

774THV-2

République Algérienne Démoc

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université SAAD DAHLAB, Blida

Faculté des Sciences Agrovétérinaires et Biologiques

Département des Sciences Vétérinaires



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de
Docteur Vétérinaire

THEME

*Analyse bactériologique du lait entier en poudre
instantanée produit par Promasidor Djazair
(LOYA)*

Présenté par :

❖ M^{elle} NOURI Rabeb

Devant le jury :

M ^{me} AMMI née BAAZIZ D.	Maître assistante A	USDB	Présidente
M ^r AKLOUL K.	Maître assistant B	USDB	Examineur
M ^{elle} TARZAALI D.	Maître assistante B	USDB	Promotrice

Promotion 2012/2013

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En second lieu, je tiens à remercier ma promotrice **M^{elle} TARZAALI Dalila**, Maitre assistante B à l'université SAAD DAHLEB de Blida pour ses précieux conseils et son aide durant toute la période du travail.

Nos sincères remerciements s'adressent également à :

M^{me} AMMI née BAZZIZ Djamila, Maitre assistante A du département de médecine vétérinaire de l'USDB, qui nous a fait l'honneur d'accepté la présidence de notre jury de thèse.

M^r AKLOUL kamel, Maitre-assistant B au département de médecine vétérinaire de l'USDB, d'avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à **M^{me} FATMA ZOHRA ABAD**, Manager de qualité à PROMASIDOR DJAZAIR SARL pour sa générosité et sa grande patience malgré ses charges professionnelles.

J'exprime ma gratitude à tous le personnel du laboratoire de contrôle de qualité de Promasidor Djazair : **M^{me} Samira, Djalel, Nassime et Mouloude** qui ont accepté de répondre à mes questions avec gentillesse et pour leur aide.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

Merci Allah (mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et de dire « Fa Layoum »

Je dédie ce modeste travail à 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 mon père, école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie, à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger. Que dieu les gardes et les protèges.

A mes adorables sœurs, meriem et batoul.

A mes frères, Abd el mounaïme, Mohamed et Sadtik.

A mes amies, en particulier Sarah.

A tous ceux qui me sont chers.

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime, Je dédie ce travail.

RABEB

RESUME

Le lait entier en poudre provient du lait de vache. Le présent travail a été réalisé au niveau de l'entreprise de PROMASIDOR DJAZAIR, Blida, durant une période de 4 mois de mars à juin 2013. Il vise l'appréciation de la qualité bactériologique du lait en poudre entier instantané sur un total de 100 échantillons.

Les résultats révèlent que 39% des échantillons de lait en poudre analysés sont de qualité satisfaisante et 61% sont de qualité acceptable.

La qualité du produit fini requiert une sensibilisation de tous les acteurs de la filière et le respect strict de l'hygiène tout au long de la chaîne de transformation jusqu'au consommateur.

Mots clés : lait en poudre, microbiologie de lait, Loya.

ABSTRACT

The powder whole milk results from some cow's milk. The present work was realized at the level of the company of PROMASIDOR DJAZAIR, Blida, during a period of 4 in March in June, 2013. It aims at the appreciation of the bacteriological quality of the immediate whole powdered milk on a total of 100 samples.

The results (profits) reveal that 39 % of the analyzed samples of powdered milk are of satisfactory quality and 61 % are of acceptable quality.

The quality of finish product require a raising awareness(sensitization) of all the actors of the sector (network) and the strict respect for the hygiene throughout the chain (channel) of transformation (processing) up to the consumer.

Keywords: powdered milk, microbiological milk, Loya.

ملخص

مسحوق الحليب كامل الدسم من حليب البقر. تم تنفيذ هذا العمل في الشركة بروماسيدور الجزائر ، البلدية، لمدة أربعة أشهر من مارس إلى يونيو 2013 .

وهو يهدف إلى تقييم النوعية البكتريولوجية لمسحوق الحليب كامل الدسم من أصل مجموع 100 عينة .

أظهرت نتائج التحليل أن 39% من عينات مسحوق الحليب هي من نوعية مرضية وأن 61% ذات جودة مقبولة.

نوعية المنتج النهائي تتطلب الوعي لدى أصحاب المصلحة والتقييد الصارم بالنظافة في جميع أنحاء سلسلة التجهيز للمستهل

كلمات الجوهريّة : الحليب المجفف، ميكروبيولوجية الحليب ، لويّا .

SOMMAIRE

Introduction	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
CHAPITRE I : LE LAIT	02
I.1. Définition	02
I.2. Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques du lait de vache	02
I.2.1. Caractéristiques Organoleptiques	02
I.2.2. Propriétés physico-chimiques	02
I.3. Compositions chimiques du lait	03
I.4. Microbiologie du lait	04
I.4.1. Principaux germes du lait	04
I.5. Lait, matière première de l'industrie laitière	05
I.6. Différentes formes de présentation à la consommation du lait et de ses produits dérivent	06
I.6.1. Lait de consommation	06
I.6.1.1. Lait cru	06
I.6.1.2. Lait pasteurisé	06
I.6.1.3. Lait stérilisé	07
I.6.1.4. Lait UHT	07
I.6.1.5. Lait microfiltré	07
I.6.2. Lait fermentés-Yaourts	07
I.6.3. Desserts lactés	07
I.6.4. Lait concentrés	08
I.6.5. Lait sec ou lait en poudre	08

CHAPITRE II : LAIT EN POUDRE	09
II.1. Définition	09
II.2. Diagramme de fabrication	10
II.3. Processus de fabrication	10
II.3.1. Séchage sur cylindres ou procédé « Hatmaker »	11
II.3.2. Séchage par pulvérisation du lait sec « Spray »	11
II.3.3. Lyophilisation	12
II.3.4. Différence entre les deux procédés de séchage « Hatmaker » et « Spray »	13
II.4. Conditionnement du lait en poudre	14
II.5. Conservation du lait en poudre	14
II.6. Caractère d'un bon lait sec	15
II.7. Propriété organoleptiques du lait sec	15
II.8. Propriétés physico-chimiques du lait en poudre	16
II.9. Composition chimique de lait en poudre	18
II.10. Caractéristiques microbiologiques de lait en poudre	18
II.10.1. Flore du lait en poudre par atomisation	19
II.10.2. Germes d'altération	20
II.10.3. Germes pathogènes	20
II.11. Utilisation	21
PARTIE EXPERIMENTALE	22
I. Objectif	22
II. lieu et période de stage	22
III. Matériel et méthodes	22
IV. Résultats	31
V. Discussion	36

Conclusion	40
Recommandations	41
Références bibliographiques	
Annexes	

LISTE DES FIGURES

Figure n° 01 : Diagramme de fabrication du lait en poudre	10
Figure n° 02 : Schéma de principe du séchage sur doubles cylindres	11
Figure n° 03 : Tour d'atomisation	12
Figure n° 04 : Schéma des quatre principaux composants d'un lyophilisateur typique	13
Figure n° 05 : microstructure du lait en poudre	16
Figure n° 06 : Sachets de lait en poudre entier instantané « LOYA »	22
Figure n°07 : Présence des coliformes dans la poudre de lait	26
Figure n° 08 : l'absence des <i>staphylococcus aureus</i> dans le lait analysé	27
Figure n°09 : présence des levures et des moisissures	28
Figure n° 10 : taux de contamination du lait en poudre entier instantané par les germes	31
Figure n° 11: Répartition selon le nombre de germes par rapport à la norme	33
Figure n° 12: classification des échantillons selon 3 critères	34
Figure n° 13 : classement du lait en poudre entier instantané selon la qualité microbiologique	35

LA LISTE DES TABLEAUX

Tableau n° I : Caractéristiques physico-chimiques du lait	03
Tableau n° II: Composition globale du lait de vache	04
Tableau n° III : Qualité d'une poudre de lait séchée par atomisation et séchée par cylindres	14
Tableau n° IV: aperçus des propriétés physico-chimiques des poudres de lait	17
Tableau n° V: Composition chimique des laits entiers (Hatmaker, Spray) et écrémé en poudre	18
Tableau n° VI: pourcentages des différents micro-organismes dans le lait en poudre entier instantané	30
Tableau n° VII : Normes du lait déshydraté conditionné (J.O.R.A 1998)	31
Tableau n° VIII: Classement des résultats d'analyse du lait déshydraté conditionné selon la norme (J.O.R.A 1998)	32
Tableau n° IX: interprétation de la qualité microbiologique du produit analysé	34

LISTE DES ABREVIATIONS

C: Coliforme

C °: Degré Celsius

CSR: Clostridium sulfito-réducteurs

FAMT : Flore aérobie mésophile totale

GA : Germes aérobies

GC: Giolitti Cantoni

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

L : Levures

M : Moisissures

NAM : Numération des aérobies mésophiles

PCA: Gélose Plate Count Agar

pH : Potentiel hydrogène

S : Salmonella.

SFB : Bouillon Sélénite Cystéine

ST: Staphylococcus aureus

T° : Température

UHT : Ultra haute température

VF : Viande foie

WPNI : Whey protéine nitrogen index

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

INTRODUCTION

Le lait en poudre autrefois appelé « *farine de lait* » est constitué de lait déshydraté, il peut provenir du lait entier, demi-écrémé ou écrémé (allégé). Il peut aussi être sucré ou contenir des additifs (vitamines D ajoutées au lait par exemple). Le premier objectif de son inventeur était de pouvoir transporter le lait à moindre coût, ce qui est possible quand on dispose d'une source d'énergie peu chère pour déshydrater le lait [41].

Si le lait a été mal déshydraté, produit à partir d'un lait gâté ou s'il a été accidentellement réhumidifié durant sa phase de conservation (en cas de conditionnement non-étanche par exemple), des bactéries et microchampignons peuvent s'y reproduire et y sécréter des toxines (ex : aflatoxine), ce qui peut être néfaste pour la santé du consommateur [33].

Avec les anciens procédés et fabrications et surtout s'il a été débarrassé de ses matières grasses, il peut avoir perdu une partie de ses vitamines, dont la vitamine A et la vitamine D. Ce qui peut réduire sa qualité nutritionnelle [16].

L'Algérie importe, en moyenne, ces dernières années, 300 000 tonnes de poudre de lait par an. En d'autres termes, la quasi-totalité des quantités de lait vendues localement sont faites sur la base d'une poudre importée. Premier consommateur au Maghreb, et l'un des premiers en Afrique, l'Algérie est fortement dépendante du marché international. La facture annuelle du lait dépasse souvent les milliards de dollars [13].

Le but de cette étude est d'apprécier la qualité bactériologique de lait en poudre entier importé en Algérie destiné à la consommation humaine, commercialisé sous le nom « lait en poudre entier instantané Loya » pour cela, nous avons fixé les objectifs suivants :

- Recherche et dénombrement des germes contaminants dans le lait en poudre entier conditionné.
- L'évaluation de la qualité microbiologique du lait en poudre entier conditionné selon les normes mentionné dans J.O.R.A.

CHAPITRE I : LE LAIT

I.1. Définition

L'Arrêté interministériel du 18 Aout 1993, relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation, mentionne dans l'article 2 et 3 (voir annexe 01) [08], que la dénomination «lait» est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique (article 2). Et que 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 (article 3).

Selon FILION [17], le lait est un milieu réactionnel complexe dont le rôle premier est de satisfaire tous les besoins nutritionnels du nourrisson.

I.2. Caractéristiques organoleptiques et propriétés physico-chimiques du lait de vache

I.2.1. Caractéristiques organoleptiques

Le lait est un liquide de couleur blanc mat, opaque à cause des micelles de caséinates. Le lait peut être parfois bleuté ou jaunâtre du fait du bêta carotène ou de la lactoflavine contenue dans la matière grasse. Son odeur est toujours faible et variable en fonction de l'alimentation de la femelle productrice. Il a une saveur douçâtre, faiblement sucrée, en raison de sa richesse en lactose. La viscosité du lait est en fonction de l'espèce. Chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores et femme), le lait est visqueux alors que chez les polygastriques, le lait est moins visqueux [03].

I.2.2. Propriétés physico-chimiques

Certaines caractéristiques physico-chimiques du lait notamment le pH, l'acidité titrable renseignent sur la qualité hygiénique du lait. D'autres comme le point cryoscopique et la densité permettent de détecter les fraudes. Le tableau n° I donne les valeurs de référence pour certaines caractéristiques physico-chimiques du lait [39].

Tableau n° I : Caractéristiques physico-chimiques du lait [39]

Caractéristiques	Valeurs
Densité à 15°C	1030 – 1034
Chaleur spécifique	0,93
Point de congélation	- 0,55°C
Ph	6,6 à 6,8
Acidité exprimée en degrés Dornic	16 à 18
Indice de réfraction à 20°C	1,35
Point d'ébullition	100,16°C

I.3. Compositions chimiques du lait

Le lait en général et le lait de vache en particulier, est constitué essentiellement d'eau, de lipides, de protéines et de glucides. Ces constituants peuvent varier en fonction des facteurs génétiques, zootechniques, physiologiques et alimentaires. Le tableau n° II donne la composition globale du lait de vache [40].

Tableau n° II : Composition globale du lait de vache [40]

CONSTITUANTS		QUANTITE (g/l)	
Eau	Eau libre	842.625	875
	Eau liée	32.375	
Glucides	Lactose	46	
Matière grasse	Matières grasses proprement dite	36	37
	Lécithine (phospholipide)	0.5	
	Partie insaponifiable (stérol, carotène, tocophérols)	0.5	
Protéines	Caséine	25	32
	Protéines solubles (globulines, albumines)	5.5	
	Substances azotées non Protéiques	1.5	
Sels minéraux	Acide citrique	2	8
	Acide phosphorique (P2O5)	3.3	
	acide chlorhydrique	2.7	
Constituants mineurs	Vitamines, enzymes, gaz dissous, pigments, cellules diverses	Traces	

I.4. Microbiologie du lait

Le lait cru, prélevé dans des conditions normales de propreté renferme de nombreux microbes dont la multiplication est assurée par la température à la sortie de la mamelle (35C°) et par la composition physico-chimique du lait. Le lait cru est un véritable milieu de culture : il est indispensable de le réfrigérer à + 4 C° dès la production [20].

I.4.1. Principaux germes du lait

Selon ROUDANT les principaux germes du lait sont les suivants [20] :

➤ **Bactéries lactiques**

Elles hydrolysent le lactose en glucose et galactose ; puis les oses sont transformés en acide lactique. La température idéale est 30 à 40 C°. Lorsque la teneur de l'acide lactique atteint 6 à 7g /l, «le lait tourne», la caséine coagule.

➤ **Bactéries saprophytes**

Elles sont associées à la propreté de la collecte. Les principales sont :

▫ *Les bactéries coliformes*, d'origine fécale, le dénombrement est un indicateur de pollution.

▫ *Les bactéries protoniques*, peuvent se multiplier à basse température. Elles s'attaquent à la caséine et sont responsables du mauvais goût du lait.

▫ *Les bactéries lipolytiques*, elles s'attaquent aux matières grasses et développent le goût de rance.

▫ *Les levures et les moisissures* qui se multiplient en surface.

➤ **Bactéries pathogènes**

Elles sont devenues rares, voire exceptionnelles dans les pays qui surveillent médicalement les troupeaux et collectent le lait dans des conditions rigoureuses de propreté. Les maladies transmises traditionnellement par le lait sont :

La brucellose (ou fièvre de malte), la fièvre aphteuse, la tuberculose, les vaches atteintes de mammites hébergent des staphylocoques et des streptocoques (microbes du pus), aussi le lait de ces animaux doit être exclu de la collecte.

➤ **Nouvelles souches**

Avec la banalisation de l'hygiène, de nouvelles souches sont apparues, elles se développent entre 2 et 4C°, les plus répandus sont *Yersinia enterocolitica* et *Listeria monocytogenes* (transmet la listériose, maladie grave pour les personnes affaiblies sur le plan immunitaire).

I.5.Lait, matière première de l'industrie laitière

L'industrie laitière occupe une place importante et particulière dans l'Agroalimentaire. D'une part, parce que l'industrie laitière se caractérise par la transformation d'une unique matière première et non pas par l'assemblage de matières premières diverses et d'autre part, parce qu'elle produit une multitude de fabrications et de produits différents.

Les contacts avec les fournisseurs de lait sont quotidiens et la notion de qualité du lait est devenue primordiale puisqu'elle définit la qualité du produit fini et donc la satisfaction du consommateur.

Le transformateur doit donc répondre à trois critères : en premier lieu assurer la santé du consommateur et la satisfaction de ses attentes, puis respecter la réglementation en vigueur et enfin

respecter le cahier des charges de ses clients (les distributeurs notamment), et pour cela trois domaines doivent être pris en compte [18] :

➤ **Composition en matière utile**

Matière grasse et matière protéique sont les deux composants les plus étudiés en termes de gestion et de revenus pour le producteur, d'orientation pour la recherche, la génétique et l'alimentation animale.

➤ **Qualité microbiologique et hygiénique du lait**

Cette qualité est évidemment importante en termes de santé du consommateur et de respect de la réglementation mais également pour les contraintes technologiques dont les besoins sont différents en fonction du produit final désiré : le fabricant de lait de consommation recherche un lait biologiquement stable alors que le fromager a besoin d'enzymes qui interviennent pendant l'affinage.

➤ **Contaminants chimiques**

De la même façon, le lait peut être contaminé par des inhibiteurs, des résidus de médicaments ou de pesticides, des métaux lourds qui peuvent être néfastes aussi bien au niveau des consommateurs qu'au niveau des technologies.

I.6. Différentes formes de présentation à la consommation du lait et de ses produits dérivés

Le lait peut être consommé sous diverses formes mais il peut également être transformé en une gamme de produits dérivés tels que les yaourts, le lait en poudre. Le lait est soumis à divers procédés afin d'obtenir différents produits dérivés [02].

I.6.1. Laits de consommation

I.6.1.1. Lait cru

Le lait cru ne peut pas être longtemps conservé, étant donné la mise en place rapide d'un processus d'altération par des bactéries responsables de la production d'acide lactique à partir du lactose. De plus, il peut contenir des germes pathogènes pour l'homme.

Il peut devenir coagulable à l'ébullition lorsqu'il y a une légère acidification avec un pH passant de 6,7 à 6,3 [02].

I.6.1.2. Lait pasteurisé

Pour obtenir ce type de lait, il faut appliquer un traitement thermique de 15 à 30 secondes à 72-75°C. La température permet de diminuer la flore classique, de détruire les germes pathogènes tels que le bacille de Koch (*Mycobacterium tuberculosis*) et d'inactiver la phosphatase alcaline.

Ce chauffage du lait a peu d'impact sur les constituants, mis à part une faible perte de la thiamine (vit B1) et de la vitamine C (7 à 10 %) [02].

I.6.1.3. Lait stérilisé

Du fait de la stérilisation pendant 20 min en bouteilles closes, les constituants du lait subissent des modifications dues au chauffage à 118-120°C. Les caséines sont partiellement déphosphorylées et la caséine est en partie désialylisée alors que les protéines du lactosérum sont totalement dénaturées. Le brunissement du lait est due aux interactions protéines-lactose. Le goût de cuit apparaît. L'équilibre minéral Ca/P est déplacé vers la forme insoluble. La couche de surface des micelles est modifiée et leur stabilité baisse [02].

I.6.1.4. Lait UHT

Le lait subit un traitement à très haute température (UHT), soit 140-150°C, pendant un temps très court de 1 à 5 secondes. Ainsi la stérilisation est obtenue avec très peu de modifications. Cependant, il est nécessaire de monter et descendre en températures de manière instantanée et de conditionner aseptiquement le lait à l'arrivée.

C'est un système de production du lait en flux continu. Sa conservation sur plusieurs mois fait du lait UHT un lait de grande consommation. Il est de couleur blanche avec un goût agréable, peu modifié par rapport à un lait pasteurisé [02].

I.6.1.5. Lait microfiltré

Ce lait n'est sur le marché que depuis peu. Seule la fraction lipidique est traitée thermiquement, le reste subit une microfiltration tangentielle qui permet d'éliminer 95 à 99 % de la flore bactérienne. Ce procédé permet de conserver les macromolécules protéiques et le potentiel biologique du lait [02].

I.6.2. Laits fermentés-Yaourts

Un yaourt est un lait fermenté qui doit contenir un minimum de 10^7 bactéries lactiques thermophiles vivantes par gramme, [Streptocoques lactiques (*S. Thermophilus*) et Lactobacilles (*L. Bulgaricus*)] et au moins 0,7 % d'acide lactique (soit 70° Dornic). Le yaourt constitue un des laits fermentés le plus connu et le plus répandu [02].

I.6.3. Desserts lactés

La forme crémeuse ou gélifiée, non acide de ces desserts est obtenue soit grâce à l'action d'une présure, soit par l'ajout d'une substance gélifiante (maximum 2 %) comme l'amidon modifié, la gélatine, les carraghénates [02].

I.6.4. Laits concentrés

Il existe deux procédés pour obtenir des laits concentrés ordinaires entiers ou écrémés, l'évaporation thermique sous vide ou la technique par osmose inverse. Le degré de concentration n'est pas toujours le même, 2/L ou 3/L. Ce produit est stérilisé puis conservé en boîte métallique après un passage sous l'autoclave [02].

I.6.5. Lait sec ou lait en poudre

L'extrait sec d'un lait concentré écrémé se situe entre 35 et 50 %. Les procédés de séchage d'un lait écrémé concentré s'effectuent par pulvérisation d'un courant d'air chaud à 140-150°C par application de différentes techniques, celle du brouillard, du Spray ou encore par atomisation. L'eau s'évapore de manière instantanée et la température à la fin du procédé ne s'élève plus qu'à 90°C environ. La poudre blanche obtenue ne contient plus que 4 % d'eau, et ne présente quasiment aucune modification de sa composition, à part une diminution de quelques vitamines et enzymes.

Il existe un problème de stabilité du lactose face à l'eau (le lactose à l'état amorphe n'étant pas stable), c'est pourquoi il faut favoriser la cristallisation après le séchage. Ainsi la structure particulière de la poudre apporte solubilité, absence de mottage, écoulement aisé.

Le lait sec entier, c'est à dire non écrémé avec des lipides, est difficile à conserver étant donné l'oxydation des lipides. La seule façon de le conserver est de le conditionner sous vide dans un récipient hermétiquement clos [02].

CHAPITRE II : LAIT EN POUDRE

II.1. Définition

Selon l'arrêté interministériel du 13 Chaâbane 1419 correspondant au 2 décembre 1998, relatif aux spécifications techniques des laits en poudre et aux conditions et modalités de leur présentation, mentionne dans ces articles (Voir annexe 02) [06], que le lait en poudre ou lait déshydraté ou lait sec est un produit solide obtenu directement par élimination de l'eau du lait. Il se présente sous l'aspect d'une poudre de couleur blanche ou légèrement crème, homogène ne contenant pas d'impuretés, de grumeaux ni de parcelles colorées. Il est franc d'odeur et de saveur. Cette dénomination évoque plusieurs types de lait en poudre.

- **Article 4** : lait entier en poudre ou poudre de lait entier : correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières est égale au minimum à 26% en poids.
- **Article 5** : lait partiellement écrémé en poudre ou poudre de lait partiellement écrémé : correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières est supérieure à 1,5% et inférieure à 26% en poids.
- **Article 6** : lait écrémé en poudre ou poudre de lait écrémé : correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières ne doit pas excéder 1,5% en poids.

II.2. Diagramme de fabrication

L'objectif de la fabrication du lait sec est d'éliminer l'eau pour empêcher le développement microbien [43].

Le diagramme de fabrication du lait en poudre s'effectue à travers plusieurs étapes, on peut les résumer dans la figure n° 01.

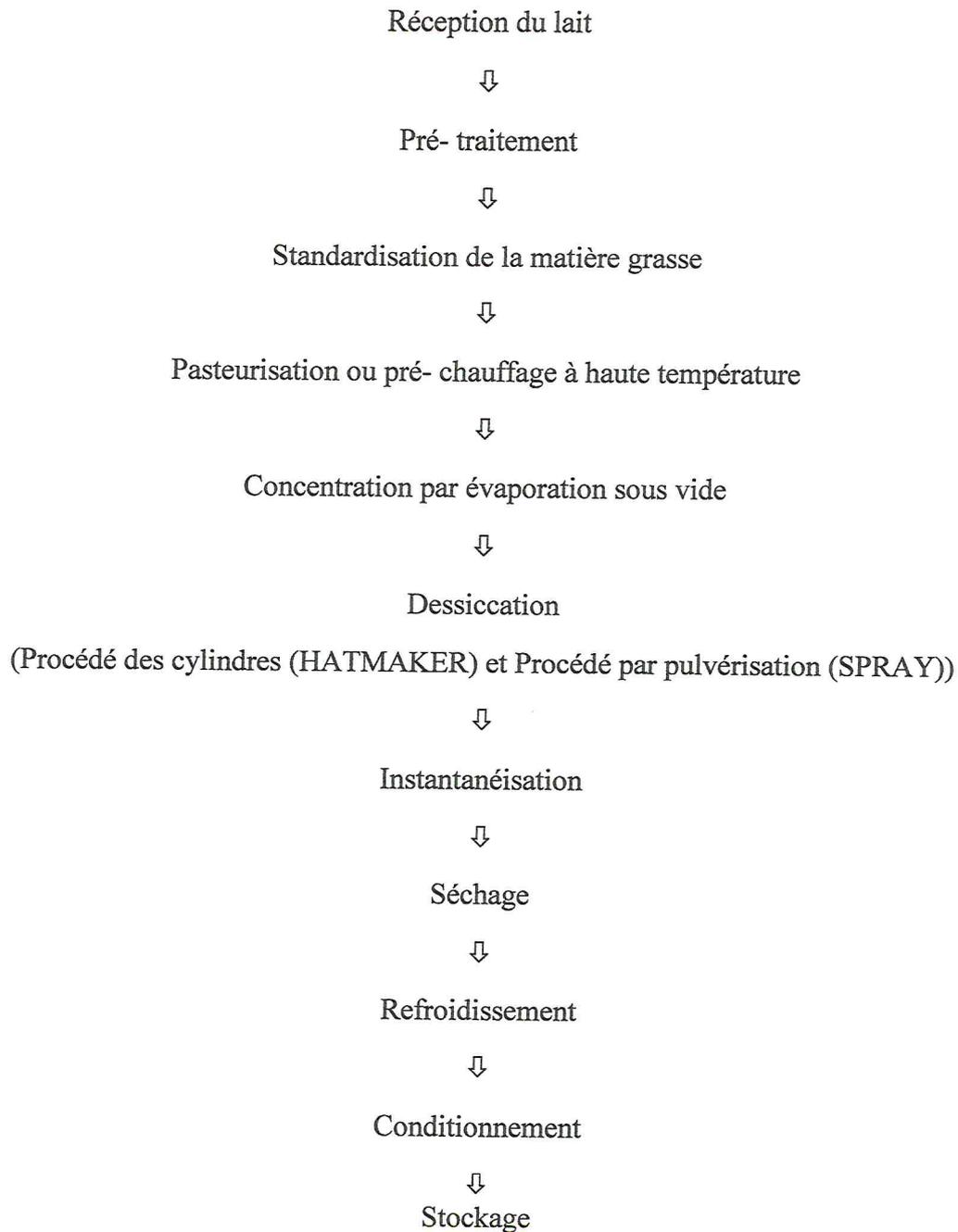


Figure n° 01 : Diagramme de fabrication du lait en poudre [41]

II.3. Processus de fabrication

Le lait en poudre est essentiellement un produit de technologie de XXe siècle, divers procédés commerciaux de fabrication de ce lait ont été successivement adaptés puis abandonnés. Actuellement, seuls le « séchage sur cylindre » et « atomisation » restent d'emploi courant, mais « la lyophilisation » pourrait être un procédé d'avenir [13].

II.3.1. Séchage sur cylindres ou procédé « Hatmaker »

L'appareil de séchage comporte deux cylindres rapprochés, chauffés intérieurement par la vapeur (130-150°C) et tournant lentement en sens inverse (Voir figure n° 02). Le lait tombe entre deux cylindres et se répartit uniformément sur leur surface.

La dessiccation est rapide, le lait formant un film qui est détaché par un couteau racleur. La vapeur d'eau formée est aspirée par une hotte placée au-dessus des cylindres. Cet appareil présente plusieurs variantes, notamment en ce qui concerne le nombre des cylindres et l'alimentation en lait. Toutefois, le traitement thermique brutal dont le produit est soumis constamment entraîne des modifications sensibles de la structure physico-chimique du lait sec [26].

Le séchage sur cylindre, n'est presque plus utilisé, la poudre obtenue étant peu soluble et peu agréable, il se pratique encore toutefois pour l'alimentation du bétail et dans les préparations alimentaires industrielles [32].

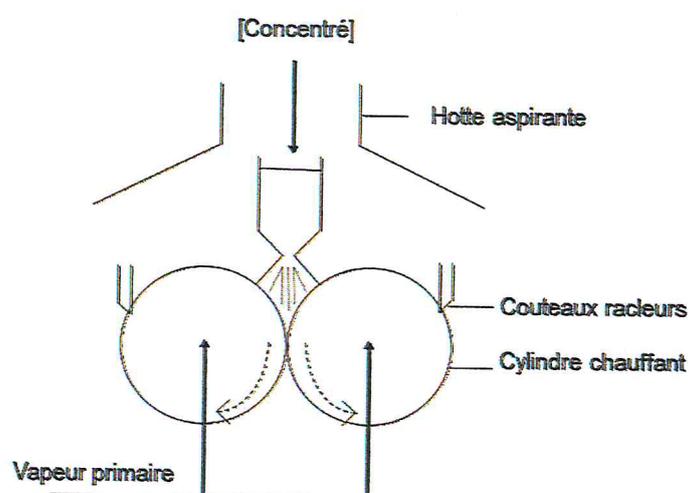


Figure n° 02 : Schéma de principe du séchage sur doubles cylindres [23]

II.3.2. Séchage par pulvérisation du lait sec « Spray »

Le lait est préalablement concentré par évaporation dans un concentrateur à film tombant à effets multiples avant d'être séché dans une tour d'atomisation. Le lait concentré issu de cette étape subit des traitements complémentaires à savoir l'homogénéisation et le traitement thermique.

Le lait concentré (50 - 60% de matière sèche) est introduit au sommet de la tour d'atomisation (Voir figure n° 03). Le lait est alors "atomisé" (transformé en aérosol ou brouillard) au moyen d'une

turbine d'atomisation ou par injection à haute pression au travers de buses. Les petites gouttes liquides ainsi formées sont entraînées et déshydratées par un courant d'air chaud.

Les gouttelettes sont séchées en une poudre sèche avant de tomber sur les parois inférieures de l'appareil. La séparation poudre - air humide est obtenue à l'aide de séparateurs cyclones. Dans le cas des aliments d'allaitement, il est important d'obtenir des poudres de lait très faciles à dissoudre (poudre instantanée). Pour cela la déshydratation dans la tour d'atomisation ne doit pas être totale » (6 à 14% d'humidité résiduelle). Cette humidité résiduelle permet une agglomération limitée des particules qui conduit à la formation de granulés à structure poreuse. La déshydratation est ensuite terminée dans des dispositifs complémentaires de type sècheurs à lit fluidisé. La poudre est ensuite refroidie [35].

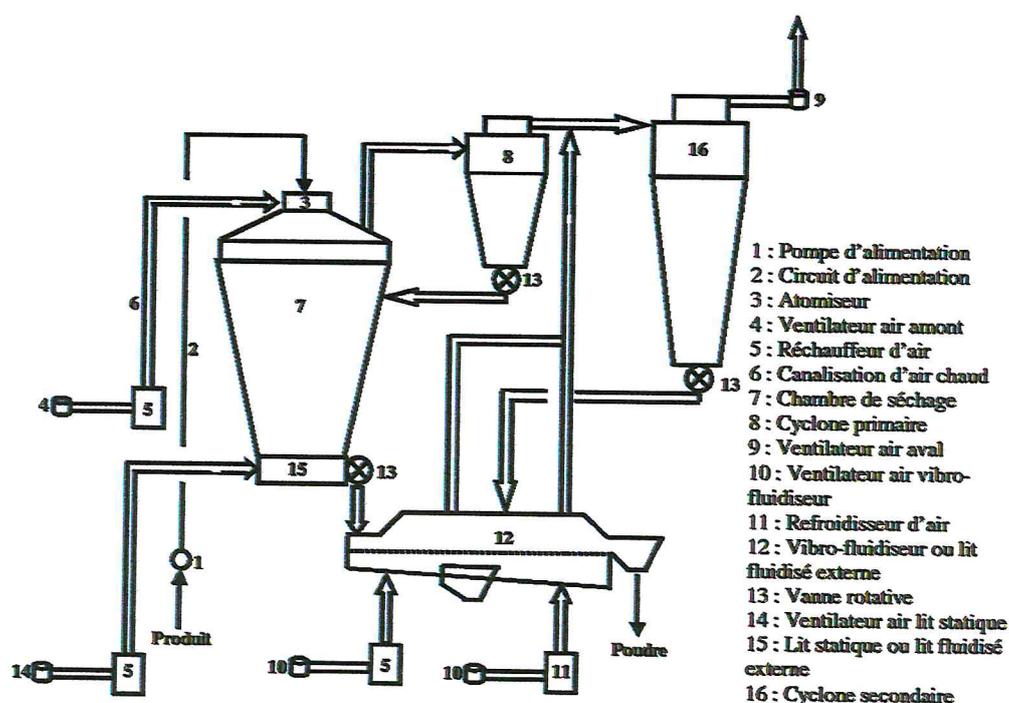


Figure n° 03 : Tour d'atomisation [36]

II.3.3. La lyophilisation

C'est un procédé de dessiccation faisant appel à un lyophilisateur typique (Voir figure n° 04). Le produit est d'abord congelé à très basse température, qui entraîne une évaporation de l'eau « sublimation ».

La lyophilisation est la technique de séchage qui paraît respecter le mieux la structure et la composition de la matière traitée mais le coût de l'opération est élevé et en limite l'usage à des

produits qui ont eux même une valeur commerciale : produits alimentaires aromatiques et produit pharmaceutique [01].

Depuis une quinzaine d'années, c'est réponde la fabrication des poudres dites « instantanée soluble » dont l'altitude à la dissolution dans l'eau est améliorée, il s'agit d'une poudre dont la granulation est modifier en vue de permettre une pénétration plus rapide de l'eau à l'intérieur des granules. Ces nouveaux produits remportent en grand succès commercial grâce à leur commodité d'emploi particulièrement pour la ménagère [12].

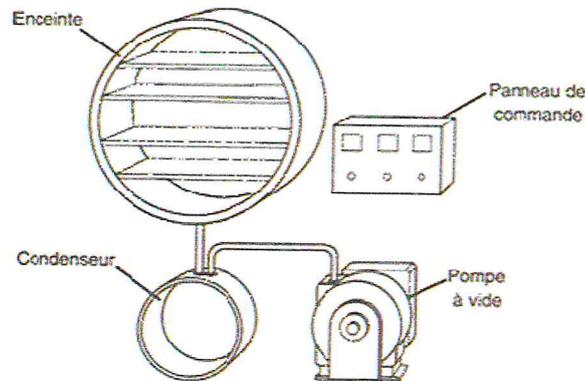


Figure n° 04 : Schéma des quatre principaux composants d'un lyophilisateur typique [27]

II.3.4. Différence entre les deux procédés de séchage « Hatmaker » et « Spray »

Par le procédé des cylindres, la poudre obtenue à une consistance en paillette, une couleur plus ou moins jaune, le lactose y est à l'état cristallin, la caramélisation et le brunissement non enzymatique sont avancés.

En ce qui concerne le procédé par pulvérisation, la poudre est moins jaune que la précédente et le lactose est amorphe [35].

Il existe des différences qualitatives entre des poudres réalisées sur cylindre et des produits réalisés par atomisation (Voir tableau n° III), un des avantages des produits traités sur cylindres et qu'ils ne sont pas en contact avec l'oxygène de l'air puisqu'une enveloppe protectrice de vapeur d'eau entoure le cylindre sur une grande partie du séchage [37].

Tableau n° III : Qualité d'une poudre de lait séchée par atomisation et séchée par cylindres [29]

	Séchage par cylindre	Séchage par atomisation
Matière sèche %	96	94.2
Indice de solubilité %	94.6	> 99.5
Indice de dispersibilité %	88	98.9
WPNI (whey protéine nitrogen index) (mg de N dans 1 g de poudre de lait).	7	9.2

II.4. Le conditionnement du lait en poudre

Le conditionnement joue un rôle important pour diminuer les risques d'accidents. Les types et tailles d'emballages sont très variables d'un pays à un autre. La poudre est souvent conditionnée dans des sacs en papier contrecollés avec un sac intérieur en polyéthylène qui est généralement soudé. Cet emballage est pratiquement aussi étanche à l'air que les bidons à tôle. Les sacs les plus couramment utilisés sont ceux de 25 Kg et 15 Kg, bien que d'autres tailles soient également utilisées tout en répondant aux exigences de la clientèle.

La poudre de lait destinée à la vente au détail est conditionnée dans les boîtes en fer blanc, des sacs en contrecollés ou des sacs en plastique, qui sont ensuite emballés dans des cartons. On doit la conserver dans un entrepôt frais et sec et la protéger du soleil et des odeurs fortes. Le produit emballé ne doit pas être en contact direct avec les murs ni les planches [19].

II.5. La conservation du lait en poudre

Il importe de conserver la poudre de lait au sec et à température ambiante modérée. Le produit est très hygroscopique et il présente au delà de 5 % d'humidités des transformations rapides accompagnant la cristallisation du lactose : brunissement, diminution de la solubilité, mauvaise odeur et goût désagréable dû à l'oxydation de la matière grasse [12].

Dans la poudre de lait entier ou dans la poudre issue de lait partiellement écrémé, la matière grasse du lait peut être oxydée. La présence de concentrations élevées d'oxygène dans l'emballage ainsi que la lumière et les ions métalliques tels que le cuivre et le fer, et dans une moindre mesure

d'autres métaux favorisent cette oxydation. L'élimination d'oxygène par le biais d'emballages sous vide ou d'emballages sous gaz protecteurs (l'azote N₂ ou dioxyde de carbone CO₂) est important lors d'emballage des poudres de lait grasses afin d'éviter l'oxydation. Une bonne gestion du préchauffage durant la fabrication de la poudre permet de réduire les oxydations dans le produit fini [05].

II.6. Caractère d'un bon lait sec

Le lait sec doit être de qualité physico-chimique et microbiologique irréprochables, pour jouer pleinement son rôle dans l'alimentation. Les qualités d'un bon lait sec sont les suivantes [15] :

- Aptitude à la reconstitution de façon à obtenir facilement un liquide homogène exempt de particules macroscopiques. Elle est sous la dépendance des propriétés de mouillabilité et de solubilité.
- Absence des saveurs anormales (goût de cuit, de brûlé et de rance).
- Absence de germes pathogènes (salmonelles et staphylocoques), de toxines et de micro-organismes capables de nuire à sa conservation ou à son utilisation.
- Absence de substances anormales (antibiotiques) et de résidus divers provenant des conditions de production, de récolte et de conservation du lait.
- Absence de modification de la structure et de la composition physico-chimique pouvant nuire à sa valeur nutritionnelle et de ses aptitudes technologiques.

Ces qualités dépendent de la qualité du lait cru mis en œuvre, du traitement thermique du lait, de la méthode de concentration, de séchage et des conditions de stockage [15].

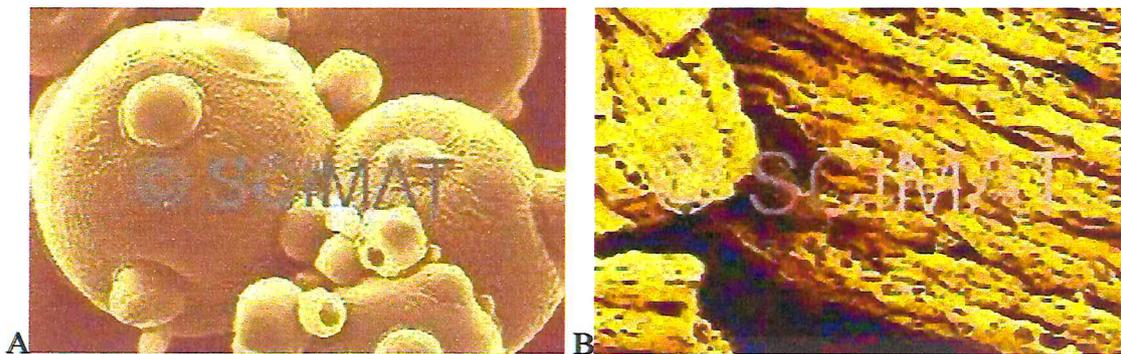
II.7. Propriété organoleptiques du lait sec

Selon le principe qui a présidé à leur fabrication, les laits desséchés se présentent à nous sous des aspects différents, au double point de vue microscopique et macroscopique [34] :

- **Finesse** : les poudres préparées par le procédé du brouillard sont extrêmement fines et très homogènes. les poudres préparées sur cylindre n'ont évidemment pas la régularité et l'homogénéité des précédentes, ce qui tient à la manière dont elles sont obtenues.
- **Légèreté** : est égale le volume, à condition de ne pas tasser fortement le produit, la poudre préparée à l'aide des cylindres est plus légère que l'autre
- **Couleur** : la couleur des poudres, quel que soit le procédé de leur préparation, est fonction de la quantité de matière grasse qu'elle renferme. D'une couleur jaune beurre lorsqu'elles sont grasses, elles sont évidemment blanchâtres, très peu teintées lorsqu'elles sont maigres, et

lorsqu'elles sont partiellement écrémées, leur teinte tient le milieu entre les deux qui viennent d'être définies.

- **Odeur** : les poudre fraîchement préparées ont une odeur agréable et appétissante, celle d'une pâtisserie fine, mais elles la perdent plus ou moins rapidement selon qu'elles sont grasses, demi écrémées ou maigres. Bien ou mal conditionnées, plus ou moins humides et selon qu'elles ont été préparées par tel ou tel procédé.
- **Au microscope** : au microscope, la poudre de « brouillard » se présente sous la forme de petites masses sphériques, radiées, au diamètre assez variable. La poudre de « cylindre » affecte la forme d'écailles irrégulière aux dimensions assez différentes et possèdent des stries parallèles confusément dessinées (Voir figure n° 05).



A : poudre issue du séchage par atomisation ; **B** : poudre issue du séchage sur cylindre

Figure n° 05 : microstructure du lait en poudre (A et B) [24]

II.8. Propriétés physico-chimiques du lait en poudre

Les importants paramètres de qualité pour le lait en poudre sont constitués par les propriétés physico-chimiques suivantes [05] :

- Teneur en eau.
- Teneur en matière grasse.
- Graisse libre.
- Teneur en protéines.
- Teneur en substances minérales.
- Acide titrable.
- Solubilité, reconstitution.
- Aptitude à l'écoulement.

- Densité apparente.
- Charge thermique du lait écrémé en poudre (part de protéines sériques dénaturées).
- Particules brûlées.
- Répartition de la grandeur des particules.
- Oxygène résiduel dans l'emballage.

La qualité physico-chimique des poudres de lait dépend essentiellement des paramètres technologiques mises en œuvre pour sa fabrication (Voir tableau n° IV) [29].

Tableau n° IV : aperçus des propriétés physico-chimiques des poudres de lait [05]

	Poudre issue d'un séchage par atomisation	Poudre issue d'un séchage sur cylindre
Structure des particules	Particules sphériques inclusion d'aire	Compacte, forme irrégulière, pas inclusion d'aire
Surface des particules	Lisse en partie pliée	–
Dimension des particules	10-250 µm	–
Densité apparente	0.50 - 0.70	0.3 - 0.5
Solubilité, dénaturation	Dénaturation des protéines peu élevé → bonne solubilité	Taux dénaturation élevé des protéines → mauvaise solubilité
Exigence relative à la teneur en métaux lourds	Cuivre < 1.5 mg/kg	Idem
Teneur en oxygène résiduel dans les poudres contenant des matières grasses	≤ 0.01 ml O ₂	–
Brunissement du la réaction de Maillard	Peu marqué	Plus marqué

II.9. Composition chimique de lait en poudre

Du point de vue chimique le lait est un aliment complet. Selon qu'il s'agisse de lait entier ou écrémé, leur composition chimique est représentée dans le tableau n° V [26].

Tableau n° V : Composition chimique des laits entiers (Hatmaker, Spray) et écrémé en poudre [26]

Constituants(%)		Type de Lait		
		Lait entier		Lait écrémé
		Hatmaker	Spray	
Eau		3.0	3.0	3.0
Protéines		25.0	25.0	36.0
Matière grasse		27.5	27.5	1.0
Glucides		37.5	37.5	50.5
Calcium		0.91	0.91	1.26
Vitamine A	Teneur (µg/100g)	383	383	13
	Pertes	Néant	Néant	Néant
Vitamine D	Teneur (ug/100g)	15.0	15.0	1.0
	Pertes	Néant	Néant	Néant
Vitamine C	Teneur (µg/100g)	11.0	13.0	17.0
	Pertes	30	20	20

II.10. Caractéristiques microbiologiques de lait en poudre

Les principales sources de contamination sont la poussière et les opérations de conditionnement ou autres qui suivent la dessiccation. Le traitement thermique sévère imposé par le séchage sur cylindre réduit généralement la population bactérienne à moins de 1000 germes par gramme (principalement les spores résistantes). La poudre obtenue par atomisation constitue un

produit bactériologique beaucoup plus variable, sa population bactérienne peut aller de 10 à plusieurs millions de microorganismes par gramme de poudre [11].

II.10.1. Flore du lait en poudre par atomisation

C'est une flore spéciale, surtout composée de microorganisme thermorésistant, les principaux groupes de ses germes sont les suivants [10] :

☞ Microcoques thermorésistants

Fréquent dans les approvisionnements laitiers et difficiles à éliminer complètement du matériel et de l'installation laitière.

☞ Streptocoques thermorésistants

En particulier souches de *Streptococcus Thermophilus*, *Streptococcus faecalis*, *streptococcus bovis* et *Streptococcus liquefaciens*. Les conditions de l'installation peuvent favoriser leur prolifération et donner naissance à de graves infections, ils sont souvent responsables de numération bactériennes extrêmement élevés observées parfois dans la poudre de lait.

☞ Corynebacteries &

Dont la fréquence est variable, les souches thermorésistantes proviennent des approvisionnements laitiers et ne semblent pas dues à un manque d'efficacité dans le nettoyage des installations.

☞ Quelques spores bactériennes

Surtout des spores d'espèces aérobie telles que *Bacilles Sbtilis* et *Bacillus licheniformis*, se trouvent dans presque toutes les poudres à moins que de lait n'ait été soumis à un traitement à très haute température. La flore peut comprendre aussi des types des microorganismes thermophiles à surveiller lorsque le lait en poudre est utilisé à certain fins.

☞ Les contaminants divers

Éventuellement non thermorésistants, qui peuvent provenir d'une contamination atmosphérique ou d'un contact avec certaine surface d'installation. On y trouve parfois de très petites quantités représentants des groupes *Escherichia aerobacter*, qui devraient être totalement absente, la présence régulière de ces organismes dans des échantillons de 10 g de poudre révèle l'existence de condition d'hygiène défectueuse.

II.10.2. Germes d'altération

La flore lipolytique est souvent responsable du rancissement de la matière grasse (lait entier en poudre). Le rancissement est lié à l'apparition de composés d'odeurs désagréables (acides, aldéhydes et cétones) issus de l'hydrolyse de la matière lipidique.

Parmi ces germes on peut avoir [09] :

- ☞ Des bactéries : *Micrococcus* et *Bacillus*.
- ☞ Des levures : *Candida*.
- ☞ Des moisissures : *Aspergillus* et *Penicillium*.

II.10.3. Germes pathogènes

Peu d'études d'épidémiques de toxi-infections alimentaires dues à la consommation des laits secs ont été signalées.

☞ Staphylocoques présumés pathogènes

Les laits en poudre Spray ont été des vecteurs de la transmission de séries d'épidémies d'intoxications aux staphylocoques.

Cependant, l'intoxication par la toxine de staphylocoque est naturellement peu courante car [31] :

- Des taux importants de staphylocoques sont nécessaires pour produire suffisamment de toxines.
- Le lait a besoin d'être maintenu à une température supérieure à 28°C pendant 24 heures pour une production suffisante de toxine.
- La toxine de contamination est fréquemment diluée dans le volume.
- Seules quelques 4% des souches de staphylocoques isolées à partir du lait sont capables de produire des entérotoxines.

☞ Salmonelles

De nombreux cas de salmonelloses ont été décrits aux Etats Unis entre 1964 et 1965 et qui ont été dues aux laits en poudre contaminés par *Salmonella newbrunswick* [21].

Le nombre de salmonelles dans les laits en poudre qui peuvent être à l'origine de toxi-infections alimentaires collectives sont tout à fait faibles et varient habituellement entre 1 et 10 germes par 100 gramme de poudre.

II.11. Utilisation

Le lait en poudre est apprécié en tant qu'adjuvant précieux dans toutes sortes d'aliments aussi bien du point de vue nutritif que technofonctionnel [05].

➤ Lait entier en poudre

Le lait entier en poudre est dissout dans de l'eau et utilisé en tant que lait reconstitué. Ce sont surtout les pays ne disposant pas d'un grand secteur de production laitière qui constituent un marché important en la matière. De grandes quantités de lait en poudre sont utilisées avec des composants de cacao et du sucre pour la fabrication d'exquis chocolat au lait. Il est en outre utilisé pour les articles de confiserie, les biscuits, les articles de boulangerie, les glaçages et divers produits laitiers tels que la crème glacée et le fromage fondu.

➤ Lait écrémé en poudre

Le lait écrémé en poudre est utilisé de différentes façons. Il parvient directement au consommateur en tant que lait écrémé reconstitué. Les fabricants de denrées alimentaires l'utilisent dans les desserts à base de lait, les crèmes glacées, les yoghourts, les produits à base de viande, les produits à base végétale ressemblant à de la viande, dans les glaçages, les sauces, les mayonnaises, les boissons instantanées pour le petit déjeuner.

Les poudres de lait issues du séchage par atomisation, traitées avec beaucoup de ménagement, et provenant de lait adapté au lait maternel humain avant le séchage, servent de base pour les aliments des enfants.

PARTIE EXPERIMENTALE

I. Objectif

Notre objectif principal au cours de cette étude est d'évaluer la qualité microbiologique de lait en poudre entier, provenant de la Nouvelle Zélande, juste après conditionnement.

II. Lieu et période de stage

Le travail de laboratoire a été réalisé durant une période allant du mois de mars jusqu'au mois de juin 2013, au niveau du laboratoire d'analyse appartenant à l'entreprise de PROMASIDOR DJAZAIR pour la production du lait en poudre « LOYA » situé dans la zone d'activité de Guerrouaou, wilaya de Blida.

III. Matériel et méthodes

III.1. Prélèvements du lait en poudre

L'échantillonnage est effectué au niveau de l'unité de production directement à partir des machines de conditionnement, ce qui a fait au total 100 échantillons représentatifs de produit fini des 20 lots de lait en poudre entier instantané (voir figure n° 06), avec en moyenne 5 échantillons pour chaque lot, à savoir :

- ❖ Sachet de 125 g.
- ❖ Sachet de 500 g.
- ❖ Etui de 500 g.
- ❖ Sachet de 1000 g.
- ❖ Etui de 250 g.



Figure n° 06 : Sachets de lait en poudre entier instantané « LOYA »

III.2. Matériel

Dans ce travail nous avons utilisé un matériel biologique et un matériel non biologique.

III.2.1. Le matériel biologique

La matière première est composée de la poudre de lait entier instantané.

III.2.2. Le matériel non biologique

Les milieux de culture, additifs, solutions et appareillages utilisés au cours des analyses microbiologiques sont présentés en annexe 03 et 04.

III.3. Méthodes

III.3.1. Analyses microbiologiques du lait en poudre

Les flores recherchées dans la poudre de lait sont définies par l'arrêté interministériel du 24 janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires (Voir annexe 05), les germes recherchés dans le lait déshydraté conditionné (la poudre de lait) sont :

- Germes aérobies à 30°C.
- Coliformes.
- *Staphylococcus aureus*.
- Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C.
- Levures et moisissures.
- Salmonella.

III.3.2. Technique de prise d'essai

La prise d'essai destinée à la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales est réalisée comme suit:

- 25 g de poudre de lait sont prélevés aseptiquement de chaque échantillon.
- Introduire aseptiquement 25g de poudre de lait dans un flacon stérile, ajouter 225 ml d'eau physiologique.
- Homogénéisation.
- Cette suspension constitue la solution mère qui correspond à la dilution 10^{-1} .
- Prélever 1 ml de cette dernière à l'aide d'une pipette de 1 ml stérile et l'introduire dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, nous obtenons la dilution 10^{-2} .
- Une dilution 10^{-3} est obtenue en transférant 1 ml de la dilution au 10^{-2} à l'aide d'une nouvelle pipette stérile dans un second tube de diluant.
- Mélanger soigneusement chaque dilution pendant 5 minutes au moment de leur préparation et avant les ensemencements.

III.3.3. Lecture et méthode de calcul des germes par ml ou gramme de produit pour milieux gélosés :

Dénombrer les colonies apparues après incubation uniquement dans les boîtes contenant un nombre compris entre 30-300.

Les résultats sont exprimés en nombre de germes par ml ou gramme de produit selon la formule suivant :

$$N=C/1.1 .D$$

C : la somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.

D : le taux des dilutions correspondant à la première dilution.

Le résultat est noté par nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par 1,1.x.

Exemple :

$$10^{-2} \longrightarrow 158$$

$$10^{-3} \longrightarrow 14$$

$$158+14$$

$$N= \frac{158+14}{1.1 \cdot 10^{-2}} = 15636$$

$$1.1 \cdot 10^{-2}$$

$$15636 \longrightarrow 1.6 \cdot 10^4$$

III.3.4. Lecture pour les milieux liquides :

Le dénombrement est effectué selon la méthode du nombre le plus probable (NPP) en se servant de la table de Mac Grady (voir annexe n°03). Le nombre est déterminé comme suit :

$$X=NPP.1/D.V$$

X : nombre de bactérie g/ml du produit.

NPP : indice considère.

V : volumeensemencé.

III.3.5. La recherche et dénombrement des germes mésophiles totaux

La technique se déroule comme suit :

- Nous avons utilisé le milieu nutritif gélosé non sélectif « PCA ».

- A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml du produit dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numéroté.
- Verser ensuite environ 20 ml de gélose « PCA » fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ \text{C}$.
- Faire ensuite des mouvements circulaires de va et vient, en forme « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose.
- laisser solidifier sur pailleasse.
- Les boîtes seront incubées à 30°C pendant 72 heures avec :
 - Première lecture à 24 heures.
 - Deuxième lecture à 48 heures.
 - Troisième lecture à 72 heures.

Lecture :

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussées sur les boîtes en tenant compte des facteurs suivant :

- Ne dénombrer que les boîtes contenant 30 et 300 colonies.
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

III.3.6. La recherche et le dénombrement des coliformes

La technique est réalisée comme suit:

- Nous avons utilisé la technique en boîte sur gélose au « desoxycholate ».
- A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans une boîte de pétri vide préparée à cet usage et numérotée.
- Couler dessus environ 15 ml de gélose fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ \text{C}$.
- Faire des mouvements circulaires de va et vient en forme de « 8 » pour bien mélanger la gélose à l'inoculum.
- Laisser solidifier les boîtes sur pailleasse.
- Les boîtes seront incubées à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Les coliformes totaux apparaissent en masse sous formes de petites colonies de couleur rouge fluorescentes (voir figure n° 07). Le nombre trouvé est multiplié par l'inverse de la dilution.

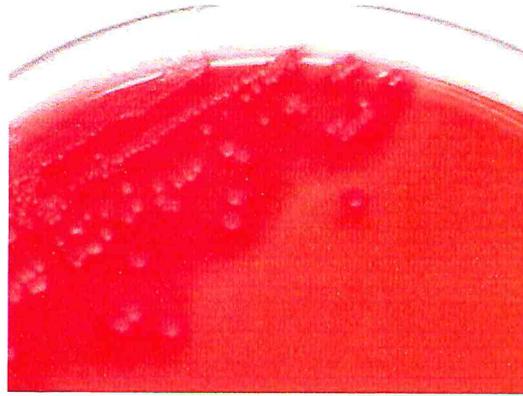


Figure n°07 : présence des coliformes dans la poudre de lait.

III.3.7. La recherche et le dénombrement des *staphylococcus aureus*

La technique se déroule comme suit :

- Nous avons utilisé le milieu d'enrichissement Giolitti Cantoni « GC ». Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon pour y ajouter une ampoule de solution de tellurite de potassium.
- A partir des dilutions décimales 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube stérile.
- Ajouter environ 15 ml du milieu « GC ».
- Bien mélanger le milieu et l'inoculum.
- Les tubes seront incubés à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Lecture

Les tubes ayant viré au noir sont considérés comme positifs. Cette couleur est due à la réduction de tellurite, le maintien de la couleur initiale reflète l'absence des *Staphylococcus aureus* (voir figure n° 08).

Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'un isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de pétri et bien séchés. Les boîtes de Chapman ainsiensemencées seront incubées à leur tour à 37°C pendant 24 à 48 heures.

Après ce délai, repérer les colonies suspectes à savoir les colonies de taille moyenne, lisses, brillantes, pigmentées en jaune et pourvues d'une catalase et d'une coagulase.

❖ Expression des résultats :

- Si à la dilution 10^{-3} le tube a noirci au bout de 24 heures d'incubation, mais à l'isolement sur Chapman, il n'y a pas des colonies caractéristiques, ce tube est considéré comme négatif.

- Si par contre à la dilution 10^{-1} le tube a noirci au bout de 24 heures d'incubation, mais à l'isolement sur Chapman il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution en question, car le nombre réel de *Staphylococcus aureus* correspondant à l'inverse de la dilution. Dans ce cas il y a *Staphylococcus aureus* par ml ou gramme de produit analysé.



Figure n° 08 : l'absence des *Staphylococcus aureus* dans le lait analysé

III.3.8. La recherche et le dénombrement des clostridium sulfito- réducteurs

La technique est réalisée comme suit:

- Nous avons utilisé le milieu gélosé viande foie « VF », au moment de l'emploi, faire fondre un flacon de « VF », le refroidir ensuite à 45°C , puis ajouter une ampoule d'Alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium.
- Les flacons contenant les dilutions seront soumis à un choc thermique (un chauffage à 80°C pendant 8 à 10 minutes puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet, dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées).
- A partir des dilutions 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution dans un tube stérile.
- Ajouter environ 15 ml de gélose « VF » dans chaque tube.
- Laisser solidifier sur paillasse pendant 30 mn.
- Les tubes seront incubés à 46°C pendant 16, 24 et 48 heures.

Lecture

La première lecture doit se faire impérativement après 16 heures d'incubations, dans le cas où il n'y a pas de colonie noire caractéristique, réincuber les tubes et effectuer une deuxième lecture

au bout de 24 heures voire 48 heures. Le nombre de colonies trouvé doit être multiplié par l'inverse de la dilution.

III.3.9. La recherche et le dénombrement des levures et des moisissures

La technique se déroule comme suit:

- Le dénombrement de la flore fongique a été réalisé sur le milieu gélosé « Sabouraud au chloramphénicol ».
- Une prise de 10 ml de la gélose Sabouraud au chloramphénicol est coulée dans des boîtes de pétri stériles.
- Après solidification, ces boîtes sontensemencées avec 4 gouttes des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} en surface.
- Les boîtes seront incubées à 25°C pendant 5 jours.

Lecture

L'observation quotidienne des boîtes est nécessaire.

Nous effectuons le comptage des levures à part et des moisissures d'autre part. Les levures sont rondes, brillantes et bombées, alors que les moisissures ont un aspect velouté et plus grand (voir figure n° 09).

Multiplier le nombre trouvé par 5 pour revenir à 1 ml puis le nombre trouvé multiplier par l'inverse de la dilution



Figure n°09 : présence des levures et des moisissures

III.3.10. La recherche et le dénombrement des salmonelles

La recherche et le dénombrement des salmonelles se fait comme suit :

1^{ère} étape : Pré enrichissement réalisé dans le bouillon non sélectif « eau physiologique ».

- Introduire aseptiquement 25 g de lait sec dans un flacon contenant 225 ml d'eau physiologique.
- Bien homogénéiser et incuber à 37° C pendant 24 heures.

2^{ème} étape : Enrichissement réalisé dans le bouillon Sélénite Cystéine « SFB ».

- Prélever 1 ml du milieu de pré enrichissement et l'introduire aseptiquement dans un tube contenant environ 10 ml de bouillon SFB auquel nous avons additionné un disque de cystéine.
- Homogénéiser et incuber à 37° C pendant 24 heures.

3^{ème} étape : Isolement effectué sur milieu gélosé sélectif « Hektoen ».

- Prélever à partir des tubes 2 gouttes et les étaler sur la surface d'une boîte de pétri contenant de la gélose Hektoen.
- Incuber à 37° C pendant 24 heures.

Lecture

Les colonies des salmonelles sont colorées en bleu vert avec un centre noir (production de H₂S).

IV. Résultats

IV.1. Résultats des analyses microbiologiques

Les résultats détaillés du dénombrement de germes dans le lait en poudre entier instantané sont présentés en annexe n°06.

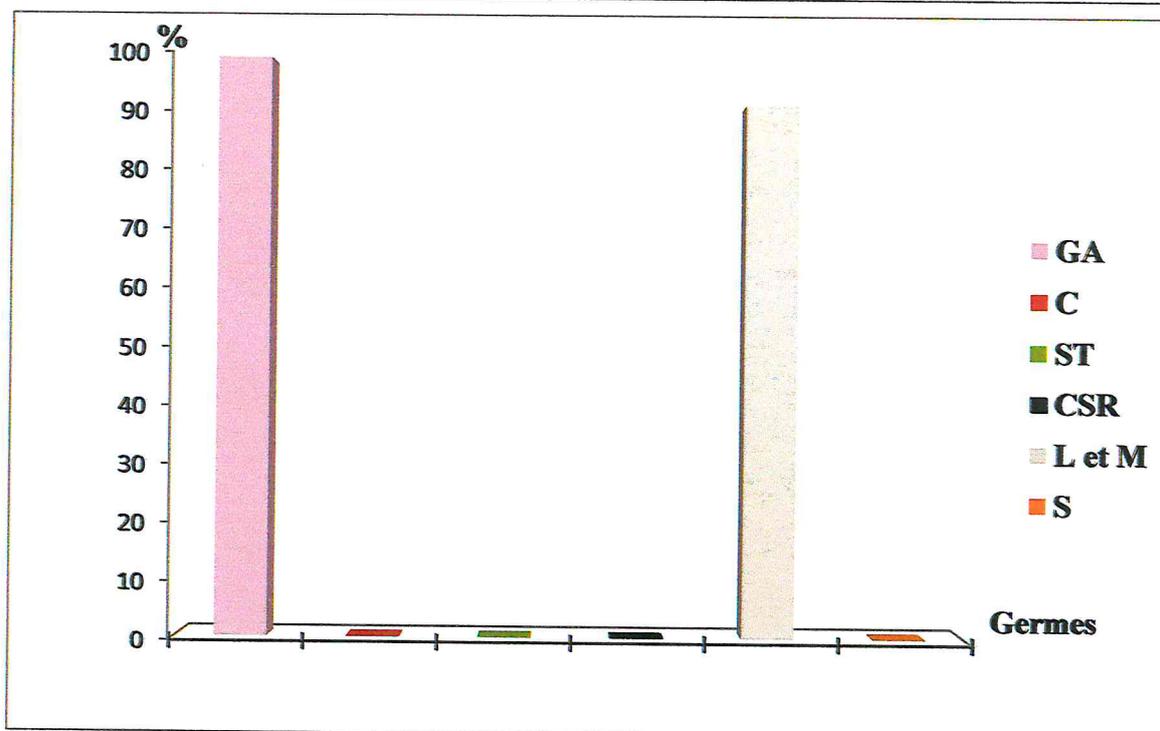
Le tableau n° VI résume le taux de contamination de la poudre de lait analysée par les différents micro-organismes.

Tableau n° VI : pourcentages des différents micro-organismes dans le lait en poudre entier instantané

Germes recherchés	N°	Echantillons positifs	Pourcentage (%)
Germes aérobies	100	100	100
Coliformes.		00	0
<i>Staphylococcus aureus</i>		00	0
Clostridium sulfito-réducteurs		00	0
Levures et moisissures		92	92
Salmonelle		00	0

Nos résultats montrent une prédominance de la flore aérobie (100 %). Il en est de même pour la flore fongique (92%). Cependant, tous les échantillons sont exempts de coliformes, de *staphylococcus aureus*, de clostridium sulfito réducteurs et de salmonelles.

La figure n° 11 illustre la répartition des différentes flores étudiées dans le lait en poudre entier instantané.



GA : Germes aérobies, C : Coliforme, ST : Staphylococcus aureus, CSR: Clostridium sulfito-réducteurs, L : Levures, M : Moisissures, S : Salmonella.

Figure n° 10 : taux de contamination du lait en poudre entier instantané par les germes

IV.2. Classement des échantillons analysés par rapport aux normes

Les résultats de l'analyse microbiologique de l'ensemble des échantillons de poudres ont été classés à partir des valeurs mentionnés dans J.O.R.A n° 035 (voir tableau n° VII).

Tableau n° VII : Normes du lait déshydraté conditionné (J.O.R.A 1998).

Germes recherchés	Normes
Germes aérobies à 30°C	5.10^4 germes/g
Coliformes	5 germes/g
Staphylococcus aureus	Absence
Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	Absence
Levures et moisissures	50 germes/g
Salmonella	Absence

Le tableau n° VIII laisse apparaître le classement des résultats d'analyse du lait déshydraté conditionné.

Tableau n° VIII: Classement des résultats d'analyse du lait déshydraté conditionné selon la norme (J.O.R.A 1998)

Germes recherches	Echantillons					
	< à la norme	%	La norme	%	> à la norme	%
Germes aérobies à 30°C	100	100 %	0	0%	0	0%
Coliformes	0	0%	0	0%	0	0%
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0%	0	0%	0	0%
Clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	0	0%	0	0%	0	%
Levures et moisissures	39	39%	12	12%	49	49%
Salmonella	0	0%	0	0%	0	0%

D'après le tableau ci- dessus, la répartition de germes pour le lait étudiée est la suivante:

- Germes aérobies à 30°C : 100 échantillons contaminés sont inférieurs à la norme, soit 100%.
- Levures et moisissures: 100 échantillons contaminés, répartis comme suit:
 - 39 % inférieur à la norme,
 - 12 % dans la norme,
 - 49 % supérieur à la norme.
- Coliformes et les germes pathogènes (salmonelles, anaérobies sulfito-réducteurs et *staphylococcus aureus*) sont absents.

Cette répartition est représentée dans la figure n° 12.

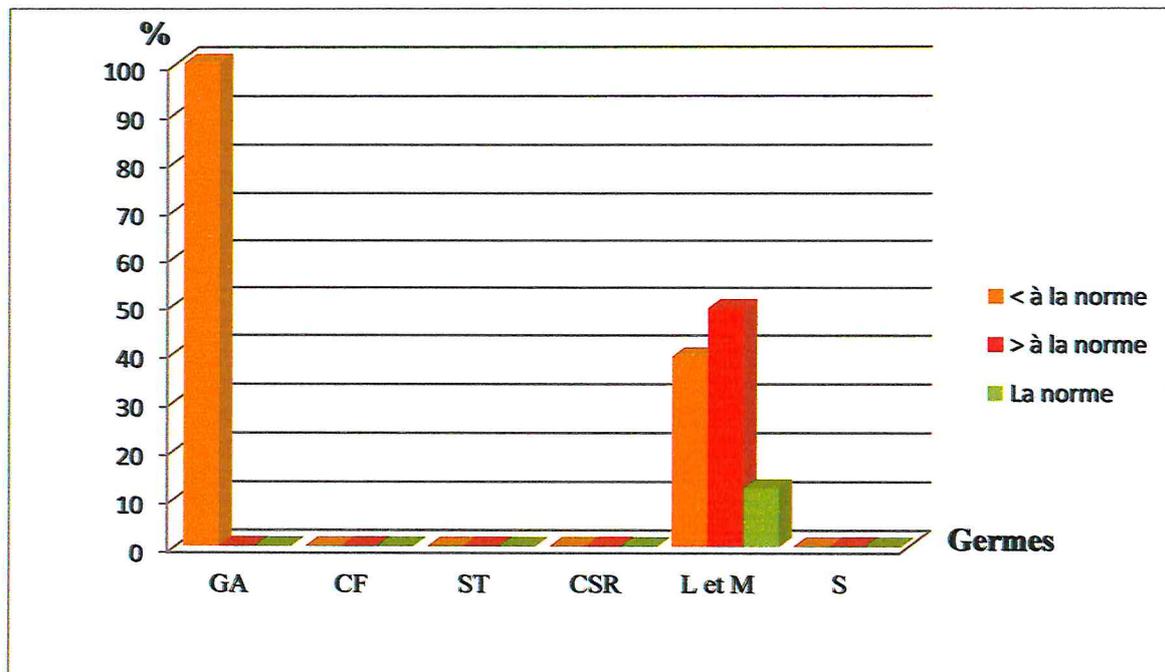


Figure n° 11: Répartition selon le nombre de germes par rapport à la norme

IV.3. Interprétation des analyses microbiologiques

Les tableaux de dénombrement de germes permettent de faire une meilleure interprétation de la qualité hygiénique de lait en poudre à partir des valeurs qui y sont consignées.

Cette interprétation se fera selon l'arrête interministériel du 27 Mai 1998 paru sur le journal officiel n° 35/98, ainsi en fonction des échantillons qui présentent des taux de contamination inférieurs à la norme (**m**), ceux-ci seront considérés satisfaisants, les échantillons non satisfaisants dans le cas où le nombre de germes est supérieur à (**M**), et les échantillons acceptable quand le nombre de germes est compris entre (**m et M**), (voir figure n° 13).

NB :

m : correspond à la norme fixée pour le germe (J.O.R.A).

M : c'est le seuil d'acceptabilité qui est calculé selon les milieux de culture de dénombrement :

- **30m** : correspond à la variabilité analytique lorsque nous utilisons un milieu solide pour la recherche ou le dénombrement du germe.
- **10m** : est appliqué lors d'utilisation d'un milieu liquide.

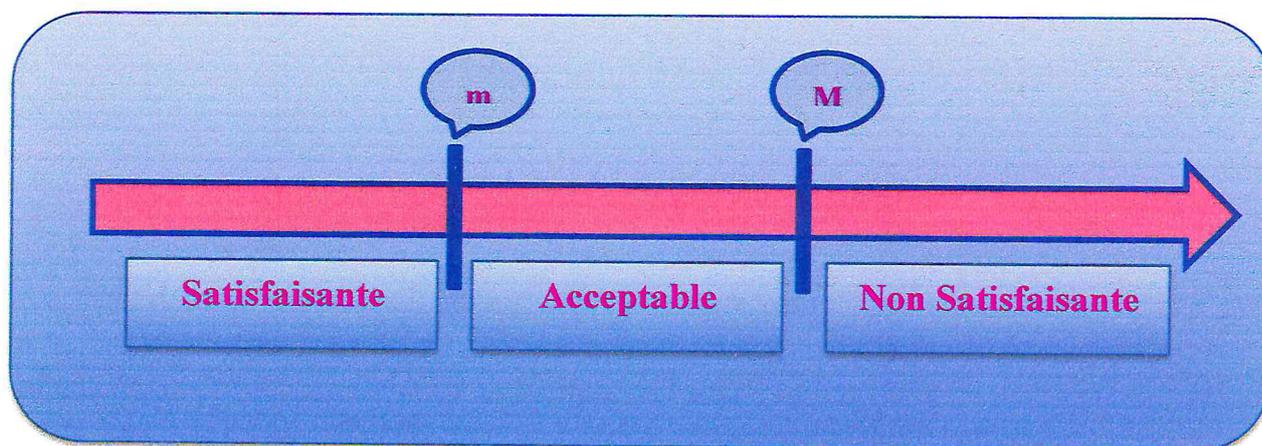


Figure n° 12: classification des échantillons selon 3 critères

Le tableau n° IX présente le classement des échantillons analysés selon la qualité microbiologique.

Tableau n° IX : interprétation de la qualité microbiologique du produit analysé

Paramètres Germes	Echantillons	Normes		Qualité microbiologique (%)		
		m germes/g	M germes/g	Satisfaisante	Acceptable	Non satisfaisante
Germes aérobies	100	5.10^4	5.10^5	39	61	0
Coliformes		5	50			
<i>Staphylococcus aureus</i>		Absence	0			
Clostridium sulfito- réducteurs		Absence	0			
Levures et moisissures		50	500			
Salmonella		Absence	0			

Selon ces résultats, nous avons constaté que 39% des échantillons analysés sont de qualité satisfaisante, 61% d'entre eux sont de qualité acceptable et aucun échantillon n'a été révélé de qualité non satisfaisante.

Les résultats sont illustrés dans la figure suivante.

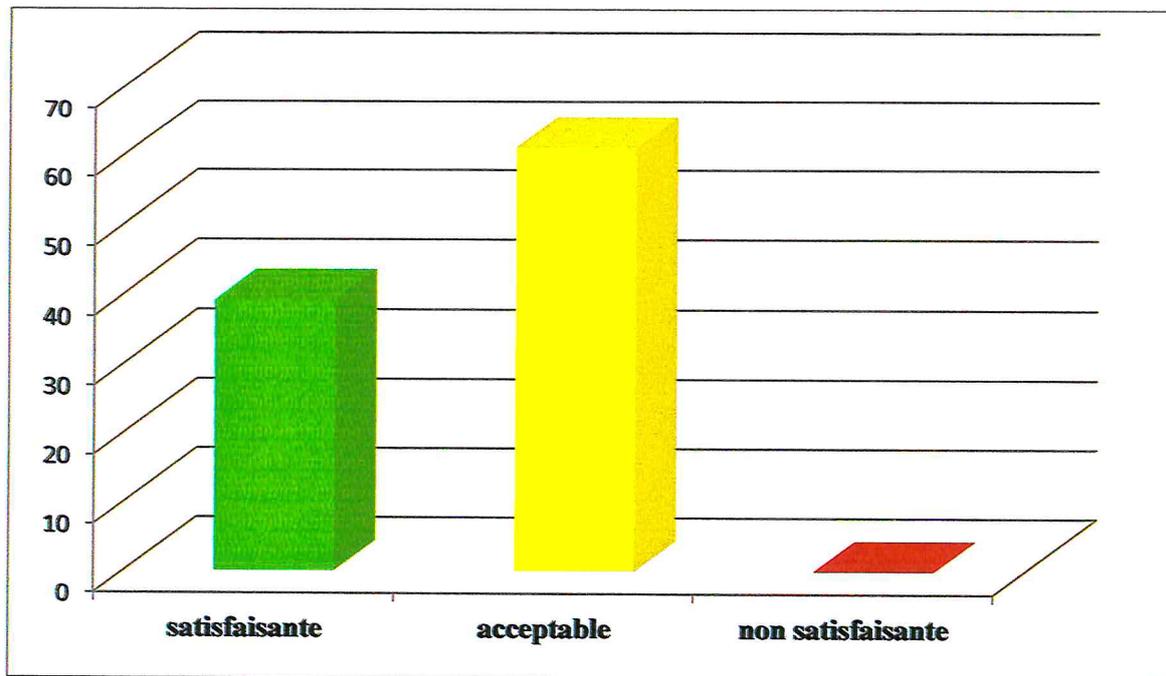


Figure n° 13 : classement du lait en poudre entier instantané selon la qualité microbiologique

V. Discussion

Les analyses ont porté sur 100 échantillons de lait en poudre entier instantané (LOYA), provenant de la Nouvelle Zélande. Globalement le lait en poudre est moins contaminé que les autres laits car il bénéficie d'une protection qu'il doit au traitement subi, à sa pauvreté en eau et à une manipulation réduite dont il fait l'objet.

V.1. La flore aérobie mésophile totale

Les résultats montrent que la contamination par la FAMT (La flore aérobie mésophile totale) est de 100 %. Cependant, tous les échantillons sont inférieurs à la norme. L'étude réalisée par MAMADOU au Sénégal [30] a révélé que 84% des échantillons étudiés étaient supérieurs à la norme.

Ces bactéries forment un ensemble de microorganismes aptes à se multiplier en aérobiose, aux températures moyennes. Il n'y a pas de corrélation directe entre une numération des bactéries aérobies mésophiles (NAM) élevée et la présence de microorganismes pathogènes dans le produit. La NAM indique une déficience sur le plan de l'application des bonnes pratiques de fabrication dans un établissement et non pas seulement un indicateur d'altération au sens strict. Indirectement, le non-contrôle de ces pratiques démontre que les produits issus de ces opérations peuvent entraîner un risque pour le consommateur [28].

En résumé, le test du dénombrement des bactéries aérobies mésophiles demeure la meilleure méthode d'appréciation de la qualité microbiologique générale des aliments, particulièrement dans le secteur de la consommation, afin de considérer l'ensemble des conditions subies par l'aliment lors du transport et de l'entreposage [28].

V.2. Les coliformes

Les coliformes, sont absents dans nos échantillons. Ces résultats sont semblables à ceux d'AMADOU [04] au Niger. Cependant MAMADOU [30] au Sénégal a rapporté une contamination du lait en poudre de 16%.

Les coliformes incluent, les genres suivants : *Escherichia*, *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*. Le groupe des coliformes renferme plusieurs espèces de bactéries qui fermentent le lactose. Habituellement, la présence de coliformes totaux dans les aliments indique un traitement thermique inefficace ou une contamination subséquente au traitement. Les coliformes ne sont généralement pas pathogènes [28]. Ils peuvent aussi démontrer un mauvais nettoyage et une mauvaise

désinfection d'appareils. Le niveau de contamination diffère selon le fabricant, le niveau de l'hygiène et la maîtrise des dangers inhérents aux manipulations.

V.3. *staphylococcus aureus*

Nos résultats sont semblables à ceux d'AMADOU [04] qui a rapporté une absence de *staphylococcus aureus* et sont plus satisfaisants à ceux rapporté par MAMADOU [30] qui sont de 7%.

Le *S. aureus* est à la fois un germe pathogène (peut sécréter une toxine) et un indicateur d'hygiène [14].

La contamination de cet aliment par une souche de *S. aureus* productrice d'entérotoxines a le plus souvent lieu au cours de la manipulation et au début de conditionnement de la poudre de lait par un porteur sain ou une personne infectée [28].

L'absence de *S. aureus* peut trouver sa justification dans un certain nombre de facteurs, à savoir la pasteurisation qui est une étape fondamentale dans la fabrication du lait en poudre et les manipulations réduites du produit [04].

V. 4. Clostridium sulfito-réducteurs

Nos échantillons ont présenté une absence de Clostridium sulfito-réducteurs. Ces résultats sont semblables à ceux d'AMADOU [04] au Niger qui a constaté une absence totale des clostridies dans le lait en poudre. Par contre MAMADOU [30] a trouvé une contamination de 5%.

Les clostridium sulfito-réducteurs sont un indicateur d'hygiène générale présomption de la présence de *Clostridium perfringens*. C'est une bactérie très répandue dans le sol et la poussière, à partir desquels elle est disséminée dans l'environnement, les spores de *Clostridium perfringens* résistent à la déshydratation et aux traitements thermiques modérés, tel que la cuisson et la pasteurisation [28]. Elle est rencontrée assez fréquemment dans le tube digestif des humains et de plusieurs animaux. Les aliments déshydratés constituent une source importante de cette bactérie, la teneur en eau dans le lait en poudre qui est de l'ordre de 5% justifie l'absence de cette flore.

V.5. La flore fongique

Nous constatons que 92% des échantillons sont contaminés par les levures et les moisissures, dont 49 % sont supérieurs à la norme. Nos résultats sont proches à ceux de MAMADOU [30] au Sénégal qui a trouvé que 42% des échantillons sont supérieurs à la norme.

Les levures et les moisissures sont largement répandues dans l'environnement. Certaines d'entre elles font partie de la flore normale de divers produits alimentaires. Elles se développent sur des substrats variés, habituellement peu favorables à la croissance bactérienne : aliments de pH acide, à faible teneur en eau, à haute teneur en sucre ou en sel. Il n'est pas rare de les retrouver sur l'équipement nettoyé de façon inadéquate ou comme contaminant dans l'air.

Lorsqu'elles prolifèrent dans les aliments et que leurs populations atteignent des niveaux excessifs, les levures et les moisissures peuvent occasionner la détérioration des produits (goût, texture et apparence) et entraîner des pertes économiques importantes.

Certaines espèces de moisissures synthétisent des métabolites toxiques dans certaines conditions, ce qui les rend potentiellement pathogènes pour l'homme.

Certaines spores de levures et de moisissures résistent à la chaleur, à la congélation, aux antibiotiques et à l'irradiation. Il s'avère essentiel de contrôler la qualité des produits alimentaires, de leur origine jusqu'au consommateur (récolte, entreposage, transport, transformation et/ou préparation). Le maintien des populations de moisissures à des niveaux acceptables permettra de réduire les risques d'intoxication [28].

Selon POUEME [04], l'origine de la contamination du lait en poudre par les levures et les moisissures se trouve dans l'utilisation fractionnée après ouverture du sac, alors que BONFOH [04] a lié la présence de cette flore à la durée du stockage du lait en poudre.

V.6. Salmonelles

Les salmonelles sont totalement absentes dans tous les échantillons analysés. Les nombreuses espèces de salmonelles diffèrent énormément entre elles quant à leur pouvoir pathogène. Bien que la plupart des espèces puissent se retrouver dans les aliments, les normes visent en général celles qui sont à l'origine de toxi-infections plutôt que celles qui sont à l'origine des maladies infectieuses graves (fièvres typhoïdes et paratyphoïdes) [22].

Les salmonelles sont dangereuses par leur simple présence [14]. La principale source est fécale et une contamination croisée.

L'absence des salmonelles dans le lait en poudre peut être due à une faible activité de l'eau et peut aussi être expliquée par la difficulté de sa mise en évidence car il n'existe pas de technique standard rapide [30].

La qualité microbiologique de cette étude reflète bien les bonnes conditions de production et de conservation de cette poudre de lait.

CONCLUSION

Le lait en poudre est un produit solide obtenu par élimination de l'eau du lait entier, du lait entièrement ou partiellement écrémé, de la crème ou d'un mélange de ces produits, et dont la teneur en eau n'excède pas 5 % en poids du produit fini.

L'évaluation de la qualité microbiologique du lait en poudre nous a permis d'obtenir les résultats suivants :

- La présence de la flore aérobie mésophile totale à 100% et les levures et les moisissures à 92%, cependant nos résultats sont conformes aux normes algériennes.
- Une absence totale des autres germes recherchés.

Les propriétés microbiologiques de la poudre de lait dépendent essentiellement de la qualité initiale du produit et de la nature des opérations technologiques. L'abaissement suffisant de l'activité de l'eau, inhibe la multiplication des microorganismes. Selon la technique de dessiccation choisie, une partie plus ou moins importante des cellules perd de sa vitalité, les seules qui persistent sont les sporulés aérobies.

Toutefois, s'il s'agit de produits stérilisés, les laits déshydratés ne sont pas des produits stériles. L'action bactéricide de l'atomisation est limitée tandis que les produits peuvent être recontaminés pendant et après traitement thermique. Des recontaminations sont possibles lors du conditionnement, susceptibles d'ajouter les levures et les moisissures : apportées par de l'air ou un accroissement accidentel d'humidité. En ce qui concerne les GAMT, vu leur nature à se développer facilement dans le milieu ordinaire et à des températures ambiantes, leur présence est alors inévitable, sauf ceux qui sont exigeants. Ceci explique leur détection quasi répétée lors des analyses effectuées.

Néanmoins l'enregistrement de leurs nombres banaux lors de ces analyses, indique une pratique suffisante du nettoyage et de la désinfection du matériel de production, et le respect des règles d'hygiène appliquées au sein de l'unité de production.

RECOMMANDATIONS

Pour prévenir la contamination du lait en poudre conditionné par les germes, nous recommandons les mesures suivantes:

- Au niveau de la commercialisation du lait en poudre, la fragmentation en petite unité doit être proscrite.
- Sensibilisation des agents de l'hygiène et d'assainissement.
- Renforcement des dispositifs hygiéniques en motivant le personnel par une gratification de la meilleure équipe.
- Coordination des opérations de contrôle.

Lorsque toutes ces recommandations seront considérées, le consommateur prendra se lait sans risque.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Adrian J, Legrand G, Frangne R**, (1981) « Dictionnaire de biochimie et de nutrition ». Technique et Documentation, p 125.
2. **Alais C, Linden G, Miclo I**, (2003) « Biochimie alimentaire », 5e édition. paris : dunod, 250 p.
3. **Alais C**, (1984) « science du lait : principes des techniques laitières », 4ème édition, paris : edition sepaic, 814p.
4. **Amadou M M**, (2010) « Évaluation de la qualité microbiologique de deux laits de consommation commercialises sur le marché de Niamey(Niger) : le yaourt et le lait en poudre », thèse : Med. Vet, 42 p.
5. **Anonyme** (2010), « Lait entier en poudre et lait écrémé poudre », Agro scope, www.agroscope.admin.ch.
6. **Arrêté interministériel du 13 Chaâbane 1419 correspondant au 2 décembre 1998** relatif aux spécifications techniques des laits en poudre et aux conditions et modalités de leur présentation.
7. **Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998** modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires, p 7.
8. **Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993** relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.
9. **Bourgeois C M, et Leveau J M** (1991), « Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires », Vol 3 : le contrôle microbiologique.-2ème éd, - Paris : Apria.- 454p.
10. **Crossley E L et Johnson W A** (1942), J.Dairy Res, p 13-5.
11. **Crossley E L** (1945), J. Dairy Res, p 14-191.
12. **Dupin H et AL** (1992), « Alimentation et nutrition humaine ». Paris : éditions SF éditeur, P 1533.
13. **Elyas Nour**, Les Centre national de l'informatique et des statistiques (Cnis) des Douanes Algériennes, « l'algerie-a-importe-plus-de-lait-en-2013 », [http://www.algerie.focus.com/blog/2013/07 / l'algerie-a-importe-plus-de-lait-en-2013-en-payant-moins](http://www.algerie.focus.com/blog/2013/07/l'algerie-a-importe-plus-de-lait-en-2013-en-payant-moins).
14. **Hubert B, Denis C** (2013), « Examen bactériologique des aliments, Autocontrôle par les professionnels », p 39.

15. **F.A.O** (1995), « Lait et produits dans la consommation humaine – lait de consommation ».
16. **Fédération internationale de laiterie** (1996), « Lait écrémé en poudre », Bruxelles.
17. **Filion M. M** (2006), « Amélioration de la stabilité thermique du lait par modulation du Potentiel d'oxydoréduction », Sciences et technologie des aliments, U. Laval, Québec, p159.
18. **Gillis G. C** (1996), « Les contraintes et besoins des transformateurs ». in : creal, quel(s) lait(s) pour demain ? paris, p 23-28.
19. **Guiraud J-P** (2003), « Microbiologie alimentaire », 2eme édition. Paris-Dunods, p 651.
20. **Roudant H** (2005), « alimentation théorique », France 303pages, science alimentaire série dirigée par gulyleyval, p 116-117.
21. **International Commission or Microbiological Specification for Foods (I.C.M.S.F)** (1980). « Microbial Ecology of foods »: Vol 2, Food Commodities- New York: Academic Press- p 997.
22. **Jean-Louis CUQ**, « microbiologie alimentaire, controle microbiologique des aliments », p 119.
23. **Jeantet R, Croguennec T, Schuck P, Brulé G** (2006), « Sciences des aliments. Stabilisation biologique et physicochimique ». Tec & Doc, Lavoisier, Paris, France, p 383.
24. **Kalab M, Peleg M and Bagley E.B** (1982), « Electron microscopy of foods, in Physical Properties of Foods », Eds, Westport, AVI Publishing Co, p 43-104.
25. **Kayser C** (1963). « Physiologie, Introduction historique. Fonctions de Nutrition ». Editions Médicales Flammarion, p 605-606.
26. **Kon S K** (1995), « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine », Rome : F.A.O- XXI-, p 271.
27. **Lide, D.R** (1998–1999). (dir.) « CRC Handbook of Chemistry and Physics », 79e edition, Boca Raton, Boston, Londre, New York, Washington (DC), CRC Press, , p. 6-7
28. **Lignes directrices et normes pour l'interprétation des résultats analytiques en microbiologie alimentaire**, (2009), Québec, p 59.
29. **Mahaut M., Romain G., Brule G. et Schuck P** (2000), « Les produits industriels laitiers ». Editions TEC & DOC. Lavoisier – Paris, p 168.
30. **Mamadou N** (1991), « Contribution à l'étude comparée de la qualité microbiologique des laits crus· laits caillés et laits en poudre, laits caillés commercialisés dans la region de Dakar », thèse : med, vet, Sénégal, p 138 .
31. **Mettler A E** (1989), « Pathogens in milk powders – have we learned the lessons? » Journal of Society of Dairy Technology, p 42- 55.
32. **Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture**, (1993), Rome, p 85-86.

33. **Organisation Internationale de Normalisation, Geneva; Fédération Internationale de Laiterie** (2007), « Lait et lait en poudre. Détermination de la teneur en aflatoxine M1. Purification par chromatographie immunoaffinité et détermination par chromatographie en phase liquide à haute performance », Brussels.
34. **Porcher ch** 1926, « Le lait desséché », deuxième édition.
35. **Prisca M. M** (2012), « Contribution à l'étude de la conformité du lait sec micro conditionné aux prescriptions règlementaires et normatives au Sénégal » .thèse : Med. Vet, Dakar.
36. **Schuck P** (1999), « Appréhension des mécanismes de transfert d'eau lors du séchage par atomisation de bases protéiques laitières et lors de leur réhydratation. Effet de l'environnement glucidique et minéral ». Thèse de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Rennes.
37. **Sckuck .P**, « Modification des propriétés fonctionnelles des produits de protéines laitières : impact de la concentration et du séchage, innovation agronomique », p 71-99.
38. **Toure O** (2001), « Contribution à l'étude de la qualité des laits secs micro-conditionnés commercialisés sur le marché Dakar », thèse : méd. Vet, p 14.
39. **Veisseyre R** (1975), « Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation », 3 ème éd, Paris : La Maison Rustique, p 714.
40. **Vignola C** (2002), « Sciences et technologie du lait : Transformation du lait. Montréal : presses internationales polytechnique », 600p.
41. **Wikipédia, Collection FAO** (1995), « Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine » -: Alimentation et nutrition n° 28, p 271.

ANNEXES

ANNEXE N° 01

Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

ARTICLE 1 : Le présent arrêté a pour objet de définir les spécifications de certains laits destinés à la consommation ainsi que les conditions et les modalités relatives à leur présentation et à leur étiquetage.

ARTICLE 2 : La dénomination " lait " est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale, obtenue par une ou plusieurs traites, sans aucune addition ni soustraction et n'ayant pas été soumis à un traitement thermique.

ARTICLE 3 : 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.

ARTICLE 4 : La dénomination " lait " sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache.

Tout lait provenant d'une femelle laitière, autre que la vache, doit être désigné par la dénomination " lait ", suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient.

ARTICLE 5 : Le lait destiné à la consommation ou à la fabrication d'un produit laitier, doit provenir de femelles laitières en parfait état sanitaire.

ARTICLE 6 : Le lait ne doit pas :

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

- coaguler à l'ébullition;
- provenir d'une traite incomplète;
- subir un écrémage même partiel.

En outre, le lait ne doit pas subir:

- de soustraction ou de substitution de ses composants nutritifs;
- de traitements, autres que le filtrage ou les procédés thermiques d'assainissement susceptibles de modifier la composition physique ou chimique, sauf lorsque ces traitements sont autorisés.

ARTICLE 7 : Les laits sont classés, en fonction du nombre de germes totaux, en trois (3) catégories:

- Catégorie A : moins de 100.000 germes totaux par millilitre;
- Catégorie B : de 100.000 à 500.000 germes totaux par millilitre;
- Catégorie C : plus de 500.000 à 2.000.000 de germes locaux totaux par millilitre.

ARTICLE 8 : Le lait doit répondre aux spécifications suivantes:

- germes totaux. : Maximum deux (02) millions;
- salmonelle : absence;
- stabilité à l'ébullition : stable;
- acidité en grammes d'acide lactique/litre: maximum 1,8;
- densité : 1030 - 1034;- matières grasses : 34 grammes par litre au minimum.

ARTICLE 9 : Le lait doit être conservé immédiatement après la traite à une température inférieure ou égale à six (06) degrés Celsius.

ARTICLE 10 : Le lait doit être mis à la disposition des entreprises laitières dans les conditions suivantes:

- le délai entre la traite et la délivrance du lait aux entreprises laitières, est fixé à quarante-huit (48) heures au maximum.

- le délai entre la traite et le premier traitement thermique est fixé à soixante-douze (72) heures au maximum.

Fait à Alger, le 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993.

Le ministre P. le ministre de l'économie de l'agriculture Le ministre délégué au commerce
Mohamed Elyes MESLI Mustapha MOKRAOUI

Le ministre de la santé et de la population

Seghir BABES

ANNEXE N° 02

Arrêté interministériel du 13 Chaâbane 1419 correspondant au 2 décembre 1998 relatif aux spécifications techniques des laits en poudre et aux conditions et modalités de leur présentation.

ARTICLE 1

En application des dispositions de l'article 1er du décret exécutif n°92-65 du 12 février 1992 susvisé, le présent arrêté a pour objet de définir les spécifications techniques des laits en poudre destinés à la consommation humaine et de déterminer les conditions et les modalités de leur présentation. Sont exclus du champ d'application du présent arrêté, les laits en poudre destinés à une alimentation particulière ou à la transformation industrielle.

ARTICLE 2

Au sens du présent arrêté, on entend par lait en poudre ou lait desydraté ou lait sec, le produit solide obtenu directement par élimination de l'eau du lait, tel que défini dans l'arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 susvisé.

ARTICLE 3

Le lait en poudre se présente sous l'aspect d'une poudre de couleur blanche ou légèrement crème, homogène en contenant pas d'impuretés, de grumeaux ni de parcelles colorées. Il est franc d'odeur et de saveur.

ARTICLE 4

La dénomination « lait entier en poudre » ou « poudre de lait entier » correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières est égale au minimum à 26% en poids.

ARTICLE 5

La dénomination « lait partiellement écrémé en poudre » ou « poudre de lait partiellement écrémée », correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières est supérieure à 1,5% et inférieure à 26% en poids.

ARTICLE 6

La dénomination « lait écrémé en poudre » ou « poudre de lait écrémée », correspond à un lait dont la teneur en matières grasses laitières ne doit pas excéder 1,5% en poids.

ARTICLE 7

Les laits en poudre contiennent en poids, au minimum trente-quatre (34) grammes de protéines de lait dans cent (100) grammes de matière sèche dégraissée.

Ils contiennent également, en poids, au maximum huit (8) grammes de sels minéraux dans cent (100) grammes de produit.

ARTICLE 8

Les taux d'humidité et d'acidité des laits visés ci-dessus, au moment de l'ouverture de l'emballage sont fixés comme suit :

HUMIDITE ! ACIDITE

-----!
Lait entier en poudre : Maximum 3% ! de 0,11% à 0,15%

-----!
Lait partiellement écrémé en !de 0,11% à 0,15% poudre : Maximum 4% !

-----!
Lait écrémé en poudre : Maximum 4% !Maximum 0,11%

ARTICLE 9

Des vitamines et/ou des additifs peuvent être incorporés aux laits en poudre dans les conditions autorisées par la réglementation en vigueur.

ARTICLE 10

Les laits en poudre destinés au consommateur final, sont conditionnés dans des emballages ou des récipients étanches de cent-vingt-cinq (125) grammes, deux cent

cinquante (250) grammes cinq cents (500) grammes, un (1) kilogramme, deux (2) kilogrammes, dix (10) kilogrammes, fermés et d'une solidité suffisante.

ARTICLE 11

Outre les dispositions prévues par le décret exécutif n°90-367 du 10 novembre 1990 susvisé, l'étiquetage des laits en poudre préemballés pour la vente au détail comporte les mentions suivantes :

1.- la dénomination de vente « lait » doit être complétée selon le cas par :

- en poudre sec ou déshydraté;
- entier, partiellement écrémé ou écrémé.

2.- l'indication de l'espèce animale ou des espèces animales dont le lait provient dès lors qu'il ne s'agit pas de lait de vache;

3.- le pourcentage de matières grasses laitières, exprimé en poids par rapport au produit;

4.- le pourcentage de protéines laitières, exprimé en poids de protéines par rapport à cent

(100) grammes de matière sèche dégraissée;

5.- la liste des additifs utilisés;

6.- le nom ou la raison sociale et l'adresse du fabricant et, le cas échéant, le numéro d'identification officiel de l'usine;

7.- le numéro du lot de production;

8.- la mention « ne donner aux nourrissons que sur avis médical » pour les laits écrémés et partiellement écrémés.

L'emballage extérieur des laits en poudre doit porter une bande horizontale continue, d'un (1) centimètre de largeur, s'étendant sur tout le pourtour et située à un (1) centimètre à partir de la base supérieure de l'emballage.

Cette bande, imprimée directement sur l'emballage, doit être nettement visible et sera de couleur :

- bleue pour le lait en poudre entier;
- jaune pour le lait en poudre partiellement écrémé;
- rouge pour le lait en poudre écrémé.

Aucune mention ne peut être inscrite sur la bande horizontale.

ARTICLE 12

L'entrée en vigueur des dispositions du présent arrêté est fixée à trois (3) mois à compter de la date de sa publication au Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

ARTICLE 13

Les dispositions de l'arrêté interministériel du 24 Moharram 1418 correspondant au 31 mai 1997 susvisé sont abrogées.

ARTICLE 14

Le présent arrêté sera publié au Journal officiel de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 13 Chaâbane 1419 correspondant au 2 décembre 1998.

Le ministre du commerce, Le ministre de l'agriculture et de la pêche,

Bakhti BELAIB Benalia BELAHOUADJEB

Le ministre de la santé et de la population,

Yahia GUIDOUM

ANNEXE N° 03

Matériels non biologique :

- Autoclave.
- Bain marie.
- Balance à précision analytique.
- Bec bunsen.
- Etuves à différente température (25, 37, 44° C).
- Portoirs.
- Spatule.
- Hôte.
- Distillateur.
- Flacons de 250 ml, 1000 ml.
- Pipettes graduées.
- Pipettes pasteur.
- Tubes à essai.
- Boîtes de pétri.

II. TABLE DE MAC GRADY

Nombre caractéristique	Nombre de microorganismes
000	0,00
001	0,03
010	0,03
011	0,61
020	0,62
030	0,94
100	0,36
101	0,72
102	1,10
110	0,74
111	1,10
120	1,10
121	1,50
130	1,60
200	0,92
201	1,40
202	2,00
210	1,50
211	2,00
212	2,70
220	2,10
221	2,80
222	3,50
223	4,00
230	2,90
231	3,60
332	4,00

300	2,30
301	3,80
310	4,30
311	7,50
312	12,0
313	16,0
320	9,30
321	15,0
322	21,0
323	29,0
330	24,0
331	46,0
332	110,0
333	140,0

ANNEXE N°04

MILIEUX DE CULTURE :

La composition est indiquée en grammes par litre d'eau distillée.

Milieux de culture liquides :**Giolitti Cantoni (GC) :**

C'est un milieu d'enrichissement sélectif pour la recherche de *staphylococcus aureus*.

Tryptone.....	10,0 g.
Extrait de viande	5,0 g.
Extrait de levure	5,0 g.
Glycine	1,2 g.
Mannitol	20,0 g.
Pyruvate de sodium	3,0 g.
Chlorure de sodium.....	5,0 g.
Chlorure de lithium.....	5,0 g.
Tween 80	1,0 g.
Eau distillée.....	1000 ml.

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25° C : 6,9 ± 0,2.

Bouillon au sélénite de sodium cystéine (SFB) :

C'est un milieu au sélénite acide de sodium + cystine, utilisé pour la recherche et l'enrichissement sélectif des salmonelles.

Tryptone	5 g.
Peptone	5 g.
Phosphate disodique	4 g.
Mannitol	4 g.
L- cystine	0.2 .

pH = 7.6 ± 0,2.

Milieux de cultures solides :**Gélose Plate Count Agar (PCA) :**

Elle est utilisée pour le dénombrement des germes totaux dans le lait en poudre.

Peptone.....	5.5 g.
extrait de levure.....	2.5 g.
glucose.....	1.0 g.
Agar.....	15.0 g.
Eau distillée.....	1000 ml.

pH = 7

Gélose viande-foie (VF) :

C'est un milieu complet utilisé pour le dénombrement des spores de *Clostridium sulfitoreducteurs* dans les produit laitiers.

base viande foie	30,0 g.
glucose	2,0 g.
agar	6,0 g.
Eau distillée.....	1000 ml.

pH = 7,6 ±0.2

Gélose de Sabouraud :

C'est un milieu solide utilisé pour l'isolement, l'identification et la culture des levures et des moisissures.

Peptone.....	10 g.
Glucose massé.....	20 g.
Agar-agar.....	15 g.
Eau distillée	1000 ml .

Vitamines et facteurs de croissance.

pH = 6,0

Gélose Deoxycholate :

Cette gélose est utilisée pour le dénombrement des Coliformes. Elle inhibe la croissance des bactéries Gram positif.

Peptone (mélange spécial).....	10,0 g
Lactose.....	5,0 g
Saccharose.....	5,0 g
Citrate de sodium.....	10,5 g
Désoxycholate de Sodium.....	2,5 g
Rouge neutre.....	0,03 g
Thiosulfate de sodium.....	5,0 g
Agar.....	12,0 g
pH = 7,3	

Gélose Hektoen :

Milieu sélectif pour l'isolement des salmonelles.

protéose-peptone:.....	12,0 g
extrait de levure : facteur de croissance.....	3,0 g
lactose : critère de différenciation.....	12,0 g
saccharose : critère de différenciation.....	12,0 g
salicine : critère de différenciation.....	2,0 g
citrate de fer III et d'ammonium révélateur d'H ₂ S.....	1,5 g
sels biliaires : inhibiteur.....	9,0 g
fuchsine acide : inhibiteur.....	0,1 g
bleu de bromothymol : indicateur de pH.....	0,065 g
chlorure de sodium : maintien de la pression osmotique.....	5,0 g
thiosulfate de sodium : précurseur d'H ₂ S.....	5,0 g
agar.....	14,0 g
pH = 7,6	

Gélose Chapman :

C'est un milieu utilisé pour l'isolement de *Staphylococcus aureus*.

Peptone	10g.
Extrait de viande	3g.
Rouge de phénol.....	0.05g.
Chlorure de sodium.....	70g.
Mannitol	10g.
Agar	18g.
Eau distillée.....	1000 ml.
Extrait de levure	3g.
Tryptophane	5g.

pH = 7.4

Solution :**Eau physiologique :**

C'est une solution isotonique qui contient une quantité de solutés dissous égale à celle du cytoplasme du germe, donc elle permet de préserver le volume cellulaire.

Dissoudre 9 g de chlorure de sodium Na Cl dans 1000 ml d'eau distillée.

Autoclavage à 120° C pendant 20 minutes.

Réactif utilisés :

Alcool.

Eau distillée.

Additif :

Alun de fer

Tellurite de potassium.

sélénite de sodium.

ANNEXE N° 05

Arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24
janvier 1998 modifiant et complétant l'arrêté du 14 Safar 1415
correspondant au 23 juillet 1994 relatif aux spécifications
microbiologiques de certaines denrées alimentaires
..... p. 7

TABLEAU I
CRITERES MICROBIOLOGIQUES DES LAITS ET DES PRODUITS LAITIERS

PRODUITS	I	n	I	c	I	m
1. Laits cru:	I		I		I	
- germes aérobies à 30°C	I	1	I	-	I	10e5
- Coliformes fécaux	I	1	I	-	I	10e3
- Streptocoques fécaux	I	1	I	-	I	abs/0,1 ml
- Staphylococcus aureus	I	1	I	-	I	absence
- clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	I	1	I	-	I	50
- antibiotiques	I	1	I	-	I	absence
2. Lait pasteurisé conditionné:	I		I		I	
- germes aérobies à 30°C	I	1	I	-	I	3.10e4
- coliformes:	I		I		I	
* sortie usine	I	1	I	-	I	1
* à la vente	I	1	I	-	I	10
- coliformes fécaux	I		I		I	
* sortie usine	I	1	I	-	I	absence
* à la vente	I	1	I	-	I	absence
- Staphylococcus aureus	I	1	I	-	I	1
- phosphatase	I	1	I	-	I	négatif
3. Lait stérilisé et lait stérilisé UHT (nature et aromatisé):	I		I		I	
- germes aérobies à 30°C	I	5	I	2	I	< 10/0,1 ml
- test de stabilité	I	5	I	0	I	négatif
- test alcool	I	5	I	0	I	négatif
- test chaleur	I	5	I	0	I	négatif
4. Lait concentré non sucré:	I		I		I	
- test de stabilité	I	5	I	0	I	négatif
- test alcool	I	5	I	0	I	négatif
- test chaleur	I	5	I	0	I	négatif
5. Lait concentré sucré:	I		I		I	
- germes aérobies à 30°C	I	5	I	2	I	10e4
- coliformes	I	5	I	0	I	absence
- Staphylococcus aureus	I	5	I	0	I	absence
- clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	I	5	I	0	I	absence
- levures et moisissures	I	5	I	0	I	absence
- Salmonella	I	5	I	0	I	absence
6. Lait déshydraté conditionné (1):	I		I		I	
- germes aérobies à 30°C	I	5	I	2	I	5.10e4
- coliformes	I	5	I	2	I	5
- Staphylococcus aureus	I	5	I	0	I	absence
- clostridium sulfito-réducteurs à 46°C	I	5	I	0	I	absence
- levures et moisissures	I	5	I	2	I	50
- Salmonella	I	5	I	0	I	absence
- antibiotiques	I	1	I	0	I	absence

ANNEXE N° 06

Dénombrement de germes dans le lait en poudre entier instantané

Tableau n° I : dénombrement de germes dans le lait en poudre entier instantané

Germes Echantillons	Aérobies germes /ml 30°C	Coliformes /ml 30°C	Staphylo- coccus aureus 37°C	Anaérobies sr /ml 46°C	Salmonella/ 25g 37°C	Levures /ml 20°-25°C	Moisissures /ml 20-25°C
1	170	Absence	Absence	Absence	Absence	70	Absence
2	190	Absence	Absence	Absence	Absence	40	Absence
3	150	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
4	100	Absence	Absence	Absence	Absence	90	Absence
5	120	Absence	Absence	Absence	Absence	40	Absence
6	150	Absence	Absence	Absence	Absence	70	Absence
7	200	Absence	Absence	Absence	Absence	40	Absence
8	150	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
9	120	Absence	Absence	Absence	Absence	90	Absence
10	120	Absence	Absence	Absence	Absence	40	Absence
11	200	Absence	Absence	Absence	Absence	50	20
12	190	Absence	Absence	Absence	Absence	40	20
13	180	Absence	Absence	Absence	Absence	60	10
14	150	Absence	Absence	Absence	Absence	50	20
15	200	Absence	Absence	Absence	Absence	40	10
16	250	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
17	230	Absence	Absence	Absence	Absence	90	Absence
18	200	Absence	Absence	Absence	Absence	60	40
19	150	Absence	Absence	Absence	Absence	50	10
20	170	Absence	Absence	Absence	Absence	70	Absence
21	120	Absence	Absence	Absence	Absence	90	10
22	150	Absence	Absence	Absence	Absence	50	20
23	200	Absence	Absence	Absence	Absence	60	Absence
24	100	Absence	Absence	Absence	Absence	80	Absence

25	140	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
26	230	Absence	Absence	Absence	Absence	100	20
27	100	Absence	Absence	Absence	Absence	90	20
28	200	Absence	Absence	Absence	Absence	60	40
29	170	Absence	Absence	Absence	Absence	40	10
30	170	Absence	Absence	Absence	Absence	70	Absence
31	90	Absence	Absence	Absence	Absence	60	10
32	150	Absence	Absence	Absence	Absence	60	10
33	180	Absence	Absence	Absence	Absence	80	20
34	120	Absence	Absence	Absence	Absence	40	Absence
35	100	Absence	Absence	Absence	Absence	90	10
36	120	Absence	Absence	Absence	Absence	90	10
37	150	Absence	Absence	Absence	Absence	50	20
38	200	Absence	Absence	Absence	Absence	60	Absence
39	100	Absence	Absence	Absence	Absence	80	Absence
40	140	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
41	100	Absence	Absence	Absence	Absence	90	20
42	120	Absence	Absence	Absence	Absence	60	10
43	150	Absence	Absence	Absence	Absence	80	20
44	180	Absence	Absence	Absence	Absence	90	10
45	190	Absence	Absence	Absence	Absence	50	10
46	150	Absence	Absence	Absence	Absence	80	10
47	150	Absence	Absence	Absence	Absence	80	Absence
48	100	Absence	Absence	Absence	Absence	60	Absence
49	180	Absence	Absence	Absence	Absence	100	Absence
50	200	Absence	Absence	Absence	Absence	70	Absence
51	310	Absence	Absence	Absence	Absence	70	10
52	200	Absence	Absence	Absence	Absence	80	Absence
53	250	Absence	Absence	Absence	Absence	30	Absence
54	170	Absence	Absence	Absence	Absence	40	Absence
55	170	Absence	Absence	Absence	Absence	40	Absence
56	30	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
57	40	Absence	Absence	Absence	Absence	20	Absence

58	40	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
59	30	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
60	50	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
61	30	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
62	40	Absence	Absence	Absence	Absence	20	Absence
63	40	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
64	30	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
65	50	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
66	120	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
67	200	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
68	150	Absence	Absence	Absence	Absence	50	30
69	100	Absence	Absence	Absence	Absence	40	10
70	90	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
71	190	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
72	150	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
73	170	Absence	Absence	Absence	Absence	50	30
74	180	Absence	Absence	Absence	Absence	10	10
75	100	Absence	Absence	Absence	Absence	10	20
76	200	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
77	100	Absence	Absence	Absence	Absence	10	10
78	120	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
79	140	Absence	Absence	Absence	Absence	10	10
80	100	Absence	Absence	Absence	Absence	10	20
81	210	Absence	Absence	Absence	Absence	70	Absence
82	100	Absence	Absence	Absence	Absence	50	10
83	190	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
84	150	Absence	Absence	Absence	Absence	20	10
85	100	Absence	Absence	Absence	Absence	20	20
86	90	Absence	Absence	Absence	Absence	60	Absence
87	100	Absence	Absence	Absence	Absence	50	10
88	120	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
89	150	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
90	100	Absence	Absence	Absence	Absence	20	20

91	40	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence	Absence
92	50	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
93	20	Absence	Absence	Absence	Absence	50	30
94	70	Absence	Absence	Absence	Absence	40	10
95	30	Absence	Absence	Absence	Absence	10	Absence
96	190	Absence	Absence	Absence	Absence	60	Absence
97	100	Absence	Absence	Absence	Absence	10	10
98	150	Absence	Absence	Absence	Absence	50	Absence
99	150	Absence	Absence	Absence	Absence	20	Absence
100	100	Absence	Absence	Absence	Absence	20	20