



## I- Introduction

Le lait cru est un produit hautement nutritif. Il renferme toutes les substances indispensables, et de ce fait est un produit périssable, car il constitue un milieu favorable au développement des micro-organismes, ce qui influe directement sur sa qualité physicochimique et microbiologique qui est en lien direct avec l'innocuité du lait.

L'Algérie est le premier consommateur du lait au Maghreb, plus de 3,52 milliards de litre en 2017 (Algérie presse service, 2017). Cet aliment occupe une place prépondérante dans la ration alimentaire des algériens, il apporte la plus grande part de protéines d'origine animale. A partir d'une matière première propre, l'industriel doit fabriquer des produits laitiers stable et constant et cela en respectant les contraintes technologiques, économiques et hygiéniques.

Les produits laitiers sont des aliments riches en protéines de haute valeur biologique, des sucres des macros et des oligo-éléments, surtout le calcium, l'eau ; ils renferment également des vitamines. Cette richesse les rend un milieu favorable pour la multiplication des germes provenant des mauvaises conditions d'hygiène de travail ainsi que de conservation. Les produits contaminés ont des conséquences néfastes tant sur leur qualité nutritionnelle, organoleptiques et spécifique, que sur la santé humaine.

Pour que les produits laitiers puissent mériter la qualification de bonne qualité, il faut que celui-ci réponde aux normes nationales en la matière. Le lait cru de bonne qualité ne doit contenir aucune trace de débris et de sédiments; ne doit pas avoir de flaveur étrangère et de couleurs et d'odeurs anormales, doit être exempt de produits chimiques (par exemple, antibiotiques, détergents) et avoir une composition et une acidité normales. La qualité du lait cru est le principal facteur qui détermine la qualité des produits laitiers. Les produits laitiers de bonne qualité ne peuvent être produits qu'à partir de lait cru de bonne qualité.

Pour vérifier cette qualification, nous allons évaluer la qualité physico-chimique , microbiologique et organoleptique du lait de vache de 05 marques commercialisés en Algérie dont :

- Lait NADJAH
- Lait ELMOROJ
- Lait Candia
- Lait GIPLAIT
- Lait SOUMAM

## II-Objectif

**Ce travail porte sur le contrôle de qualité du lait de vache** , pour cet objectif une série d'analyses physico-chimiques , microbiologiques et Organoleptiques seront effectuée du lait de vache de 05 marques commercialisés en Algérie dont :



## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

L3 TAACQ

Pour la qualité physico-chimique on doit déterminer :

- La densité
- L'acidité titrable
- La matière grasse
- La matière sèche totale
- Test d'Antibiotiques

Pour ce qui est de la qualité microbiologique il s'agira de rechercher et de dénombrer :

- La flore aérobie mésophile totale ;
- Les coliformes totaux et fécaux ;

### III- Matériels & Méthodes

#### III-1 Analyses Physico-Chimiques

**Objectif :** Dont le but d'évaluer la qualité physico-chimique de certains laits pasteurisés commercialisés en Algérie nous allons procéder aux analyses suivantes :

- Détermination de la densité (par lactodensimètre),
- Détermination de l'acidité titrable (par titration),
- Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique),
- Mesure de la teneur en matière sèche totale (par dessiccation),
- Analyses d'antibiotiques

##### III-1-1 Densité

- **Définition :** La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau (**POINTURIER, 2003**).
- **Principe :** La densité est déterminée à 20°C par lactodensimètre.
- **Appareillage :**
  - Lactodensimètre avec thermomètre incorporé,
  - Epruvette cylindrique sans bec, de hauteur apportée à celle de lactodensimètre et de diamètre intérieur supérieur de 9 mm au moins au diamètre de la carène de lactodensimètre



## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

L3 TAACQ

### - Mode opératoire

- Verser le lait dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse ou de bulles d'air.
- Remplir l'éprouvette jusqu'à un niveau tel que le volume restant soit inférieur à celui de la carène de lactodensimètre (il est commode de repérer ce niveau par un trait de jauge sur l'éprouvette),
- L'introduction de lactodensimètre dans l'éprouvette pleine de lait provoque un débordement de liquide, ce débordement est nécessaire, il débarrasse la surface du lait des traces de mousse qui gêneraient la lecture,
- Placer l'éprouvette ainsi remplie en position verticale, il est recommandé de la plonger dans le bain à 20°C lorsque la température du laboratoire n'est pas comprise entre 18°C et 22°C,
- Plonger doucement le lactodensimètre dans le lait en le maintenant dans l'axe de l'éprouvette en le retournant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre,
- Attendre trente secondes à une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation, cette lecture étant effectuée à la partie supérieure du ménisque, lire la température.

### III-1-2 Acidité de titration ou acidité Dornic

- **Définition** : L'acidité titrable du lait est exprimée en gramme d'acide lactique par litre de lait (AFNOR, 1985)
- **Principe** : Il s'agit d'un titrage acido-basique, l'acide lactique est neutralisé par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (N/9) en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré.
- **Réactifs** :
  - Solution de NaOH N/9
  - Solution de phénolphtaléine à 1% dans l'éthanol
- **Appareillage** :
  - Pipette à lait de 10 ml.
  - Béchers.



## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

L3 TAACQ

- Burette graduée en 0.05 ou en 0.1 ml permettant d'apprécier la demi-division.

### - Mode opératoire

- Introduire dans un Becher 10 ml d'échantillon à analyser, auxquels on ajoute 2 à 3 gouttes de l'indicateur coloré.
- Titrer avec la solution NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose

L'acidité exprimée en degré Dornic est égale à :

$$AT=V \times 10(^{\circ}D)$$

(AT: Acidité titrable V: le volume en ml correspond à la chute de la burette. 1ml = 10°D)

### III-1-3 Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique)

- **Définition :** La méthode acido-butyrométrique est une technique conventionnelle qui lorsqu'elle est appliquée à un lait entier de teneur en matière grasse moyenne et de masse volumique moyenne à 20°C (27°C dans les pays tropicaux) donne une teneur en matière grasse exprimée en grammes pour 100g de lait ou 100 ml de lait (AFNOR, 1985)

- **Principe :**

Après dissolution des protéines par addition d'acide sulfurique, séparation de la matière grasse du lait par centrifugation, dans un butyromètre. La séparation étant favorisée par l'addition d'une petite quantité d'alcool amylique. Obtention de la teneur en matière grasse (en grammes pour 100 g ou 100 ml de lait) par lecture directe sur l'échelle du butyromètre.

- **Réactifs :**

- Acide sulfurique 89%, incolore ou à peine ambrer ne contenant aucune impureté pouvant agir sur le résultat.
- Alcool iso amylique.

- **Appareillage**

- Butyromètre à lait muni d'un bouchon approprié,
- Pipette à lait
- Pipette ou système automatique permettant de délivrer 10.0 ml ± 0.2ml d'acide sulfurique,



## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

## L3 TAACQ

- Pipette ou système automatique permettant de délivrer 1.00 ml  $\pm$  0.05ml d'alcool amylique,
- Centrifugeuse GERBER, dans laquelle les butyromètres peuvent être placés munie d'un indicateur de vitesse donnant le nombre de tours à la minute à  $\pm$  50 tr/mn maximum près,
- Bain d'eau à la température de 65°C  $\pm$  2°C,
- Thermomètre approprié destiné à vérifier la température du bain d'eau.

### - Mode opératoire

#### a) Préparation du butyromètre à la prise d'essai

- A l'aide d'une pipette ou d'un système automatique, mesurer 10 ml d'acide sulfurique et les introduire dans le butyromètre,
- Retourner doucement trois ou quatre fois le récipient contenant l'échantillon préparé
- Prélever immédiatement à la pipette à lait le volume fixé de lait et le verser dans le butyromètre sans mouiller le col de celui-ci de façon qu'il forme une couche au-dessus de l'acide
- A l'aide d'une pipette ou d'un système automatique mesurer 1ml d'alcool amylique et l'introduire dans le butyromètre sans mouiller le col du butyromètre ni mélanger les liquides,
- Bien boucher le butyromètre sans perturber son contenu.

#### b) Dissolution des protéines

Agiter et retourner le butyromètre jusqu'à ce que son contenu soit complètement mélangé, et jusqu'à ce que les protéines soient entièrement dissoutes

#### c) Centrifugation

- Placer immédiatement le butyromètre dans la centrifugeuse GERBER, amener la centrifugeuse à la vitesse requise (1200 tr/mn) en 2 minutes puis maintenir cette vitesse pendant 4 minutes

#### d) Lecture

- Placer le butyromètre dans un bain d'eau à 65°C  $\pm$  2°C pendant 2 à 3 minutes,
- Enlever le butyromètre du bain d'eau, le bouchon étant toujours ajusté vers le bas, ajuster soigneusement le bouchon pour amener l'extrémité inférieure de la colonne grasse avec le minimum de mouvement de cette colonne devant le repère le plus proche,
- Noter le trait de repère correspondant à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse puis en ayant soin de ne pas bouger celle-ci, aussi rapidement que possible noter le trait de repère au haut de la colonne de matière grasse coïncidant avec le point le plus bas du ménisque.



## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

## L3 TAACQ

La teneur en matière grasse est exprimée en g/l est obtenu par la lecture de la graduation sur le butyromètre. Maintenir le bouchon vers le bas et ajuster devant le repère la plus proche, puis lire rapidement.

$$MG (g/l) = (B-A) \times 100$$

- A : la valeur correspondant au niveau inférieur de la colonne grasse.
- B : la valeur correspondant au niveau supérieur de la colonne grasse.

### III-1-4 Mesure de la teneur en matière sèche totale

- **Définition** : On entend par matière sèche du lait le produit résultant de la dessiccation du lait dans les conditions décrites par la présente norme (AFNOR, 1985).
- **Principe** :
  - Dessiccation par évaporation d'une certaine quantité de lait et pesée du résidu.
- **Appareillage** :
  - Capsule en platine ou en autre matière inaltérable dans les conditions de l'essai de forme cylindrique de préférence avec couvercle,
  - Bain-marie à niveau constant, fermé par un couvercle métallique dans lequel sont ménagées des ouvertures circulaires,
  - Étuve à  $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,
  - Dessiccateur,
  - Balance analytique,
  - Pipette à lait de 5ml.
- **Mode opératoire** :
  - Dans la capsule séchée et tarée à 0.1mg près introduire 5ml de l'échantillon pour essai à l'aide de la pipette ou peser à 1mg près environ 5g de lait,
  - Placer la capsule découverte pendant 30 minutes sur le bain l'introduire dans l'étuve
  - Mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante,
  - Peser à 0.1mg près, effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé

La matière sèche exprimée en % est égale à :  $\frac{P2}{P1} * 100$

**P1**

- P1 : Poids de l'échantillon humide



## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

L3 TAACQ

- P2 : Poids de l'échantillon après dessiccation

### III-1-5 Test d'antibiotique

#### - Définition :

La présence de résidu d'antibiotique présente des risques directs ou indirects pour le consommateur, il peut aussi être l'origine de l'inhibition totale ou partielle des phénomènes fermentaires d'origine bactérienne.

#### - Appareillage :

- Rosa incubateur
- bandelettes de 8 à 9 cm.

#### - Mode opératoire :

- L'appareil est allumé jusqu'au signal rouge ;
- Les tubes eppendorf sont placés dans l'appareil ;
- 100µl du lait cru prélevés avec la micropipette sont ajoutés à l'intérieur de ces tubes ; -  
L'incubation se fait pendant 3 min à 47,5 °C +/- 1.0°C ;
- Les bandelettes de migration sont introduites comme indicateur dans les tubes eppendorf ;  
pendant 5 à 10 min.

Si les deux lignes sont de couleur rose foncée par rapport à la ligne du milieu, cela indique l'absence d'antibiotiques. La présence des antibiotiques est révélée si les deux lignes sont de couleur claire ou bien non visible .

### III-2 ANALYSE MICROBIOLOGIQUE

#### Objectif :

Rechercher une certaine gamme de micro-organismes, indicateurs d'un ou de plusieurs problèmes rencontrés lors du procédé de fabrication ou susceptibles de présenter un risque pour la santé humaine lors de la mise sur le marché.

Notre analyse microbiologique se base sur le dénombrement des germes recherché dans le produit laitier (lait de vache pasteurisé) qui sont :



## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

L3 TAACQ

- La flore mésophile aérobie Totale ;
- Les coliformes totaux ;
- Les coliformes fécaux ;
- Les staphylococcus aureus

### III-2-1 Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale

#### - Définition :

La flore mésophile aérobie totale est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air à une température moyenne, plus précisément dans une température optimale de croissance située entre 25 et 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération.

#### - Object :

Cette méthode consiste à la recherche et dénombrement de la flore mésophile aérobie totale présente dans le lait pasteurisé.

#### - Mode opératoire

Le dénombrement de cette flore est Réalisé par un ensemencement en profondeur. Le milieu utilisé :

- Gélose (PCA).
- L'incubation est conduite à 30°C pendant 72 heures.
- On commence par de la solution mère de lait pasteurisé, puis on fait des dilutions de facteur 10.
- Prendre aseptiquement 1 ml dans une boîte de pétrie stérile préparée à cet usage et numérotée, pour chaque dilution.
- Compléter ensuite avec environ 15ml de gélose PCA liquéfié puis refroidie à 50°C ;
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose ;
- Laisser solidifier sur paille ; Placer les boîtes de pétrie retournées dans une étuve à 30 °C pendant 72h.

### III-2-2 Dénombrement des coliformes totaux

#### - Définition :

Les coliformes totaux sont des entérobactéries qui incluent des espèces bactériennes qui vivent dans l'intestin des animaux homéothermes.

#### - Objet :

Cette méthode est une méthode de routine, consiste en la recherche et le dénombrement des coliformes totaux dans le produit laitier, par comptage de colonie obtenues en milieu solide après incubation à 30°C.

#### - Mode opératoire :

- A partir de l'échantillon (dilution, solution mère .....) retenue, transférer 1 ml d'échantillon dans une





## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

L3 TAACQ

boite de pétrie stérile, préalablement préparer et numéroter pour cet usage ;

- Ensuite couler dans la boite de pétrie environ 15ml de gélose VRBL ;
- Mélanger soigneusement le milieu et laisser le mélange se solidifier sur une pailasse ;
- Lorsque le milieu est solidifié, couler environ 4ml de la même gélose ;
- On ajoute une 2<sup>ème</sup> couche de V.R.B.L pour éviter une contamination, est une couche protectrice.
- Laisser solidifier à nouveau ; Placer les boites de pétrie retournées dans une étuve à 30 °C pendant 24h.

### III-2-3 Dénombrement des coliformes fécaux

#### - Définition :

Les coliformes fécaux sont des micro-organismes vivant dans les intestins d'animaux ou humains. Ils sont généralement en nombre inférieur ou égal aux coliformes totaux et indiquent qu'il y a contamination d'origine fécale.

#### - Objet :

Cette méthode est une méthode de routine, consiste en la recherche et le dénombrement des coliformes fécaux dans le produit carné, par comptage de colonie obtenues en milieu solide après incubation à 44°C.

#### - Mode opératoire

- A partir du mélange retenu, transférer 1 ml d'échantillon dans une boite de pétrie stérile, préalablement préparée et numérotée pour cet usage ;
- Ensuite couler dans la boite de pétrie environ 15ml de gélose VRBL ;
- Mélanger soigneusement le milieu et laisser le mélange se solidifier sur une pailasse ;
- Lorsque le milieu est solidifié, couler environ 4ml de la même gélose ;
- On ajoute une 2<sup>ème</sup> couche de V.R.B.L pour protéger l'inoculum, est une couche protectrice.
- Laisser solidifier à nouveau ;
- Placer les boites de pétrie retournées dans une étuve à 44 °C pendant 24h.

### III-3 Analyse de de la Qualité Organoleptique

La qualité organoleptique d'un produit se dégrade au fil du temps, la durée de stockage, la température et leur action combinée affectent considérablement les attributs sensoriels totaux. Un lait de bonne qualité organoleptique présente des caractéristiques typiques quiconcernent la couleur, l'odeur, la saveur, la viscosité etc.

#### III-3-1 Odeur

L'odeur est caractéristique du lait du fait de la matière grasse qu'il contient, fixe des odeurs



## PROTOCOLE STAGE (TP<sub>s</sub>)

## L3 TAACQ

animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette) (Vierling, 2003).

### III-3-2 Couleur

Le lait est de couleur blanche mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (Fredot, 2005)).

### III-3-3 Saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, peut transmettre au lait des saveurs anormales en particulier un goût amer

**Dr Djahida HADJ MERABET**  
**Responsable de Formation L3 TAACQ**