



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

I- Introduction

Le lait est un aliment naturel et complet, riche en nutriments essentiels tels que les protéines, les vitamines, les minéraux, et particulièrement le calcium, indispensable pour la santé des os et des dents. Consommé depuis des millénaires, il joue un rôle central dans l'alimentation humaine, que ce soit sous sa forme brute ou transformée en produits laitiers tels que le fromage, le yaourt, ou le beurre.

Dans le monde, le lait occupe une place primordiale dans les régimes alimentaires de nombreuses populations. Il est une source essentielle de nutrition, notamment pour les enfants en croissance et les personnes vulnérables. En tant que pilier de l'économie agricole, l'industrie laitière soutient des millions de familles à travers l'élevage de vaches, de chèvres, et d'autres animaux producteurs de lait. Par ailleurs, la demande mondiale de produits laitiers ne cesse d'augmenter en raison de l'urbanisation et de l'amélioration des niveaux de vie.

En Algérie, le lait est un aliment de base dans la vie quotidienne des ménages. Il est consommé sous diverses formes, allant du lait frais au lait en poudre, en passant par des produits traditionnels comme le leben. Le gouvernement algérien accorde une grande importance à l'accès au lait en subventionnant son prix pour le rendre abordable à tous. Cependant, le pays fait face à des défis liés à la production nationale, souvent insuffisante, et dépend donc largement des importations pour répondre à la demande croissante.

Le lait ne se limite pas à son rôle nutritionnel ; il est également un acteur économique majeur en Algérie. Le développement de l'industrie laitière locale est une priorité stratégique pour réduire les importations, renforcer l'autosuffisance alimentaire et créer des emplois, notamment dans les zones rurales.

En résumé, le lait est non seulement un aliment essentiel pour la santé et la croissance humaine, mais aussi un pilier économique et social, tant au niveau mondial qu'en Algérie.

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 Candia**
- **Lait GIPLAIT**
- **Lait SOUMAM**



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

II- Objectif

Ce travail se concentre sur le contrôle de la qualité du lait de vache. Pour atteindre cet objectif, une série d'analyses physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques sera réalisée sur le lait de vache de 4 marques commercialisées en Algérie.

Analyses physico-chimiques

Les paramètres suivants seront évalués pour la qualité physico-chimique :

- Densité
- Acidité titrable
- Teneur en matière grasse
- Matière sèche totale
- pH
- Présence d'antibiotiques (test de détection)

Analyses microbiologiques

Les analyses microbiologiques porteront sur la recherche et le dénombrement des germes suivants :

- **Pour le lait cru :**
 - Germes aérobies mésophiles (à 30 °C)
 - Staphylocoques à coagulase positive
 - Coliformes thermotolérants
 - Salmonella
 - Listeria monocytogenes
 - Antibiotiques
- **Pour le lait pasteurisé :**
 - Germes aérobies mésophiles (à 30 °C)
 - Entérobactéries
 - Salmonella

Résumé des germes recherchés

- Flore aérobie mésophile totale
- Coliformes totaux
- Coliformes fécaux
- Staphylocoques à coagulase positive
- Salmonella



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

- Entérobactéries

Ces analyses permettront d'évaluer la qualité globale du lait, en mettant en évidence les éventuelles non-conformités sur les plans physico-chimique et microbiologique, ainsi que la sécurité pour les consommateurs.

III- Matériels & Méthodes

III-1 Analyses Physico-Chimiques

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,
 - Eprouvette 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
- **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



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

- **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 phénolphthaléine comme indicateur coloré.
- **Réactifs** :
 - Solution de NaOH N/9
 - Solution de phénolphthaléine à 1% dans l'éthanol
- **Appareillage** :
 - Pipette à lait de 10 ml.
 - Béchers.
 - 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.



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

- 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 \pm 0.2ml d'acide sulfurique,
- 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



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

d) Lecture

- Placer le butyromètre dans un bain d'eau à $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ 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.

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.

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

- 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** :



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

- 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 : $P2 * 100$

- $P1$: Poids de l'échantillon humide
- $P2$: Poids de l'échantillon après dessiccation

III-1-5 Détermination du pH

Le pH traduit la concentration en ions H⁺ ou l'acidité actuelle. On détermine le pH à l'aide d'un pH-mètre digital.

- L'opération débute par l'étalonnage de l'appareil à l'aide de deux solutions à pH connus (4 et 7) à 25° C ;
- L'électrode du pH-mètre est ensuite rincée à l'eau distillée puis séché avec du papier buvard ;
- La température du produit est mesurée avec un thermomètre. Celle-ci est utilisée pour régler la température au niveau du pH-mètre ;
- Ensuite on met le pH-mètre en marche et la valeur du pH s'affiche à l'écran de cet appareil ;
- Immédiatement après usage, l'électrode est rincée puis séché. (Mathieu, 1998).

III-1-6 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 ;



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

- 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

III-2-1 Flore aérobic mésophile totale

- **Définition** : Ce test mesure le nombre total de bactéries aérobies capables de croître à 30°C.
- **Objectif** : Évaluer la qualité globale du lait et détecter des contaminations.
- **Mode opératoire** :
 - Préparer des dilutions décimales de l'échantillon de lait.
 - Ensemencer sur gélose Plate Count Agar (PCA).
 - Incuber à 30°C pendant 72 heures.
 - Compter les colonies formées (UFC/mL).

III-2-2 Coliformes totaux et fécaux

- **Définition** : Les coliformes sont des indicateurs de contamination hygiénique ; les coliformes fécaux signalent une contamination par des matières fécales.
- **Objectif** : Vérifier l'hygiène lors de la production et la sécurité sanitaire.
- **Mode opératoire** :
 - Préparer des dilutions.
 - Ensemencer sur gélose VRBL (Violet Red Bile Lactose Agar).
 - Incuber à 30°C pour les coliformes totaux et à 44°C pour les coliformes fécaux, pendant 24 à 48 heures.
 - Compter les colonies rouges entourées d'un halo.

III-2-3 Staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus*)

- **Définition** : Ces bactéries produisent des toxines dangereuses pour la santé humaine.
- **Objectif** : Détecter les staphylocoques pathogènes dans le lait.
- **Mode opératoire** :
 - Ensemencer l'échantillon sur gélose Baird-Parker.
 - Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

- Rechercher des colonies noires brillantes entourées d'un halo clair.
- Confirmer la présence de coagulase par des tests biochimiques.

III-2-4 Salmonella spp.

- **Définition** : Pathogène grave responsable de salmonellose, une maladie d'origine alimentaire.
- **Objectif** : Garantir l'absence de ce pathogène dans le lait.
- **Mode opératoire** :
 - Pré-enrichir l'échantillon dans un bouillon non sélectif (ex. bouillon peptone).
 - Enrichir dans un milieu sélectif (ex. Rappaport-Vassiliadis).
 - Inoculer sur des milieux sélectifs (ex. XLD ou Hektoen).
 - Incuber à 37°C pendant 24 à 48 heures.
 - Identifier les colonies typiques et confirmer par des tests biochimiques et sérologiques.

III-2-5 Entérobactéries

- **Définition** : Groupe de bactéries qui inclut des pathogènes tels que Salmonella et E. coli.
- **Objectif** : Détecter une contamination générale par des bactéries intestinales.
- **Mode opératoire** :
 - Inoculer sur gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose).
 - Incuber à 37°C pendant 24 heures.
 - Rechercher des colonies violettes ou rouges.

III-2-6 Listeria monocytogenes

- **Définition** : Une bactérie pathogène pouvant causer de graves infections, notamment chez les femmes enceintes.
- **Objectif** : Garantir l'absence de Listeria dans le lait.
- **Mode opératoire** :
 - Pré-enrichir dans un bouillon demi-Fraser.
 - Enrichir dans un bouillon Fraser complet.
 - Inoculer sur gélose sélective (ex. ALOA).
 - Incuber à 37°C pendant 48 heures.
 - Identifier les colonies bleues avec un halo clair.

III-3 Analyse de de la Qualité Organoleptique

L'analyse organoleptique du lait est une évaluation sensorielle visant à vérifier la qualité du produit en fonction de ses caractéristiques visuelles, olfactives, gustatives et tactiles. Ce protocole permet de détecter



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

les éventuels défauts qui pourraient indiquer une mauvaise conservation, une contamination ou un traitement inadéquat.

Objectifs

- Vérifier la conformité du lait aux normes de qualité.
- Détecter d'éventuels défauts qui compromettent la consommation (ex. rancissement, goût acide, odeur désagréable).
- Compléter les analyses physico-chimiques et microbiologiques.

III-3 Équipement nécessaire

- Verres transparents pour l'échantillon.
- Cuillères stériles (pour goûter).
- Lingettes et eau potable (pour le rinçage entre les tests).
- Fiches d'évaluation organoleptique.

III-3 Étapes du protocole

III-3 -1 Préparation des échantillons

- Prélever le lait à analyser dans des conditions aseptiques.
- Assurer une température idéale de dégustation (10-15°C) pour une meilleure perception des saveurs et des odeurs.
- Étiqueter chaque échantillon avec un numéro pour une évaluation à l'aveugle (si nécessaire).

III-3-2 Évaluation visuelle

- **Aspect général** : Observer la couleur, la brillance et la transparence.
 - Le lait doit être homogène, blanc à légèrement jaunâtre.
 - L'absence de particules, de dépôts ou de séparations est essentielle.
- **Défauts possibles** : Présence de caillots, séparation de la matière grasse, couleur anormale (ex. bleutée ou rougeâtre).

III-3-3 Évaluation olfactive

- Approcher doucement l'échantillon du nez et inhaler.
- **Défauts recherchés** :
 - Odeur acide (indique une fermentation).
 - Odeur rance (indique une oxydation des lipides).
 - Odeur chimique (indique une contamination ou un traitement incorrect).



Protocole stage pratique (tp_s)

LAIT

L3 TAACQ

24-25

Enseignante Responsable : Djahida HADJ MERABET

III-3-4 Évaluation gustative

- Prélever une petite quantité de lait avec une cuillère propre.
- Laisser le lait en bouche quelques secondes pour percevoir le goût et la texture.
- **Caractéristiques normales :**
 - Goût doux et légèrement sucré.
 - Texture fluide et crémeuse sans granulosité.
- **Défauts possibles :**
 - Goût acide (fermentation).
 - Amertume (oxydation ou contamination bactérienne).
 - Goût métallique ou chimique (résidus de nettoyage ou antibiotiques).

III-3-5 Évaluation tactile

- Optionnelle, mais elle peut inclure la perception en bouche de la texture (fluidité, gras, homogénéité).

III-4 Résultats et interprétation

- Les observations doivent être consignées sur une fiche d'évaluation, comprenant :
 - **Aspect visuel** : homogénéité, couleur, absence de défauts.
 - **Odeur** : fraîche ou présentant des défauts.
 - **Goût** : conforme ou présentant des anomalies.
 - **Texture** : fluide, sans grumeaux.

Les références des analyses décrites sont basées sur les normes internationales ISO, AFNOR, et les textes réglementaires spécifiques algériens publiés dans le **Journal Officiel**.

Dr Djahida HADJ MERABET
Responsable de Formation L3 TAACQ