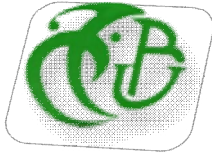


République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Saad DAHLAB-BLIDA
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques



Département de Biologie
Mémoire de Fin d'Etude en vue de l'Obtention
du Diplôme master II



En Biologie

Option : microbiologie et toxicologie alimentaire

Thème :

*Contribution a l'étude
physicochimique et
microbiologique d'un yaourt
« light » conservé a 4c° au sein
de l'unitéTrefle .*

Présenté par :

M^{elle} BENHALIMA SOUMIA

Soutenu publiquement le:

Devant les membres du jury :

- Mme ZATRA .y	MAA	USDB	Présidente
-Mme ZERKAOUI.A	MAA	USDB	Examinatrice
-Mme KEBBAS.S	MAA	USDB	Examinatrice
-Mme BENMENSOUR .N	MAA	USDB	promotrice

Promotion: 2012-2013

Sommaire :

Introduction.....	1
-------------------	---

La Partie I :Etudebibliographique

Chapitre I :

1.Yaourt light

1.1 .Historique	2
1.2 .Dèfinition.....	2
1.3. Composition	2
1.3.1 Lait	2
1.3.2 Ferment lactique.....	3
1.3.3 Arome.....	6
1.3.4 Edulcorans.....	7
1.4 Technologie de fabrication du yaourt light	9

2.Contribution de qualité

2.1 .Dèfinition	10
2.2 .Composition.....	10
2.3 .Objectifs.....	10
2.4 .But	11
2.5 . Assurance et maitrise de la qualité.....	11
2.6 .Axe de la sècuritè alimentaire	11

La Partie II :Etudeexpèrimentale

pitre II : Matèriel et mètode

1.1 Matèriel.....	13
1.2 Mètodes.....	13
1.2.1 Echantillonnage et prèlèvement.....	13
1.2.2 Analyses physico-chimique	14
1.2.1.1 L'eau de process.....	15
1.2.1.2 Poudre du lait	19
1.2.1.3 Produit fini.....	21
1.2.3. Mètode Analyse microbiologique.....	23
1.2.3.1 L'eau de processe.....	24
1.2.3.2 Poudèr du lait.....	27
1.2.3.3 Produit fini	32
1.2.3.4 Dènombrement des ferment lactique	35

Remerciements

*Tout d'abord nous remercions **DIEU** le tout puissant de nous avoir donné le courage, le pouvoir et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Je tiens à exprimer ma sincère gratitude et ma profonde reconnaissance à ma promotrice **M^{me} BENMENSOUR.N** pour ses conseils et sa patience tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

Je remercie vivement les membres du jury qui nous s honoré de leur présence :

De nous faire l'honneur de juger ce travail autant qu'examineurs.

*Je tien aussi à adresser notre sympathie et notre reconnaissance à **Mr Djamel "3ami Djamel"** laborantin dans laboratoire d'hygiène pour son aide et sa gentillesse.*

Mr BRIKI Wahid** de nous avoir autorisé à suivre notre travail au sein du laboratoire de l'unité Trèfle ainsi que **M^{me} Karima,

***M^{me} abd elazize et Mr amine yaiche achour** laborantins et laborantines de l'unité pour leurs disponibilité et leurs orientation.*

Enfin, nous voulons témoigner notre gratitude à toute personne ayant collaboré de près ou de loin à la réalisation de notre travail.



Dédicace

Avec une immense joie, je dédie ce modeste travail à ceux que

J'aime et qui sont chers à mon cœur :

*A mes chers parents qui m'ont toujours éclairé mon chemin et que dieu
me les gardes :*

*Mon cher père pour son encouragement, et surtout sa patience, son aide
continuel le long de mon chemin d'étude .*

*Ma chère mère pour son affection , ses conseils sévères, sa tendresse, ses
encouragements éternels et sans elle rien n'aurait été possible.*

A ma très chère sœur : meriemnihel

A mon chers frères : smail

A mes sœur

Mes chers grands parents.

*A tous mes oncles et mes tantes paternels et maternels et surtout
"KhaltoFatiha".*

A toutes les familles :BENHALIMA, MEZROUH.

A mes nouvelles cousins et mes cousines :

*A mes copines NAWEL et Mouhamed.D et aussi yacine qui ont toujours
présenté l'image des vrais amis pour leur respect, pour leur soutiens
moraux et je remercie pour mes belles souvenirs avec elles.*

*Enfin , je souhaite tout particulièrement adresser mes chaleureux
encouragements à toutes celles et à tous ceux qui m'ont aidé de près
ou de loin.*

Soumia

Liste des figures

Figure 1: Action synergique des ferments lactiques du yaourt (Romain et al., 2007).....	06
Figure 2 : Diagramme de la fabrication du yaourt étuvé Light de la marque « Trèfle ».....	09
Figure 3 : Variation du pH du produit fini avant et après la DLC.....	43
Figure 4: Variation de l'acidité titrable du yaourt au cours du stockage.....	44
Figure 5 : Variation de la matière grasse au cours du stockage.....	45
Figure 6: Variation de la matière sèche au cours du stockage.....	46
Figure 7 : L'évolution des <i>stréptococcus thermophilus</i> et <i>Lactobacillus bulgaricus</i> au cours du stockage.....	52

Listes des tableaux

Tableau I: Composition moyenne du lait entier.....	03
Tableau II : Les paramètres déterminés en analyses physicochimiques.....	14
Tableau III: Les germes recherchés dans les différents échantillons.....	23
Tableau IV : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process.....	37
Tableau V: Résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lait 26%MG.....	40
Tableau VI: Résultats des analyses physicochimique du produit fini.....	41
Tableau VII: Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process.....	47
Tableau VIII : Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait 26%MG.....	48
Tableau IX : Résultats des analyses microbiologiques du yaourt Light au moment de sa fabrication et pendant la conservation à 4°C.....	50
Tableau X : Résultats des analyses microbiologiques du yaourt Light au cours de stockage.....	51

Résumé

La présente étude a porté d'une part sur la contribution de la qualité de la matière première (eau de process, poudre de lait) et du produit fini (yaourt light), et d'autre part sur le suivi de la stabilité microbiologique et physico-chimique du produit fini, à une température de (4°C) jusqu'à la date limite de consommation pendant deux (02) semaines .

Les résultats des analyses de contrôle de la matière première, ont montrées une absence totale des germes recherchés, ainsi qu'une conformité aux normes et ceci pour l'ensemble des paramètres physico-chimiques analysés.

Le suivi de la stabilité microbiologique au cours du stockage et au delà de deux semaines de la date limite de consommation du yaourt a montré l'absence totale des germes recherchés. Les résultats physico-chimiques ont montré une légère augmentation de l'acidité titrable, de légères diminutions de l'extrait sec et du pH, avec un taux de MG stable et égale à 3,6%.

L'ensemble des résultats obtenus nous permettent de dire que la matière première et le produit fini sont de bonne qualité microbiologique et physicochimique, et que le produit fini est stable durant sont stockage à 4°C, et même après deux (02) semaines de sa date limite de consommation.

Mots clés : yaourt light, qualité microbiologique, qualité physicochimique, conservation à 4°C, date limite de conservation.

Summary

The present study focused in part on the quality control of the raw material (process water, milk powder) and finished products (light yogurt), and on the other hand, followed by microbiological and physicochemical stability of the finished product, at a temperature of (4 °C) until the use by date and after two (02) weeks of it.

The results of control analyzes of the raw material, have shown a total lack germ sought, as well as compliance with the standards for all analyzed physico-chemical parameters.

On the other hand, monitoring the microbiological stability during storage and after two weeks beyond the deadline of yogurt consumption has shown a total lack germ sought. Physico-chemical results showed a slight increase in titratable acidity, a slight decrease in the dry and a slight decrease in pH with a rate constant equal to 3.6MG% but still within the range of standards and this during the six (06) weeks of its conservation. This allows us to say that the raw material and the finished product have a good microbiological and physicochemical quality and that the finished product is stable during storage at 4° C, and even after two (02) weeks of its use-by date.

Keywords: light yogurt, microbiological, physicochemical quality, conservation at 4 °C.

ملخص

هذه الدراسة تركز في جزء منها على مراقبة جودة المواد الخام (مياه العمليات، ومسحوق الحليب) ومنتجات تامة الصنع (يغورت خفيف)، وعلى الجانب الآخر تليها الاستقرار الميكروبيولوجي والفيزيائي للمنتج النهائي عند درجة حرارة 4 °C حتى نهاية مدة الصلاحية وبعد أسبوعين (02) منها. نتائج تحليلات مراقبة المواد الخام أظهرت الغياب التام للجراثيم المبحوث عنها، وكذلك الامتثال للمعايير لجميع المعلمات الفيزيائية والكيميائية التي تم تحليلها. من ناحية أخرى، متابعة الاستقرار الميكروبيولوجي أثناء التخزين وبعد أسبوعين من الموعد النهائي للاستهلاك أظهرت الغياب التام للجراثيم المبحوث عنها. النتائج الفيزيائية أظهرت زيادة طفيفة في الحموضة، انخفاض طفيفا في البقايا الجافة وانخفاض طفيف في درجة الحموضة مع تساوي معدل ثابت لـ 3,6% MG لكن ضمن نطاق المعايير وذلك خلال الأسابيع (06) ستة من حفظه. وهذا يسمح لنا أن نقول أن المواد الخام والمنتج النهائي هو من نوعية ميكروبيولوجية وفيزيائية جيدة وأن المنتج النهائي مستقر أثناء التخزين في 4 °C، وحتى أسبوعين (02) من نهاية مدة الصلاحية .

كلمات البحث: يغورت خفيف ، الجودة الفيزيائية والميكروبيولوجية، حفظ في 4 °C.

Introduction

Le lait fermenté semble le plus demandé car sa consommation est très répandue dans le monde, parmi les laits fermentés le yaourt, préparé à base de lait qui subit des transformations grâce à l'emploi des microorganismes particuliers ayant des propriétés de faire coaguler les protéines du lait (caséine) et qui apporte de nombreux éléments indispensables à l'organisme : calcium, vitamines et protéines d'excellente qualité, riches en acides aminés (**Schlienger, 2011**)

La dynamique actuelle du marché des denrées alimentaires oblige les industriels à formuler constamment de nouveaux produits. Tel que le yaourt, l'intérêt récent des consommateurs pour des produits allégés en sucre conduit à l'utilisation d'ingrédients tels que les édulcorants, ces produits ont été développés particulièrement pour des personnes diabétiques ou qui ont une restriction médicale différente, y compris l'obésité. Ils n'ont pas été connus par une grande variété ou par une saveur. Mais aujourd'hui, ces produits sont largement disponibles, avec une grande amélioration sur la saveur et les prix concurrentiels en rivalisant avec les produits traditionnels (**Nabors et Lemieux, 1993**).

Le yaourt, est un aliment de grande consommation dans de nombreux pays ;il est un produit fragile et périssable, car il constitue un milieu favorable pour le développement des microorganismes, ce qui exige des conditions hygiéniques rigoureuses lors de sa fabrication, sa conservation et une bonne qualité de matière première, et on considère le froid comme étant le meilleur moyen pour assurer la salubrité et la stabilité du yaourt (**Gret, 2002**).

La qualité du yaourt light doit être jugée selon une série d'analyse physicochimique et microbiologique, afin qu'il soit sans danger pour le consommateur et conforme aux normes exigées, c'est dans cette perspective que notre travail a été réalisé, il a porté sur le contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique de la matière première (l'eau de process et la poudre de lait 26% MG) et le produit fini, ainsi que le suivi de sa stabilité au cours de sa conservation à 4°C avant sa date limite de conservation et deux (02) semaine après.

CHAPITRE I : YAOURT LIGHT

I.1 Historique:

Une légende née à l'époque du fondateur de l'empire mongol, Gengis Khan, résume la genèse et les qualités du yoghourt. Au seuil du désert, l'un des cavaliers du grand Khan s'arrêta un jour dans un village fraîchement conquis et demanda de l'eau, les habitants remplirent sa gourde avec du lait, persuadés qu'il allait se corrompre dans le désert et sous l'effet du galop du cheval et de la chaleur, le lait se transforma en une substance blanche que le cavalier gouta et apprécia; c'était la naissance du yaghourt. Le premier nom turc, apparu au VIII siècle, fut "yogourt" pour être changé au XI siècle par le nom "yoghourt" utilisé actuellement mais l'origine du mot yoghourt proviendrait de la langue bulgare (yoghurt), "yog" qui voulait dire "épais" et "urt" qui signifiait "lait" (**Luquet et Corrieu, 2005**).

I.2. Définition :

Selon la définition de 1977 établie par l'Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) et l'Organisation mondiale de la santé (OMS), le yaourt est un lait coagulé obtenu par la fermentation lactique acide due à deux ferments spécifiques : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui sont contenus naturellement dans le lait, à l'exclusion de toute autre bactérie (**Fredot, 2005**). Dans le cas où le sucre est remplacé par un ou plusieurs édulcorants c'est le yaourt light, il peut être maigre (0%MG), demi écrémé, entier ou enrichi en crème (**Luquet, 1990**).

I.3. Composition :

I.3.1 Le lait :

Le lait destiné à l'alimentation humaine a été défini en 1909 par le congrès international de la répression des fraudes : «le lait est le produit intégral de la traite total et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum» (**Larpen, 1997**). Le lait est un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté, d'une saveur douceâtre et d'un pH légèrement acide (6,6 à 6,8) (**Debry, 2001**), sa composition est portée tableau I.

Tableau I: Composition moyenne du lait entier

Composants	Teneurs (%)
Eau	89,5
Dérivés azotés	3,44
1- Protéines	3,27
2- Azote non protéique	0,17
Matières grasses	3,5
Glucides	4,8
Gaz dissous	5% du volume du lait
Extrait sec total	12,8

(Fredot, 2006).

I.3.2. Les ferments lactiques :

D'après **Sodini et Beal (2003)**, les critères de choix des souches reposent principalement sur les considérations technologiques recherchées par le fabricant (acidification....etc.). Les ferments lactiques les plus utilisés dans les yaourtières sont généralement les produits du « yalactal » constitués unique par deux souches de bactéries (*Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus*).

L'importance des ferments lactiques est grande dans l'industrie agroalimentaire et en particulier dans l'industrie de transformation laitière (**Leveau et Bouix, 1993**).

I.3.2.1 Les bactéries spécifiques du yaourt :

A. *Streptococcus salivarius* subsp *thermophilus* :

Selon **Larpent (1989)**, ce genre contient une ancienne appellation : *Sterptococcus salivarius subsp thermophilus*, elle se développe bien à des températures de 37°C à 40°C ce sont des bactéries Gram positif, catalase négative, se présentent sous forme de cocci en paires diplocoques ou en chaînettes, de diamètre compris entre 0,7µm et 0,9µm. Cette espèce est thermorésistante (résiste à 60-65°C pendant 30 Mn) avec une température de croissance comprise entre 19°C et 56°C (**Terre, 1986**).

S. thermophilus est halotolérante (2 à 4% de NaCl) et homofermentaire, elle dégrade le lactose par une β-galactosidase en produisant de l'acide lactique sous forme d'isomère L (+) et

hydrolyse le fructose et le glucose (**Larpen, 1996 ; Beal et Sodini, 2003**), elle est saprophyte, trouvée dans l'eau, l'air ou le sol (**Obre, 1983**).

B. Lactobacillus bulgaricus :

Cette espèce se présente sous forme de courts bâtonnets lorsque la culture est jeune et elle présente des ramifications lorsqu'il s'agit d'une culture âgée, elle est Gram positif, catalase négative, homofermentaire, elle présente une bonne croissance dans un milieu à pH compris entre 4,5 et 6,4 thermorésistante (60°C/ 90 Mn et 65°/ 30Mn), avec une température optimale de croissance située entre 37 °C et 42°C (**Larpen et Bourgois, 1996**). Elle est oxydase -, nitrate réductase -, gélatine -, produit l'isomère D (-) de l'acide lactique (**Ober, 1983**).

I.3.2.2. Propriétés des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques sont caractérisées par les propriétés suivantes :

a. Aptitude texturant et épaississante : La texture et l'onctuosité constituent pour le consommateur d'importants éléments d'appréciation de qualité de yaourt (**Anonyme, 1995**).

Les *S. thermophilus* produisent des molécules plus grosses et plus longues dites : Polysaccharides en donnant au produit fini son caractère onctueux ou filant, la production de ces molécules utilisée pour améliorer la texture de yaourt en augmentant la viscosité afin d'éliminer ou diminuer les agents gélifiants (**Vignola, 2002**).

b. Aptitude aromatisant : L'acétaldéhyde est le composé aromatique le plus caractéristique de la saveur du yaourt et le plus principalement produit par *L. bulgaricus* grâce à la thréonine (**Guirard, 2003**).

c. Pouvoir acidifiant : L'acidification résulte de la dégradation du lactose en acide lactique et aboutit à une forte diminution du pH. Cette production d'acide lactique est une des principales fonctions des bactéries lactiques en technologies laitières, car cet acide organique permet de conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et anti microbien (**Levaux et al., 1991 ; Schmidt et al., 1994**).

La vitesse de l'acidification est un critère important en technologie laitière. Les industriels recherchent des souches dont le pouvoir acidifiant est important ainsi que des cultures associatives qui optimisent la fermentation lactique de telle manière à avoir une acidité de 90 - 100°D en 3 - 4 h (**Bouillanne et al., 1980**).

d. Activité protéolytique : L'activité protéolytique est également un des critères de sélection des bactéries utilisées dans la production de yaourt, Les souches de *S.thermophilus* présentent généralement une activité protéasique faible, voire parfois inexistante par l'absence de protéase de paroi (protéase négative), c'est la raison pour laquelle leur croissance et l'acidification du lait sont parfois limitées lorsqu'elles sont utilisées en culture pure, du fait de la quantité insuffisante en peptide et acide aminé initialement présentes dans le mix laitier. En revanche, *L. bulgaricus* est beaucoup plus protéolytique. Ainsi, il lui est possible d'hydrolyse les caséines en petits peptides et acides aminés assurant sa croissance et celle de *S. thermophilus* lorsqu'elle s'agit de cultures mixtes (**Luquet et al., 2005**).

I.3.2.3. La proto-coopération entre *S. thermophilus* et *L. bulgaricus* :

L'association entre ces deux espèces est appelée proto-coopération figure 1, elle est bénéfique mais pas indispensable à la croissance de chaque espèce dans le lait (**Tamine et al., 1999**).

L.bulgaricus présente une activité protéolytique plus élevée que celle de *S.thermophilus*, qui lui permet de libérer des acides aminés comme la valine, l'histidine, la glycine, la leucine, l'isoleucine, la méthionine et des dipeptides qui stimulent la croissance de *S. Thermophilus*, cette forte activité protéolytique fait intervenir la protéase de paroi de *L. bulgaricus* qui permet de fournir aux streptocoques les composés azotés nécessaires à leur croissance et ceci est confirmé par **Courtin et al., (2002)**.

S. thermophilus stimule la croissance de *L. bulgaricus* par la production de certains métabolites comme l'acide formique, le CO₂, l'acide pyruvique et l'acide folique, la production d'acide formique par *S. thermophilus* dépend de la souche, du milieu de culture et de la température (**Perez et al., 1991**), le formate est nécessaire à la synthèse des bases puriques (xanthine, adénine et guanine), précurseurs pour la synthèse des acides nucléiques (**Suzuki et al., 1986**).

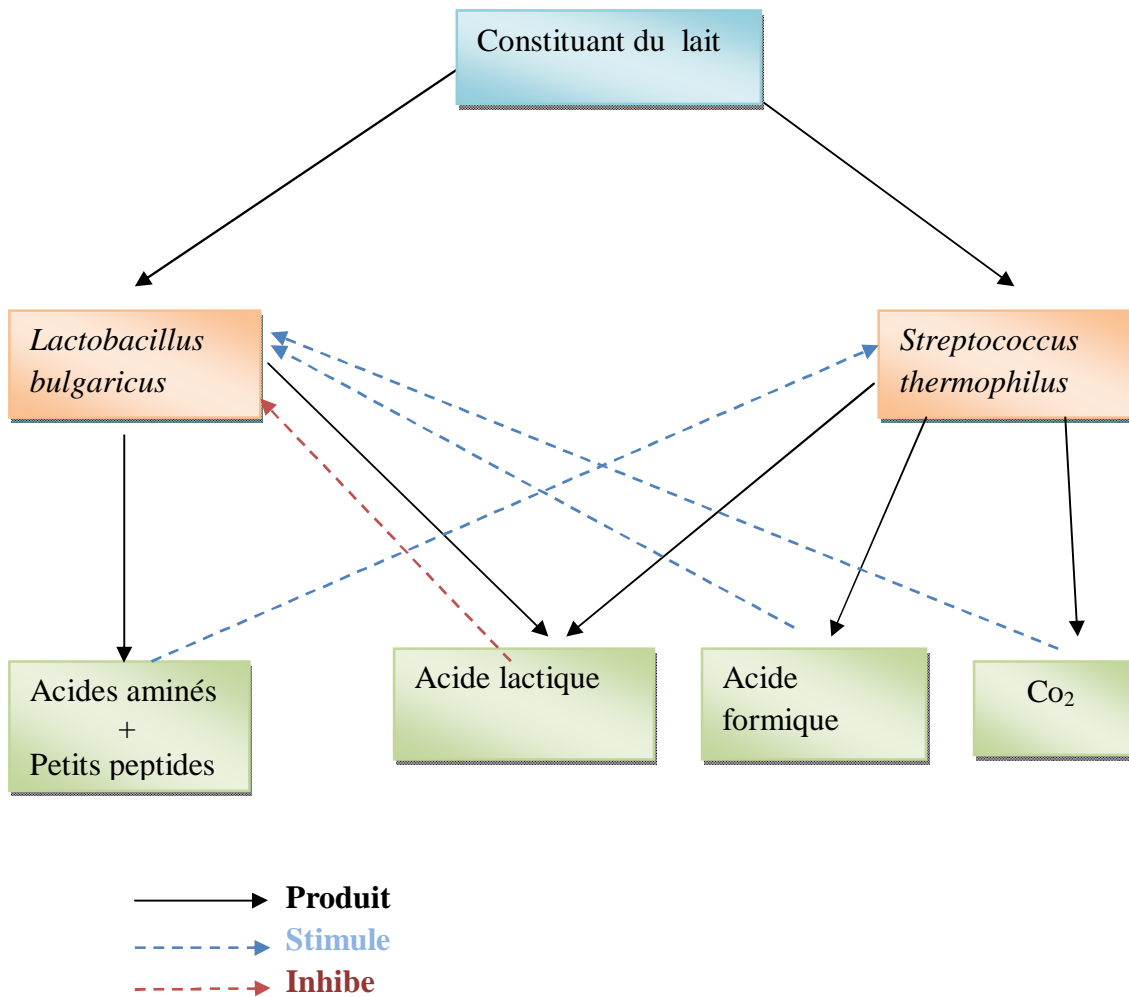


Figure 1: Action synergique des ferments lactiques du yaourt (Romain et al., 2007).

I.3.3. Arôme

C'est l'ensemble des substances qui créent une sensation de goût agréable dans le produit, les fruits sont des produits naturels conformes à la législation sur l'aromatization et la coloration du yaourt. Cependant, cet additif ne doit pas être alcoolisé. Les arômes de synthèse sont rajoutés à des doses très faibles, soit de l'ordre de 1/1000. En revanche, les arômes naturels sont rajoutés à des doses plus élevées de 0,05% à 0,2% ou 0,25% dans le produit fini (Multon, 1992).

I.3.4. Edulcorants :

La mondialisation toujours croissante suscite une demande grandissante de denrées alimentaires, divers procédés physiques et de nombreuses molécules ont été développés et utilisés pour augmenter la production d'aliments. L'industrialisation et l'urbanisation ont provoqués un exode rural et le nombre d'agriculteurs se réduit pour avoir une meilleure

rentabilité , ces impératifs ont été en grande partie satisfaits par l'adjonction de produits chimiques connus sous le nom d'additifs, parmi eux les édulcorants (**Frank, 1992**).

L'édulcorant est une substance douée d'une saveur sucrée lorsqu'elle est utilisée pour son action sucrante (**Mulon, 1992**). Il est utilisé sous formes de sirops, semoule, poudre ou cristallisés (**Luquet, 1985**).

I.3.4.1 Pouvoir sucrant : le pouvoir sucrant (PS) est le rapport entre la masse de saccharose (référence) et d'édulcorant présents en solution aqueuses iso sucrées. Le PS du saccharose est de 1,0 à 22°C (**Terren et Fournier, 1998**), elle se varie en fonction du type d'édulcorant, de sa concentration, de la température, du pH du milieu et de la nature du milieu (visqueux ou fluide) (**Guerin, 1978**).

I.3.4.2 Classification :

la classification des édulcorants sont classés en nutritifs et non nutritifs (**Multon,1990**).

A. Edulcorants nutritifs : dont le pouvoir sucrant est inférieur ou voisin de celui du sucre, formés de sucres (saccharose, fructose, glucose...) et Les polyols ou sucre - alcool (sorbitol, mannitol, maltitol...).

B. Edulcorants intenses (non nutritifs) : qui compte tenu de leur haut pouvoir sucrant, formé des substances chimiques (saccharine, cyclamate, acésulfame, aspartame), et Substance d'origine végétale de nature glucosidique ou protidique, l'édulcorant intense doit remplir certaines conditions: avoir un goût du sucre, une faible densité calorique pour la même équivalence de sucre que le saccharose, être physiologiquement inerte, non toxique et compétitif économiquement avec les autres édulcorants.

a . L'aspartame : l'aspartame est un dipeptide artificiel, composé d'acide aspartique et de la phénylalanine, L'aspartame est un édulcorant de synthèse avec un pouvoir sucrant de 200 fois plus supérieur à celui du saccharose. La preuve de son innocuité a été faite et confirmée par une dose journalière admissible DJA de 40mg/kg fixée par le Joint Expert Commuté on Food Additives (**JECFA**) de la **FAO** et de **L'OMS**.

L'aspartame est autorisé dans une très vaste gamme de produits, ses applications de prédilection sont les boissons, les mélanges, de poudres (préparation instantanées), les édulcorants de table et les produits laitiers. Il est aussi utilisé dans les produits de chocolat et de confiserie, les chewing-gums et les confitures (**Multon ,2002**)

b. L'acésulfame de potassium :

L'acésulfame de potassium appartient à la famille des dioxydes d'oxathiazines est le sel de potassium du 6-méthyl-1, 2,3-oxathiazin-4-on-2,2-dioxyde il est environ 200 fois plus sucré que le sucre de table et n'apporte aucune calorie. Comme la saccharine, il possède une légère amertume en arrière-goût (**Multon, 2002**). Leur innocuité a été également examinée par le **JECFA**, avec la conclusion que son utilisation est sans risque, tout du moins à un niveau inférieur à $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de masse corporel (DJA).

Il est autorisé dans une vaste gamme de produits, il est utilisé le plus souvent en mélange avec d'autres édulcorants, notamment l'aspartame, avec lequel il a une très bonne synergie de perception sucrée dans les boissons, par exemple, il peut aussi être employé dans les produits laitiers, les produits de chocolats et de confiserie, les chewing-gums, les confitures, les édulcorants de table et les produits de cuisson (**Multon, 2002**).

I.4 Technologie de

fabrication du yaourt light :

La technologie de fabrication est montrée figure 2:

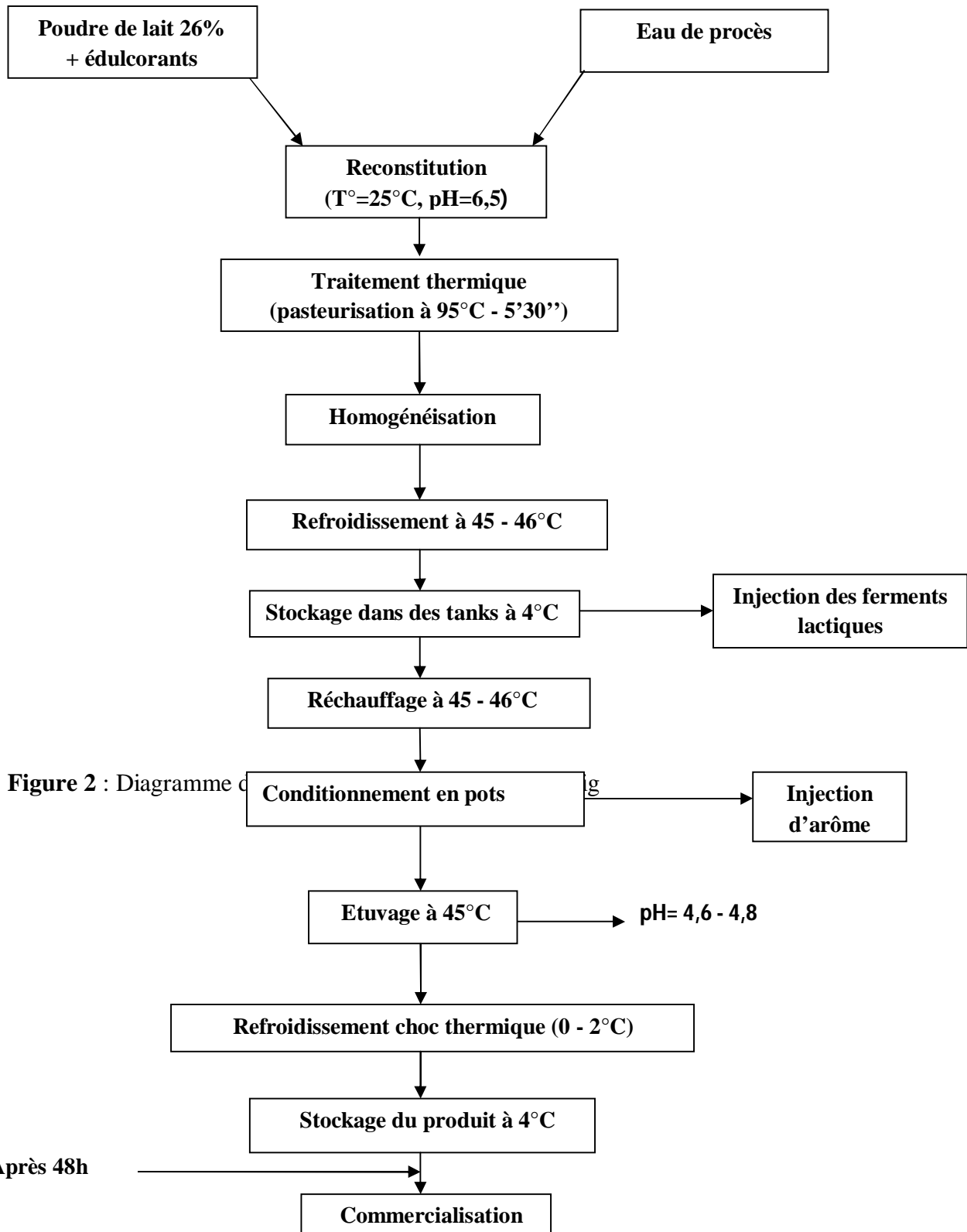


Figure 2 : Diagramme de

I.2.1 CONTRIBUTION DE LA QUALITE :

1. Définition :

Selon la norme **ISO 9000 (Pitet,2004)**, la qualité est l'ensemble des caractéristiques d'un produit ou d'un service qui lui confère l'aptitude à satisfaire des besoins exprimés et implicites des clients et des parties intéressées .

2. Composantes :

Les produits doivent répondre à des exigences assurant la qualité commerciale. Pour être commercialisé, le produit alimentaire doit être conforme aux différents critères de la qualité (**Bonnefoy et al., 2002**):

- a. **Nutritionnel** : composition qualitative et quantitative à des exigences assurant qualité en macronutriment (glucides, lipides, protéines) et micronutriments (vitamines, oligoéléments).
- b. **Hygiénique** : absence de composés toxiques ou de microorganismes susceptibles de nuire à la santé du consommateur.
- c. **Organoleptique** : apparence (forme, couleur), flaveur (arôme), et texture (consistance).
- d. **Financier** : le coût s'oppose souvent aux autres critères, il s'agit donc d'optimiser le rapport coût-qualité.
- e. **Technologique** : ce critère prend en compte de nouveaux procédés qui doivent être bien maîtrisés pour permettre d'assurer la qualité.

3- Objectifs :

D'après **Juve (1996)**, les contrôles de la qualité sont effectués sur les matières premières et les produits finis, mais aussi pendant la fabrication (autocontrôles) et sur les équipements (maintenance préventive) ils visent à:

- Assurer la qualité de la production (produit exempt de risque micro- biologique) à tous les niveaux et vérifier que les critères fixés par les tests officiels sont bien respectés.
- Permettre également d'assurer que le produit présente des qualités organoleptiques requises et attendues par le consommateur (Flaveur, texture, odeur..), qu'il soit stable pendant la durée de commercialisation.
- Répondre à l'application des accidents de fabrication en cherchant les causes et en

vérifiant la bonne adaptation des actions correctives mises en place.

4. But:

Selon **Miller (1995)**, le but du contrôle de qualité porte sur la prévention des risques chimiques et biologiques découlant d'une contamination des aliments résultant d'une mauvaise manipulation, et d'empêcher la commercialisation de produits falsifiés, corrompus, toxiques, ou impropres à la consommation afin d'assurer la protection de la

5. Assurance et maîtrise de la qualité :

- a. L'assurance de la qualité :** elle est définie comme la mise en œuvre d'un ensemble approprié de dispositions préétablies et systématiques, destinées à donner confiance en l'obtention de la qualité requise (**Allo et al., 2005**).
- b. La maîtrise de la qualité :** la maîtrise de la qualité représente l'ensemble des processus ou actions qui concourent à la qualité d'un produit fourni à un client, et au maintien de cette qualité dans le temps (**Denis et poly, 2007**).
- c. Rapport entre assurance et maîtrise de la qualité :** l'assurance de la qualité vise à assurer que l'objectif de la maîtrise de la qualité est atteint (**FAO, 1997**).

6. Axe de la sécurité alimentaire :

Selon **Moll (2002)**, la fabrication d'aliments composés doit tenir compte d'information précise sur les matières premières. Les industriels doivent avoir à l'esprit le risque allergique, au même titre que les risques de toxicité alimentaire. Les procédés de fabrications doivent éviter des contaminations. Le risque des contaminations nécessite également le développement de tests de détection.

7. Contribution du produit fini :

L'objectif étant de satisfaire le consommateur lors de sa première rencontre avec le produit en se basant sur trois paramètres.

A- Qualité bactériologique :

Ce type de contrôle doit permettre de garantir une bonne qualité hygiénique, et une bonne qualité marchande du produit (**Multon, 1994**).

Un dénombrement des flores spécifiques du lait est effectué afin de vérifier qu'ils répondent aux normes réglementaires. Une recherche des bactéries pathogènes est également réalisée (**Béal et Sodini, 2003**).

B- Qualité physico-chimique :

La teneur en protéine et en matière grasse influe directement sur la qualité du produit alimentaire.

Donc pour assurer la bonne qualité du produit fini, il existe des normes fixées par les services de la santé publique ou d'autres directions, et qui concernent d'abord les matières premières avant de passer au produit fini (**Béal et sodini, 2003**).

C- Qualité organoleptique :

Lorsque les propriétés physiques et chimiques d'un aliment sont perçues par nos sens, elles sont appelées organoleptiques. On peut en réaliser le percevoir successivement selon leur ordre d'apparition, à trois moments différents: Avant, pendant et après la consommation de l'aliment (**Multon, 1992**).

Chapitre II : Matériel et méthodes

Cette présente étude a été réalisée au niveau du laboratoire de la laiterie Trèfle (Blida) du mois d'avril au mois de juin, elle avait pour objectif la contribution de la qualité de la matière première (eau de process, poudre de lait) et du produit fini (yaourt light), et le suivi de la stabilité microbiologique, physico-chimique du produit fini jusqu'à la Date limite de consommation quatre (04) semaines avec un intervalle d'une semaine, et deux (02) semaines après la DLC et le dénombrement des ferments lactiques au niveau de laboratoire de contrôle de qualité au sein de l'INSFP des industries agro-alimentaire .

I. Matériel :

I.1. Matériel non biologique : le matériel non biologique (les appareils, verreries, milieux de cultures, réactifs et additifs) est montré dans l'annexe VI.

I.2. Matériel biologique :

II.1. Echantillonnage et prélèvement :

La bonne conduite des prélèvements des échantillons comporte un double souci : Celui d'avoir un prélèvement représentatif du lot étudié, et le souci bactériologique pour ne pas modifier la flore originale, et de ne pas apporter de micro-organismes étrangers.

A cet effet le prélèvement des échantillons des matières premières (poudre de lait et eau de process) et le produit fini a été fait suivant un procédé bien déterminé qui permet un échantillonnage dans des bonnes conditions d'asepsies (une flamme pour assurer que les prélèvements s'effectuent dans une zone stérile).

II.1.1 Matière première :

Trois (03) échantillonnages ont été réalisés pour la matière première (l'eau de process et la poudre de lait) pour l'analyse physicochimique et deux (02) pour l'analyse microbiologique.

A. L'eau de process :

L'eau de process est conditionnée dans un tank de capacité de 20000 L à une température d'environ 20 à 25°C, ce dernier possède un robinet disposé à sa partie inférieure. Avant le

prélèvement, nettoyer le robinet, le désinfecter de préférence à la flamme, et laisser couler une certaine quantité de volume, puis récupérer une quantité suffisante de volume dans un flacon stérile.

B. La poudre de lait 26%MG :

La poudre de lait 26%MG est conditionnée dans des sacs en polyéthylène de 25 kg, qui sont doublés ou triplés avec du papier kraft et fermés hermétiquement. Ces sacs sont entreposés dans un magasin à température ambiante disposer sur des palettes en bois afin d'éviter le contact direct avec le sol, et donc son altération. Les prélèvements ont été effectués aseptiquement, à partir des sacs qui sont choisis au hasard, d'un lot à l'aide d'une spatule à long manche en métal stérile, après avoir écarté la couche superficielle, on procède au prélèvement à partir du centre et du fond du sac d'une quantité suffisante (50-100g), celle-ci est par la suite introduite dans des boîtes de Petrie stériles.

C. Le produit fini :

Prendre deux (02) pots de yaourt light pour la réalisation de chaque analyse physico-chimique, microbiologique, la surface du pot est nettoyé à l'aide d'une pièce de coton à usage unique imbibé d'alcool, l'ouverture de l'emballage et le prélèvement de l'échantillon sont réalisés près de la flamme d'un bec benzène dans une zone stérile, à l'aide d'une spatule à long manche en métal après l'avoir flamber et stérilisé.

II.2.Méthodes

II.2.1 Analyses physico-chimiques :

Les analyses physico-chimiques ont été effectuées selon le guide des techniques d'analyses physicochimiques des produits laitiers des laiteries de "Trèfle" et les méthodes officielles normalisées par la norme française (NF).

Le tableau ci-dessous regroupe les différents paramètres physicochimiques réalisés sur les échantillons (eau de process, poudre du lait et produit fini).

Tableau II : Les paramètres déterminés en analyses physicochimiques

Produit Analyses	L'eau de procès	Poudre du lait	Produit fini
Mesure de TA, TAC, TH, Cl ₂ , Cl ⁻	+	-	-
Mesure de pH	+	-	+
Détermination de l'acidité titrable	-	+	+
Détermination de la matière grasse (MG)	-	+	+
mesure de l'extrait sec total (EST)	-	+	+

+ : Recherché.

- : Non recherché

II.2.1.1 Eau de process :

A. Mesure du pH:

- **Principe :**

Le pH est une grandeur mesurant la concentration des ions hydrogène dans une solution, c'est une mesure de l'acidité de la solution. Il correspond à l'opposé du logarithme de la concentration des ions H⁺ (proton) (**Jacque Mathieu, 1998**)

$$\text{pH} = - \log_{10} [\text{H}^+]$$

[H⁺] : concentration des ions (H⁺ moles / l).

- **Mode opératoire (AFNOR, 1986) :**

- effectuer l'étalonnage de l'appareil (pH-mètre) avec deux solutions tampon :

la première à pH 4, attendre la stabilité du pH et lire la valeur affichée, rincer les deux sondes à l'aide de l'eau distillée.

- introduire l'électrode dans la deuxième solution tampon pH 7, lire la valeur affichée, puis rincer les deux sondes.

- plonger ensuite les deux sondes dans l'échantillon à analyser, on attend la stabilisation du pH pour lire la valeur affichée.

- **Lecture :**

Les valeurs du pH sont directement lues sur l'appareil.

B. Détermination du titre alcalimétrique :

Le titre alcalin ou TA mesure la teneur de l'eau en ions hydroxydes et de la demi-concentration en ions carbonates (**Hakmi, 1994**).

$$TA = [OH] + 1/2 [CO_3^-]$$

- **Principe :**

Le titre alcalimétrique ou TA permet de connaître la teneur de l'eau à analyser en hydroxydes et carbonates, elle est basée sur la neutralisation d'un volume d'eau par un acide sulfurique dilué en présence d'un indicateur coloré (**Trèfle, 2005**).

- **Mode opératoire (AFNOR, 1986) :**

- introduire dans un bêcher de 200ml, 100 ml d'eau à analyser et 2 gouttes de phénolphtaléine comme indicateur coloré.
- dans le cas où la réaction est positive, on verse doucement de l'acide sulfurique (0,02N) dans le bêcher à l'aide d'une burette, en agitant constamment, et ceci jusqu'à décoloration complète de la solution.

- **Expression des résultats :**

- une coloration rose doit se développer si la réaction est positive ; dans le cas contraire (pas de coloration) le TA est nul ce qui est produit en générale pour les eaux naturelles dont le pH est inférieur à 8,3.
- Absence de coloration : $TA=0$.
- Présence de colorations : $TA = V$.
 - **TA** : titre alcalimétrique en degré français (°F).
 - **V** : volume de l'acide sulfurique en ml, nécessaire pour le virage de la couleur.

C. Détermination du titre alcalimétrique complet :

Le titre alcalimétrique complet ou TAC correspond à la teneur de l'eau en alcalis libres La demi-concentration en ions carbonates et le bicarbonate (**Hakmi, 1994**).

$$TAC = [OH] + 1/2 [CO_3^-] + [HCO_3^-]$$

- **Principe :**

Le titre alcalimétrique complet ou TAC permet de connaître la teneur de l'eau en alcalis libres, carbonates et hydrogénocarbonates, elle est basée sur la neutralisation d'un volume d'eau par un acide sulfurique dilué en présence d'un indicateur coloré (**Trèfle, 2005**).

- **Mode opératoire (AFNOR, 1986) :**

- utiliser l'échantillon traité précédemment ou le prélèvement primitif (utiliser pour le TA) s'il n'y a pas eu de coloration.
- ajouter 2 gouttes de méthyle orange.
- titrer de nouveau avec la même solution acide jusqu'au virage du jaune au jaune orangé (pH=4,3).
- s'assurer qu'une goutte d'acide en excès provoque le passage du jaune orange au rouge orangé (pH=4).

- **Expression des résultats :**

Le résultat du TAC est donné par lecture directe sur la burette du volume de l'acide sulfurique utilisé pour titrage.

TAC= V

- **TAC** : titre alcalimétrique complet en °F.
- **V** : volume de l'acide sulfurique en ml versé depuis le début du dosage.

D. Détermination du titre hydrométrique :

Le titre hydrométrique (TH) indique la teneur totale de l'eau en sel de calcium et magnésium, la dureté d'une eau est proportionnelle au nombre total d'atome de calcium et de magnésium qu'elle renferme (**Lauze, 2002**).

$$TH = [Ca^{+2}] + [Mg^{+2}]$$

- **Principe :**

Le titre hydrométrique ou TH représente la dureté totale de l'eau exprimée par la présence des sels de Calcium et de Magnésium. Elle permet de doser rapidement les ions de calcium et de magnésium. Son principe est basé sur le titrage par complexométrie du Calcium et du Magnésium avec une solution aqueuse de sel disodique d'acide éthylène-diamine tétra acétique (EDTA) 0,02 N, solution tampon de pH = 10, et d'un indicateur coloré qui est le noir eriokrome-T (NET), qui donne une couleur rouge foncée ou violette en présence de Magnésium. Lors du titrage, l'EDTA réagit d'abord avec les ions Ca^{++} et Mg^{++} libres en solution puis au point d'équivalence avec les ions Ca^{++} et Mg^{++} combinés, ce dernier est libéré et provoque un changement de couleur du violet au bleu (**Trèfle, 2005**).

- **Mode opératoire (AFNOR, 1986) :**

- Introduire dans un bêcher de 250 ml, 100 ml d'eau à analyser, 10 ml de solution tampon

- titrer ensuite avec l'EDTA (0,02 N) tout en agitant constamment jusqu'au virage de la couleur du violet au bleu. Le point final du virage est atteint lorsque la dernière nuance violette a disparu.

- **Expression des résultats :**

Le volume de l'EDTA correspond au titre hydrométrique (TH) exprimé en degré français « °F ».

$$\text{TH} = V$$

- **TH** : titre hydrométrique en °F.
- **V** : volume de la solution EDTA utilisé pour le titrage (ml).

E. Détermination du chlore libre dans l'eau :

- **Principe : (ISO 7393-2:1985)**

On détermine la valeur du chlore libre (Cl_2) dans l'eau de process à l'aide d'un comparateur Palintest est une méthode standard d'analyse de Chlore. Les réactifs sont des pastilles, le Chlore Libre réagit avec la molécule **N,N-diéthylphénylène-1, 4 diamine DPD**. la Palintest utilise avec des disques colorés interchangeable, il sert à comparer la couleur produite dans le teste avec celle du disque.

- **Mode opératoire (Trèfle, 2005) :**

- remplir le tube avec 10 ml l'échantillon.
- ajouter un pastis de diethylparaphenylenediamin (DPD)
- placer le tube traité sur le coté droit du compartiment au dos du comparateur ;
- placer un deuxième tube ne contenant que l'eau à analyser sur le coté gauche, afin de tenir compte de la couleur éventuelle de l'échantillon.
- positionner face à une source de lumière blanche, puis faire tourner le disque jusqu'à l'obtention de deux couleurs identiques.

- **Lecture :**

Le résultat apparaît directement dans le tour sur le devant du boîtier par comparaison de la couleur produite dans le teste avec celle du disque.

F. Dosage des chlorures libres dans l'eau par la méthode de MOHR :

- **Principe :**

Le dosage des chlorures libres est uneméthode qui décrit la mesure de la concentration du chlore libre ou Cl⁻ dans l'eau. Les chlorures sont dosés en milieu neutre, par une solution de nitrate d'argent (AgNO₃) en présence de bichromate de potassium (K₂CrO₄)comme indicateur coloré. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge brique caractéristique du chromate d'argent.

- **Mode opératoire (Trèfle, 2005) :**

- introduire dans un bêcher de 250 ml, 100ml d'eau à analyser et 10 gouttes de la solution de bichromate de potassium(K₂CrO₄) à 10%.
- titrer avec la solution de nitrate d'argent à 0,1 N, jusqu'à virage de jaune au rouge.

- **Expression des résultats :**

La concentration en ions chlorés est donnée par les formules suivantes :

$$Cl^- = (V-0,9) \times 35,5$$

- Les chlorures sont exprimés en mg de Cl⁻ par litre d'eau (mg/l).
- **V** : volume de nitrate en ml utilisé pour l'eau (lu sur la burette).
- 0,9 : volume d'AgNO₃ nécessaire pour l'obtention de la même teinte rouge dans un essai avec 100 ml d'eau distillée.
- 35,5 : mase molaire du chlore en g/mole.

II.2.1.2poudre du lait :

A. Détermination de l'acidité titrable:

- **Principe :**

L'acidité du lait ou d'un produit laitier est la quantité d'acide lactique libérée par transformation du lactose en acide lactique en présence des bactéries lactiques, le principe repose sur le titrage de l'acide lactique par une solution alcaline (NaOH 0,11 mol/l) en présence d'un indicateur de couleur qui est la phénolphtaléine (**Jacque Mathieu, 1998**).

- **Mode opératoire (NF V04-206, 1969) :**

- Dans un bécher, mélanger 2 g de poudre de lait dans 18 ml d'eau distillée.
- Bien mélanger et laisser reposer pendant une vingtaine de minutes.
- Ajouter 2 gouttes de phénolphtaléine
- Titrer par une solution sodique (0.1 mole/l) jusqu'à l'obtention d'une couleur rose persistante pendant 30 secondes (**Ministère du commerce, 2000**).

- **Expression des résultats :**

L'acidité titrable = $V/2$ où V est le volume en ml de la solution d'hydroxyde de sodium utilisée pour le titrage :

$$\text{Acidité} = V/2 \text{ (}^\circ\text{D)}$$

Le degré Doronic ($^\circ\text{D}$) correspond à 0,1 g/l d'acide lactique (**Godet et Kowalski, 2011**).

B. Mesure de la teneur en matière grasse par la méthode acido-butyrométriques :

- **Principe :**

La méthode acido-butyrométrique dite GERBER est une technique conventionnelle permettant d'évaluer la teneur en matière grasse des produits laitiers (yaourt), correspondant au nombre de gramme de substance de matière grasse (MG) dans un litre de yaourt (g/l), son principe est l'attaque du lait par l'acide sulfurique et la séparation par centrifugation en présence d'alcool iso amylique de la matière grasse libéré. Le butyromètre est gradué de manière à donner par lecture directe le pourcentage en matière grasse.

- **Mode opératoire (AFNOR, 1975) :**

- utiliser un butyromètre TEICHERT, introduire dans le butyromètre respectivement 10ml d'acide sulfurique, 8ml d'eau distillée, 2,5 g de la poudre de lait entier et 1 ml d'alcool iso-amylique.
- boucher avec soin le butyromètre, et agiter latéralement puis le retourner en position verticale.
- centrifuger 10 minutes. Après centrifugation, on retire le butyromètre et on fait la lecture.

- **Lecture :**

La teneur en matière grasse du produit exprimé en pourcentage massique est déterminée par l'expression suivante :

$$MG = B - A$$

- MG : matière grasse en %.
- A : est la lecture faite à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse.
- B : est la lecture faite à l'extrémité supérieure de la colonne de matière grasse.

B.3.Détermination de l'extrait sec total:

- **Principe :**

Il repose sur la dessiccation par évaporation de l'eau que contient l'échantillon à analyser sous l'effet d'une source de chaleur qui est la lumière de l'infrarouge.

- **Mode opératoire :**

La teneur en extrait sec total est déterminée par une méthode simple, rapide donnant des valeurs approximatives et répondant aux exigences de l'unité par la remise des résultats en espace de quelques minutes, elle répond au mode opératoire suivant :

- Peser 2 g du produit à analyser dans une coupelle en aluminium (ou inox).
- Après on l'étale à l'aide d'une spatule sur toute la surface de la coupelle, en faisant attention de ne pas toucher les bords.
- Mettre le tout dans un dessiccateur électronique afin d'absorber l'humidité et attendre 10 mn.

- **Expression du résultat :**

Après 10 mn, le résultat s'affiche directement sur l'écran de l'appareil en pourcentage massique de matière sèche par rapport au totale.

II.2.1.3 produit fini :

Les analyses physicochimiques ont été effectuées selon le guide des techniques d'analyses physicochimiques des produits laitiers des laiteries de "Trèfle" et les méthodes officielles normalisées par la norme française (NF).

A. Détermination du pH :

La mesure de pH du produit fini est réalisée de la même manière que de l'eau de process.

B. Détermination de l'acidité titrable :

- **Principe :**

Même principe que celle de la poudre du lait.

- **Mode opératoire :**

A l'aide d'une pipette de 10ml prélever 10ml d'échantillon à analyser

- ajouter deux à trois gouttes de phénol phtaléine comme indicateur de pH.

- titrer avec de soude à 0.111N jusqu'au virage de l'incolore au rose qui persiste 10 secondes.

- **Expression de résultats :**

La quantité exacte de la soude à utiliser dans l'essai dépend de l'indicateur, de l'importance de l'échantillon et du produit à analyser (**NF T90-006**).

Les résultats sont exprimés en degré Dornic (D°) il correspond au nombre de 1/10 de ml de soude Dornic (N/9) nécessaire pour le virage du phénol phtaléine (Guiraud, 1998).

0.1ml de NaOH \longrightarrow 1°D

1°D \longleftarrow 0.1 d'acide lactique/ litre de yaourt.

C. Détermination de la matière grasse :

- **Principe :**

Même principe que celle de la poudre du lait.

- **Mode opératoire : (JO de la RF du 27 oct. 1983)**

-prendre 20ml de yaourt, compléter à 20 ml de l'eau distillée puis bien agiter la solution pour qu'elle soit homogène.

-dans un butyromètre introduire 10ml d'acide sulfurique en évitant de mouiller le col

- ajouter 11ml de l'échantillon essai à l'aide de la pipette sans mouiller le col du butyromètre et en évitant un mélange prématuré du yaourt avec l'acide.

- verser à la surface d'échantillon 1ml d'alcool iso amylique sans mouiller le col du butyromètre et en évitant de mélanger les liquides.

-Boucher avec soin le butyromètre, puis l'agiter avec précaution mais énergiquement et rapidement jusqu'à disparition des grumeaux.

Le butyromètre se trouve ainsi porté à environ 80°C, le remettre dans sa position initiale et attendre que l'ampoule terminale soit complètement remplie du mélange (acide sulfurique, yaourt et l'eau distillée).

-Procéder au retournement et attendre que l'ampoule terminale soit complètement vidée, après six retournements successifs, l'agitation est suffisante et le mélange est homogène.

-Après l'agitation précédente, ne pas laisser refroidir le butyromètre (si nécessaire le réchauffer à 65°C dans le bain d'eau).

-Ajuster le bouchon de manière à ce que le niveau du liquide soit dans la partie supérieure de l'échantillon gradué

Placer le butyromètre dans la centrifugeuse à une vitesse de 1500 tours/ minute pendant 10 minutes.

-À la sortie de la centrifugeuse modifier, S'il ya lieu le réglage du bouchon pour que la phase liquide se place exactement dans l'échelle graduée.

-Plonger le butyromètre verticalement bouchon en bas, dans le bain-marie et laisser cinq minutes.

- **Expression des résultats :**

La matière grasse dissociée est moins dense, elle se rassemble en une couche claire et transparente, visible pour une lecture directe sur l'échelle en du butyromètre.

La teneur en matière grasse du yaourt exprimée mg/l est égal :

$$MG (g/l) = N_1 - N_2$$

- N_1 : valeur atteinte par le niveau supérieur du butyromètre.
- N_2 : Valeur atteinte par le niveau inférieur de butyromètre.

D. mesuré de l'extrait sec total:

la mesure de la teneur en eau du produit fini et réalisée de la même manière que pour la poudre du lait.

II.2.2 Méthodes d'analyse microbiologique :

L'analyse microbiologique comportera la recherche et le dénombrement des microorganismes contaminant le yaourt light et sa matière première selon le tableau III :

Tableau III: Les germes recherchés dans les différents échantillons :

Echantillons Germes	L'eau de procès	poudre de lait	Produit fini
Germes totaux	+	+	-
Coliformes Totaux & fécaux	+	+	+
<i>Streptocoques fécaux</i>	+	-	-
Salmonelle	-	+	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	-	+	+
Levures et moisissures	-	+	+
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	-	-	+
<i>Streptococcus thermophilus</i>	-	-	+

+ : Recherché.

- : Non recherché

II.2.2.1 Analyses microbiologiques de l'eau de process :

A. Recherche et dénombrement des germes totaux dans l'eau de process :

- **Principe :**

Les germes totaux sont des microorganismes aérobies et anaérobies stricts capable de pousser sur gélose plat count agar PCA sous forme de colonies lenticulaires soit à 20°C pour les germes à tendance psychrophiles, soit à 37°C pour les mésophiles (**Joffin et Joffin, 1999**).

- **Mode opératoire(NF T90-401, 1984) :**

- à partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement 2 fois 1ml dans deux boites de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées ;
- compléter ensuite chacune des boites avec environ 15 à 20 ml de gélose Plat Count Agar (PCA) fondue puis refroidie à 45±1°C ;
- faire ensuite des mouvements circulaires de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose ;
- laisser solidifier sur paillasse ;
- incuber la première boite, couvercle en bas à 22°C et la seconde couvercle en bas, à 37°C.

- **Dénombrement :**

Le dénombrement se fait après 24 heures et 48 heures à 37°C et après 72 heures à 22°C, en prenant compte du nombre des colonies revivifiées compris entre 30 et 300.

Les résultats sont exprimés en nombre de colonies par ml de l'eau analysée.

B. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux dans l'eau de process :

- **Principe :**

Les coliformes totaux sont des germes aérobies facultatifs, ils ont le pouvoir de fermenter le lactose à 37°C avec production de gaz et d'acide lactique , qui se traduit par un virage de la couleur du milieu BCPL du violet au jaune par l'indicateur de pH: le pourpre de bromocrésol ; par contre les coliformes thermotolérants notamment *E. coli* ont la capacité de fermenter le mannitol présent dans le milieu Schubert avec production de gaz et de produire l'indole à partir du tryptophane à 44°C, qui réagit avec le réactif de Kovacs formant un anneau rouge en surface du milieu (**Joffin et Joffin, 1999**).

Mode opératoire (NF T90-413, 1985) :

- **Test de présomption :** Réservé à la recherche des coliformes totaux (C.T).
- à partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :
 - 50ml dans un flacon contenant 50ml de milieu BCPL (D/C) muni d'une cloche de Durham.

- 5 fois 10ml dans 5 tubes contenant 10ml de milieu BCPL (D/C) muni d'une cloche de Durham.
- 5 fois 1ml dans 5 tubes contenant 10ml de milieu BCPL (S/C) muni d'une cloche de Durham.
- chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélangé le milieu et l'inoculum.
- incuber l'ensemble de tube à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture :**

Sont considérés comme positifs (présence des C.T) les tubes présentant à la fois :

- un dégagement gazeux (au moins égale au 1/10^{ème} du total de la cloche).
- un trouble microbien accompagné d'un virage de la couleur du milieu du violet au jaune.

Les résultats sont exprimés en nombre de coliformes totaux /100ml de l'eau analysée selon la table du NPP (Annexe 6).

- **Test de confirmation:**

- prélever aseptiquement à partir des tubes BCPL trouvés positifs lors du dénombrement des coliformes totaux 3 à 4 gouttes ; puis repiquer sur milieu Schubert pourvu d'une cloche de Durham avec addition de 3 à 4 gouttes de réactif Kovacs ;
- chassez le gaz présent éventuellement dans les cloches de Durham et bien mélanger le milieu et l'inoculum ;
- incuber les tubes à 44°C pendant 24 heures.

- **Lecture :**

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois :

- un dégagement gazeux (au moins égale au 1/10^{ème} du total de la cloche) ;
- un trouble microbien accompagné d'un anneau rouge en surface après adjonction de 2 ou 3 gouttes du réactif de Kovacs ;

L'expression des résultats se fait selon la méthode de NPP ; par référence à la table de Mac-Grady(Annexe 7). Notons que les résultats sont exprimés en germes/100ml d'eau analysée.

C. Recherche et dénombrement des Streptocoques fécaux dans l'eau :

- **Principe :**

Selon **Larpent (1997) et Joffin (1999)**, les streptocoques fécaux sont des germes anaérobies facultatifs dont leur nombre est en général peu élevé, capable de se développer dans un premier temps ; sur un milieu d'enrichissement relativement sélectif par l'azide de sodium (milieu Rothe), donnant un louche microbien et dans un deuxième temps ; le milieu

Eva Litsky sélectif par l'azide de sodium et l'éthyl-violet, qui est confirmée par un trouble homogène avec parfois un dépôt violet au fond du tube.

- **Mode opératoire (NF T90-411, 1989) :**

- **Test de présomption :**

- à partir de l'eau à analyser, porter aseptiquement :
 - 50ml dans un flacon contenant 50ml de milieu ROTHE (D/C) ;
 - 5 fois 10ml dans 5 tubes contenant 10ml de milieu ROTHE (D/C) ;
 - 5 fois 1ml dans 5 tubes contenant 10ml de milieu ROTHE (S/C).
- mélanger le milieu et l'inoculum ;
- incuber les tubes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

- **Lecture :**

Sont considérés comme positifs les tubes présentant un trouble microbien, ces derniers ne doivent en aucun cas faire l'objet de dénombrement, par contre ils doivent absolument faire l'objet d'un repiquage sur milieu Eva Litsky dont le but d'être confirmés.

- **Test de confirmation :**

- Le test de confirmation est basé sur la confirmation des Streptocoques fécaux éventuellement présents dans le test de présomption.
- à partir des tubes de ROTHE trouvés positifs, on transfère à l'aide d'une pipette stérile 3 à 4 gouttes sur milieu Eva Litsky ;
- mélanger le milieu et l'inoculum ;
- incuber les tubes cette fois-ci à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture :**

Sont considérés comme positifs, les tubes présentant à la fois : un trouble microbien ; et une pastille violette au fond des tubes.

L'expression des résultats se fait selon la méthode de NPP par référence à la table de Mac-Grady. Notons que, les résultats sont exprimés en germe/100ml d'eau analysée.

II.2.2.2 poudre de lait :

A. Préparations de la dilution mère et des dilutions décimales :

- **Mode opératoire (V08-010, 1996/ ISO 6887) :**

Pour l'ensemble des échantillons; les dilutions mères et les dilutions décimales sont préparées de la même manière :

- Réaliser une suspension qui constitue la dilution mère:

❖ dans un flacon stérile contenant préalablement 225ml de TSE, on introduit aseptiquement 25g de l'échantillon à analyser ; après agitation manuelle, on obtient une suspension homogène représentant la solution mère et correspond donc à la dilution au 1/10 ou 10^{-1} .

- Pour les dilutions décimales:

❖ On prélève 1ml de la dilution 10^{-1} pour l'introduire dans un tube à vis stérile contenant 9ml du TSE ainsi on obtient la dilution 1/100 ou 10^{-2} ; de cette dernière et après homogénéisation on introduit aseptiquement 1ml dans un tube à vis stérile contenant 9ml du TSE ; c'est la dilution au 1/1000 ou 10^{-3} .

B.Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles :

- **Principe :**

Les germes recherchent des microorganismes aérobies mésophiles, capable de pousser sur gélose PCA sous formes de colonies lenticulaires à 30°C (**Joffin et Joffin, 1999**).

- **Mode opératoire (NF 08-051,1992/ ISO 4833) :**

- à partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1 ml dans une boîte de Pétri vide préparée à cet usage et numérotée ;

- compléter ensuite avec environ 15 à 20 ml de gélose PCA fondue puis refroidie à $45\pm 1^{\circ}\text{C}$;

- faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose ;

- laisser solidifier sur paillasse ; puis incuber les boîtes couvercle en bas à 30°C pendant 72 heures.

- **Lecture :**

Le dénombrement est effectué en prenant en compte le nombre des colonies lenticulaires en masse compris entre 30 et 300. On multiplie le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

C. Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux :

• Principe :

Selon **Joffin et Joffin (1999)** et **Joffin et Leyral (2001)**, les coliformes sont des germes aérobies facultatifs, caractérisés par leur aptitude à fermenter le lactose avec production de gaz et d'acide lactique qui réagit avec le rouge neutre (indicateur de pH) présent dans la gélose au Désoxycholate (DCLA) pour donner des colonies de coloration roses-rouges.

• Mode opératoire (NA 26 91, 1993) :

- à partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans deux boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées ;
- compléter ensuite chaque boîte avec environ 20 ml de gélose au Désoxycholate (DCLA) à 1 % fondue puis refroidie à $45 \pm 1^\circ\text{C}$;
- faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose ;
- incuber une série de boîte couvercle en bas à 30°C pendant 24 à 48 heures pour les coliformes totaux et une deuxième série couvercle en bas à 44°C pendant 24 à 48 heures pour les coliformes fécaux.

• Lecture :

Dénombrer les colonies lenticulaires roses-rouges comprises entre 30 et 300. Et ensuite ; on multiplie le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

Le résultat est exprimé en UFC/g ou UFC/ml de produit analysé

D. Recherche et dénombrement de *Staphylococcus aureus* :

• Principe :

Les *staphylococcus aureus* sont des germes aéro-anaérobie facultatifs, possédant une catalase, sont capable de réduire le tellurite de potassium en tellure métallique, qui se traduit par un virage du milieu GiollitiCantoni au noir ; elles ont la particularité d'utiliser le mannitol présent dans le milieu Chapman avec production d'acide, qui se traduit par un virage du rouge de l'indicateur coloré (rouge de phénol) au jaune ; donnant des colonies pigmentées en jaune (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

• **Mode opératoire (NF V08-014, 1994) :**

La recherche de *Staphylococcus aureus* se fait en deux étapes :

➤ **Enrichissement :**

- prendre aseptiquement 1ml des dilutions décimales dans des tubes contenant 15ml du milieu de GIOLITTI CANTONI additionné de tellurite de potassium ;
- mélanger soigneusement le milieu et l'inoculum ;
- incuber les tubes à 37°C pendant 24 à 48 heures.

• **Lecture :**

Les tubes ayant virés au noir sont considérés comme positifs.

➤ **Isolement :**

- Les tubes ayant virés au noir, doivent faire l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman préalablement fondue et coulée en boîtes de pétri et bien solidifiée ;
- incuber les boîtes de Chapmanensemencées 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.

• **Lecture :**

Après l'incubation, dénombrer les colonies circulaires, lisses, brillantes et pigmentées en jaune due à la fermentation du mannitol ; comprises entre 30 et 300 colonies.

Les résultats sont exprimés en UFC/ml ou UFC/g.

Note : Si le résultat est positif on procède à la confirmation pour l'eau oxygénée.

E. Recherche de Salmonelles :

• **Principe :**

Les Salmonelles sont des bactéries difficiles à être isolé, vu leur nombre très faible ; pour cela, il est nécessaire de procéder à un pré enrichissement qui permet aux bactéries stressées de récupérer toutes leurs potentialités et à un enrichissement qui favorise leur multiplication (**Larpent, 1997**). Ce sont des anaérobies facultatifs, ne fermentent pas le lactose mais fermentent le glucose avec production de gaz de l'hydrogène sulfuré (H₂S) à partir de thiosulfate ce qui est traduit par des colonies bleu-vertes avec ou sans centre noir (**Joffin et Joffin, 1999**).

- **Mode opératoire (NF V08-052, 1993) :**

La recherche des Salmonelles passe par quatre étapes :

- **Pré-enrichissement :**

Le pré-enrichissement est destiné à revivifier les cellules de façon à faciliter la culture dans les bouillons d'enrichissement sélectif.

- introduire aseptiquement 25g de l'échantillon à analyser dans un flacon contenant 225ml de tryptone sel-eau stérile(TSE) constituant ainsi la solution mère ;

- incuber le flacon à 37°C pendant 18 à 24 heures.

- **Enrichissement primaire :**

- à partir du milieu de pré-enrichissement, prélever un volume de 10ml dans un flacon stérile contenant 100ml de milieu sélectif SFB (D/C+cystéine) ;

- incuber le flacon à 37°C pendant 24 heures.

- le résultat positif se traduit par un virage de la couleur du milieu du jaune au rouge.

- **Isolement et enrichissement secondaire :**

- à partir du milieu d'enrichissement primaire positif: isoler 0.1ml sur gélose HECTOENE+additif SFB sélénite azide de sodium (une ampoule par flacon de gélose) coulée et solidifiée dans de boîtes de pétri ; et prélever 1ml dans un tube stérile contenant 9ml du SFB (S/C+cystéine) pour un enrichissement secondaire.

- incuber les deux à 37°C pendant 24 heures.

- **Isolement et lecture :**

- à partir du milieu d'enrichissement secondaire ; isoler 0.1ml sur gélose HECTOENE+additif SFB sélénite azide de sodium (une ampoule par flacon de gélose) coulée et solidifiée dans de boîtes de pétri pour un deuxième isolement ;

- les colonies Salmonelles apparaissent sur la gélose HEKTOENE en couleur bleu verdâtre ou gris bleu avec ou sans centre noire.

F. Recherche et dénombrement des levures et moisissures :

- **Principe :**

Les levures et les moisissures peuvent pousser sur milieu Sabouraut sélectif par addition de chloramphénicol (antibiotique très actif sur les bacilles Gram-) (**Bourgeois et Leveau, 1980**).

- **Mode opératoire (NA 59 11, 1996) :**

- à partir de la suspension mère ou des dilutions décimales, transférer aseptiquement 1ml de produit à analyser dans des boites de pétri stériles ;
- couler dans chacune des boites de pétrie, environ 15ml de gélose Sabouraut au Chloramphénicol, fondu puis refroidie et maintenue à $47\pm 2^{\circ}\text{C}$ dans un bain d'eau ;
- mélanger soigneusement avec des mouvements de va et vient et en forme de «8» pour bien homogénéiser la gélose et l'inoculum ;
- laisser le mélange se solidifier sur une paillasse et horizontale pendant 15 minutes ;
- incuber les boites couvercle en bas à 22°C pendant 5 jours.

- **Lecture :**

Pour le dénombrement des colonies, faire la distinction entre les levures et les moisissures selon leur aspect macroscopique : les moisissures sont des colonies toujours pigmentées, à l'aspect velouté plus ou moins renflés et les levures sont des colonies ressemblant à celle des bactéries, peuvent avoir des bords réguliers ou irréguliers, des formes convexes ou plates et sont souvent opaques.

Multiplier le nombre trouvé par l'inverse de la dilution et les résultats sont exprimés en UFC/ml ou UFC/g de produit analysé.

II.2.2.3 produit fini :

A. Recherche et dénombrement des coliformes en milieu solide VRBL :

- **Principe :**

Cette méthode est basée sur le fait qu'une cellule, placée sur un milieu solide favorable : gélose VRBL donnera naissance à une colonie macroscopiquement visible.

- **Mode opératoire :**

- **Ensemencement et incubation :**

- A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 2 fois 1 ml dans des boîtes de Pétri vides préparées à cet usage et numérotées.
- Couler ensuite chaque boîte avec la gélose VRBL, fondue puis refroidie à 45 ± 1 °C.
- Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée.

Une série de boîtes sera incubée à 37°C, pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de Coliformes totaux.

L'autre série sera incubée à 44 °C pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de Coliformes fécaux.

- Que se soit à 37 ou à 44 °C, les premières lectures se feront au bout de 24 h et consistent à repérer les petites colonies rouges ayant poussé en masse mais fluorescentes, ce qui signifie que la lecture doit se faire dans une chambre noire et sous une lampe à UV. Les autres colonies non fluorescentes ne sont ni des coliformes totaux ni des coliformes fécaux.

- **Lecture et dénombrement :**

- Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes en tenant compte des facteurs de dilutions, de plus :
- Les colonies apparaissent rouges à violettes de 0,5 à 1 mm de \odot entourées d'un halo de précipité des sels biliaires.
- Ne dénombrer que les boîtes contenant entre 30 et 300 colonies.
- Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.
- Il est impossible de trouver plus de Coliformes fécaux que de Coliformes totaux.

B.Recherche de *Staphylococcus aureus* :

- ***Méthode d'enrichissement au milieu de GiollitiCantonii :***

Au moment de l'emploi, ouvrir aseptiquement le flacon contenant le milieu de GiollitiCantonii pour y ajouter 15 ml d'une solution de Téliurite de Potassium.

Mélanger soigneusement. Le milieu est alors prêt à l'emploi.

- **Ensemencement :**

A partir des dilutions décimales retenues, porter aseptiquement 1 ml par dilution dans un tube à vis stérile.

Ajouter par la suite environ 15 ml du milieu d'enrichissement et bien mélangé le milieu et l'inoculum.

- **Incubation :**

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

- **Lecture :**

Seront présumés positifs, les tubes ayant virés au noir.

Pour s'assurer qu'il s'agit bien d'un développement de *Staphylococcus aureus*, ces tubes feront l'objet d'une confirmation par isolement sur gélose Chapman préalablement fondue, coulée en boîtes de pétri et bien séchées.

Les boîtes de Chapman ainsi ensemencées 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 de 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, et à l'isolement, il y a des colonies caractéristiques, il faut tenir compte de la dilution en question, car le nombre réel de *Staphylococcus aureus* correspond à l'inverse de la dilution.

Dans ce cas, il y a donc 10 *Staphylococcus aureus* par gramme ou millilitre de produit à analyser

C. Recherche et dénombrement de Levures et Moisissures :

A partir des dilutions décimales, 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 4 gouttes dans une boîte de pétri contenant de la gélose OGA ou Sabouraud au Chloramphénicol.

Etaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile, puis incuber à 25°C pendant 3 à 5 jours.

Dans le souci de ne pas se trouver en face de boîtes envahies soit par les Levures soit par les moisissures, on doit effectuer des lectures et des dénombrements tous les jours, Levures à part et les moisissures à part.

Remarques importantes :

Opérer de la même façon et dans les mêmes conditions, avec le diluant (TSE), c'est-à-dire qu'il faut prendre quatre gouttes du diluant, les étaler avec un râteau à part et les incubes dans le même endroit que les boîtes tests, cette boîte constitue le témoin diluant.

Incuber telle quelle, une boîte du milieu utilisé à savoir OGA ou Sabouraud, cette dernière sera incubée également telle quelle dans le même endroit et dans les mêmes conditions de température, elle constitue le témoin du milieu.

Au moment de la lecture, commencer obligatoirement par les deux boîtes témoin milieu et diluant, si l'une d'entre elles est contaminée, l'analyse est ininterprétable donc à refaire.

- **Lecture et Interprétation des résultats :**

Les colonies de levures sont brillantes, rondes pigmentées de forme convexe (arrondi, régulier vers l'extérieure) ou plates et souvent opaques.

Les colonies des moisissures sont épaisses, filamenteuses, pigmentées ou avec un aspect velouté, parfois envahissantes

- après 48 h d'incubation, repérer chaque jour les colonies sur les boîtes
- dénombrer les colonies de levures et de moisissures sur les boîtes présentant au total 10 à 100 colonies.

- **Expression des résultats :**

Exprimer les résultats par un nombre de levures et de moisissures compris entre 1,0 et 9,9 x 10ⁿ par gramme de produit.

II.2.4 Dénombrement des ferments lactique :

Pour les ferments lactiques, on travaille avec les dilutions 10⁵, 10⁻⁶, et 10⁻⁷.

II.2.4.1. Dénombrement de *Lactibacillus bulgaricus* :

Préparer 6 boîtes de pétri stérile ,puis les ensemercer comme suit :

- Pour chaque dilution ensemercer 2 boîtes avec 1 ml de la dilution appropriée puis couler dessus le milieu MRS fondu est refroidi à 42°C ,puis faire des mouvements en forme de 8 pour bien homogénéiser le milieu et l'inoculum.
- Commencer par la plu forte dilution pour ne pas changer de pipette.
- Après solidification du milieu ,ajouter une deuxième couche du milieu MRS ou de gélose blanche, afin de crée l'anaérobiose.
- Incuber à 37°C pendant 2 jours.
- Dénombrer les colonies et exprimer le résultat en germes/g de produit
(*Anonyme ,2004*).

Technique du dénombrement :

- ❖ Examiner le boîtes, et choisir celles contenant entre 15 et 300 colonies (si possible....).
- ❖ Compter avec soin les colonies en marquant au fur et à mesure, à l'aide d'un marqueur, sur le fond extérieur de la boîte.
- ❖ Interpréter les résultats en faisant par exemple la moyenne des résultats obtenus pour les deux boîtes de la même dilution (**Joffin et Joffin, 2000**).

II.2.4.2. Dénombrement de *Streptococcus thermophilus* :

Préparer 6 boîtes de pétri stérile.

- Pour chaque dilution ensemercer 2 boîtes avec 1 ml de dilution appropriée puis couler le milieu M17, fondu et refroidi à 42°C, bien homogénéiser le milieu et l'inoculum (mouvement de 8).
- Incuber 3 jours.
- Dénombrer les colonies et exprimer le résultat en UFC /g, comme pour *L.bulgaricus*.

Confirmation par examen microscopique :

Prendre au hasard des colonies suspectes caractéristique et distinctes de *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* qui feront l'objet d'une identification morphologique qui se déroule comme suit :

- ❖ **Etat frais :**

Déposer une goutte d'eau sur une lame contenant une colonie , une lamelle est ensuite appliquée sur la goutte ; l'observation est réalisée grossissement (x40).

Cet examen met en évidence la mobilité, la forme et mode de regroupement.

❖ **Coloration de Gram :**

- Réaliser un frottis qui consiste en un étalement de la colonie sur ,une lame.
- Effectuer un séchage par plusieurs passages de courte durée au dessus du bec Bensen.
- Recouvrir la lame avec violet de Gentiane pendant une minute.
- Rincer à l'eau.
- Découler avec l'alcool pendant 30 secondes puis rincer une deuxième fois à l'eau.
- Effectuer une deuxième coloration avec la fus chine pendant une minute.
- Rincer à l'eau puis sécher la lame.
- Observer au microscope à l'objectif (x100),une goutte d'huile déposée entre le frottis et l'objectif donne une image plus nette.

Cette coloration permet de distinguer les bactéries Gram positif des Gram négatif.

Les *Streptococcus* et le *Lactobacillus* sont respectivement des *cocci* et bacilles immobiles et à Gram positif .

Chapitre III : Résultats et discussion

III.1. Résultats de l'analyse physico-chimique :

Les analyses physicochimique, ont portés sur la matière première (eau de process, lait entier en poudre) et le produit fini.

III.1.1. Contribution de la qualité :

III.1.1.1. Matière première :

A. L'eau de process :

Les résultats des analyses physico-chimiques effectuées sur l'eau de process sont présentés tableau IV

Tableau IV : Résultats des analyses physico-chimiques de l'eau de process.

Echantillons Paramètres	1	2	3	Normes A.F.N.O.R (1986)
pH (à 20°C)	7.57	7.53	7.44	7- 8
Cl₂ (mg/L)	0	0	0	0
Cl⁻ (mg/L)	36.5	30	24.5	< 39
TA (F°)	0	0	0	0
TAC (F°)	25	21	23	< 26
TH (F°)	12	14	13	10 -15

A.F.N.O.R : Association Française de Normalisation.

TA : Titre Alcalimétrique

TAC : Titre Alcalimétrique Complet

TH : Titre Hydrométrique

Il est connu qu'un traitement des eaux de la laiterie est nécessaire car la circulation d'une eau chargée (de sels et de calcaire), a pour effet de créer des dépôts, d'où l'importance de l'installation d'une station de traitement des eaux.

- Les résultats du pH des trois (3) échantillons de l'eau de process sont respectivement de 7.56, 7.52 et 7.44, d'où leur conformité parfaite aux normes **AFNOR (1986)** qui exigent une valeur comprise entre 7 et 8.

Selon **Lauze (2002)**, le pH varie en fonction de la température de l'eau. Pour la consommation humaine, sa valeur doit être la plus proche possible de la neutralité. On considère que les normes de santé sont respectées si, le pH est compris entre 6.5 et 8, à une température de 20°C.

D'après **Brèmaud (2006)**, le potentiel d'hydrogène (pH) est un coefficient qui caractérise l'acidité ou la basicité d'une eau. Le pH d'une eau inférieure à 7, ou acide, peut provoquer une corrosion des tuyauteries métalliques ; supérieur à 8, il entraîne une diminution de l'efficacité du processus de désinfection au chlore, et peut conduire à des dépôts incrustants dans les circuits de distribution./

- La teneur en Cl₂ est nulle (0) pour l'ensemble des échantillons étudiés, ce qui est conforme aux normes **AFNOR (1986)**.

En 1997, Desjardins dans une étude, a montré que les produits chimiques les plus utilisés pour obtenir une désinfection des eaux par le chlore est l'hypochlorite de sodium (eau de javel) ; et selon **Rodier (2005)**, une dose trop forte laisserait à l'eau traitée une saveur désagréable. Après traitement de l'eau par le chlore, on utilise le charbon actif pour éliminer le chlore résiduel (quantité totale de chlore, libre et combiné aux impuretés), dans le but d'éliminer le goût et les odeurs indésirables causés par le traitement, qui peuvent influencer sur la qualité du produit.

- On a obtenu pour les trois (3) échantillons étudiés, un taux de Cl₂ de 24.5, 30 et 36.5 mg/l, ces valeurs sont conformes aux normes **AFNOR (1986)**, qui exigent une valeur inférieure à 39 mg/l. D'après **Bliefert et Perraud (2001)**, la teneur élevée en chlore dans l'eau de process, est un risque pour la santé du consommateur et pour la technologie agroalimentaire, il forme des substances chlorées dangereuses dites organochlorées pour la santé avec les composés organiques solubles dans l'eau.

■ La valeur du TA est nulle pour l'ensemble des échantillons étudiés. Par contre la valeur du TAC pour les trois échantillons étudiés est respectivement de 25, 22 et 23°F. Alors que La valeur du TH pour les trois échantillons, est respectivement de 12,15 et 13°F. Ces valeurs sont conformes aux normes **AFNOR (1986)**, qui exigent pour le TAC une valeur inférieure de 26 °F, pour le TA une valeur nulle et pour le TH une valeur comprise entre 10 et 15 °F. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'eau est adoucie au niveau de deux grandes colonnes à résine cationique. Cette opération vise à éliminer les impuretés persistantes, et à réduire le taux de dureté de l'eau exprimé par sa teneur en sels de calcium (Ca^{+2}) et magnésium (Mg^{+2}).

Selon **Rodier (2005)**, la dureté de l'eau est exprimée par les paramètres suivants : TA, TAC, TH et selon **Desjardins (2007)**, une dureté élevée a des effets d'ordre esthétique et organoleptique et est responsable de dépôt de calcaire dans les canalisations et les dispositifs industriels.

Il est connu que la dureté de l'eau est associée à la présence d'ions métalliques bivalents en solution (Ca^{2+} , Mg^{2+} , etc.). Lorsque la dureté de l'eau dépasse les normes, elle entraîne l'entartrage et la corrosion des installations et des tuyauteries, et elle est de moindre qualité, ce qui peut influencer sur la qualité du produit dans le quel cette eau sera utilisée, et est même inacceptable pour la plupart des utilisations domestiques.

Les usines de transformation du lait sont de grandes consommatrices d'eau, tant pour l'utilisation en fabrication que pour le fonctionnement des différents équipements (**Scriban, 1988**). Selon **Larpent (1997)**, « l'eau de reconstitution représente une grande proportion dans la composition du lait » et pour cela elle doit être :

- ❖ débarrassée de sels, de chaux et de magnésium afin d'éviter l'entartrage des appareils et des conduites.
- ❖ d'une pureté chimique satisfaisante ne contenant pas des ions métalliques.

L'ensemble des résultats obtenus nous permet de conclure que l'eau de process est de bonne qualité physico-chimique, cela reflète la bonne conduite et l'efficacité des traitements utilisés au niveau de l'unité et permet son utilisation sans risque pour les installations de fabrication et éviter principalement les phénomènes de précipitations des sels au niveau des pasteurisateurs et de la tuyauterie.

B.la poudre de lait :

Les résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lait 26% de MG sont résumés dans le tableau V.

Tableau V: Résultats des analyses physicochimiques de la poudre de lait 26%MG.

Echantillons Paramètres	1	2	3	Normes A.F.N.O.R (1986)
Acidité (D°)	12	12	13	11-14
MG (%)	26.5	26.5	26	25,5-26,5
humidité(%)	3.50	3.53	3.80	3-5

A.F.N.O.R : Association Française de Normalisation.

EST: Extrait sec total.

MG: Matière grasse.

■ Les résultats de l'acidité titrable pour les trois (3) échantillons étudiés, sont respectivement de 12,12 et 13°D, ces résultats sont conformes aux normes AFNOR (1986), qui exigent des valeurs comprises entre 11 et 14 °D.

L'acidité du lait ou d'un produit laitier est la quantité d'acide lactique libérée par transformation du lactose en acide lactique ; une élévation de l'acidité peut être due aux microorganismes qui auraient fermenté les sucres et spécialement le lactose, ce qui affecte les laits intermédiaires en altérant les membranes des globules grasses, et favorisant le rapprochement et la soudure des globules grasses et ainsi la formation de la crème.

Selon **Alais et al. (2008)** une acidité élevée peut être causée par l'activité des bactéries acidifiantes contaminant le lait.

■ Le taux de matière grasse (MG) est conforme aux normes **AFNOR (1986)**, pour les trois (3) échantillons étudiés, leurs valeurs sont respectivement de 26.5, 26.5 et 26% qui exigent des valeurs comprises entre 25.5 et 26.5%.

La composition du lait est souvent adaptée pour répondre aux exigences technologiques et normatives au niveau du produit fini, cette adaptation concerne en particulier la modification quantitative des teneurs en matière grasses (**Jeantet et al., 2001**), elle est de 26% au moins pour la poudre de lait entier (**Pointurier, 2003**), et selon **Luquet (1986)** et **Alais et al., (2003)**, un lait en poudre entier est un produit assez fragile, et lorsque sa teneur en matière grasse dépasse les normes, sa augmente les risques d'oxydation et de rancissement.

- Les résultats obtenus pour les trois (03) échantillons concernant Le taux de l'extrait sec total (EST), ils sont respectivement de 96.51, 96.47 et 96.21%, il sont conformes aux normes **Trefle (2009)**,qui exigent des valeurs comprises entre 95 et 97%. cela indique la richesse du lait en (protéines, lactose, matière grasse) ce que lui confère une bonne consistance et texture au yaourt.

La conformité de nos résultats aux normes, indique le bon séchage ou dessiccation du lait, évitant ainsi l'activité de l'eau qui pourrait être à l'origine du développement de microorganisme pathogène.

Selon **Eck et gillis (1997)**, la qualité de la poudre de lait ainsi que leurs caractéristiques, peuvent être très variables en fonction des modalités de leur fabrication et des conditions de leur stockage.

On peut conclure que la poudre de lait est de bonne qualité physico-chimique, due probablement au procédé de fabrication et au respect des conditions de stockage.

II.1.1.2.Résultats de l'analyse physico-chimique duproduit fini :

Les résultats des analyses physicochimique effectuées sur le produit fini sont présentés tableauVI.

Tableau VI: Résultats des analyses physicochimique du produit fini

Echantillons Paramètres	1	2	3	Normeslaiterie Trèfle(2009)
pH (à 20°C)	4,70	4,69	4,7	4,1-4,7
Acidité (°D)	75	79	76	75-105
MG %	3,6	3,6	3,6	3-4
EST %	13,86	13,81	13,84	12,50-14

--	--	--	--	--

▪ Les résultats du pH des trois (03) échantillons de produit fini sont respectivement de 4,70, 4,68 et 4,70, d'où leur conformité parfaite aux normes Trèfle (2009), ces résultats montrent que le pH est moyennement acide. Cette acidification est dû à la dégradation de l'acide lactique à partir du lactose, ce qui abaisse le pH et augmente la saveur acide du yaourt. **(Hermier et Accolas, 1990).**

▪ Les résultats de l'acidité titrable pour les trois (03) échantillons étudiés, sont respectivement de 75, 79 et 76 %, ces résultats sont conformes aux normes **Trèfle (2009)**, cette acidification peut être due à la libération des acides par des activités microbiennes, selon **Mahaut et al, (2000)** cette acidification résulte de la dégradation du lactose en acide lactique et aussi de l'activité protéolytique et lipolytique des ferments lactiques qui libèrent des acides aminés et des acides gras, aboutissant à la diminution du pH. Selon **Beal et Sodini, (2001)** l'évolution de pH est inversement proportionnelle à la concentration en acide lactique.

▪ La teneur en matière grasse indique 3,6 % pour les trois échantillons étudiés ce qui conforme aux normes **Trefle (2009)** qui exigent des valeurs comprises entre 3-4 %, cette stabilité de MG peut être dû à la matière première du produit utilisé qui provient du même fournisseur, par ailleurs il est établi que l'unité **Trèfle** utilise un taux de matière grasse qui permet de classer le yaourt dans la catégorie des yaourts entiers du fait de leur préparation avec du lait entier. D'après **Vignola (2002)**, un yaourt peut avoir un contenu en matière grasse situant entre 0.1 et 10%.

▪ Les résultats obtenus pour les trois (03) échantillons concernant le taux de l'extrait sec total (EST), sont respectivement de 13,85 . 13,83 et 13,80%, ils sont conformes aux normes **Trèfle (2009)**, qui exigent des valeurs comprises entre 12,50 et 14 % , l'altération du yaourt peut avoir lieu pendant le stockage, selon **Dilmi-Bouras(2004)**, l'altération biochimique des aliments qui causera l'oxydation (rancissement), qui est la dégradation des acides gras, provoque une altération de l'odeur, de la couleur et du goût de l'aliment, et que ces altérations sont plus importantes en fonction de la teneur en eau des produits alimentaires.

Les résultats des analyses physicochimiques du yaourt révèlent que l'ensemble des paramètres physico-chimiques étudiés (pH, acidité, matière grasse, extrait sec) sont conformes aux normes fixées par **Trèfle (2009)**. Et nous pouvons dire que le produit fini (yaourt light) est de bonne qualité physico chimique, ce qui traduit par la bonne qualité de la matière première (l'eau de process ,poudre de lait) et le bon traitement du lait, les procédés utilisés et

la conduite des différentes phases de préparation.

II.2.1. Suivi de la stabilité physicochimique du produit fini :

Les résultats des analyses physico-chimiques (pH, acidité, matière grasse et l'extrait sec total) du produit fini (yaourt light) stocké à 4°C avant sa date limite de consommation et deux (02) semaines après, sont comme suit :

A. Variation du pH du yaourt light avant et après la DLC :

La variation du pH du yaourt durant son stockage à 4°C est présentée figure 3

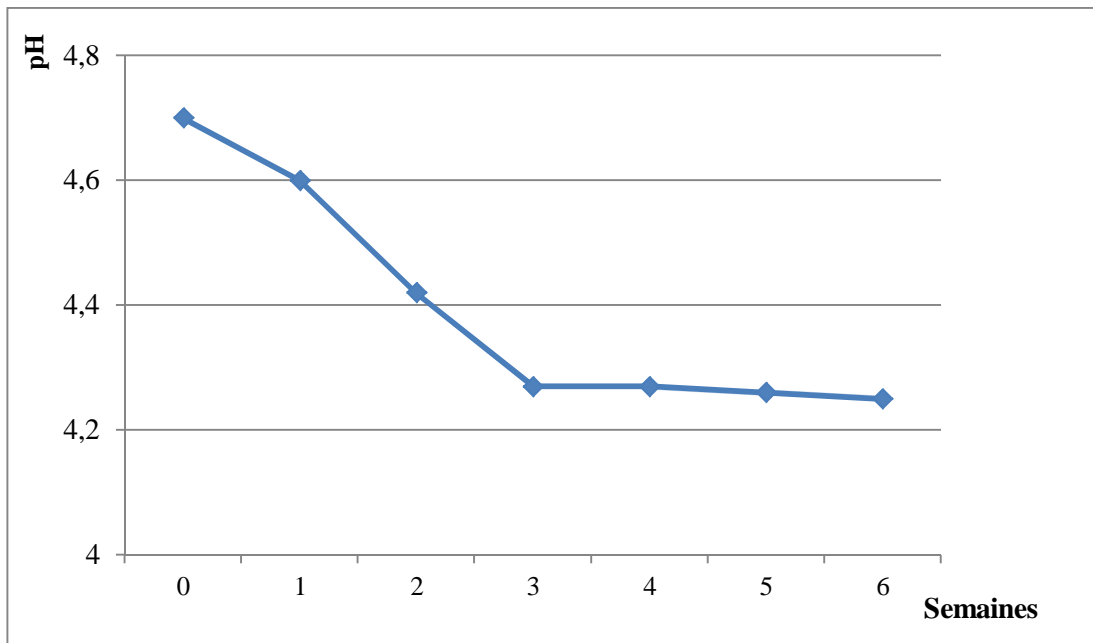


Figure 3 : Variation du pH du produit fini avant et après la DLC

Les résultats de l'analyse du pH du produit fini avant et après la DLC ont donné des valeurs conformes à la norme **Trefle(2009)** et qui est de 4,1 à 4,7

Avant la DLC nous constatons que la courbe de pH peut être divisée en deux (02) phases, une première allant de la première à la troisième semaine correspondant à une baisse négligeable du pH de 4,70 à 4,27, vu que les valeurs restent toujours dans la norme, ceci est dû à la température de stockage qui empêche la multiplication des microorganismes, selon **Larpent (1991) et Jeantet et al., (2006)** le yaourt doit être conservé au froid, à une température qui ne doit pas dépasser 8°C, dans ces conditions les bactéries du yaourt ne se multiplient pas, mais conservent néanmoins une activité microbienne qui n'est pas inhibée totalement, c'est ainsi que l'acide lactique est encore produit à partir du lactose, ce qui abaisse le pH.

Par la suite, on distingue une deuxième phase qui montre une stabilité du pH=4,27 durant la quatrième semaine de la DLC, et même après deux (02) semaines de la DLC, cette stabilité peut être expliquée par la diminution progressive du nombre de bactéries lactiques. et que les bactéries lactiques entre dans la phase stationnaire selon la courbe de croissance microbienne, et selon **courtin (2002)** la stabilité de pH du a la synergie entre les *S.thermophilus* qui consomme les acides aminés dégradés par *L.bulgaricus* et ce dernier consomme les acides formiques et foliques libérés par les *S.thermophilus*, c'est la proto-coopération.

Et Selon **Larpen (1991) et Jeantet et al., (2006)** le yaourt doit être conservé au froid (8°C). Dans ces conditions les bactéries du yaourt ne se multiplient pas.

1.2. La Variation de l'acidité titrable (exprimée en degré Dornic : °D)

Les résultats de l'acidité titrable sont mentionnés figure 4:

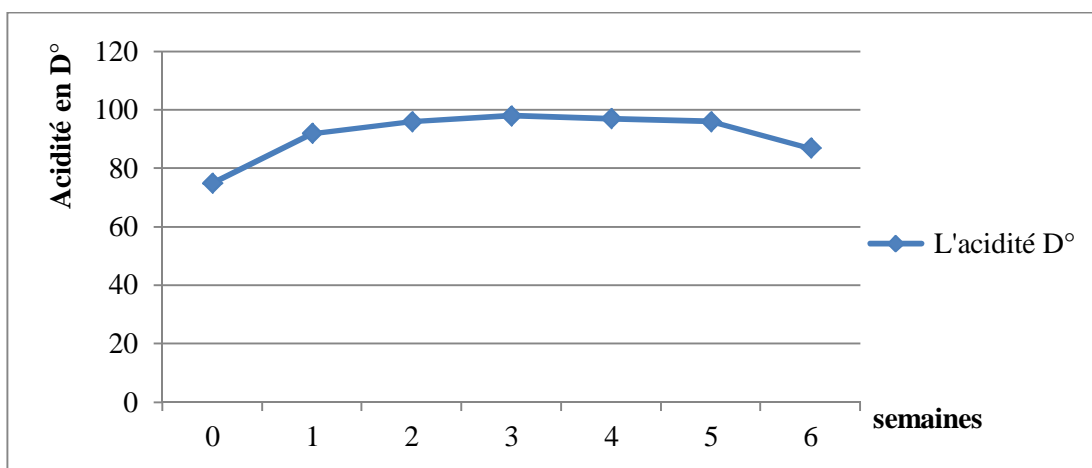


Figure 4: Variation de l'acidité titrable du yaourt au cours du stockage.

Ces valeurs sont conformes aux normes exigées par le **Trefle(2009)** et qui est de 75 à 105, durant toute les périodes d'analyse (avant la DLC et après deux (02) semaine, selon **Elizabeth (2008)** « la teneur en acide lactique doit être au moins 0,7 g/l à la vente du yaourt ».

- Avant la DLC nous constatons que la courbe montre une augmentation progressive de l'acidité de 75 à 97°D, cela s'explique par la production de l'acide lactique par la dégradation du lactose, car selon la **FAO (2000)** le maintien des yaourts au froid n'arrête pas complètement l'activité métabolique bactérienne, bien que lente la production d'acide lactique continue, et Selon **Beal et Sodini (2003)** la diminution du pH favorise l'activité des ferments lactiques qui se traduit par la production en masse d'acide lactique,

l'acidification résulte de la dégradation du lactose en acide lactique et aussi de l'activité protéolytique et lipolytique des ferments lactiques qui libèrent des acides aminés et des acides gras, aboutissant à la diminution du pH (**Beal et Sodini, 2001**) l'évolution de pH est inversement proportionnelle à la concentration en acide lactique. (**Mahaut et al., 2000**).

- Après la DLC, la courbe montre une stabilité durant une semaine, cela peut être expliqué par la poursuite bactérienne. la deuxième semaine après la DLC montre une diminution de l'acidité de 97 à 90°D, ceci peut être dû à l'épuisement du milieu en substrats de croissance

D. La teneur en matière grasse :

Les résultats de la matière grasse sont portés figure 5.

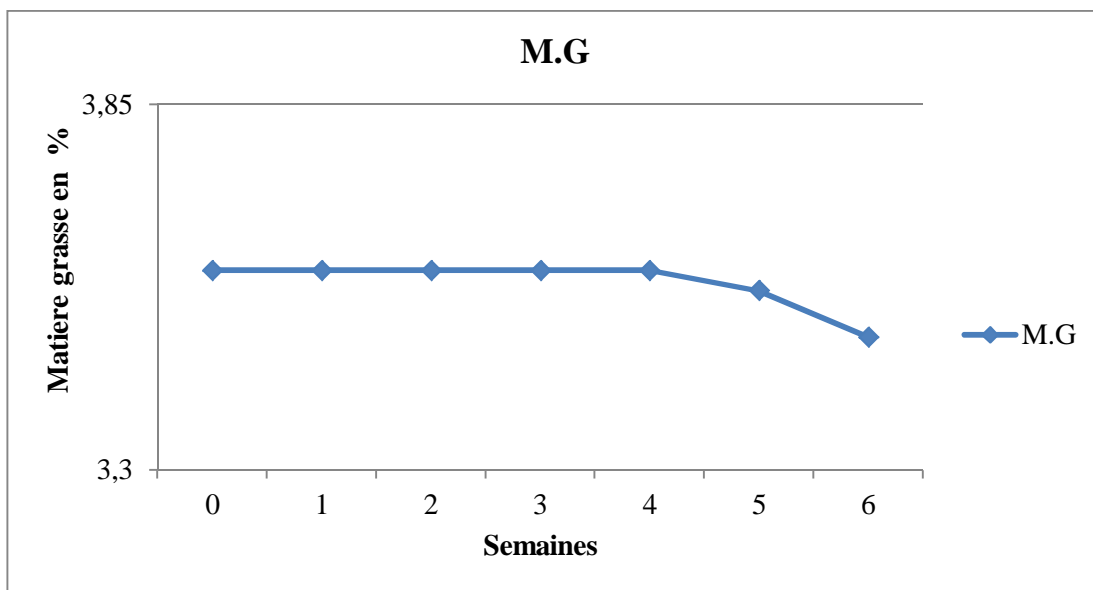


Figure 5 : Variation de la matière grasse au cours du stockage.

D'après les résultats illustrés figure, nous remarquons que le taux de MG le yaourt light est conforme à la norme de l'entreprise qui est de 3 à 4 %.

- Avant la DLC la teneur en matière grasse du yaourt est de 3,6%, cette valeur reste stable qui est peut être due à la période de stockage, selon **Luquet (1986)**, aux conditions de stockage : à l'abri de l'air, à l'abri de la lumière, et à l'abri de la chaleur et selon **Bonnefoy et al., (2002)**, Ceci est également dû à la non contamination par la flore lipolytique, y compris les Levures et les Moisissures.

- Après la DLC la figure 5 nous montre une légère diminution du taux de MG en fonction du temps qui est probablement due à une faible activité lipolytique des ferments lactiques.

La présence de la MG accroît les risques d'oxydation et de rancissement au cours de la conservation et surtout lorsque les boîtes sont ouvertes, ce qui a été confirmé par **Keilling et Dewilde, (1986)**

1.3. La variation de l'extrait sec :

La variation de la matière sèche pendant le stockage de (six semaines) est portée figure 6.

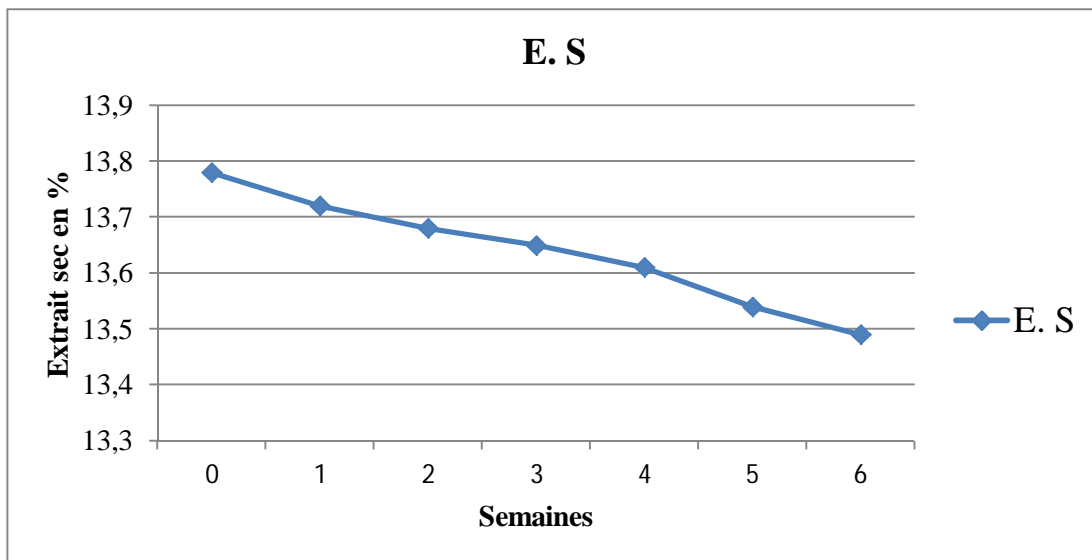


Figure 6: Variation de la matière sèche au cours du stockage.

D'après les résultats illustrés figure 6 nous remarquons que le taux de l'EST de yaourt light est conforme à la norme de l'entreprise 12,50-14%.

Avant la DLC nous remarquons une légère diminution du taux de l'EST en fonction du temps qui est probablement due à une faible activité protéolytique des ferments lactiques par les enzymes protéases qui hydrolysent les caséines en constituants plus petits (polypeptides, peptides et acides aminés), ce qui implique ainsi la diminution de la matière sèche totale (**Lorient et Philippe, 1998**). Cette diminution est entre 13,78 à 13,61% jusqu'à la 4^{ème} semaine

Et même après la DCL nous pouvons dire, que nos résultats conformes aux normes de Trèfle.

Selon **Mahaut et al(2000)** la teneur en matière sèche laitière pour le yaourt se situe entre 14% et 16% avec des valeurs extrêmes de 12 à 20%. Cette variation s'explique notamment par l'hydrolyse de l'aspartame qui dépend de la température et du temps, par conséquent, cette

dégradation mènerait à une diminution de la douceur globale du produit selon **Gliemmo et al. (2008)** car l'aspartame montre une synergie de pouvoir sucrant avec l'acésulfame K et permet d'atténuer les arrières goûts de ces édulcorants.

II.2. Résultats de l'analyse microbiologique :

II.2.1. Contribution de la qualité :

II.2.1.1 Matière première :

Les analyses microbiologiques, ont porté sur la matière première a savoir l'eau de process, la poudre de lait 26% MG.

A. L'eau de process :

Les résultats obtenus lors de l'analyse microbiologique de l'eau de process sont présentés tableau VII.

Tableau VII: Résultats des analyses microbiologiques de l'eau de process.

Numéro d'échantillon Germes recherchés	1	2	Normes J.O.R.A (1998)
Germes totaux à 30°C	Abs		20 germes /ml
Coliformes totaux	Abs		<10 germes /100ml
Coliformes fécaux	Abs		Abs /100ml
Streptocoques fécaux	Abs		Abs /100ml

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

Abs=Absence

▪ La recherche des germes totaux à 30°C, des Coliformes totaux et fécaux, des Streptocoques fécaux, a montré l'absence de l'ensemble de ces germes dans les deux (02) échantillons de l'eau de process, d'où la conformité aux normes de **J.O.R.A (1998)**.

▪ Ces résultats montrent que l'eau de reconstitution est de bonne qualité microbiologique démontrée par l'absence des germes pathogènes ou non dont les GAM qui selon **Bourgeois et al. (1996)**, renseignent sur la qualité globale du produit. Et l'absence des coliformes totaux, fécaux ainsi que les *streptocoques fécaux* qui selon **Joffin et Joffin (2000)** sont des indices de contamination fécale. D'ailleurs **Bourgeois et Leveau (1991)**, leur

présence est indésirable dans les eaux en raison des problèmes sanitaires et organoleptiques qui peuvent résulter de leur introduction.

▪ Selon **Jeantet et al. (2006)**, on trouve d'une manière générale assez peu de microorganismes pathogènes dans l'eau, sauf si celle-ci a été en contact avec une source de contamination par des matières fécales qui peut présenter un large éventail de maladies bactériennes

L'ensemble des résultats obtenus reflètent que l'eau de process est de bonne qualité microbiologique, celle ci est due à l'efficacité du traitement surtout l'addition de composés chimiques à effet bactéricide, tels que le chlore qui permet d'éliminer les microorganismes pathogènes et les bactéries ainsi que la majorité des germes banaux (**Cardot,1999**), mais nous supposons également que cette bonne qualité est due a l'efficacité du traitement et au contrôle quotidien que subit l'eau de forage au niveau de la laiterie «Trèfle».

B. la poudre de lait :

Les résultats de l'analyse microbiologique effectuée sur la poudre de lait sont présentés tableau VIII.

Tableau VIII: Résultats des analyses microbiologiques de la poudre de lait 26%MG.

L'échantillon Germes recherché	1	2	Normes J.O.R.A (1998)
Germe aérobies mésophiles à 30°C	20(10 ⁻¹)	60(10 ⁻¹)	2.10 ⁵ -2.10 ⁶
Coliformes totaux	Abs	Abs	1-10
Coliformes fécaux	Abs	Abs	ND
<i>Staphylococcus aureus</i>	Abs	Abs	Abs
Salmonelles	Abs	Abs	Abs
Levures et moisissures	Abs	Abs	ND

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

(10⁻¹)=dilution décimale

▪ Les résultats d'analyse microbiologique de la poudre de lait ont montrée l'absence totale des germes indicateurs de contamination fécale ainsi que l'absence des germes pathogènes (salmonelles, *S.aureus*).Selon **Leyral et Vierling (2007)**,leur ingestion provoque des toxi-infections alimentaires.

- la présence de GAM à un taux très faibles dans les deux (02) échantillons peut être dû à une contamination lors du prélèvement ou lors de la manipulation, mais on note que leur charge reste inférieure aux normes.

La conservation de la poudre de lait doit être sous emballage, lequel permet une isolation complète du produit de l'air ambiant, de l'humidité et de l'oxygène. Selon **François (1986)** : « l'oxygène de l'air permet une oxydation des graisses au cours de conservation, ce qui est responsable des altérations des caractéristique organoleptiques du produit »

- l'absence des levures et moisissures bien que tolérées par les normes nous amène à dire que les conditions de stockage sont bonnes ; selon **Fine et Gervais (2007)**, la faible activité de l'eau caractérisant la poudre de lait réduit et inhibe le développement microbien ainsi le produit est microbiologiquement stable tant qu'il demeure à l'état sec.

L'ensemble des résultats obtenus lors de l'analyse microbiologique reflètent que la poudre de lait utilisé est de bonne qualité microbiologique, cela peut être explique par une bonne hygiène lors de sa préparation ainsi que les bonnes conditions de stockage, et surtout de la manipulation pendant la préparation des échantillons pour les différente analyses microbiologique.

II.2.1.2. Produit fini :

Les résultats de l'analyse microbiologique effectuée sur le produit fini sont présentés tableau IX.

Tableau IX: Résultats des analyses microbiologiques du yaourt Light au moment de sa fabrication et pendant la conservation à 4°C

Germes \ semaines	J0	Normes JORA(1998)
<i>Coliformes totaux (germes/mL)</i>	Abs	10
<i>Coliformes fécaux (germes/mL)</i>	Abs	1
<i>Staphylococcus aureus (germes/mL)</i>	Abs	10
Levures(germes/mL)	Abs	<100
Moisissures (germes/mL)	Abs	Absence

J₀ : a la fin de la production

Les résultats de l'analyse microbiologique du produit fini, ont montrés une absence totale des germes pathogènes *Staphylococcus aureus* et de coliformes totaux et fécaux et des germes aérobies mésophiles ainsi que les germes d'altération (levures et moisissures). Cette absence totale de la microflore renseigne sur les conditions d'hygiène du matériel et de la qualité de la matière première utilisée lors de la fabrication du yaourt et surtout l'hygiène du personnel ; elle renseigne aussi sur la méthode de pasteurisation car elle joue un rôle très important dont l'élimination ou la réduction de la charge microbienne. D'après **Oteng et Yang (1984)**, les objectifs de la pasteurisation sont nombreux parmi eux: destruction de tous les microorganismes pathogènes non sporulé, prolongation du temps de stockage, destruction des enzymes, les lipases par exemple, destruction des levures, moisissures et de la plupart des cellules végétatives bactériennes.

En finalité nous pouvons dire que le yaourt possède une bonne qualité microbiologique et hygiénique.

Ces résultats confirment l'utilisation d'une matière première de bonne qualité hygiénique et les bonnes conditions opératoires lors de fabrication du yaourt.

II-2-Suivi de la stabilité microbiologique du produit fini :

Les résultats de l'analyse microbiologique effectuée sur le produit fini pendant leur stockage sont représentés tableau X.

Tableau X : Résultats des analyses microbiologiques du yaourt Light au cours de stockage

semaines Germes	Au cours de stockage						Normes JORA(1998)
	1	2	3	4	5	6	
<i>Coliformes totaux</i> (germes/mL)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
<i>Coliformes fécaux</i> (germes/mL)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	1
<i>Staphylococcus aureus</i> (germes/mL)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	10
Levures(germes/ mL)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	<100
Moisissures (germes/mL)	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Abs	Absence

Les résultats obtenus lors de l'analyse microbiologique effectuée sur le produit fini, montrent une absence totale de germes durant la période de conservation et même après deux (02) semaine de sa date limite de consommation; nous pouvons déduire que la matière première utilisé dans la fabrication de ce yaourt été de bonne qualité hygiénique et que les conditions de fabrication ont été respecté. Il a été annoncé dans une étude faite par **Prescott en 2003**, que les microorganismes peuvent affecter la qualité des aliments pendant toutes les phases de la manipulation.

Cette absence de l'ensemble des microorganismes est due également à l'efficacité des traitements thermiques appliqués, selon **Jeantet et al (2001)**, les traitements thermiques, ont pour but de détruire les microorganismes pour améliorer la qualité hygiénique et allonger la date limite de consommation. Le froid entraine le ralentissement de la croissance et des transformations microbiennes empêchant la multiplication de nombreux germes et permettant une stabilisation totale vis-à-vis des microorganismes (**Guiraud, 1998**). Les matériaux d'emballage utilisés, qui sont imperméables à l'oxygène un tel conditionnement selon **Beal et Sodini (2003)**, empêche la croissance des levures et des moisissures pendant la conservation.

Les yaourts ont une conservation relativement longue par rapport à d'autres produits frais car leur pH acide inhibe la croissance des bactéries (**Figarella et al., 2001**).

Selon **Joffin et Joffin (1985)** et **Prescott et al (2003)**, pour tout le monde, il est important

d'avoir des aliments sains et nutritifs car un aliment contaminé, souillé ou d'une mauvaise qualité hygiénique peut transmettre une large gamme de maladies. Les microorganismes présent dans les aliments qui est un excellent milieu de culture pour leur croissance, se multiplient et produisent des toxines, ces dernières affectent le consommateur en lui causant une intoxication alimentaire qui présente comme symptômes des douleurs abdominale, des diarrhées, des vomissements, allant jusqu'à la mortalité du sujet.

Les résultats des analyses microbiologiques de ce yaourt light, ont montré que la combinaison d'un traitement thermique, d'une bonne qualité microbiologique de la matière première, d'une préparation dans de bonnes conditions opératoires et hygiéniques ainsi qu'une conservation à une basse température (4°C), offrent une meilleure qualité microbiologique au yaourt et lui permet de garder sa qualité microbiologique.

Conclusion

A l'issue de la présente étude qui avait pour objectif d'une part, la contribution de la qualité de la matière première (eau de process et poudre de lait) et du produit fini (yaourt light), et d'autre part, le suivi de la stabilité physico-chimique et microbiologique du produit fini à une température de 4°C, quatre semaines avant la date limite de sa consommation (DLC) et deux semaines après la DLC, les résultats obtenus ont montrés:

*** Concernant la contribution de la qualité :**

Sur le plan physicochimique : la matière première à savoir l'eau de process et la poudre de lait, présentaient une bonne qualité physicochimique, marquée par une conformité aux normes. Cette bonne qualité est due à l'efficacité du traitement effectué et essentiellement l'addition de composés chimiques à l'eau (tels que le chlore), et qui permettent d'éliminer les microorganismes pathogènes et les bactéries ainsi que la majorité des germes banaux.

Sur le plan microbiologique : la matière première à savoir l'eau de process et la poudre de lait, présentent une bonne qualité microbiologique marquée par une absence totale de germes pathogènes, d'altération et indicateurs d'une contamination fécale, cela est due probablement au procédé de fabrication et au respect des conditions de stockage, selon **Dilmi-Bouras (2004)**, l'altération des aliments peut avoir lieu pendant le stockage, comme l'altération biochimique qui causera l'oxydation (rancissement ou dégradation des acides gras), et l'altération microbiologique.

*** Concernant l'étude de la stabilité du yaourt conservé à 4°C :**

- **Sur le plan physicochimique**, nous avons observé durant le suivi de la stabilité du produit fini une diminution du pH, une augmentation de l'acidité, une légère diminution de l'extrait sec total, par contre nous avons noté une stabilité de la matière grasse.

- **Sur le plan microbiologique** on a obtenu l'absence totale des germes pathogènes, d'altération et indicateurs d'une contamination fécale durant toute la période de conservation, voir même après deux (02) semaines de sa DLC.

L'ensemble de ces résultats nous permettent de dire que la matière première et le produit fini

à savoir le yaourt light sont de bonne qualité microbiologique et physicochimique et que les conditions d'hygiène lors de la fabrication, du transport et du stockage ont été respectées.

En perspectives il serait intéressant :

- d'étudier la stabilité organoleptique du yaourt, pour arriver à maîtriser les saveurs, pour cela il faut faire varier les conditions opératoires, choisir les ferments lactiques, les enzymes ainsi que la durée de maturation.
- suivre la cinétique de la fermentation et l'évolution de la flore lactique pour assurer un bon déroulement de la fabrication ainsi que la qualité et la stabilité du produit.
- Il serait également souhaitable d'étudier la stabilité de l'aspartame et l'influence de la dose des édulcorants sur la viabilité des ferments lactiques et sur la santé humaine.

Liste des abréviations

Abs :Absence.

AFNOR: Association Française de Normalisation.

BCPL: Bromocrésol Purple Lactose.

CF : Coliforme Fécaux.

CT :Coliformes Totaux.

°D : degré Dornic.

D/C :Double Concentration.

DJA : Dose journalière admissible.

DLC :Date Limite de Consommation.

DPD :DiéthylParaphénylène Diamine.

E.coli: Eshérichia coli

EDTA :Ethylène Diamine Tétra Acétique.

EST : Extrait Sec Total.

°F : degré Français.

FAO :Food and Agricultural Organisation.

GAM : Germes Aérobie Mésophile.

GT : Germes Totaux.

GC: Giolitti Cantonii.

Gélose MRS: (Man, Rogosa, Sharp).

Gélose M17: Terzaghi

ISO:International Organization for Standardization.

JORA :Journal Officiel de la République Algérienne.

MG :Matière Grasse.

N :Normalité.

NA :Norme Algérienne.

ND :Non Déterminé.

NET : Noir Eriochrome-T.

NF :Norme Française.

NPP :Nombre le Plus Probable.

PCA : Plate Count Agar.

pH : Potentiel d'Hydrogène

.PS : Pouvoir sucrant.

SFB : Bouillon Sélénite Cystéine.

S/C :Simple Concentration.

TA :Titre Alcalimétrique.

TAC :Titre Alcalimétrique Complet.

TH :Titre Hydrométrique.

TSE :Tryptone Sel Eau.

UFC :Unité Formant Colonie.

Références bibliographiques

- AFNOR, 1986** : « l'analyse physico-chimique des produits laitiers ».ed : AFNOR, 3^{ème} édition
- Alais C., Guy L., et Miclo L., 2003** : « Biochimie alimentaire ». 5eme édition, édition Dunod. Paris. 250 p.
- Alais C., Linden G., Miclo. L., 2008** « Biochimie alimentaire ». Edition Dunod, Paris, 187p.
- Allo O., Blanc P. et Dalmasso M.A., 2005** : Pharmacie galénique BP 2^{ème} édition, édition Prophyre. 130 p
- Anonyme 2, 1997** : «Les règles de fabrication, direction qualité, les déserts lactés ». Yoplait. pp: 11.
- Beal C. et Sodini I., 2003** : Fabrication des yaourts et des laits fermentés volume BIO1 édition Techniques d'ingénieur. Paris. F 6315. 18 p.
- Bliiefert C. et Perraud R., 2001** : « Chimie de l'environnement : Air, eau, sols, déchets » édition De Boeck. 477 p.
- Bonnefoy C., Guillet F., Leyral G. et Verne-Bourdais E., 2002** : Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires édition Doin. Paris. 245 p.
- Bouillane C. et Desmazeaud M.J., 1980.** Etude de l'activité acidifiante de
- Bourgeois CM. et Leveau JP., 1991** : « *Technique d'analyse et de contrôle dans les industries agroalimentaires 3* », le contrôle microbiologiques 2^{ème} édition, Tec et doc Lavoisier, Paris, p395
- Bourgeois CM., Mexele NP. et Zucca J., 1996** : « *Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et la qualité des aliments* » ; Tome 1 ; édition Lavoisier paris p 272 - 292.
- Bourgeois et Larpent.J ; 1980** : Microbiologie alimentaire (tome2), aliment fermenté et fermentation alimentaires. Paris : Lavoisier.334pages
- Brémaud C., 2006** : « Alimentation santé, qualité de l'environnement et du cadre de vie en milieu rur ». Module MP3 Bac professionnel service en milieu rural édition Educagri. 231 p.
- Cardot. C, 1999**: Techniques appliquées aux traitements des eaux ; Édition Ellipse ; 248 p.
- Chiaradia-Bousquet J.P., 1994** : Régime juridique du contrôle et de la certification de la qualité des denrées alimentaires : puissance publique et procédures édition Food and Agriculture Org. Rome. 144p
- Courtin, P., 2002.** Interactions between microorganisms in a simple ecosystem: yogurt bacteria as a study model. Lait, 84, 125-134.
- Debry G., 2001** : « Lait et nutrition et santé » ; Paris, pp : 34
- Denis F. et Poly M.C., 2007**: Bactériologie Médicale : techniques usuelles édition Elsevier

Masson. 573 p.

- Desjardins, R., 2007 :** « Traitement des eaux » 2^{ème} édition, Edition presse internationale polytechnique, Canada. pp : 12.
- Dilmi-Bouras A.E.K., 2004 :** Biochimie alimentaire édition office des publications universitaires Place centrale de ben Aknoun. Alger. 110 p.
- Dilmi-Bouras A.E.K., 2004 :** Biochimie alimentaire édition office des publications universitaires Place centrale de ben Aknoun. Alger. 110 p.
- Eck A. et Gillis J-P., 1997 :** « les levains lactiques comme agents de fermentation dans l'industrie laitière » ; édition Eurotext pp : 86.
- Elizabeth Vierling, 2008 :** « *Aliments et boissons : filières et produits* », 3^{ème} Edition, Lavoisier, Paris ; p277 (15-33).
- F.A.O., 1997 :** Alimentation et nutrition, 1997 : Manuel sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires Volume 14. Assurance de la qualité dans le laboratoire d'analyse chimique des aliments édition Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. 134 p.
- FAO, 1995 :** « Le lait et les produits laitiers dans nutrition humaine » ; p16.
- Figurella J., Leyral G. et Terret M., 2001:** Microbiologie générale et appliquée édition Jaque Lenor, 285 p
- Fine F., Gervais P., 2007 :** « Techniques de l'ingénieur, Décontamination des produits déshydratés » ; F 1136, Paris. pp : 14.
- François M. Luquet et yvette-Bonjcon-Linezowski., 1986** « lait et produit laitière, qualité énergie et table de composition » ; éd technique et documentation. Lavoisier,
- Frank C.lu., 1992 :** « Toxicologie, procédures d'évaluation, organes sensibles, évaluation du risque » ; Paris Tec et Doc : 261p
- Fredot E., 2005 :** “connaissance des aliments : bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique”. Paris : Edition tec et doc, Lavoisier, 393pages
- Gret, 2002 :** Transformer les produits laitiers à la ferme édition Educagri, 237 p.
- Guerin B., 1978 :** « Les sirops, valeur technologique et utilisation », Apiria ,288p
- Guerin B., 1978 :** « Les sirops, valeur technologique et utilisation », Apiria ,288p
- Guiraud J.P., 1998:** Microbiologie alimentaire édition Dunod. Paris, 652 p
- Guiraud. (J.P), 2003:** Microbiologie alimentaire, Tome 2.Paris : édition DUNOD, 652 pages
- Hermier et Accolas, 1990 :** « *Techniques d'analyses et de contrôle dans les IAA* », Edition Apria, p589

- Jeantet R., Croguennec T., Schuck P. et Brulé G., 2006 :** « Science des aliments biochimie-microbiologie-procédés-produits. » ; Volume 1 : Stabilisation biologique et physicochimique édition Tec et doc Lavoisier. Paris. 383 p.
- Jeantet R., Roignant M. et Brulé G., 2001 :** « Génie des procédés appliqué à l'industrie laitière. » ; édition Tec et Doc Lavoisier. Paris. Pp :164 .
- Jeantet R., Roignant M. et Brulé G., 2001 :** « Génie des procédés appliqué à l'industrie laitière. » ; édition Tec et Doc Lavoisier. Paris. Pp :164 .
- Joffin C. et Joffin J. N., 1985:** Microbiologie alimentaire édition centre régional de documentation pédagogique, 174 p.
- Joffin C., 2000 :** « *Microbiologie alimentaire* »; 5^{ème} édition ; France ; CRDP ; d'aquitaine ; p 214
- Joffin Christiane et Joffin Jean-Noël., 1999 :** « Microbiologie alimentaire », 5^{ème} édition, Edition Académie régional de documentation pédagogique d'Aquitaine, 1220p.
- Joffin J. N. et Leyral G., 2001:** « Microbiologie technique; Dictionnaire des techniques. » ; volume 1 édition CRDP d'Aquitaine, 312 p.
- JORA, 1998:** Journal Officiel de la République Algérienne ; Arrêté interministériel N°35 daté du 27 mai 1998 ; Critères microbiologiques des laits ; p8
- Juve J.P., 1996 :** « la qualité microbiologique des alimentés : maitrise et critères. » 2^{em} édition polytechnica ,873p
- Keilling et Dewilde ,1986 :** « *Lait et les produits laitiers vaches, brebis, chèvre ; tome 3* » ; Edition Lavoisier ; p200
- Larpent J.P., 1991 :** Les ferments microbiens dans les industries agroalimentaires (produits laitiers et carnés) édition APRIA. Paris. 298 p.
- Larpent J.P., 1997:** « Microbiologie alimentaire, technique de laboratoire » ; Lavoisier Tec & Doc -Paris, 1073 p.
- Larpent J.P., 1997:** « Microbiologie alimentaire, technique de laboratoire » ; Lavoisier Tec & Doc -Paris, 1073 p
- Larpent(J.P), 1989 :** microbiologie alimentaire : les bactéries lactiques, Lavoisier : Technique et documentation
- Larpent(J.P), 1997:** microbiologie alimentaire : technique de laboratoire ; paris édition Tec et doc Lavoisier, 1073 pages

- Lauze D., 2002:** Guide pratique de gestion d'un établissement public local d'enseignement, Tome 2 édition Esf, 320 p.
- Leveau .J.P et Bouix .M ; 1993 :** Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industrielle. Edition
- Leveau J.Y. et Bouix, 1993:** Microbiologie industrielle, les microorganismes d'intérêt industriel Tec & Doc, 612 p.
- Leyral Guy, Vierling Elisabeth., 2007** « Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaire. », 4^{ème} édition, Edition DOIN, Paris, 2007, pp : 99.
- Lorient Denis et Philippe Cayot, 1998 :** « *Structures et technofonctions des protéines du lait* », p883-892.
- Luquet F. M. et Corrieu G., 2005:** Bactéries lactiques et probiotiques Tec & Doc Lavoisier-Paris, 307 p
- Luquet F.M., 1986 :** « Lait et produits laitiers : vache, brebis, chèvre, qualité, énergie et table de composition ».Tome 3. Édition Lavoisier, Tec & Doc ; 455p.
- Luquet.F ; 1990 :** Lait et produits laitiers, transformation et technologie, 2^{ème} Edition, Lait et produits laitiers, vache, Brebis et Chèvre, volume II Tec et Doc, Paris- Lavoisier, Paris, 594 page.
- Mahaut M., Jeantet R., Brulé G., Schuck P., 2000 :** « *Les produits industriels laitiers : produits fermentés et desserts lactés* » ; Edition Tec et doc, Lavoisier, Paris ; p194
- Mathieu J., 1998 :** « Initiation a la physicochimie du lait » Édition Technique et documentation ; 220p.
- Miller G., 1995 :** Manuels sur le contrôle de la qualité des produits alimentaires : Analyse des résidus de pesticides dans les laboratoires de contrôle de la qualité des aliments. Food and Agriculture Org. 183 p.
- Moll M. et Moll N., 2002 :** Sécurité alimentaire du consommateur 2^{ème} édition Tec et Doc Lavoisier. Paris. 442 p.
- Multon J-L 2002 :** « Le sucre, les sucres, les édulcorants et les glucides de charges dans les IAA ».Paris, Lavoisier, 865p
- Multon J.L., 1992 :** Additifs et auxiliaires de fabrication dans les industries agroalimentaires Tec et Doc Lavoisier, APRIA. 799 p.
- Obre.A.1983 :** bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne ; 2^{ème} édition, 457 pages

- Oteng K et Yang G, 1984:** Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chaudes édition Lavoisier, 320 pages
- Pitet L., 2004 :** Les essentiels du pharmacien. La qualité à l'officine édition le Moniteur des pharmaciens Eugene et Armande peugeot. France. 199 p.
- Pointurier H., 2003 :** « La gestion matière dans l'industrie laitière » ; Tec et doc Lavoisier. Paris. 388 p.
pp : 286.
- Prescott L.M., Harley J.P. et Klein D.A., 2003:** Microbiologie édition De Boeck supérieur. 1164 p.
- Rodier J., 2005 :** « L'analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires, eaux de mer » ; 8^{ème} édition, Édition Dunod, Paris, 2005.pp :113
- Schlienger J-L., 2011 :** « Nutrition clinique pratique », Édition Elsevier Masson, pp: 29.
- Scriban R., 1998 :** « Biotechnologie ». 5^{ème} édition, Paris. Tec et Doc. Lavoisier. Page: 401.
- Streptococcus thermophilus* utilisées en fabrication de yaourt et proposition d'une méthode de classement. Lait, 60, 598, 458-473
- Tamine et Robinson, 1999.** Science et technologie du lait, transformation du lait : 32p, Paris France
- Terre.S, 1986 :** propriétés technologiques, nutritionnelles et physiologiques de *streptococcus thermophilus* et *lactobacillus bulgaricus*, Technique laitière et marketing, 1008 pages.
- Terren M., Fournier J., 1998 :** « Chimie de petit déjeuner » Édition Tec & Doc Paris, 345p.
- Vignola, C. I., 2002.** Science et technologie du lait: transformation du lait. Ed Lavoisier, Paris, 600p

Annexe 6

Tableau I : Table NPP.

1 X 50 ml	5 X 10 ml	5 X 1 ml	Nombre caractéristique	Limites de confiance	
				Inférieure	Supérieure
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0,5	4
0	0	2	2	<0,5	6
0	1	0	1	<0,5	4
0	1	1	2	<0,5	6
0	1	2	3	<0,5	8
0	2	0	2	<0,5	6
0	2	1	3	<0,5	8
0	2	2	4	<0,5	11
0	3	0	3	<0,5	8
0	3	1	5	<0,5	13
0	4	0	5	<0,5	13
1	0	0	1	<0,5	4
1	0	1	3	<0,5	8
1	0	2	4	<0,5	11
1	0	3	6	<0,5	15
1	1	0	3	<0,5	8
1	1	1	5	<0,5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	<0,5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	100
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	100
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	>240		

Annexe 7

Tableau II : Table de Mac Grady.

Nombre caractéristique	Indice NPP : nombre de germes par 100 ml
000	0.00
001	0.30
010	0.30
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	1.5
130	1.6
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	3.5
223	4.00
230	2.9
231	3.6
232	4.00
300	2.3
301	3.8
302	6.4
310	4.30
311	7.50
312	12.0
313	16.0
320	9.3
321	15.0
322	21.0
323	29.0
330	24.0
331	46.0
332	110.0
333	140.0

Annexe 1

Présentation de l'unité

« **trèfle produits laitiers** » est une société de droit algérien spécialisée dans la production et la commercialisation de produits laitiers mis à la disposition du consommateur algérien. Située dans la zone industrielle de Ben Boulaid Blida.

Créer en 1983, « **trèfle** » s'est lancée dans la production du yaourt brassé, avec une capacité de 3500 pots /heure. En 1990 acquisition d'une nouvelle conditionneuse de capacité 6300 pots/heure, en utilisant le même puis, la même année, acquisition d'une chaîne de fromagerie.

L'année 2000 a vu l'acquisition d'une troisième ligne de conditionnement en yaourt étuvé, d'une capacité de 12500pots/heure

C'est en 2001, que le nouveau complexe de l'entreprise a démarré avec le transfert des équipements initiaux et l'acquisition d'une quatrième ligne de production en yaourt étuvé, d'une capacité de 40000pots/heure, le tout alimenté par un atelier moderne de procès APV, entièrement automatisé, portant la capacité totale de production à 77500pots/heure.

En 2002, la production a été renforcée par deux nouvelles lignes de conditionnement, pour le yaourt brassé et les fromages frais ainsi qu'une ligne SIDEL pour les produits frais et UHT en bouteille avec une capacité de 120000 bouteilles/jour. Puis, en Décembre 2003, est intervenue l'acquisition d'une septième ligne de conditionnement, d'une capacité de 40000pots/heure en yaourt étuvé et crème dessert.

Et c'est ainsi « **Trèfle** » est devenue une entreprise en pleine expansion dont le développement a été possible grâce à la politique adoptée par le pays en matière d'encouragement de l'investissement.

Annexe 2

Verreries et autres

- Acidimètre graduée en degré Dornic.
- Bec bunsen.
- Becher 50 ml, 200 ml et 250 ml
- Butyromètre GERBER.
- Butyromètre TEICHERT.
- Burette graduée.
- Cloche de Durham.
- Coton.
- Coupelle en aluminium.
- Eprouvette.
- Erlenmeyer.
- Fiole conique de 150 ml.
- Flacons stériles de 250 ml en verre.
- Mesureur à acide sulfurique (délivrant 10 ml).
- Mesureur d'acide éthylique (délivrant 1 ml).
- Pince.
- Pipette graduée de 10 ml et 11 ml.
- Pipettes pasteur stériles.
- Pissette d'eau distillée.
- Pince de tube à essaie
- Portoirs.
- Spatule en inox.
- Spatule métallique.
- Thermomètre.
- Tubes à essaie.
- Tube de 10 ml et 13,5 mm.

Annexe 3

Appareillage

- Agitateur magnétique.
- Autoclave.
- Bain marie.
- Balance électrique analytique.
- Centrifugeuse électrique qui fait 1500 tours/minute.
- Comparateur Palintest.
- Etuves réglables à différentes températures.
- Frigo à 4°C et 12°C.
- pH-mètre de paillasse.
- Thermobalance (balance dessiccatrice).

Annexe 4

Réactifs, indicateur, additifs et solutions

- Acide sulfurique de densité = 1,825, à 0,02N.
- Additif Sulfite de Sodium.
- Additif Tellurite de Potassium.
- Alcool.
- Alcool iso-amylique.
- Eau distillée.
- EDTA : Sel disodique d'Acide EthylènediamineTétra-Acétique 0,01N.
- NET : noir ériochrome-T 0,5 %.
- Pastis de DPD.
- Phénolphtaléine 1 %.
- Réactif de kovacs.
- Soude caustique (solution sodique) (hydroxyde de sodium) à 0,11 mole/l (N9).
- Solution de bichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) à 10%.
- Solution de nitrate d'argent ($AgNO_3$) à 1%.
- Solution méthylorange.
- Solution saturé de KCl / AgCl (pour la conservation de la sonde du pH).
- Solution tampon pH = 7 (pour l'étalonnage).
- Solution tampon à pH = 4 (pour l'étalonnage).

Annexe 5

Milieux de culture

- BCPL : bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol.
- Bouillon d'enrichissement au sélénite et à la cystéine SFB.
- Bouillon Giolitti Cantoni.
- Chapman.
- Désoxycholate 1 ‰.
- Eau péptonée tamponnée.
- Evalitsky.
- Hecktoen.
- Rothe.
- Sabouraud.
- Schubert.
- TSE :tryptone, sel, eau.

Annexe 7

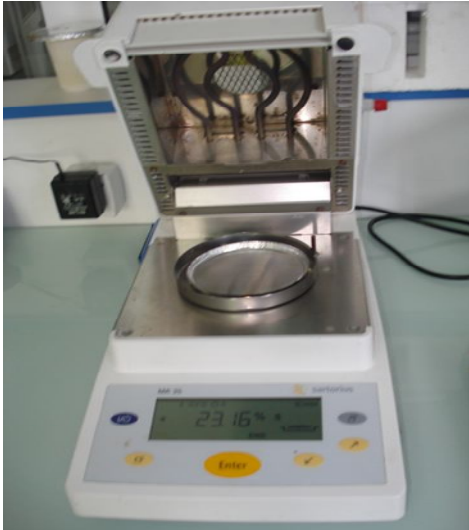
Tableau II : Table de Mac Grady.

Nombre caractéristique	Indice NPP : nombre de germes par 100 ml
000	0.00
001	0.30
010	0.30
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	1.5
130	1.6
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	3.5
223	4.00
230	2.9
231	3.6
232	4.00
300	2.3
301	3.8
302	6.4
310	4.30
311	7.50
312	12.0
313	16.0
320	9.3
321	15.0
322	21.0
323	29.0
330	24.0
331	46.0
332	110.0
333	140.0

Annexe 6

Tableau I : Table NPP.

1 X 50 ml	5 X 10 ml	5 X 1 ml	Nombre caractéristique	Limites de confiance	
				Inférieure	Supérieure
0	0	0	<1		
0	0	1	1	<0,5	4
0	0	2	2	<0,5	6
0	1	0	1	<0,5	4
0	1	1	2	<0,5	6
0	1	2	3	<0,5	8
0	2	0	2	<0,5	6
0	2	1	3	<0,5	8
0	2	2	4	<0,5	11
0	3	0	3	<0,5	8
0	3	1	5	<0,5	13
0	4	0	5	<0,5	13
1	0	0	1	<0,5	4
1	0	1	3	<0,5	8
1	0	2	4	<0,5	11
1	0	3	6	<0,5	15
1	1	0	3	<0,5	8
1	1	1	5	<0,5	13
1	1	2	7	1	17
1	1	3	9	2	21
1	2	0	5	<0,5	13
1	2	1	7	1	17
1	2	2	10	3	23
1	2	3	12	3	28
1	3	0	8	2	19
1	3	1	11	3	26
1	3	2	14	4	34
1	3	3	18	5	53
1	3	4	21	6	66
1	4	0	13	4	31
1	4	1	17	5	47
1	4	2	22	7	59
1	4	3	28	9	85
1	4	4	35	12	100
1	4	5	43	15	120
1	5	0	24	8	75
1	5	1	35	12	100
1	5	2	54	18	140
1	5	3	92	27	220
1	5	4	160	39	450
1	5	5	>240		



Dessiccateur



Balance



Centrifugeuse



Bain-marie



Etuve



Etuves

