

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de sciences alimentaires
Spécialité qualité des produits et sécurité alimentaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Evaluation de la qualité microbiologique du
lait UHT par cytométrie en flux et analyses
physico-chimiques**

Présenté par :

KhaldiRebiha&HamitriChahrazed

Soutenu le :**30 / 06 / 2019**

Devant le jury composé de :

Mme OUKIL Naima

Mme BOULEKBACHE Lila

Mme ACHAT Sabiha

MCA

Professeur

MCA

Président

Encadreur

Examineur

Année universitaire : 2018 / 2019

Remerciements

Nos remerciements à ALLAH le clément, le tout puissant qui nous a
Procuré la patience, la force et le courage d'aller au bout de notre objectif

Nos remerciements à notre promotrice, M^{me} Boulekbache L, pour nous avoir
encadrées, en nous faisant bénéficier de ses connaissances, de son aide et de
ses précieux conseils et orientations

Nos remerciements vont également :

A M^{me} Oukil pour l'honneur qu'elle nous fait de présider notre jury et à M^{me}
Achat qui nous a fait l'honneur d'examiner ce modeste travail.

En guise de respect et de gratitude, nous tenons à exprimer nos remerciements
à l'organisme d'accueil Tchinelait/Candia, et à son PDG M. BERKATI, pour
nous avoir fait le grand honneur de nous accepter comme stagiaires au sein
de son entreprise.

Un remerciement particulier pour M^{me} Amrani, M^{me} Benmouhoub, M^{me}
Cherfi, M^{me} Brahmi et Mlle Kahina et tout le personnel du laboratoire
physicochimique et bactériologique pour la gentillesse, l'aide et leurs précieux
conseils, un grand merci pour vous tous.

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

Dédicaces

Je dédie ce travail,

A ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une bonne éducation digne de confiance et qui ont tout donné pour mettre en ma disposition toutes les clés pour réussir.

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère.

A la mémoire de mon père (Allah yrahimo), école de mon enfance, qui à été mon ombre, et qui à veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

A mon adorable sœur qui m'a toujours épaulé, aidé et soutenue dans tout ce que j'entreprenais et à son mari.

A mes deux sources d'inspiration, mes frères Riad et Zinou que j'affectionne beaucoup ainsi que leur épouses.

Aux petits anges : Hocine, Djalil, Yousra, Racim, Ikram et Alya.

A mes cousins et à toute la famille Khaldi et Bouchenoua.

A mon amie Chahrazed avec qui j'ai partagé ce travail:

A tous les moments passés ensemble lors de notre stage qui seront gravé dans ma mémoire.

A mes amis et à toute la promo QPSA.

Veillez trouver en ce modeste travail l'expression de mon affection.

Rebiha.

Dédicaces

Je dédie cet humble et modeste travail avec grand amour, sincérité et fierté :

A mon cher papa :

Tu as toujours été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduise ma gratitude et mon affection envers toi.

A la prunelle de mes yeux et ma raison de vivre ma maman chérie :

Tu seras toujours ma merveille et je te serai toujours fidèle de ta bonneté, tendresse, force et courage.

A mes chers frères et sœurs : Massilia, Mélina, Fayçal et Wassim.

Je vous souhaite tout le bonheur, santé, réussite et beaucoup d'amour soudé à jamais.

A Mes chères tantes, cousines et cousins :

Chanez, Mélissa, Sarah, Biba et Mima.

A toute ma famille HAMITRI et BERKATI grands et petits je vous aime.

A mon amie Rebiha qui a octroyé dans ce travail :

Tous les moments passés ensemble lors de notre stage qui seront gravés dans ma mémoire.

Aux meilleures copines :

Célia qui m'a tendue main forte.

Hanane que la distance nous a séparé mais tu es toujours dans mon cœur à tout moment, miss you.

Rien ne peut nous séparer à jamais sœurs de cœur.

Chahrazed.

Liste des abréviations

BCPL : Bouillon Lactose au Pourpre de Bromocrésol

BLBVB : Bouillon Lactose Bilié au Vert Brillant.

CMF : CytoMétrie en Flux

DC : Double concentré.

EDEMIA : Entreprise de Distribution d'Eau Ménagère et Industrielle Algérienne.

EDTA : Ethylène diamine Tétra Acétates.

ESD : Extrait Sec Dégraissé.

EST : Extrait Sec Total.

J.O.R.A : Journal Officiel de la République Algérienne.

LG : Liquide Ringer

MG : Matières Grasses.

MP : Matières Protéiques.

MGLA : Matière Grasse Laitière Anhydre.

PAE : Prélèvement Automatique d'Echantillons.

PCA : Plate Count Agar.

SARL : Société A Responsabilité Limité.

SC : Simple concentré.

T+ : Témoin positif.

T- : Témoin négatif.

TBA : Tétra Brik Aseptique.

TH : Titre Hydrotimétrique.

TR : Tank de reconstitution.

TS : Tank Stérile.

UFC : Unité Formant Colonies.

UFT : Unité Formant Trouble.

UHT : Ultra Haute Température.

VF : Viande Foie.

Liste des tableaux

Tableau I : les compositions de la poudre de lait.....	7
Tableau II : les compositions de la MGLA et les huiles de beurre.....	7
Tableau III : Paramètres étudiés dans les analyses physico-chimiques.....	18
Tableau IV : Analyses microbiologiques effectuées.....	24
Tableau V : Résultats des analyses organoleptiques effectuées sur le produit semi-fini.....	34
Tableau VI : Normes liées au produit semi-fini.....	34
Tableau VII : Résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur 4 échantillons du produit fini.....	36
Tableau VIII : Analyses effectuées sur le produit fini conditionné et leurs normes.....	37
Tableau IX : Résultats des analyses microbiologiques portées sur l'eau de process.....	38
Tableau X : Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait 0% et 26% MG...	38
Tableau XI : Résultats des différentes analyses microbiologiques du produit fini.....	39
Tableau XII : Résultats du test d'intégrité (étanchéité) de l'emballage.....	42

Liste des figures

Figure 1 : Diagramme de fabrication du lait UHT demi écrémé.....	11
Figure 2 : Principe du centrage hydrodynamique.....	13
Figure 3 : Photographie montrant l'opération de lecture du résultat du butyromètre (taux de matières grasses).....	21
Figure 4: Organigramme montrant les étapes suivre au cours de la réalisation du test à la résazurine effectué sur le produit fini.....	29
Figure 5: Image représentative de la mise en place des échantillons et des marqueurs dans un D-Count.....	30
Figure 6 : Schéma montrant l'affichage des résultats selon le code de couleur du D/Count..	31
Figure 7 : schéma du principe de fonctionnement du cytometre.....	32
Figure 8 : Schéma de l'analyse des échantillons par le D/Count.....	33
Figure 9 : Résultats des analyses physico-chimiques du produit semi-fini du lait demi-écrémé.....	34
Figure 10 : Résultats des analyses physico-chimiques du produit semi fini après réajustement.....	35
Figure 11 : Résultats des analyses physico-chimiques portées sur 4 échantillons de 4 différentes productions du produit fini.....	37
Figure 12 : Comparaison entre les 3 méthodes d'analyses microbiologiques.....	41
Figure 13 : Comparaison et gain de temps entre la méthode de microbiologie traditionnelle et la méthode de microbiologie rapide CHEMUNEX®.....	42

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Sommaire

Introduction1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le lait

I.1. Le lait dans la consommation humaine.....3

I.2. Valeur nutritionnelle du lait.....3

I.3. Propriétés microbiologiques du lait.....3

I.3.1 Flore originelle.....3

I.3.2 Flore de contamination.....4

I.3.2.1. La flore d'altération.....4

I.3.2.2. La flore pathogène.....4

I.3.2.3. Les bactéries infectieuses.....4

I.3.2.4. Les bactéries toxinogènes.....4

I.4. Techniques de conservation du lait.....4

I.4.1 Par le froid.....5

I.4.1.1. La réfrigération.....5

I.4.1.2. La congélation.....5

I.4.2 Par la chaleur.....5

I.4.2.1. La pasteurisation.....5

I.4.2.2. La stérilisation.....5

I.5 Le lait UHT et son procédé de fabrication

I.5.1. Définition du lait UHT.....6

I.5.2. Les différents types de laits UHT.....6

I.5.2.1. Lait UHT entier.....6

I.5.2.2. Lait UHT demi-écrémé.....6

I.5.2.3. Lait UHT écrémé.....6

I.5.2.4. Lait UHT aromatisé.....7

I.6. Matières premières.....7

I.6.1	La poudre de lai.....	7
I.6.2	Les matières grasses.....	7
I.6.3	L'eau de reconstitution.....	8
I.6.4	Les additifs.....	8
I.7.	Procédé de fabrication du lait UHT.....	8
I.7.1	Reconstitution	8
I.7.2	Traitements thermiques.....	8
I.7.2.1	Préchauffage.....	8
I.7.2.2	Dégazage.....	9
I.7.2.3	Homogénéisation	9
I.7.2.4	Pasteurisation.....	9
I.7.2.5	Stérilisation UHT et conditionnement aseptique	9
I.7.2.6	Refroidissement.....	10
I.7.2.7.	Emballage tetraPAK.....	10
I.7.2.8.	Suremballage.....	10

Chapitre II : Introduction sur la cytométrie

II.1.	Historique.....	12
II.2.	Définition de la cytométrie en flux.....	12
II.3.	Principe de la CMF utilisée comme test de stérilité du lait UHT.....	14
II.3.1.	Les réactifs utilisés.....	14
II.3.2.	Autres utilisations de la CMF.....	15

Chapitre III : Matériels et méthodes

III.1.	Matériel	16
III.2.	Echantillonnage	16
III.2.1	Echantillonnage du produit semi-fini	16
III.2.2	Echantillonnage du produit fini	17
III.3.	Analyses physicochimiques	18
III.3.1	Mesure du pH	19
III.3.2	Recherche de traces de peroxyde d'hydrogène	19
III.3.3	Détermination de l'acidité titrable	19
III.3.4	Détermination de la matière grasse du lait par la methode de Gerber.....	20

III.3.5	Détermination de la densité	21
III.3.6	La composition générale du lait	22
III.3.7	Taux d'humidité	22
III.4.	Test de stabilité	23
III.5.	Analyses microbiologiques	23
III.5.1	Préparation de dilutions	24
III.5.2	Recherche et dénombrement de la FTAM	25
III.5.3	Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux	26
III.5.4	Recherche et dénombrement des clostridiiums sulfito-réducteurs	27
III.6	Test à la résazurine	28
III.7	Analyses sensorielles	29
III.8	Cytométrie en flux	30
III.9	Test d'intégrité d'emballage	33

Chapitre IV Résultats et discussions

IV.1.	Résultats et discussions des analyses portées sur le produit semi-fini (lait de reconstitution)	
1.1.	Les analyses organoleptiques.....	34
1.2.	Les analyses physico-chimiques.....	34
IV.2.	Résultats des analyses physico-chimiques portées sur le produit fini : le lait demi écrémé.....	36
IV.3.	Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process.....	38
IV.4.	Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait.....	38
IV.5	Le produit fini.....	39
IV.5.1.	Résultats de l'analyse cytométrique.....	40
IV.6.	Evaluation des méthodes d'analyses microbiologiques.....	40
IV.7.	Résultats du test d'intégrité de l'emballage (test pochon).....	42
	Conclusion	43
	- Références bibliographiques	
	- Annexes	

Introduction

Introduction

La richesse d'une denrée alimentaire se mesure par sa composition en éléments indispensables, le lait, produit biologique d'origine animale, est sans doute une denrée de base dans l'alimentation humaine.

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

Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des Algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale et est considéré comme acteur clé de l'industrie agroalimentaire (**Anonyme1, 2008**). L'Algérie est le plus important consommateur du lait au Maghreb, avec une consommation moyenne de 110 litres par habitant et par an, estimée à 115 litres en 2010 (**FAO, 2007**).

Le lait a un caractère très altérable car d'un point de vue microbiologique il constitue un milieu de culture favorable à la prolifération d'une flore microbienne variée, pour assurer une bonne protection du consommateur, il convient de maîtriser les conditions de conservation, et également les conditions d'hygiène lors de la traite jusqu'au produit fini.

De ce fait, différents procédés industriels appliqués au lait visent à assurer la qualité et la stabilité de ce produit, y compris les traitements de chaleur. Les plus utilisés en technologie laitière, sont la pasteurisation et la stérilisation à Ultra Haute Température. Permettant la destruction totale des micro-organismes initialement présents dans le lait, la stérilisation UHT est qualifiée comme meilleur traitement aboutissant à l'obtention d'un produit "à longue durée de conservation", en laissant les qualités organoleptiques et nutritionnelles du lait (**Guiraud, 1998**).

L'unité de fabrication Tchén Lait « CANDIA » a introduit l'industrie du lait stérilisé UHT. Elle est l'une des plus importantes unités agroalimentaires en Algérie, située dans la wilaya de Bejaïa, où nous avons effectué notre stage dans le but d'évaluer la qualité microbiologique du lait UHT demi-écrémé par les différentes méthodes d'analyse et déduire la plus fiable et la plus avantageuse pour l'entreprise. Ainsi que des analyses physico-chimiques qui permettent d'apporter des corrections sur le produit et de vérifier sa stabilité.

Le présent travail est structuré classiquement en deux parties, la partie synthèse bibliographique et la partie expérimentale. La première partie est relative à la synthèse bibliographique qui comporte deux chapitres. Le 1^{er} chapitre (Chapitre I), est relatif au lait avec sa valeur nutritionnelle, ses propriétés microbiologiques, les techniques utilisées pour sa conservation, et les différents types de son emballage. Dans le chapitre II, nous avons essayé de donner un aperçu sur la cytométrie en flux, son historique, sa définition et son principe d'utilisation comme test de stérilité du lait UHT. La deuxième partie est subdivisée à son tour en deux chapitres qui sont : Chapitre III (Matériel et Méthodes) dans lequel nous avons décrit le matériel et les méthodes utilisés dans la réalisation de toutes les expérimentations effectuées au sein de l'entreprise Tchou-Lait /Candia. Dans le dernier chapitre (Chapitre IV), sont exposés les résultats obtenus que nous avons essayé de discuter.

A la fin du document nous avons donné une conclusion dans la quelle nous avons mis l'accent sur les avantages de la cytométrie dans le contrôle de la stérilité du produit fini.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I. Le lait

I.1. Le lait dans l'alimentation humaine

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini par le **congrès international de la répression des fraudes (1909)** : « Le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ».

Watier (1992) rapporte que le lait est un aliment complet qui garantit un apport non négligeable en protéines, lipides, sels minéraux notamment en calcium, phosphore et en vitamines. De ce fait, il constitue l'un des produits de base de notre alimentation. Il apparaît comme un produit indispensable à la santé, source de vie et de croissance, possédant des vertus nutritionnelles spécifiques et très bénéfiques.

I.2. Valeur nutritionnelle

Le lait possède une valeur énergétique de 700 kcal/litre. La bonne qualité nutritionnelle des protéines du lait repose sur leur forte digestibilité et leurs compositions particulièrement bien équilibrée en acides aminés indispensables. Pour les nouveau-nés, les protéines du lait constituent une source protéique adaptée aux besoins de croissance durant la période néonatal (**Derby, 2001**).

L'organisation mondiale de la santé estime que le lait devrait fournir :

- 75% à 100% des calories nécessaires pendant les deux premières années de la vie.
- 50% entre la troisième et la cinquième année.
- 25% au cours de la puberté (**Dudez, 2002**).

I.3. Propriétés microbiologiques

En raison de la richesse du lait en nutriments, il constitue un excellent milieu de culture pour les microorganismes, provoquant des transformations nuisibles à la qualité des produits par dégradation de leurs constituants (protéines, lipides, lactose) et libération des composés indésirables. (**Veisseyre, 1975**).

3.1. Flore originelle

Le lait qui sort du pis de vache est pratiquement stérile (**Vignola, 2002**). Selon **Guiraud (2003)**, des micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade. Ils sont généralement pathogènes et dangereux du point de vue sanitaire (agents de mammites : streptocoques (*streptococcus*), staphylocoques etc).

3.2. Flore de contamination

Selon **Vignola (2002)**, la flore de contamination constitue l'ensemble des microorganismes contaminant le lait, de la récolte jusqu'à la consommation. Elle peut se composer d'une flore d'altération qui est à l'origine des défauts sensoriels ou de la réduction de la durée de conservation des produits, et d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire.

3.2.1. La flore d'altération

La flore d'altération est responsable des défauts sensoriels (goût, arôme, apparence ou de texture) et de la diminution de la durée de vie du produit laitier. Parfois, certains microorganismes nuisibles peuvent aussi être pathogènes. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération ; les coliformes, et certains levures et moisissures (**Essalhi, 2002**).

3.2.2. La flore pathogène

La contamination du lait et des produits laitiers par les germes pathogènes peut être d'origine endogène, suite à une excrétion mammaire de l'animal malade ; elle peut aussi être d'origine exogène, due au contact direct avec des troupeaux infectés ou d'un apport de l'environnement (eaux) ou bien liées à l'Homme (**Brisabois et al., 1997**).

3.2.3. Bactéries infectieuses

Les principaux micro-organismes infectieux sont : Les salmonelles et Listeria. Pour que ces dernières soient actives, elles doivent être vivantes dans l'aliment lors de sa consommation. Une fois ingérées, elles dérèglent le système digestif, causant divers symptômes tels que diarrhée, vomissements et maux de tête...etc.

3.2.4. Bactéries toxinogènes

La destruction des bactéries toxinogènes n'est pas suffisante pour éviter l'incidence de la maladie. Elles sont responsables de production de toxine dans l'aliment, provoquant d'une intoxication du consommateur. De plus, certaines toxines sont très résistantes aux traitements thermiques (pasteurisation et stérilisation) (**Lamontagne et al., 2002**).

Les principaux micro-organismes toxinogènes sont : Les staphylocoques et les clostridium sulfite-réducteurs.

I.4. Techniques de conservation du lait

En raison de la richesse du lait en éléments nutritifs qui favorisent la croissance microbienne, de nouvelles technologies permettant de prolonger la durée de sa conservation ont été mises au point:

4.1. Par le froid

4.1.1. Réfrigération

La réfrigération est une technique de semi conservation, qui consiste à placer les denrées dans une enceinte maintenue à +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**).

4.1.2. Congélation

C'est un procédé physique (par le froid), qui a pour but de prolonger la conservation des denrées alimentaires. Son rôle est d'inhiber, retarder ou arrêter d'une part les réactions enzymatiques dans les produits alimentaires et d'autre part la croissance des microorganismes. Il constitue un moyen important pour la conservation du lait, toutefois le lait destiné à être conservé par le froid doit être de bonne qualité hygiénique (**Gosta, 1995**).

4.2. Par la chaleur

Contrairement à l'action du froid. La chaleur permet de détruire les microbes et non d'inhiber simplement leur développement. D'autre part elle vise à détruire les enzymes impliquées dans la détérioration du lait. Ce qui permet l'amélioration de la qualité du lait (**Adrian, 1987**).

4.2.1. La pasteurisation

La pasteurisation est un processus de traitement thermique visant à détruire certains micro-organismes présents dans un produit. Elle consiste à chauffer l'aliment jusqu'à une certaine température, souvent inférieure à 100°C. Cette technique est employée pour les aliments nécessitant uniquement la destruction des germes pathogènes ou toxigènes (**Adrian, 1987**).

4.2.2. Stérilisation

La stérilisation consiste à chauffer le produit alimentaire au-delà de 100°C pour lui assurer une conservation prolongée (destruction totale des microorganismes et des spores présentes dans le produit). En pratique, le traitement de «stérilisation» vise obtenir un produit stable au cours de la conservation allant jusqu'à de 3 mois (**Veisseure, 1979**).

I.5. Le lait UHT

5.1. Définition du lait UHT

Le lait stérilisé et le lait stérilisé à UHT sont des laits soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction ou l'inhibition totale des enzymes, des microorganismes et de leurs toxines, dont la présence ou la prolifération pourrait altérer le lait ou le rendre impropre à la consommation.

Le lait UHT est le lait dont la conservation est assurée par l'emploi successif des deux techniques :

- Traitement par procédé de chauffage direct ou indirect, en flux continu appliqué en une seule fois de façon ininterrompue pendant un temps très court (1 à 3 secondes) à une température d'environ 140°C.
- Conditionnement aseptique dans un contenant stérile, hermétiquement clos, étanche aux liquides et microorganismes et permettant de soustraire le lait à toute influence défavorable de la lumière (**JORA N°69, 1993**).

5.2. Différents types de lait UHT :

Il existe plusieurs types de lait UHT classé en fonction du taux de matière grasse, d'arômes, ou des différents ingrédients utilisés.

5.2.1. Lait UHT entier :

Le lait entier est un lait thermiquement traité, dont la teneur en matière grasse, répond à l'une des formules suivantes :

- ✓ Lait entier normalisé : La teneur en matière grasse s'élève à 3,50 % (m/m) au minimum.
- ✓ Lait entier non normalisé : La teneur en matière grasse n'est pas modifiée depuis le stade de la traite, ni par adjonction ou prélèvement de matières grasses du lait, ni par mélange avec du lait dont la teneur naturelle en matière grasse a été modifiée. Toutefois, la teneur en matière grasse ne peut être inférieure à 3,50 % (m/m).

5.2.2. Lait UHT demi-écrémé :

Est un lait traité thermiquement dont la teneur en matière grasse a été ramenée à un taux qui s'élève à 1,50 % (m/m) au minimum et à 1,80 % (m/m) au maximum.

5.2.3. Lait UHT écrémé :

Est un lait traité thermiquement dont la teneur en matière grasse ne peut excéder 0,50 % (m/m).

5.2.4. Laits UHT aromatisés :

Cette dénomination est réservée aux boissons stérilisées, constituées exclusivement de lait écrémé ou non, sucré ou non, additionné de substances aromatiques naturelles (GEMRCN, 2009).

I.6. Matières premières

6.1. Lait en poudre

C'est principalement de la poudre écrémée qui est utilisée (Tableau I). Elle doit être conservée à une température de l'ordre de 15°C et hermétiquement fermée pour éviter l'oxydation de la matière grasse qui est à l'origine du goût désagréable dans les produits reconstitués.

Les poudres écrémées utilisées ont une composition identique aux spécifications admises internationalement pour les poudres destinées à l'alimentation humaine :

Tableau I : les compositions de la poudre de lait

Humidité	maximale 4.0%
Matières grasses	maximale 1.25%
Acidité titrable	maximale 0.10-0.15%
Solubilité	1.2 ml
Teneur en germes totaux(g)	50.000 maximum
Coliformes	absence dans 1g

6.2. Matières grasses

La matière grasse utilisée lors de la reconstitution est des huiles de beurre ou alors principalement de la matière grasse laitière anhydre (MGLA). Cette dernière ne peut être obtenue qu'à partir de lait frais en passant si besoin, par le stade crème ou beurre non maturée. Alors que les huiles de beurre sont fabriquées à partir de beurre de stockage.

La MGLA et les huiles de beurre ont pratiquement la même composition (**Tableau II**).

Tableau II : les compositions de la MGLA et les huiles de beurre.

Humidité	maximale 0.1%
Teneur en matières grasse	minimale 99.8%
Acides gras libres	maximale 0.3%
Teneur en cuivre	maximale 0.05ppm
Teneur en fer	maximale 0.2ppm
Coliformes	Absence dans 1 gramme

6.3. L'eau de reconstitution

Selon **BYLUND (1995)**, l'eau est l'une des matières premières de tous les types de produits laitiers reconstitués et recombines. Elle doit être potable, dépourvue de micro-organismes pathogènes et d'un niveau de dureté acceptable $\text{CaCO}_3 < 100 \text{ mg/l}$.

Une teneur excessive en matière inorganique menace l'équilibre des sels du produit reconstitué ou recombine qui, à son tour, pose problèmes au niveau de la pasteurisation, stérilisation ou du traitement UHT. Trop de cuivre ou de fer dans l'eau peut donner des goûts atypiques à cause de l'oxydation de la matière grasse. Les niveaux maxima recommandés sont par conséquent Cu (cuivre) 0,05 mg/L et Fe (fer) 0,1 mg/L.

6.4. Les additifs

Les additifs secs tels que le sucre, les émulsifiants et les stabilisants peuvent être manipulés de la même manière que la poudre de lait (c'est-à-dire peuvent être vidés des sacs directement dans le mélangeur (**BYLUND, 1995**)).

I.7. Procédé de fabrication du lait UHT

7.1. Reconstitution

Le lait reconstitué est obtenu par mélange d'eau et de poudre de lait (écrémé ou entier) (**JORA N°69, 1993**).

L'opération de reconstitution consiste à mélanger de la poudre de lait avec l'eau de process dans un circuit fermé à une température de 22 à 25°C. La poudre est soutirée par une pompe de « tri-blinder » en même temps que l'eau, ce qui permet le mélange de la poudre et de l'eau dans un circuit fermé qu'on appelle le tank de reconstitution (TR) contenant un agitateur pour assurer la dispersibilité. Une fois la poudre bien mélangée, l'agitateur et la pompe de circulation s'arrêtent jusqu'à dissolution complète de la poudre (Phase d'hydratation qui dure 60mn). Le lait soutiré passe par la suite à travers des filtres pour éliminer les particules insolubles, puis subit un refroidissement à 5°C en utilisant de l'eau glacée (**CRAPLET, 1982**)

7.2. Traitement thermique

7.2.1. Préchauffage

Après la reconstitution du lait, ce dernier est ramené à une température de 65 à 70°C à travers des échangeurs de chaleur tubulaire.

7.2.2. Dégazage :

Le lait préchauffé à 68°C est introduit tangentiellement dans la cuve du dégazeur. Les gaz véhiculés à la vapeur montent vers le haut d'une chambre et sont aspirés par une pompe sous vide, et la vapeur se condense dans le condenseur et revient dans le lait. Le but de dégazage est de retirer une partie des odeurs caractéristiques du lait reconstitué et d'éliminer l'air entraîné et la mousse formée (**MÖLLER, 2000**).

7.3. Homogénéisation :

L'homogénéisation consiste à mélanger intimement la phase lipidique et la phase aqueuse à une température environ 55°C sous un effet de pression (200 à 300bars), ainsi la taille des globules gras du lait est fortement réduite, favorisant leur émulsion dans la phase aqueuse (**JUILERAT ET BADOUD, 2010**).

7.4. Pasteurisation :

Le lait pasteurisé est le lait soumis à un traitement thermique aboutissant à la destruction de presque la totalité de la microflore banale et la totalité de la microflore pathogène, tout en évitant d'affecter la structure physique du lait, sa constitution, son équilibre chimique, ses enzymes et ses vitamines (**JORA N°69, 1993**).

La pasteurisation des les laits UHT, est considérée comme une étape de stabilisation des protéines à une température inférieur à 100°C sans dénaturé la constitution physico-chimique du lait.

7.5. Stérilisation UHT & conditionnement aseptique :

Les méthodes utilisées pour la stérilisation UHT sont assurées par l'emploi successif des techniques suivantes :

- Traitement par procédé de chauffage direct ou indirect, en flux continu appliqué en une seule fois de façon ininterrompue, pendant un temps très court (1-3 secondes) à une température d'environ 140°C.
- Conditionnement aseptique dans un contenant stérile hermétiquement clos, étanche aux liquides et aux microorganismes et permettant de soustraire le lait de toute influence défavorable. (**JORA N°69, 1993**).

7.6. Refroidissement :

Juste après la stérilisation UHT, un refroidissement immédiat du lait est appliqué afin de ramener sa température à 25°C environ, puis conditionné dans un tank stérile aseptique.

7.7. Conditionnement et emballage :

Le conditionnement doit se faire aseptiquement pour éviter toutes contaminations microbiologiques lors du remplissage.

Selon la documentation interne de THIN-LAIT/CANDIA la conditionneuse doit être conforme aux réglementations de base de l'Espace Economique Européen (EEE) en matière d'hygiène et de sécurité (**DOCUMENT CANDIA**).

L'emballage doit porter les indications obligatoires suivantes :

- La dénomination spécifique du produit ;
- La raison sociale ou la marque ;
- La date limite de validité exprimée conformément à la réglementation en vigueur.
- Le taux de matière grasse ;
- La contenance ou poids net ;
- La mention « à conserver à ... » suivie de la température de conservation fixée par la réglementation en vigueur (**YOUSSEUFI, 2000**).

7.8. Suremballage

Après le conditionnement dans des récipients, ces derniers sont transportés à travers des convoyeurs vers le suremballage, Dans le cas du lait UHT fabriqué au sein de l'unité TCHIN-LAIT/CANDIA, Les briques sont transportées vers une pailleuse puis vers une encartonneuse et enfin plastifiées automatiquement avec un film en plastique.

Les fardeaux sont prêts à être mis dans des palettes et les ramener au stockage jusqu'à leur libération sur le marché.

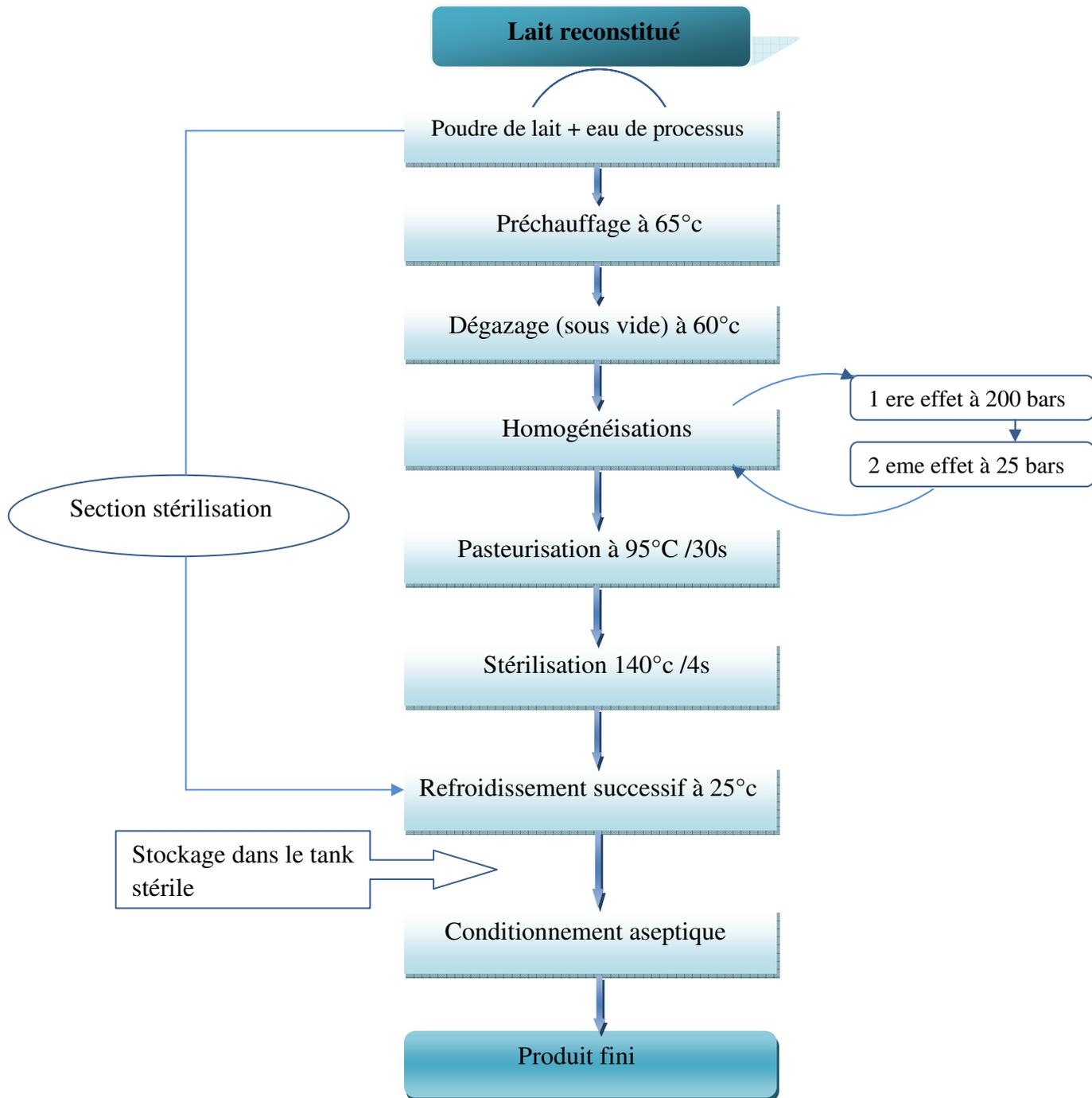


Figure 1 : Diagramme de fabrication du lait UHT demi écrémé

Chapitre II

Cytométrie en flux

II.1. Historique

Les méthodes d'analyse des cellules individuelles sont essentielles pour la compréhension des fonctions des cellules normales et la possibilité de modulation des cellules pathologiques. La cytométrie en flux (CMF) est née du besoin d'automatisation du comptage des constituants cellulaires du sang. Les origines de la CMF sont anciennes puisque c'est en 1934 que Moldavan conçut le premier appareil avec lequel il réalisait des numérations cellulaires en faisant défiler les cellules dans un fin capillaire où elles étaient vues par un capteur photo électrique.

Dans les années 70, les chercheurs de Los Alamos et de Stanford associaient des méthodes de mesure individuelle du volume ou de la fluorescence de cellules entraînées par un flux avec des méthodes électrostatiques permettant le tri cellulaire dans des conditions vitales. La diffusion de la lumière compléta rapidement la liste des propriétés capables de discriminer plusieurs types cellulaires. Le développement simultané d'appareillages commercialisés polyvalents et l'apparition des hybridomes pour la production d'anticorps monoclonaux a conduit à une explosion des activités impliquant la cytométrie en flux.

L'utilisation des propriétés cellulaires intrinsèques (diffusion, auto fluorescence) et le développement permanent de fluorochromes capables de traduire de nombreuses propriétés et fonctions cellulaires ont conduit à la mise en œuvre de méthodes de plus en plus fines pour l'analyse de populations de cellules hétérogènes (**Duperray C, 2018**)

II.2. Définition de la cytométrie en flux

La CMF est définie comme l'étude précise de cellules isolées entraînées par un flux liquide. C'est une technique de caractérisation individuelle, quantitative et qualitative de particules en suspension dans un liquide.

Elle consiste à analyser les signaux optiques ou physiques émis par une particule coupant le faisceau lumineux d'un laser ou d'une lampe à arc. Les signaux mesurés sont essentiellement relatifs:

- Aux propriétés optiques induites de fluorescence obtenues par des marquages spécifiques de structures ou de fonctions cellulaires ;

- Aux propriétés optiques intrinsèques des particules qui correspondent aux phénomènes de diffusion lumineuse liés aux dimensions de la particule, à leur structure interne, ou à l'auto fluorescence de certaines cellules comme les végétaux, le phytoplancton...

Ces signaux séparés par des filtres optiques sont collectés par des photomultiplicateurs, amplifiés, numérisés, traités et stockés par un ordinateur.

Ce procédé d'analyse individuelle (cellule par cellule) est multiparamétrique et peut s'effectuer à la vitesse de plusieurs milliers d'événements par seconde. L'ordinateur calcule les données statistiques associées aux distributions des paramètres mesurés et les représente sous la forme d'histogrammes (1 paramètre) ou de cytogrammes (2 paramètres) sur une ou plusieurs populations dont les propriétés cellulaires sont ainsi évaluées (**Duperray C, 2018**).

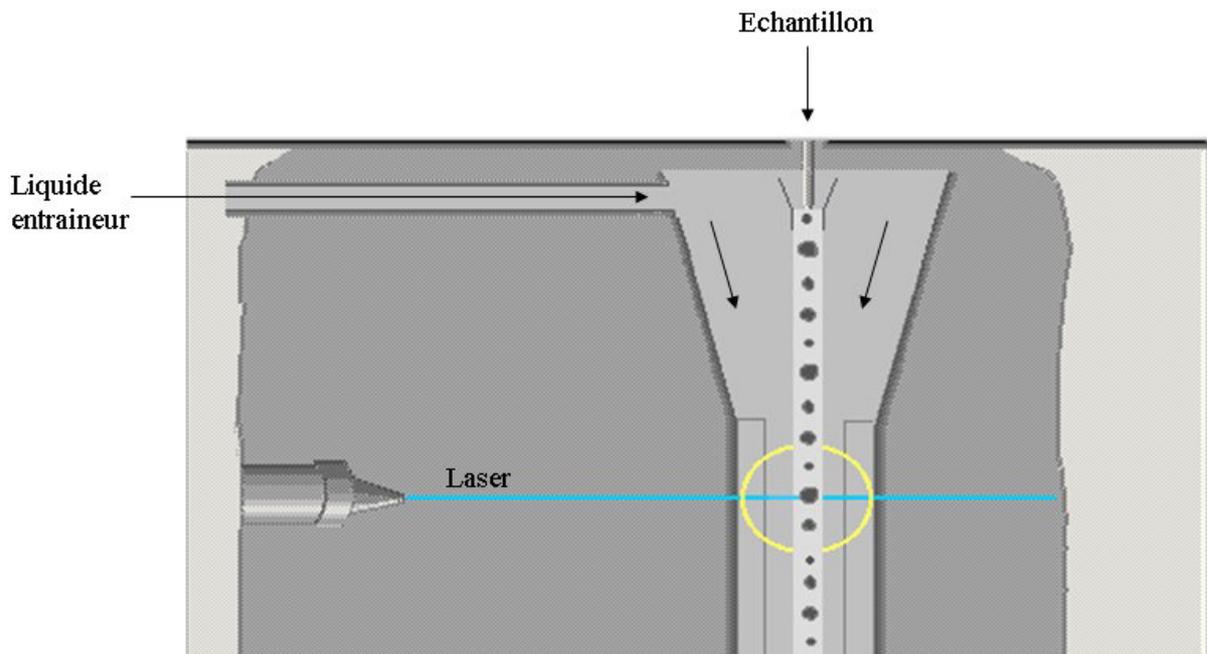


Figure 2 : Principe du centrage hydrodynamique (site web¹).

Pour fonctionner, un cytomètre en flux nécessite une combinaison de:

- Fluidique: Pour introduire et canaliser les cellules ;
- Optique: Une source d'excitation et de récupération des signaux ;
- Electronique: Pour convertir les signaux optiques en des signaux électroniques proportionnels et les numériser pour les analyser avec un ordinateur (**Duperray C, 2018**).

II.3. Principe de la CMF utilisée comme test de stérilité du lait UHT

Ce protocole permet la détection des bactéries dans le lait UHT après 24 heures minimum d'incubation dans des conditions adaptées aux microorganismes recherchés. Les échantillons sont en suite traités avec des réactifs qui rendent fluorescents les microorganismes viables potentiellement présents dans le lait.

Seuls les microorganismes viables sont capables grâce à leur système enzymatique de cliver un substrat non fluorescent en un dérivé fluorescent et de l'accumuler dans leur cytoplasme. Après marquage, les échantillons sont injectés dans la cellule de mesure où les microorganismes sont alignés grâce à un flux laminaire. Lors du passage de l'échantillon marqué devant le faisceau laser, les microorganismes viables fluorescents sont détectés individuellement au moyen de récepteurs ultrasensibles à la fluorescence (**Documentation Tchib lact-Candia**).

II.3. 1. Les réactifs utilisés

Les réactifs d'AESCHEMUNEX nécessaires pour réaliser l'analyse sont:

- **Chemsol B26/1** = tampon de marquage ;
- **Chemchrom V26** = substrat de viabilité ;
- **CS26 A** = utilisé pour masquer les particules auto-fluorescentes et valider les analyses (présence de billes fluorescentes);
- **CS26 B** = utilisé pour optimiser l'étape de marquage;
- **Dilluant II et CSR** =le mélange de ces 2 réactifs est utilisé comme solution réductrice de la fluorescence libre (le CSR est dissout dans le Dilluant II juste avant utilisation);
- **ISORED** = utilisé pour empêcher l'oxydation de la solution réductrice;
- **Clining 5** = solution de nettoyage utilisée pour nettoyer et décontaminer le porte échantillon et la cellule de mesure entre chaque analyse ;
- **Chemsol s** = utilisé comme liquide vecteur et de nettoyage au niveau du préparateur d'échantillon D-count, et comme liquide de gaine pour l'analyse D-count qui permet d'obtenir le flux laminaire nécessaire pour l'analyse dans la cellule de mesure ;
- **Antifoam** = réactifs utilisé dans les deux bidons d'évacuation (analyseur et préparateur d'échantillons) pour empêcher la formation de mousse ;

Clining 3 = solution de nettoyage utilisée pour nettoyer le système en fin de manipulation (**Documentation entreprise**).

II.3. 2. Autres utilisations de la cytométrie en flux

L'hématologie a été l'une des premières disciplines médicales à bénéficier des applications cliniques de la CMF. Certaines de ces applications sont maintenant utilisées régulièrement pour le diagnostic ou le suivi thérapeutique de différentes affections. Ces applications concernent aussi bien l'étude fonctionnelle de cellules saines que la mise en évidence du caractère pathologique des cellules analysées, dont :

- Immunofluorescence pour la caractérisation des sous-populations cellulaires ;
- Marquage spécifique de l'ADN pour la mesure du cycle cellulaire (**Duperray C, 2018**).

Chapitre III

Matériel et méthodes

Dans l'objectif d'évaluer la qualité microbiologique du lait UHT par cytométrie en flux et analyses physico-chimiques, on procède à une série d'analyses effectuées qui vont nous permettre d'assurer la qualité des matières premières mises en œuvre dans la fabrication du lait UHT, ainsi que celle des produits finis.

III.1. Matériels (voir annexe III)

Deux types de matériel sont utilisés dans notre travail:

- Le matériel biologique est composé de produits suivants: eau de process, poudre de lait (0 et 26% de matière grasse (M.G.)), lait pasteurisé et lait stérilisé U.H.T. après conditionnement.
- Le matériel non biologique est constitué du milieu de culture, des solutions, des réactifs et de l'appareillage (pH mètre, boîtes de Pétrie, bec benzène, D- count (cymomètre), burette graduée, milkoscan, balance analytique, éprouvette + T h e r m o - l a c t o d e n s i m è t r e , centrifugeuse, dessiccateur, étuve et four à micro-onde).

III.2. Echantillonnage

Le contrôle légal de la qualité et de la conformité des denrées alimentaires exige une étape primordiale avant toute analyse qui est l'échantillonnage représentatif.

L'échantillonnage correct est une opération, qui demande le plus grand soin pour un jugement vrai sur la valeur du lot, et il est obligatoire que l'échantillon ait la même qualité que le lot selon **ISO 707, 1997**, car si les échantillons ne sont pas correctement prélevés et manipulés ou ne sont pas représentatifs d'un lot ou d'une production, les résultats d'analyse n'auront aucune signification **JEAN-LOUIS CUQ, 2007**.

Selon la norme **AFNOR, (1992)** l'échantillonnage doit être effectué par une personne autorisée, spécialement formée dans la technique appropriée. Les échantillons doivent être scellés et pourvus d'une étiquette sur laquelle figurent la nature du produit, le numéro d'identification, le nom et la signature de la personne responsable du prélèvement des échantillons. Des prélèvements sont effectués à chaque niveau de la production afin d'étudier différents paramètres.

III.2.1. Echantillonnage du produit semi-fini

L'échantillonnage du produit semi-fini s'effectue à partir du tank de reconstitution (TR), qui est dotés d'un système spécial pour prélever (Voir les figures 16 et 17). La technique consiste à :

- Flamber l'orifice de sortie du produit à l'aide d'un flambeau ;
- Ouvrir le robinet, libérer la pression, laisser le produit s'écouler pendant 1 à 2 minutes afin d'éviter toutes éventuelles contaminations ;
- Remplir le flacon ou le récipient stérile doté d'un couvercle spécifique à 3/4;
- Conserver le flacon à +4°C.

III.2.2. Echantillonnage du produit fini

La technique de prélèvement se fait comme suit :

- **Pour l'analyse physico-chimique:** On prélève trois briks pour chaque production :

Une brik au début de la production, une autre au milieu et une troisième à la fin de la production.

- **Pour l'analyse bactériologique :** Cinq bricks sont prélevés pour chaque production :

La réglementation exige de prélever 5 briques au départ du lot : à 0% puis à 25%, 50%, 75% et 100% du même lot.

Des prélèvements d'échantillons par un système dit PAE (Prélèvement Automatique d'Echantillons) où une brique est prélevée automatiquement d'une chaîne de 499 briques, c'est à dire 60 unités sur un total de 30 000.

Pour les prélèvements d'échantillons événements:

- Quatre briks en cas d'un arrêt court ou long ;
 - Quatre briks en cas de changement de palette ;
 - Quatre briks pour le raccord films, raccord papier et raccord plastique ;
 - Dix briks après chaque départ de production et conditionnement.
- **Pour le test à la résazurine :** Le prélèvement des échantillons se fait automatiquement par le système PAE, les pilotes de la conditionneuse prélèvent aussi tout au long du procès des briques pendant les événements comme suit :
 - Dix briques à chaque départ de production ;
 - Quatre briques à chaque raccord papier, raccord film et raccord patch ;
 - Six briques à chaque arrêt de la TBA (Tétra Brik Aseptique) soit arrêt court ou long.

Les briques sont ensuite numérotées suivant l'ordre de conditionnement, et disposées dans des caisses de 12 échantillons pour les transporter. Les échantillons sont étiquetés et transférés à la salle d'étuvage à température de 35°C pendant 3 jours minimum pour les laits stérilisés UHT.

- **Pour la cytométrie en flux :** Le prélèvement s'effectue de la même manière que pour le test à la résazurine mais les échantillons sont incubés pendant 24 heures à une température de 30°C +/-2°C.

III.3. Analyses physicochimiques

Les analyses physico-chimiques ont pour but de détecter les défaillances, concernant les différentes étapes et méthodes de préparation du lait reconstitué. Dans notre étude, on utilise des méthodes officielles figurées dans le recueil des normes selon le Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire (J.O.R.A.) (**Agrobiologia, 2015**).

Le tableau de la page suivante résume l'ensemble des analyses physico-chimiques effectuées à différents stade de fabrications.

Tableau III : Paramètres étudiés dans les analyses physico-chimiques

Paramètres	Eau de process	Poudre de lait 0% et 26% MG	Lait reconstitué	Lait stérilisé UHT
pH	✓	✓	✓	✓
TH (f°)	✓			
Conductivité (ms/cm)	✓			
Chlorure	✓			
Acidité titrable (D°)		✓	✓	✓
Extrait sec totale			✓	✓
MG (g/l)		✓	✓	✓
MP (g/l)		✓	✓	✓
Densité		✓	✓	✓
Humidité (%)		✓	✓	✓
Ramsdell (ml)		✓		✓

✓ Paramètre effectué.

NB : avant d'entamer une analyse on doit s'assurer de la fiabilité de nos appareils de mesure c'est à dire étalonner et calibrer les appareils.

- La préparation de l'échantillon et le prélèvement de la portion servant à l'analyse sont les deux premières étapes d'une analyse physico-chimique. Ces étapes sont importantes pour la réussite d'une analyse (**Salghi, 2010**).
- Les déterminations physico-chimiques sont effectuées à température ambiante, c'est-à dire à une température qui doit être de $20 \pm 5^\circ\text{C}$. Il est recommandé d'opérer sans interruption et de procéder à une agitation avant chaque prélèvement (**AFNOR, 1985**).

III.3.1. Mesure du pH par potentiométrie

Principe

Le pH sert à quantifier la concentration en ion H^+ dans l'échantillon. Ces ions confèrent au milieu son caractère acide ou basique. L'appareil utilisé, le pH-mètre, mesure la différence de potentiel existant entre une électrode de verre et une électrode de référence plongée dans l'échantillon à analyser (Amiot et al. 2002).

Mode Opérateur :

1. Etalonner le pH mètre avec deux solution tampons : l'une à pH= 7 et l'autre à pH = 4 ;
2. Rincer la sonde du pH mètre avec de l'eau distillée et sécher la avec du papier absorbant ;
3. Plonger la sonde de température et l'électrode dans la fiole contenant l'échantillon à analyser en réalisant une légère rotation pour bien homogénéiser le produit ;
4. Attendre à ce que la valeur affichée se stabilise.

III.3.2. Recherche du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2)

Principe :

C'est un test effectué pour vérifier de manière rapide et simple l'élimination complète du peroxyde d'hydrogène avant le remplissage pour garantir que le produit fini ne contient pas de désinfectant (Carole et Catherine, 2013). Il faut mettre les noms pas les prénoms

Mode opératoire

1. Immerger la zone réactionnelle de la languette test pendant environ deux secondes dans le bécher contenant le lait à analyser ;
2. Secouer la languette vigoureusement pour en éliminer l'excédent du lait et attendre quelque secondes pour faire la lecture (Protocole de l'entreprise Tchiv /Candia).

Expression des résultats

Comparer la couleur de la zone réactionnelle à l'échelle colorimétrique sur l'emballage des bandelettes et exprimer la concentration du peroxyde hydrogène en mg/ l.

III.3.3. Détermination de l'acidité titrable : NF (V 04 349 :1985) :

Principe :

La méthode est basée sur la titrage de l'acidité par l'hydroxyde de sodium (0,111 N) en présence de phénophtaléine à 1% comme indicateur coloré (indicateur de fin de réaction).

Mode opératoire :

1. Dans un bêcher, introduire 10ml de lait reconstitué à 10%
2. Ajouter 2 à 3 gouttes de phénophtaléine (solution à 1%)
3. Titrer par la solution d'hydroxyde de sodium 0,111 N jusqu'au début de virage au rose. On considère que le virage est atteint lorsque la coloration persiste pendant une dizaine de secondes, ou lorsque le pH atteint 8,3.
4. Noter le volume de NAOH utilisé pour le titrage.

Expressions des résultats :

L'acidité exprimée en degré Doronic est donnée par la relation suivante :

$$Ac (D^{\circ}) = V * 10 * 1.006$$

V: la chute de burette ou volume de la soude.

1.006 : facteur de correction

III.3.4 Détermination de la MG du lait en poudre NF (V 04 346 ISO 1736)**Définition**

La méthode acido-butyrométrique est une technique conventionnelle qui lorsqu'elle est appliquée à un lait de teneur en matière grasse moyenne et de masse volumique moyenne à 20°C donne une teneur en matière grasse exprimée en grammes pour 100 g de lait ou 100 ml de lait (Afnor, 1985).

Principe

C'est une technique de détermination de la MG par centrifugation, ce test se fait par la méthode nommée GERBER.

Les protéines du lait sont dégradées par l'acide sulfurique, cette réaction est exothermique, car il y'a un dégagement de la chaleur qui fait fondre la matière grasse du lait. L'addition de l'alcool iso amylique, qui est un solvant organique aide à la séparation de la matière grasse.

Enfin, la centrifugation permet la séparation des phases grasses et aqueuses. L'obtention de la teneur en matière grasse se fait par une lecture directe sur l'échelle du butyromètre.

Mode opératoire

A l'aide d'une pipette ou d'un système automatique, mesurer 10 ml d'acide sulfurique et les introduire dans le butyromètre, ajouter 10 ml du lait puis homogénéiser (dans le cas d'une poudre : 10 ml d'eau + 2,5 g de poudre soit la 0% ou la 26%) en mettant la pointe de la pipette

en contact avec la base du col du butyromètre, et laissant le lait couler doucement, puis apporter de l'alcool amylique, déposer 1 ml à la surface sans mouiller le col du butyromètre ni mélanger les liquides. Bien boucher le butyromètre avec un bouchon en caoutchouc sec et en bon état sans perturber son contenu.

- Agiter et retourner le butyromètre jusqu'à ce que son contenu soit complètement mélangé, et jusqu'à ce que les protéines soient entièrement dissoutes ;
- Placer immédiatement le butyromètre dans la centrifugeuse GERBER, Centrifuger pendant 5 min à 1200 tours/min.

Expression des résultats



Tenir le butyromètre bien vertical , noter le trait de repère correspondant à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse (**A**), puis noter le trait de repère au haut de la colonne de matière grasse (**B**) coïncidant avec le point le plus bas du ménisque du butyromètre.

$$MG \text{ (g/l)} = B - A$$

Figure 3 : Photographie montrant l'opération de lecture du résultat du butyromètre (taux de matières grasses)

III.3.5 Détermination de la densité

La densité est déterminée par un lactodensimètre muni d'une tige graduée. Elle correspond au rapport massique à 20 °C d'un même volume d'eau et de lait (**Luquet, 1985**).

Mode opératoire

1. Rincer l'éprouvette avec du lait à analyser;
2. Verser le lait à 20 °C dans l'éprouvette; tenue inclinée afin d'éviter la formation de la mousse ou de bulles d'air;
3. Plonger doucement le lactodensimètre dans le lait en le maintenant dans l'axe de l'éprouvette est en le retenant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre ;
4. L'introduction de lactodensimètre dans l'éprouvette pleine de lait doit provoquer un débordement de liquide pour éventuellement débarrasser la surface du lait des traces de mousse qui dérangerait la lecture ;
5. Attendre 30 secondes à une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation.

Expression des résultats

Après stabilisation du lactodensimètre, lire la graduation apparente au niveau supérieur de la tige.

III.3.6. Composition générale du lait

La composition générale du lait est déterminé en utilisant un milkoscan, il mesure avec précision un éventail de paramètres dont la teneur en matières grasses, les protéines, l'eau et le sel, extrait sec total, l'extrait sec dégraissée et le point de congélation du lait analysé.

Expression des résultats

Les résultats s'affichent sur l'écran de milkoscan.

III.3.7. Détermination du taux d'humidité

Principe

Le taux d'humidité de la poudre de lait est déterminé à l'aide d'un dessiccateur infra rouge qui utilise des radiations infrarouges pour sécher les échantillons solides ou liquides en contrôlant en continu les variations de poids à l'aide d'une balance intégrée. Le pourcentage d'humidité est calculé par la différence entre le poids initial et le poids final (NF V 04 348 :1978).

Mode opératoire :

- Pour la poudre de lait :
 1. Placer une coupelle dans le dessiccateur puis tarer ;
 2. Introduire 5 g de poudre de lait dans cette coupelle ;
 3. Étaler la poudre le long de la surface de la coupelle jusqu'à l'obtention d'une surface plane et homogène ;
 4. Mettre le dessiccateur en marche.
- Pour le produit fini (Lait)
 1. Placer une coupelle dans le dessiccateur puis tarer ;
 2. Introduire 11g de sable séché, tarer ;
 3. Ajouter 3g de l'échantillon, étaler le tout sur la surface de la coupelle ;
 4. Mettre le dessiccateur en marche.

Lecture

La valeur du taux d'humidité est affichée en pourcentage sur l'écran du dessiccateur.

III.4. Test de stabilité

La stabilité est l'aptitude du lait à subir un traitement thermique sans coagulation ni floculation.

➤ Test de Ramsdell

C'est l'évaluation de l'aptitude d'un lait à subir un traitement thermique, sans déstabilisation par ajout d'une solution de phosphate mono potassique capable de provoquer la coagulation. Ce test a été créé initialement pour tester la stabilité à la chaleur des laits et poudres des laits. Il sert à définir la destination des laits et poudres de lait selon le résultat obtenu. Ce test dû à Ramsdell utilisé notamment en fabrication de lait concentré, permet d'apprécier la stabilité du lait au traitement thermique, en fonction de son équilibre minéral (Godet et al, 1984).

Principe

C'est l'évaluation de l'aptitude d'un lait à subir un traitement thermique en fonction de son équilibre minéral, sans déstabilisation par ajout d'une solution de phosphate mono potassique capable de provoquer la coagulation. (JORA, 2004).

Mode opératoire :

1. Préparer une série de tubes (03 tubes) contenant des quantités croissantes de la solution phosphate mono potassique (à 0.02 N) : 2,4. 2,5. 2,6 ml, le 4^{ème} tube est un témoin ;
2. Introduire dans chaque tube 10 ml de lait, agiter et placer les tubes dans un bain marie à 100°C pendant 5 mn ;
3. Refroidir sous courant d'eau froide et observer.

Expression des résultats

La coagulation dans les tubes, témoigne d'un test positif (+), donc d'un lait non stable. L'absence de coagulation dans les tubes, témoigne d'un test négatif (-), ce qui renseigne sur la stabilité du lait (JORA, 2004).

III.5. Analyses microbiologiques

Le lait est un produit alimentaire très riche en nutriments, pour cette raison, il peut favoriser la croissance des microorganismes. Pour limiter le risque de contamination, il est indispensable d'effectuer les analyses microbiologiques des matières premières, et du produit fini (poudre de lait, eau de reconstitution, lait pasteurisé et lait stérilisé U.H.T.).

Le but de ces analyses est de prévenir les altérations microbiennes et de déceler les germes pathogènes, qui nuisent à la qualité hygiénique et marchande du produit et essentiellement de protéger le consommateur des intoxications dangereuses (**Agrobiologia, 2015**)

Les analyses microbiologiques effectuées a différentes étapes sont dans le tableau suivant :

Tableau IV : Analyses microbiologiques effectuées.

Germes recherchés Produits	Flore aérobie mésophile totale	Coliformes totaux et fécaux	Clostrédium sulfito réducteurs
L'eau de processus	✓	✓	✓
Poudre de lait	✓	✓	✓
Lait reconstitué	✓		
Produit fini	✓		

✓ : paramètre effectué.

Pour effectuer ces analyses des opérations préliminaires doivent être maîtrisées :

- Préparer et stériliser les milieux de culture (voir Annexe) ;
- Laver, désinfecter ou stériliser tous les outils nécessaires ;
- Nettoyer et désinfecter la balance et la surface de la palliasse.

III.5.1. Préparation des dilutions

Au laboratoire, tous les échantillons destinés aux analyses microbiologiques vont subir une étape préliminaire consistant à préparer des dilutions selon la norme **(ISO 6887-1:1999)**.

Pour préparer les dilutions recherchées on effectue une reconstitution de la poudre de lait en lait dès l'arrivée des 5 unités représentant l'échantillon au laboratoire. Suivie d'une homogénéisation de la solution à 10% (10 g de poudre de lait sont réajustés à 100 g avec le liquide de Ringer. Les échantillon à analyser sont prélevés et dilués dans un flacon contenant 90 ml du diluant (Liquide Ringer) .

Le diluant ne doit pas introduire des variations quantitatives et qualitatives de la flore microbienne. Il doit assurer la survie de tous les microorganismes mais ne doit pas favoriser leur multiplication ou leur inhibition.

N.B : L'eau de processus, le produit semi fini et fini seront utilisés directement sans passer par cette étape-là de préparation.

III.5.2 Recherche et dénombrement de la flore aérobie mésophile totale par comptage des colonies

Principe

Un volume mesuré d'un échantillon ou de ses dilutions est ensemencé en le mélangeant dans un milieu de culture sélectif coulé dans des boîtes de Pétri, puis incubé à 30°C pendant 72h. Puis calculer le nombre d'unités formant colonies par millilitre (UFC/ml) d'échantillon à partir du nombre de colonies formées dans le milieu. Les colonies caractéristiques apparaissant sous forme de colonies de taille et de forme différentes (**Petranxiene et Lapiéd, 1981**).

Mode Opératoire

1. Dans une zone stérile à côté du bec bunsen, préparer 2 boîtes de Pétri, Marquer sur la première boîte de pétri FTAM à 30°C, le numéro de lot, la date d'ensemencement et la deuxième boîte pour témoin gélose ;
2. Transférer 1 ml de la dilution 10⁻² dans une boîte de Pétri ;
3. Transférer dans chaque boîte de Pétri environ 12 à 15 ml de PCA, fermer et bien homogénéiser le PCA avec l'inoculum en faisant des mouvements rotatifs en forme de huit sur la paillasse et laisser le mélange se solidifier ;
4. Placer les boîtes retournées (couvercles en bas) dans l'étuve à 30°C pendant 72 heures ;

Lecture et dénombrement

Le développement des bactéries se traduit par l'apparition de colonies à la surface de la gélose.

Compter les colonies présentes dans chaque boîte et calculer le nombre estimé d'unités formant colonies présentes dans 1 ml d'échantillon.

Expression des résultats

Le calcul du nombre de micro-organismes par millilitre ou par gramme d'échantillon, à partir du nombre de colonies obtenues dans les boîtes de Pétri est donné par la formule suivante

$$N = \Sigma C / (n1 + 0.1 n2) * d$$

N = nombre de germes par millilitre ;

C = somme des colonies dénombrées.

n1 = nombre de boîtes retenues à la première dilution ;

n_2 = nombre de boîtes retenues à la deuxième dilution, et le résultat est exprimé en (UFC/ml) (Le nombre de germes par ml d'échantillon) ;

d = le facteur de dilution correspondant à la première dilution positive.

III.5.3 Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

ISO 4832 :2006 indique que :

Les coliformes totaux : germes indicateurs de mauvaises conditions de manipulation et de fabrication ;

Les coliformes fécaux : ou coliformes thermo tolérants se développant à 44°C et comportant essentiellement *E. coli* spécifique de la contamination fécale.

Méthode utilisé : Méthode NPP (le nombre le plus probable) indiqué dans le **JO N°3- 2013**.

Principe

Ensemencement d'une série de tubes à essai contenant un milieu de culture sélectif lactosé avec des prises d'essai de l'échantillon. Examen des tubes à essai après une incubation de 24 h et de 48 h à 37 °C ; repiquage à partir de chaque tube à essai montrant une turbidité avec une production de gaz dans un milieu de confirmation plus sélectif et, si l'on recherche les *E.coli* présumés, sur un milieu sur lequel peut être prouvée la formation d'indole. Incubation de ces milieux de confirmation pendant 48 h à 37 °C; pour la recherche de coliformes, et à 44 °C pendant 24 h au plus pour les organismes coliformes thermotolérants et les *E. coli* présumés. Au moyen de tables statistiques, calcul du nombre le plus probable (**NPP**) de coliformes, thermotolérants et de *E.coli* présumés, susceptibles d'être présents dans 100 ml de l'échantillon, à partir du nombre de tubes donnant des résultats de confirmation positifs.

Mode opératoire

La technique en milieu liquide fait appel à deux tests consécutifs à savoir :

- Le test de présomption : réservé à la recherche des Coliformes totaux ;
- Le test de confirmation : encore appelé test de Mac Kenzie est réservé à la recherche des coliformes fécaux à partir des tubes positifs du test de présomption.

➤ Test de présomption

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

- 3 fois 10 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL double concentré (D/C) muni d'une cloche de Durham ;
- 3 fois 1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL simple concentré (S/C) muni d'une cloche de Durham;

- 3 fois 0,1 ml dans 3 tubes contenant 10 ml de milieu BCPL S/C muni d'une cloche de Durham, Chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.

Incubation : L'incubation se fait à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture : les tubes sont considérés comme positifs ceux présentant à la fois :

- Un dégagement gazeux (supérieur au 1/10 de la hauteur de la cloche) ;
- Un trouble microbien accompagné d'un virage de l'indicateur de pH au jaune (ce qui constitue le témoin de la fermentation du lactose présent dans le milieu) ;

Ces deux caractères étant témoins de la fermentation du lactose dans les conditions opératoires décrite.

La lecture finale : se fait selon les prescriptions de la table de Mac-Grady qui figure en annexe.

On considère alors qu'il y a le NPP Coliformes par 100 ml d'eau à analyser.

III.5.4 Recherche et dénombrement des *Clostridium sulfito-réducteurs* (NA 15176 :2006)

Principe

Consiste à éliminer toute forme végétative sous l'effet d'un traitement thermique et favoriser le développement des spores de la solution mère puis ensemercer avec le milieu adéquat. Dans ce cas le milieu VF (viande foie) est utilisé pour la recherche et le dénombrement des bactéries anaérobies sulfito- réductrices **GUIRAUD (1989)**.

Mode opératoire

1. Dans une zone stérile après l'identification de trois tubes à essai, introduire 4 ml de la solution mère (10^{-1}) dans l'un des tube stérile de (20 ml) ;
2. Effectuer un traitement thermique de l'échantillon en déposant le tube dans un bain marie à 80°C pendant 10 min environ, puis refroidir rapidement sous courant d'eau froide ;
3. Ensemercer les trois tubes par l'addition de 10 ml de la gélose viande foie (VF) contenant deux additifs (sulfite de sodium, alun de fer) ou la TSC additionnée de la cycloserine ;
4. Incuber à 46°C pendant 48 heures.

Lecture

En cas de présence, les Clostridium sulfito-réducteurs apparaissent sous forme de colonies, entourées d'un halo noir, la coloration noirâtre des colonies et des alentours est due à la réduction des sulfites en sulfure.

Le calcul du nombre de bactéries sulfito-réductrices, par millilitre ou par gramme d'échantillon, se fait à partir du nombre de colonies obtenus dans les tubes.

III.6. Test à la résazurine

Le test à la résazurine permet d'apprécier la charge microbienne d'un lait stérilisé UHT par observation d'une période de décoloration, l'évolution de la couleur de la résazurine suit celle du potentiel redox du milieu, qui lui-même est dépendant de l'activité microbienne du lait analysé.

Principe

Le principe de la méthode se base sur l'évaluation par colorimétrie du potentiel redox d'un lait, le changement de couleur de la résazurine suit l'évolution moléculaire suivant :

Résazurine	Résosfurine	Hydrorésosfurine
Bleu	Rose	Blanc
Lait stérile	Douteux	Lait non stérile

Mode opératoire

1. Remplir les puis de la microplaque avec un volume de 20 µl de la solution de résazurine à l'aide d'une micropipette multicanaux ;
2. Rajouter 200 µl de lait à testé dans les puis de la microplaque ;
3. Incuber les microplaques de mélange (lait + résazurine) pendant 4 heures à l'étuve à une température de 37 °C +/- 2 °C ;
4. Noter l'heure à laquelle elles ont été mises à l'étuve, et contrôler régulièrement l'évolution de la couleur.

Expression des résultats

Après incubation, contrôler la couleur des puis :

- Lait stérile : le résultat se traduit par une coloration bleue.
- Lait douteux : le résultat se traduit par une coloration rose.
- Lait non stérile : le résultat se traduit par une coloration blanche.

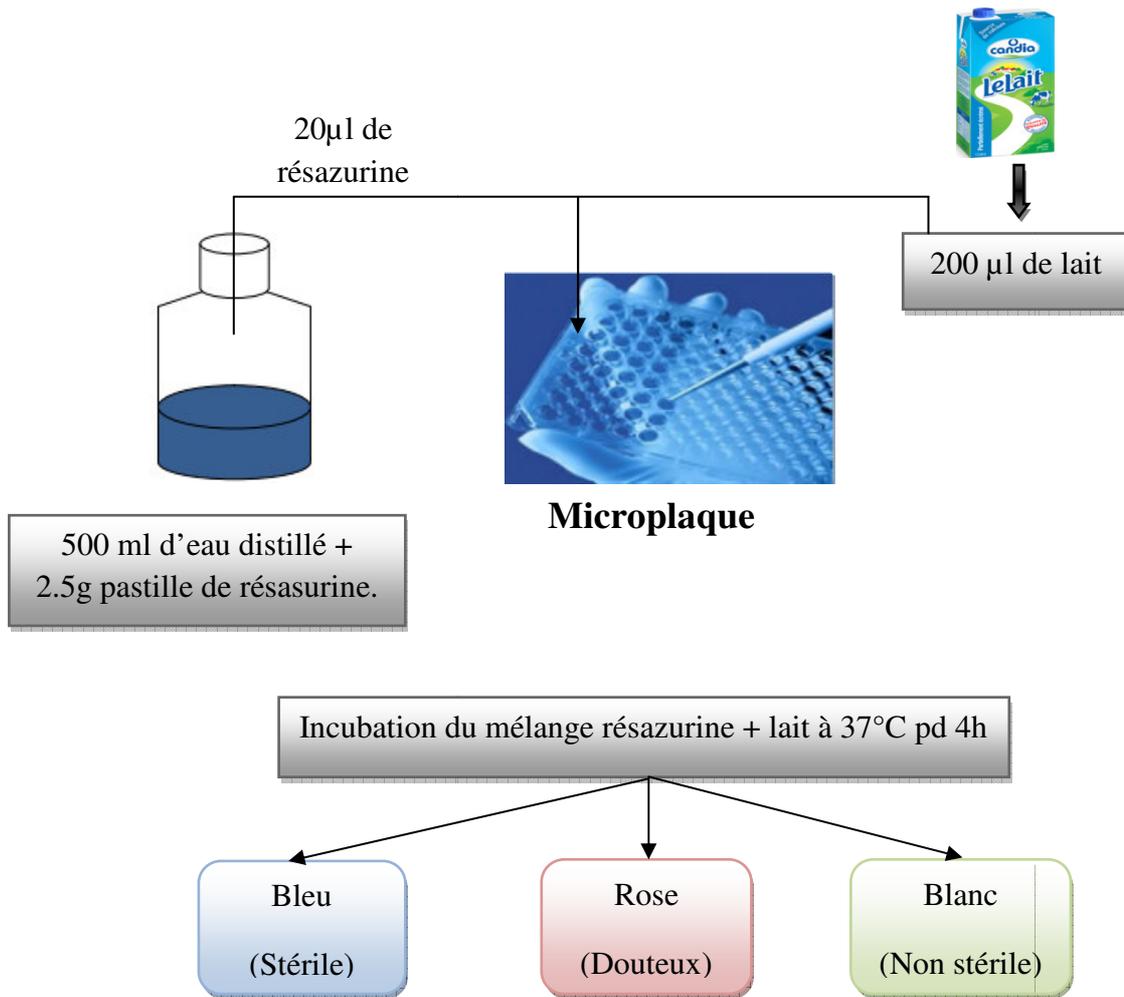


Figure 4 : Organigramme montrant les étapes suivies au cours de la réalisation du test à la résazurine effectué sur le produit fini.

III.7. Analyses sensorielles :

Les paramètres sensoriels tels que le goût, la couleur et la texture, doivent être vérifiés avant chaque analyse physico-chimique ou microbiologique pour l'eau, la poudre de lait ainsi que pour le lait UHT.

➤ Aspect et couleur

La couleur doit être normale, blanchâtre pour la poudre de lait à 0% MG et jaunâtre pour celle à 26% MG; sans grumeaux pour les deux types de poudre et l'analyse est faite visuellement. Concernant l'eau de processus, elle doit être limpide, incolore et inodore. $Cl^- = VAgNO_3 \cdot 10$

➤ Goût et odeur

L'analyse est faite par un test olfactif et gustatif. La technique consiste à goûter une quantité de l'échantillon et faire une conclusion.

➤ Expression des résultats

Le goût et l'odeur doivent être normaux et caractéristiques d'un produit de bonne qualité.

III.8. Cytométrie en flux (D-Count)

C'est une technique d'analyses microbiologiques permettant de marquer, de détecter et de dénombrer les micro-organismes dans les produits industriels et de consommation, elle représente un réel progrès technologique en microbiologie rapide (**Nathalie et al., 2007**)

La cytométrie permet de compter le nombre de cellules présentes dans un échantillon, en associant un marqueur de viabilité fluorescent et une détection par un faisceau laser d'une longueur d'onde de 488 nm (**Barreda et al, 2000**). (voir annexe VI)

Mode opératoire

- Préparation des échantillons ;
- Analyse des échantillons par le D/Count.

Préparation des échantillons

1. D'abord numéroter les 48 tubes sans oublier les 02 témoins (50 tubes).
2. Prélever 500 µl de lait à tester soit à partir d'un seul pack ou plusieurs selon le nombre de briques à testées, et les mettre dans un tube de 20 ml ;
3. S'assurer que la température des portoirs d'incubation est correcte (30°C +/- 2°C) ;
4. Placer les tubes sur les portoirs d'incubation du préparateur d'échantillons du D-Count ;
5. Placer les réactifs à utiliser pour l'analyse.

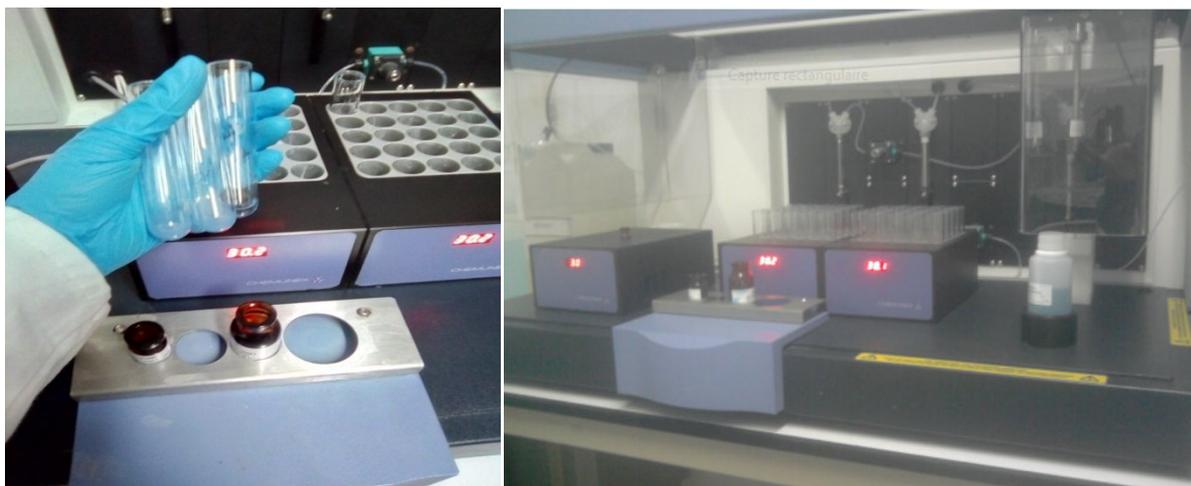


Figure 5 : Image représentative de la mise en place des échantillons et des marqueurs dans un D-Count.

Analyse des échantillons (voir figure 8)

1. Initialiser le programme en sélectionnant l'icône «Menu» ;
2. Sélectionner l'option «Analyse» puis application «A0720-03» ;

3. Le marquage séquentiel par le préparateur d'échantillons suit les étapes suivantes :
- Distribution de 30 µl de Chemchrome V26 et 2215 µl de Chemsol B26 ;
 - Homogénéisation, et incubation à 30°C +/- 2°C pendant 10 minutes ;
 - Distribution de 165 µl de solution CS26 (A+B) et incubation à 30°C +/- 2°C pendant 10 minutes ;
 - Distribution de 90 µl de la solution réductrice et homogénéisation ;
 - Incubation pendant 87 secondes et injection de 700 µl dans la cellule de l'analyseur du D-Count ;
 - 100 µl d'échantillon marqué seront analysés à une vitesse d'injection réglée à 200 µl/minute ;

Le bras droit du préparateur d'échantillons injecte 1 ml de Cleaning 5 dans l'analyseur pour nettoyer entre les échantillons.

Expression des résultats

Les résultats sont affichés sur l'écran du D-Count sous forme d'un tableau.

Résultat = Nombre de count / ml de l'échantillon marquer

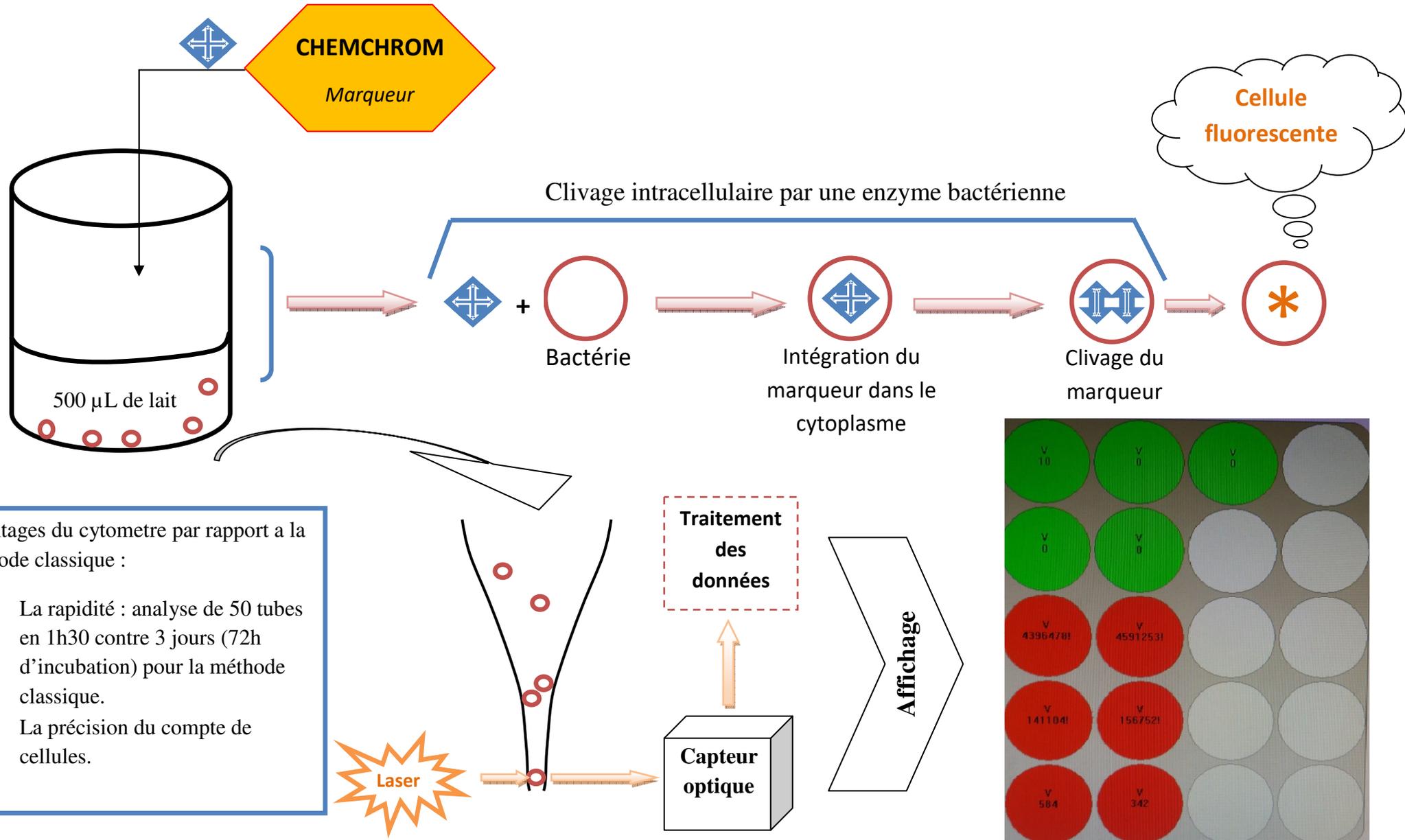
Le résultat est positif s'il est supérieur à la valeur du seuil de positivité. Cette valeur est fixée par défaut à 150 count/ ml. . Selon cette norme les résultats sont affichés selon le code de couleur suivant :



V : présence d'un V dans le cercle de couleur indique que la préparation et la lecture de l'analyse sont conformes.

Figure 6 Schéma montrant l'affichage des résultats selon le code de couleur du D/Count

Figure 7 Principe de fonctionnement du cytometre : Le D/Count



Analyse des échantillons Par cytométrie

Préparateurs

Analyseurs

à 30°C

CHEMSOL S 50X

(20ml/1000ml eau filtrée purifiée)

24
échantillons
T-

24
échantillons
T+

Bidon
Chemsol S
Analyse

Bidon WASTE
Antifoam
35gouttes

Bidon WASTE
Antifoam
15gouttes

Chemsol S
Filtre D17

Chemchrome
V26 à 30° C

CHEMCHROME V20

Cleaning 5

CSR Cs26
a+b

Menu

Analyse

CS26 A
+
CS26 B

-Diluer **CSR** dans **DII**.
-Mélanger délicatement.
-Ajoutez 15 gouttes **ISORED**

- ✓ Cliquer sur Next
- ✓ Identification du batch
- ✓ Choisir application A0720-03
- ✓ Sélectionner le nombre d'échantillons
- ✓ Cliquer sur Run Batch
- ✓ Cliquer sur OK

- Résultat négatif
- Résultat positif

V : indique que la préparation et la lecture de l'analyse sont conformes.

Figure 8 Schéma de l'analyse des échantillons par le D-Count

III.9. TEST intégrité de l'emballage (Test POCHON)

L'emballage est très important pour garder la stérilité du produit, pour cela il faut vérifier les fermetures de la brique (soudeur transversale et soudeur longitudinale)

Après chaque départ de production on prélève 10 briques pour tester l'intégrité de l'emballage c'est ce qu'on appelle le TEST POCHON. La méthode consiste à :

1. Couper la partie supérieure de la brique (sommet) et la partie inférieure (la base) ;
2. Identifier les pochons selon le numéro de mâchoire indiqué sur la brique ;
3. Enlever la 1^{ère} couche des deux parties récupérées ;
4. On prépare une solution de soude 3N (en pesant 156 g de soude pour 1L d'eau distillée) ;
5. Déposer les pochons dans le BRO en inox (là où on a préparés la soude) et mettre au bain marie à une température de 70°C pendant 1heure ;
6. Laisser refroidir ;
7. Rincer avec de l'eau puis les essuyer avec du papier ;
8. A l'aide d'une seringue introduire la fushine à l'intérieur des pochons séchés ;
9. Vérifier s'il y a une pénétration de la fushine vers l'extérieur du pochon.

Lecture des résultats

- Pénétration de la fushine vers l'extérieur indique que le test est positif c'est-à-dire que l'emballage n'est pas étanche ;
- Pas de pénétration de la fushine vers l'extérieur indique que le test est négatif c'est-à-dire que l'emballage est étanche.

Chapitre IV

Résultats et discussion

IV.1. Analyses portant sur le produit semi fini du lait demi écrémé (reconstitution)

IV.1. 1.Résultats des analyses organoleptiques

Le lait de reconstitution analysé se révèle de bonne qualité organoleptique. Ce qui confirme la stabilité et la fraîcheur du produit.

Tableau V : Résultats des analyses organoleptiques effectuées sur le produit semi-fini

Echantillons Paramètres	1	2	3	4	Cible
Gout/odeur	Normal	Normal	Normal	Normal	Caractéristiques du lait
Couleur	Claire	Claire	Claire	Claire	Blanchâtre

VI. 1.2.Résultats des analyses physico-chimiques

Le produit semi-fini est un lait reconstitué à base de poudre de lait et d’eau de process. Une série d’analyses physico-chimiques sont effectuées afin d’obtenir un produit fini conforme aux normes.

L’histogramme indiqué dans la figure suivante résume l’ensemble des résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur le produit semi-fini :

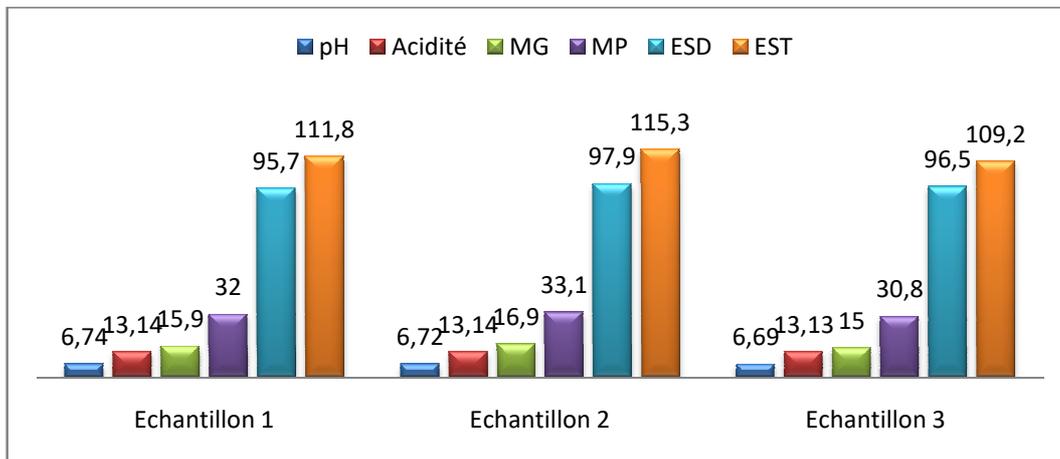


Tableau VI : Normes liées au produit semi-fini

Paramètres	Normes (cible)
pH	6,6 à 6,9
Acidité (°D)	<15
MG (%)	16
EST (g/l)	110,7

Figure 9 : Résultats des analyses physico-chimiques du produit semi-fini du lait demi-écrémé

On constate, en comparant les résultats trouvés aux normes indiquées dans le tableau VI que le produit n’est pas conforme aux exigences de l’industrie. Dans ce cas, on procède à des mesures de correction des teneurs en matières grasses (MG) et de l’extrait sec total (EST) par

des **réajustements des matières premières** (ajout d'eau ou de poudre). On ajoute de l'eau, avec la formule ci-dessous, lorsque l'EST dépasse la norme.

$$\text{Volume de correction} = \frac{\text{ES mesuré} - \text{ES ciblé}}{\text{ES ciblé}} \cdot V \text{ préparé}$$

De la poudre de l'ait est ajoutée lorsque un excès en eau est constaté (EST inférieur à la norme), en utilisant la formule suivante :

ES ciblé – ES mesuré = X (Manque en EST pour chaque litre de lait.)

X . V préparé = Q (Quantité de poudre en gramme à ajouter.)

Sachant qu'un sachet de poudre de lait pèse 25 Kg. Le nombre de sachets à ajouter au tank de reconstitution est calculé comme suit :

$$\left. \begin{array}{l} 1 \text{ Sachet de poudre} \rightarrow 25000 \text{ g} \\ n \text{ Sachets de poudre} \rightarrow Q \end{array} \right\} n = \frac{Q \cdot 1}{25000}$$

L'inconformité en EST peut être expliquée par le mouillage. Le défaut en MG est considéré comme une fraude pour le consommateur et non conforme selon la réglementation dans la dénomination du lait demi écrémé. Ce défaut peut être réglé par l'ajout d'eau ou en cas d'insuffisance par l'ajout de la matière grasse laitière anhydre. L'histogramme de la figure 25 ci-dessous indique les résultats des teneurs en MG et EST après réajustement.

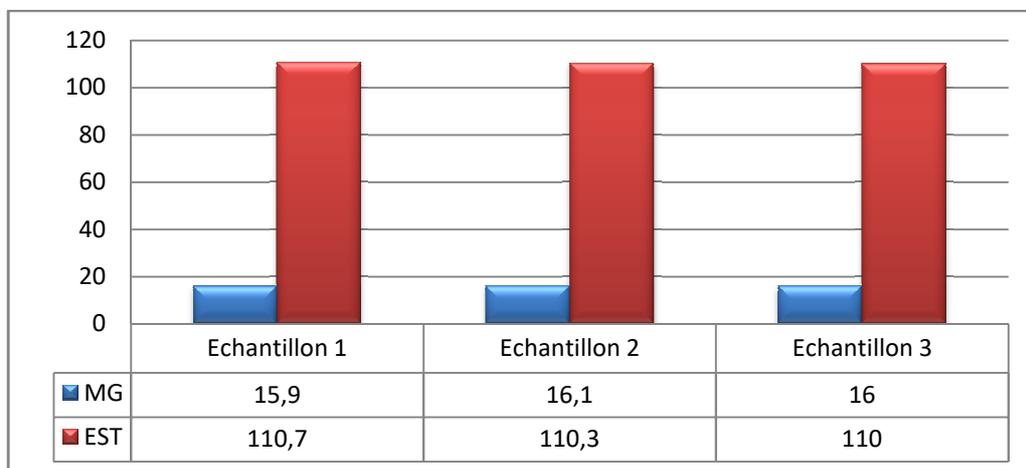


Figure 10 Résultats des analyses physico-chimiques du produit semi fini après réajustement.

N.B : Pour le produit semi fini l'industrie n'exige pas de réaliser les analyses microbiologiques puisque le produit semi-fini va subir une pasteurisation et une stérilisation.

VI.2. Résultats des analyses physico-chimiques portées sur le produit fini: lait demi écrémé

Les analyses physico-chimiques portées sur le produit fini sont effectuées par des contrôleurs de qualité au début, milieu et fin de lot. Les premiers paramètres vérifiés sont illustrés dans le tableau 6 qui résume les analyses physico-chimiques effectuées sur 4 les échantillons.

Les premiers paramètres vérifiés à l'arrivée de la brique au laboratoire sont :

1. L'étiquetage

Tableau VII : Résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur 4 échantillons du produit

Paramètres	Echantillon N°1	Echantillon N°2	Echantillon N°3	Echantillon N°4	
Type de produit	Demi-écrémé	Demi-écrémé	Demi-écrémé	Demi-écrémé	
Numéro de lot	F-44847	F-44886	E-44950	E-44950	
Heure de production (HP)	09 : 13 : 48	09 : 17 : 42	10 : 25 : 04	08 : 40 : 12	
Date de fabrication (DF)	18 / 03 / 2019	19 / 03 / 2019	21 / 03 / 2019	22 / 03 / 2019	
Date limite de consommation	15 / 06 / 2019	16 / 06 / 2019	18 / 06 / 2019	19 / 06 / 2019	
Poids de la brique(g)	1056,4	1059,8	1057,1	1059,5	
Test de peroxyde H ₂ O ₂ (mg/L)	0	0	0	0	
Couleur	Blanc	Blanc	Blanc	Blanc	Moyenne
Gout/odeur	Normaux	Normaux	Normaux	Normaux	
Température (C°)	24,6	25,1	21,8	21,3	23.18
pH	6,70	6,68	6,76	6,75	6.72
Acidité (D°)	13,07	13,07	13,07	13,09	13.07
MG (%)	16,5	15,7	15,5	15,7	15.85
MP (%)	30,8	31,5	31,4	31,2	31.22
Lactose (g/L)	53,2	53,1	53,0	52,7	53
EST (g/L)	110,2	110,2	110,0	109,5	110
ESD (g/L)	93,6	94,3	94,0	93,7	93.9
FDP (C°)	0,53	0,53	0,53	0,53	0.53
Densité	1,031	1,032	1,032	1,032	1.032
Volume (mL)	997,47	999,8	997,18	999,51	998.49
Ramsdell	1.4	1.3	1.3	1.5	1.37
Filtration	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)

2. Les analyses sensorielles : gout, odeur et couleur.

3. Le poids de la brique.

Les normes sont affichées dans le tableau VIII ci-dessous :

Tableau VIII : Analyses effectuées sur le produit fini conditionné et leurs normes						
Analyses	pH	Acidité	Densité	Taux de matières grasses MG %	Protéines totales PT %	Lactose g/
Normes	6,60 – 6,90	12-15	1,031-1,032	15,5<16<16,3	≥30	≥49
Analyses	Extrait total EST sec	Extrait sec dégraissé ESD	Point de congélation FDP	Ramsdell	Traces de peroxyde [H ₂ O ₂]	Filtration
Normes	110 +/- 0.5	94 +/- 0.5	-0.54°C – -0.55°C	>1.3	0 mg/L	Négative (-)

En comparant les résultats des analyses physico-chimiques résumés dans le tableau VII aux normes citées dans le tableau VIII, on conclue que l'ensemble des paramètres analysés sont conformes aux normes du journal officiel. De sorte que les valeurs du pH obtenues sont toujours situées dans les normes de l'entreprise, quelque soit le niveau de production ce qui traduit la stabilité de la chaîne de production.

Selon **Guiraud, (1998)**, le lait commence à coaguler à partir d'une acidité Dornic supérieure à 21°D. Sachant que la valeur de l'acidité obtenue pour les différents échantillons est entre 13,07°D et 13,09°D. Le produit fini est stable ce qui est confirmé par les résultats du test de Ramsdell (volume de solution de phosphate monopotassique nécessaire pour provoquer la coagulation du lait). Les résultats tels que présentés dans le tableau VII, attestent que les micelles de caséines résistent à des volumes de solution de phosphate allant de 1.3 à 1.5 ml, soit des valeurs supérieures à 1.3 ml qui représente la norme de l'entreprise.

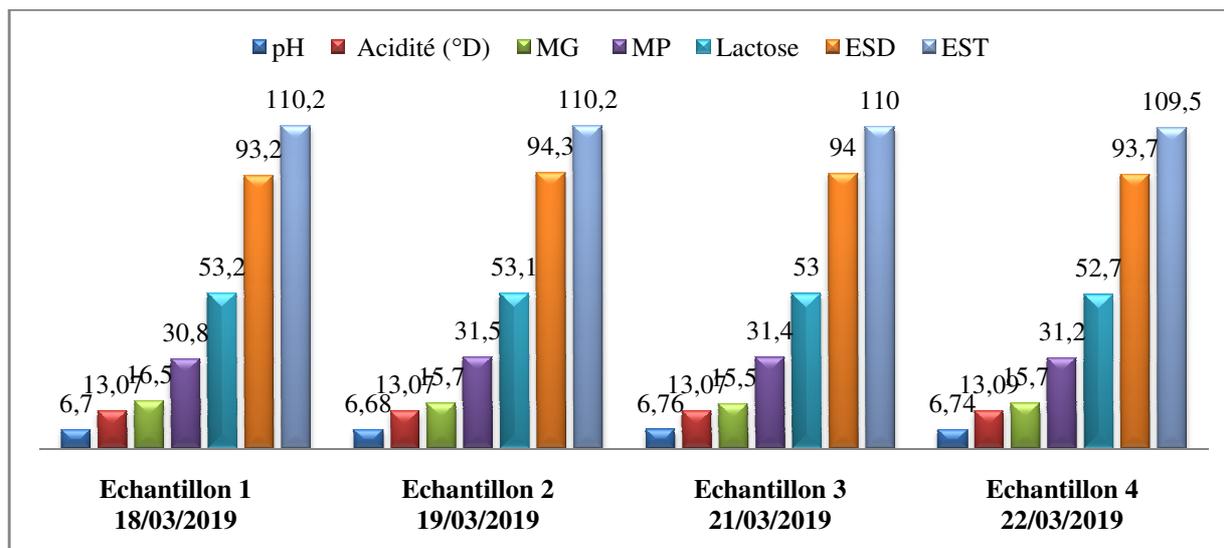


Figure 11 Résultats des analyses physico-chimiques portées sur 4 échantillons de 4 différentes productions du produit fini

IV.3. Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process

Tableau IX Résultats des analyses microbiologiques portées sur l'eau de process

Germes	CT	CSR	Stréptocoques
Eau de process	Absence	Absence	Absence
Normes (JORA 2017)	Absence	Absence	Absence

Les résultats révèlent une absence totale de germes dans l'eau de process, validant ainsi sa conformité aux normes du JORA. (2017). Ce qui confirme la validité des traitements appliqués à l'eau. L'absence des *Clostridium sulfitoréducteurs* et des coliformes qui sont des indices de contamination fécale résulte du respect des bonnes conditions d'hygiène (Guiraud et Galzy, 1980).

IV. 4. Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait

Le tableau X affiche les résultats des analyses microbiologiques portées sur 6 échantillons de poudre de lait dont trois à 0% de matières grasses et trois autres à 26%.

Le tableau X Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait 0% et 26% MG

Germes	0%	0%	0%	26%	26%	26%	Normes (J.O.R. A 2000 et 2017)
	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	
FTAM	$2,10^3$	$<10^3$	$<10^3$	$<10^3$	10^2	$1,5.10^2$	$< 2.10^5$ UFC/ml
Coliformes totaux	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	< 10 UFC/ml
CF	Absence						
Enterobacteries	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	<10 UFC
CSR	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10 UFC/ml

Les résultats obtenus démontrent que les deux types de poudres ont été fabriqués et conçus dans de bonnes conditions d'hygiène car il y a une absence totale des entérobactéries et des coliformes totaux et fécaux. Et pour la FTAM et les CSR, on remarque une présence qui ne

dépasse pas la norme établie par le **J.O.R.A.** ce qui n'a aucun impact sur la qualité microbiologique du lait.

Le nombre réduit de germe peut s'expliquer par le faible taux d'humidité de la poudre qui ne favorise pas le développement des microorganismes, le bon conditionnement dans des emballages qui permettent d'isoler la poudre du milieu externe, ainsi que les bonnes conditions d'entreposage et de manutention qui ont permis de conserver la qualité microbiologique du produit (**Abdenouri et al, 2008**).

IV. 5. Le produit fini

Les résultats des analyses microbiologiques portées sur le produit fini sont illustrés dans le tableau XI et se révèlent conformes aux normes recommandées par la réglementation du **J.O.R.A** cela est l'image du bon déroulement du process de fabrication et de l'efficacité des traitements thermiques ainsi que les bonnes conditions d'hygiène des tanks stériles où le produit est stocké en attendant d'être conditionné.

Cela est confirmé par l'absence de FTAM qui selon **Guiraud (1998)**, est un bon indicateur de stérilité et de la qualité générale des produits.

Le test de résazurine est négatif : absence de germes car tous les échantillons testés ont une coloration bleue violet du produit après incubation, ce qui signifie que le produit est stérile. Ceci est en accord avec les résultats des analyses microbiologiques classiques et cytométriques.

Tableau XI Résultats des différentes analyses microbiologiques du produit fini

Germes	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3	Echantillon 4	Echantillon 5	Nomes (JORA, 2017)
FTAM	Absence	absence	absence	Absence	Absence	<100UFC/ml
Résazurine	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu	Bleu
Cytométrie	10	30	50	0	30	<150counts/ml

La recherche des germes pathogènes s'effectue au niveau d'un laboratoire privé agréé. La recherche de ces germes a permis de confirmer l'absence de bactéries pathogènes dans le produit fini mais également dans les matières premières et les produits intermédiaires.

IV.5.1. Résultats de l'analyse par la cytométrie en flux

Le tableau XI affiche des résultats obtenus en cytométrie qui ne dépasse pas le seuil de détection du D/Count qui est de 150 count/ml cela reflète la véracité des résultats exprimés précédemment. Ce seuil se traduit, dans le logiciel fourni avec l'appareil, par la norme de l'entreprise selon **J.O.R.A** qui est de 100 germes/ml autrement dit 10 germes par 0,1/ml.

N.B : Dans le cas de l'apparition d'un résultat douteux, un deuxième contrôle est effectué par ensemencement sur PCA suivi d'une coloration de GRAM dans le cas d'apparition de colonies. Et toutes les palettes contenant les minutes avant, durant et après la minute concernée seront bloquées à température ambiante pendant 10 jours, pour vérifier la conformité du pH du lait.

Les produits finis dont la non conformité est constatée suite aux résultats des tests à la résazurine, cytométriques, bactériologiques et à la vérification de l'étiquetage par le service du laboratoire, font l'objet d'une mise en observation au niveau des sites de fabrication, puis d'une analyse de second niveau.

IV.6. Evaluation des méthodes d'analyses microbiologiques

En comparant les différentes méthodes, il s'avère que la méthode classique et la résazurine sont moins rapides que la cytométrie en flux et demandent un délai de résultat trop important pour pouvoir être utilisées couramment pour le contrôle d'une fabrication (**Olivier, 2002**). De ce fait les industries agroalimentaires se sont tournées vers des techniques plus rapides dont la cytométrie en flux qui permet de mesurer plusieurs paramètres sur des cellules en suspension dans un liquide et qui s'est imposé par sa rapidité et sa fiabilité (**Rocher et Niel, 2012**).

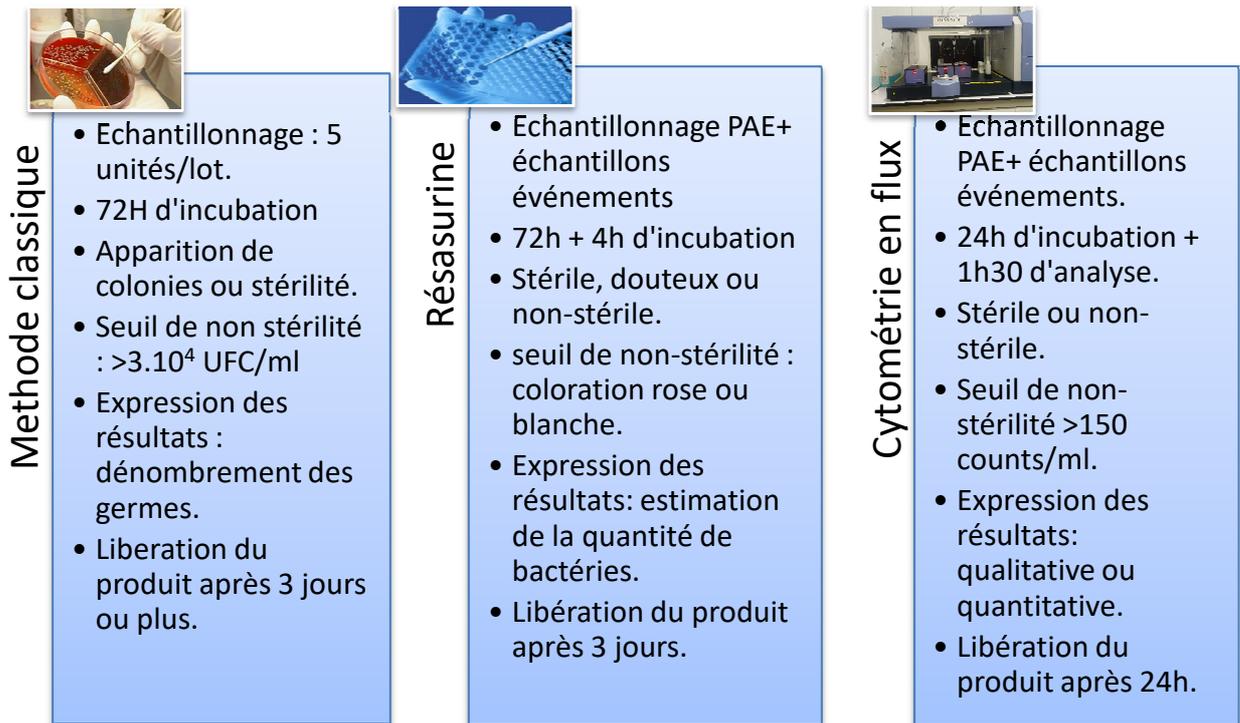


Figure 12 Comparaison entre les 3 méthodes d'analyses microbiologiques

Cette technologie est la solution de microbiologie rapide utilisée pour commercialiser et mettre sur le marché des produits sûrs et de qualité. Elle se caractérise par :

- La rapidité : fournit des résultats extrêmement rapides (1h30 max), elle ne recourt pas à la culture traditionnelle des microorganismes sur boîte de Pétri, qui peut nécessiter plusieurs jours ;
- La possibilité de mesurer individuellement est simultanément plusieurs échantillons ;
- Détection des bactéries non cultivables : Les bactéries « stressées », par exemple après un traitement thermique insuffisant, peuvent mettre beaucoup de temps à cultiver sur une boîte de Pétri, et donc ne pas être détectées par les techniques de culture traditionnelles. La présence d'agents inhibiteurs (conservateurs) dans un échantillon peut conduire au même résultat. Grâce à cette technique de marquage, tous les microorganismes viables (y compris ceux qui ne sont pas cultivables), on obtient des résultats précis en un temps de 90 minutes ;
- Détection des bactéries pour les échantillons non filtrables.

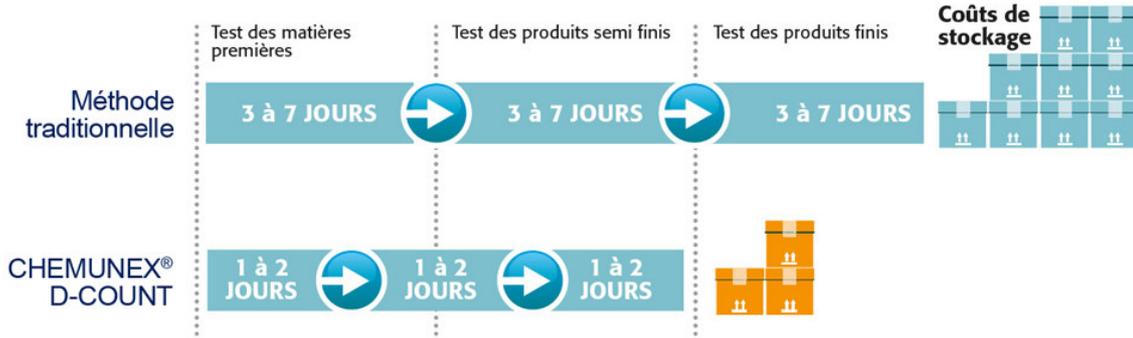


Figure 13 Comparaison et gain de temps entre la méthode de microbiologie traditionnelle et la méthode de microbiologie rapide CHEMUNEX® (site web²)

IV.7. Résultat du test d’intégrité de l’emballage (test pochon)

Les résultats montrés dans le tableau XII montrent que tous les tests sont négatifs pour toutes les mâchoires vérifiées de la machine. De sorte que la fushine n’a pas pénétrée vers l’extérieur de l’emballage ce qui atteste du bon fonctionnement de la conditionneuse et de l’étanchéité de l’emballage ce qui permet de préserver la stérilité du produit et ses valeurs, sa qualité microbiologique pendant 3 mois.

Tableau XII Résultats du test d’intégrité (étanchéité) de l’emballage.

Numéro de mâchoire	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Résultat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Conclusion

Conclusion

Dans l'industrie laitière, la qualité est devenue un critère indispensable et une exigence incontestablement majeure pour les entreprises confrontées à une compétitivité de plus en plus rude.

Ce stage effectué au sein de la laiterie Tchén-Lait « Candia », nous a permis de mettre en application nos connaissances théoriques acquises tout au long de notre cursus universitaire.

Ce travail avait pour objectif l'évaluation de la qualité physico-chimique et microbiologique du lait UHT demi crémé fabriqué par la laiterie Tchén-Lait /Candia, tout au long de la chaîne de production, en contrôlant les matières premières, les produits intermédiaires (lait reconstitué), ainsi que le produit fini.

La conformité des résultats se traduit par la stabilité des paramètres physicochimiques durant le processus de fabrication ainsi que la bonne qualité des produits finis et la maîtrise du processus de fabrication.

En ce qui concerne les analyses microbiologiques, les résultats se révèlent conformes quelque soit la méthode d'analyse utilisée ce qui reflète l'efficacité des traitements thermiques, les bonnes conditions d'hygiène et l'intégrité de l'emballage.

La méthode d'analyse microbiologique classique et le test à la résazurine démontrent une grande conformité aux normes exigées par la réglementation Algérienne et donc une qualité microbiologique satisfaisante, ce qui nous permet de vérifier la stérilité du lait au fil des traitements thermiques appliqués (pasteurisation et stérilisation UHT), et nous renseigne sur la bonne gestion de cette technologie.

Cependant, vu le temps d'incubation, le manque de précision, et le stockage de produit dans l'attente des résultats, les deux méthodes (Bactériologie classique et Résazurine) ne sont plus utilisées dans l'industrie. Ce qui a poussé l'entreprise Tchén lait Candia à introduire la technologie du D/count (cytométrie en flux) qui est un énorme gain de temps en vue de sa rapidité (1h30) et de sa capacité à analyser plusieurs échantillons simultanément cela permet une évaluation précise de la stérilité du produit sa libération au niveau du stockage avec le maximum de garanti.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abdenouri N, Iblimam A, et Kouhila M. (2008). Etude hygroskopique du lait en poudre. Revue des énergies renouvelables SMST'08 Alger. 35p

Adrian, J. (1987) Les vitamines. In : CEPIL. Le lait matière première de l'industrie laitière.

ALAIS C, 1984 : Sciences du lait : Principes des techniques laitières-4e éd- Paris SEPAIC 814p.

Amiot J., Fournier S., Lebeuf Y., Paquin P., Simpson R., Turgeon H. 2002. Composition, propriétés physicochimiques, valeur nutritive qualité technologique et techniques d'analyse du lait In VIGNOLAC .L. Science et technologie du lait-Transformation du lait, École polytechnique de Montréal, 600p

B

Barreda D, Neumann NF et Belosevic M. (2000). Flow cytometric analysis of PKH26-labeled goldfish kidney-derived macrophages. Dev Comp Immunol, 24, 395-406.

Bylund G., (1995) : Dairy processing handbook-Tetra pak processing systems AB S-221 86 , Lund ,Sweden : 18-23-381(436 pages).

C

Carole L et Catherine R. (2013). La contamination environnementale. <http://www.sciencedirect.com>.

CEPIL –INRA, paris, 113-119.

D

Derby. (2001). Lait, nutrition et santé, Edition : Tec et Doc, Lavoisier, Paris.556p.

Dudez P. (2002). Transformation des produits laitiers frais à la ferme. Edition: La maison rustique. Paris.

Duperray C, 2018, Cours en cytométrie en flux, consulté le 26 juin 2019 sur <http://cytobase.montp.inserm.fr/Cours/Cours.html>

G

Gosta B. (1995). Les composants de traitement du lait. In : Manuel de transformation du lait. Edition Tétra pak processing system A.B.Sweden, pp. 375-442.

Guiraud.1998.Microbiologie alimentaire. Techniques d'analyse microbiologiques. Ed, Dunod.p.26

J

Juilerat M.A et Badoud R. 2010. Acide aminés et protéines. In : « Science et technologie des aliments. Edition ; Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne. Pp. 80-82.

L

Lamontagne M, Champagne CP, Retis AJ, Moineaus, Gardner N, Lamoureux M, Jean J et Fliss I. (2002). Microbiologie du lait, in Science et technologie du lait. Edition : Fondation de technologie, (Canada). Mm, pp.14-75.

Larpent J.P, 1997 ; Microbiologie alimentaire, technique de laboratoire. ED. Tec& Doc.Lavoisier, Paris

Luquet F.M, 1986 : Lait et les produits laitiers : vache, brebis, chèvre. ED.TEC et DOC, Lavoisier, paris, T3, 445P.

Luquet, F. M. 1985. Lait et produit laitier : vaches, brebis, chèvres .tome 1 .Paris : Lavoisier, .633p. Tec et Doc. ISBN 2852062739

M

Möller S. 2000. La reconstitution du lait. Ed Sodiaal. Ivry-sur-seine.

N

Nathalie H et Gérard S. (2007). La cytométrie en flux dans un laboratoire d'hémostases.

O

Odet, G et al. 1985. Maîtrise de la qualité du lait stérilisé UHT .Paris : APRIA, .p 201.

S

Salghi R. (2010).Cours d'analyses physico-chimiques des denrées alimentaires. Ecole nationale des Sciences Appliquées d'Agadir. <http://www.adrmessage-review3>.

V

Veissery.(1975). Technologie du lait .constituants, récolte traitement et transformation du lait.Edition. Maison rustique.Paris.pp : 112-133

Veisseure. (1979). Technologie du lait : constituants, récoltes, traitement et transformation

Vignola C.L. (2002).Science et technologie du lait. Edition Presse international polytechnique, France page 29.

W

Watier B. (1992).Vitamines et technologie alimentaire *In* "Aspects nutritionnels des constituants des aliments. Influence des technologies". Edition. Tec et Doc . Lavoisier, Paris. pp : 197-216.

Y

Yousseoufi Abderahman, 2000. ART10. Décret n°2-00-425 du 10 ramadan 1421 (7 décembre 2000) relatif au contrôle de la production et de la commercialisation du lait et produits laitiers.Fait à Rabat.

Normes et textes réglementaire:

AFNOR. (1985). Détermination de l'acidité titrable In lait et produits laitiers. Paris.242p

FAO(1985) : réfrigération du lait a la ferme et organisation des transports (parti 1 : action des froids sur le lait) M26ISBM92-5-202170-1.

FAO., (2010) : Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Laits de consommation<http://www.horizon.documentation.ird.fr>

ISO 6887-5. Microbiologie des aliments - Préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique - Partie 5 : Règles spécifiques pour la préparation du lait et des produits laitiers.

J .O.R.A.N°19, (2000).Bulletin officiel n° 4862 du 9 chaoual 1421, Décret n° 2-00- 425 du 10 ramadan 1421 (7 décembre 2000) relatif au contrôle de la Production et de la

commercialisation du lait et produits laitiers .Arrêté interministériel du 24 février modifiant et complétant l'arrêté de 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires.

J.O.R.A.N° 35, (1998). Critères microbiologiques des laits et des produits laitiers.

J.O.R.A.N° 69, (2003). Arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation. Textes Législatifs. Lait et produits laitiers.

JORA N°69 du 27-10-1993 (Journal Officiel République Algérienne) Traitements thermiques appliqués sur le lait

JORA N°39 du 2 juillet 2017 Normes relatives aux analyses appliquées aux denrées alimentaires.

NA 15176. (2006). Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des Clostridium sulfito-réducteurs – Méthode par comptage des colonies.

NA ISO 4833. Microbiologie des aliments _ méthodes horizontale pour le dénombrement des micro-organismes_ comptage des colonies à 30°c par la technique d'ensemencement en profondeur.

NF 04_ 348 : 1978. La présente norme internationale spécifie la méthode de référence pour la détermination du taux d'humidité du lait sec.

NF ISO 4832. (juillet 2006). Microbiologie des aliments – Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes – Méthode par comptage des colonies.

NF V.04-349 : 1985. La présente Norme internationale spécifie une méthode de référence pour la détermination de l'acidité titrable dans tous les types de lait sec.

NF V04 – 346(ISO1736). (1 déc. 2008). La présente Norme internationale spécifie la méthode de référence pour la détermination de la teneur en matière grasse du lait sec.

Site web :

(1) Photo cytométrie, consulté le 28/06/2019

<http://cytobase.montp.inserm.fr/ImagesSite/ImagesCours/hydrodynamique.jpg>

(2) Comparaison et gain de temps entre la méthode de microbiologie traditionnelle et la méthode de microbiologie rapide CHEMUNEX, consulté le 28/06/2019,

<https://www.biomerieux.fr/microbiologie-industrielle/agroalimentaire/chemunexr-agroalimentaire-dcountr-50-et-dcountr-25>

Annexes

Annexe I

Présentation de l'entreprise tchin-lait candia

Historique de Tchin-lait/ Candia

Tchin-Lait propose des produits laitiers traités sous ultra haute température (UHT) sous la marque Candia. L'entreprise est constituée d'un capital social de 497.000.000 DA détenu en grande partie par **Mr BERKATI**. Cette laiterie est construite sur une superficie de 6000 m².

1.1. Fiche signalétique de l'entreprise

Tchin-Lait/ Candia était présente sur le marché des boissons gazeuses depuis 1952 sous le nom de Tchin-Tchin. Elle a, de ce fait, capitalisé une longue expérience dans la production et le conditionnement des produits sous forme de liquide. Le choix donc pour elle de cette conversion était purement stratégique du fait de :

- L'arrivée des grandes firmes multinationales sur le marché des boissons gazeuses telles que Coca Cola, Pepsi ;
- Le lait est devenu un produit fortement demandé et un élément de base dans l'alimentation des algériens (le marché algérien du lait représente plus de 3 milliards de litres par an, soit 100L/habitant/an).

C'est en 1999 qu'une franchise Candia est née en Algérie sous l'appellation de Tchin-Lait géré par **Mr. Fawzi BERKATI**.

Les premières briques ont été produites en Avril 2001, après la signature de la franchise avec Candia France. Le contrat prévoit un transfert de technologie et des innovations dans le processus de Fabrication, du traitement et du contrôle du lait, la commercialisation ainsi que le marketing.

L'unité est dotée d'un équipement ultra moderne, de très grande capacité sous la marque Candia, l'installation des machines ont été effectuées par la société française Tétra pack. Pour avoir la garantie d'un lait stérile 25 tests de contrôle sont effectués quotidiennement d'une manière permanente et régulière par le laboratoire Tchin-Lait durant tout le cycle de fabrication. En plus de ces tests de qualité, le lait UHT est consigné durant 28h à 72 heures avant sa commercialisation.

En 2016 le chiffre d'affaire est de 12 milliards de dinars

En 2019, Tchin-Lait Candia vient de célébré son 18ème anniversaire de lancement de ces produits sur le marché algérien sous la franchise Candia France.

Aujourd'hui l'unité fonctionne avec un effectif total de 550 employés entre cadres, agents de maîtrise et ouvriers de production. L'unité est dotée de deux systèmes de travail qui sont :

- le Personnel travaillant en surface et le personnel travaillant en équipe avec un système de 3*8 en continue c'est à dire 24/24 heures avec trois équipes de production : première équipe de 5 heures du matin à 13 heures ; deuxième équipe de 13 heures à 21 heures ; troisième équipe de 21 heures à 5 heures du matin.

1.1.1. Adresse est raison sociale

Tchin-Lait/ Candia est implantée à l'entrée de la ville de Bejaia, et exactement sur la route nationale n°12 Bir Slam à 300 mètres de l'entrée de la wilaya, à 2km de l'aéroport et à environ 1km du port de Bejaia. C'est une société privée de droit algérien, constituée juridiquement en SARL.

1.1.2. L'activité de l'entreprise

La mission de l'entreprise Tchin-Lait/ Candia est de satisfaire les besoins du marché du lait UHT en Algérie, son activité principale, la production du lait UHT et sa commercialisation.

1.3. La gamme de produits : Voir annexe N°III

1.4. Capacité de production :

La capacité de production de Tchin-lait/ Candia est comme suit :

➤ Conditionnement :

Format 1L : 740.000litres/jour.

Format 20cl : 96.000litres/jour (480.000 emballages 20cl).

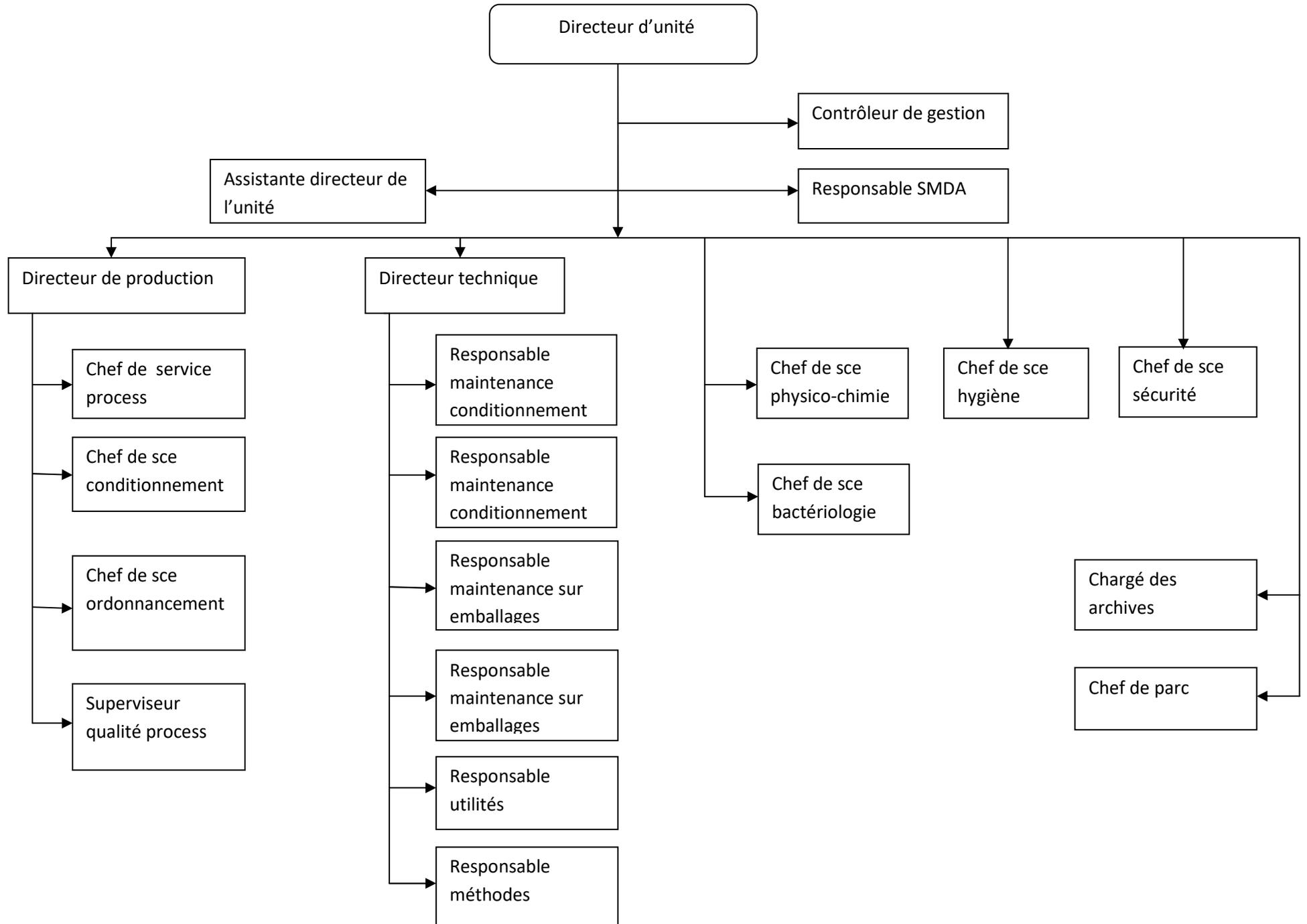
Tableau 5 Capacité de production par heure de chaque conditionneuse

Machine	Capacité de production par heure
CFA 310	10000 Litres/heure
Speed 20 cl	4800 litres/heure
Speed 1L	15000 litres/heure
CFA 312	12000 litres/heure

1.4 Structure organisationnelle de Tchin-lait/ Candia :

D'après l'organigramme, l'entreprise Tchin-Lait Candia contient sept directions situées au même niveau hiérarchique. L'entreprise a choisi une structure fonctionnelle, les fonctions fondamentales sont toutes situées au même niveau et rattachées directement à la direction générale.

Organigramme unité de Bejaia



Annexe II

Produits		Composition	Valeur nutritionnelle (100mL)
Laits UHT	Demi-écrémé	Eau, poudre de lait écrémé, matière grasse laitière	-Valeurs énergétique 45Kcal. -Protéines 3g -Glucides 4.5g -MG 1.6g -Calcium 110mg
	Entier	Eau, poudre de lait écrémé, matière grasse laitière	-Valeurs énergétique 56 Kcal -protéine 3g -Glucides 4.5g -lipides 2.8g -Calcium 110mg
	Silhouette	Eau, poudre de lait écrémé, vitamine D.	-valeurs énergétique 33Kcal -protéines 3g -glucides 4.9 -Lipides 0.1g
	Viva	Eau, poudre de lait écrémé, matière grasse laitière, vitamines B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, D, E.	-Valeurs énergétique 46Kcal -Protéines 3g -Glucides 4.5g -MG 1.6g -Calcium 110mg
	Delactosé	Eau, poudre de lait (entier et écrémé), Lactase.	-Valeur énergétique 45kcal -Lipides: 1.5g -glucides : 4,5g -protéines : 3g -Calcium : 110mg
Laits aromatisés	Candy Choco	Lait partiellement écrémé (20g de M.G/l), sucre, cacao (1,5 %), arôme vanille, additifs à des fins alimentaires : stabilisants (SIN 471, SIN 412, SIN 407), épaississants (SIN1422), vitamines : B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, D, E.	-Valeurs énergétique 82 Kcal -Protéines 2.6g -Glucides 12.8 -Lipides 2.3g -calcium 86 mg
	Candy Fraise	Eau, poudre de Lait écrémé, matière grasse laitière, sucre, arôme fraise, additifs à des fins alimentaires: stabilisants (SIN 471, SIN 412, SIN 407), colorant SIN 124 (5,1 mg/kg), vitamines: B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12, D, E.	-Valeurs énergétique 74 Kcal -protéines 2.6g -Glucides 12.5g -Lipides 1.5g -Calcium 94mg
	Twist pêche-abricot	Eau, lait écrémé reconstitué : 20%, jus de fruits à base de jus reconstitués (pêche, abricot) : 10%, sucre, additifs à des fins alimentaires : épaississants (SIN 466, SIN412), régulateurs d'acidité : SIN330, arôme, colorant : bêta-carotène : SIN160a, antioxydant : acide ascorbique	-Valeurs énergétique 52Kcal -Protéine 0.7 -Glucides 12.3g -MG 0g

	Twist orange-ananas	Eau, lait écrémé reconstitué : 20%, jus de fruits à base de jus reconstitués (orange ananas) : 10%, sucre, additifs à des fins alimentaires : épaississants (SIN 466, SIN412), régulateurs d'acidité : SIN330, arôme, colorant : bêta-carotène : SIN160a, antioxydant : acide L-ascorbique	-Valeurs énergétique 52 Kcal -Protéines 0.7g -Glucides 12.3g -MG 0g
	Twist fraise-banane	Eau, lait écrémé reconstitué : 20%, jus de fruits à base de jus reconstitués (orange, fraise, banane) : 10%, sucre, additifs à des fins alimentaires : épaississants (SIN 466, SIN412), régulateurs d'acidité : SIN330, arôme (orange, fraise, banane), colorant : bêta-carotène : SIN160a, antioxydant : acide L-ascorbique.	-Valeurs énergétique 52Kcal -protéines 0.7g -Glucides 12.3g -MG 0g
	Twist orange-mangue	Eau, lait écrémé reconstitué : 20%, jus de fruits à base de jus reconstitués (orange, mangue) : 10%, sucre, additifs à des fins alimentaires : épaississants (SIN 466, SIN412), régulateurs d'acidité : SIN330, arôme (orange, mangue), colorant : bêta-carotène : SIN160a, antioxydant : acide L-ascorbique.	Valeurs énergétique 52Kcal -protéines 0.7g -Glucides 12.3g -MG 0g
Boissons	Nectar de grenade	Eau, jus de grenade à base de concentré, sucre.	-Valeurs énergétique 49Kcal -protéines <0.04g -glucides 12g -calcium <0.05g
	Citronnade	Eau, sucre, concentré de jus et de pulpe de citron, additifs à des fins alimentaires: régulateur d'acidité : acide citrique, stabilisants: SIN466, SIN415, arôme naturel de citron, antioxydant: acide (L-) ascorbique.	-Valeurs énergétique 60Kcal -protéines <0.1g -Glucides 14.2g -Lipides <0.1g
	Jus d'orange	Eau, sucre, concentré de jus et de pulpe d'orange, additifs à des fins alimentaires (BPF): antioxydants (acide citrique, acide (L-) ascorbique), stabilisants : SIN466, SIN415, arôme orange.	-Valeurs énergétique 52Kcal -protéines <0.1g -Glucides 12.8g -MG <0.1g
	Cocktail de fruits	Eau, sucre, concentré de jus et de purées de fruits (orange, mandarine, ananas, banane, abricot, pêche, papaye, citron), additifs à des fins alimentaires (BPF): antioxydants (acide citrique, acide (L-) ascorbique), stabilisants: SIN466, SIN415, arôme (orange, ananas, mangue, abricot, banane), colorant: Bêta-carotènes SIN 160a (ii).	-Valeurs énergétique 57 Kcal -protéines <0.1g -Glucides 14.2g -MG <0.1g

Annexe III Matériels et appareillages

Le matériel utilisé pour les analyses physico-chimiques :



Verrerie



Fiole jaugée

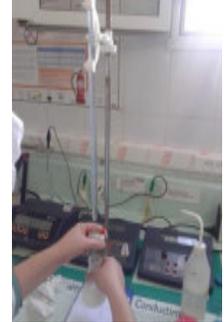
Pipettes graduées
de 1, 5, 10 et 20 mL



Pipettes jaugées à 2 traits
de 1, 5, 10 et 20 mL

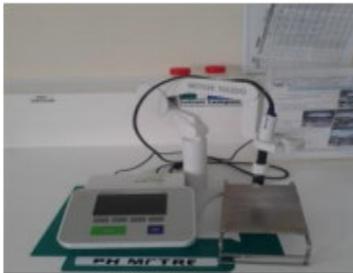


Pipettes



Burette

Appareillage physico-chimique :



**pH mètre
(METTLER TOLEDO)**



**Agitateur magnétique
(Stuart)**



**Balance analytique
(OHAUS)**



Distillateur



Centrifugeuse



Dessiccateur



Milkoscan

Le matériel utilisé pour les analyses microbiologiques :



Flacon en verre



Pipettes graduée



Tube à essai



Spatules



Micropipettes



Anse de platine



Boites pétri



Microplaque

Appareillage microbiologique :



Bec bunzen



**Four pasteur
(PROLABO)**



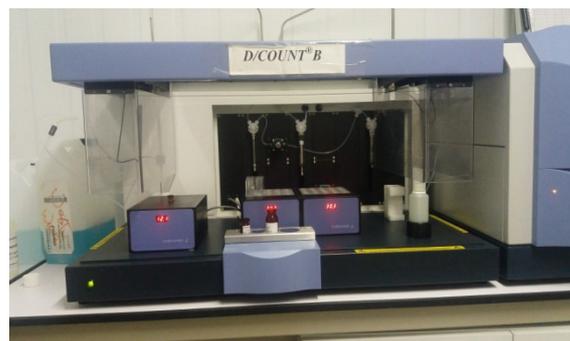
**Bain marie (mammert
XT MTD 2000)**



Autoclave



Incubateur (Jouan)



D- count

Annexe IV

Milieux de cultures

La composition des milieux de culture (Guiraud, 1998)

Les quantités indiquées sont utilisées pour la préparation d'un litre du milieu de culture.

1. Gélose PCA (plate Count Agar) : (plate count Agar) pour le dénombrement de la flore totale

Tryptone	6,0 g/l
Extrait de levure	3 g/l
Glucose.....	5, 0 g/l
Agar	18,0 g/l
pH	7,0 ± 0,2 à 25°C

2-Diluant Ringer dilué au ¼ :

Chlorure de sodium (NaCl).....	9g
Chlorure de potassium (KCl).....	0,42g
Chlorure de calcium anhydre (CaCl ₂).....	0,48g
Bicarbonate de soduim (NaHCO ₃).....	0,2g
Eau distillée	1000
PH:	7, 0 à 25°C

3-VF (Gélose viande foie)

Extrait viande foie	30g
Glucose	2 g
Amidon	2 g
Gélose	12g
PH	7 ,6-+ 0.2

4-BLBVB Bouillon Lactosé Billé au Vert Brillant

Bile de boeuf déshydrat	20g
Lactose	10g
Peptone	10g
Ver. Brillant	13,5g
PH.....	7,2± 0,2 à 25°C

5-BCPL (bouillon lactose au pourpre de Bromocrésol)

Peptone	5g
Extrait de viande	3g
Lactose.....	10g
Pourpre de bromocrésol	25g
pH.....	6,7 ± 0,2 à 25°C

6-Roth

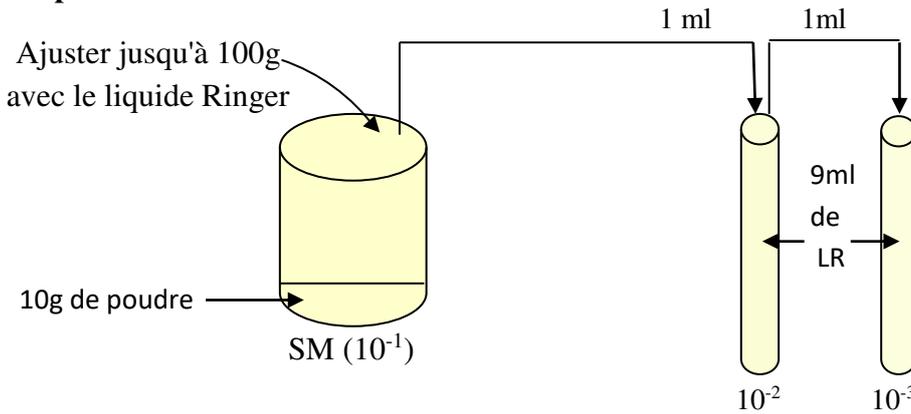
Polypeptone	20,0 g
Glucose	5,0 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Phosphate monopotassique.....	2,7 g
Phosphate dipotassique	2,7 g
Azide de sodium	0,7 g
pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C	6,8 ± 0,2

Analyse de la poudre du lait

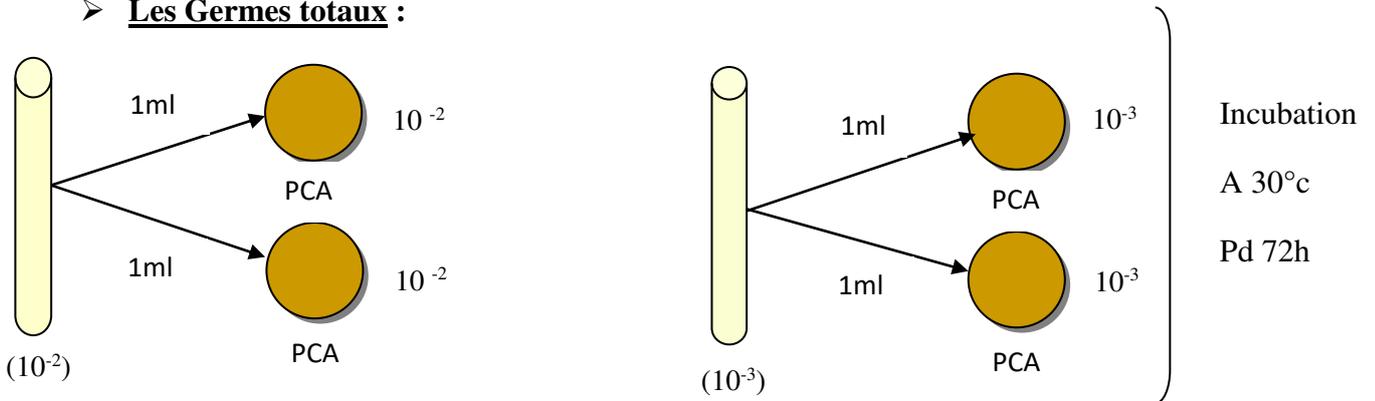


- 8 lots de poudre numérotée de 1 à 8.
- on prépare 2 tubes pour chaque sachet (GT-2/ GT-3) et 1 tube pour les clostrédium.
- 5 boîtes pétries pour chaque sachet (GT-2 /GT-2) (GT-3/ GT-3) et entérobactérie.
- 2 boîtes pétries témoin pour PCA et VRBG.
- 8 flacons pour préparé les solutions mère.

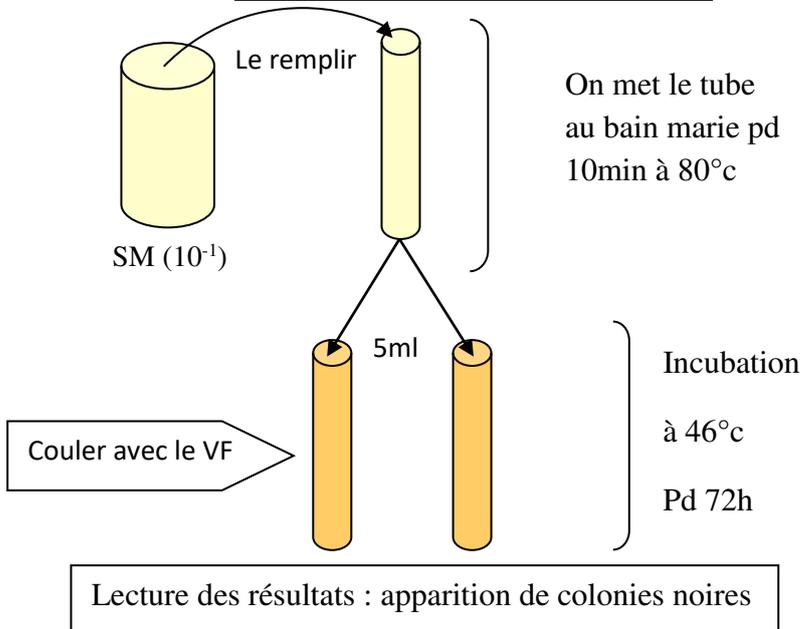
Préparation des dilutions :



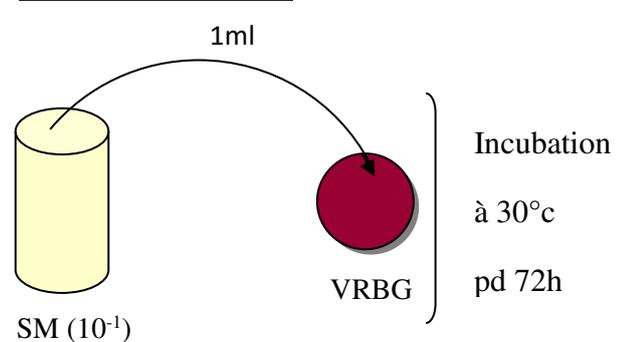
➤ Les Germes totaux :



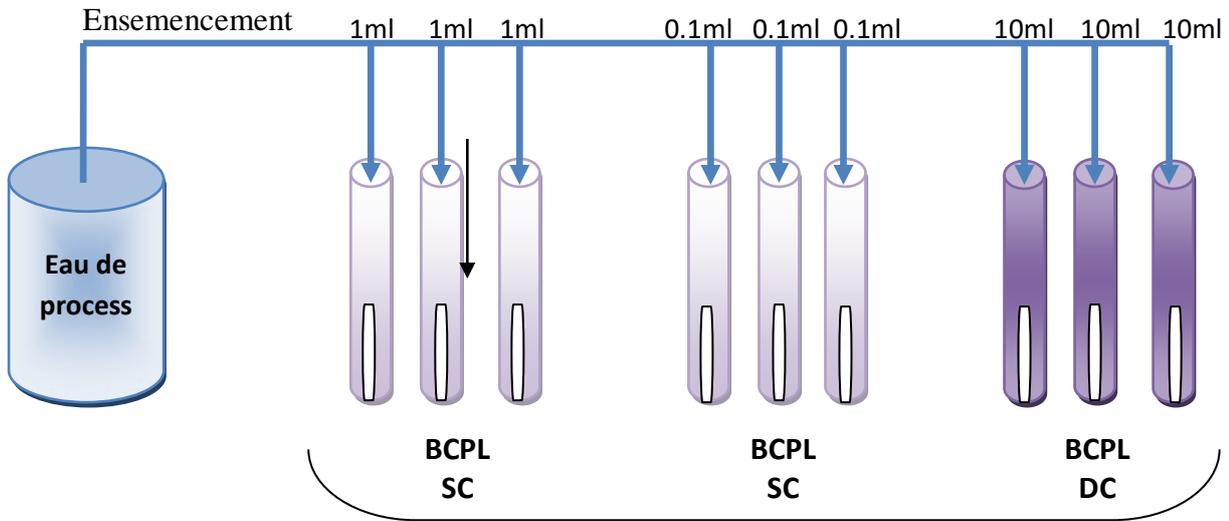
➤ Les Clostrédium sulfito réducteurs :



Les Entérobactéries :

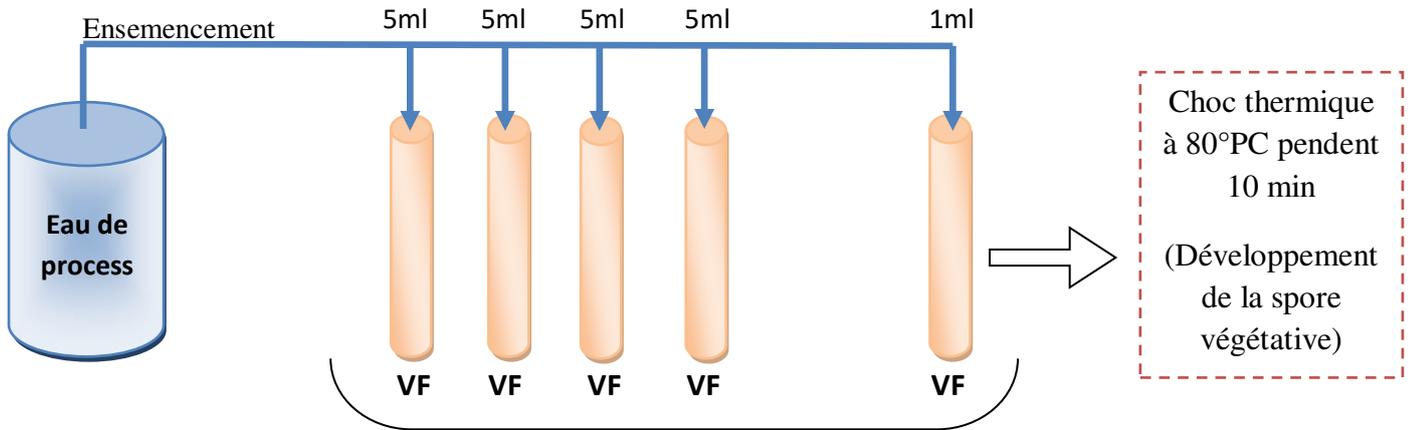


1. Les coliformes :



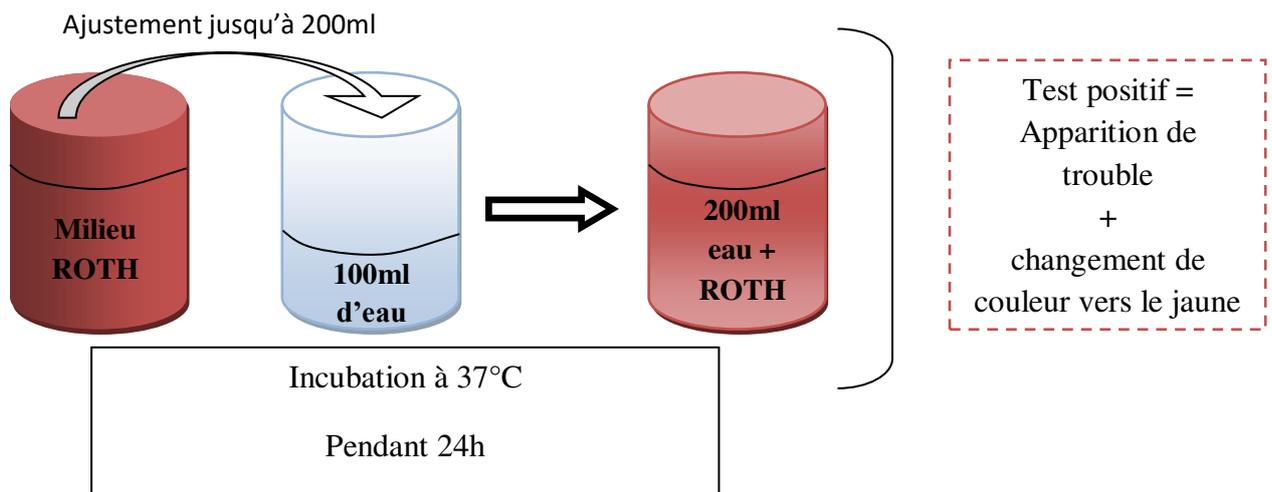
Ensemencement : à 37°C pendant 72H
 Tube (+) = virage de couleur et accumulation de gaz dans la cloche.

2. Clostridium sulfito réducteur :



Incubation à 46°C pendant 35H
 Tube (+) = Apparition de colonies

3. Streptocoques :



Résumé

Le lait est reconnu depuis longtemps comme étant un aliment bon pour la santé, riche de par sa composition biochimique ce qui fait de lui un milieu de culture idéal pour le développement des microorganismes. Un traitement thermique U.H.T. suivi d'un conditionnement aseptique est appliqué afin d'aboutir à une destruction des microorganismes et d'obtenir un aliment de longue conservation. Dans le but de mettre à la disposition du consommateur un lait de bonne qualité, la matière première mise en œuvre et le produit fini fabriqué, doivent faire l'objet d'un contrôle très strict ce qui a été l'intérêt de notre travail au niveau de l'unité où nous avons évalué la qualité du lait UHT à travers des analyses physico-chimiques et microbiologiques par cytométrie en flux qui est une technologie aux nombreux avantages. Les résultats obtenus confirment la stérilité du produit et sa conformité aux normes, grâce à l'utilisation d'une matière première de meilleure qualité et la maîtrise du processus de fabrication qui est de haute technologie.

Mots clés : Lait UHT, Stérilisation, cytométrie, analyses physico-chimiques, analyses microbiologiques.

Abstract:

Milk has long been recognized as a good food for health, rich in biochemical composition which makes it an ideal growing medium for the development of microorganisms. U.H.T. heat treatment followed by aseptic packaging is applied in order to result in the destruction of microorganisms and to obtain a long-life food. In order to make available to the consumer a good quality milk, the raw material used and the finished product manufactured, must be very strictly controlled, which has been the interest of our work. Unit level where we evaluated the quality of UHT milk through physicochemical and microbiological analyzes by flow cytometry which is a technology with many advantages. The results confirm the sterility of the product and its compliance with standards, through the use of a raw material of better quality and control of the manufacturing process which is high technology.

Key words: UHT milk, Sterilization, cytometry, physico-chemical analyzes, microbiological analyzes.

Agzul:

Ayefki d asafar n wučči yelhan I tezmert n wales (amdan) d amesbayur s usddes biochimique, dayen it-yeğğan d idles yufraren i usmerni n microorganismes. Un traitement thermique UHT yettabae- it-id conditionnement aseptique d asmas yer taggara d asenger les microorganismes yerna ad yili d asafar n wučči ara iherzan, Isuri- ines add-yefk i umdan ayefki yufraren, tanga tamezwarut d ufaris anggaru ilak ad æddin i usemqed ufrin i ay-d- yefkan amahil-nney deg uswir n tayunt anida ara nesnerni tayara n uyefki(UHT) seg tesledt physic-chimiques d microbiologiques. Igemmerd fkan-d tieiqert n usafar, aneçta yella-d imi i nessemres tanga tamzewarut n tyara yufraren d tmusni n ukala d uyaraf d tatiknologit tunigt.

ملخص :

لطالما تم التعرف على الحليب كغذاء جيد للصحة ، غني بالتركيب الكيميائي الحيوي مما يجعله وسيلة مثالية لتنمية الكائنات الحية الدقيقة. المعالجة الحرارية تليها عبوة معقمة يتم تطبيقها من أجل التسبب في تدمير الكائنات الحية الدقيقة والحصول على طعام طويل العمر. من أجل إتاحة حليب جيد الجودة للمستهلك، يجب أن تخضع المواد الخام المستخدمة والمنتج النهائي، لرقابة صارمة للغاية، والتي كانت من مصلحة عملنا. مستوى الوحدة حيث قمنا بتقييم جودة حليب UHT من خلال التحليلات الفيزيائية والميكروبيولوجية عن طريق التدفق الخلوي وهي تقنية لها العديد من المزايا. تؤكد النتائج عدم المنتج وامتثاله للمعايير ، من خلال استخدام مادة خام ذات جودة أفضل والتحكم في عملية التصنيع ذات التقنية العالية.

كلمات مفتاحية: الحليب المعقم ، التعقيم ، القياس الخلوي ، التحليل الفيزيائي الكيميائي ، التحليل الميكروبيولوجي.