

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Centre Universitaire de Jijel CRM/2002  
Institut des Sciences de la Nature.

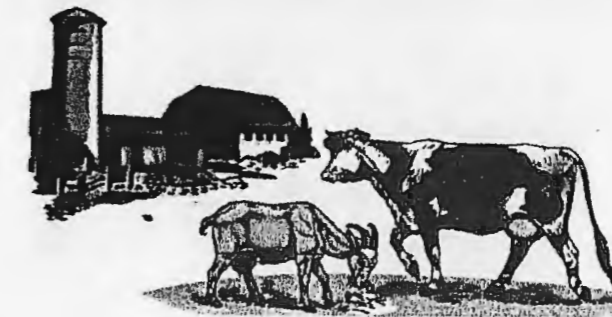
# Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme d'étude universitaire  
appliquée (D.E.U.A)

Option : *Contrôle de la qualité et analyse*

## Thème

**Etude comparative de la qualité  
physico-chimique et microbiologique  
des laits crus  
(Vache, Chèvre, Brebis).**



Présentée par :

- MECHEKEF SIHEM
- HAMROUCHE DALILA
- BENCHOUIEB AMEL

Encadré par :

- IDOUI TAYEB

Promotion 2002

## Remerciement

Nous remercions tout particulièrement notre promoteur M<sup>r</sup> IDOUI TAYEB pour avoir accepté de diriger notre travail et qui a déployé ses efforts en vue de nous aider et nous encourager.

Nous remercions aussi les membres du jury d'avoir accepté de juger le travail.

Nous tenons aussi à remercier l'équipe du laboratoire de biologie

M<sup>elle</sup> B. SONIA, M<sup>elle</sup> NADJIBA, M<sup>r</sup> D. RACHID de leur aide.

Enfin nous voudrions remercier tous les enseignants de l'institut de biologie pour le savoir qu'ils nous ont prodigués.

# Sommaire

Introduction.....	01
<b>I. Analyse Bibliographique</b>	
I-1-Définition du lait cru et données générales.....	02
I-2-composition du lait cru.....	02
I-2-1-Le lait de vache.....	02
A. Glucides.....	03
B. Matière grasse.....	03
C. Matière azoté.....	04
D. Matière saline.....	04
E. Les biocatalyseurs.....	04
F. L'eau.....	05
I-2-2-Le lait de Brebis.....	05
A. Glucides.....	05
B. Matière azoté.....	05
C. Matière saline.....	06
D. Vitamines et l'eau.....	06
I-2-3-Le lait de chèvre.....	07
A. Glucides.....	07
B. Matière grasse.....	07
C. Matière azoté.....	07
D. Matière saline.....	07
E. L'eau et vitamines.....	08
I-3-Les propriétés physico-chimiques du lait cru.....	08
I-3-1- pH.....	08
I-3-2- L'acidité.....	08
I-3-3- La densité.....	08
I-3-4- La température de la coagulation.....	08
I-3-5- La viscosité.....	08
I-4- Microbiologie de lait.....	09
I-4-1- Flore microbienne de lait.....	09

A. Flore de contamination.....	09
B. Flore originelle.....	09
I-4-2-Action de la flore de lait.....	09
A. Aspect sanitaire.....	09
B. Aspect qualitatif.....	09

## II. Matériel et méthodes

II-1- Matériel .....	11
II-1-1- Le lait.....	11
II-1-2-Milieus de culture.....	11
II-1-3-Produits chimiques et colorants.....	11
II-1-4-Autre matériel.....	11
II-2- Méthodes.....	11
II-2-1- Caractères physiques des laits .....	11
II-2-2- Examens microscopiques des laits crus.....	11
A. Formule leucocytaire.....	12
B. Flore bactérienne au Gram.....	12
II-2-3- Analyse physico-chimique.....	13
A: pH.....	13
B. Acidité dornic.....	13
C. Détermination de la matière sèche.....	13
D. Détermination de la matière minérale.....	13
E. Détermination de la matière organique.....	14
F. Mesure de l'activité réductase.....	14
G. Epreuve de stabilité à l'ébullition.....	14
II-2-4 Analyse microbiologique.....	14
A. Dénombrement de la flore totale aérobie mésophile (FTAM).....	15
B. Dénombrement des entérobactéries.....	15
C. Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
D. Recherche des levures et moisissures.....	15
E. Recherche de <i>Salmonella</i> .....	15
III-3 Traitement statistique.....	15

### III. Résultats et discussion

III-1 Caractères physiques.....	17
A. La couleur.....	17
B. L'odeur.....	17
C. La saveur.....	17
III-2 Analyse physico-chimique.....	19
III-2-1 L'acidité et le pH.....	19
III-2-2 La matière sèche, minérale et organique.....	21
III-2-3 Test de stabilité à l'ébullition et activité réductase .....	24
III-3 Examen microscopique .....	24
III-4 Analyse microbiologique.....	25
Conclusion Générale.....	29
Référence bibliographique	
Annexes	

## Liste d'abréviation

- \* pH : Potentiel Hydrogénique.
- \* °D : Degrés Dornic.
- \* °c : Degrés celsius.
- \* L : Litre.
- \* ml : Millilitre.
- \* g : Gramme.
- \* mg : Milligramme.
- \* AFNOR : Agence Française des Normes Réglementaires.

## Introduction

Le lait, est un substrat liquide sécrété uniquement par la femelle des mammifères pendant la période de lactation, très riche, fournissant à l'homme et tout nouveaux nés tous les nutriments : Protides, glucides, lipides, sels minéraux et vitamines. Par ces composants et ces propriétés physiques naturelles en fait de lui un aliment très demandé et incomparable dans l'alimentation humaine et difficilement remplaçable par d'autres aliments.

Le terme «lait» sans-plus est réservé au lait de vache, compte tenu de ses qualités, il est employé depuis longtemps, nom seulement, pour les particuliers (consommation du lait cru) mais aussi par les entreprises (fromagerie par exemple) et des services publiques.

Cependant, il constitue un milieu favorable pour le développement des différents germes. C'est dans cet ordre d'idées que nous sommes proposées de mener notre étude intitulée «Etude comparative de la qualité physico-chimique et micro-biologique du lait cru (lait de vache, lait de chèvre, lait de brebis)»

Dans un premier temps, on va donner des informations relatives aux laits de vache, de chèvre et brebis, la microbiologie du lait et son altération. Dans un deuxième temps, on va étudier la qualité physico-chimique et micro-biologique des trois laits et faire une comparaison pour déceler les différences qui peuvent exister entre eux.

***I***  
***Analyse Bibliographique***



## I.1. définition du lait cru et données générales :

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 totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée, il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de « colostrum ».

Le lait de vache est un liquide opaque blanc mat, plus ou moins jaunâtre selon la teneur de la matière grasse en  $\beta$  carotènes, il a une odeur peu marquée caractéristique, son goût, variable selon les espèces animales, est agréable et douceâtre. **Keilling, (1985)**.

Le lait de Brebis, à l'observation visuelle, est d'une couleur blanc nacré ou porcelaine, il présente une opacité blanche plus marquée que celle des laits de vache et de chèvre, riche en composants fromagère, il comporte une odeur de suint. **Keilling, (1985)**.

Le lait de chèvre est un liquide blanc mat contrairement au lait de vache, ne contient pas de  $\beta$  carotène, il a une odeur fraîchement trait assez neutre, parfois en fin de lactation, il a une odeur dite caprique.

Le lait de chèvre a une saveur douceâtre, agréable, particulière au lait, après une traite fraîche le lait possède une saveur plutôt neutre, par contre, il a une saveur caractéristique après le stockage au froid. **Keilling, (1985)**.

## I.2. COMPOSITION DE LAIT CRU :

### I.2.1 Le lait de vache :

Le lait est un aliment extrêmement complexe, il contient des richesses nutritionnelles particulières. La composition chimique du lait de vache, est résumé au tableau 1.

**Tableau 1 : composition chimique du lait de vache en g/L**  
**Bourgeois, (1980).**

Composition	g/L	Etat physique des composants
Eau	905	Eau libre (solvant) + eau liée (3,7%)
<b>Glucides</b> : lactose	49	solution
<b>Lipides</b> :	35	Emulsion des globules gras ( 3 à 5 microns)
. Matière grasse proprement dite	34	
. Lécithine (phospholipides)	0,5	
. Partie insaponifiable (stérois, carotènes, tocophérols)	0,5	
<b>Protides</b> :	34	Suspension micellaire de phosphocaseinate de calcium (0,08 a 0,12 microns)
. Caséine	27	
. Protéines solubles (globulines, albumines)	5,5	Solution (colloïdale)
. Substances azotées non protéiques	1,5	Solution (vraie)
<b>Sels</b> :	9	Solution ou état colloïdale (p et Ca)
. De l'acide citrique	2	Sels de K, Ca, Na
. De l'acide phosphorique (p <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	2,6	
. De l'acide chlorhydrique (NaCl)	1,7	
<b>Biocatalyseur</b> : (vitamines, enzymes gaz dissous)	Traces	
<b>. Extrait sec total</b>	127	
<b>. Extrait sec non gras</b>	92	

**A. Glucides** : D'après Keilling, (1985), le sucre principal du lait est le lactose ; c'est aussi le composé prépondérant de la matière sèche totale, c'est un dissaccharide constitué par de l'  $\alpha$  ou  $\beta$  glucose uni à du  $\beta$  galactose.

Le taux des glucides est variable en fonction du stade de lactation, chez la vache, la teneur en lactose augmente avec le cycle de lactation.

**Tableau 2 : composition glucidique du lait de vache en g/L**  
**Keilling, (1985).**

Glucide en g/L	Lait de vache	
	Colostrum	Lait
- Lactose	28	50
- Polysides		
- Neutres azotés	5-6	1
- Acides		< 0,5

**B. Matière grasse** : D'après Keilling, (1985), elle est présente sous la forme d'une émulsion de globules gras de 1 à 8  $\mu$  de diamètre ; le taux de matière grasse ou taux butyreux (TB) est très variable selon les conditions zootechniques, la matière grasse est constituée par 98,5% de glycérides, 1% de phospholipides polaires et 0,5% de substances liposolubles : cholestérol, hydrocarbures et vitamines A, D, E et K.  
 La composition de la matière grasse est résumée dans le tableau 3.

**Tableau 3 : Composition globale de la matière grasse du lait de vache en % Keilling, (1985) .**

<b>1- Composés lipidiques :</b>	99,5% de MG	
- Lipides simples :	98,5% de MG	
. Glycérides	Triglycérides	95-96%
	Diglycerides	2-3%
	Monoglycerides	0,1%
. Cholestérides	Esters AG et cholestérol	0,03%
. Cérides	Esters AG et alcools longs	0,02%
- Lipides complexes	1% de la MG	
<b>2- Composés Liposolubles :</b>	0,5% de la MG	
- Cholestérol		0,3% de la MG
- Acides gras libres		0,1% de la MG
- Hydrocarbures divers		0,1% de la MG
- Vitamines :		
Vit E	1,7 à 4,2 mg/100g de MG	
Vit A	0,6 à 1,2mg/100g de MG	
Vit D	10 à 20 µg/100g de MG (traces)	
Vit K	traces	
- Alcools : phytol, alcools, palmitique, stéarique, oléique.		

**C. Matière azotés :** D'après Keilling, (1985), on distingue deux types de matières azotées dans le lait de vache :

- Les protéines pour 95% qui sont divisées selon le pourcentage suivant :

. Les caséines : ont une teneur de 27g/L, elles se présentent sous forme micellaire de calcium.

. Les protéines solubles :	- les albumines	β-lactoglobulines	3g
		α- lactalbumine	1,2g
		sérum albumine	0,4g
	- les globulines	immunoglobulines	0,7g
		lacto- transferrine	0,3g
	- les enzymes	lipase, protéase, lactoperoxydase	

. La matière azotée non protéique : Qui présent 5% de l'azote total de lait est présente sous forme d'urée, créatine, ammoniacque, vitamine.

**D. Matière saline :** Selon Keilling, (1985), elle est présentée à la fois, dans la phase colloïdale et cristalloïdale, sous forme de phosphates, de citrates, de chlorures, calcium, sodium, magnésium, on peut retenir les estimations suivantes exprimées en g/L.

Acide citrique	K	Ca	cl	p	Na	Mg
1,7	1,6	1,2	1,1	1	0,5	0,1

**E. Les Biocatalyseurs :**

. Les enzymes : D'après Keilling, (1985), dans les conditions normales, le lait contient une grande variété d'enzymes, elles sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les

réactions biochimiques. La majorité des enzymes présentes appartiennent aux : oxydoréductases, Hydrolases et Transférases.

. **Les vitamines** : D'après **Keilling, (1985)**, on classe généralement les vitamines en deux groupes :

- . Les vitamines Liposolubles (Vit A, B, E, K)
- . Les vitamines hydrosolubles (Vit de groupe B et Vit C)

**Tableau 4** : composition en vitamines du lait de vache  
**Keilling, (1985).**

Vitamines	Lait
Vit A	1560 I $\mu$ /L
Vit D	-
Thiamine	0,44 mg/L
Riboflavine	1,74 mg/L
Acide Nicotinique	0,94 mg/L
Vit B <sub>6</sub>	0,54 mg/L
Acide pantothénique	3,46 mg/L
Biotine	0,03 mg/L

**F. L'eau** : La teneur en eau varie du 87 à 90% dans le lait de vache, cette quantité varie suivant la nourriture donnée aux vaches. **Surgèrez(1993)**

**I.2.2 Le lait de Brebis** : Selon **Keilling, (1985)**, la composition chimique moyenne de lait de Brebis en ces principaux groupes chimiques et biochimiques est résumée dans le tableau 5.

**Tableau 5** : composition moyenne de lait de Brebis en %  
**Keilling, (1985).**

Composition	Matière grasse	Matière azote	caséines	lactose	cendres	Matière sèche
Composant en %	5,25	-	-	-	-	16,18

**A. Glucides** : D'après **Keilling, (1985)**, le lactose fait partie du troisième groupe d'élément quantitativement important dans le lait de Brebis, on le trouve à un taux moyen se situant entre 45 à 50 g/Kg.

Le taux moyen de lactose du lait de brebis et à peine égale, sinon inférieur à celui de lait de vache, il ne représente, en fait, que 22 à 27% de la matière sèche totale de ce lait, alors que pour le lait de vache le taux de lactose par rapport à la matière sèche se situe entre 33 à 40% cela signifie que le lait de brebis est un lait plus fromager.

**B. Matière azotée** : La composition moyenne de lait de brebis en élément azotés est résumée dans le tableau 6.

D'après ce tableau, le rapport caséines/ protéines est une valeur sensiblement constante se situant entre 82 à 83% des protéines totales.

**Tableau 6** : composition moyenne du lait de Brebis en élément azoté g pour 100g de lait. **Keilling, (1985)**.

Eléments azotés	g/100g de lait	% azoté des composants exprimé par rapport au	
		Taux protéines	Taux NpN
-Teneur Matière azotée totale	5,7		
-Teneur en protéines	5,5	100	
-Teneur en caséines	4,5	82	
-Teneur en protéines coagulables	4,3	78	
-Teneur en protéines solubles	0,9	17,6	
-Teneur en NpN	0,2		100
-Teneur en urée	0,03		38

NpN : Matière azotée non-protéines.

**C. Matière saline** : Selon **Keilling, (1985)**, le lait de brebis est nettement plus riche en calcium et phosphore que les lait de vache et de chèvre.

**Tableau 7** : Composition minérale moyenne du lait de brebis en g /L **Keilling, (1985)**.

Calcium	phosphore	magnésium	potassium	sodium	fer
1,9	1,5	0,16	1,25	0,45	0,5 à 0,7

**D. Les vitamines et l'eau** : D'après **Keilling, (1985)**, la composition en vitamine du lait de brebis a été assez peu étudiée.

Le lait de brebis est composé de 87% de l'eau.

**Tableau 8** : Composition en vitamine de lait de brebis. **Keilling, (1985)**.

Vitamines	Lait
Vit A	1460 I $\mu$ /L
Vit D	-
Thiamine	0,69 mg /L
Riboflavine	3,82 mg /L
Acide Nicotinique	4,27 mg /L
Vit B <sub>6</sub>	-
Acide Pantothénique	3,64 mg /L
Biotine	0,09 mg /L

**I.2.3. Le lait de chèvre :**

La composition du lait de chèvre est résumée dans le tableau 9.

**Tableau 9:** composition moyenne du lait de chèvre  
Surgères (1993).

Nutriments	Lait
Eau	87,5g /100g du lait
Protéines	3,3 g /100g
Caséines/lactalbumine	83/17
Lipides	4,5g/100g
Glucides	4,6g/100g

**A. Glucides :** Selon Keilling, (1985), La teneur en lactose du lait de chèvre est identique a celle du lait de vache variant en fonction du stade de lactation de 44 à 47 g / kg.

**B. Matière grasse :** D'après Surgères, (1993), Le taux butyreux diminue de trois points lorsque les chèvres ingèrent un régime pauvre en matière grasse. Par ailleurs, lorsque la ration est riche en foin, fourrage vert, et ensilage, le taux butyreux est généralement élevé et la matière grasse est plutôt riche en acides gras saturés et relativement pauvre en acides insaturés.

La composition en acides gras de la matière grasse de lait de chèvre est résumé dans le tableau 10.

**Tableau 10 :** composition en acides gras de la matière grasse du lait de chèvre en %  
Keilling, (1985).

Pourcentage des acides gras de la matière grasse										
Nombre de carbone	C <sub>8</sub>	C <sub>12</sub>	C <sub>14</sub>	C <sub>16</sub>	C <sub>18</sub>	C <sub>18</sub> <sup>1</sup>	C <sub>12</sub>	C <sub>12</sub> <sup>2</sup>	C <sub>20</sub>	C <sub>18</sub> <sup>3</sup>
Moyenne	2.9	4.9	10.8	28.8	6.8	20.7	1.2	4	0.5	1.8

**C. Matière azotée :** Selon Keilling, (1985), les caséines représentent la partie la plus importante des protéines dans le lait de chèvre 23,31g /kg. Les protéines représentent 20,4% du total azoté, proportion voisine de celle du lait de vache.

**D. Matière saline :** D'après Keilling, (1985), les éléments minéraux représentent une faible fraction du lait de chèvre de 5 à 8 g/L. Certains éléments ont une importance sur le plan technologique tels que le calcium, le phosphate de calcium dans les phénomènes de la coagulation, les équilibres salins, dans la stabilité de lait à la chaleur. La composition globale en minéraux a été assez bien étudiée.

**Tableau 11 :** composition moyenne minérale du lait de chèvre en g/L  
Keilling, (1985).

Calcium	Phosphore	Magnésium	Potassium	Sodium	Fer
1,3	1	0,18	1,8	0,4	0,1

**E. L'eau et les vitamines :** La proportion de l'eau dans le lait de chèvre est identique à celle de lait vache 87%

**Tableau 12 :** composition vitaminique moyenne du lait de chèvre  
**Keilling, (1985).**

Vitamines	Lait
Vit A	2074 I $\mu$ /L
Vit D	23,7 mg/L
Thiamine	0,4 mg/L
Riboflavine	1,84 mg/L
Acide Nicotinique	1,87mg/L
Vit B <sub>6</sub>	0,07 mg/L
Acide pantothénique	3,44 mg/L

### I.3 Les propriétés physico-chimiques du lait cru :

**I.3.1 pH :** La mesure du pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait fraie normal est neutre ou a tendance légèrement acide vis à -vis de l'eau pure (pH 7 à 20°C) s'il y a action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions (H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>) et donc une diminution du pH du lait. Si le pH est inférieur à 6,5, le lait est acide, par ailleurs un lait mammiteux, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un pH supérieur à 7. **Guiraud, (1985).**

**I.3.2 L'acidité :** Le lait normal à une acidité qui varie entre 14 à 18°D. **Guiraud, (1985).**

**I.3.3 La densité :** La densité du lait est liée à sa richesse en matière sèche, un lait pauvre en matière sèche aura une densité faible. Il en résulte qu'un lait enrichi de matière grasse à une densité inférieure à 1, qu'à l'appose, un lait écrémé à une densité élevée. **Guiraud, (1985).**

**I.3.4 La température de la coagulation :** Selon **Guiraud, (1985)**, la température de la coagulation du lait est variable dans une plage limitée, en fonction des conditions zootechniques, sa mesure permet une approche de l'appréciation de la quantité de l'eau éventuellement ajoutée au lait.

**I.3.5 La viscosité :** Selon **Guiraud, (1985)**, le lait de bonne qualité est un lait qui est très fluide, s'il devient visqueux, c'est le signe d'une altération d'origine microbienne.

Ces paramètres sont résumés dans le tableau ci dessous.

**Tableau 13 : Les paramètres physico-chimique du lait cru  
Guiraud, (1985) .**

	Lait de vache	Lait de brebis	Lait de chèvre
- pH (20°C)	6,5 à 6,7	6,5 à 6,6	6,3 à 6,7
- Acidité titrable	15 à 18°D	18 à 22°D	12 à 14°D
- Densité	1,028 à 1,086	1,032 à 1,033	1,026 à 1,042
- Température de congélation	-0,51°C à -0,55°C	-0,59°C à -0,55°C	-0,58°C à -0,55°C

**I.4 Microbiologie du lait :** Selon Guiraud, (1985), le lait est, de part sa composition, un aliment de choix ; il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau, son pH est de 6,7, il va être un substrat très favorable au développement des micro-organismes.

#### **I.4.1 Flore microbienne du lait :**

**A. Flore de contamination :** Guiraud, (1985), rapporte que les principales sources de contamination sont les suivantes :

- . Fèces et téguments de l'animal : Coliformes, *Bacillus*, *Clostridium*, *Salmonella*.
- . Sol : Streptomyces, bactéries sporules, spores de champignons.
- . Laitière et aliments : Flore banale, lactobacilles ... etc.
- . Air et eau : Flores diverses.
- . Equipement de la traite et de stockage du lait : Flore lactique, microcoques, lactobacilles, *Pseudomonas*.
- . Manipulateurs : Staphylocoques des mains, germe d'expectoration et de contamination fécale.
- . Vecteur divers : Insectes et particulier.

Parmi ces micro-organismes, il en est d'inoffensifs, d'autres dangereux du point de vue sanitaire, d'autre enfin sont capable d'entraîner la détérioration du lait.

**B. Flore originelle :** Selon Larpent,(1992), le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions, à partir d'un animal sain (moins de  $10^3$  germes/ml), il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : Microcoques, streptocoques lactiques et *Lactobacillus*.

D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade : ils sont généralement des mammites c'est à dire d'infections du pis : Streptocoques pyogènes, Staphylocoques.

#### **I.4.2 Action de la flore du lait. :**

**A. Aspect sanitaire :** Selon Guiraud,(1985), les maladies provoquées par les germes pathogènes dans le lait sont :

- . La Tuberculose due aux *Mycobactérium* du lait mais elle est rare.
- . Fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes causées par les *Selmonella*.
- . Toxi-infections, intoxication par les Staphylocoques

**B. Aspect qualitatif :** D'après Guiraud, (1985), de nombreux micro-organismes peuvent se développer abondamment dans le lait en entraînant par leur action des modifications de texture et goût, ces altérations vont dépendre des conditions de stockage du lait ( aération- température) et des traitements qu'il a subis.



- . **Acidification et coagulation** : due à une multiplication des germes lactiques celles ci transforment le lactose en acide lactique une fois le pH = 4,6 est atteint, la caséine coagule et le lait tourne à la température ambiante.
- . **Protéolyse** : Les *Penicilliums* et les *Mucors* dégradent la caséine, et donnent un mauvais goût.
- . **Lipolyse** : Les moisissures sont responsables du rancissement.
- . **Production du gaz** : Par les coliformes.
- . **Modification de la couleur** : La cause de ce changement est les *Pseudomonas* qui donnent la couleur bleue et jaune, *Bacillus Lactis* donnent la couleur rouge.

***II***  
***Matériel et Méthodes***

## II. Matériel et Méthodes :

### II.1. Matériel :

**II.1.1 Le lait :** Pour réaliser notre étude, on a pris trois types de lait, issus de trois cheptels bovins, ovin et caprin de la région de Jijel.

**II.1.2 Milieux de culture :** Au cours de notre étude on a utilisé :

- . Milieu OGA : Pour la recherche levures et moisissures.
- . Milieu VRBG : Pour le dénombrement des entérobactéries.
- . Gélose nutritive : Pour le dénombrement de la flore totale aérobie mésophile.
- . Eau peptonée tamponnée : Pour la recherche de *Salmonella*.
- . Milieu Chapman : Pour la recherche et le dénombrement des staphylocoques.

**II.1.3 Produits chimiques et colorants :** Pour la détermination de certains paramètres chimiques et effectuer les observations microscopiques on a utilisé :

- . Saude dornic (N/9).
- . Solution de phénolphtaléine à 1%.
- . Bleu de méthylène.
- . Cristal violet.
- . Fushine.
- . Lugol
- . Méthanol.

**II.1.4 Autre matériel :**

- . pH mètre
- . Compteur de colonies.
- . Four
- . Bain-marie
- . Etuve

### II.2 Méthodes :

**II.2.1 Caractères physiques des laits :** Les trois laits, ont été soumis à la détermination de leurs caractères physiques à savoir la couleur, l'odeur, la consistance et la saveur, ce test est hebdomadaire. **Joffin et Joffin, (1992).**

**II.2.2 Examens microscopiques des laits crus :** L'examen microscopique va nous permettre d'observer :

- Des cellules eucaryotes provenant des glandes mammaires (lait), ces cellules peuvent être normales (leucocytes) ou anormales :
  - De la contamination normale du lait lors de la traite ou d'une infection de la vache.

Les examens réalisés sont :

- L'établissement de la formule leucocytaires (lait cru) par coloration au bleu méthylène et différenciation à l'éthanol
- Etude bactérienne par la coloration de Gram.

**A. Formule leucocytaire : Joffin et Joffin, (1992)**










## \* Préparation d'un frottis :

Sur une lame stérile on met une goutte du lait et une goutte d'eau distillée. Etaler comme un frottis sanguin à l'aide d'une lamelle, sécher à l'aire puis fixer par immersion.

## \* Coloration :

- Colorer au bleu de méthylène pendant 5 minutes.
- Différencier rapidement à l'éthanol.
- Laver à l'eau distillée, sécher et examiner à l'immersion.

Tableau 14 : Lecture de frottis coloré. Joffin et Joffin, (1992)

	Mononucléaires			Polynucléaires		
Eléments normaux	Monocyte	lymphocyte Petit lymphocyte    Grand lymphocyte		neutrophiles	éosinophiles	Basophiles
						
Eléments anormaux	Mononucléaires lipophage			Hématie		
				Vue de face 	Vue de profile 	

**B. Flore bactérienne au cru : Joffin et Joffin, (1992)**, la préparation du frottis est la même que celle de la formule leucocytaire.

## \* Coloration :

- Recouvrir le frottis avec une solution de cristal violet pendant 1 mn.
- Laver à l'eau distillée.
- Recouvrir la préparation avec le lugol pendant 5mn.
- Laver à l'eau distillée.
- Décolorer à l'alcool.
- Laver à l'eau distillée.
- Recouvrir à la fuschine pendant 30s.
- Laver à l'eau distillée.
- Sécher.
- Observation microscopique à l'immersion.

Tableau 15 : Interprétation des résultats (flore bactérienne)  
Joffin et Joffin,(1992).

Flore normale du lait cru	Flore normale du lait cru
Toujours bactérien Gram <sup>+</sup> :	En grand nombre ne sont pas normaux.
- Coques Gram <sup>+</sup> en diplocoques ou en chaînettes	- Les Bacilles Gram <sup>-</sup> (contamination externe)
- Bacilles Gram <sup>+</sup> souvent en chaînettes	- Les longues chaînettes de coque Gram <sup>+</sup> (de 20 à 100 éléments) Mammite Streptococcique

**II.2.3 Analyse physico-chimique :****A. pH :** Le pH des laits est déterminé par un pH mètre.

La lecture de la valeur du pH est faite pour un échantillon de 30ml de chaque lait repartir sur 03 bêchers (10ml).

On plonge l'électrode dans le bêcher contenant 10ml de lait et on note la valeur afficher sur écran.

**B. Acidité dornic:( AFNOR : V04 – 206 –1969).**

L'acidité est déterminée par dosage titrimétrique de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium (N/9), en présence de la phénolphtaléine comme indicateur.

Cette détermination s'effectue sur une prise d'essai de 10ml, pour chaque lait avec trois répétitions.

Pour chaque 10ml, on ajoute cinq gouttes de la phénolphtaléine, et on titre avec du NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose pâle persistante.

L'acidité exprimée en degré dornic est donnée par la formule :

$$\text{Acidité (°D)} = V_{\text{NaOH}} \times 10$$

$V_{\text{NaOH}}$  : Volume de la soude utilisé pour titrer les 10ml de lait.

**C. Détermination de la matière sèche:(AFNOR : V04 –206 1969)**

Elle est déterminée par pesées après évaporation de 10ml de chaque lait à 105°C pendant 4heures, le résultat sera donné par la formule :

$$\text{MS (\%)} = \frac{X}{Y} \times 100$$

MS : Matière sèche

X : Poids de l'échantillon après évaporation (g)

Y : Poids de l'échantillon avant évaporation (g).

**D. Détermination de la matière minérale :**

C'est la même méthode appliquée à la matière sèche, mais elle se fait à 500 c° pendant 5 heurs, le résultat est donné par la formule :

$$\text{MM (\%)} = \frac{X}{Y} \times 100$$

MM : Matière minérale

X : Poids de l'échantillon après évaporation (g)

Y : Poids de l'échantillon avant évaporation (g)

**E. Détermination de la matière organique :**

On détermine la matière organique suivant la formule :

$$MO (\%) = MS - MM$$

MO : Matière organique

MS : Matière sèche

MM : Matière minérale

**F. Mesure de l'activité réductase : Joffin et Joffin, (1992).**

La plupart des bactéries modifient au cours de leur développement le potentiel d'oxydoréduction du lait, cette modification peut être mise en évidence par des indicateurs de potentiel rédox, une de ces substances est le bleu de méthylène, la durée au bout de laquelle il y a changement de couleur d'un lait additionné de bleu de méthylène permet d'apprécier le nombre des bactéries du milieu, plus il y a des bactéries, plus le bleu de méthylène est rapidement réduit

Dans trois tubes stériles on place 10ml de lait (vache, brebis, chèvre), on ajoute 1ml de la solution de bleu de méthylène.

On réalise en parallèle 03 témoins avec les 03 types de lait bouilli on mélange et on incube à 37°C, enfin on fait la lecture au temps 0mn, 15mn, 1h, 3h.

L'interprétation se fait en fonction du tableau 16.

**Tableau 16 : Lecture des résultats. Joffin et Joffin, (1992).**

Temps au bout du quel il y a décoloration	Conclusion
Avant 15 minutes	Lait très fortement contaminé
15m < t < 1h	Lait fortement contaminé
1h < t < 3h	Lait légèrement contaminé
T > 3h	Lait de qualité satisfaisante

**G. g. Epreuve de stabilité à l'ébullition: Joffin et Joffin, (1992).**

Le lait apparaît stable à la température ordinaire ou basse.

L'ébullition du lait peut révéler une précipitation, montrant ainsi une modification due au développement des micro-organismes.

15ml de chaque lait cru (lait de vache, lait de brebis, lait de chèvre) sont repartis sur trois tubes à essai, on les place dans un bain d'eau bouillant pendant 05 minutes.

On observe alors la présence éventuelle de floculation, précipitation ou formation d'un coagulum.

**II.2.4 Analyse microbiologique : (AFNOR .V04-017-1991).****- Préparation des dilutions :**

Pour la préparation des dilutions on commence par l'homogénéisation du lait, puis on prélève 1ml à l'aide d'une pipette stérile que l'on introduit aseptiquement dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique, ainsi on obtient une dilution au 1/10 ou  $10^{-1}$  on refait la même opération jusqu'à l'obtention de la dilution  $10^{-6}$  (figure 1).

**A. Dénombrement de la flore total aérobie mesophile:(FTAM) :**

Après avoir couler la gélose nutritive sur boîtes et refroidissement, on dépose 1ml de la dilution ( $10^{-6}$ ) sur la surface de la gélose, on étale au râteau, on retourne les boites sur leurs couvercles, l'incubation est faite à  $37^{\circ}\text{C}$  /24 à 48h

La lecture consiste à compter les micro-organismes de différentes couleurs et formes.

**B. Dénombrement des entérobactéries :**

on applique la même méthode utilisée pour le dénombrement de la FTAM , mais l'ensemencement se fait en profondeur, on dépose 1 ml de la dilution ( $10^{-3}$ ) au fond de la boîte puis on coule la gélose VRBG, on retourne les boites sur leurs couvercles, l'incubation est faite à  $37^{\circ}\text{C}$  /24 à 48h

Les colonies recherchées seront d'une couleur rouge et d'une formes arrondi (circulaire).

**C. Recherche de *Staphylococcus Aureus*:**

Pour la recherche de *Staphylococcus Aureus*, on fait l'ensemencement à partir de la solution mère.

Pour chaque boîte contenant une quantité suffisante de milieu chapman (test présomptif), on place 1ml de la solution mère à la surface de la gélose puis on étale à l'aide d'un étaleur stérile.

On retourne les boîtes sur leurs couvercles et on les incube à  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures. Les colonies recherchées seront d'une couleur jaune brillante et d'une forme convexe.

**D. Recherche des levures et moisissures :**

On réalise l'ensemencement à partir de la dilution ( $10^{-5}$ ), on utilise la même méthode citée pour la recherche de *Staphylococcus Aureus*, mais le milieu de culture est OGA.

On retourne les boites sur leurs couvercles et on les incube à  $30^{\circ}\text{C}$  pendant 2 à 5 jours.

**E. Recherche de *Salmonella* :**

La recherche de *Salmonella* passe par quatre étapes ; le pré-enrichissement, enrichissement, isolement et identification, vu le manque de produit on s'est limite à l'étape de pré-enrichissement.

Pour le pré-enrichissement on place 1,1 ml du lait cru, dans des tubes contenant 10ml de l'eau péptonée tamponnée.

On incube les tubes à la température  $37^{\circ}\text{C}$  pendant 48 heures, s'il y a un trouble dans les tubes le test est positif.

**II.3 Traitement statistique :**

Pour déceler la différence qui peut exister entre les trois laits, on a fait une analyse de variance, en utilisant le dispositif monofactoriel en randomisation totale (FISCHER SNEDECOR) aux seuils de 5% et 1%.



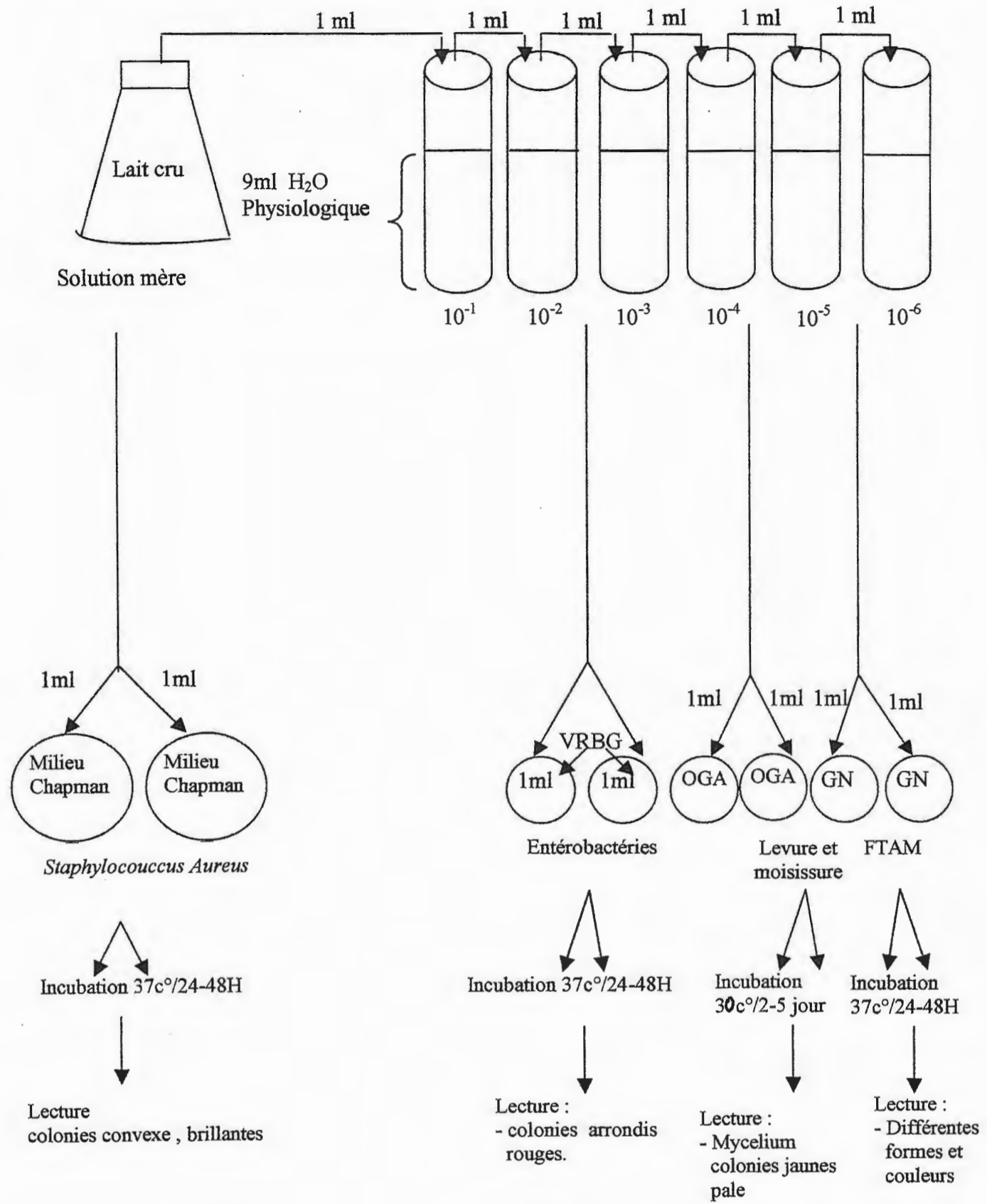


Figure 1 : Méthode de dilution et de dénombrement des différentes flores





### ***III***

### ***Résultats et Discussion***

### III. Résultats et discussion :

#### III.1 Caractères physiques :

Les résultats obtenus pendant les 04 semaines, de l'analyse physique des trois types de laits (vache, brebis, chèvre) sont résumés dans le tableau 17.

**A. La couleur :** D'après les résultats, nous constatons que la couleur jaunâtre de lait de vache témoigne sa richesse en matière grasse, par ailleurs la couleur de lait de brebis était blanc mat, et celle de lait de chèvre jaune pale.

Ces différences observées entre les laits peuvent s'expliquer par :

- L'alimentation : **Veisseyre, (1971)**, a rapporté que lorsque la ration est riche en foin, fourrage vert et ensilage, le taux butyreux est généralement élevé ; de même l'alimentation a une répercussion importante sur la coloration du lait : le chou, les navets, les raves font garder au lait sa couleur blanche, alors que les carottes, les fourrage vert de bonne qualité, ainsi que certains tourteaux le colorent en jaune.
- L'espèce animale, il est évident que la richesse du lait en matière grasse est variable d'une espèce à une autre, et d'une race à une autre, notamment lorsqu'il s'agit des bovins, ovins, caprins.

Certains races comme la parthenaise par exemple, donnent un lait très jaune, alors que la frisonne pie-noir (FFPN) au contraire donne un lait franchement blanc. **Veisseyre, (1971)**.

- La couleur jaunâtre de lait de vache est liée à la richesse en  $\beta$  carotènes de sa matière grasse, par contre le lait de brebis et le lait de chèvre, sont pauvres. **Keilling, (1985)**.
- La couleur change aussi selon l'âge et la date de dernier vêlage de l'espèce animale. Une vache très jeune donne généralement un lait pauvre en matière grasse alors que cette même vache a son deuxième ou troisième vêlage donnera un lait plus riche en matière grasse donc plus jaune.

**B. L'odeur :** Les résultats ont montré que l'odeur de lait de brebis était plus accentuée, que celles de lait de vache et de chèvre, et cela durant les 04 semaines. Ces résultats sont probablement liés à :

L'alimentation et les conditions d'hygiène pendant la traite ; au contact des mains de la personne qui traite, et les ustensiles employés. Si la traite n'est pas faite avec tout le soin voulu, cette odeur augmente encore lorsqu'on laisse séjourner le lait dans l'étable, toutefois, il est évident que chaque lait est caractérisé par une odeur relative à l'animal dont il est issu.

**C. La saveur :** D'après les résultats on note pour le lait de vache une saveur satisfaisante pendant les 04 semaines, de même on a déposé un arrière goût d'une plante pour le lait de chèvre, et un arrière goût de laine pour le lait de brebis.

Tableau 17 : Caractères physiques des laits (vache, brebis, chèvre) .

	Caractère examiné	Lait de vache	Lait de brebis	Lait de chèvre
S1	Couleur	Blanc jaunâtre	Blanc mat	Jaune pâle
	Odeur	Odeur moyenne	Odeur forte	Faible
	Saveur	Satisfaisante	Arrière goût du lait	Arrière goût d'une plante
	Consistance	Aspect homogène	Aspect homogène	Aspect homogène
S2	Couleur	Blanc jaunâtre	Blanc mat	Jaune pâle
	Odeur	Moyenne	Forte	Faible
	Saveur	Satisfaisante	Satisfaisante	Satisfaisante
	Consistance	Aspect homogène	Aspect homogène	Aspect homogène
S3	Couleur	Blanc jaunâtre	Blanc mat	Jaune pâle
	Odeur	Moyenne	Odeur forte	Faible
	Saveur	Satisfaisante	Satisfaisante	Satisfaisante
	Consistance	Aspect homogène	Aspect homogène	Aspect homogène
S4	Couleur	Blanc jaunâtre	Blanc mat	Jaune pâle
	Odeur	Moyenne	Odeur forte	Faible
	Saveur	Satisfaisante	Satisfaisante	Satisfaisante
	Consistance	Aspect homogène	Aspect homogène	Aspect homogène

### III.2.1 L'acidité et le pH :

Les valeurs de l'acidité et du pH des laits sont portées dans le tableau 18 et illustrées par les figures 2, et 3.

D'après ces résultats nous remarquons que le pH des 03 types de lait est presque identique ; il varie entre 6,9 à 7,4 pour le lait de vache, de 7,2 à 7,8 pour le lait de brebis et de 7,1 à 7,4 pour le lait de chèvre, donc les laits sont alcalins.

Après comparaison des résultats avec la norme réglementaire **AFNOR, (1980)**, relative au pH qui est de 6,5 à 6,7, nous constatons que nos laits ne sont pas conformes à la norme avec un écart allant de 0,4 à 1,1.

L'alcalinité des laits est probablement liée à la présence des germes d'alcalinisation qui possédant les protéases en grande quantité, soit à la formation d'ammoniac à partir d'urée ou à la décomposition des acides organiques tel que l'acide lactique.

L'acidité de nos laits était de 22 à 25 °D pour le lait de vache, par ailleurs, celle du lait de brebis et de chèvre est de 13 à 15°D.

La figure -2- reflète la différence qui existe entre l'acidité des différents laits.

En comparant les résultats avec la norme, qui est de 14 à 18 °D, nous constatons que l'acidité de lait de brebis et de chèvre, est conforme à la norme, en revanche celle du lait de vache est supérieure à norme, cela est dû probablement à la présence d'une flore alcalinisante, à la richesse du lait en protéine, ou encore à la fraude.

Les résultats de l'analyse statistique ont montré qu'il y a une différence hautement significative (5%) entre l'acidité du lait de vache et celles des deux autres laits, donc l'effet race ou espèce est nettement observée, par ailleurs, cet effet persiste avec la période de traite (acidité du lait de vache est différente de celle des deux autres laits).

En revanche, l'homogénéité des valeurs du pH, a fait qu'il n'y a eu aucune signification vis à vis de l'effet race aussi bien que la période de traite.

**Tableau 18** : Evolution du pH et de l'acidité des trois laits :

	Lait de vache		Lait de brebis		Lait de chèvre		Test statistique		Norme AFNOR		
	pH	Acidité °D	pH	Acidité °D	pH	Acidité °D	PH	Acidité °D	pH	Acidité °D	
1 semaine	7,4	23	7,8	14	7,4	13	NS	*	6,5 a	14 a	
2 semaine	6,9	22	7,2	14	7,1	14					
3 semaine	7,2	23	7,3	13	7,2	14					
4 semaine	7,3	25	7,5	15	7,3	15					
Test statistique	pH	NS									
	Acidité	* a **									

\* significatif  
 \*\* hautement significatif  
 NS : non significatif

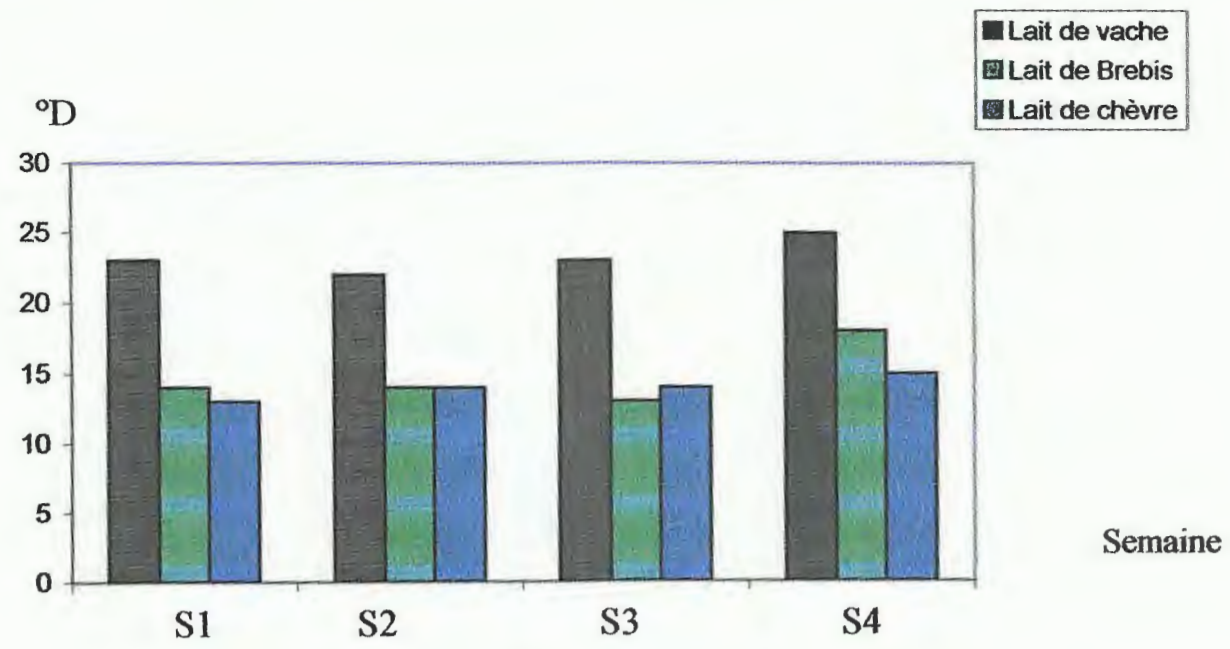


Figure -2-  
Evolution de l'acidité des laits .

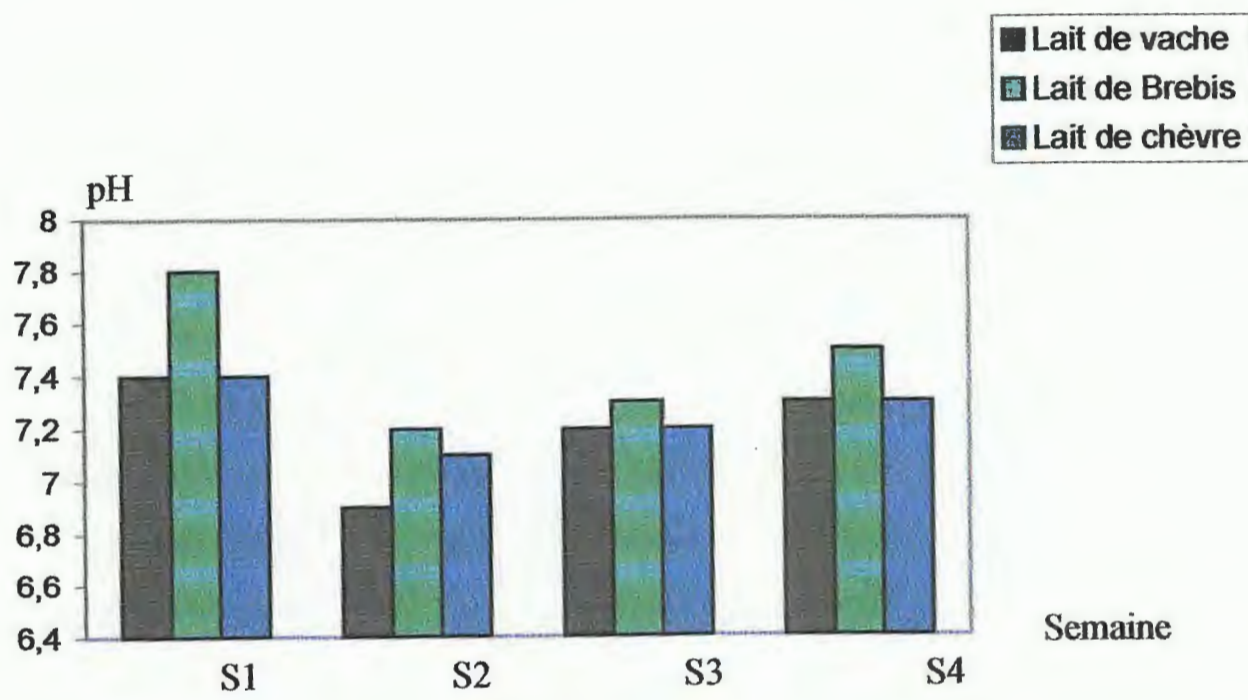


Figure -3-  
Evolution du pH des laits .

### III.2.2 La matière sèche, minérale et organique :

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 20 et illustrés par les figures 4, 5, 6.

Au cours de notre travail on a trouvé une différence entre la matière sèche des trois laits, avec une matière sèche de lait de vache de 12,7% à 14%, celle du lait de Brebis entre 6,25% à 7,8%, et celle du lait de chèvre entre 7,02% à 8% donc le lait de vache prend le dessus avec une matière sèche extrême de 14% paramètre très intéressant pour la fabrication des fromages.

En comparant nos résultats avec la norme qui exige que la matière sèche  $\geq 12\%$  dans le lait cru, nous remarquons que les résultats du lait de vache sont conforme aux normes, par contre les résultats des deux autre laits sont inférieurs aux normes, ceci nous pousse à penser que ces deux laits pourraient être mouillés.

Ainsi on peut justifier cette différence par :

- l'alimentation qui a un grand rôle dans la composition du lait et le mode de l'élevage.

**Surgères(1993).**

Pour la matière minérale il apparaît que l'ensemble des laits, sont riche en matière minérale avec un maximum enregistré aux cours de la 4<sup>ème</sup> semaine chez le lait de chèvre de 1,99%, par ailleurs le taux de matière minérale varie entre 1,3% à 1,99%.

La matière organique des 03 types de lait varie selon la variation de la matière sèche, et la matière minérale, elle est de 10,3% à 13,31% dans le lait de vache, 4,63% à 6,5% dans le lait de brebis et dans le lait de chèvre elle est de 5,32% à 6,5%.

D'après les résultats du traitement statistique nous constatons que l'origine du lait affecte la matière sèche et la matière organique avec un effet allant de significatif (5%) à hautement significatif (1%), par contre aucun effet n'a été décelé avec la matière minérale, de même, il apparaît que la durée de l'étude ou période de traite n'agit pas en défaveur des trois paramètres étudiés.

**Tableau 19 :** Evolution de la matière sèche, matière minérale et matière organique.

	Lait de vache			Lait de brebis			Lait de chèvre			Test statistique F.C			
	MS	MM	MO	MS	MM	MO	MS	MM	MO	MS	MM	MO	
<b>S1</b>	12.11	1.6	10.55	6.25	1.62	4.63	7.26	1.77	5.49	NS	NS	NS	
<b>S2</b>	14	1.66	12.34	6.43	1.30	5.13	7.02	1.70	5.32				
<b>S3</b>	12.70	1.90	10.80	7.36	1.30	6.56	7.89	1.39	6.50				
<b>S4</b>	13.11	1.60	11.50	6.70	1.90	4.73	08	1.99	6.01				
TEST STATISTIQUE F.E	MS	* à **											
	MM	N.S											
	MO	* à **											

\* significatif

\*\* hautement significatif

NS : non significatif

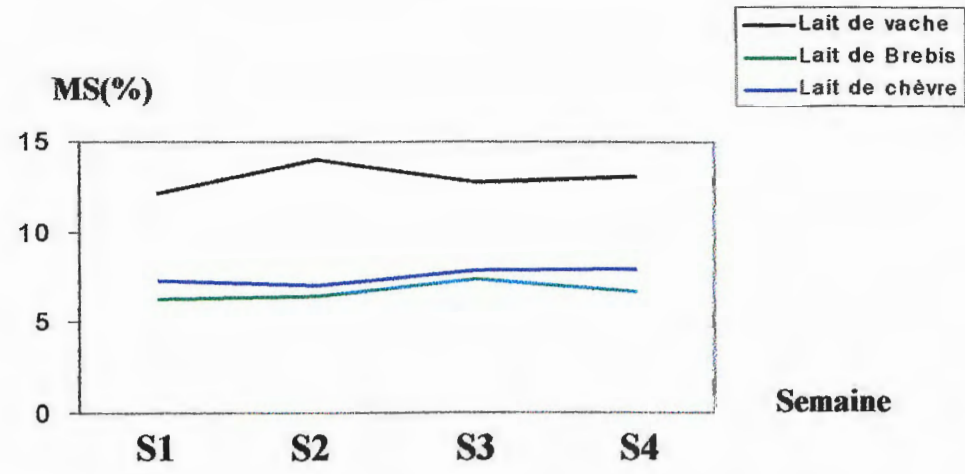


Figure 4 : Evolution de la matière sèche des trois laits .

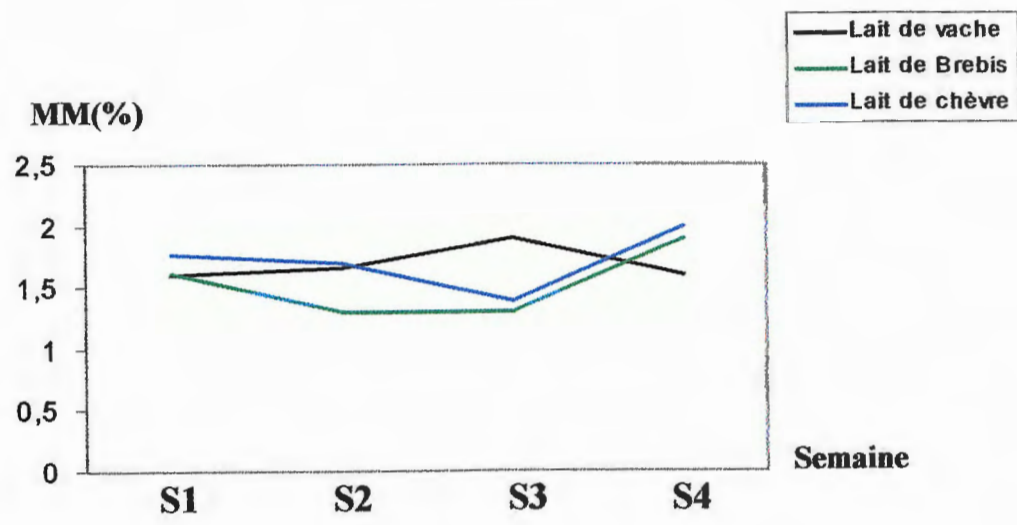


Figure 5 : Evolution de la matière minérale des trois laits .

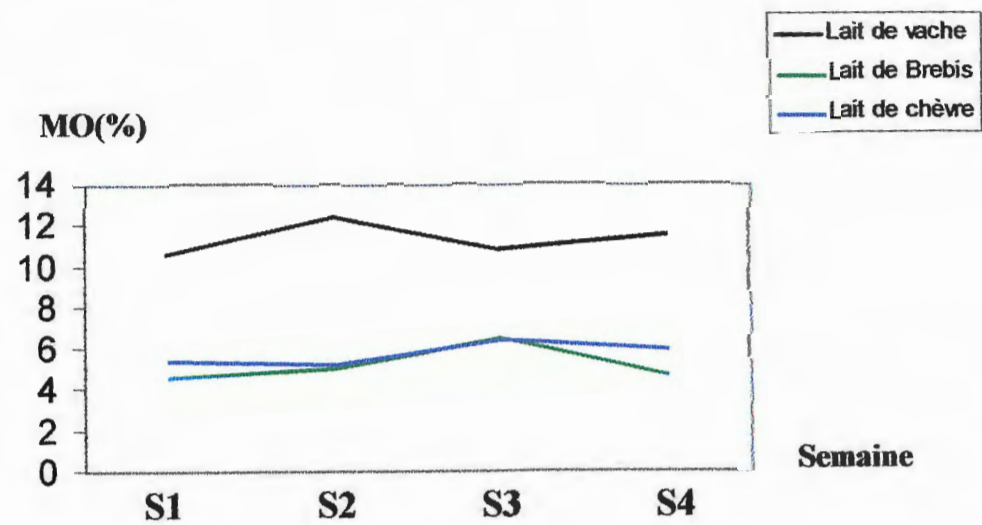


Figure 6 : Evolution de la matière organique des trois laits.



### III.2.3. Test de stabilité à l'ébullition et activité réductase :

Pour le test de stabilité à l'ébullition, tous les résultats étaient négatifs, toutefois, pour le lait de vache on a remarqué la formation d'une couche de matière grasse, cela est dû à la lipolyse induite par la température, donc les laits sont conformes aux normes.

La même constatation a été notée à l'égard de la recherche de la réductase, d'après ces tests, les laits sont qualifiés de satisfaisant.

**Tableau 20 :** Résultats du test réductase et le test de stabilité à l'ébullition.

	Lait de vache	Lait de brebis	Lait de chèvre
<b>Test de l'activité réductase</b>	Négatif	Négatif	Négatif
<b>Test de stabilité</b>	Couche de la matière grasse	Négatif	Négatif

### III.3 Examens microscopiques :

Les résultats du tableau 21 montre que les trois types de lait contiennent des éléments cellulaires provenant les uns de la circulation sanguine, et les autres des différentes épithélium des tissus mammifères. Ces cellules sont :

Les polynucléaires, les lymphocytes et les monocytes, le plus grand nombre a été enregistré au cours de la 1<sup>ère</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaines. La présence de ces cellules est due :

- Facteur lié au prélèvement ; ces cellules varient au cours d'une même traite et tendent à augmenter entre le début et la fin, elles varient également entre deux traites, ainsi sur un même animal. Les valeurs observées sont généralement plus élevées le soir que le matin. **Surgère, (1993).**

- Facteur lié à l'animal ; joue un grand rôle ; Les numérations cellulaires diminuent rapidement puis augmentent à nouveau progressivement jusqu'au tarissement. Cette évolution se fait en sens inverse de celle de la production lactée. **Surgère, (1993).**

En l'état actuel de nos connaissances, il n'apparaît pas possible de mettre en évidence un « effet race », toutefois, des études complémentaires mériteraient d'être conduites en vue de comparer les résultats obtenus sur des races laitières améliorées et sur des races laitières indigènes.

- Les résultats de l'examen microscopique relatif à la coloration de Gram sont résumés dans le tableau 22. Ces résultats montrent l'existence d'une flore au sein des différents laits et cela le long de notre étude, cette flore est caractérisée par la présence des deux formes, bâtonnets et coques, et elle est composée de Gram<sup>+</sup> aussi bien que de Gram<sup>-</sup>.

Ces résultats sont en accord avec plusieurs données bibliographiques qui mentionnent la contamination du lait au cours de la traite, soit par l'eau, l'air et les manipulateurs (staphylocoques des mains), aussi par les équipements de la traite et de stockage de lait (flore lactique, lactobacilles, levures...), et de là, on parle de la flore naturelle du lait, cette dernière peut affecter la qualité du lait et elle peut ne pas l'être. **Guiraud, (1985).**

**Tableau 21** : résultats de l'examen microscopique.

Semaines \ Espèce	Lait de vache	Lait de brebis	Lait de chèvre
1 <sup>ère</sup> semaine	-eosinophiles -petit lymphocytes -neutrophiles	-grands lymphocytes -neutrophiles -eosinophiles	-monocyte -basophile
2 <sup>ème</sup> semaine	-eosinophiles	-eosinophiles -lymphocytes	-
3 <sup>ème</sup> semaine	-eosinophiles -monocyte	-diplocoque -forme monocyte négatif	-
4 <sup>ème</sup> semaine	-éosinophiles	-éosinophiles	-petit lymphocytes -grand lymphocyte -eosinophils

**Tableau 22** : résultats de l'examen microscopique (coloration de Gram) .

Semaine \ Espèces	Lait de vache	Lait de brebis	Lait de chèvre
1 <sup>ère</sup> semaine	-coques Gram <sup>+</sup> (couleur violet ) -coque Gram <sup>-</sup> (couleur rose) (en diplocoque)	-diplocoque  Gram <sup>+</sup>  -coques Gram <sup>-</sup>	-diplocoque Gram <sup>-</sup>  -coques Gram <sup>-</sup>
2 <sup>ème</sup> semaine	-diplocoques Gram <sup>+</sup> -coques Gram <sup>-</sup> -coques Gram <sup>-</sup>	-coque Gram <sup>+</sup> -diplocoque -présence de Gram <sup>-</sup>	-diplocoque Gram <sup>+</sup> -présence de Gram <sup>-</sup>
3 <sup>ème</sup> semaine	-coques Gram <sup>+</sup> -diplocoque Gram <sup>+</sup> - <i>Bacillus</i>	-diplocoques Gram <sup>+</sup>  -présence de Gram <sup>-</sup>	-plusieurs coques Gram <sup>+</sup> -diplocoques Gram <sup>+</sup> - <i>Bacillus</i>
4 <sup>ème</sup> semaine	-coques Gram <sup>+</sup> -diplocoques Gram <sup>+</sup>  - Présence de Gram <sup>-</sup>	-coque Gram <sup>+</sup> -diplocoque Gram <sup>+</sup>  - coques en chaînettes (rare)	-diplocoques Gram <sup>+</sup> -coques en chaînettes (rare)

#### III.4 Analyse microbiologique :

Les résultats microbiologique des trois types de lait sont représentés dans le tableau 23 et illustrés par les figures 7,8,9,10.

Après dénombrement des flores dans les trois types de lait (lait de vache, lait de brebis et lait de chèvre) nous constatons que le nombre de la flore totale varie selon le type de lait et d'une semaine à une autre du  $0,02 \cdot 10^8$  à  $4,3 \cdot 10^8$  germe/ml, ce qui montre le manque de respect des conditions d'hygiène au moment de la collecte.

Les résultats ne sont pas conforme aux normes  $3.10^5 - 10^6$  germe/ml cela se répercute sur la qualité du lait cru ( satisfaisante- acceptable).

Concernant les résultats du dénombrement des entérobactéries à 30°C nous constatons l'absence de ces germes pendant la 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> semaine, par contre pendant la 3<sup>ème</sup> et la 4<sup>ème</sup> semaine, nous remarquons un nombre important de germes du à une contamination externe.

Les résultats des analyses ont montré une absence des staphylocoques dans le lait cru (vache, brebis, chèvre) pour la 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> semaine, l'absence de ces germes dans le lait cru est un bon indice de la qualité sanitaire de produit.

Par contre au cours de la 4<sup>ème</sup> semaine on a noté la présence des colonies jaunes, convexes, brillantes caractéristiques des staphylocoques de ce fait ces faits peuvent être impropres à la consommation.

Ce pendant, les résultats relatifs à la recherche des levures et moisissures ont montré la contamination des laits par des levures, ces dernières peuvent avoir comme origine, le lait lui-même, lors de la collecte ou le transport.

Enfin et d'après les résultats obtenus, nous constatons une absence totale de *Salmonella* dans les trois types du lait pendant les 04 semaines, ces résultats restent toujours dans la norme qui exige l'absence totale de ces germes dans le lait cru.

Tableau 23 : résultats de l'analyse microbiologique.

		Lait de vache	Lait de brebis	Lait de chèvre
1 <sup>er</sup> semaine	FTAM (germe/ml)	$2.88 \times 10^8$	$2.55 \times 10^8$	$2.60 \times 10^8$
	Entérobactéries (germe/ml)	Zone de proteolyse	Zone de moteolyse	-
	<i>St.aureus</i> (germe/ml)	-	-	-
	Levures et moisissures (germe/ml)	$0.5 \times 10^7$	$5.13 \times 10^7$	$0.66 \times 10^7$
	<i>Salmonella</i>	absence	Absence	absence
2 <sup>ème</sup> semaine	FTAM (germe/ml)	$0.88 \times 10^8$	$0.02 \times 10^8$	$0.02 \times 10^8$
	Entérobactéries (germe/ml)	-	-	-
	<i>St.aureus</i> (germe/ml)	-	-	-
	Levures et moisissures (germe/ml)	$0.24 \times 10^7$	$2.22 \times 10^7$	$4.44 \times 10^7$
	<i>Salmonella</i>	-	-	-
3 <sup>ème</sup> semaine	FTAM (germe/ml)	$2.46 \times 10^8$	$4.30 \times 10^8$	$1.11 \times 10^8$
	Entérobactéries (germe/ml)	$0.21 \times 10^5$	$0.7 \times 10^5$	$0.1 \times 10^5$
	<i>St.aureus</i> (germe/ml)	392 levures	444 levures	362 levures
	Levures et moisissures (germe/ml)	$1.35 \times 10^7$	$1.52 \times 10^7$	$1.33 \times 10^7$
	<i>Salmonella</i>	-	-	-
4 <sup>ème</sup> semaine	FTAM (germe/ml)	$1.42 \times 10^8$	$0.3 \times 10^8$	$0.89 \times 10^8$
	Entérobactéries (germe/ml)	$8.9 \times 10^5$	$0.6 \times 10^5$	$8.3 \times 10^5$
	<i>St.aureus</i> (germe/ml)	Présence de <i>St.aureus</i> 32	Présence des <i>St.aureus</i> 58	Présence des <i>St.aureus</i> 25
	Levures et moisissures (germe/ml)	$3.8 \times 10^7$	$1.7 \times 10^7$	Tapis
	<i>Salmonella</i>	-	-	-

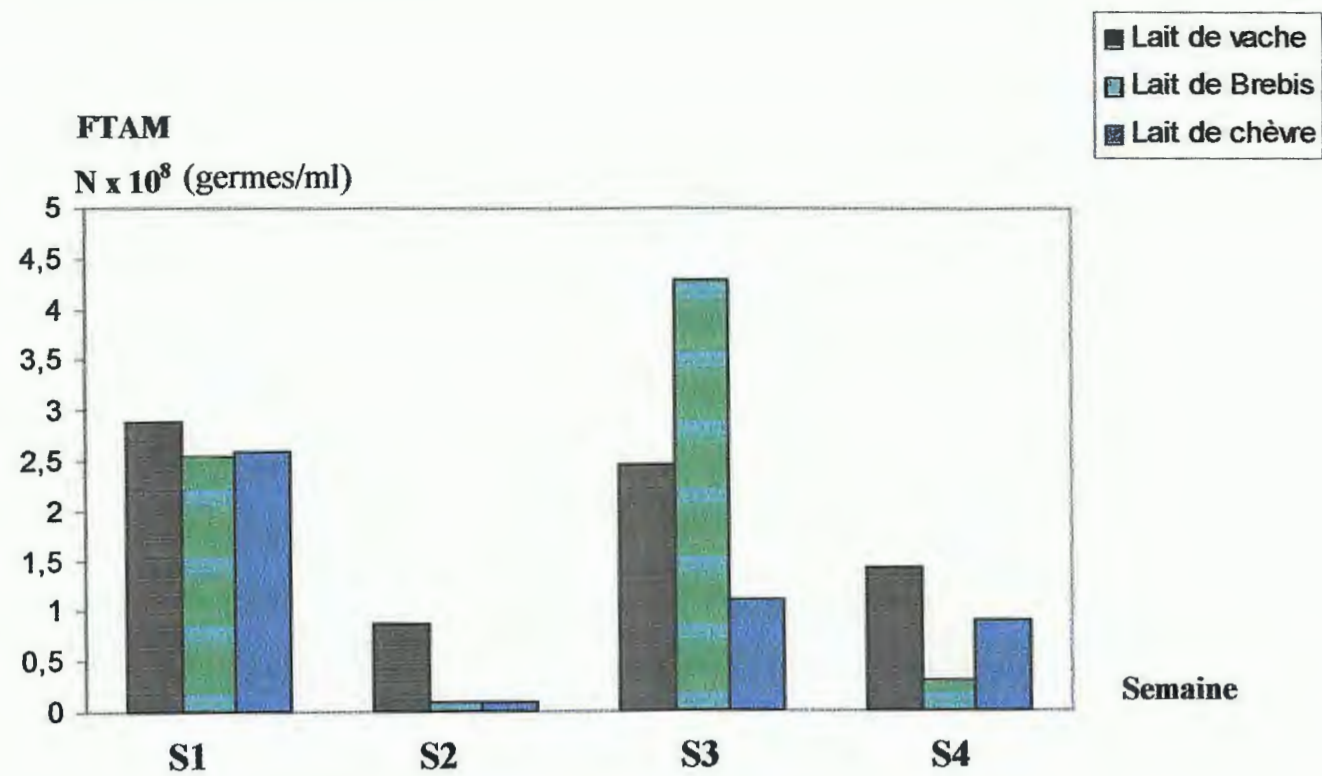


Figure - 7 -

Evolution du nombre de la flore totale des trois laits .

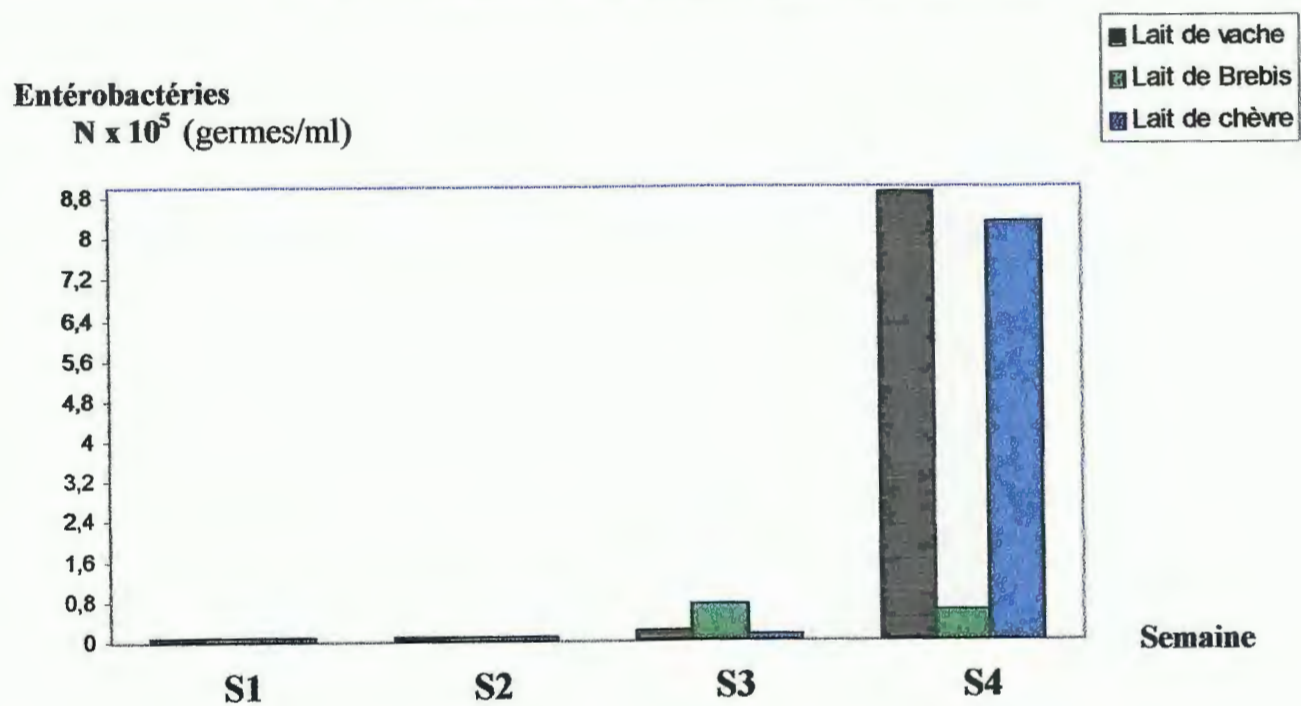


Figure - 8 -

Evolution du nombre des entérobactéries des trois laits .

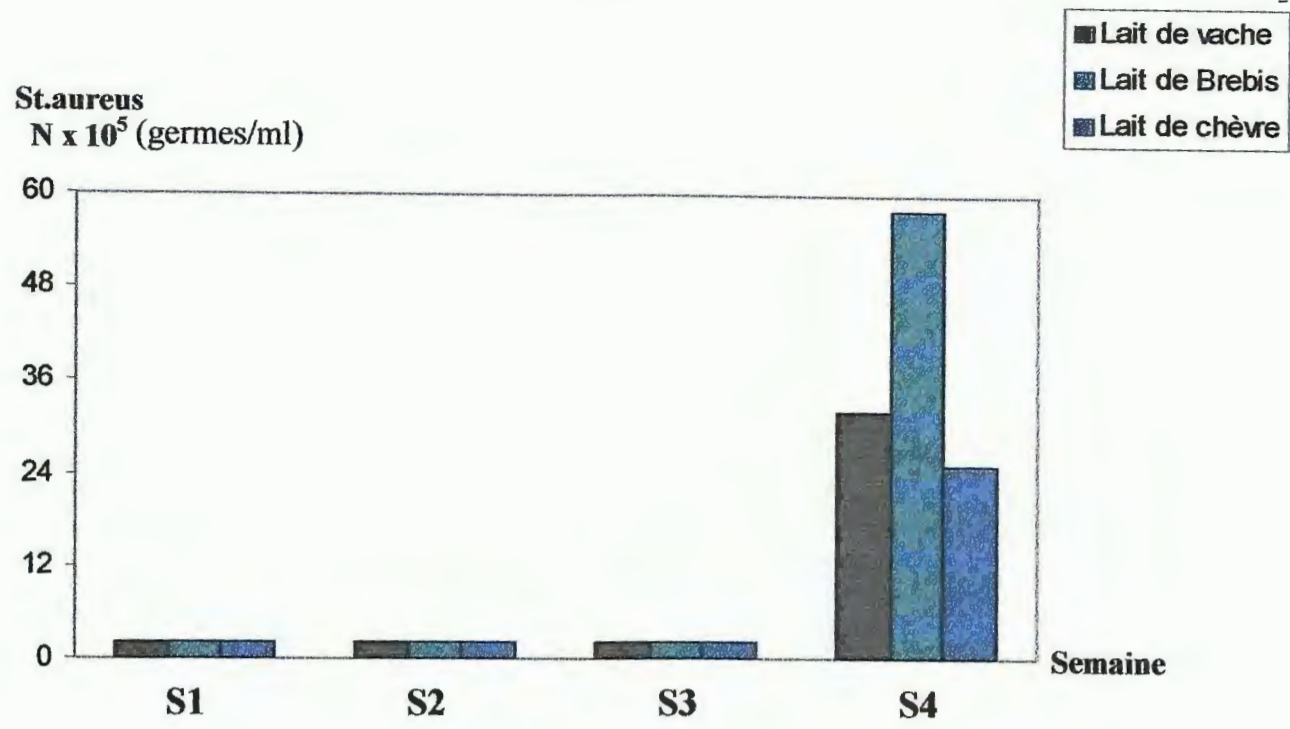


Figure - 9 -  
Evolution du nombre de St. aureus des trois laits .

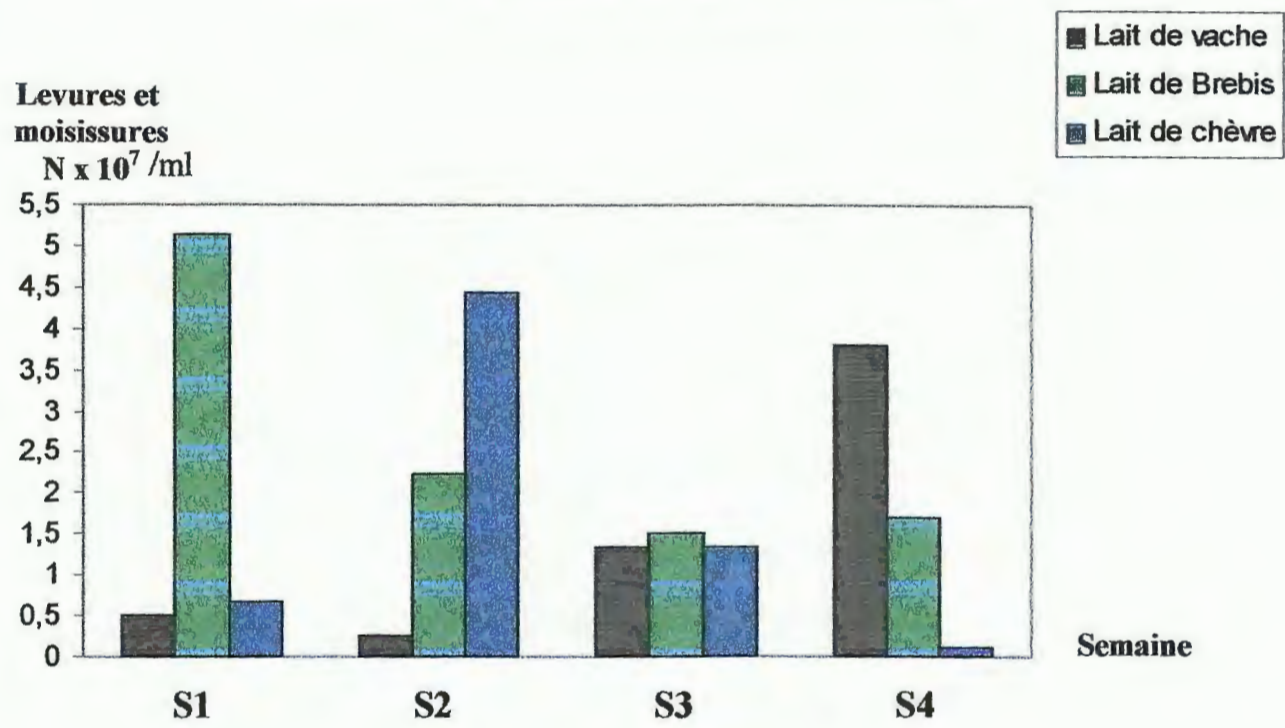


Figure - 10 -  
Evolution du nombre de levures et moisissures des trois laits .

**Conclusion Générale :**

L'étude comparative de la qualité physico-chimique et microbiologique des laits de vache, de chèvre et de brebis, nous a permis de déceler le suivant :

- Le lait de vache a présenté une couleur blanc jaunâtre témoignant sa richesse en crème avec une odeur et une saveur agréable, toutefois, le lait de brebis avait une odeur et une saveur moins agréable que celles des laits de vache et de chèvre.
- Les résultats de la recherche de l'activité réductase et le test de l'ébullition ont montré que les laits sont conformes à la norme avec une absence de la réduction de bleu de méthylène est une stabilité des laits à l'ébullition.
- L'étude des paramètres physico-chimiques a montré que les laits sont neutres avec un pH de 6,9 à 7,8, l'acidité lactique dépasse la norme et varie entre 22 à 25 °D pour le lait de vache, entre 13 à 15 °D pour les laits de brebis et de chèvre, par ailleurs, le lait de vache était le plus riche en matière sèche 14%, le reste des laits renferment un taux de matière sèche inférieur à la norme (mouillés).
- Les analyses microbiologiques ont montré que le lait de vache était le plus contaminé avec une flore aérobie mésophile estimée à  $2,88 \times 10^8$  germe/ml une flore de contamination fécale (entérobactéries) de  $8,9 \times 10^5$  germe/ml et une absence de *Salmonella*, cependant, il apparaît clairement que le lait le moins contaminé est celui de chèvre avec une flore totale aérobie mésophile estimée à  $0,02 \times 10^8$  germe/ml une flore de contamination fécale (entérobactéries) de  $0,1 \times 10^5$  germe/ml avec une absence de *Salmonella*.

Enfin, la meilleure qualité sur le plan physico-chimique est celle de lait de vache mais sur le plan microbiologique c'est celle de lait de chèvre.

## Références bibliographiques

- 1- Bourgeois.CM , 1980 .
    - Micro-biologique alimentaire.
    - Lavoisier (Paris). PP : 273-275.
  - 2- Guiraud.J,P,1985 - Micro-alimentaire.
    - Techniques et documentations. PP : 136,137.
  - 3- Joffin.C et joffin.J,W,1992 - Micro-biologie alimentaire.
    - Centre régionale de documentaire.
    - PP : 160-168.
  - 4- Keilling .J,1985. - Lait et produits laitiers – vache, chèvre, brebis.
    - Techniques et documentations. PP : 1-99.
  - 5- Larpent .J,P ,1992 - Microbiologique alimentaire technique de laboratoire.
    - Lavoisier.
  - 6- Surgères,1993 - Le lait de chèvre.
    - Techniques et documentations. PP :481,491,492,574,575,576,577.
  - 7- Veisseyre. R, 1971, le lait. la maison rustique Paris.
    - PP : 6, 7, 10, 11, 12.
- 
- AFNOR ; 1995
- Recueil de norme 319 0441 .
  - Contrôle de la qualité des produits alimentaires .
  - Lait et produits laitiers.

## Annexe

### I- Milieux de culture :

#### 1) Milieu O.G.A : (Gelose Oxytetracycline-Glucose).

Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Agar	20 g
Eau distillée	100 ml
Stérilisation	150 °c _ 20 mn

Addition de l'oxytetracycline (une gélose diluée dans 100 ml d'eau distillée) à raison de 60 ml de la solution préparée dans un litre de milieu O.G.A préalablement fondu et refroidi à 45 °c.

#### 2) Milieu de Chapman :

Peptone de viande	10,0 g
Extrait de viande	1,0
Sodium chlorure	75,0 g
D (-) manitole	10,0 g
Rouge de phénol	0,025 g
Agar - Agar	12,0 g
Eau distillée	100 ml
pH final	7,4 + 0,1
Stérilisation	120 °c - 15 mn

#### 3) Milieu de gélose nutritive :

Macération de viande	12 g
Peptone tryptique	15 g
NaCl ou KCl	05 g
Agar	15 à 20
pH	6,8 à 07
Stérilisation	120 °c / 15 mn

#### 4) Milieu de VRBG : (Gélose billiée au cristal violet et au rouge neutre).

Peptone	7 g
Extrait de levure	5 g
Sel biliaire	1,5 g
Glucose	10 g
Chlorure de sodium	5g
Rouge neutre	30 mg
Cristal violet	2 mg
Gelose	12 g
pH	7,4
Stérilisation	5 mn



**5) L'eau peptonée :**

Peptone exempte d'additifs	15 g
Chlorure de sodium	5 g
pH	7,2
Stérilisation	120 °c _ 15 mn

**II- Les colorants et réactifs :**

Phenolphthaleine 1% :

Phénol :	1 g
Alcool 95° :	100 ml

Solution d'hydroxyde de sodium (N/9) :

Hydroxide de sodium :	4,4 g
Eau distillée :	100 ml.

### III- Dispositif Mono factoriel en bloc:

$$TCG = \frac{\left(\sum_1^{tb} x\right)^2}{n=t.b}$$

$$SCE_T = \sum_1^{tb} x^2 - TCG$$

$$SCE_{FE} = \frac{\sum_1^t \left(\sum_1^b x_t\right)^2}{b} - TCG$$

$$SCE_{FC} = \frac{\sum_1^b \left(\sum_1^t x_b\right)^2}{t} - TCG$$

$$SCE_{résiduel} = SCE_T - (SCE_{F.E} + SCE_{F.C})$$

• **Tableau de l'analyse de variance:**

$\Sigma$ de CE	S.C.E	DDL	CM	$\delta$ résiduelle
Total		$(t.b)^{-1}$		
F.E		t-1	$\frac{SCE_{FE}}{t-1}$	$\sqrt{CM_r}$
F.C		b-1	$\frac{SCE_{FC}}{b-1}$	
Résiduelle		$(t-1)(b-1)$	$\frac{SCE_r}{(t-1)(b-1)}$	

D.D.L: degré de liberté.

S.C.E: la somme des carrés des écarts.

F.E: facteurs étudiés.

F.C: facteurs contrôlés.



Réalisé par : HAMROUCHE DALILA MECHEKEF SIHEM BENCHOUIEB AMEL	Option: Contrôle de qualité et analyse	Date de setenance : Octobre 2002
--	---	-------------------------------------

#### ملخص:

تمت دراستنا الفيزيوكيميائية و الميكروبيولوجية على ثلاث أنواع من الحليب النقي (البقر، الماعز، الغنم) التي أوضحت أن هناك تباين بين هذه العينات من حيث الخصائص الفيزيائية: اللون، الرائحة، التجانس و الخصائص الفيزيوكيميائية: درجة الحموضة (pH)، المادة الجافة، المادة العضوية، المادة المعدنية و كذا مدى تلوث هذه العينات بالجراثيم خلال قيامنا بالأخذ و التحليل. بعد المقارنة بين النتائج توصلنا إلى أن أفضل نوعية هي لحليب البقر من حيث مكوناته الفيزيائية و الكيميائية مع مراعاة شروط النظافة و التغذية.

#### Résumé :

Notre étude physico-chimique et microbiologique a été réalisé sur trois types de lait cru (Vache, Chèvre, Brebis) qui a montré une différence entre ces échantillons du point de vue des caractères physiques : Saveur, odeur, couleur et consistance, et les caractères physico-chimiques : pH, Acidité, matière sèche, matière organique et matière minérale, ainsi que le degré de contamination au moment de prélèvement et analyse. Après la comparaison entre les résultats, on a décelé que la meilleure qualité c'est celle de lait de vache par ces caractères physiques et chimiques en respectant les conditions d'hygiène et la bonne alimentation.

#### Summarized:

Our physico - chemical and microbiological survey has been achieved on three types of raw milk (Cow, Goat, Sheep) that showed a difference between these samples of the point of view of the physical characters: Flavor, odor, color and consistence, and the physico - chemical characters: pH, Acidity, dry matter, organic matter and mineral matter, as well as the degree of contamination at the time of withdrawal and analysis. After the comparison between the results, one discovered that the best quality it is the one of cow milk by these physical and chemical characters while respecting the conditions of hygiene and the good food.

**Mots clés :** lait cru, qualité physico-chimique, qualité microbiologique