



DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

M^{me} BELHADJ Imene
Mr BELADJAL Rachid Abdelhak

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN AGRONOMIE

Spécialité: Contrôle de la qualité des aliments

Thème

**Etude de la qualité physico-chimique, microbiologique et organoleptique
d'un yaourt étuvé au niveau de l'unité GIPLAIT de TIARET**

DEVANT LE JURY

Président	Mr . A I T S A A D A . D	MCA	U. Mostaganem
Encadreur	Mr BEKADA . A	Pr	U. Mostaganem
Examineur	M ^f TAHRI . M	MCA	U. Mostaganem

Thème réalisé au niveau de l'unité GIPLAIT de TIARET

Année universitaire 2020/2021

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah, le plus grand, le plus miséricordieux et le tout puissant pour le courage qu'il nous a donné pour mener à terme ce modeste travail.

*Nous commençons par exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à Monsieur **BEKADA Ahmed**, qui nous à honoré en acceptant de diriger ce travail, pour ses encouragements, ses conseils, sa disponibilité et surtout pour sa patience dans l'encadrement de ce mémoire. Nous avons été très satisfaits de sa qualité exceptionnelle d'un bon enseignant ; merci de nous avoir guidé avec patience et d'avoir consacré autant d'heures pour les corrections de ce manuscrit, veuillez trouver ici toutes les expressions de notre profonde gratitude et nos sentiments de respect. Nous ne pouvons que sincèrement vous exprimer notre respect et notre gratitude.*

Nos remerciements sont adressés, également, aux membres de jury d'avoir accepté de juger ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer notre très grande considération et notre profond respect à **Dr. AIT SAADA Djamel** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury, un grand merci pour tout ce que nous avons appris grace à vous au cours de nos années de graduation, vous trouverez ici toutes nos expressions respectueuses et notre profonde gratitude.*

*Nous remercions vivement aussi **Mr TAHRI Miloud** d'avoir eu l'amabilité debien vouloir examiner ce travail, mais aussi pour ses efforts avecnous ; nous étions tout le temps satisfaites de votre qualité exceptionnelle de bonne enseignante.*



Dédicace

A tous que je porte dans mon cœur :

Aux plus précieux des trésors ;

- *A ma très chère mère qui m'a entouré d'amour et de tendresse et m'a appris la patience et le défi.*
- *A mon très cher père qui m'a encouragé et conseillé pendant mes plus pénibles moments et qui m'a guidé vers le chemin droit.*
- *A mes chères sœurs : Fatima ; Yasmine ; Souad; merci pour cette complicité qui m'est très chère.*
 - *A mon frère ; Ali*
 - *A ma grande mère que dieu la protège.*
 - *A mes beaux frères : khaled ; mohammed*
 - *A tous mes ami (es) : Rachid ; khadidja*
 - *A tout le personnel de la laiterie de sidi khaled ; Abdelkader ; sofian*

Imene

● **Dédicaces**

- *Je dédie ce travail à tous ceux qui ont sacrifié leur noble existence pour bâtir la mienne, qui par leurs précieux conseils et soutien ont su comment me guidé vers la réussite.*
- *À ma très chère **mère** que remercierai jamais assez, pour son soutien moral et matériel, sa compréhension, amour, tendresse, et ses sacrifices.*
- *À toute **ma famille**.*
- *À l'ensemble des professeurs qui m'ont suivi durant toutes ses années d'études.*
- *À ma collègue **Imene**.*
- *À tous mes frères et sœurs de la promotion Master 2 CQA.*
- *À tout le personnel de la laiterie de sidi khaled.*

Rachid

Résumé

Résumé

Le yaourt étuvé (ferme) appelé Rostomia fabriqué dans la laiterie Sidi khaled de Tiaret doit reprendre à des critères de qualité strictes et contrôlés en permanence à travers d'évaluer sa qualité physico-chimique, microbiologique et organoleptique.

Les analyses physicochimiques des quinze échantillons ont montré la conformité des paramètres physicochimiques pour la majorité de ces échantillons mise à part l'non-conformité de l'extrait sec total et de la densité de l'échantillon numéro 3, l'acidité titrable de l'échantillon numéro 8, l'extrait sec dégraissé des deux échantillons numéro 3 et 13 et la température du stockage des échantillons (4, 6, 7, 9, 11, 12, 13,14 et 15).

Les analyses microbiologiques des quinze échantillons nous permettent de confirmer que le yaourt étuvé (ferme) est de bonne qualité hygiénique et qu'il ne présente aucun risque pour le consommateur, les résultats d'analyses sont conformes aux normes algériennes selon le journal officiel algérien n° 39 de 2017.

Les analyses organoleptiques des quinze échantillons ont montré que ces derniers sont de qualité organoleptique satisfaisante mise à part le goût acide des échantillons 4 et 8 et la texture légère de l'échantillon 3.

Mots clés : Yaourt étuvé, contrôle, qualité, laiterie Sidi Khaled, Tiaret.

ملخص

ياغورت يدعى الرستمية المصنعة في ملبنة سيدي خالد تبارت يجب ان تخضع لمعايير صارمة في الجودة ومراقبتها بشكل مستمر من خلال تقييم جودتها الفيزيائية والميكروبيولوجية والحسية.

وأظهرت التحاليل الفيزيائية لخمسة عشر عينة الامتثال للمعلمات الفيزيائية لمعظم هذه العينات وبصرف النظر عن عدم المطابقة لمجموع المواد الصلبة وكثافة العينة رقم 3، والحموضة للعينة رقم 8، والمادة الجافة منزوعة الدهن للعينتين رقم 3 و 13 و درجة حرارة التخزين للعينات (4، 6، 7، 9، 11، 12، 13، 14 و 15).

التحليلات الميكروبيولوجية لخمسة عشر عينة تسمح لنا بالتأكد من أن الزبادي هو من نوعية جيدة وأنها آمنة للمستهلك، ونتائج الاختبار تتطابق مع المعايير الجزائرية وفقا للجريدة الرسمية رقم 39 لعام 2017.

أظهرت التحاليل الحسية لخمسة عينات ذات جودة حسية مرضية ماعدا الطعم الحمضي للعينات 4 و 8 و خفة العينة 3.

الكلمات المفتاحية: الزبادي ، المراقبة، الجودة، ملبنة سيدي خالد، تيارت.

summary

The parboiled (firm) yoghurt called Rostomia made in the Sidi khaled dairy in Tiaret must comply with strict quality criteria that are constantly monitored by evaluating its physicochemical, microbiological and organoleptic quality.

The physicochemical analyzes of the fifteen samples showed the compliance of the physicochemical parameters for the majority of these samples apart from the non-compliance of the total dry extract and the density of sample number 3, the titratable acidity of 1 sample number 8, the degreased solids content of two samples number 3 and 13 and the storage temperature of the samples (4, 6, 7, 9, 11, 12, 13,14 and 15).

The microbiological analyzes of the fifteen samples allow us to confirm that the parboiled (firm) yoghurt is of good hygienic quality and that it presents no risk for the consumer, the analysis results comply with Algerian standards according to the Algerian official journal no. ° 39 of 2017.

The organoleptic analyzes of the fifteen samples showed that they are of satisfactory organoleptic quality apart from the acid taste of samples 4 and 8 and the light texture of sample 3.

Keywords: Parboiled yoghurt, control, quality, Sidi Khaled dairy, Tiaret.

Liste des tableaux

Tableau N° 01 : Composition moyenne d'un yaourt (TOME, 2002).....	03
Tableau N° 02 : Composition comparée en vitamines du lait entier et d'un yaourt au lait entier (teneur exprimée (µg pour 100g de produit)) (D'après Tamime et Robinson, 2001).....	06
Tableau N° 03 : Teneur moyenne pour 100g de produit (yaourt) (Michel, 2000).....	07
Tableau N° 04 : Les différents genres de bactéries lactiques (Leveau et Bouix, 1993).....	09
Tableau N° 05 : Classification de certaines bactéries lactiques (Hernier et al, 1992).....	13
Tableau N° 06 : Les différents genres de bactéries lactiques (Leveau et Bouix, 1993).....	13
Tableau N° 07 : Quelques caractères anormaux des yaourts (CIDIL et INRA, 2009).....	19
Tableau N° 08 : Prélèvement des échantillons selon les dates de production	24
Tableau N° 09 : Galerie biochimiques pour l'identification des salmonelles (JORA N°43, 2006).....	32
Tableau N° 10 : Dénombrement des <i>Enterobacteriaceae</i>	42
Tableau N° 11 : Dénombrement des <i>Staphylococcus</i> à coagulase+.....	43
Tableau N° 12 : Identification des salmonelles.....	44
Tableau N° 13 : Dénombrement des <i>Listeria monocytogenes</i>	45
Tableau N° 14 : Appréciations des critères organoleptiques étudiés.....	46

Liste des figures

Figure N° 01 : <i>Sc.thermophilus</i> et <i>Lb.bulgaricus</i> colorés au bleu de de bactéries observés au microscope	15
Figure N° 02 : Observation microscopique à l'état frais,contenues dans le méthylène et Yaourt <i>Sc.thermophilus</i> (flèche en pointillés).....	15
Figure N° 03 : Process De Fabrication – Yaourt.....	22
Figure N° 04 : protocole expérimental	23
Figure N° 05 : Extrait sec total du yaourt étudié	35
Figure N° 06 : Densité de la préparation du lait pour le yaourt étudié.....	36
Figure N° 07 : Acidité titrable du yaourt étudié	37
Figure N° 08 : Matière grasse de la préparation du lait pour le yaourt étudié.....	38
Figure N° 09 : Extrait sec dégraissé du yaourt étudié	39
Figure N° 10 : pH du yaourt étudié	40
Figure N° 11 : Température du yaourt étudié.....	41

Liste des abréviations

% : pour cent.

BP : BAIRD PARKER.

°C : degré Celsius.

°D : Degré Dornic

E : Echantillon

EPT : Eau peptonée tamponnée

ESD : extrait sec dégraissé.

EST : extrait sec total.

FAO: Food and Agricultur Organization

g : gramme.

h : heure.

ISO : Organisation Internationale de Standardisation

l : litre.

J.O.R.A : Journal Officiel république algérienne.

K cal : Kilo calorie

kJ : kilo joule

kg : kilogramme.

min : minute.

ml : millilitre.

MG : Matière grasse

mg : milligramme.

mm : millimètre.

MS : Matière sèche

N: Normalité

N°: Numéro

NaOH : Solution d'hydroxyde de sodium

NPP: le nombre le plus probable.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

pH : potentiel hydrogène.

S: second.

T : Température

TIAC : toxi-infection alimentaire collective.

µm : micromètre.

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction

PREMIERE PARTIE : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralité sur le yaourt

<u>1. Historique</u>	<u>2</u>
2. Définition du yaourt	2
3. Composition de yaourt	3
4. Classification	3
4.1. Selon la représentation	3
4.1.1. Yaourt ferme (étuvé)	3
4.1.2. Yaourt brassé	4
4.2. Selon la teneur en matière grasse	4
4.2.1. Yaourt entier	4
4.2.2. Yaourt partiellement écrémé	4
4.2.3. Yaourt maigre	5
4.3. Selon leur goût	5
5. Valeurs nutritionnelles et thérapeutiques du yaourt	5
5.1. Valeurs nutritionnelles	5
5.2. Valeurs thérapeutiques	7
5.2.1. Amélioration de la digestibilité du lactose	7
5.2.2. Amélioration de la digestibilité des protéines	7
5.2.3. Amélioration de la digestibilité des matières grasses	8

Chapitre II : Fabrication et valeur nutritionnelle de yaourt

1. Procédé de fabrication de yaourt	9
1.1. Matières premières et ingrédients	9
1.2. Etapes de fabrication	9
1.2.1. L'arrivée du lait à l'usine	9
1.2.2. Standardisation	9

1.2.3. Homogénéisation.....	9
1.2.4. Traitement thermique.....	10
1.2.5. Fermentation lactique.....	10
1.2.6. Conditionnement et stockage.....	11
1.2.7. Emballage et étiquetage.....	11

Chapitre III : La flore microbienne du yaourt

1. Bactéries lactiques.....	12
1.1. Introduction.....	12
1.2. Définition.....	12
1.3. Caractéristiques des bactéries lactiques.....	12
1.4. Classification des bactéries lactiques.....	12
1.5. Rôle des bactéries lactiques	14
1.6. Les ferments lactiques du yaourt.....	14
1.6.1. <i>Streptococcus thermophilus</i>	14
1.6.2. <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	14
1.8. Caractéristiques des deux ferments lactiques.....	15
2. Micro-organismes potentiellement pathogènes.....	15
2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	16
2.2. <i>Salmonella</i>	16
2.3. Coliformes.....	16
2.4. Streptocoques fécaux	16
2.5. Levures	17
2.6. Moisissures.....	17
3. Qualité microbiologique.....	17
3.1. Définition.....	17
3.2. Critères microbiologies.....	17
3.3. Défauts et altérations du yaourt.....	18
3.4. Paramètres physico-chimiques du yaourt.....	19

DEUXIEME PARTIE : PARTIE EXPERIMENTALE

Chapitre I: Matériels et méthodes

1. Objectifs	20
2. Lieu et période de travail.....	20
2.1. Lieu de travail.....	20
2.2. période de travail	20
3. Processus de fabrication du yaourt	20
3.1. Préparations du lait en poudre pour le yaourt	20
3.1.1. Reconstitution ou Recombinaison.....	20
3.1.2. Thermisation	20
3.1.3. Pasteurisation.....	20
3.1.4. Homogénéisation.....	20
3.2. Chambrage.....	20
3.3. Ensemencement.....	20
3.4. Aromatisation.....	21
3.5. Conditionnement.....	21
3.6. Etuvage.....	21
3.7. Refroidissement	21
3.8. Stockage et Commercialisation.....	21
4. Méthodes.....	23
4.1. protocole expérimental.....	23
4.2. Méthodes d'analyses.....	24
4.2.1. Analyses physico-chimiques.....	25
4.2.1.1. Mesure de l'extrait sec total.....	25
4.2.1.2. Détermination de la densité.....	26
4.2.1.3. Détermination de l'acidité titrable.....	26
4.2.1.4. Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique)	27
4.2.1.5. Mesure de l'extrait sec dégraissé	28
4.2.1.6. pH (potentiel d'hydrogène)	29

4.2.1.7. Température (par thermomètre)	29
4.2.2. Analyses microbiologiques	29
4.2.2.1. Préparation des dilutions décimales	29
4.2.2.2. Recherche des <i>Enterobacteriaceae</i>	29
4.2.2.4. Recherche <i>Staphylococcus à coagulase</i> +	30
4.2.2.5. Recherche de Salmonelles.....	31
4.2.2.6. Recherche des <i>Listeria monocytogenes</i>	32
4.2.3. Analyses organoleptiques.....	33
4.2.3.1. Goût.....	33
4.2.3.1.1. Teneur en graisses	33
4.2.3.1.2. Cultures de démarrage.....	33
4.2.3.1.3. Poudre/Protéines de lait.....	34
4.2.3.1.4. Durée de conservation	34
4.2.3.2. Texture	34
4.2.3.3. Aspect.....	34
4.2.3.4. Odeur	34

Chapitre II : Résultats et discussions

1. Analyses physico-chimiques	335
1.1. Extrait sec total (EST).....	35
1.2. La densité	36
1.3. L'acidité titrable	37
1.4. Matière grasse	38
1.5. Extrait sec dégraissé (ESD).....	39
1.6. pH (potentiel d'hydrogène)	40
1.7. Température	41
2. Analyses microbiologiques	42
2.1. <i>Enterobacteriaceae</i>	42
2.2. <i>Staphylococcus à coagulase</i> +	43
2.3. Salmonelles	44
2.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	45
3. Analyses organoleptiques.....	46
4. Discussions	47

Conclusion

Références bibliographiques

Annexes

INTRODUCTION

INTRODUCTION GENERALE

Le lait et les produits laitiers spécialement occupent un large espace de consommation, en raison de leur faible coût par rapport à la haute valeur nutritive qu'ils contiennent.

Ils constituent des aliments de base pour l'homme. Indispensables pour le nouveau-né, ils s'avèrent très bénéfiques pour l'adulte.

Le lait est une matière première qui peut être transformée en une multitude de produits aux textures et saveurs variées.

Le yaourt ou yoghourt est un produit fermenté d'origine animale à base de lait. Sa fabrication fait intervenir des bactéries lactiques dont l'action conduit à la formation d'acide lactique à partir du lactose ou sucre du lait et d'arômes (fermentation lactique).

Toutefois, la fermentation lactique, permet d'acidifier le lait (diminution du pH) et d'empêcher la prolifération de la flore indésirable (ou d'altération) dans le lait, d'où l'amélioration de son aptitude à la conservation.

Le contrôle de la qualité des matières premières et des produits finis est maintenant généralisé. Les produits finis sont systématiquement contrôlés d'un point de vue microbiologique (pendant longtemps) mais aussi physico-chimique.

Le but visé à terme est de fournir au consommateur un produit sain, de qualité organoleptique constante et acceptable.

Dans notre pays, le contrôle de la qualité du yaourt, comme celle des autres produits laitiers est une nécessité fondamentale, puisqu'ils occupent la première place dans l'alimentation des Algériens.

Le travail présenté dans ce mémoire vise à étudier les analyses physico- chimiques et microbiologiques du yaourt de la laiterie « GIPLAIT » de Tiaret.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralité sur le yaourt

1. Historique

Les laits fermentés sont consommés depuis la plus haute antiquité. En particulier par certaines populations orientales (Asie, Europe centrale). Le yaourt s'est répandu dans le pays occidentaux aux débuts du XX^e siècle après les travaux de Metchnikov 1907 (**JEANTET et al., 2008**).

Dans le sillage des découvertes de Louis Pasteur sur la fermentation lactique, de nombreux chercheurs se sont intéressés aux microorganismes présents dans le lait. En 1902, RIS et KHOURY, deux médecins français, isolent les bactéries présentes dans un lait fermenté égyptien, MECHNIKOFF (1845 -1916) isole ensuite la bactérie spécifique du yaourt "le bacille bulgare", analyse l'action acidifiante du lait caillé et régulier (**ROUSSEAU, 2005**).

De nombreux autres produits sont arrivés par la suite sur le marché : laits fermentés probiotiques, laits fermentés de longue conservation (pasteurisés, UHT, lyophilisés ou séchés) et produits plaisir (à boire, pétillants ou glaces).

Dans les années (1960 -1970), sont apparus les produits sucrés puis aromatisés sur le marché. L'apparition du yaourt brassé a constitué une autre étape importante de la commercialisation des laits fermentés. En outre, le développement commercial des produits probiotiques est important et correspond à une demande du consommateur (**MAHAUT et al., 2000**).

2. Définition du yaourt

Les laits fermentés peuvent être classés en catégories selon les micro-organismes impliqués dans la fermentation, leur teneur en matière grasse, le lait utilisé pour leur fabrication, leur texture ou leurs arômes. Dans tous les cas ils sont considérés comme des produits laitiers frais et doivent à ce titre présenter une durée de vie limitée et être maintenus au froid (**Anonyme, 2000**).

Selon la norme **AFNOR NF V01-800 de l'année 2001** l'appellation yaourt est réservée aux produits fermentés avec les deux seules bactéries lactiques thermophiles *Lactobacillus bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* présentant une teneur en acide lactique minimale de 0,7% et contenant au moins 10 millions de bactéries vivantes par gramme de produit au moment de la vente aux consommateurs (**Luquet, 1985**).

3. Composition de yaourt

Tableau N° 01 :Composition moyenne d'un yaourt (TOME, 2002).

La composition	Les valeurs pour 100g
Apport calorique	42 à 115 kcal
Eau	80-90%
Glucides	4-18 g
Protéines	2,8-4,3 g
Lipides	0-3,5 g
Calcium	150 mg
Phosphore	110 mg
Sodium	60 mg
Vitamines du groupe B	-

La composition en acides aminés indispensables confère aux protéines laitières une très bonne valeur nutritionnelle. Les vitamines A et D ne sont présentes que dans les produits issus de lait entier. Le rapport calcique /phosphore est de 1,5 ce que est excellent (**FREDOT, 2005**)

La qualité d'ingrédients non laitiers est fixée par le CA, la FIL et la plupart des pays à moins de 30% en poids du produit fini (**AMELLAL, 2008**).

4. Classification

4.1. Selon la représentation

4.1.1. Yaourt ferme (étuvé)

Les yaourts étuvés nature, sucrés ou aromatisé ont une texture ferme a surface lisse. La fermentation s'opère dans des pots après le conditionnement.

Le laitensemencé à bonne température est rapidement réparti en pots (en verre, en carton paraffiné, en matière plastique) d'une contenance habituelle de 12,5 cl, dans le cas des yaourts sucrés, aromatisés, aux fruits ...etc. (**Guyot, 1992**).

L'apport des additifs se fait avant ou après le remplissage des pots. Après le capsulage (aluminium, carton paraffiné), les pots sont placés dans une étuve (à air chaud) ou parfois au bain-marie pour permettre la fermentation.

L'acidification dépend de la température et de la durée d'incubation, la température choisie entre (42 et46°C) est maintenue constante. Il important qu'elle soit homogène en tous les points de l'étuve de façon à ce que la fermentation soit régulière. L'incubation dure environ 2 à 3 heures.

Les pots sont maintenus dans l'étuve jusqu'à l'obtention d'une acidité de 0,75 (au minimum) à 1% environ d'acide lactique, soit 75 à 100°D. A ce moment, le caillé doit être alors immédiatement sorti de l'étuve refroidis le plus rapidement possible à la température de +4 à 5°C, ce refroidissement a pour but d'arrêter l'acidification par inhibition des bactéries lactiques, il se fait en chambre froide bien ventilées ou en tunnel de réfrigération, les pots sont ensuite stockés à +2 à 4°C pendant 12 à 24 h de façon à augmenter la consistance sous l'action du froid et de l'hydratation des protéines. **(Guyot, 1992).**

4.1.2. Yaourt brassé

Les yaourts brassés sont fluides. La fermentation à lieu en cuve avant le conditionnement, il peut être soit naturel, soit préparé avec des pulpes ou des morceaux de fruits ou aromatisés.

Le laitensemencé est maintenu en cuve ou en tank à la même température que dans le cas des pots (entre 42 et 46°C) jusqu'à l'obtention de l'acidité voulue. Celle-ci est souvent un peu plus élevée que pour le yaourt ferme : de 1 à 1,2% d'acide lactique, soit 100 à 120°D. On procède alors au découpage et au brassage du caillé par l'un des procédés ci-après :

Agitation mécanique à l'aide d'un brasseur à turbine ou à hélice : passage du gel à travers un tamis.

Homogénéisation : à basse pression ce traitement a pour but de rendre le caillé onctueux, il doit être réalisé avec précaution si le brassage est trop violent et s'il s'accompagne d'une séparation excessive du sérum. Si la dilacération du coagulum est insuffisante, le produit risque de devenir ultérieurement trop épais. Le brassage du lait terminé, le caillé est immédiatement et rapidement refroidi à une température inférieure à 10°C. La réfrigération dans les cuves ou les tanks se faisant trop lentement et pouvant provoquer une sur acidification (sauf dans le cas de très petites capacités), celle-ci est réalisée par passage du caillé au cours de la réfrigération améliore l'onctuosité du produit. Le yaourt est ensuite conditionné en pots et conservé à +2 ou -4°C.

L'addition éventuelle d'arômes de pulpes de fruit ...etc., se fait au moment du remplissage des pots. L'addition du sucre doit se faire avant incubation à condition de ne pas dépasser 6% afin de ne pas ralentir la fermentation, pour conserver au yaourt brassé sa consistance semi liquide le mélange (fruit + sucre) ne doit pas dépasser 15%. **(Guyot, 1992).**

4.2. Selon la teneur en matière grasse

4.2.1. Yaourt entier

Comme sa dénomination on l'indique, ce yaourt est à base de lait entier, sa teneur en matière grasse est de 3,5% (35 g/l), c'est un yaourt très onctueux et crémeux.

4.2.2. Yaourt partiellement écrémé

Le yaourt partiellement écrémé est le plus fréquemment consommé. Il s'agit du yaourt fabriqué à partir de lait partiellement écrémé, il contient 1% de matière grasse (10 g/l), à 3% (30 g/l).

4.2.3. Yaourt maigre

C'est un yaourt préparé à partir de lait écrémé, le yaourt maigre à une consistance gélifiée. Il est moins moelleux il ne contient plus de vitamines A et D, sa teneur en matière grasse au maximum 1% (10 g/l) (**Anonyme, 1995**).

4.3. Selon leur goût

- Les yaourts nature : ils ne subissent aucune addition
- . – Les yaourts « sucrés » : ils sont additionnés de sucre.
- Les yaourts « aux fruits », « au miel », « à la confiture » : ils subissent une addition inférieure à 30 % de ces différents produits (**FREDOT, 2005**).
- Les yaourts « aromatisés » : ils contiennent des arômes naturels renforcés par un produit de synthèse (**FREDOT, 2005**).

5. Valeurs nutritionnelles et thérapeutiques du yaourt

5.1. Valeurs nutritionnelles

Un pot de yaourt à la même valeur nutritionnelle qu'un verre de lait :

- ✚ Protéines : 4 à 5 g/100g
- ✚ Glucides : 5 à 20 g/100g selon qu'il soit nature ou sucré.

Lipides : un taux variable selon le yaourt soit

→	Nature (1,2 g/100g)
→	Entier (2,3 g/100g)
→	Ecrémé (1g/ 100g)

La teneur en vitamines varie en fonction du type du yaourt, de la température, de préparation, des souches utilisés et des conditions de stockage.

Les minéraux et les oligo-éléments sont naturellement en concentration inchangée dans le lait après fermentation, le cuivre, le zinc, et le fer sont partiellement solubilisés, alors que le magnésium est totalement.

Le calcium contenu dans les yaourts présente une meilleure biodisponibilité que celui du lait. Le calcium est mieux absorbé dans le yaourt que du lait.

Enfin la fermentation, en particulier les concentrations en vitamines du groupe B, il faut cependant souligner qu'il existe une forte variabilité inter souche. **(Tamime et Robinson, 2001)**

Le tableau 02 ci-après montre la composition comparée en vitamines du lait entier et d'un yaourt au lait entier.

Tableau N° 02 : Composition comparée en vitamines du lait entier et d'un yaourt au lait entier (teneur exprimée (μg pour 100g de produit)) **(D'après Tamime et Robinson, 2001)**

Vitamines	Lait ($\mu\text{g}/100\text{g}$)	Yaourt ($\mu\text{g}/100\text{g}$)
*Rétinol	52	28
*Carotène	21	21
*Thiamine (B ₁)	30	60
*Riboflavine (B ₂)	170	270
*Pyridoxine (B ₆)	60	100
*Cyanocobalamine (B ₁₂)	0,4	0,2
*Vitamine C	1000	1000
*Vitamine D	0,03	0,04
*Vitamine E	90	50
*Acide folique	6	18
*Acide nicotinique	100	200
*Acide pantothénique	350	500
*Biotine	1,9	2,6
*Choline	12100	-----

La valeur nutritionnelle des différents types des yaourts apparaît dans le tableau N° 02 ci-après :

(Michel, 2000)

Tableau N° 03 : Teneur moyenne pour 100g de produit (yaourt) (Michel, 2000).

	Protéines (g)	Lipides (g)	Glucides (g)	Calcium (mg)	Sodium (mg)	Potassium (mg)	Phosphore (mg)	Energie (Kj)
Yaourt maigre	4,15	1,2	5,2	175	57	210	114	201
Yaourt au lait entier	3,8	3,5	5,3	171	56	206	112	284
Yaourt Nature Sucré	3,2	1,1	14,5	160	52	195	105	347
Yaourt aromatisé au lait entier	3,2	3,2	12	140	50	190	105	347
Yaourt brassé nature	4,1	1,8	5,2	165	40	205	115	230
Yaourt brassé aux fruits	3,75	1,65	14,5	140	50	190	110	368
Yaourt au lait entier aux fruits	3,1	2,7	16,5	140	45	180	100	431
Yaourt maigre aux fruits	3,6	Traces	17,2	140	45	180	100	351
Yaourt maigre aux fruits	4,2	Traces	5,4	164	55	180	100	163

5.2. Valeurs thérapeutiques

Le yaourt est un produit vivant, donc il est presque comme un médicament antiseptique.

✚ Il nettoie le tube digestif grâce à la présence d'acide lactique.

Il détruit les microbes et assainit la flore intestinale (Michel, 2000).

5.2.1. Amélioration de la digestibilité du lactose

La présence des bactéries lactiques vivantes permet une meilleure assimilation du lactose chez les sujets déficients en lactase.

La lactase bactérienne est en effet toujours active lors du passage des bactéries dans le tractus intestinal. Elle hydrolyse le lactose résiduel contenu dans le yaourt (30g/l).

Il a été établi que les bactéries doivent être vivantes dans le yaourt au moment de sa consommation pour que cette fonctionnalité soit active (Michel, 2000).

5.2.2. Amélioration de la digestibilité des protéines

L'assimilation des protéines du lait est meilleure s'il est consommé sous forme de yaourt ou de lait fermenté, en effet du lait l'activité protéolytique des bactéries lactiques, les produits fermentés contiennent plus d'acides aminés libres que le lait avant fermentation. De plus, les

protéines contenues dans ces produits sont plus digestes que celles du lait, leur structure plus ouverte après le traitement thermique et la coagulation facilite l'action des enzymes protéolytiques pendant le transit intestinal (**Terre, 1986**).

5.2.3. Amélioration de la digestibilité des matières grasses

Bien que l'activité lipidique des bactéries lactiques soit élevée, il y a une augmentation de la teneur en acides gras libres dans le yaourt. De plus en plus l'homogénéisation augmente la surface des globules (**Michel, 2000**).

Chapitre II
fabrication de yaourt

1. Procédé de fabrication de yaourt

1.1. Matières premières et ingrédients

La principale matière première pour la fabrication des yaourts est le lait dont, pour l'essentiel, le lait de vache. Il est constitué d'environ 88% d'eau et de 12 % de matière sèche contenant des glucides, des protéines, des lipides et des minéraux (**TAMIME et ROBINSON, 1985**).

1.2. Etapes de fabrication

1.2.1. L'arrivée du lait à l'usine

Le lait est collecté chaque jour dans les fermes pour être amené à l'usine grâce à des camions citernes de 20 000 litres. Dès l'arrivée du camion des prélèvements sont effectués.

Des tests permettent de s'assurer de la bonne qualité du lait avant sa transformation. On recherche par exemple la trace d'antibiotiques qui auraient été administrés aux vaches. Le lait est ensuite refroidi et stocké dans des cuves avant son utilisation (**MARCILLE, 2003**)¹.

2.2. Standardisation

Le lait de vache est constitué d'eau, de lactose, de matières grasses, de matières azotées protéiques (caséines et protéines sériques), non protéiques, et de minéraux. Sa composition moyenne peut varier selon la race, l'alimentation, et le stade de lactation de l'animal. En fabrication de yaourt, le lait doit être standardisé en matières grasses, enrichi en protéines, et éventuellement sucré, pour répondre aux spécifications nutritionnelles et organoleptiques des produits (**BEAL et SODINI, 2006**).

1.2.3. Homogénéisation

Elle a principalement des effets sur deux composantes du lait, soit la matière grasse et les protéines. Le tableau N°04 donne les causes possibles d'homogénéisation inadéquate d'un mélange et les incidences sur la qualité du yaourt.

Tableau N° 04 : Les causes possibles d'homogénéisation inadéquate d'un mélange et les incidences sur la qualité du yaourt (**VIGNOLA , 2002**).

Causes	Incidence sur la qualité du yaourt
Pression trop faible	-Séparation du gras, obtention de deux phases (présence d'une surface très crémeuse). -Présence d'un gout d'eau dans le produit non uniformité de la couleur. -Produit plus liquide, donc une consistance et une viscosité moindres. -Synérèse.
Pression trop forte	-Diminution dans l'onctuosité. -Viscosité et consistance inappropriées en raison d'un bris des protéines. Produit plus liquide. -Présence de mousse ou de bulles à la surface.

1.2.4. Traitement thermique

Lait enrichi, éventuellement sucré, subit un traitement thermique. Le barème de traitement thermique le plus couramment utilisé est de 90-95°C pendant 3 à 5 min (**MAHAUT et al., 2000 ; PACIKORA, 2004**). Ce traitement a de multiples effets sur la flore microbienne ainsi que sur les propriétés physico-chimiques et fonctionnelles du lait. Tout d'abord, il crée des conditions favorables au développement des bactéries lactiques. Il détruit les germes pathogènes et indésirables (**BOUDIER, 1990**) et inactive des inhibiteurs de croissance tels que les lactopéroxydases (**FARKEY et IMAFIDON, 1995**). De même, il réduit les sulfures toxiques et entraîne la production d'acide formique qui est un facteur de croissance pour *Lactobacillus bulgaricus* (**LOONES, 1994**)

Le traitement thermique a également un effet sur la conformation tridimensionnelle des protéines, induisant la modification de leurs propriétés fonctionnelles. Il dénature la majorité des protéines du lactosérum (85%) qui se fixent ainsi sur les molécules de caséines. Enfin, il modifie les équilibres salins, entraînant une augmentation de la taille des micelles de caséines, de leur stabilité et de la quantité d'eau liée (**MAHAUT et al., 2000**).

1.2.5. Fermentation lactique

Le lait, enrichi et traité thermiquement, est refroidi à la température de fermentation, 40- 45°C. Cette température correspond à l'optimum de développement symbiotique des bactéries lactiques (**LOONES, 1994**). Leur inoculation se fait à un taux assez élevé, variant de 1% à 7%, pour un ensemencement indirect à partir d'un levain avec un ratio *Streptococcus thermophilus/Lactobacillus bulgaricus* de 1,2 à 2 pour les yaourts nature, et pouvant atteindre 10 pour les yaourts aux fruits (**BOUDIER, 1990 ; MAHAUT et al., 2000**).

L'ensemencement direct à partir de bactéries lactiques concentrées congelées se fait à des taux de l'ordre de 0,03 %. Les deux espèces *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* vivent en symbiose et en synergie. Lors de leur croissance, elles dégradent le lactose en acide lactique, entraînant une baisse du pH et la gélification du milieu avec des modifications structurales irréversibles.

En outre, ces bactéries produisent des composés carbonylés volatils (l'acétaldéhyde, le diacétyl, l'acétone, l'acétate d'éthyle) (**IMHOF et al., 1994; OTTA et al., 1997**) et des exopolysaccharides (**CERNING et al., 1990**) qui participent, respectivement, à l'élaboration de l'arôme et de la texture des yaourts.

Lorsque le pH atteint une valeur comprise entre 4,7 et 4,3, un refroidissement en deux temps (rapide jusqu'à 25°C, puis plus lent jusqu'à 5°C) est appliqué afin de stopper la fermentation. En effet, l'activité des bactéries lactiques est limitée pour des températures inférieures à 10°C (**TAMIMEA et ROBINSON, 1985**)

1.2.6. Conditionnement et stockage

Les yaourts, conditionnés dans des pots en verre ou en plastique, sont stockés en chambres froides à 4°C en passant au préalable dans des tunnels de refroidissement.

A ce stade, ils sont prêts à être consommés. La durée limite de leur consommation est de 28 jours (**LUQUET et CARRIEU, 2005 ; PACIKORA, 2004**). Pendant le stockage, les bactéries lactiques maintiennent une activité réduite. Cette évolution, appelée post-acidification, se traduit par une légère baisse du pH, surtout pendant les 2 premiers jours de stockage.

1.2.7. Emballage et étiquetage

a- Emballage

Le matériel d'emballage ne doit pas modifier les caractéristiques du produit; il peut s'agir de cartons contrecollés, de polyéthylène à haute densité ou de tout autre matériau inoffensif approuvé par l'autorité compétente (**ROUX, 1994**)

b- Etiquetage

Les étiquettes ne doivent comporter aucune légende ou de caractère ambigu ni illustrations ou ornements susceptibles d'induire en erreur ni des descriptions des caractéristiques du produit qui ne puissent être vérifiées.

Les étiquettes doivent être conformes à la norme salvadorienne et contenir au minimum les informations suivantes:

- La dénomination du produit
- La marque
- La légende ingrédients avec la déclaration des ingrédients en ordre de proportion suivie du nombre et de la fonction technologique de l'additif
- Le contenu doit être exprimé en unités du système international d'unités
- l'indication «à conserver au réfrigérateur ou à maintenir au frais» ou toute autre indiquant clairement les conditions de conservation
- l'identification du lot, l'année, le mois et le jour de fabrication et la date de péremption, qui doivent être placés à un endroit approprié sur l'emballage
- Le pays d'origine
- Le nom et la raison sociale du fabricant, son adresse, son numéro de téléphone, ...etc.
- Elle ne doit contenir aucune légende ayant une signification ambiguë ni des déclarations de propriété telles que: «pur», «frais», etc., ou des illustrations ou ornements susceptibles d'induire en erreur ou impossibles à vérifier (**ROUXJ, 1994**).

Chapitre III

***la flore microbienne et qualité
Chapitre III
la flore microbienne et qualité
microbiologique***

1. Bactéries lactiques

1.1. Introduction

L'industrie laitière utilise certaines bactéries, appelées ferments, dans la production des yogourts, des fromages, de la crème et de tout autre produit laitier fermenté. On nomme ferments lactiques les bactéries utilisées, entre autres, pour l'acidification du lait (**Vignola, 2002**).

1.2. Définition

D'après **Dupin (1992)** et **Joffin (2001)**, les bactéries lactiques sont des bactéries des fermentations alimentaires qui se caractérisent par une très forte production d'acide lactique.

Les lactiques homofermentaires produisent de l'acide lactique comme produit principal en plus faibles quantités de l'acide acétique et du CO₂ et les lactiques hétérofermentaires produisent des quantités élevées d'acide acétique, d'alcool et CO₂ en plus de l'acide lactique (**Oteng-Gyang, 1984**).

Les ferments lactiques sont une source de bactéries actives en culture pure qui sont utilisées dans plusieurs industries alimentaires en raison des modifications que leur activité entraîne dans la saveur et la texture des produits finis (**Germain et al, 1980**).

1.3. Caractéristiques des bactéries lactiques

- Les bactéries lactiques sont des coques ou des bâtonnets, Gram positif, immobiles, non sporulées, catalase négative et nitrate réductase négative.
- Elles sont aéro-anaérobies facultatives ou micro-aérophiles.
- Ce sont des bactéries produisant de l'acide lactique par fermentation des glucides simples ou oses, tolérant des pH acides (**Feutry et Beuvier, 2005**).
- Les bactéries lactiques sont caractérisées par des exigences nutritionnelles nombreuses (**Leveau, Bouix, 1993**). Elles ont des besoins complexes en facteurs de croissance, acides aminés, peptides, bases puriques et pyrimidiques, des vitamines B et des acides gras (**Bekhouche, 2006**).

1.4. Classification des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques regroupent un ensemble d'espèces hétérogènes dont le trait commun est la production d'acide lactique (**Labioui et al., 2005**).

Les bactéries lactiques peuvent être divisées en deux groupes (Gram – et Gram+) fondés sur la différence de la structure et de la composition chimique de la paroi cellulaire mise en évidence grâce à coloration de Gram (**Hervé et al., 2008**).

On peut distinguer deux grandes classes de ferments lactiques :

- Les ferments mésophiles
- Les ferments thermophiles (**Canteri, 1997**).

Tableau 05: Classification de certaines bactéries lactiques (**Hernier et al, 1992**).

Anciens noms	Nouveaux noms
-SL <i>Streptococcus lactis</i>	- <i>Lactococcus subsp lactis</i> .
-SD <i>Streptococcus diacetylactis</i>	- <i>Lactococcus lactis subsp .lactis biovar diacetylactis</i> .
-SC <i>Streptococcus cremoris</i>	- <i>Lactococcus lactis subsp .cremoris</i> .
-ST <i>Streptococcus thermophilus</i>	- <i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i> .
-SFm <i>Streptococcus faecium</i>	- <i>Enterococcus faecium</i> .
-SFs <i>Streptococcus faecium</i>	- <i>Enterococcus faecalis</i> .
-LC <i>Leuconostoc cremoris</i>	- <i>Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris</i> .
-LM <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	- <i>Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides</i> .
-LD <i>Leuconostoc dextranicum</i>	- <i>Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum</i> .
-LbB <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	- <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> .
-LbB <i>Lactobacillus lactis</i>	- <i>Lactobacillus delbrueckii .lactis</i> .

Les bactéries se répartissent en 3 formes : les sphères (cocci), les batonnets et les formes courbées (**Petignat et al., 2006**).

Tableau 06 : Les différents genres de bactéries lactiques (**Leveau et Bouix, 1993**).

Genres	Cellules		Fermentation
	formes	arrangement	
<i>Streptococcus</i>	Coque	Chaines	Homolactique.
<i>Leuconostoc</i>	Coque	Chaines	Hétérolactique.
<i>Pédiococcus</i>	Coque	Tetrade	Homolactique.
<i>Lactobacillus</i>	Bacille	Chaines	Homolactique.
<i>Bifidobacterium</i>	variée	Variée	Acétique et lactique.

1.5. Rôle des bactéries lactiques

Les bactéries lactiques jouent de nombreux rôles dans l'industrie alimentaire (**Oteng–Gyang, 1984**).

-Préservation et innocuité de l'aliment : la fermentation est une méthode de conservation des aliments.

-Formation de l'arôme et de la saveur (**Yaoa et al., 2009**).

- La production d'acide lactique. Cet acide est un sous produit de la fermentation, voie de dégradation des sucres en conditions anaérobies.

- L'activité protéolytique : les bactéries lactiques ne peuvent absorber et utiliser que des acides aminés libres, peu abondants dans le lait, ou des peptides courts.

-L'inhibition des flores non lactiques, dont certaines sont pathogènes ou préjudiciables. Cette action est due à l'abaissement du pH, mais aussi à la sécrétion de bactériocines (**Desmazeaud, 1998**).

Streptococcus thermophilus produit un composé actif contre *Lactococcus lactis* mais aussi contre des *Bacillus*, des *Pseudomonas* et des entérobactéries.

Les bactériocines de lactobacilles sont de nature protéique, leur mode d'action est bactéricide et leur spectre d'activité est restreint à des espèces voisines (**Leveau et Bouix, 1993**).

1.6. Les ferments lactiques du yaourt

La technologie du yaourt est basée sur la mise en œuvre simultanée de deux espèces de bactéries lactiques, *Sc.thermophilus* et *Lb.delbrueckii* subsp *bulgaricus* (**Hermier et Accolas, 1990 ; Bourgeois et Larpent, 1996**).

1.6.1. *Streptococcus thermophilus*

Sc.thermophilus dans le yaourt se multiplie bien à 37-40°C mais se développe encore à 50°C. C'est une espèce homofermentaire thermorésistante qui survit à un chauffage à 65°C maintenu pendant 30 min (**Veisseyre, 1975**) ou à 74°C pendant 15 secondes (**FAO, 1995**).

Sc. thermophilus dégrade préférentiellement le lactose et le saccharose mais aussi le glucose et le fructose produisant de l'acide lactique de façon rapide mais limitée (acidité <90°D) (**Marshall, 2003**).

1.6.2. *Lactobacillus bulgaricus*

Bactérie lactique homofermentaire, se développe bien à 45-50°C, acidifiant fortement le

milieu. Elle intervient notamment dans la fabrication des yaourts. Son action caséolytique stimule le développement des Streptocoques (Clément, 1978).

Ses exigences nutritives sont complexes et variables. Elle peut dégrader le glucose, le lactose et le galactose mais n'attaque ni les pentoses ni le saccharose. L'acidification est importante (jusqu'à 300°D) (Terre, 1986).

L'observation microscopique des *Sc.thermophilus* et *Lb.bulgaricus* dans les figures n°03et04 suivantes (Righi, 2006).

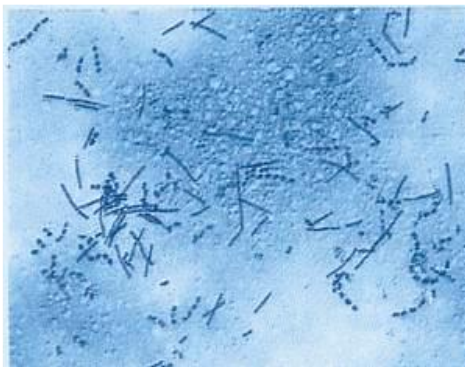


Figure n°01: *Sc.thermophilus* et *Lb.bulgaricus* colorés au bleu de de bactéries, à l'état frais, contenues dans le méthylène et observés au microscope.

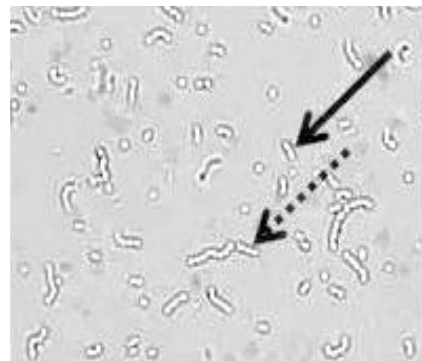


Figure n°02 : Observation microscopique && Yaourt *Sc.thermophilus* (flèche en pointillés) et *Lb. Bulgaricus* (flèche en pleine).

1.7. Caractéristiques des deux ferments lactiques

Streptococcus

Gram (+), coques (habituellement 1µm de diamètre), souvent par paires ou en chaînettes, non sporulants, capsules souvent présentes, anaérobies facultatifs, catalase négatifs (Dusart, 2005).

Lactobacillus

Gram (+), bâtonnets ou coccobacilles isolés ou en chaînes, typiquement non mobiles, anaérobies, microaérophiles ou aérobies facultatifs habituellement catalase négatifs (Dusart, 2005).

2. Les micro-organismes potentiellement pathogènes

Les bactéries pathogènes sont des micro-organismes capables d'infecter des organismes supérieurs. L'infection résulte de la capacité de ces bactéries à coloniser les surfaces cutanées ou muqueuses (Sansone, 2004).

La contamination du lait et des produits laitiers peut être aussi l'œuvre des germes dangereux pour la santé du consommateur (**Feutryet Beuvier, 2005**).

2.1. *Staphylococcus aureus*

Les Staphylocoques sont des bactéries sphériques à Gram positif qui s'assemblent en grappes de forme irrégulière. L'espèce la plus importante *Staphylococcus aureus*, est ainsi nommée à cause de la pigmentation jaune des colonies (aureus=doré) (**Tortora et al., 2003**).

Elles sont aéro-anaérobies, catalase positif, mésophiles (**Ait Abdelouahab, 2001**) très résistantes à la chaleur, à la dessiccation et aux irradiations (**Claire et al., 2007**).

Les *Staphylococcus aureus* font partie de la flore de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal (**Brisabois et al., 1999**). Elles sont les seuls capables de produire éventuellement une entérotoxine protéique qui cause des intoxications alimentaires (**Joffin, 2001**).

2.2. *Salmonella*

Les *Salmonella* sont des Entérobactéries lactose négatif (**Guiraud, 1998**), Gram négatif, bâtonnets, agent de toxi-infections alimentaire (**Ait Abdelouahab, 2001**). Elle sont des entérobactéries virulentes à tropisme digestif pathogènes pour l'homme (**Berche et al., 1988**).

Les *Salmonella* sont des bactéries aérobies-anaérobies facultatifs appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et possédant toutes leurs caractéristiques biochimiques. Elles sont généralement mobiles (**Brisabois et al., 1999**) et sensibles à la chaleur (**Zelvelder, 2004**).

2.3. Coliformes

D'après **Cuq, (2002)**, les coliformes sont des Entérobactéries (bacilles Gram-, sporulés, glucose+, oxydase-, nitrate réductase+, aérobies ou anaérobies facultatifs). Elles fermentent le lactose avec production de gaz à 30°C (**Guiraud, 1998**).

Le terme « coliformes thermotolérants » se rapporte aux coliformes ayant des mêmes propriétés à 44°C ; celui de « *E.Coli* présumés » concerne les coliformes thermotolérants qui produisent de l'indole à 44°C à partir du tryptophane (**Larpen et Larpen-Gourgaud, 1997**).

En industrie laitière, leur présence est un indice d'une pollution d'origine fécale, ou d'une contamination par défaillance technologique ou hygiénique (**Lebres et al., 2001**).

2.4. Streptocoques fécaux

Les Streptocoques fécaux sont des bactéries Gram(+), arrondie, très répandue dans l'air, le sol, l'eau, etc.

Elles sont groupées en chaînettes caractéristiques. Toutefois beaucoup sont pathogènes et peuvent provoquer différentes affections (**Auneau et al., 2002**).

2.5. Les levures

Les levures sont des champignons chez lesquels la forme unicellulaire est prédominante immobile. Elles se distinguent aisément des bactéries par leur taille plus grande et par leur production végétative s'effectuant le plus souvent par bourgeonnement (**Larpen, 1997**). La forme la plus fréquente est ovalaire ou sphérique.

Les levures comme les champignons filamenteux sont limités par une paroi épaisse dont la composition essentielle est à base de polymères glucidiques aux quels sont associées de faible quantité de protéines (**Larpen, 1990**). Elles sont de 10 à 40 fois plus grosses que les bactéries (**Vignola, 2002**).

2.6. Les moisissures

Selon **Poirier et Pinchin, (2006)**, les moisissures sont des micro-organismes à croissance rapide faisant partie de la famille des Champignons. Leur présence est naturelle dans l'environnement extérieur, où elles jouent un rôle bénéfique puisqu'elles assurent la dégradation des matières organiques. Ce sont des espèces multicellulaires organisées, aérobies (**Pointurier, 1998**). Ce sont dix fois plus grosses que les levures (**Vignola, 2002**).

Les moisissures sont des saprophytes. Sur le plan économique, on peut distinguer deux groupes de moisissures. Les moisissures utiles qui sont utilisées dans l'industrie pour conférer aux produits des propriétés organoleptiques et technologiques. Les moisissures nuisibles toxigènes et y produire des molécules toxiques dénommées mycotoxines ou métabolites secondaires (**Boudra, 2002**).

3. Qualité microbiologique

3.1. Définition

La qualité est définie comme étant l'aptitude d'un ensemble de caractéristiques intrinsèques à satisfaire les exigences. La qualité microbiologique est en lien direct avec l'innocuité du lait (**AFNOR, 1999**).

3.2. Critères microbiologies

Le nombre et le type de microorganismes présents dans le lait peuvent être utilisés pour juger ou décider de la qualité et la sécurité microbiologique. La sécurité est déterminée par la présence ou l'absence de microorganismes pathogènes ou leurs toxines, le nombre de pathogènes, et les mesures envisagées de maîtrise ou de destruction de ces agents. Selon le codex alimentaire, un Critères microbiologies applicable à un aliment détermine l'acceptabilité d'un produit ou d'un lot de produits compte tenu de l'absence, de la présence ou du nombre des microorganismes et/ou la qualité de leurs toxines/métabolites par unité de masse, de volume ou de superficie, ou par lot (**KIEMPTORE, 2013**).

Faute des critères nouveaux permettant d'interpréter les résultats des analyses pour les germes concernés dans ce travail, nous avons fait recours à ceux de l'article du 23 juillet 1994:

– Critère qualitatif: présence ou absence (plan à 2 classes)

- Absence : qualité satisfaisante
- Présence : qualité non satisfaisante

–Critère quantitatif : c'est-à-dire m comme Critère microbiologique fixe avec une valeur seuil d'acceptabilité (plan à 3classes)

- Résultats inférieurs ou égaux à 10 m en milieu liquide et 3m en milieu solide : produit satisfaisant.
- Résultats compris entre 10 m et 30 m en milieu liquide et 3 m et 10 m en milieu solide: produit acceptable.
- Résultats supérieurs à 10m en milieu solide ou à 30m en milieu liquide: produit non satisfaisant.

3.3. Défauts et altérations du yaourt

L'élaboration du yaourt faisant intervenir plusieurs étapes clés où la fermentation et la formation du gel doivent être minutieusement dirigées et surveillées, il est fréquent que des altérations de goût, d'apparence et de texture apparaissent et que certaines soient préjudiciables à la qualité finale du produit. Le tableau ci-après montre quelques anomalies du yaourt et leurs causes.

Tableau N° 07 : Quelques caractères anormaux des yaourts (CIDIL et INRA, 2009).

Anomalies	Causes
défauts organoleptiques	Sur ou post-acidification (par fermentation mal conduite)
1- Apparence - Décantation, synérèse - Production de gaz ou colonies en	- Refroidissement trop faible - Excès d'agitation
2- Texture - Manque de fermeté (pour yaourt traditionnel) - Trop liquide (yaourt brassé) - Texture sableuse	Contamination par coliformes ou par levures Ensemencement faible Mauvaise incubation... - Brassage trop violent Mauvaise incubation... - Chauffage poussé au lait
3- Gout - Amertume - Levure, fruité, de moisi - Plat, manque d'acidité	- Protéolyse trop forte Trop longue conservation - Contamination par levures et moisissures - Mauvaise activité des levains
4- Altérations Bombage, putréfaction - Rancidité	- Défauts d'étanchéité contamination - Contamination par des germes lipolytiques et longue conservation.

3.4. Paramètres physico-chimiques du yaourt

Lors de la vente, la quantité d'acide lactique libre contenue dans 100 g de yaourt ne doit pas être inférieure à 0,8g. De plus, le pH du yaourt doit être autour de 4 (SEYDI, 2002).

Partie expérimentale

Chapitre I :
Chapitre I :
Matériels et méthodes

1. Objectifs

L'objectif général de cette étude consiste à évaluer la qualité physico-chimique, microbiologique et organoleptique du yaourt étuvé (ferme) de marque « Rostomia » fabriqué dans la laiterie Sidi khaled de Tiaret.

2. Lieu et période de travail

La présente étude a été réalisée au niveau de la laiterie Sidi Khaled de Tiaret et s'est étalée sur une période de 02 mois du 01 Avril jusqu'à 31 Mai 2021.

3. Processus de fabrication du yaourt

3.1. Préparations du lait en poudre pour le yaourt

3.1.1. Reconstitution ou Recombinaison

A partir de poudre de lait ; il faut absolument utiliser de l'eau chauffée pour diluer la poudre. Une fois reconstitué, le lait va être sucré ; et puis subir une recombinaison (si la poudre est de 0% matière grasse) soit passe directement au thermiseur (si la poudre est un mélange de 2 poudres, l'une contient 0% de matière grasse et la deuxième contient 26% de matière grasse)

3.1.2. Thermisation

C'est un traitement thermique qui facilite la solubilité du sucre dans le lait (80 g / l)

3.1.3. Pasteurisation

Elle est toutefois effectuée le plus souvent à fin d'éliminer les microorganismes présents dans le lait et indésirables pour le consommateur.

3.1.4. Homogénéisation

L'homogénéisation est un traitement physique, au cours duquel le lait est projeté sous une pression de 180 bars à température de 90°C. Elle permet la fragmentation des substances en particules de petite taille.

3.2. Chambrage

Le lait reste quelques minutes à la température de pasteurisation, pour améliorer les conditions de fermentation dont la température de sortie du lait est de 40 à 43°C.

3.3. Ensemencement Il a lieu généralement en continu après refroidissement léger du lait. On procède à l'adjonction simultanée de ferments (04 doses pour 1000 litres) : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus*.

3.4. Aromatisation

C'est l'action d'ajout d'arôme (fraise, framboises, abricot, ou banane) au lait préparé à la fabrication de yaourt, à une quantité bien précise.

3.5. Conditionnement

Le conditionnement se passe par plusieurs étapes :

Formage: Détailler les limites des pots de yaourt à partir du matériau d'emballage qui doit subir une stérilisation pour éliminer les micro-organismes qu'il contient

Moulage : C'est la formation des moules (les pots de yaourt)

Dosage : Les pots vont se remplir par le yaourt (le mélange lait-ferments)

Datage et collage : Les pots de yaourt vont coller par les couvertures d'emballage (l'étiquetage), et le dateur va mettre la date sur l'étiquette

Assemblage : Les pots se groupent en 8 (chaque série contient 8 pots)

Enfin le produit devient fini, il va transporter vers la chambre d'incubation, puis vers la chambre froide, et finalement la conservation ou la commercialisation

3.6. Etuvage

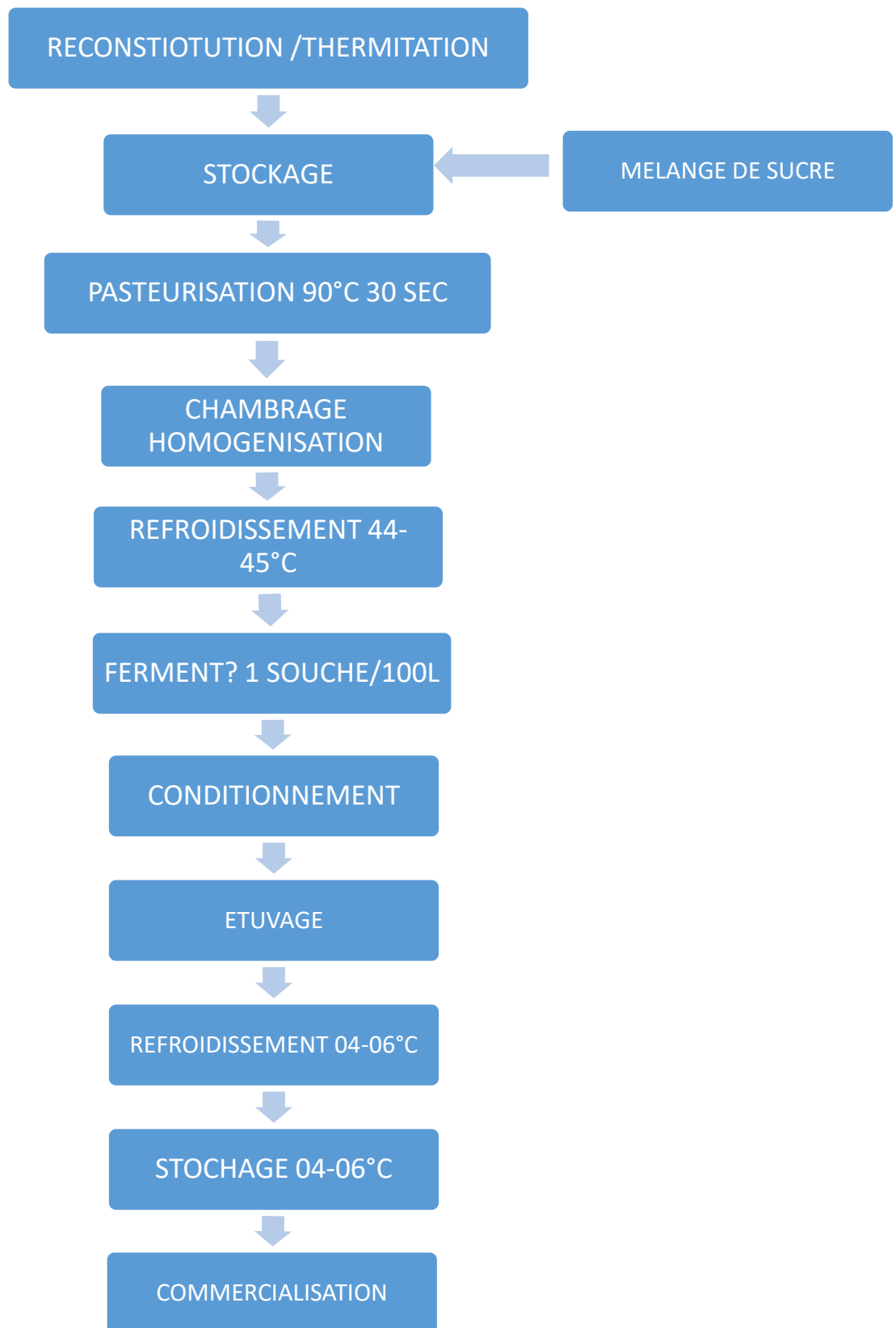
Les pots passent ensuite à la chambre chaude à 40-45°C où la fermentation s'opère et où le lactose se transforme partiellement en acide lactique. Cette opération dure de deux heures et demies à trois heures.

3.7. Refroidissement

A la sortie de l'étuve, les yaourts passent dans des chambres froides fortement ventilées où la température est de l'ordre de 2 à 4 °C, afin de freiner et de suspendre la fermentation.

3.8. Stockage et Commercialisation

Les pots de yaourt refroidi, vont être stockés par la suite dans une chambre froide pour qu'ils soient commercialisés dans des bonnes conditions.

Figure 03 :Process De Fabrication – Yaourt

4.Méthode :

4.1.Protocole expérimental

La figure 4 indique le protocole expérimental suivi durant cette étude

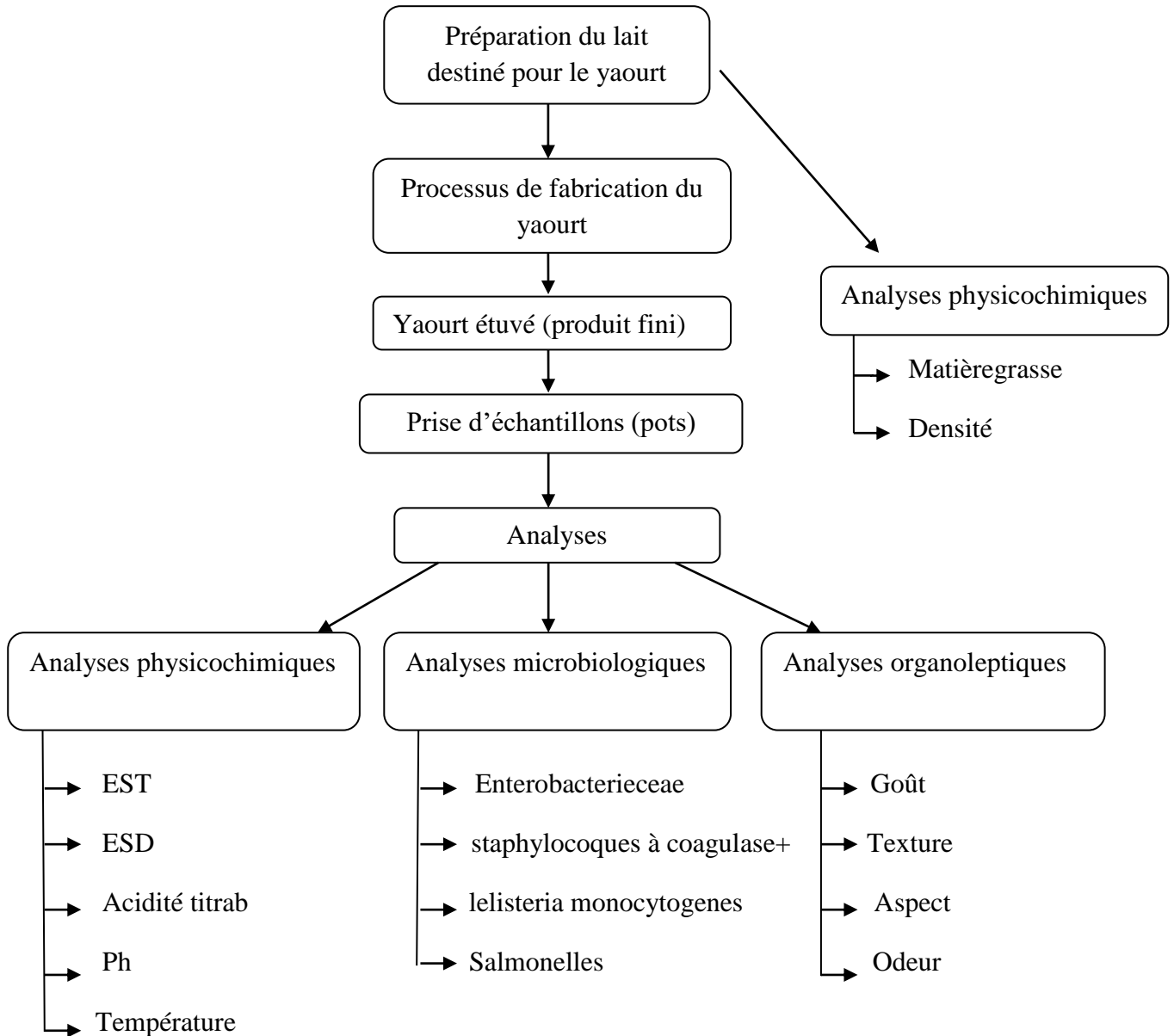


Figure 4 : Protocole expérimental

4.2. Méthodes d'analyses

Des analyses physico-chimiques ont porté sur les laits destinés à la fabrication du yaourt, prélevés soigneusement à partir de la cuve de stockage. A la fin du processus de fabrication du yaourt étuvé (produit fini), nous avons procédé à des analyses physico-chimiques, microbiologiques et organoleptiques sur un ensemble de 15 échantillons selon les dates de fabrication. Les 15 échantillons de laits et de yaourts prélevés selon les dates de production sont mentionnés dans le **tableau 8** suivant :

Tableau 8 : Prélèvement des échantillons selon les dates de production

Echantillons (lait et yaourt)	Dates de production
1	01/04/2021
2	02/04/2021
3	03/04/2021
4	04/04/2021
5	05/04/2021
6	08/04/2021
7	09/04/2021
8	10/04/2021
9	11/04/2021
10	12/04/2021
11	15/04/2021
12	16/04/2021
13	17/04/2021
14	18/04/2021
15	19/04/2021

4.2.1. Analyses physico-chimiques

4.2.1.1. Mesure de l'extrait sec total

On entend par matière sèche du yaourt le produit résultant de la dessiccation du yaourt dans les conditions décrites par la présente norme (AFNOR, 1985).

Principe

Une prise d'essai est pré-séchée sur un bain d'eau bouillante et l'eau restante est par la suite évaporée dans une étuve à une température de $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

Mode opératoire

Chauffer une capsule avec son couvercle posé à coté, dans l'étuve pendant au moins 1h. Mettre le couvercle sur la capsule et la placer immédiatement dans le dessiccateur ; laisser refroidir à une température ambiante (au moins 30 min) et peser 0,1mg près.

Peser rapidement à 0,1mg près, 1g à 5g (suivant la teneur estimée en matière sèche) de l'échantillon préparé dans la capsule préparée et incliner la capsule de façon étaler la prise d'essai uniformément au fond de la capsule.

Placer la capsule, sans le couvercle, sur le bain d'eau maintenu vigoureusement l'ébullition, de sorte que le fond de la capsule soit exposé de façon maximale à la vapeur et directement chauffé par celle-ci ; laisser la capsule pendant 30 min.

Retirer la capsule du bain d'eau et la chauffer avec son couvercle posé à coté dans l'étuve pendant 2h puis mettre le couvercle sur la capsule et la placer immédiatement dans le dessiccateur ; laisser refroidir la capsule à une température ambiante (au moins 30 min) et peser à 0,1 mg près.

Chauffer nouveau la capsule avec son couvercle posé à coté dans l'étuve pendant 1h ; mettre le couvercle sur la capsule et la placer immédiatement dans le dessiccateur. Laisser refroidir comme en et peser à 0,1 mg près.

Répéter la dernière opération jusqu'à ce que la différence de masse entre deux pesées successives ne dépasse pas 1mg et relever la masse la plus faible (AFNOR, 1985).

Expression des résultats

La matière sèche exprimée en grammes par litre de lait est égale à : $(M1-M0) \times V$ Où :

M0 : est la masse en grammes de la capsule vide.

M1 : est la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement.

V : est le volume en millilitres de la prise d'essai.

4.2.1.2. Détermination de la densité

La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau (AFNOR, 2001).

Principe

La densité est déterminée à 20°C par lactodensimètre pour le yaourt.

Mode opératoire

- Verser le lait dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse ou de bulles d'air, puis on remplit l'éprouvette jusqu'à un niveau tel que le volume restant soit inférieur à celui de la carène de lactodensimètre (il est commode de repérer ce niveau par un trait de jauge sur l'éprouvette). Le lactodensimètre est ensuite introduit dans l'éprouvette pleine de lait, ce qui provoque un débordement de liquide, ce qui débarrasse la surface du lait des traces de mousse qui gêneraient la lecture. Dans l'éprouvette remplie et maintenue en position verticale, on plonge doucement le lactodensimètre dans le lait en le maintenant dans l'axe de l'éprouvette tout en le retournant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre. Après trente secondes à une minute, on effectue la lecture de la graduation à la partie supérieure du ménisque, lire la température (AFNOR, 2001).

Expression des résultats

La densité du lait est une grandeur sans dimension

Corrections :

Si le lactodensimètre est utilisé à une température autre que 20°C ; une correction de la lecture doit être faite de façon suivante

- Si la température du lait au moment de la mesure est supérieure à 20°C, augmenter la densité lue de 0.0002 par degré au-dessus de 20°C.
- Si la température du lait au moment de la mesure est inférieure à 20°C, diminuer la densité lue de 0.0002 par degré au-dessous de 20°C.

4.2.1.3. Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable du lait et dérivés est exprimée en gramme d'acide lactique par litre de lait (AFNOR, 1980).

Principe

Titrage de l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphaléine comme indicateur.

Mode opératoire

- Dans un bécher introduire 10 ml de lait prélevé à la pipette, ou poser à 0.001g près, environ 10g de lait,
- Ajouter dans le bécher quatre gouttes de la solution de phénolphtaléine,
- Titrer par la solution d'hydroxyde de sodium 0.11 N jusqu'à virage au rose, facilement perceptible par comparaison avec un témoin constitué du même lait ; on considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes,
- Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé (AFNOR, 1980).

Expression des résultats

L'acidité exprimée par le volume de la solution d'hydroxyde de sodium où chaque 1 ml correspond à 1°D (degré doronic) sachant que 1°D égale à 0,1 gramme d'acide lactique par litre de lait (Guiraud, 1998).

4.2.1.4. Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique)

La méthode acido-butyrométrique est une technique conventionnelle qui lorsqu'elle est appliquée à un lait entier de teneur en matière grasse moyenne et de masse volumique moyenne donne une teneur en matière grasse exprimée en grammes pour 100g de lait ou 100 ml de lait (AFNOR, 1985).

Principe

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

Mode opératoire

Préparation du butyromètre à la prise d'essai

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

Dissolution des protéines

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

Centrifugation

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

Lecture

- Placer le butyromètre dans un bain d'eau à $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ pendant 2 à 3 minutes,
- Enlever le butyromètre du bain d'eau, le bouchon étant toujours ajusté vers le bas, ajuster soigneusement le bouchon pour amener l'extrémité inférieure de la colonne grasse avec le minimum de mouvement de cette colonne devant le repère le plus proche.
- Noter le trait de repère correspondant à l'extrémité inférieure de la colonne de matière grasse puis en ayant soin de ne pas bouger celle-ci, aussi rapidement que possible noter le trait de repère au haut de la colonne de matière grasse coïncidant avec le point le plus bas du ménisque (AFNOR, 1993).

Expression des résultats

La teneur en matière grasse de lait est : $B - A$ où :

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.

La teneur en matière grasse est exprimée, soit en gramme pour 100g de lait, soit en grammes pour 100ml.

4.2.1.5. Mesure de l'extrait sec dégraissé

La matière sèche dégraissée est obtenue par différence entre la matière sèche totale et la matière grasse. $\text{ESD} = \text{EST} - \text{MG}$

ESD : extrait sec dégraissé.

EST : extrait sec total.

MG : matière grasse.

4.2.1.6. pH (potentiel d'hydrogène)

Après étalonnage dans des solutions tampons (pH 7 et pH 4,01), l'électrode du pH-mètre est plongée dans le yaourt. La valeur du pH est obtenue par simple lecture sur l'écran du pH-mètre (Rodier *et al.*, 2005).

4.2.1.7. Température (par thermomètre)

On utilisant un thermomètre à alcool ; on le plonge dans le yaourt puis on obtient la valeur de la température en °C (degré Celsius).

4.2.2. Analyses microbiologiques

Les différentes déterminations microbiologiques réalisées dans cette étude de résidus sont selon les recommandations de l'arrêté interministériel relatif aux spécifications microbiologiques de certains denrées alimentaires soit pour le lait et dérivés.

Les tests bactériologiques consistent à rechercher si les produits à analyser sont contaminés par les germes indicateurs de contamination (Jofin et Jofin, 1999).

4.2.2.1. Préparation des dilutions décimales

On prélève 25 grammes du yaourt étuvé aseptiquement et on l'introduit dans un flacon stérile contenant 225 ml d'eau physiologique (Na Cl à 0,9 %) puis on les mélange par agitation pour obtenir la dilution 10^{-1} ; en prélevant 1 ml à partir de la dilution 10^{-1} et en l'introduisant aseptiquement dans un tube à essai contenant 9 ml du diluant on obtient la dilution 10^{-2} et ainsi de suite.

4.2.2.2. Recherche des *Enterobacteriaceae*

Les Entérobactéries (famille des *Enterobacteriaceae*) sont des bacilles Gram négatif retrouvés partout dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin (entéro-) de l'homme et des animaux. Elles sont l'une des plus importantes familles de bactéries, autant du point de vue quantitatif (plus d'une quarantaine de genres) que du point de vue qualitatif. Elles sont fréquemment rencontrées en pathologie infectieuse ainsi que dans les bio-industries (fermentation de fromages et produits laitiers, alcools, traitements médicaux supplémentifs, production de toxines à usage cosmétique, industrie pharmaceutique pour la fabrication d'agents antiviraux, analyse biologique de prélèvements médicaux humains ou vétérinaires pour isoler en culture les agents pathogènes, un grand nombre d'industries pour effectuer des mesures de niveau de toxicité biologique...).

Principe

Le principe est de compter les colonies caractéristiques qui poussent dans le milieu de culture VRBG contenant le lactose.

Mode opératoire

Trois séries de dilutions obtenues à partir de l'échantillon du yaourt étuvé, 1 ml de chaque dilution est ensemencé dans des boîtes de Pétri puis on coule le milieu sélectif VRBG,

on ajoute une deuxième couche du milieu après solidification de la première couche pour assurer l'anaérobiose et on les incube pendant 48 heures à 37 °C (Guiraud, 1998).

Expression des résultats

Les colonies caractéristiques sont des colonies rouges fluorescentes sous lumière UV rondes et de diamètre supérieur à 0,5 millimètre (Devauchelle, 1981).

Le comptage du nombre de colonies, après avoir été multiplié par le facteur de dilution, exprime le nombre de bactéries coliformes par g du produit (UFC/g de produit).

I.4.2.2.3. Recherche de *Staphylococcus à coagulase* +

Le staphylocoque doré est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*, elle est responsable d'intoxications alimentaires, d'infections localisées suppurées et dans certains cas extrêmes d'infections potentiellement mortelles (patient immunodéprimé, prothèses cardiaques) et se présente comme une coque en amas (grappes de raisin), Gram positif et catalase positif, sa teneur en caroténoïdes lui confère une couleur dorée à l'origine de son nom (Cidil et Inra, 2009).

Principe

Le principe est de compter les colonies caractéristiques qui poussent dans le milieu de culture BAIRD PARKER.

Mode opératoire

- Mélanger soigneusement les additifs (tellurite de potassium, pyruvate de sodium, jaune d'œuf) avec la gélose liquéfiée de BAIRD PARKER et couler le milieu à raison de 15 ml dans des boîtes de Pétri de 90 mm. Laisser solidifier, puis sécher les boîtes en les plaçant retournées couvercles largement ouverts, dans une étuve entre 45° C et 53° C durant 30 minutes.
- Distribuer 1 ml à la surface du milieu de trois boîtes de Pétri sous forme de trois fractions sensiblement égales, puis étaler.
- Placer les boîtes de Pétri retournées dans une étuve à 37 ° ± 1 ° C pendant 24 à 48 heures.
- Après 24 et 48 heures d'incubation, marquer sur le fond des boîtes les colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques (Menard et Heuchel, 1994).
- **Colonies caractéristiques** : Colonies noires, brillantes, convexes, entourées d'une zone transparente qui peut être translucide. Après 24 heures, peut apparaître dans cette zone transparente un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.
- **Colonies non caractéristiques** : Colonies noires, brillantes convexes ou gris noirâtre ayant parfois un aspect mat et une texture sèche, dépourvues de zone transparente (exceptées certaines colonies grises noirâtre).
- Retenir pour comptage, les boîtes contenant moins de 150 colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques par boîte. Prélever en vue de l'épreuve de la coagulase un

nombre maximum de cinq colonies caractéristiques et/ou non caractéristiques en tenant compte de leur nombre respectif. De manière identique, dix colonies au maximum seront prélevées dans le cas d'un volume réparti en trois fractions ou en double.

- Ensemencer la colonie dans un bouillon cœur et incuber dans une étuve à 37° C durant 20 à 24 heures. Pour l'épreuve de la coagulase, utiliser un plasma de lapin contenant de l'E.D.T. A, à défaut ajouter une solution d'E.D.T.A. de sorte que la concentration finale dans le plasma réhydraté soit de 0,1 %. L'épreuve est reconnue positive lorsque le coagulum occupe plus des trois quarts du volume initial.1.4.2.2.3.4. Expression des résultats
- Si au moins 80 % des colonies examinées sont coagulase positive, considérer que la totalité des colonies dénombrées correspond à *Staphylococcus aureus*, sinon, exprimer le résultat global en tenant compte des proportions (colonies caractéristiques et colonies non caractéristiques). Le résultat peut être exprimé par un nombre compris entre 9,9 multiplié par 10 x, « x » étant la puissance de 10 appropriée.

4.2.2.4. Recherche des Salmonelles

- Les salmonelles (*Salmonella*) forment un genre de bactéries appartenant à la famille des entérobactéries. Elles mesurent 0,7 à 1,5 µm de diamètre, pour 2 à 5 µm de longueur avec un flagelle (Lebres et Mouffok, 1999).
- Elles provoquent chez l'espèce humaine des maladies telles que la fièvre typhoïde, la fièvre paratyphoïde et la salmonellose, une des principales causes de toxi-infection alimentaire collective (TIAC).

Principe

- En général, la recherche des salmonella nécessite quatre phases successives : Pré-enrichissement, enrichissement, identification et confirmation.

Technique

- Pré-enrichissement : prélever aseptiquement 25 g du yaourt et l'introduire dans un flacon stérile et rajouter 225 ml d'eau peptonée tamponnée, mélanger soigneusement et incuber à l'étuve à 37° C pendant 20h ± 2 heures.
- Enrichissement : Introduire 10 ml de la solution pré-enrichie dans 100 ml de bouillon Muller Kauffmann au tétrathionate et au vert brillant ; faire incuber dans un bain d'eau à 43 °C ± 1 pendant 48 heures.
- Isolement : Après l'incubation, pratiquer à partir du bouillon des isolements, ensemencer avec une anse sur la surface de deux milieux sélectifs solides coulés de dans des boîtes de Pétri. Utiliser la gélose au vert brillant et au rouge de phénol et la gélose au sulfate de bismuth Retourner les boîtes à l'étuve à 37° C pendant 18 à 20 heures, si le développement est insuffisant, poursuivre l'incubation. Soumettre aux épreuves biochimiques classiques un nombre suffisant de colonies caractéristiques ou douteuses (Guiraud, 1998).

Expression des résultats

Les colonies typiques de salmonella peuvent être caractérisées comme suit :

- Sur gélose au vert brillant / rouge de phénol : les colonies typiques de salmonella sont roses bordées de rouge.
- Sur gélose au sulfite de bismuth : les colonies typiques de salmonella sont brunes ou noires avec un éclat métallique. Certaines souches donnent des colonies vertes.

Une galerie biochimique et sérologique doit être effectuée afin de confirmer la présence de la salmonelle ; ces tests de confirmations sont énumérés dans le tableau 2.

Tableau 9 : Galerie biochimiques pour l'identification des salmonelles (JORA N°43, 2006)

Essais de confirmation	Réaction positive ou négative	Pourcentage de souches de salmonella présentant la réaction (%)
Glucose TSI (Formation d'acide)	+	100
Glucose TSI (Formation de gaz)	+	91,9
Lactose TSI	-	99,2
Saccharose TSI	-	99,5
Sulfure d'hydrogène TSI	+	91,6
Décomposition de l'urée	-	100
Décarboxylation à la lysine	+	94,6
Réaction de la β galactosidase	-	98,5
Réaction de Voges-Proskauer	-	100
Réaction de l'indole	-	98,9

4.2.2.3. Recherche de *Listeria monocytogenes*

C'est une espèce type de *Listeria* pathogène et qui peut être différenciée des autres espèces car elle présente des caractéristiques biochimiques spécifiques.

Principe

En général, la recherche de *Listeria monocytogenes*, nécessite au moins quatre étapes successives.

Technique

-Enrichissement primaire (25 gr ou 25 ml dans 225 ml de milieu Fraser au 1/2) Incubation à 30° C pendant 18 à 24

-Ensemencement secondaire 0,1ml sur Fraser en tubes de 10 ml, et isolement en stries sur gélose Oxford ou Palcam. Incubation à 37° C pendant 24 à 48 h

-Sélection de trois à cinq colonies caractéristiques et isolement en stries sur une autre plaque de gélose Oxford ou Palcam Incubation à 37° C pendant 24 à 48 h

-Purification sur gélose TSYEA

-Incubation à 37° C pendant 24 h (ou plus, si nécessaire)

-Examens complémentaires

Expression des résultats

L'identification du genre *Listeria* basée sur l'aspect morphologique des colonies, la coloration de Gram et sur la réaction Catalase puis à l'identification de l'espèce *Listeria monocytogenes*, basée essentiellement sur l'hydrolyse de l'esculine, la mobilité à 22-25°C, les réactions (VaugesPrauskawer VP) et du rouge de méthyle, l'hémolyse ou le Camp-Test, la fermentation du glucose sans gaz, le type respiratoire

4.2.3. Analyses organoleptiques

On se base dans les analyses organoleptiques sur les critères suivant :

4.2.3.1. Goût

4.2.3.1.1. Teneur en graisses

C'est le facteur ayant l'influence la plus significative sur le goût d'un yaourt nature, en effet, la matière grasse est un vecteur de goût: plus la teneur en matière grasse est élevée, plus le goût du yaourt nature est intense, et donc plus le produit est apprécié par les consommateurs (Stolz et al.,2011).

4.2.3.1.2. Cultures de démarrage

Le type de cultures bactériennes utilisé a également une forte influence sur le goût, notamment sur le caractère acide, le yaourt est traditionnellement produit à partir de cultures de *Streptococcus thermophilus* et de *Lactobacillus bulgaricus*. L'effet de ces deux cultures l'une sur l'autre est mutuellement profitable, c'est-à-dire qu'elles ont une relation symbiotique augmentant l'acidité du produit fini.

Parce qu'il existe une forte demande en yaourts plus doux, d'autres microorganismes peuvent être utilisés : c'est le cas de *Lactobacillus acidophilus* et *Bifidobacterium bifidum*, dans le cas de ces cultures, l'effet mutuel provoquant l'acidité est absent et la production d'acide lactique L (+) augmente. Ces deux facteurs permettent une moindre acidité et un goût plus doux.

4.2.3.1.3. Poudre/Protéines de lait

En ajoutant de la poudre de lait ou des protéines de lait, une quantité plus importante de lactose est alors présente dans le yaourt, ce lactose peut être fermenté et produire de l'acide lactique, ce qui augmente l'acidité du yaourt nature.

4.2.3.1.4. Durée de conservation

La durée de conservation a une légère influence sur l'acidité du yaourt nature, en effet, la fermentation n'est pas complètement stoppée lorsque le yaourt est coulé dans des pots, mais se poursuit alors plus lentement, plus la date du « à consommer de préférence avant le » est proche, plus le yaourt a été stocké longtemps, et donc plus le yaourt est acide.

4.2.3.2. Texture

Les facteurs influençant la texture sont la teneur en matières grasses, l'addition de poudre ou de protéines de lait, les épaississants ajoutés et la méthode d'homogénéisation choisie, la pasteurisation a également un impact ; enfin, il existe aussi une différence sensorielle entre un yaourt nature brassé et semi-solide (Stolz et al.,2011).

4.2.3.3. Aspect

L'apparence d'un yaourt nature est influencée par la teneur en matières grasses, l'homogénéisation et si le yaourt est brassé ou semi-solide (Stolz et al.,2011).

Les cultures bactériennes utilisées ont un impact sur l'intensité des odeurs acides, de lait ou de ferment (Stolz et al.,2011).

4.2.3.4. Odeur

Les cultures bactériennes utilisées ont un impact sur l'intensité des odeurs acides, de lait ou de ferment (Stolz et al., 2011).

Concernant les analyses organoleptiques des quinze échantillons ; on se base sur ces critères déjà cités en mettant une appréciation pour chaque critère par le personnel du laboratoire.

Chapitre II :
Chapitre II :
Résultat et discussion

1. Analyses physico-chimiques

Les paramètres physicochimiques effectués dans cette étude ont été réalisés sur des échantillons de produits finis du yaourt ferme, mise à part les deux paramètres densité et la matière grasse qui ont été mesurés sur la préparation du lait destiné à la fabrication du yaourt ferme étant donné que ces deux paramètres sont praticables sur les produits en phase liquide.

1.1.Extrait sec total (EST)

Figure 5 donne la teneur en extrait sec total du yaourt étudié.

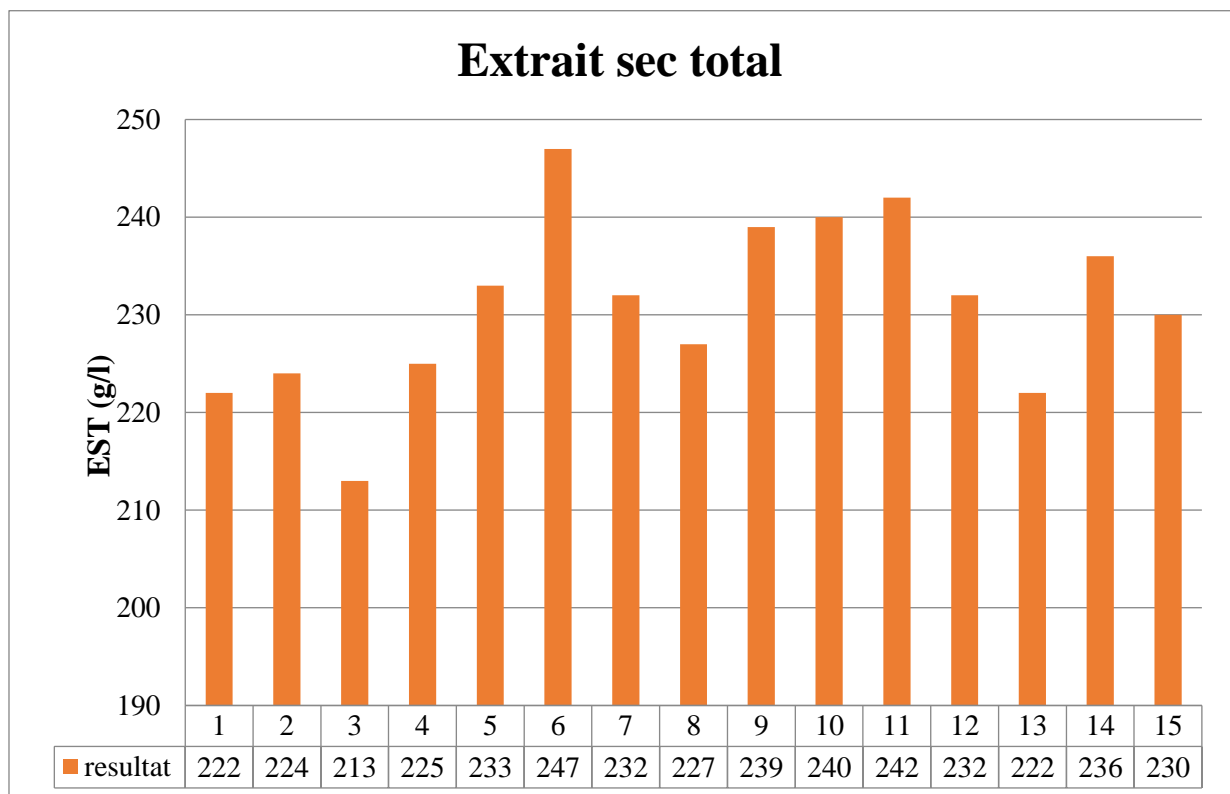


Figure 5 : Extrait sec total du yaourt étudié.

L'extrait sec total se mesure pour des échantillons de produits finis du yaourt prélevés de la chambre froide.

L'extrait sec total du yaourt se constitue de deux fragments, l'extrait sec dégraissé y compris le sucre ajouté dans la préparation du lait et la matière grasse.

La norme interne de l'usine exige une teneur minimale en matière sèche totale de 220 grammes par litre dont 80 grammes de sucre et au moins 10 grammes de matière grasse.

Les valeurs de l'extrait sec total des différents échantillons mentionnés dans la figure 5 montrent la conformité de 14 échantillons respectant la valeur minimale contrairement à l'échantillon 3 d'une valeur de 213 g/l qui est inférieure à la norme adoptée par l'usine, ce qui induit la non-conformité de ce dernier.

1.2. La densité

La figure 6 indique la densité de la préparation du lait pour le yaourt étudié.

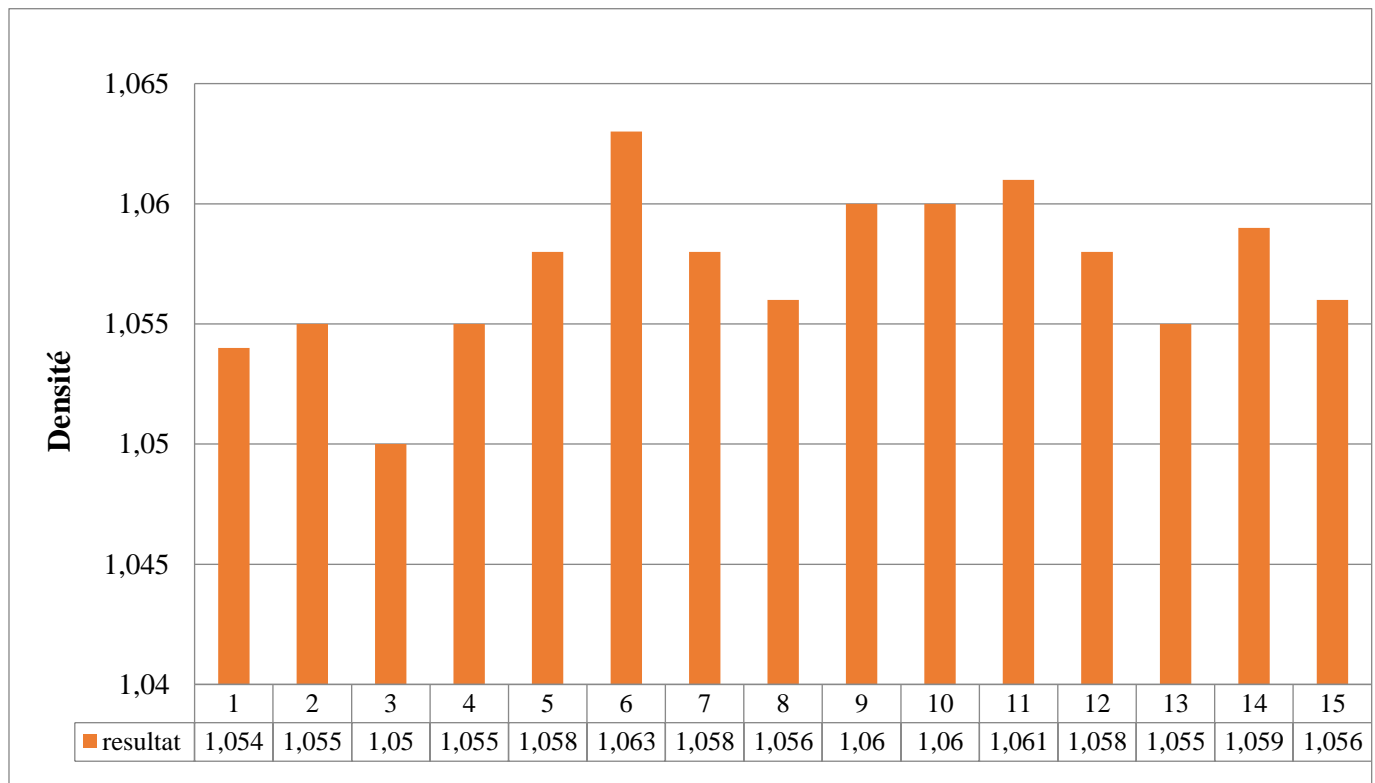


Figure 6 : Densité de la préparation du lait pour le yaourt étudié.

La densité se mesure pour les préparations de lait destiné pour le yaourt donc en phase liquide du yaourt avant étuvage ; la norme minimale fixée par l'entreprise se situe à une valeur de 1,053.

A travers les résultats obtenus, on constate que les valeurs de la densité des différents échantillons illustrés dans la figure 6 montrent la conformité des 14 échantillons respectant la valeur minimale, contrairement à l'échantillon 3 où la valeur de 1,050 reste inférieure à la norme appliquée par l'entreprise et donc la non-conformité de ce paramètre. Or, la non-conformité de la densité pour l'échantillon 3 a une liaison directe avec la non-conformité de l'extrait sec total pour le même échantillon car ceci est initialement due à une erreur dans les proportions de la préparation du lait destiné pour fabriquer du yaourt ferme.

1.3. L'acidité titrable

La figure 7 consigne la **variation** de l'acidité titrable du yaourt étudié.

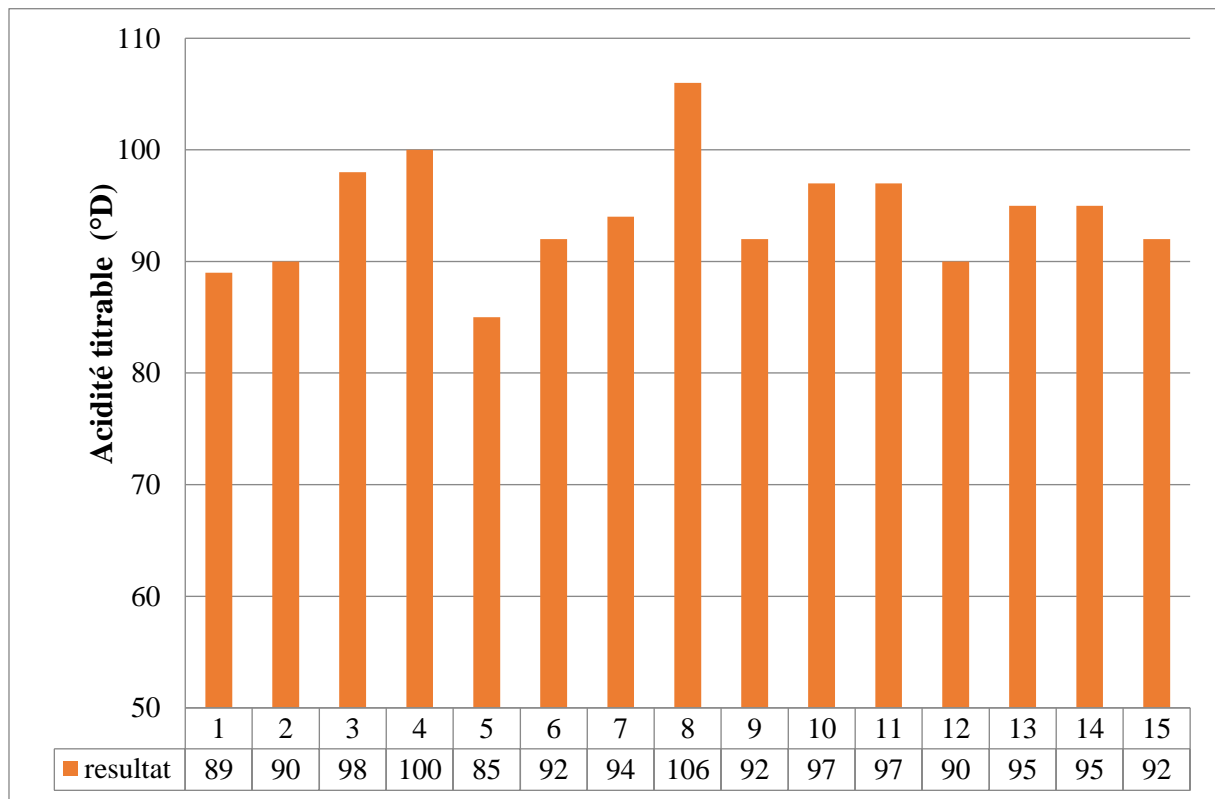


Figure 7 : Acidité titrable du yaourt étudié.

L'acidité titrable se mesure pour des échantillons de produits finis du yaourt pris de la chambre froide ; la norme adoptée se situe à une valeur comprise entre 80 et 100 °D.

Les valeurs de l'acidité titrable des différents échantillons constatées dans la figure 7 montrent la conformité de 14 échantillons respectant l'intervalle d'acidité compris entre 80 et 100 °D, contrairement à l'échantillon 8 avec une valeur de 106 °D supérieure à la norme prise par l'usine, donc ce dernier est non conforme

La non-conformité de l'acidité de l'échantillon 8 est la conséquence d'un mauvais refroidissement du yaourt après l'achèvement de son étuvage.

1.4. Matière grasse

La figure 8 illustre la variation de la teneur en matière grasse de la préparation du lait pour le yaourt étudié.

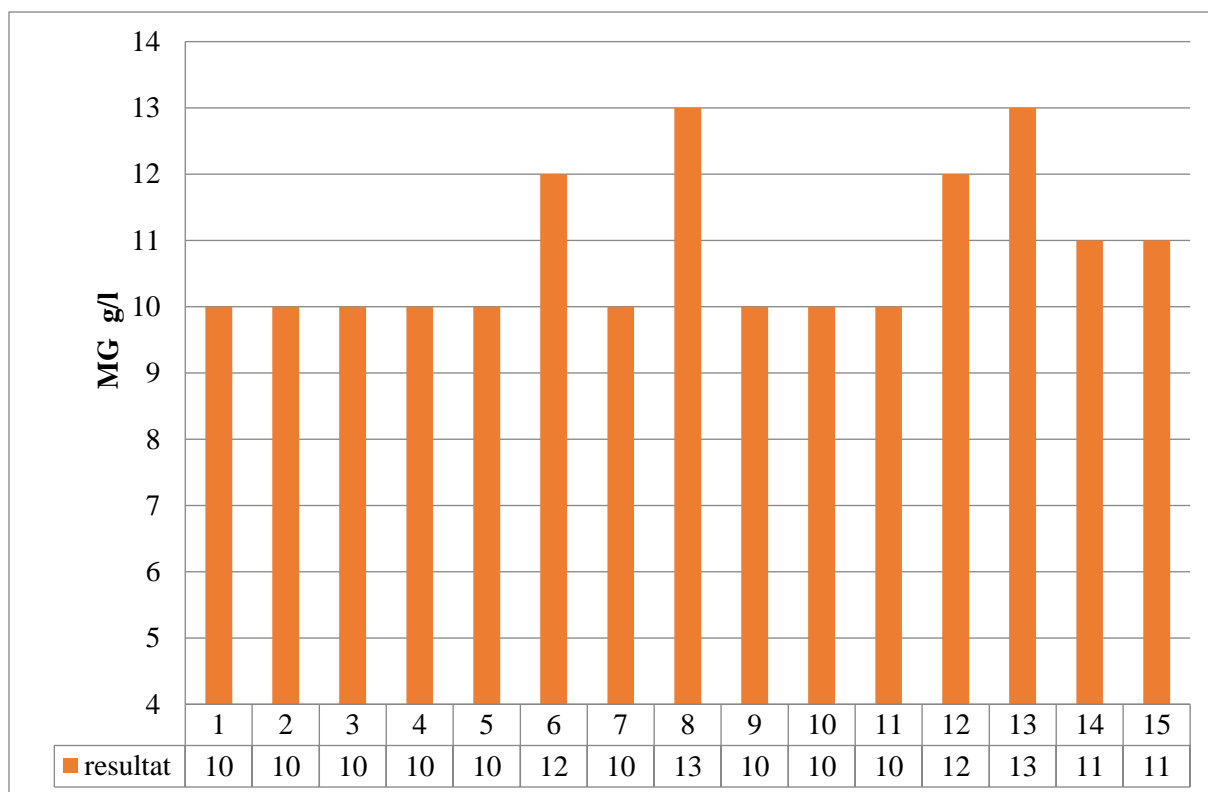


Figure 8 : Matière grasse de la préparation du lait pour le yaourt étudié.

La matière grasse se mesure pour les préparations de lait destiné pour le yaourt donc en phase liquide du yaourt (avant étuvage) ; la norme minimale est fixée à une valeur de 10 g/l.

Les valeurs de la matière grasse des différents échantillons constatées dans la figure 8 montrent la conformité de tous les échantillons analysés respectant la valeur minimale de la norme interne.

1.5. Extrait sec dégraissé (ESD)

La figure 9 révèle la variation de l'extrait sec dégraissé du yaourt étudié.

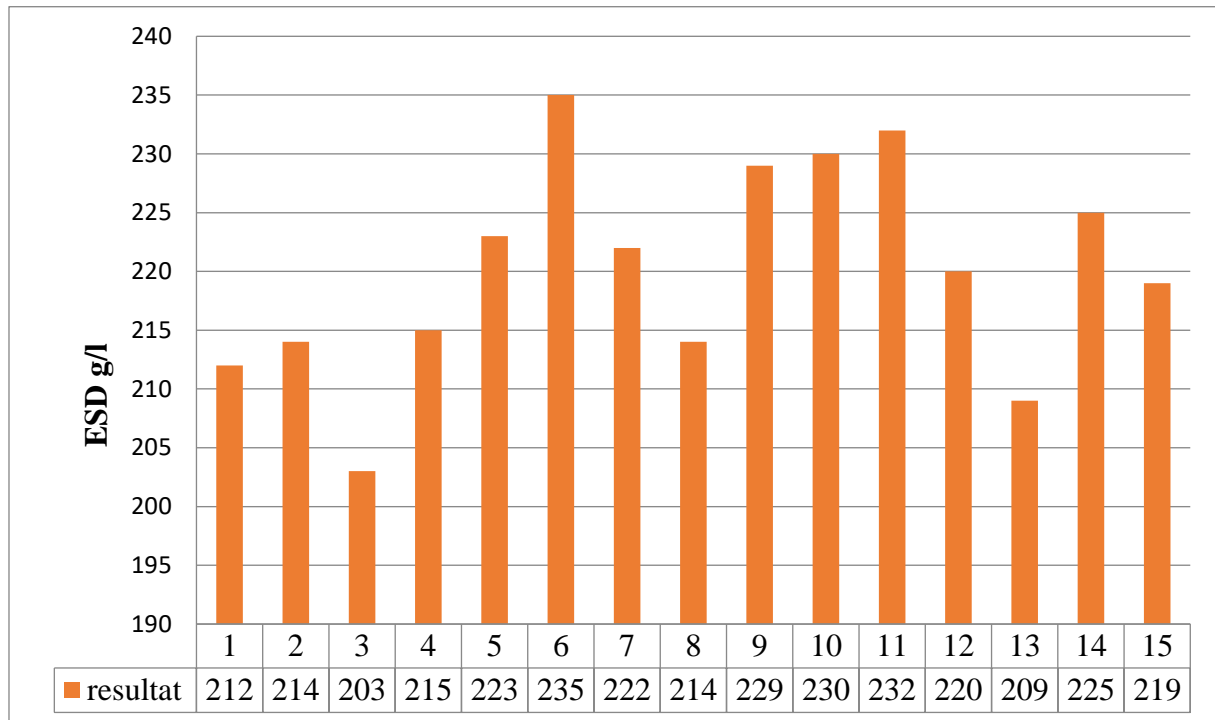


Figure 9 : Extrait sec dégraissé du yaourt étudié.

La norme interne adoptée par l'usine exige une teneur minimale en matière sèche dégraissée de 210 grammes par litres.

Les valeurs de l'extrait sec dégraissé des différents échantillons de la figure 9 montrent la conformité de 13 échantillons respectant la valeur minimale, contrairement aux deux échantillons 3 et 13 dont les teneurs respectives sont de l'ordre de 203 et 209 g/l et donc inférieures à la norme d'où la non-conformité de ses derniers.

L'extrait sec dégraissé a une relation directe avec extrait sec total ; donc si l'EST est non conforme, l'ESD sera systématiquement non conforme.

1.6. pH (potentiel d'hydrogène)

La figure 10 donne la variation du pH du yaourt étudié.

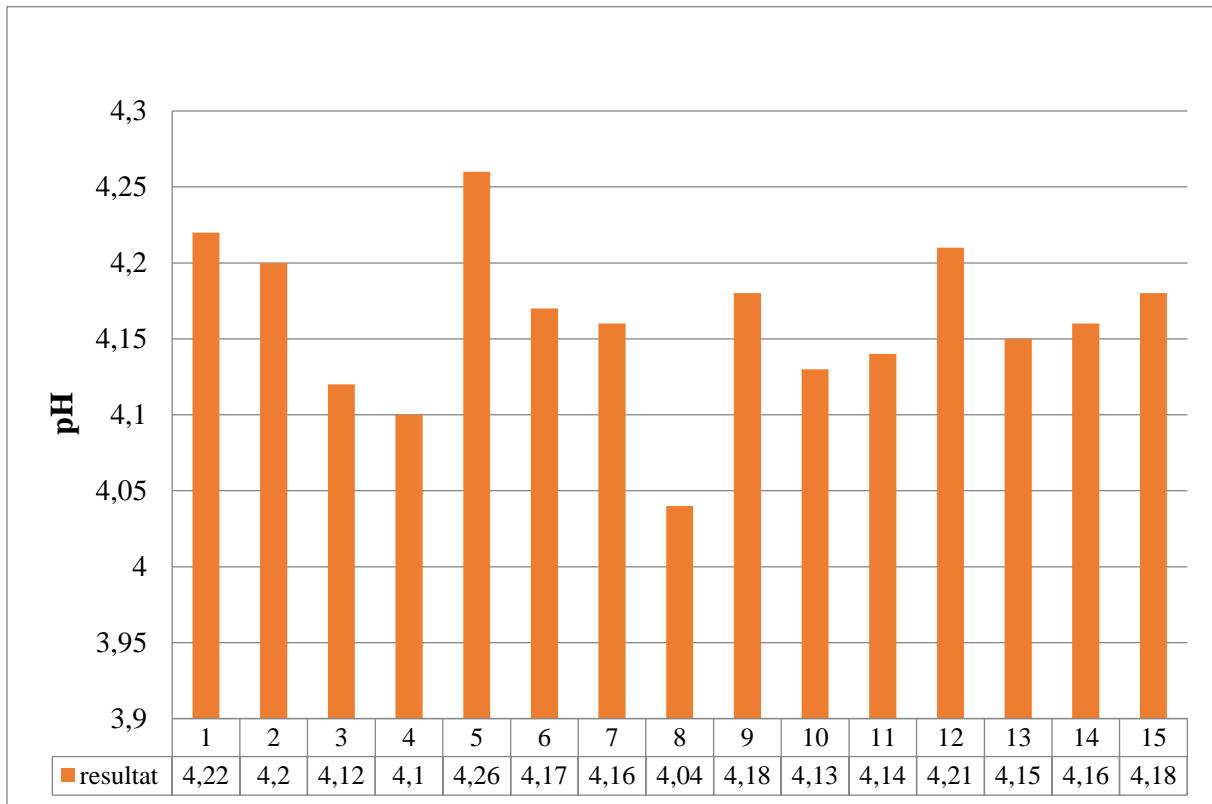


Figure10 : pH du yaourt étudié.

Le potentiel d'hydrogène se mesure pour des échantillons de produits finis du yaourt pris de la chambre froide ; la norme est fixée dans l'usine à une valeur de 4,00 à 4,30

Les valeurs du pH des différents échantillons illustrées dans la figure 10 montrent la conformité de tous les échantillons respectant l'intervalle fixée par la norme interne.

Notons qu'il existe une relation directe entre les valeurs de pH et les teneurs d'acidité. Quand l'acidité du produit augmente, le pH diminue et inversement.

1.7. Température

La variation de la température du yaourt étudié est donnée .

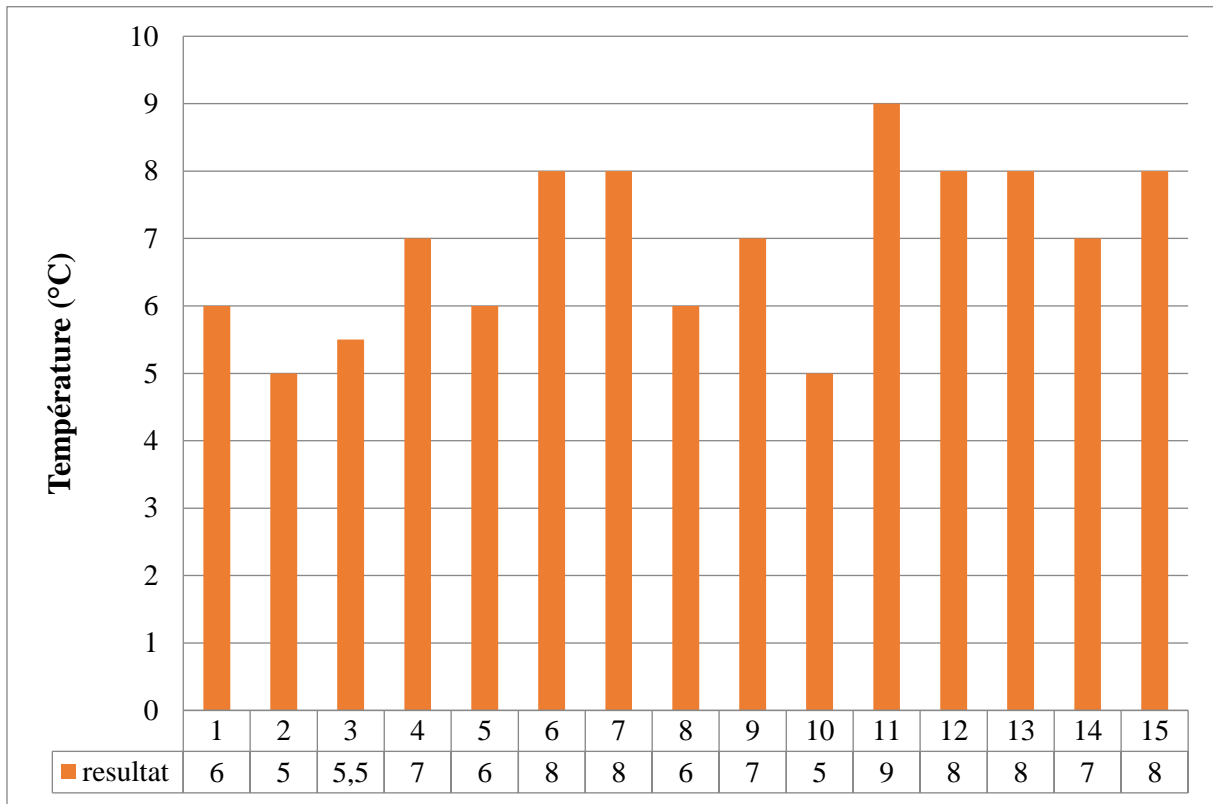


Figure 11: Température du yaourt étudié.

La température se mesure pour des échantillons de produits finis du yaourt prélevés de la chambre froide; la norme adoptée par l’usine se situe entre 4 à 6°C.

Les valeurs mesurées de la température des différents échantillons et mentionnées dans la figure 11 des échantillons 1, 2, 3, 5, 8 et 10 sont conformes, respectant la norme située dans l’intervalle compris entre 4 et 6°C et ce contrairement aux autres échantillons ayant enregistrés des valeurs supérieures à 6°C.

Ces résultats indiquent que le stockage des produits finis au froid n’est pas maîtrisé et cela peut être expliqué par une défaillance dans le système de refroidissement de la chambre froide ou bien à d’autres problèmes techniques.

2. Analyses microbiologiques

2.1. Dénombrement des *Enterobacteriaceae*

Le tableau 3 donne le résultat de dénombrement des *Enterobacteriaceae* des échantillons de yaourts étudiés.

Tableau 10 : Dénombrement des *Enterobacteriaceae*

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Résultats (ufc/ml)	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
La norme selon le journal officiel algérien n°39 du 2017: 10 ufc/ml (annexe 1)															

La lecture des résultats de la recherche des *Enterobacteriaceae* des quinze échantillons analysés indique une absence totale de ces germes.

Les produits analysés sont donc conformes selon les normes de la réglementation du journal officiel algérien n°39 du 2017.

2.2. *Staphylococcus* à coagulase +

Le tableau 7 indique les résultats de recherche et de dénombrement des *Staphylococcus* à coagulase + des échantillons de yaourts étudiés.

Tableau 11 : Dénombrement des *Staphylococcus* à coagulase+

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Résultats (ufc/ml)	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
La norme selon le journal officiel algérien n°39 du 2017: 10 ufc/ml (annexe 1)															

La lecture des résultats de recherche et de dénombrement des *Staphylococcus* à coagulase + indique une absence totale de ces germes dans tous les échantillons analysés.

Les produits analysés sont ainsi conformes aux normes admises par la réglementation du journal officiel algérien n°39 du 2017.

2.3.Salmonelles

Le tableau 8 indique les résultats de dénombrement des Salmonelles des échantillons de yaourts étudiés.

Tableau 12 : Identification des salmonelles

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Résultats	abs	abs	abs	abs	abs	abs	abs	abs	abs	abs	abs	abs	ab	ab	ab
La norme selon le journal officiel algérien n°39 du 2017: Absence (annexe 1)															

La lecture des résultats de la recherche des salmonelles des quinze échantillons analysés indique leur absence totale.

Les produits analysés sont conformes aux normes fixées dans la réglementation du journal officiel algérien n°39 du 2017

2.4. *Listeria monocytogenes*

Le tableau 13 indique les résultats de recherche de *Listeria monocytogenes* des échantillons de yaourts étudiés.

Tableau 13 : Dénombrement des *Listeria monocytogenes*

Echantillons	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Résultats (ufc/ml)	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00	00
La norme selon le journal algérien n°39 du 2017: 10 ufc/ml (annexe 1)															

La lecture des résultats de la recherche des *Listeria monocytogenes* des quinze échantillons analysés indique leur absence totale dans tous les échantillons analysés.

Les produits analysés sont donc conformes aux normes fixées par la réglementation du journal officiel algérien n°39 du 2017.

L'analyse des résultats microbiologiques avec notamment l'absence des *Enterobacteriaceae* des *Staphylococcus* coagulase +, des salmonelles et de *Listeria monocytogenes* nous permettent de conclure que les échantillons de yaourts ne présentent aucun risque d'intoxication et ne mettent pas en cause la santé du consommateur

3. Analyses organoleptiques

Dans le tableau 14 sont indiqués les résultats des propriétés sensorielles des yaourts étudiés.

Tableau 14 : Appréciations des critères organoleptiques étudiés.

Echantillon	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15
Goût	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Texture	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Aspect	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Odeur	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Satisfaisant : + non satisfaisant : -

Les appréciations des critères organoleptiques sont effectuées sur des échantillons de produits finis du yaourt prélevé à partir de la chambre froide le lendemain pour chaque production.

On constate que le goût des échantillons 4 et 8 a été mal apprécié à cause de l'acidité prononcée de ces derniers, les valeurs enregistrées sont supérieures à la norme de 100 °D. Notons également que la texture de l'échantillon 3 n'a pas été appréciée car elle est jugée

légère et peu visqueuse, cela peut être expliqué par sa faible teneur en matière sèche. Pour le reste des échantillons, le yaourt est assez concentré avec présence de sérum à la surface. Après agitation le yaourt présente un liquide de couleur blanche, assez visqueux, assez homogène, non transparent et brillant. L'odeur est caractéristique du produit (odeur de yaourt). La saveur du yaourt est sucrée, moyennement acide, douce et caractéristique du produit. Ces différentes caractéristiques correspondent à ceux d'un bon yaourt.

Discussion

Selon le codex Alimentaire, le yaourt est un produit laitier coagulé obtenu par fermentation lactique grâce à l'action de *Lactobacillus delbrueckii* sous-espèce *bulgaricus* et de *Streptococcus salivarius*, sous espèce *thermophilus* à partir du lait frais ainsi que du lait pasteurisé (Mahaut et al., 2000).

Globalement, durant la fermentation les yaourts industriels expérimentés sont caractérisés par une nette diminution de pH et parallèlement une augmentation importante des teneurs en acidité. Cela est la conséquence de la fermentation du lactose du lait en acide lactique par les espèces spécifiques du yaourt (Cachonet et al., 1998). Notons que l'ensemble des échantillons de yaourt n'ont pas dépassé la norme admise en termes d'acidité dont le seuil est fixé à 150°D (Loones, 1989).

Sur le plan organoleptique, les yaourts industriels ont été jugés acceptables. La bonne texture est liée à l'évolution de la viscosité, elle-même dépendante des espèces lactiques du yaourt. Or *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus bulgaricus* se développent en association dite symbiose dans des cultures mixtes (Mahaut et al., 2000). C'est ainsi que le rôle de *Streptococcus thermophilus* est la transformation du lactose en acide lactique, qui en plus est responsable de la texture, tout en augmentant la viscosité du lait par la synthèse des exo polysaccharides (EPS). Ces derniers sont constitués de galactose, de glucose, ainsi que de petites quantités de rhamnose, d'arabinose, et de mannose (Schmidt et al., 1994 ; Bergamaier, 2002). D'un autre côté, *Lactobacillus bulgaricus* possède est capable de fermenter davantage le lactose lors de la conservation des yaourts à froid positif à 4°C et à produire des EPS (Tamime, 1999).

Selon Desmazeaud (2001), les *Lactobacillus bulgaricus* peuvent produire en phase de post acidification des exo polysaccharides formés de fructose de glucose à partir de divers substrats carbonés et d'accroître relativement la viscosité des laits fermentés, par rapport aux *Streptococcus thermophilus* qui sont plus actives en période de fermentation.

Sur le plan hygiénique et conformément à la réglementation, les yaourts ne doivent contenir aucun germe pathogène. Le traitement thermique de pasteurisation appliqué au lait reconstitué avant ensemencement par le ferment lactique détruit tous les

microorganismes pathogènes non sporulants. Par ailleurs, l'acidité produite dans le yaourt empêche le développement de tous les germes indésirables (**Larpen et Bourgeois, 1989**).

Conclusion

CONCLUSION

Avec le progrès technologique réalisé ; le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture. C'est un produit consommé la plupart du temps comme dessert ; très prisé par le monde ; car il convient à toutes les tranches d'âge et sur les sujets intolérants au lait.

Notre étude avait pour objectif d'évaluer la qualité physicochimique et microbiologique du yaourt commercialisé, le plus consommé par la population, selon les commerçants.

D'après notre recherche, le yaourt est de bonne qualité de point de vue microbiologique et physicochimique, en comparaison avec les normes fixées par le J.O.R.A.N° 39 du 2017.

Les résultats obtenus montrent que les valeurs des paramètres physicochimiques (pH ; acidité ; matière sèche) sont conformes aux normes.

Nous avons noté une absence totale des germes pathogènes (*Salmonella*, *Staphylococcus à coagulase+*, et *Listeria*), et des germes indicatrices de contamination fécale (*Enterobacteriaceae*) ;. L'absence des germes pathogènes et les germes indicatrices de contamination fécale pourrait être expliquée par l'efficacité du processus de fermentation lactique dans la conservation du lait et du respect des étapes de fabrication du yaourt. **(BOUBCHIR LADJ. 2011).**

D'une manière générale, il est possible de prévenir toutes les contaminations bactériennes du yaourt par des mesures adéquates :

- L'hygiène dans la production industrielle ;
- La surveillance médicale du personnel employé à la manipulation des aliments (détection des infections à *Staphylocoques*, porteurs de *Salmonelles*) ;
- La surveillance sanitaire du bétail laitier ;
- L'application de traitements thermiques (pasteurisation, stérilisation) ou chimiques (agent de désinfection et de conservation), pour détruire la flore bactérienne ou en empêcher le développement ;
- La surveillance régulière de la qualité hygiénique des denrées produites notamment celle à hauts risques.

Dans un marché fortement concurrentiel, l'industriel se trouve dans l'obligation de présenter un produit alimentaire salubre et de bonne qualité ; une maîtrise du processus de fabrication et la mise en place des analyses d'autocontrôle, sont nécessaires afin de garantir une stabilité de la qualité du produit.

Références bibliographique

AFNOR ,1993.Contrôle de la qualité des produits alimentaires : lait et produits laitiers : analyses physicochimiques. Paris La Défense :AFNOR, 4e éd., 581 p.

AFNOR (1999). -Microbiologie alimentaire : Méthodes horizontales, Tome 1. Paris : AFNOR. 630 p.

AFNOR NF V01-800 de l'année 2001

AFNOR ,2001. Lait - Détermination de la teneur en matière grasse – Méthode gravimétrique (méthode de référence). NF EN ISO 1211, 21 p.

Ait Abdelouahab N ; 2001 : Microbiologie alimentaire, office des publications universitaires.Edition : 1.04.4362, Alger. pp 18,22, 26, 102,138.

AMELLAL H. (2008). Aptitudes technologiques de quelques variétés communes de dattes : Formation d'un Yaourt Naturellement Sucre et Aromatisé. Thèse de doctorat. Université de boumerdes. 27p.

ANONYME, 1995 : FAO codex alimentaire.

(Anonyme, 2000). Demande d'agrément de la réserve naturelle du Bec du Feyi à Wibrin (Houffalize). Dossier non publié, 56 pp.

Auneau M ; Bermond A ; bougler J ; Ney B et Estrade J R ; 2002 : Thiry olivaux : Dossiers « institutions et organismes » et données économiques. Larousse NUF.P 594.

Bekhouche F ; 2006 : Bactéries lactiques du lait cru de vache et microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes :

1. isolement et identification biochimique.

2. évaluation et optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase. Thèse de doctorat d'état .Constantine. pp 21,39.

Berche P ; Gaillard JL et Simonet M ; 1988 : Bactériologie ; bactéries des infections humaines. Médecine – Sciences Flammarion .Paris. P 78.

Boudra H ; 2002 : La contamination par les moisissures et les mycotoxines des fourrages conservés. Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). Unité de Recherches sur les Herbivores. Équipe de Digestion Microbienne.63122 Saint-Genès-Champagnelle.p56. 91)Vignola C L ; 2002 : Microbiologie du lait in : Science et technologie du lait ; transformation du lait. p : 76-77.

BOURGEOIS C-M. et LARPENT J-P. (1996). Microbiologie alimentaire; aliments fermentés et fermentation alimentaires. Tome 2. P : 210, 211, 306-308.

Brisabois A ; Lafarge V ; Brouillaud A ; Buysen M-L ; Collette C ; Garin-Bastuji B et Thore M-F ; 1999 : Les germes pathogènes dans le lait et les produits laitiers : situation en France et en Europe. Paris, Al fort. Pp 452, 458.

CIDIL et INRA (2009). Du lait aux produits laitiers. Paris. Cidil. P 19.

(**Claire et al., 2007**).

Clément .J.M ,1978 : Dictionnaire des Industries Alimentaires. Edition Masson, Paris.

p 169.

Cuq J-L ; 2002 : Microbiologie alimentaire contrôle microbiologique des aliments.

Université Montpellier. Pp 21-22, 40,43, 49.81.

Desmazeaud M ; 1998 : Laboratoire de recherches laitières. INRA Jouy-en-Josas. Pp 01-02.

Devauchelle G. ,1981 .Qualité bactériologique du lait et produits laitiers. (Géraud

Devauchelle).p51,52,53,54.

Dupin (1992) : Feinberg M ., Favier Jean-Claude, Ireland-Ripert J. (1992).15. Table de composition des aliments : réalisation , utilisation, limites. In : Dupin H. (ed.), Malewik M.I. (ed.), Leynaud-Rouaud C. (ed), Berthier A.M. (ed). Alimentation et nutrition humaine. Paris : ESF,p.1410-1438.

Dusart J ; 2005 : Bactériologie : pour la médecine, la biologie et les biotechnologies. 6^{ème} éd Dunod. Paris. Pp 386,517.522.

FAO ; 1995 : Food Agriculture Organisation. Rome .p 1.

Feutry F et Beuvier E ; 2005 : Quelques bases sur la microbiologie du lait et du fromage .P 04.

FREDOT E. (2005). Connaissance des aliments. Édition : Tec et Doc. Lavoisier,

Paris. P 31, 36.

Germain P ; Miclo A ; Veillet et Poncet L ; 1980 : Contrôle de la pureté des levains in

Techniques d'analyse et de contrôle dans les industries agro-alimentaires. Volume 3.Édition Tec et Doc. Lavoisier, Paris. P 315.

Guiraud J P ; 1998 : Microbiologie alimentaire : bactéries, analyse du lait. Édition

DUNOD, Pris. Pp 81, 113,311, 390, 401,652, 796.

GUYOT. A, 1992 : les yaourts DLC food. Tec.

Hermier J et Accolas J.P ; 1990 : les Yaourts et les laits fermentés.Apria.Paris.P 199.

Hermier J ; Lenoir J et Weber F ; 1992 : les germes utiles. In : les groupes microbiens d'intérêt laitier. Ed Cepil. Paris. p 44.

Hervé A ; Grandvalet ; Guilloux-Bénatier M ; Remize-Barnavon F et Tourdot-

Maréchal R ; 2008 : Les bactéries lactiques en œnologie. Edition Tec et Doc, Lavoisier, Paris.P 08.

JEANTET R. ; CROGUENNEC T. ; MAHAUT M. ; SCHUCK P. et BRULE G.

(2008). Les produits laitiers ,2ème édition, Tec et Doc, Lavoisier: (185 pages). 1-3-13-14-17 Pp.

Joffin C. et Joffin JN. ,1999. Microbiologie alimentaire. Collection biologie et technique. 5ème édition, 11.

Joffin, 2001 : Microbiologie technique- Tome 1, Dictionnaire de Jean-Noel Joffin.

JORA N°43, 2006 :

KIEMPTORE IRIS HELENE ASSEMANA (2013). Evolution de la qualité d'une yaourt industriel produit localement et commercialise sur le marché d'Ouagadougou (Burkina Faso). Universite de dakar. P 7.

Labioui H ; Elmoualdi L ; Benzakour A, El yachioui M et Ouhssine M ; 2005 :

Sélection de souches de bactéries lactiques antibactériennes. Maroc .P 238,239.

Larpent J.p ; 1990 : Biotechnologie des levures. Ed : MASSION. Paris, Milan, Barcelone.pp 03, 379.

Larpent J P ; 1997: Microbiologie alimentaire ; Techniques de laboratoire. Tec et Doc,Lavoisier .paris. Pp, 136,267, 465, 471.

Larpent J P et Larpent Gourgaud M ; 1997 : Mémento technique de Microbiologique.

3 e édition : Tec et Doc, Lavoisier .paris. pp 342.

Lebres. E. et Moufouk. F. ,1999. Guide pratique d'analyses microbiologiques des denrées alimentaires Institut Pasteur d'Algérie. Service de bactériologie alimentaire pp 48-53.

Lebres M ; Aziz D ; Hamza H et Taleb F ; 2001 : Manuel des travaux pratiques .Cours notionnel d'hygiène et de microbiologie des aliments .Institut Pasteur d'Algérie. P 03.

Leveau J Y et Bouix M ; 1993 : Microbiologie industrielle ; les microorganismes

d'intérêt industriel. Ed : Tec et Doc. Lavoisier. Paris .pp171, 194.246.

LUQUET F-M. (1985). Les produits laitiers, transformation et technologies laits et produits laitiers. 2^{ème} édition. Tome 2. Lavoisier. Paris. P 43, 47, 633.

Marshall M.E ; 2003 : The microflora and production of fermented milks progress. In industries international n°49. PP 7-8.

Menard J.L., et Heuchel V. ,1994. Prévention de la contamination du lait de vache par *Staphylococcus aureus*. Institut de l'Elevage. Compte rendu de fin d'opération d'une recherche financée par le Ministère de la Recherche et de la Technologie. France, 32 p.
MICHEL. Mahaut, 2000 : produits industriels laitiers, 2000.

Oteng – Gyanq ; 1984 : introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds. Edition ; Tec et Doc, Lavoisier, Paris. p 19.

Petignat C; Bally F et Blanc D ; 2006 : Microbiologie pathogénèse de l'infection formation h+, formation en stérilisation. Institut central hôpitaux valaisans .Pd biologie .P08.

Pointurier, 1998

Poirier et Pinchin ; 2006 : Les moisissures en environnement intérieur. Information générale destinée aux propriétaires de bâtiment, d'industrie, etc....p 01.

Righi M ; 2006 : Microorganismes en action : le yaourt. Pp 1, 11,12.

Rodier J., Bazin C., Brouton J. P., Chambou P. et Champseur H. ,2005. Analyse de l'eau. Ed.DUNOD. 8^{ème} Edition. Paris. 1383p.

ROUSSEAU M. (2005). La fabrication du yaourt, les connaissances. INRA.

MAHAUT M.; JEANTET R.; BRULE G. et SCHUCK P. (2000). Les produits industriels laitiers. Ed Lavoisier, Tec & Doc. Paris. P 10 – 34.

ROUX J-L. (1994). Conserver les aliments. Ed Lavoisier, Tec & Doc. P 110 – 112.

Sansonetti P ; 2004 : La bactérie pathogène et sa reconnaissance par le système immunitaire inné .In Sepsis, Masson, France .p 21.

SEYDI M. (2002). Le lait fermenté type yaourt ou yoghourt : EISMV/ HIDAOA.- 5p.

Stolz, H., Espig, F., Kretschmar, U. ,2011. Fact sheets on all the tested products in the appropriate language. Deliverable No. 6.3 of ECROPOLIS Project. Research Institute of Organic Agriculture (FiBL), Frick, Switzerland.

Tamime AY, Robinson RK, 2001 : Yogurt and other fermented milks. In: Tamime AY, Law BA, editors. Mechanisation and automation in dairy technology, London : Scheffild Academic Press. P : 152-203.

TERRE, 1986 : propriétés technologiques nutritionnelle et physiologique de Streptococcus thermophilus et Lactobacillus bulgaricus.

TOME D. (2002). Laits fermentés : des antiques vertus aux nouvelles propriétés. Grignon. Paris. p 1.

Veisseyre R ; 1975 : Technologie du lait : constitution, récolte, traitement et transformation du lait, 3^{eme} édition. Éd : la maison Rustique. p 330,331.

VIGNOLA C-I. (2002). Science et technologie du lait : transformation du lait. Edition Lavoisier. Paris. P 600.

Yaoa A ; Egounlety M ; Kouame L.P et Thonart P ; 2009 : Les bactéries lactiques dans les aliments ou boissons amylicés et fermentés de l'Afrique de l'Ouest : leur utilisation actuelle Belgique. p 58.

Zelvelder M ; 2004 : La sécurité des aliments à l'INRA. P 07.

Annexes

Annexe 01

ARRETES, DECISIONS ET AVIS**MINISTERE DU COMMERCE**

Arrêté du 5 Safar 1425 correspondant au 27 mars 2004 rendant obligatoire la méthode de dénombrement des germes totaux à 30 °C pour les poudres de lait et de lactosérum.

Le ministre du commerce,

Vu le décret présidentiel n° 03-215 du 7 Rabie El Aouel 1424 correspondant au 9 mai 2003, modifié, portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu l'arrêté interministériel du 29 Safar 1414 correspondant au 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation ;

Vu l'arrêté du 14 Safar 1415 correspondant au 23 juillet 1994, modifié et complété par l'arrêté interministériel du 25 Ramadhan 1418 correspondant au 24 janvier 1998 relatif aux spécifications microbiologiques de certaines denrées alimentaires ;

Arrête :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire une méthode de dénombrement des germes totaux à 30 °C dans les poudres de lait et de lactosérum.

Art. 2. — Pour le dénombrement des germes totaux à 30° C dans les poudres de lait et de lactosérum, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet doivent employer la méthode d'analyse microbiologique décrite en annexe.

Cette méthode doit être également utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 5 Safar 1425 correspondant au 27 mars 2004.

Noureddine BOUKROUH.

ANNEXE

Méthode de dénombrement des germe totaux à 30° C pour les poudres de lait et de lactosérum**1° Définition :**

On appelle « germes totaux », les germes microbiens dénombrés par la présente méthode. Le résultat du dénombrement est exprimé en nombre de germes totaux par gramme de poudre.

2° Principe :

On procède à une série de dilution de l'échantillon reconstitué à $47 \pm 2^\circ \text{C}$, que l'on mélange avec le milieu prescrit dans des boîtes de Pétri. Après incubation à 30°C pendant 72 heures, on compte des colonies.

3° Appareillage et verrerie :**3.1 Appareils**

3.1.1 Autoclave fonctionnant à 120°C

3.1.2 Four à air chaud fonctionnant jusqu'à 170°C .

3.1.3 Etuve bactériologique réglée à une température uniforme de $30 + 1^\circ \text{C}$

3.1.4 PH-mètre, avec compensation de température.

3.1.5 Loupe, grossissement 2,5.

3.1.6 Appareil de comptage lumineux.

3.1.7 Compteur - enregistreur.

3.1.8 Bain-marie à $47 + 2^\circ \text{C}$.

3.1.9 Balance.

3.2. Verrerie :

Toute la verrerie doit être stérilisable.

3.2.1 Récipient en verre pour la pesée du lait en poudre.

3.2.2 Flacons de dilution d'une contenance de 150 à 200 ml, avec bouchons ou capsules à vis appropriés.

3.2.3 Grands flacons (1000 ml ou plus) pour la préparation du milieu de culture.

3.2.4 Tubes à essai, de 151/15 mm environ, destinés à contenir le milieu culture.

3.2.5 Pipettes graduées (1 et 10 ml)

3.2.6 Boîte de Pétri en verre transparent et incolore de 90 mm environ de diamètre intérieur et de 15 à 20 mm de hauteur la profondeur intérieure doit être de 12 mm minimum. Le fond de cette boîte doit être plat et ne présenter ni irrégularités ni renflements. Les couvercles doivent s'adapter à la boîte.

— On peut utiliser des boîtes de Pétri en matière plastique et des pipettes pré-stérilisées destinées à n'être utilisées qu'une seule fois.

3.2.7 Perles de verres (voir 6.2.1.4).

3.3. Matériels divers :

3.3.1 Entonnoirs de filtration pour la préparation des milieux.

3.3.2 Papiers-filtres rapides s'adaptant aux entonnoirs (3.3.1).

3.3.3 Coton non absorbant, non toxique après stérilisation.

3.3.4 Réactifs pour ajuster le pH.

3.3.4.1 NaOH environ 1 N.

3.3.4.2 HCl environ 1 N.

4°/ Milieu de culture :

4.1 Composition

Extrait de levure. 2,5 g
Tryptone. 5,0 g
Glucose..... 1,0 g
Lait écrémé en poudre. 1,0 g
Gélose..... 10 à 15 g
selon les propriétés gélifiantes de la gélose utilisée.

Eau distillée 1000 ml
(dans un appareil à distiller en verre).
pH $6,9 \pm 0,1$.

L'extrait de levure, la tryptone, le glucose, le lait écrémé en poudre et la gélose doivent être de qualité bactériologique.

Le lait écrémé en poudre ne contiendra pas de substances inhibitrices.

4.2 Préparation

4.2.1 Préparation à partir de milieux en poudre.

4.2.1.1 Suivre les instructions du fabricant mais ajouter du lait écrémé en poudre (cf. 4.1).

4.2.1.2 Si nécessaire, ajuster le pH à 7,0 - 7,1 en utilisant NaOH (1 N) ou HCL (1N).

4.2.2 Préparation à partir d'ingrédients séparés.

4.2.2.1 Dissoudre successivement l'extrait de levure, la tryptone, le glucose et le lait écrémé en poudre dans l'eau, en chauffant si nécessaire.

4.2.2.2 Ajouter la gélose et porter à ébullition jusqu'à ce que la gélose soit complètement fondue ou chauffer à la vapeur pendant environ 30 minutes.

4.2.2.3 Filtrer sur papier filtre.

4.2.2.4 Ajuster le milieu à un pH de 7,0 - 7,1 en utilisant NaOH (1N) ou HCl (1N).

4.2.3 Répartir par quantités de 10 à 12 ml dans les tubes à essais.

4.2.4 Stériliser pendant 15 minutes dans l'autoclave à 120 °C;

4.2.5 Vérifier le pH du milieu à 45 °C (ce pH doit être de $6,9 \pm 0,1$).

4.2.6 Le milieu doit être conservé dans l'obscurité, à une température ne dépassant pas 5 °C Prendre soin d'éviter l'évaporation.

5°/ Diluant :

Tous les produits doivent être de qualité analytique.

5.1 Solution de Ringer non diluée.

Composition :

NaCl..... 9,00 g
KCl..... 0,42 g
Ca Cl 2 (anhydre)..... 0,24 g
NaHCO₃ 0,20 g
Eau distillée 1000 ml
(dans un appareil à distiller en verre)

— On peut utiliser un tampon au citrate (à raison de 15 g de citrate tri-sodique anhydre par 1000 ml) pour les poudres à faible solubilité.

— On peut également employer une solution de peptone à 0,1 % en lieu et place de la solution de Ringer diluée au quart.

5.2 Préparation :

5.2.1 Préparer la solution non diluée de Ringer en dissolvant les sels (5.1) dans l'eau et, avant usage, diluer une partie de cette solution avec trois parties d'eau distillée dans un appareil à distiller en verre pour obtenir une solution de Ringer diluée au quart.

5.2.2 Répartir la solution diluée de façon à obtenir après stérilisation des quantités de 90 ± 2 ml dans les flacons de dilution.

On peut préparer le diluant à partir de tablettes prêtes à l'emploi.

5.2.3 Stériliser pendant 15 minutes dans l'autoclave à 120 °C.

6°/ Méthode :

6.1 Préparation de la verrerie

6.1.1 Toute la verrerie doit être nettoyée soigneusement avant emploi.

6.1.2 Les tubes à essais, les pipettes et les flacons doivent être bouchés avec du coton avant leur stérilisation.

Pour la stérilisation, on peut également envelopper les pipettes dans du papier aluminium ou dans tout autre matériau approprié.

6.1.3 La stérilisation des pipettes et des boîtes de Pétri s'effectuera de préférence dans un four à air chaud pendant une heure et à une température comprise entre 165 et 170 °C, mais il est également possible de stériliser ce matériel à l'autoclave pendant 120 °C.

Dans ce dernier cas, ne pas fermer les récipients dans lesquels le matériel est stérilisé.

Sécher la verrerie ainsi stérilisée dans l'autoclave ou dans un four à air chaud.

6.2. Préparation des dilutions

6.2.1 Préparation de dilution au 1/10 (reconstitution de la poudre).

6.2.1.1 Réchauffer un flacon contenant 90 ml de diluant à 47 ± 2 °C au bain-marie.

6.2.1.2 Peser 10 g de lait en poudre dans un récipient en verre stérilisé en procédant de façon aseptique.

6.2.1.3 Introduire la poudre dans le flacon de dilution contenant le diluant à 47 ± 2 °C.

6.2.1.4 Pour dissoudre la poudre, la mouiller en faisant tourner lentement puis en secouant doucement le flacon pendant 10 secondes environ, 25 fois avec un mouvement d'une amplitude de 30 cm environ.

Des perles en verre peuvent contribuer à une meilleure reconstitution. Si l'on y recourt, les ajouter au flacon avant stérilisation.

6.2.1.5 Remettre le flacon au bain-marie et le maintenir pendant 5 minutes en agitant de temps à autre le contenu.

6.2.1.6 Agiter une fois et effectuer le dénombrement.

Le volume final du lait reconstitué est d'environ 97,5 ml et non de 100 ml, mais cet écart est négligeable.

6.2.2. Préparation des dilutions au 1/100 et plus.

6.2.2.1 A l'aide d'une pipette stérile transférer 10 ml de lait reconstitué dans 90 ml de diluant stérile en veillant à ne pas enfoncer l'extrémité de la pipette de plus d'un centimètre au-dessous de la surface. On obtient ainsi la dilution au 1/100.

6.2.2.2 Mélanger en agitant 25 fois avec un mouvement d'une amplitude de 50 cm environ.

6.2.2.3 On peut poursuivre les dilutions décimales en utilisant chaque fois une nouvelle pipette pour passer d'une dilution à l'autre comme prévue au 6.2.2.1.

6.3. Ensemencement des boîtes de Pétri.

6.3.1 Préparer au moins deux boîtes à partir de chaque dilution choisie de façon à obtenir au moins deux boîtes comprenant de 20 à 300 colonies.

Normalement il suffit de choisir deux dilutions parmi les dilutions au 1/10, au 1/100 ou au 1/1000, mais si l'on prévoit une énumération très élevée, il faudra procéder à d'autres dilutions.

6.3.2 Utiliser une nouvelle pipette stérile de 1 ml pour ensemer 1 ml de chaque dilution dans les boîtes de Pétri.

6.4. Répartition de la gélose dans les boîtes de Pétri

6.4.1 Faire bouillir le milieu et le refroidir aussi vite que possible à une température de 45 à 47 °C.

6.4.2 Verser dans chaque boîte 10 à 12 ml du milieu fondu, refroidir à une température de 45 à 47 °C

6.4.3 Immédiatement après avoir versé le milieu, le mélanger par cinq mouvements de va-et-vient, suivis de cinq mouvements circulaires dans le sens des aiguilles d'une montre suivis de cinq mouvements de va-et-vient exécutés perpendiculairement aux premiers et suivis enfin de cinq mouvements circulaires dans le sens contraire des aiguilles d'une montre.

6.4.4 Laisser reposer les boîtes jusqu'à la solidification du milieu, les retourner et les placer dans l'étuve. Le temps qui s'écoule entre la préparation des dilutions, et la répartition de la gélose dans les boîtes ne doit pas dépasser 15 minutes.

Il importe que les opérations décrites aux points 6.2, 6.3 et 6.4 soient exécutées à l'abri de la lumière.

6.5 Incubation des boîtes de Pétri.

Les boîtes sont mises à incuber, leur fond étant tourné vers le haut à 30 ± 1 °C pendant 72 ± 2 heures ; il est préférable de ne pas les empiler à plus de quatre (maximum six).

Les piles de boîtes ne doivent pas se toucher, ni être en contact avec les parois ou la partie supérieure de l'étuve.

6.6 Numération des colonies

6.6.1 Les colonies doivent être comptées dans les 4 heures qui suivent la fin de la période d'incubation pour faciliter la numération. Il est recommandé d'utiliser un appareil de comptage lumineux muni d'une loupe et d'un compteur-enregistreur.

6.6.2 Ne tenir compte, pour exprimer les résultats, que des boîtes dans lesquelles se sont développées de 20 à 300 colonies.

6.6.3 Calculer la moyenne arithmétique à partir des chiffres obtenus dans les boîtes ensemenées avec la même dilution.

6.6.4 Si les boîtes correspondant à plusieurs dilutions donnent des résultats compris entre ces limites, ne tenir compte que de la moyenne des résultats.

6.6.5 Si une numération dépasse à peine 300 colonies et si la dilution suivante est à peine inférieure à 20 colonies, prendre la moyenne.

6.6.6 Si l'écart est important, recommencer l'épreuve.

Annexe 02

ARRETES, DECISIONS ET AVIS

MINISTERE DU COMMERCE

Arrêté du 4 Moharram 1437 correspondant au 18 octobre 2015 rendant obligatoire la méthode de préparation de l'échantillon pour essai en vue de l'analyse physique et chimique du lait.

Le ministre du commerce,

Vu le décret présidentiel n° 15-125 du 25 Rajab 1436 correspondant au 14 mai 2015, modifié, portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu le décret exécutif n° 05-465 du 4 Dhou El Kaâda 1426 correspondant au 6 décembre 2005 relatif à l'évaluation de la conformité ;

Vu le décret exécutif n° 13-328 du 20 Dhou El Kaâda 1434 correspondant au 26 septembre 2013 fixant les conditions et les modalités d'agrément des laboratoires au titre de la protection du consommateur et de la répression des fraudes ;

Vu l'arrêté interministériel du 18 août 1993 relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

Arrête :

Article. 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire la méthode de préparation de l'échantillon pour essai en vue de l'analyse physique et chimique du lait.

Art. 2. — Pour la préparation de l'échantillon pour essai en vue de l'analyse physique et chimique du lait, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet doivent employer la méthode jointe en annexe.

Cette méthode doit être utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le 4 Moharram 1437 correspondant au 18 octobre 2015.

Bakli BELAÏB.

ANNEXE

METHODE DE PREPARATION DE L'ECHANTILLON POUR ESSAI EN VUE DE L'ANALYSE PHYSIQUE ET CHIMIQUE DU LAIT

1. Objet et domaine d'application :

La présente méthode a pour objet de définir les directives générales pour la préparation des échantillons en vue des prises d'essais utilisées pour l'analyse physique et chimique du lait.

2. Principe :

Homogénéisation mécanique ou manuelle de l'échantillon pour essai, conditionnement à une température de $20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ et réalisation des prises d'essais.

3. Appareillage et verrerie :

3.1 Bêchers de capacité 400 ml ;

3.2 Baguette en verre d'environ 20 cm de longueur et 8 mm de diamètre, légèrement recourbée à l'une des extrémités et revêtu d'un embout en caoutchouc ;

3.3 Homogénéisateur approprié de nettoyage facile, muni d'un système permettant le chauffage et le maintien du lait à une température d'environ 40°C .

A défaut de cet appareil (3.3), utiliser ce qui suit :

3.4 Ensemble pour l'homogénéisation manuelle ;

3.4.1 Bain marie réglé à 40°C ;

3.4.2 Tamis en métal inoxydable dont les ouvertures de mailles ne dépassent pas 0,5 mm ;

3.4.3 Entonnoir d'un diamètre légèrement supérieur à celui du lamis.

4. Mode opératoire :

4.1 Homogénéisation de l'échantillon :

Si l'analyse aura lieu immédiatement après le prélèvement ou au plus tard dans les deux (2) ou trois (3) heures qui suivent, une simple agitation de l'échantillon par retournements successifs du flacon suffit à rendre le contenu homogène.

Dans le cas contraire où l'analyse n'aura lieu que le lendemain du prélèvement ou quelques jours plus tard ou après un délai plus long, la matière grasse du lait se rassemble et prend en masse tout le long de la paroi du flacon ou sous le bouchon.

Il faut donc remettre la matière grasse en suspension homogène dans la totalité de l'échantillon, soit en utilisant un appareil mécanique à condition qu'il ne modifie en rien la composition du lait ni de point de vue qualitatif ni de point de vue quantitatif, soit manuellement et ce, à défaut de cet appareil (3.3).

4.1.1 Homogénéisation mécanique :

Le mode opératoire dépend de l'appareil dont on dispose. Dans tous les cas, il est indispensable de récupérer la totalité des dépôts qui adhèrent aux parois du flacon de prélèvement ou au bouchon.

Il est avantageux de porter l'échantillon à une température de 40° C à 45° C de manière à faire fondre la matière grasse qui doit être liquide pour réaliser convenablement l'émulsion.

Note :

Utiliser l'appareil (3.3) selon les spécifications fixées par le fabricant et veiller en particulier à :

- ne rien introduire dans l'échantillon ;
- ne rien soustraire de l'échantillon durant tout le mécanisme, soit par rétention de la matière grasse ou de la caséine coagulée, soit par perte du sérum de lait avant l'incorporation des caillots ;
- éviter la formation de mousse ou d'émulsion d'air, dont la présence interdît toute mesure valable de la masse volumique ou toute prise d'essais en volume.

4.1.2 Homogénéisation manuelle :

4.1.2.1 Agiter l'échantillon par retournements successifs répétés et le ramener à une température d'environ 25° C.

Note :

Cette agitation ne doit pas être violente, puisque le flacon est plein ou presque plein. Il faut absolument éviter de provoquer la formation d'une émulsion d'air dans le lait, pour ne pas fausser les prélèvements. Cette première agitation n'a pas pour objet de rendre l'échantillon homogène, mais seulement de détacher la matière grasse des parois du flacon et de la rompre en un très grand nombre de menus fragments.

4.1.2.2 Verser au dessus du lamis (3.4.2) une partie de l'échantillon maintenu à 25° C environ et le recueillir dans un bécher (3.1) . Dilacérer les grumeaux à l'aide de la bague (3.2) en utilisant le reste de l'échantillon. Transvaser à plusieurs reprises dans les béchers (3.1) afin que l'homogénéisation soit complète . Si la matière grasse n'est pas convenablement incorporée au lait, réchauffer l'échantillon au bain marie (3.4.1) et renouveler les opérations décrites en (4.1.2).

4.1.3 Cas particuliers :

4.1.3.1 Il peut arriver que l'échantillon est baratté au cours du transport, ou instantanément sous l'action de l'agitateur et que les grumeaux de matière grasse recueillis sur la passoire soient déjà constitués par de véritables amas de beurre.

Il convient, dans ce cas, de réchauffer l'échantillon à 40° C, sous l'action combinée du filel de lait chaud et de l'agitateur, ces amas fondent et se divisent en traversant la passoire.

Répéter l'opération une ou deux fois, puis refroidir l'échantillon . Dans ce cas, il est à préciser que, la matière grasse n'est pas finement réincorporée au lait. Le prélèvement correct en vue du dosage de la matière grasse sera difficile. à ce titre, l'homogénéisation mécanique est recommandée.

4.1.3.2 Dans le cas où les grumeaux de crème adhèrent fortement au bouchon, débarrasser celui-ci de la matière grasse à l'aide de l'agitateur caoutchouqué, le rincer sous le filel de lait et le laisser dans la passoire où il subira d'abondants lavages au cours des transvasements successifs.

ARRETES, DECISIONS ET AVIS**MINISTERE DU COMMERCE**

Arrêté du Aouel Rabie El Aouel 1439 correspondant au 20 novembre 2017 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des laits et des produits laitiers.

Le ministre du commerce,

Vu le décret présidentiel n° 17-243 du 25 Dhou El Kaâda 1438 correspondant au 17 août 2017 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, relatif au contrôle de la qualité et à la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 02-453 du 17 Chaoual 1423 correspondant au 21 décembre 2002 fixant les attributions du ministre du commerce ;

Vu le décret exécutif n° 13-328 du 20 Dhou El Kaâda 1434 correspondant au 26 septembre 2013 fixant les conditions et les modalités d'agrément des laboratoires au titre de la protection du consommateur et de la répression des fraudes ;

Vu le décret exécutif n° 15- 172 du 8 Ramadhan 1436 correspondant au 25 juin 2015 fixant les conditions et les modalités applicables en matière des spécifications microbiologiques des denrées alimentaires ;

Vu le décret exécutif n° 17 - 62 du 10 Joumada El Oula 1438 correspondant au 7 février 2017 relatif aux conditions et aux caractéristiques d'apposition de marquage de conformité aux règlements techniques ainsi que les procédures de certification de conformité ;

Vu l'arrêté du 26 Rajab 1425 correspondant au 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour essai et dilutions en vue de l'examen microbiologique ;

Vu l'arrêté du 28 Rajab 1435 correspondant au 28 mai 2014 rendant obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique ;

Arrête :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 19 du décret exécutif n° 90-39 du 30 janvier 1990, modifié et complété, susvisé, le présent arrêté a pour objet de rendre obligatoire la méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des laits et des produits laitiers.

Art. 2. — Pour la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des laits et des produits laitiers, les laboratoires du contrôle de la qualité et de la répression des fraudes et les laboratoires agréés à cet effet, doivent employer la méthode jointe en annexe du présent arrêté.

Cette méthode doit être utilisée par le laboratoire lorsqu'une expertise est ordonnée.

Art. 3. — Sont abrogées les dispositions de l'arrêté du 26 Rajab 1425 correspondant au 11 septembre 2004 rendant obligatoire une méthode de préparation des échantillons pour essai et dilutions en vue de l'examen microbiologique.

Art. 4. — Le présent arrêté sera publié au *Journal officiel* de la République algérienne démocratique et populaire.

Fait à Alger, le Aouel Rabie El Aouel 1439 correspondant au 20 novembre 2017.

Mohamed BENMERADI.

ANNEXE

Méthode de préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique des laits et des produits laitiers

1. DOMAINE D'APPLICATION :

La présente méthode spécifie les règles de préparation des échantillons des laits et des produits laitiers et de leur mise en suspension en vue d'un examen microbiologique.

La présente méthode s'applique :

- aux laits et aux produits laitiers liquides ;
- aux produits laitiers en poudre ;
- aux fromages ;
- à la caséine et aux caséinates ;
- au beurre ;
- aux crèmes glacées ;
- à la crème anglaise, aux desserts et à la crème douce ;
- au lait fermenté et à la crème acide ;
- aux préparations à base de lait pour nourrissons.

2. TERMES ET DEFINITIONS :

Au sens de la présente méthode, il est entendu par :

2.1. Echantillon pour laboratoire :

Echantillon prélevé pour être envoyé au laboratoire et destiné à être utilisé pour un contrôle ou pour des essais.

2.2. Echantillon pour essai :

Echantillon représentatif mesuré en volume ou en masse, prélevé sur l'échantillon pour laboratoire pour servir à la préparation de la suspension mère.

2.3 Suspension mère (première dilution) :

Suspension, solution ou émulsion obtenue en mélangeant une quantité du produit à analyser (ou de l'échantillon pour essai préparé à partir de ce produit) avec une quantité de diluant égale à neuf (9) fois cette quantité de produit, en laissant se déposer les particules grossières, si elles existent.

2.4 Dilutions décimales qui suivent :

Suspensions ou solutions obtenues en mélangeant un volume mesuré de la suspension mère (2.3) avec un volume de diluant égal à neuf (9) fois le volume prélevé de la suspension mère et en répétant cette opération sur chaque dilution préparée jusqu'à obtention d'une série de dilutions décimales, appropriée pour l'ensemencement des milieux de culture.

3. PRINCIPE :

Préparation de la suspension mère (2.3) de façon à obtenir une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes contenus dans l'échantillon pour essai.

Préparation, si nécessaire, de dilutions décimales (2.4) qui suivent en vue de réduire le nombre de micro-organismes par unité de volume pour permettre, après incubation, d'observer leur éventuel développement (cas des milieux liquides) ou d'observer les colonies (cas des boîtes de gélose).

Pour restreindre, si nécessaire, le domaine de dénombrement à un intervalle donné, ou si des nombres élevés de micro-organismes sont attendus, il est possible d'ensemencer uniquement les dilutions décimales nécessaires (au moins deux dilutions successives) pour pouvoir effectuer le dénombrement.

4. DILUANTS :

Utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue et de l'eau distillée ou déionisée stérilisée.

4.1 Composants de base :

Il ya lieu de se conformer à la méthode d'analyse relative à la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, fixée par la réglementation en vigueur.

4.2 Diluants à usage général :**4.2.1 Solution de peptone-sel :****4.2.1.1 Composition :**

Digestat enzymatique de caséine.	1 g
Chlorure de sodium (NaCl).....	8,5 g
Eau.....	1 000 ml

4.2.1.2 Préparation :

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant légèrement, si nécessaire, sur une plaque chauffante (5.6).

Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7 \pm 0,2$ à $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.2.2 Solution de Ringer diluée au quart :**4.2.2.1 Composition :**

Chlorure de sodium (NaCl).....	2,25 g
Chlorure de potassium (KCl).....	0,105 g
Chlorure de calcium, anhydre (CaCl ₂).....	0,06 g*)
Hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO ₃).....	0,05 g
Eau.....	1 000 ml

*) En alternative, utiliser 0,12 g de CaCl₂, 6 H₂O

4.2.2.2 Préparation :

Dissoudre les sels dans l'eau. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de $6,9 \pm 0,2$ à $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.2.3 Solution de peptone :**4.2.3.1 Composition :**

Digestat enzymatique de caséine	1 g
Eau.....	1 000 ml

4.2.3.2 Préparation :

Dissoudre la peptone dans l'eau. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7 \pm 0,2$ à $25\text{ }^{\circ}\text{C}$.

4.2.4 Solution tampon phosphate :**4.2.4.1 Composition :**

Dihydrogénophosphate de potassium (KH ₂ PO ₄).....	42,5 g
Eau.....	1 000 ml

4.2.4.2 Préparation :

Dissoudre le sel dans 500 ml d'eau. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de $7,2 \pm 0,2$ à $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Diluer à 1 000 ml avec l'eau restante.

Ajouter 1 ml de cette solution mère à 1 000 ml d'eau pour utilisation en tant que diluant.

Conserver la solution mère au réfrigérateur.

4.2.5 Eau peptonée tamponnée :

4.2.5.1 Composition :

Digestat enzymatique de tissus animaux.....	10 g
Chlorure de sodium (NaCl).....	5 g
Hydrogénophosphate disodique dodécahydraté (Na ₂ HPO ₄ , 12H ₂ O).....	9 g *)
Dihydrogénophosphate de potassium (KH ₂ PO ₄)..	1,5 g
Eau.....	1 000 ml

*) En alternative, utiliser 3,56g d'hydrogénophosphate disodique anhydre (Na₂HPO₄).

4.2.5.2 Préparation :

Dissoudre les composants dans l'eau en chauffant légèrement, si nécessaire, sur une plaque chauffante (5.6).

Si nécessaire, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7 ± 0,2 à 25 °C.

4.2.5.3 Application :

Ce diluant est recommandé en particulier pour la détection de *Salmonella spp* ou le dénombrement de *Listeria monocytogenes*, mais peut également être utilisé pour la préparation de suspensions mères pour d'autres analyses.

4.3 Diluants pour des besoins particuliers :

Ces diluants ne doivent être utilisés que pour la préparation de suspensions mères.

4.3.1 Solution de citrate de sodium :

4.3.1.1 Composition :

Citrate trisodique dihydraté (Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ .2H ₂ O).....	20 g
Eau.....	1000 ml

4.3.1.2 Préparation :

Dissoudre le sel dans de l'eau en chauffant, si nécessaire, sur une plaque chauffante (5.6) à une température comprise entre 45 °C et 50 °C. Ajuster le pH, si nécessaire, de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,5 ± 0,2 à 25 °C.

4.3.1.3 Application :

Cette solution est utilisée pour le fromage et le lait en poudre Hatmaker et certains caséinates.

4.3.2 Solution d'hydrogénophosphate dipotassique :

4.3.2.1 Composition :

Hydrogénophosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄).....	20 g
Eau.....	1000 ml

4.3.2.2 Préparation :

Dissoudre le sel dans de l'eau en chauffant, si nécessaire, sur une plaque chauffante (5.6) à une température comprise entre 45 °C et 50 °C. Pour la poudre de lactosérum acide, ajuster le pH de sorte que, pour la première dilution après stérilisation, il soit de 8,4 ± 0,2 à 25 °C. Pour le fromage, le lait en poudre Hatmaker, le lait fermenté, les caséinates et la crème acide, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation, il soit de 7,5 ± 0,2 à 25 °C.

4.3.2.3 Application :

Cette solution est utilisée pour le fromage, le lait en poudre Hatmaker, le lait fermenté, certains caséinates, le lactosérum acide et la crème acide.

4.3.3 Solution d'hydrogénophosphate dipotassique avec agent antimoussant :

4.3.3.1 Solution d'hydrogénophosphate dipotassique :

4.3.3.1.1 Composition :

Hydrogénophosphate dipotassique (K ₂ HPO ₄).....	20 g
Eau.....	1000 ml

4.3.3.1.2 Préparation :

Dissoudre l'hydrogénophosphate dipotassique dans de l'eau en chauffant, si nécessaire, sur une plaque chauffante (5.6) à une température comprise entre 45 °C et 50 °C.

4.3.3.2 Solution concentrée d'agent antimoussant :

4.3.3.2.1 Composition :

Polyéthylène glycol 2000.....	1 g
Eau.....	100 ml

4.3.3.2.2 Préparation :

Dissoudre le polyéthylène glycol 2000 dans l'eau en mélangeant.

4.3.3.3 Préparation de la solution d'hydrogénophosphate dipotassique avec agent antimoussant :

Ajouter 1 ml de la solution concentrée d'agent antimoussant (4.3.3.2) à 1 litre de la solution de K_2HPO_4 (4.3.3.1).

Ajuster le pH de sorte qu'aussi bien pour la première dilution de la caséine acide que pour celle de la caséine lactique, il soit de $8,4 \pm 0,2$ à 25 °C et pour la caséine présure il soit de $7,5 \pm 0,2$ à 25 °C après stérilisation.

4.3.3.4 Application :

Cette solution est utilisée pour la caséine acide, la caséine lactique et les caséines présures.

4.3.4 Solution de tripolyphosphate :

4.3.4.1 Composition :

Tripolyphosphate de sodium ($Na_5O_{10}P_3$).	20 g
Eau	1000 ml

4.3.4.2 Préparation :

Dissoudre le sel dans l'eau en chauffant légèrement sur une plaque chauffante (5.6), si nécessaire, verser la solution de tripolyphosphate dans des flacons à raison de 90 ml et les stériliser.

Note : Cette solution peut être conservée à une température de $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$ pendant un mois au maximum.

4.3.4.3 Application :

Cette solution est utilisée comme autre diluant pour les caséines présures qui sont difficiles à dissoudre.

4.3.5 Diluant à usage général avec une solution d' α -amylase :

4.3.5.1 Préparation :

Ajouter 12,5 mg d' α -amylase ayant une activité spécifique d'approximativement 400 unités(*) par milligramme pour 225 ml du diluant d'usage général (4.2). Ce diluant est utilisé pour 25 g de prise d'essai.

Utiliser des quantités dans la même proportion pour la préparation d'autres prises d'essai (par exemple pour une prise d'essai de 10 g, ajouter 5 mg d' α -amylase à 90 ml du diluant à usage général).

Note : (*) Cette unité internationale est définie comme étant la quantité d'enzyme qui catalyse la transformation de 1 μ mol de substrat par minute dans des conditions normales.

4.3.5.2 Application :

Cette solution est utilisée pour des aliments contenant de l'amidon.

4.3.6 Eau peptonée tamponnée avec pourpre de bromocrésol :

4.3.6.1 Composition :

Eau peptonée tamponnée (4.2.5).	1 000 ml
Pourpre de bromocrésol (à 4 % dans une solution d'alcool, par exemple une solution d'éthanol).	0,1 ml

4.3.6.2 Préparation :

Ajouter 0,1 ml de solution de pourpre de bromocrésol à 1 000 ml d'eau peptonée tamponnée (4.2.5).

4.3.6.3 Application :

Cette solution peut être utilisée dans certains produits acides (7.3) de sorte que l'ajustement du pH puisse être réalisé sans utiliser une sonde de pH stérile.

Le pourpre de bromocrésol est jaune à un pH acide, virant au violet à un pH supérieur à 6,8.

4.4 Répartition et stérilisation du diluant :

Pour la préparation et la stérilisation du diluant, il y a lieu de se conformer à la méthode d'analyse relative à la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, fixée par la réglementation en vigueur.

5. APPAREILLAGE :

Matériel courant de laboratoire de microbiologie et en particulier, ce qui suit :

5.1 Mélangeur rotatif ou péristaltique.

5.2 Agitateur Vortex.

5.3 Billes en verre de diamètre environ 6 mm.

5.4 Bains d'eau capables de maintenir des températures de $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ et de $45\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$.

5.5 Spatules ou baguettes en verre.

5.6 Plaque chauffante ou autre appareil, permettant un chauffage doux (pas de brûleurs à gaz) et pouvant fonctionner à la température requise.

6. PREPARATION DES ECHANTILLONS :

6.1 Produits congelés :

Il convient de ramener les produits stockés congelés à une consistance permettant de réaliser l'échantillonnage, c'est-à-dire en les stockant entre 18 °C et 27 °C (température du laboratoire) pendant 3 h au maximum, ou à 3 °C ± 2 °C pendant 24 h au maximum.

Soumettre les échantillons à essai dès que possible.

En ce qui concerne la durée des opérations relative à la préparation des échantillons, il y a lieu de se conformer à la méthode d'analyse relative à la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, fixée par la réglementation en vigueur.

Si le produit est encore congelé au moment de la prise d'essai, il est possible d'ajouter du diluant (4), à température du laboratoire pour faciliter la décongélation.

6.2 Produits durs et secs :

Pour mélanger des produits durs dans un mélangeur péristaltique (5.1) placer l'échantillon et le diluant dans deux sacs ou plus stériles, afin d'empêcher leur perforation et un débordement possible de l'échantillon.

Pour les produits durs ou secs, ne pas homogénéiser dans un homogénéisateur rotatif plus de 2,5 minutes en continu.

Pour les produits secs et durs ou hétérogènes, il peut être nécessaire de broyer l'échantillon pour laboratoire. Dans ce cas et pour éviter un échauffement excessif, l'opération de broyage ne doit pas durer plus d'une minute.

6.3 Produits liquides et non visqueux :

Agiter l'échantillon manuellement (8.1) ou par des moyens mécaniques de manière à s'assurer que les micro-organismes sont uniformément répartis avant l'analyse.

6.4 Produits hétérogènes :

Pour les produits hétérogènes, il convient de prélever des parties aliquotes de chaque composant en fonction de leurs proportions dans le produit initial.

Il est également possible d'homogénéiser l'ensemble de l'échantillon pour laboratoire pour permettre le prélèvement d'un échantillon pour essai plus homogène.

Il peut être nécessaire de broyer l'échantillon pour laboratoire. Dans ce cas et pour éviter un échauffement excessif, l'opération de broyage ne doit pas durer plus d'une minute.

7. MODES OPERATOIRES GENERAUX :

7.1 Généralités :

Il convient que toutes les préparations et les manipulations soient effectuées selon des techniques aseptiques appropriées et avec un équipement stérile pour empêcher toute contamination microbienne des échantillons par des sources extérieures.

7.2 Echantillonnage :

L'échantillon doit être représentatif, non endommagé ou modifié lors du transport ou de l'entreposage.

7.3 Cas général des produits acides :

Il est important de s'assurer lors de l'utilisation d'une solution en suspension de produits acides, que le pH soit ramené à la neutralité. L'utilisation de diluant additionné d'un indicateur de pH (4.3.6) peut permettre d'éviter l'utilisation et la stérilisation des sondes de pH ; ajouter de l'hydroxyde de sodium (NaOH) jusqu'à ce que l'indicateur commence à changer de couleur.

En cas d'utilisation de diluants tamponnés, l'ajout de NaOH est souvent nécessaire pour augmenter l'effet tampon du composant alcalin. La concentration du NaOH ajouté, dépend de l'acidité du produit. La concentration la plus adaptée est celle qui permet de s'écarter le moins possible du rapport 1 pour 9 de diluant (par exemple 0,1 mol/l ou 1 mol/l).

7.4 Aliments à forte teneur en matières grasses (plus de 20 % de matière grasse sur la masse totale (fraction massique)) :

L'emploi de diluant additionné de 1 g/l à 10 g/l de monooléate de sorbitol [polysorbate 80] : par exemple tween 80, correspondant approximativement au taux de matières grasses (par exemple ajout de 4 g/l pour une teneur en matières grasses de 40 %) peut améliorer l'émulsification lors de la mise en suspension.

8. MODES OPERATOIRES SPECIFIQUES :

8.1 Lait et produits laitiers liquides :

Mélanger soigneusement l'échantillon pour essai afin d'assurer une répartition aussi uniforme que possible des micro-organismes en retournant rapidement 25 fois le récipient contenant l'échantillon. Eviter la formation de mousse et bien laisser la mousse se disperser, si elle se forme. L'intervalle de temps entre le mélange et le prélèvement de la prise d'essai ne doit pas dépasser 3 minutes.

Prélever au moins 1 ml d'échantillon pour essai avec une pipette stérile et ajouter une quantité neuf fois égale de diluant à usage général (4.2). Agiter cette première dilution pour obtenir une dilution 10⁻¹ [par exemple 25 fois avec un mouvement d'environ 300 mm pendant 7 secondes manuellement, ou utiliser un agitateur Vortex (5.2) pendant 5 secondes à 10 secondes].

Préparer les dilutions qui suivent conformément au point (9).

8.2 Lait sec, poudre de lactosérum doux, poudre de lactosérum acide, babeurre en poudre et lactose :

Mélanger soigneusement le contenu du récipient fermé en le secouant et en le retournant de manière répétée.

Si l'échantillon pour essai est dans le récipient d'origine non ouvert et trop plein ne permettant pas un mélange complet, le transférer dans un autre récipient stérile plus grand, puis mélanger. Prélever la prise d'essai requise avec une spatule et procéder comme indiqué ci-dessous. Refermer immédiatement le récipient.

Peser 10 g de l'échantillon pour essai dans un récipient en verre stérile (par exemple un bécher) et verser ensuite la poudre dans le flacon de dilution contenant un diluant à usage général (4.2). Pour la poudre de lactosérum acide, utiliser une solution d'hydrogénophosphate dipotassique (4.3.2) à un pH de $8,4 \pm 0,2$ ou, si nécessaire, utiliser pour le lait en poudre Hatmaker une solution de citrate de sodium (4.3.1) ou une solution d'hydrogénophosphate dipotassique (4.3.2) à un pH de $7,5 \pm 0,2$.

Ou bien, peser 10 g de l'échantillon pour essai et le verser directement dans le flacon avec le diluant requis.

Pour dissoudre l'échantillon pour essai, faire tourner lentement le flacon pour mouiller la poudre, puis agiter le flacon par exemple 25 fois avec une amplitude d'environ 300 mm pendant environ 7 secondes. Au lieu d'une agitation manuelle, un mélangeur du type péristaltique (5.1) peut être utilisé.

Laisser reposer 5 minutes, agiter occasionnellement.

Le diluant peut être préchauffé à 45 °C si une suspension homogène ne peut pas être obtenue même après broyage.

Préparer les dilutions qui suivent conformément au point (9).

Note : Pour une meilleure reconstitution, et en particulier avec du lait en poudre Hatmaker, il est utile d'utiliser des billes en verre (5.3). Dans ce cas, il est préférable de les mettre dans le flacon avant la stérilisation.

8.3 Fromages et fromage fondu :

Peser 10 g d'échantillon pour essai dans une coupelle et les transférer dans le récipient d'un mélangeur rotatif ou d'un mélangeur de type péristaltique (5.1). Ou bien, peser 10 g d'échantillon pour essai directement dans le récipient.

Ajouter 90 ml de diluant à usage général (4.2) ou de diluant pour fromage, soit 90 ml de solution de citrate de sodium (4.3.1) ou de solution d'hydrogénophosphate dipotassique (4.3.2) à un pH de $7,5 \pm 0,2$.

Mélanger de manière à disperser complètement le fromage.

Laisser la mousse se disperser.

Le diluant peut être préchauffé à 45 °C si une suspension homogène ne peut pas être obtenue même après broyage.

Préparer les dilutions qui suivent conformément au point (9).

8.4 Caséine acide, caséine lactique, caséine présure et caséinates :

8.4.1 Cas général :

Mélanger soigneusement le contenu du récipient fermé en l'agitant et en le retournant de manière répétée.

Peser 10 g d'échantillon pour essai dans un sac plastique stérile pour mélangeur péristaltique (5.1). Ajouter 90 ml du diluant approprié à température ambiante, comme suit :

a) pour les caséines acides et lactiques, diluer avec une solution d'hydrogénophosphate dipotassique avec agent antimoussant (4.3.3) à un pH de $8,4 \pm 0,2$;

b) pour les caséinates, diluer avec une solution de citrate (4.3.1) ou une solution d'hydrogénophosphate dipotassique (4.3.2) à un pH de $7,5 \pm 0,2$ ou une solution de peptone-sel (4.2.1) ;

c) pour la caséine présure, diluer avec une solution d'hydrogénophosphate dipotassique avec agent antimoussant (4.3.3) à un pH de $7,5 \pm 0,2$.

Bien mélanger manuellement et laisser reposer à température ambiante pendant 15 minutes. Mélanger si nécessaire, pendant 2 minutes dans un mélangeur péristaltique (5.1) en utilisant deux sacs stériles pour les produits en granulés. Laisser reposer pendant 5 minutes.

Préparer les dilutions qui suivent conformément au point (9).

8.4.2 Cas particulier de la caséine présure :

L'utilisation d'une solution d'hydrogénophosphate dipotassique avec agent antimoussant (4.3.3) comme diluant pour les caséines présures peut ne pas être efficace pour dissoudre les grains de caséine. Ces grains gênent le dénombrement des micro-organismes à 30 °C . En conséquence, il est recommandé d'utiliser la technique suivante :

Si nécessaire, réduire en poudre la caséine sèche avant de prélever la prise d'essai. Transférer approximativement 20 g d'échantillon pour essai dans un récipient approprié. Le broyer en utilisant un appareil comportant des couteaux pouvant tourner à, approximativement, 20.000 t/min, équipé d'un dispositif qui empêche l'échauffement de l'échantillon pendant le broyage.

Peser 5 g de l'échantillon pour essai ainsi préparé dans un flacon stérile de 250 ml. Ajouter des billes en verre (5.3) pour mélanger et 95 ml de la solution de tripolyphosphate de sodium (4.3.4) préchauffée à 37 °C. Mélanger en laissant le flacon sur un dispositif mélangeur pendant 15 minutes. Puis le placer dans le bain d'eau (5.4) réglé à 37 °C pendant 15 minutes tout en agitant de temps à autre.

Préparer les dilutions qui suivent conformément au point (9).

8.5 Beurre :

S'il est nécessaire d'exclure la surface d'un échantillon de beurre de l'examen, il convient d'utiliser une spatule à large lame pour enlever la couche supérieure du produit dans la zone d'échantillonnage sur une épaisseur d'au moins, 5 mm.

Peser 10 g d'échantillon pour essai dans un récipient pour échantillon. Placer le récipient dans le bain d'eau (5.4) réglé à 45 °C. Le maintenir dans le bain d'eau jusqu'à ce que toute la prise d'essai ait fondu.

Ajouter 90 ml de diluant à usage général (4.2) porté à 45 °C et mélanger.

Cette opération est plus facile à exécuter dans un mélangeur péristaltique (5.1). Ou bien, n'utiliser que la phase aqueuse pour la dilution, comme suit :

Prélever une prise d'essai de 50 g contenant une fraction en volume/masse d'eau de w %. Ajouter une quantité de $(50 - [50 \times w/100])$ ml de diluant à usage général (4.2) préchauffé dans le bain d'eau (5.4) à 45 °C.

Dans ces conditions, 1 ml de la phase aqueuse correspond à 1 g de beurre.

EXEMPLE : Pour 50 g de beurre contenant une fraction en volume/masse d'eau d'environ 16 %, la phase aqueuse représente 8 ml de liquide. Ajouter $(50 - [50 \times 16/100]) = 42$ ml de diluant à usage général (4.2) préchauffé dans le bain d'eau (5.4) à 45 °C.

Placer le récipient dans le bain d'eau (5.4) réglé à 45 °C jusqu'à ce que le beurre fonde. Le retirer du bain d'eau, bien agiter, et laisser les phases se séparer pendant une durée maximale de 15 minutes. Si nécessaire, enlever la phase de matière grasse avec une spatule ou une baguette en verre (5.5).

Si nécessaire, et pour séparer les phases, transférer la prise d'essai fondue dans un tube de centrifugation stérile (ou faire fondre directement la prise d'essai dans le tube) et centrifuger à une vitesse de rotation permettant aux phases de se séparer. Il peut être nécessaire, d'enlever la phase grasse (supérieure) de manière aseptique avec un tube stérile relié à une pompe à vide. Aspirer avec une pipette depuis la couche inférieure.

Préparer les dilutions qui suivent, conformément au point (9).

8.6 Crème glacée :

Peser 10 g d'échantillon pour essai dans un flacon ou dans un sac plastique stérile pour mélangeur péristaltique (5.1). Ajouter 90 ml de diluant à température ambiante et mélanger. Le produit fond au cours du mélange.

Préparer les dilutions qui suivent, conformément au point (9).

8.7 Crème anglaise, desserts et crème douce (pH > 5) :

Peser 10 g d'échantillon pour essai dans un flacon contenant des billes en verre (5.3). Ajouter 90 ml de diluant à usage général (4.2) à température ambiante et agiter pour disperser. Ou bien, un mélangeur péristaltique (5.1) peut être utilisé suivant les instructions du fabricant. Dans ce cas, il convient que le sac ne contienne pas de billes en verre.

Préparer les dilutions qui suivent, conformément au point (9).

8.8 Lait fermenté et crème acide (pH < 5) :

Peser 10 g d'échantillon pour essai dans un flacon contenant des billes en verre (5.3). Ajouter comme diluant 90 ml d'eau peptonée tamponnée (4.2.5) ou une solution d'hydrogénophosphate dipotassique (4.3.2) à un pH de $7,5 \pm 0,2$ à température ambiante et agiter manuellement.

Ou bien, un mélangeur péristaltique (5.1) peut être utilisé suivant les instructions du fabricant. Dans ce cas, il convient que le sac ne contienne pas de billes en verre.

Préparer les dilutions qui suivent, conformément au point (9).

8.9 Aliments à base de lait pour nourrissons :

Mélanger soigneusement le contenu du récipient fermé en l'agitant et en le retournant de manière répétée. Si l'échantillon pour essai est dans le récipient d'origine non ouvert et trop plein ne permettant pas un mélange complet, le transférer dans un autre récipient stérile, plus grand, puis mélanger. Prélever la prise d'essai requise avec une spatule (5.5) et procéder comme indiqué ci-dessous. Refermer immédiatement le récipient.

Peser 10 g d'échantillon pour essai dans un récipient en verre stérile approprié (par exemple un bécher). Puis ajouter la poudre dans le flacon de dilution contenant un diluant à usage général (4.2) ou pour des échantillons ayant une teneur élevée en amidon, un diluant pour des besoins particuliers (4.3.5).

Ou bien, peser directement 10 g de l'échantillon pour essai dans le flacon avec le diluant requis.

Le diluant peut être préchauffé à 45 °C si une suspension homogène ne peut pas être obtenue même après broyage.

Pour une meilleure reconstitution, il est utile d'utiliser des billes en verre (5.3). Dans ce cas, les ajouter dans le flacon avant la stérilisation.

Pour dissoudre l'échantillon, faire tourner lentement le flacon pour mouiller la poudre puis agiter manuellement le flacon, par exemple 25 fois, avec une amplitude d'environ 300 mm, pendant environ 7 secondes. Ou bien, un mélangeur péristaltique (5.1) peut être utilisé. Laisser reposer 5 min, en agitant occasionnellement.

Préparer les dilutions qui suivent, conformément au point (9).

Les échantillons ayant une teneur élevée en amidon peuvent créer des problèmes du fait de la viscosité élevée de la première dilution.

Utiliser un diluant à usage général (4.2) avec une solution d' α -amylase (4.3.5) pour réduire la viscosité de la solution mère ou utiliser deux fois la quantité de diluant. Tenir compte de cette dilution supplémentaire lors des examens ultérieurs.

9. DILUTIONS DECIMALES :

Il convient de suivre les recommandations prévues dans la méthode relative à la préparation des échantillons, de la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique, fixée par la réglementation en vigueur.

Lors du transfert d'une suspension mère visqueuse, préparée à partir de caséine acide ou de caséine présure (8.4), rincer la pipette avec le diluant par plusieurs aspirations, en ayant recours au diluant utilisé pour réaliser la dilution décimale.

Lorsque 10 ml plus 90 ml ou 11 ml plus 99 ml, ont été prélevés, agiter manuellement comme décrit en (8.1).

Note : Si l'étape mentionnée ci-dessus est réalisée sans rincer la pipette lors du transfert d'une première dilution visqueuse, le volume de la suspension mère à transférer sera incorrect.

MINISTERE DE L'ENVIRONNEMENT ET DES ENERGIES RENOUVELABLES

Arrêté interministériel du 26 Moharram 1439 correspondant au 17 octobre 2017 fixant la nomenclature des recettes et des dépenses du compte d'affectation spéciale n° 302-065 intitulé « Fonds national de l'environnement et du littoral ».

Le ministre des finances,

La ministre de l'environnement et des énergies renouvelables,

Vu le décret présidentiel n° 17-243 du 25 Dhou El Kaâda 1438 correspondant au 17 août 2017 portant nomination des membres du Gouvernement ;

Vu le décret exécutif n° 95-54 du 15 Ramadhan 1415 correspondant au 15 février 1995 fixant les attributions du ministre des finances ;

Vu le décret exécutif n° 17-170 du 25 Chaâbane 1438 correspondant au 22 mai 2017 fixant les modalités de fonctionnement du compte d'affectation spéciale n° 302-065 intitulé « Fonds national de l'environnement et du littoral » ;

Vu l'arrêté interministériel du 10 Joumada El Oula 1428 correspondant au 27 mai 2007 fixant la nomenclature des recettes et des dépenses imputables sur le compte d'affectation spéciale n° 302-113 intitulé « Fonds national pour la protection du littoral et des zones côtières » ;

Arrêtent :

Article 1er. — En application des dispositions de l'article 3 du décret exécutif n° 17-170 du 25 Chaâbane 1438 correspondant au 22 mai 2017, susvisé, le présent arrêté a pour objet de fixer la nomenclature des recettes et des dépenses du compte d'affectation spéciale n° 302-065 intitulé « Fonds national de l'environnement et du littoral ».

Art. 2. — Conformément aux dispositions de l'article 3 du décret exécutif n° 17-170 du 25 Chaâbane 1438 correspondant au 22 mai 2017, susvisé, le Fonds national de l'environnement et du littoral a pour recettes :

— une taxe sur les actions polluantes et dangereuses pour l'environnement ;

— les taxes spécifiques fixées par les lois de finances ;

— les produits des amendes perçues au titre des infractions à la législation sur la protection de l'environnement et du littoral ;

— les dons et legs nationaux et internationaux ;

Annexe 03

1. Matériels de laboratoire et milieux de culture utilisés

1.1. Matériels

a. Matières premières : Yaourt aromatisé.

b. Appareillages

- Balance analytique.
- Agitateur à plaque chauffante.
- Autoclave.
- Four pasteur.
- Incubateur de 30, 37, 44°C.
- Microscope optique.
- Glacière.
- Réfrigérateur.
- PH mètre.
- Bec Bunsen.
- Bac de coloration.
- Portoir.
- Papier hygiénique.
- Pince en bois.

c. Verrerie

- Pipettes graduées de 1et 10 ml.
- Eprovettes.
- micropipette
- Seringue de 0,1 ml
- Pipettes pasteurs.
- Tubes à essai.

- Lames et lamelles.
- Bécher de 250 ,500 et 1000 ml.
- Flacons en verre.
- Boîtes de pétri.
- Burette de 50 ml.

d. Réactifs et solutions

- Solution NaOH
- Phénolphtaléine
- Lugol
- Alcool
- Oxytétracycline.
- Tellurite de potassium
- Violet de gentiane
- Fuchsine
- Plasma du sang humain
- Eau (distillée, oxygénée, physiologique, de javel).
- Bleu de méthylène.

1.2. Milieux de cultures

a. Milieux liquides

- Rothe S/C : utilisé pour effectuer le test présomptif de recherche et de dénombrement des Streptocoques totaux.
- S.F.B (S/C) (bouillon au sélénite de sodium + cystine).
- Eau peptonée.
- TSE (Tryptone. Sel.Eau) comme diluant.
- Litsky : utilisé pour effectuer le test confirmatif de recherche et de dénombrement des Streptocoques fécaux.
- Emulsion de jaune d'œuf.

b. Milieux solides

- Baird–Parker : milieu sélectif utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Staphylococcus aureus*.
- VRBL : utilisé pour la recherche et le dénombrement des coliformes.
- M17 : utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Streptococcus thermophilus*.
- SS : utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Salmonella*.
- OGA : utilisé pour la recherche et le dénombrement des levures et moisissures.
- MRS : utilisé pour la recherche et le dénombrement de *Lactobacillus bulgaricus*.



Figure 01: température de pasteurisation

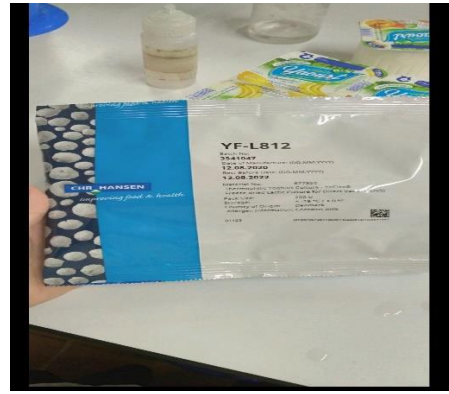


Figure 02 ; ferment lactique thermophile
pour yaourt étuvé



Figure 03 : cuve d'ensemencement
(ferment lactique)

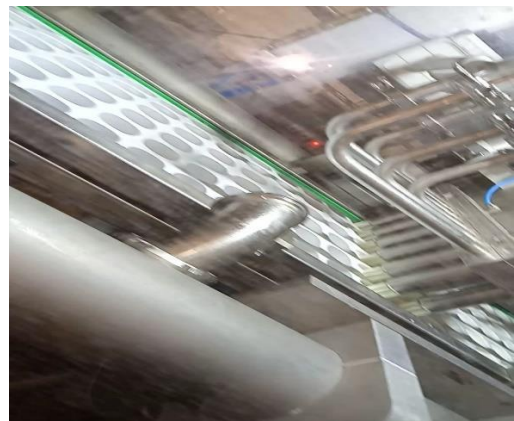


Figure 04 : conditionnement du yaourt



Figure 05: température réglée à 44 °C



Figure 06 : étuvage du yaourt (maturation)



Figure 07 : l'analyse de l'extrait sec total

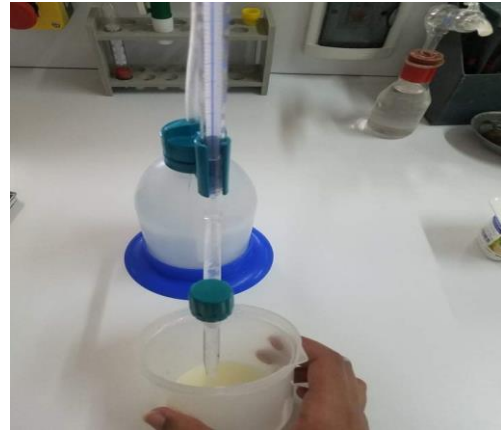


Figure 08 : l'analyse d'acidité titrable

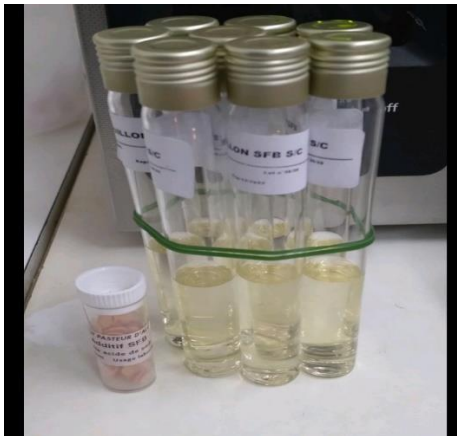


Figure 09 : bouillon SFB pour enrichissement des selmonelles



Figure 10 : gélose déshydratées pour recherche microbologique



Figure 11 : gélose préparées pour recherche microbologique

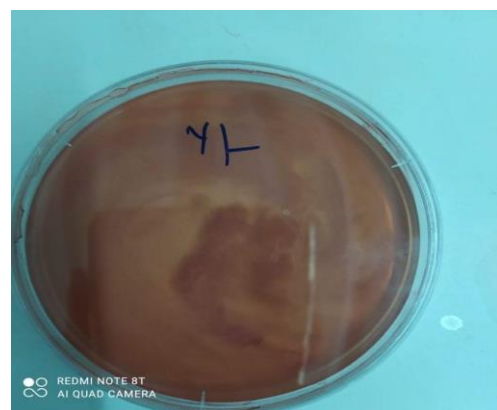


Figure 12 : les résultats microbiologiques

	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Beurre concentré	Germes aérobies à 30 °C	5	2	$5 \cdot 10^2$	$5 \cdot 10^3$
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence	
	Coliformes totaux	5	0	Absence	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
Laits fermentés (Lben, Raib...)	Coliformes totaux	5	2	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$
	Coliformes thermotolérants	5	2	30	$3 \cdot 10^2$
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	$3 \cdot 10^2$	$3 \cdot 10^3$
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Yaourts ou yoghourts et desserts lactés	Enterobacteriaceae	5	2	10	10^2
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10^2
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	
	<i>Listeria monocytogenes</i>	5	0	100	
Caséines-caseinates	Germes aérobies à 30 °C	5	2	$3 \cdot 10^4$	$3 \cdot 10^5$
	Staphylocoques à coagulase +	5	0	Absence	
	Coliformes totaux	5	0	Absence dans 0,1 g	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g	

Figure 13: journal officiel n°39 du 2017

