre 4.7g de la poudre de PCA dans 200ml d'eau distillée le tout dans un flacon ,puis mètre le flacon dans de l'eau chaude jusqu'à se que la poudre soit bien dissoute et le mettre dans l'autoclave à 121°C pendant 15min.

Gélose Viande Foie(VF) g/l :

Base viande foie	5
Glucose.....	20
Gélose.....	16
pH=7.6-7.8	

Mode de préparation :

Mettre 8.8 g de la poudre de VF dans 200ml d'eau distillée+ 5ml de sulfate de sodium et 2ml d'Alun de fer le tout dans un flacon, puis mètre le flacon dans de l'eau chaude jusqu'à se que la poudre soit bien dissoute et le mettre dans l'autoclave à 121°C pendant 15min.

Baird Parcker (BP) g/l:

Peptone pancréatique de caséine	10
Extrait de levure	1
Extrait de viande.....	5
Pyruvate de sodium.....	10
Sulfamethazine.....	0.05
Chlorure de lithium.....	5
Jaune d'œuf.....	5

Annexes

L-Glycine	12
Gélose.....	20
Pyruvate de sodium.....	10
Agar.....	14
Eau distillée.....	1000m /l

Annexes

Tableau I : Résultats des analyses microbiologique de lait de vache pasteurisé conditionné pour le premier lot

Jour de l'analyse	FTAM	Coliformes Totaux	Coliformes fécaux	Staphylocoques	streptocoques	<i>Clostridium</i> sulfito réducteur
J₀	2,5.10 ²	0	Absence	0	Absence	Absence
J+1	2.10 ³	0	Absence	0	Absence	Absence
J+2	5.10 ³	9	Absence	0	Absence	Absence
J+3	3.10 ⁴	20	Absence	6	Absence	Absence
J+4	4.10 ⁴	65	Absence	10	Absence	Absence
J+5	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Tableau II : Résultats des analyses microbiologiques de lait de vache pasteurisé conditionné pour le deuxième lot

Jour de l'analyse	FTAM	Coliformes Totaux	Coliformes fécaux	Staphylocoque	Streptocoque	C. S.R
J₀	5.10 ²	0	Absence	0	Absence	Absence
J+1	3,5.10 ³	3	Absence	0	Absence	Absence
J+2	1,7.10 ⁴	20	Absence	15	Absence	Absence
J+3	2.10 ⁵	35	Absence	30	Absence	Absence
J+4	10 ⁶	95	Absence	50	Absence	Absence
J+5	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Tableau III : Résultats des analyses microbiologiques de lait de vache pasteurisé conditionné pour le troisième lot

Jour de l'analyse	FTAM	Coliformes Totaux	Coliformes fécaux	Staphylocoque	Streptocoque	C.S.R
J₀	1,2.10 ³	0	Absence	0	Absence	Absence
J+1	1,5.10 ⁴	9	Absence	20	Absence	Absence
J+2	1,2.10 ⁵	30	Absence	35	Absence	Absence
J+3	1,8.10 ⁶	75	Absence	60	Absence	Absence
J+4	1,7.10 ⁷	110	Absence	100	Absence	Absence
J+5	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Annexes

Tableau IV : Les normes exigé par le J.O.R.A N°35 1998

Paramètres	Normes de satisfaction	Normes d'acceptabilité
FTAM (UFC/ml)	3.10^4	3.10^5
Coliformes Totaux	10	300
Coliformes fécaux	Absence	Absence
Staphylocoque	1	10
Streptocoque	Absence	Absence
<i>Clostridium</i> sulfite réducteur	Absence	Absence

Résumé

L'objectif de notre travail a été réaliser est d'étudier l'effet de la rupture de la chaîne de froid sur la qualité physico-chimique et microbiologique d'un lait de vache pasteurisé après conditionnement, produit par la laiterie Amizour de Bejaia .Pour cela des analyses microbiologique et physico-chimique sont réaliser sur trois lots ;le premier lot est conservé immédiatement à 4°C ,le deuxième a subi une rupture de 2h à 20°C puis stocké à 4°C et un dernier lot qui a subi une rupture de 2h à 30°C puis mets à 4°C.

En faisant une synthèse entre les résultats de la physico-chimique et ceux de l'analyse microbiologique, nous pouvons conclure que le lait conservé directement à 4°C est consommable pendant quatre jours, celui laissé à 20°C pendant deux heures l'est au bout de deux jours. Cependant, le lait qui a subi une rupture à 30°C pendant deux heures n'est bon à être consommé que le jour même.

Mot clés : analyse microbiologique, analyse physicochimique, lait pasteurisé, rupture de la chaîne de froid.

Abstrat

The objective of our work was carried out is to study the effect of breaking the cold chain on the physicochemical and microbiological quality of pasteurized cow's milk after conditioning produced by the dairy Amizour Bejaia. for this, microbiological and physico-chemical analyzes are performed on three batches, the first batch is immediately stored at 4 ° C, the second suffered a ruptured 2 hours at 20 ° C and then stored at 4 ° C and a final batch that ruptured 2 hours at 30 ° C and then put at 4 ° C.

By a synthesis of the results of the physico-chemical and microbiological analysis of those, we can conclude that the conserved at 4 ° C directly milk is consumable for four days, he left at 20 ° C for two hours east after two days. However, the milk has ruptured at 30 ° C for two hours is good to be eaten the same day.

Keywords: microbiological analysis, physicochemical analysis, pasteurized milk, breaking the cold chain.