

UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريش

Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A.

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض والكون

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers

قسم العلوم البيولوجية

Département des Sciences Biologiques



UNIVERSITÉ MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

UNIVERSITY MOHAMED EL BACHIR EL IBRAHIMI
BORDJ BOU ARRERIDJ

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé

Lait en poudre : Aspects technologique, biochimique, bactériologique et législatif, qualités physico-chimiques et analyses microbiologiques.

Présenté par : YAHIAOUI Kamel
RAHMANI Zina

Devant le jury :

Président : M. ALILI Dahmane

M.A.B (Univ Bordj Bou Arréridj)

Encadrant : M. MERIBAI Abdelmalek

M.A.A (Univ Bordj Bou Arréridj)

Examineur : Mme. ZERROUG Amina

M.A.A (Univ Bordj Bou Arréridj)

Année universitaire : 2019/2020



REMERCIEMENTS



Après avoir rendu grâce à Allah le Tout puissant et le miséricordieux, nous tenons à remercier :

M. MERIBAI Abdelmalek, notre directeur de recherche, pour sa présence, son soutien, ses conseils et toute l'aide qu'il nous a apporté tout au long de la recherche,

Monsieur et madame les jurées : ALILI Dahmane et ZERROUG Amina de nous faire l'honneur d'examiner notre travail

Nos familles qui nous ont été d'un énorme soutien durant toute la période de la recherche

Et enfin, toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



A l'âme de mon incroyable grand-mère

*A mes parents,
Dont l'amour, la patience, les sacrifices, le soutien et la présence
m'ont forgé*

*A mes sœurs et frères
Maria, Sérine, Ahmad Ikbal et Moussa*

*Au petit ange de la famille
Lynn Ailane*

Je dédie ce travail

KAMEL YAHIAOUI



DÉDICACES



À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père.

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

À tous mes frères et mes sœurs, mes nièces Ines, Maissa, Melek, Lamis, et mes neveux taha et abdrahman , qui ont été toujours là pour moi.

À mon fiancé : Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel m'ont permis de réussir mes études. Ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amies, collègues d'étude, et sœur de cœur, Amel, Amira et Fouzia.

ZINA RAHMANI

Sommaire :

Remercîments

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des tableaux.

Résumés

Introduction.....	1
I. Chapitre I : Le Lait.....	3
I-1. Définition.....	3
I-2. Composition.....	3
I-3. Les différents types de lait.....	6
II. Chapitre II : La poudre de lait.....	10
II-1. Définition.....	10
II-2. Fabrication de la poudre de lait.....	10
II-2-a. Matière première - Le lait cru.....	11
II-2-b. Processus de fabrication de la poudre de lait.....	12
II-3 Caractéristiques du lait.....	15
II-3-a. Caractéristiques organoleptiques.....	15
II-3-b. Caractéristiques physico-chimiques.....	16
III. Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait.....	19
III-1. Microorganismes transmissibles par la poudre de lait.....	19

Micro-organismes sporogènes.....	19
<i>Staphylococcus aureus</i>	20
<i>Listeria monocytogenes</i>	21
<i>Cronobacter</i> spp.	21
<i>Salmonella</i> spp.	22
 III-2. Control de la qualité bactériologique de la poudre du lait.....	 22
III-2-a. Techniques (protocoles) de recherche et dénombrement des micro-organismes.....	22
Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.....	22
Dénombrement de coliformes totaux et fécaux.....	23
Dénombrement des streptocoques fécaux (groupe D)	23
Dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i>	24
Dénombrement de <i>Clostridium</i> sulfito-reducteurs.....	25
Dénombrement de <i>Bacillus</i> spp.	27
Dénombrement de <i>Listeria monocytogenes</i>	28
Dénombrement de <i>Cronobacter</i> spp.	28
Dénombrement de <i>Salmonella</i> spp.	29
Conclusion.....	31

Références bibliographiques.

Annexes.

Liste des abréviations :

°C	: Degré Celsius.
µl	: Microlitre.
µm	: Micromètre.
AFNOR	: Association française de normalisation.
a_w	: Activité de l'eau.
Ca	: Calcium.
Cl	: Chlore.
cm³	: Centimètre cube.
CSR	: Clostridium sulfito-reducteurs.
DLUO	: Date limite d'utilisation optimale.
EE	: Enterobacteriaceae enrichment.
GOS	: Galactooligosaccharide.
h	: Heures.
HR	: Humidité relative.
HTST	: High temperature short time.
IGF-1	: Insulin like growth factor 1.
ISO	: International Organization for Standardization.
K	: Potassium.
LCS	: Lait concentré sucré.
Mg	: Magnésium.
min	: Minutes.
MKTTn	: Bouillon de Tétrathionate-Novobiocine Muller-Kauffmann.
ml	: Millilitre.
mm	: Millimètre.
MYP	: Mannitol Egg Yolk Polymyxin.
Na	: Sodium.
NPP	: Nombre le plus probable.
P	: Phosphore.
PCA	: Plate count agar.
pH	: Potentiel d'Hydrogène.

Liste des abréviations

PL	: Poudre de lait.
RVS	: Bouillon de peptone de Soja Rappaport-Vassiliadis.
s	: Secondes.
S/C	: Simple concentration.
TGY	: Tryptone glucose yeast.
TSA	: Trypticase Soy Agar
TSC	: Tryptone Sulfite Cyclosérine.
TSN	: Tryptone Sulfite Néomycine.
UHT	: Ultra-high temperature.
UVM	: University of Vermont.
VF	: Viande-Foie.
VRBG	: Violet Red Bile Glucose.
VRBL	: Milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre
XLD	: Xylose Lysine Deoxycholate agar.

Liste des figures :

- Figure 1** : Schéma généralisé de la production de la PL.
- Figure 2** : Evaporateur a effets multiples.
- Figure 3** : Schéma représentant le dispositif utilisé dans le séchage « roller ».
- Figure 4** : Schéma représentant le dispositif utilisé dans le spray-drying.
- Figure 5** : Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale.
- Figure 6** : Dénombrement des coliformes totaux et fécaux.
- Figure 7** : Dénombrement des streptocoques fécaux (groupe D).
- Figure 8** : Méthode de Baird Parker pour dénombrement des staphylocoques.
- Figure 9** : Dénombrement de *Clostridium* sulfito-réducteurs.
- Figure 10** : Dénombrement de *Bacillus* spp.
- Figure 11** : Dénombrement de *Listeria monocytogenes*.
- Figure 12** : Dénombrement de *Cronobacter* spp.
- Figure 13** : Dénombrement de *Salmonella* spp.

Liste des tableaux :

- Tableau 1** : Composition de la poudre de lait selon le *Codex Alimentarius*.
- Tableau 2** : Quelques caractères biochimiques de différentes espèces de staphylocoques.
- Tableau 3** : Interprétation biochimique - Résultats des tests.

Résumé

Le lait est un produit d'une grande valeur alimentaire, de par sa richesse en lipides, protéines, glucides et en éléments biologiques (vitamines, minéraux). Outre ses propriétés nutritives et diététiques, il est d'une importance capitale dans l'économie mondiale et nécessaire pour le développement des civilisations. Le lait en poudre est un produit solide obtenu par élimination d'eau du lait cru entièrement ou partiellement écrémé. La poudre de lait, a l'avantage de pouvoir se stocker et se transporter aisément pour être utilisée via la recombinaison comme matière première pour la préparation de diverses denrées alimentaires ; La transformation du lait cru en poudre de lait, augmente sa durée de vie et permet de conserver sa valeur nutritive et ses caractéristiques sensorielles, pour des périodes prolongées, même à température ambiante ; L'étude vise, à travers l'analyse et synthèse des données scientifiques, de décrire la production du lait en poudre, sa composition, les procédés techniques pour sa production, ses caractéristiques physicochimiques, biochimiques et hygiéniques, les microorganismes impliqués dans sa contamination et les protocoles appliqués pour leur recherche et dénombrement. La technologie laitière a élaboré divers procédés de transformation, couplé à une politique de qualité, permettant d'acquérir une meilleure maîtrise des caractéristiques physicochimiques, microbiologiques de la poudre de lait obtenue. Les analyses de la qualité physicochimique, visent l'obtention d'un produit laitier stable, sans défauts organoleptiques et/ou rhéologiques. Les analyses microbiologiques, garantissent un produit exempt des risques bactériologiques et/ou toxicologiques ; Comme nous vivons dans un monde où les échanges commerciaux sont intenses, il existe de situations pour que le lait en poudre soit contaminé à n'importe quel stade, de collecte, transformation, de stockage et de consommation, par de nombreux microorganismes. Les espèces procaryotes sporogènes à l'exemple des *Bacillus* spp., *Clostridium* spp. les Xyrophiles comme : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, aussi les espèces thermotolérantes : *Cronobacter* spp. *Salmonella* spp. constituent des défis majeurs pour les firmes spécialisées dans la production de la poudre de lait.

Mots clés :

Lait, Poudre de lait, Contamination, Transformation, Caractéristiques, Analyses Microbiologiques.

Summary:

Milk is a product of great nutritional value, due to its richness in lipids, proteins, carbohydrates and biological elements (vitamins, minerals). Besides its nutritional and dietary properties, it is of capital importance in the world economy and necessary for the development of civilizations. Powdered milk is a solid product obtained by removing water from fully or partially skimmed raw milk. Milk powder has the advantage of being able to be stored and transported easily for use via recombination as a raw material for the preparation of various foodstuffs; The transformation of raw milk into powdered milk increases its shelf life and allows its nutritional value and sensory characteristics to be preserved for extended periods, even at room temperature; The study aims, through the analysis and synthesis of scientific data, to describe the production of powdered milk, its composition, the technical procedures for its production, its physicochemical, biochemical and hygienic characteristics, the microorganisms involved in its contamination and the protocols applied for their research and enumeration. Dairy technology has developed various transformation processes, coupled with a quality policy, enabling better control of the physicochemical and microbiological characteristics of the milk powder obtained. The analyzes of the physicochemical quality aim to obtain a stable dairy product, without organoleptic and / or rheological defects. Microbiological analyzes guarantee a product free from bacteriological and / or toxicological risks; As we live in a world where trade is intense, there are situations for powdered milk to be contaminated at any stage, from collection, processing, storage and consumption, with many microorganisms. Sporogenic prokaryotic species such as *Bacillus* spp., *Clostridium* spp. Xerophiles such as: *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, also thermotolerant species: *Cronobacter* spp. *Salmonella* spp. constitute major challenges for firms specializing in the production of milk powder.

Keywords

Milk, Milk powder, Contamination, Processing, Characteristics, Microbiological analyzes.

ملخص :

يعتبر الحليب منتجًا ذا قيمة غذائية كبيرة، لغناه بالدهون والبروتينات والكربوهيدرات والعناصر البيولوجية (الفيتامينات والمعادن). إلى جانب خصائصه الغذائية، فهو ذو أهمية كبرى في الاقتصاد العالمي وضروري لتنمية الحضارات. الحليب المجفف منتج صلب يتم الحصول عليه عن طريق إزالة الماء من الحليب الطازج منزوع الدسم كليًا أو جزئيًا. يتميز الحليب المجفف بقدرته على التخزين والنقل بسهولة، و استخدامه كمادة أولية لتحضير العديد من الأغذية؛ يزيد تحويل الحليب الطازج إلى حليب مجفف من مدة صلاحيته ويسمح بحفظ قيمته الغذائية وخصائصه الحسية لفترات طويلة، حتى في درجة حرارة العادية. تهدف الدراسة، من خلال تحليل، نقد وتوليف البيانات العلمية الحديثة، إلى وصف طرائق إنتاج الحليب المجفف، تكوينه، الإجراءات الفنية لإنتاجه، خصائصه الفيزيائية، الكيميائية الحيوية، الصحية والطرق المخبرية المطبقة لمراقبة النوعية و الرزم. طورت تكنولوجيا الألبان عمليات تحويل مختلفة، إلى جانب سياسة الجودة، مما يتيح التحكم بشكل أفضل في الخصائص الفيزيائية والكيميائية والميكروبيولوجية لمسحوق الحليب الذي يتم الحصول عليه. تهدف تحليلات الجودة الفيزيائية والكيميائية إلى الحصول على منتج ألبان ثابت، بدون عيوب حسية و/أو ريولوجية. تضمن التحليلات الميكروبيولوجية منتجًا خاليًا من المخاطر البكتريولوجية و/أو السمية؛ نظرًا لأننا نعيش في عالم حيث التجارة كثيفة، فهناك حالات يتلوث فيها الحليب المجفف في أي مرحلة، بدءًا من التجميع، المعالجة، التخزين والاستهلاك، مع العديد من الكائنات الحية الدقيقة. الأنواع بدائية النواة الأبوغية مثل *Bacillus* و *Clostridium*. *Xerophiles* مثل: *Staphylococcus aureus*، *Listeria monocytogenes*، أيضًا أنواع مقاومة للحرارة: *Cronobacter* و *Salmonella* تشكل تحديات كبيرة للشركات المتخصصة في إنتاج مسحوق الحليب.

الكلمات الدالة

الحليب، مسحوق الحليب، التلوث، المعالجة، الخصائص، التحليلات الميكروبيولوجية.

Introduction :

Le lait est l'un des aliments les plus importants de l'histoire humaine, il est connu comme l'aliment le plus complet de la nature et les produits laitiers sont considérés comme les aliments les plus nutritifs **(PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., 2013)**.

Le lait d'espèce bovine est de loin le type du lait le plus consommé, dominant la production laitière mondiale en raison de l'importante population de bovins **(KALYANKAR S. D. et al. (b), 2016)**.

La demande de lait était plus élevée dans les pays développés que dans les pays en développement, mais l'écart s'est rétréci en raison d'une augmentation de l'urbanisation, de la démographie et de la consommation. La production mondiale du lait jusqu'en 2014 était de 5339,4 millions de litres **(CHAVAN R. S., 2016)**.

Avec une technique de conservation judicieuse et en exploitant le potentiel du lait dans différents types de produits, le lait pourrait être rendu disponible toute l'année dans les secteurs où il n'est pas produit ou pendant la période de soudure. Le plus important de tous les types est le lait en poudre.

Le lait en poudre est une matière alimentaire nutritive très précieuse. Il peut être utilisé sous forme de poudre dans divers mélanges d'aliments secs ou de boissons, ainsi que sous forme reconstituée **(CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002)**. Ses caractéristiques le rendent facile à conserver et à transporter sur de longues distances et lui confèrent la capacité d'être stocké pour de longues périodes à température ambiante, ce qui en fait une parfaite solution pour ceux qui n'ont pas un accès immédiat à des installations de réfrigération adéquates, ce qui en fait un atout économique important.

Selon **(ANONYME, 2020)**, les statistiques pour 2019 montrent que les États-Unis sont en tête des pays exportateurs de la poudre de lait avec 1,35 milliard de dollars suivis de l'Allemagne avec 793 millions de dollars et de la Nouvelle-Zélande avec 764 millions de dollars, alors que le Mexique est en tête des pays importateurs avec 712 millions de dollars suivi par la Chine avec 619 millions de dollars et l'Algérie avec 365 millions de dollars.

Le lait en poudre est un élément crucial de l'économie mondiale, et pour cela il est impératif qu'il soit conforme aux normes établies par les différentes organisations de normalisation.

Le contrôle d'hygiène du lait post-pasteurisation a une très grande importance, car la plupart s'imaginent, à tort, que tout lait pasteurisé est sain, exempt de micro-organismes, et qu'il peut être consommé sans danger **(AGGAD H. et al., 2009)** d'autant plus que les chaînes de production alimentaire modernes évoluent vers des systèmes très complexes qui offrent de plus grandes opportunités de contamination et de croissance d'agents pathogènes. **(BOGDANOVICOVA K. et al., 2016)**.

Dans ce contexte précis, imprégné de logique nutritionnelle et agro-alimentaire, ce situer l'objectif de cette synthèse bibliographique, qui se veut une contribution partielle à l'analyse approfondie des données scientifiques, résultats des travaux de recherche, études des cas précis, relatifs aux différents aspects ; nutritionnels, technologiques, hygiéniques du lait en poudre.

La présente étude est organisée en trois chapitres dont le premier sera consacré aux différents types des laits.

Tandis que le deuxième traitera les aspects technologiques de la transformation laitière et caractéristiques de la poudre obtenue.

Le troisième sera relatif aux aspects d'hygiène et de qualité de la poudre laitière. Les micro-organismes transmissibles par cette denrée alimentaire et leurs protocoles de recherche et dénombrement seront détaillés.

I. Chapitre I : Le Lait :

I-1. Définition :

La première définition du lait apparaît en 1908, au Congrès international de la Répression des Fraudes de Paris. Le mot « lait » a été défini comme : « le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum ».

Selon le *Codex Alimentarius*, (1999), Le lait est défini comme étant la sécrétion mammaire normale d'animaux de traite, obtenue à partir d'une ou plusieurs traites, sans rien y ajouter ou en soustraire, destiné à la consommation comme lait liquide ou à un traitement ultérieur. La dénomination "lait" sans indication de l'espèce animale de provenance, est réservée au lait de vache. Tout lait provenant d'une femelle laitière autre que la vache, doit être désignée par la dénomination lait suivie de l'indication de l'espèce animale dont il provient (**JORA N°69, 1993 ; NOBLET B., 2012**).

Le lait comme un liquide alimentaire opaque, blanc mat légèrement bleuté ou plus ou moins jaunâtre, à odeur peu marquée et au goût douceâtre (**MAZOYER M., 2002**).

Dans la plupart des civilisations humaines, le lait des animaux domestiques (vache brebis, chèvre, jument, yak, chamelle, dromadaire, bufflonne, renne) est couramment consommé, mais l'industrialisation concerne principalement le lait de vache, et à plus petite échelle, le lait de brebis et de chèvre (**VILAIN A.-C., 2010**).

I-2. Composition :

I-2-a. Protéines du lait :

D'après le Département Américain de l'Agriculture, le lait est une riche source de protéines fournissant environ 1 gramme de ce nutriment dans chaque once liquide (30 ml), ou 7,7 grammes dans chaque tasse (240 ml).

Les protéines du lait peuvent être divisées en deux groupes en fonction de leur solubilité dans l'eau. Les protéines de lait insolubles sont appelées caséine, tandis que les protéines solubles sont appelées protéines de lactosérum. Ces deux groupes de protéines de lait sont considérés comme d'excellente qualité, avec une forte proportion d'acides aminés essentiels et une bonne digestibilité.

- **Caséine :**

La caséine constitue la majorité - ou 80% - des protéines du lait.

En vrai, c'est une famille de protéines différentes, l'alpha-caséine étant la plus abondante.

Selon (**HOLT C. et al., 2013**), les 3 fonctions biologiques de la micelle de caséine considérées ici sont :

- La sécrétion sûre de fortes concentrations de calcium et de phosphate afin que la glande mammaire ne se calcifie pas.
- La sécrétion sûre de fortes concentrations de protéines de caséine potentiellement fibrillogènes par la glande mammaire.
- La rétention de micelles dans l'estomac du nouveau-né afin que les nutriments puissent être digérés et absorbés. Chaque fonction sera considérée par rapport à la structure des micelles de caséine.

- **Protéine de lactosérum :**

Le lactosérum est une autre famille de protéines, qui représente 20% de la teneur en protéines du lait.

Les protéines de lactosérum ont été associées à de nombreux effets bénéfiques sur la santé, tels qu'une baisse de la pression artérielle et une amélioration de l'humeur pendant les périodes de stress (**PAL S. et ELLIS V., 2009 ; MARKUS C. R. et al., 2000**).

La protéine de lactosérum est excellente pour la croissance et le maintien des muscles. En conséquence, c'est un supplément populaire parmi les athlètes et les culturistes.

I-2-b. Matière grasse du lait :

Le lait entier directement de la vache contient environ 4% de matières grasses. La matière grasse du lait est l'une des graisses naturelles les plus complexes, contenant environ 400 types différents d'acides gras (**LINDMARK MÅNSSON H., 2008**).

Le lait entier est très riche en graisses saturées, qui représentent environ 70% de sa teneur en acides gras. Les graisses polyinsaturées sont présentes en quantités minimes, représentant environ 2,3% de la teneur totale en matières grasses. Les graisses monoinsaturées constituent le reste - environ 28% de la teneur totale en matières grasses. De plus, les gras trans se trouvent naturellement dans les produits laitiers. Contrairement aux gras trans dans les aliments transformés, les gras trans laitiers - également appelés gras trans des ruminants - sont considérés comme bénéfiques pour la santé. Le lait contient de petites quantités de gras trans, comme l'acide vaccénique et l'acide linoléique conjugué (**LINDMARK MÅNSSON H., 2008**).

I-2-c. Glucides du lait :

- **Lactose :**

Le lactose est le principal glucide du lait avec un contenu de 4,7 g / 100 ml pour les vaches. Le lactose est un disaccharide de précieux nutriments, car il favorise l'absorption intestinale de Ca, Mg et P, et l'utilisation de la vitamine C. le lactose a un indice glycémique inférieur à celui du saccharose ou du glucose, ce qui indique que le lactose peut être considéré comme approprié dans le régime alimentaire des diabétiques pour stabiliser la glycémie (**VAN BELZEN N., 2017**).

- **Dérivés du lactose :**

Le lactulose, le lactitol, l'acide lactobionique et les a_w sont connus comme les principaux produits dérivés du lactose qui sont reconnus comme promoteurs de croissance du bifidus et ont été utilisés dans des produits améliorant la thérapie ainsi que comme ingrédient de préparations pour nourrissons pour nourrissons (**VAN BELZEN N., 2017**).

- **Oligosaccharides :**

Plus de 30 oligosaccharides ont été identifiés dans le lait de vache. Les oligosaccharides dans le lait appartiennent au groupe du facteur bifidus, favorisant la croissance de *Lactobacillus bifidus* dans le tractus intestinal (**VAN BELZEN N., 2017**).

Ils modulent la croissance de la flore intestinale, influencent différents processus gastro-intestinaux et inflammatoires et protègent contre les infections bactériennes et virales (**KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016**).

S'ils sont isolés, peuvent être utilisés comme aliments fonctionnels ou aliments pour animaux à l'échelle industrielle (**PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., 2013**).

I-2-d. Vitamines et minéraux :

Le lait contient toutes les vitamines et minéraux nécessaires pour soutenir la croissance et le développement d'un jeune veau pendant ses premiers mois de vie.

Il fournit également presque tous les nutriments nécessaires aux humains - ce qui en fait l'un des aliments les plus nutritifs disponibles.

Le lait contient les vitamines liposolubles A, D, E et K en association avec la fraction lipidique et le complexe de vitamines hydrosolubles B et la vitamine C en association avec la phase aqueuse. Les vitamines sont instables et la transformation peut donc réduire la teneur efficace en vitamines du lait (**R. G. JENSEN., 1995**).

Le lait contient aussi des minéraux comme Ca, Mg, Na, K, P, et Cl qui participent dans la stabilité du lait (**GAUCHERON F., 2011**).

I-2-e. Hormones du lait :

le lait de vache contient plusieurs hormones différentes naturelle, qui sont importantes pour le développement du veau nouveau-né (**JOUAN P.-N. et al., 2006**).

À l'exception du facteur de croissance analogue à l'insuline-1 (IGF-1), les hormones du lait de vache n'ont aucun effet connu chez l'homme.

L'IGF-1 se trouve également dans le lait maternel humain et la seule hormone connue pour être absorbée par le lait de vache. il peut favoriser la croissance et le développement du tractus gastro-intestinal néonatal ou augmenter l'activité lactase (**WILEY A. S., 2011**).

I-3. Les différents types de lait :

I-3-a. Laits pasteurisés :

La pasteurisation est le traitement thermique le plus intensif par une méthode à basse température pour obtenir les changements minimes néfastes induits par la chaleur comme la dénaturation des protéines sériques. **(KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016).**

Le lait pasteurisé est un lait dont le traitement thermique peut varier (couple temps—température oscillant entre 15 - 20 secondes et variant de 72 à 85°C) mais qui doit toujours présenter un test négatif à la phosphatase alcaline (celle-ci doit être détruite).

Cependant, le lait pasteurisé contient toujours une flore résiduelle (bactéries lactiques) dont le développement doit être empêché en réfrigérant le lait immédiatement et rapidement après chauffage à une température comprise entre 2 et 4°C puis conservé à cette température jusqu'à sa consommation **(NOBLET B., 2012).**

D'après **(JEANTET et al., 2016)**, on distingue trois types de traitements :

- Pasteurisation basse (62-65°C/30min) : elle est abandonnée en laiterie.
- Pasteurisation haute (71-72°C/15-40s) ou HTST (High Température Short Time) : réservée aux laits de bonne qualité hygiénique. Au plan organoleptique et nutritionnel, elle n'a que peu d'effets. Au niveau biochimique, faible dénaturation des protéines sériques et des vitamines.
- Flash pasteurisation (85-90°C/1-2s) : pratiquée sur les laits crus de qualité moyenne.

I-3-b. Le lait stérilisé :

❖ Stérilisation classique :

Traitement utilisé pour détruire tous les germes du lait. Le lait est chauffé pendant dix à 20 minutes, à 115 - 120°C, directement dans sa bouteille hermétiquement close. Ce type de traitement peut avoir un impact sur la qualité organoleptique. La destruction de la flore est totale, c'est pourquoi ce lait peut se conserver (avant ouverture) à température ambiante pendant plusieurs mois jusqu'à la date limite d'utilisation optimale (DLUO) **(NOBLET B., 2012).**

❖ Stérilisation à ultra-haute température (UHT) :

Le lait est chauffé à 135 - 140°C pendant deux secondes, puis conditionné dans un emballage stérile. La destruction des germes est totale. Ce type de traitement à haute température et de plus courte durée permet de ne pas altérer les qualités organoleptiques du lait. Ce lait est le plus consommé de nos jours. D'une manière générale, les hautes températures appliquées pendant un temps très court ont un effet plus puissant sur la destruction des micro-organismes et des enzymes que sur les modifications des constituants du lait, ce qui justifie l'intérêt des traitements UHT. De plus, en assurant une montée en

température et un refroidissement rapide, les procédés UHT évitent les effets cumulatifs des traitements thermiques et réduisent ainsi les modifications physicochimiques du lait (**Noblet B.,2012**).

Divers systèmes UHT :

Il existe deux principaux types de systèmes UHT sur le marché :

- Dans les **systèmes directs**, le produit entre en contact direct avec le fluide de chauffage, suivi d'un refroidissement rapide dans un récipient sous vide et éventuellement d'un refroidissement indirect supplémentaire à la température de l'emballage. Les systèmes directs sont divisés en : systèmes d'injection de vapeur (vapeur injectée dans le produit), systèmes d'infusion de vapeur (produit introduit dans un récipient rempli de vapeur) (**DEETH, H. C. et al., 2011**).
- Dans les **systèmes indirects**, la chaleur est transférée du média chauffant au produit à travers une cloison (plaque ou paroi tubulaire). Les systèmes indirects peuvent être basés sur : échangeurs de chaleur à plaques, échangeurs de chaleur tubulaires, échangeurs de chaleur à surface raclée, de plus, il est possible de combiner les échangeurs de chaleur dans les systèmes directs selon les exigences du produit et du processus (**DEETH H. C., et al., 2011**).

I-3-c. Laits concentrés :

Ce nom est couramment utilisé pour un lait condensé préparé pour la consommation humaine, après dilution appropriée, sous forme de lait liquide, mais sans autre transformation. Il est généralement préparé à partir de lait de catégorie A, généralement avec une concentration de 3:1 (**ROBINSON R. K., 2005**).

La stabilité du lait peut être assurée par réduction de l'activité de l'eau (a_w) on y parvient par élimination partielle de l'eau ou ajout de sucre.

- **Le lait concentré non sucré :**

le lait concentré non sucré est du lait de vache frais dont une partie considérable de l'eau a été éliminée.

Les normes traditionnelles sont la norme britannique, qui exige un minimum de 9% de matières grasses laitières et un minimum de 31% de solides laitiers totaux.

La norme requise par le Codex Alimentarius est la plus courante dans le commerce international, avec un minimum de 7,5% de matières grasses laitières et 25% de matières solides totales du lait

Le Codex permet d'ajuster le pourcentage de protéines dans les solides non gras, le minimum étant de 34%, en ajoutant du perméat de lait, du lactose ou du rétentat de lait, cependant, les ajouts qui modifient le rapport caséine-protéine de lactosérum ne sont pas autorisés (**NIEUWENHUIJSE, J. A., 2016**).

le lait est tout d'abord standardisé puis pasteurisé. Il est ensuite concentré, c'est-à-dire que l'eau contenue dans le lait est partiellement évaporée, sous vide partiel. Ainsi, 55 à 65 % de l'eau est évaporée, par chauffage à environ 100°C. Il est ensuite homogénéisé. Enfin, concentré est conditionné dans des boîtes métalliques et stérilisé à l'autoclave **(NOBLET B.,2012)**.

- **Le lait concentré sucré :**

Le lait concentré sucré (LCS) est l'un des plus anciens produits laitiers produits industriellement. Il est produit en retirant la majeure partie de l'eau du lait de vache frais et en ajoutant du sucre ; il est conservé par sa teneur en sucre et non par stérilisation.

Le Codex requiert un minimum de 8% de matières grasses laitières, un minimum de 28% de matières sèches totales pour le LCS entier et les protéines de lait dans les matières solides non grasses du lait doivent être supérieures à 34%. Le sucre est généralement considéré comme du saccharose, mais une combinaison de saccharose avec d'autres sucres peut être utilisée, à une concentration qui assure la qualité de conservation du produit **(NIEUWENHUIJSE, H., 2016)**.

À la différence du lait concentré non sucré, il ne subit pas de stérilisation. Le sucre empêche les micro-organismes de se multiplier. Après standardisation et pasteurisation, il est sucré avec un sirop de saccharose à 70 % puis concentré sous vide partiel et refroidi avant conditionnement **(NOBLET B.,2012)**.

I-3-d. Laits fermentés :

À l'origine, la fonction première de la fermentation du lait était de prolonger sa durée de conservation. Cela a apporté de nombreux avantages, tels qu'un goût amélioré et une meilleure digestibilité du lait **(SURONO, I. S. et al., 2011)**.

Les produits laitiers fermentés comprennent une gamme de produits laitiers comme le yogourt, le lait fermenté ou cultivé, le lait acidophilus, le kéfir, les kumis, le lait caillé, le babeurre et le lait acidophilus sucré obtenus par la fermentation du lait par des micro-organismes spécifiques **(DE OLIVEIRA M. N., 2014)**.

Malgré la large gamme de laits fermentés, la technologie est similaire, les différences, dans la plupart des cas, étant limitées au type de culture starter et à la teneur totale en solides du lait **(VARNAM A. H., 2012)**.

Les fermentations du lait impliquent généralement le métabolisme du lactose en acide lactique, une caractéristique commune à tous les laits fermentés par les bactéries lactiques, principalement les lactocoques et les lactobacilles **(SURONO, I. S. et al., 2011)**.

Le lait fermenté est obtenu par fermentation par des micro-organismes appropriés entraînant une réduction du pH avec ou sans coagulation. **(SURONO, I. S. et al., 2011)**.

Le lait fermenté le plus consommé dans les pays occidentaux est le yaourt. De nombreux autres produits sont arrivés sur le marché : laits fermentés probiotiques, laits fermentés de longue conservation (pasteurisés, UHT, lyophilisés) et produits « plaisirs » (à boire, à sucer, pétillants ou glacés) (**BRULE G., 2004**)

I-3-e. Lait en poudre :

Dans l'histoire, l'humanité a fait plusieurs tentatives pour conserver et concentrer le lait afin de prolonger sa durée de conservation. Marco Polo, au XIII^e siècle, a rapporté que les soldats de Kublai Khan transportaient un lait séché lors des excursions. La croyance est qu'une partie de la graisse a été retirée du lait avant le séchage et la déshydratation a été effectuée par chauffage solaire. La première production commerciale utilisable du lait en poudre a été inventée par le chimiste russe M. Dirchoff en 1832. En 1850, Birdseye a concentré le lait avec du sucre ajouté jusqu'à l'obtention d'un solide. En 1855, TS Grimwade a déposé un brevet sur le procédé de séchage du lait, bien que William Newton ait breveté un procédé de séchage sous vide dès 1837. Le véritable début de l'industrie des produits laitiers concentrés et séchés a commencé au XIX^e siècle lorsque Nicolas Appert, un inventeur français, a décrit sa procédure de concentration et de séchage du lait. En 1909, Nicolas Appert a développé du lait séché sous forme de comprimés par séchage à l'air de solides de lait concentrés à une consistance de « pâte ». Au cours de la seconde moitié du XIX^e siècle, des tentatives ont été faites pour produire un lait séché, ce qui impliquait l'ajout d'autres produits secs au lait concentré.

La production du lait en poudre est devenue un segment de plus en plus important de l'industrie laitière, qui devrait continuer de croître en raison de ses caractéristiques telles qu'une meilleure qualité de conservation, moins d'espace de stockage et des coûts de transport plus faibles (**KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016**). Le lait en poudre est obtenu par la suppression de la quasi-totalité de l'eau. Il n'en reste que 5% (pour rappel, le lait liquide a une teneur en eau de 87 %). (**NOBLET B., 2012**). L'élimination de l'eau est nécessaire pour réduire l'activité de l'eau afin de prévenir la croissance des micro-organismes. Le lait sec est utilisé pour produire plusieurs produits, tels que le fromage, la crème glacée, le yaourt et la poudre de lactosérum. Il existe une multitude de produits dérivés du lait en poudre. De plus, les avantages du lait sec par rapport au lait liquide sont une meilleure qualité de conservation, moins d'espace de stockage et de faibles coûts d'expédition (**KENT R. et al., 2015**).

Chapitre II : La poudre de lait :

II-1. Définition :

La poudre de lait (PL) est un produit laitier obtenu par élimination de l'eau contenue dans le lait (L'objectif est de supprimer la presque totalité de l'eau. Il n'en reste que 5 %) **(NOBLET B., 2012)**, créant ainsi des obstacles à la croissance des micro-organismes. La teneur en matière grasse et/ou en protéines du lait ou de la crème peut avoir été ajustée, uniquement pour satisfaire aux critères de composition énoncés à la section 3 de la norme Codex, par l'addition et/ou le retrait de constituants du lait, d'une manière telle que cela ne modifie pas le rapport protéines de lactosérum/caséine du lait. La déshydratation du lait a pour but de stabiliser ce produit pour son stockage et son utilisation ultérieure **(KALYANKAR, S. D. et al., 2016 ; BHANDARI B. et al., 2013)**.

Une poudre laitière se caractérise non seulement par sa composition (protéines, glucides, lipides, minéraux et eau) mais également par ses propriétés microbiologiques et physiques (masse volumique et densité des particules, caractéristiques instantanées, fluidité, hygroscopicité, degré de prise, indice d'azote des protéines de lactosérum, thermostabilité, indice d'insolubilité, indice de dispersibilité, indice de mouillabilité, indice d'immersion, graisse libre, air occlus, air interstitiel et taille des particules) qui constituent les éléments de base des spécifications de qualité. Ces caractéristiques dépendent des paramètres de séchage (type de séchoir à colonne, buses / roues, pression, agglomération et conditions thermodynamiques de l'air, telles que la température, l'humidité relative (HR) et la vitesse), des caractéristiques du concentré avant la pulvérisation (composition / caractéristiques physicochimiques, viscosité, thermosensibilité et disponibilité de l'eau) et conditions de stockage **(BHANDARI B. et al., 2013)**.

II-2. Fabrication de la poudre de lait :

Dans toute considération des aspects microbiologiques du traitement, il est nécessaire de comprendre le processus et les facteurs d'influence. La fabrication de lait séché a un certain nombre d'exigences. Première. le processus doit être économique ; deuxièmement, il devrait avoir un effet minimal sur les nutriments ; troisièmement, le produit doit être exempt d'organismes nuisibles ou délétères ; et enfin, il doit avoir les propriétés de facilité de reconstitution et de saveur acceptable **(ROBINSON R. K., 2005)**.

La production de la PL comprend les étapes de traitement telles que la réception, la clarification, le refroidissement et le stockage, la normalisation, le traitement thermique, l'évaporation, l'homogénéisation, le séchage et l'emballage, comme le montre la figure 1 **(KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016)**.

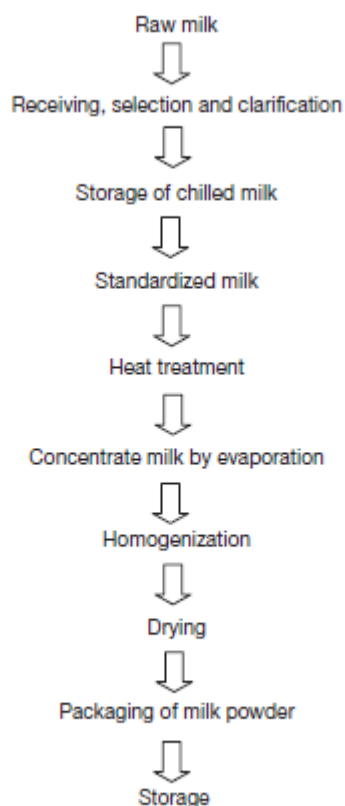


Figure 1 Generalized scheme for production of milk powder.

Figure 1 : Schéma généralisé de la production de la PL (**KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016**).

II-2-a. Matière première - Le lait cru :

Le lait cru n'ayant subi aucun traitement, autre que la réfrigération mécanique immédiate après la traite à la ferme, est conditionné sur place et est livré aux points de vente chaque jour (**NOBLET, B., 2012**).

Le lait cru joue un rôle important dans le choix de la qualité du PL. Le lait doit être de haute qualité chimique, sensorielle et bactériologique (**KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016**).

Le lait peut être collecté directement auprès des producteurs, par le biais de sociétés coopératives ou par les centres de refroidissement. Si l'usine de transformation ou la laiterie se trouve à proximité d'un village / d'une ville, les agriculteurs peuvent individuellement contacter quotidiennement les transformateurs. Généralement, les canettes, les camions-citernes isolés, les camions ou les camions-citernes sont utilisés comme moyen de transport du lait vers une usine de transformation (**CHAVAN R. S., 2016**).

II-2-b. Processus de fabrication de la poudre de lait

i. La réception :

Au point de réception, des tests chimiques et bactériologiques sont effectués avant la sélection du lait cru. Une charge microbienne élevée dans le lait cru affecte négativement la solubilité de PL (KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016).

ii. La clarification :

Après réception, le lait peut être clarifié ou traité en bactofuge pour réduire la contamination par les particules et les bactéries. De nos jours, la technique de microfiltration est utilisée pour la fabrication de poudres à faible chaleur avec de très faibles charges bactériennes (KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016).

iii. Le refroidissement et le stockage :

Le lait est généralement stocké à une température inférieure à 5°C dans des réservoirs / silos isolés, et le refroidissement du lait peut être réalisé en mettant en œuvre des techniques telles que l'immersion des boîtes, le refroidissement en boîte, la congélation du rotor, le refroidisseur de lait en vrac, le refroidisseur à plaques, le refroidisseur tubulaire, le refroidissement de la saumure et le refroidissement de la glace. La température de stockage du lait est généralement maintenue basse, car elle minimisera la croissance bactérienne et évitera ainsi la détérioration du lait, qui est très élevée si le lait est stocké à 30 - 40 ° C, car il s'agit de la température de croissance optimale pour la plupart des micro-organismes présents. dans le lait (CHAVAN R. S., 2016).

iv. La normalisation :

La normalisation implique l'ajustement de la teneur en matières grasses / solides non grasses du lait ou d'un produit laitier, par addition de crème ou de lait écrémé, selon le cas, pour obtenir une teneur en matières grasses / solides non grasses donnée (CHAVAN R. S., 2016).

v. Le traitement thermique :

Les traitements thermiques éliminent tous les organismes pathogènes. Le traitement thermique est donc un traitement d'assainissement. Il détruit également les micro-organismes saprophytes, inactive les lipases et active les groupes -SH de β -lactoglobuline, augmentant ainsi la résistance à l'autoxydation pendant le stockage (NOBLET B., 2012 ; KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016 ; PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., 2013).

vi. La concentration par évaporation :

La concentration par évaporation consiste à exposer un liquide à des conditions de température et de pression qui permettent la vaporisation du solvant. Ce procédé facilite donc la concentration des éléments non volatils du produit traité. Dans l'industrie alimentaire, il est principalement utilisé pour

éliminer l'eau des vraies solutions, émulsions et / ou solutions colloïdales (PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., 2013).

Le lait est concentré avant le séchage ; habituellement, un évaporateur à effets multiples continu est utilisé (KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016).

Pour minimiser l'altération biochimique des composants sensibles à la chaleur, la concentration par évaporation est généralement effectuée sous vide partiel pour réduire la température de traitement de 45°C à 80°C (PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., 2013).

Les températures au premier effet sont de l'ordre de 70 - 80°C, mais elles tombent à une température à effet final de 43 à 46°C.

Un aspect clé de cette technique est le coût énergétique impliqué, grâce à l'utilisation de la chaleur perdue, des économies importantes de coûts énergétiques peuvent être réalisées. (PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., 2013 ; ROBINSON R. K., 2005).

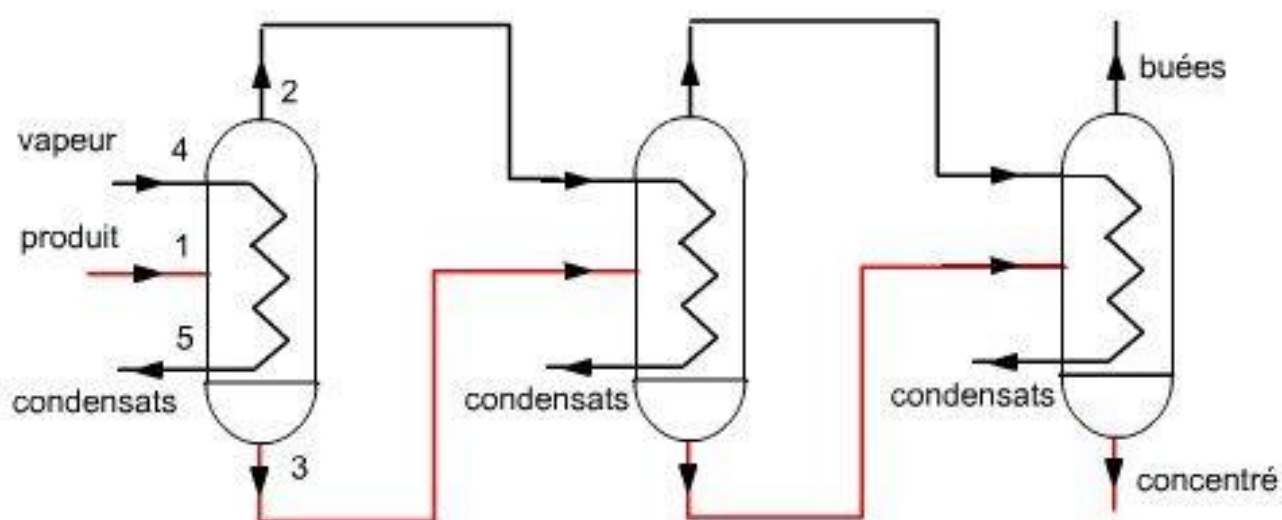


Figure 2 : Evaporateur a effets multiples.

vii. Le séchage :

La déshydratation des produits alimentaires peut assurer une bonne stabilité en abaissant l' a_w et en réduisant les coûts de transport et de stockage.

Dans la production industrielle de la PL, seules les méthodes de séchage par pulvérisation et de séchage au rouleau sont utilisées. Dans le cas du séchage au rouleau ou séchage « roller », le lait concentré entre en contact direct avec la surface chaude du tambour, ce qui entraîne des changements irréversibles tels que la caramélisation du lactose, le brunissement de Maillard et la dénaturation des protéines, ce qui diminue la solubilité de la poudre (KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016).

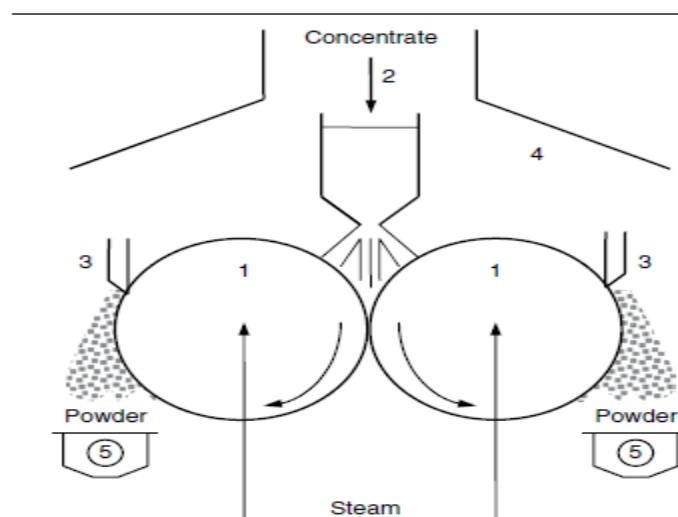


Figure 19.5. Roller dryer: 1, drum; 2, feed pipe; 3, knife; 4, vapour hood; 5, conveyor.

Figure 3 : Schéma représentant le dispositif utilisé dans le séchage « roller ».

La méthode de séchage la plus utilisée pour tous les secteurs alimentaires (par exemple, charcuterie, produits de la pêche, fourrage, céréales et produits végétaux, fruits, lait, œufs, sang) est le Séchage par pulvérisation (Spray-drying) (**PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., 2013**).

Le séchage par pulvérisation (ou atomisation) est une technique de séchage des particules. Il s'agit de pulvériser le produit, sous forme liquide ou en suspension, dans un flux de gaz chaud. Les minuscules gouttelettes sont projetées dans une enceinte, puis sont séchées par envoi d'air chaud à 200°C, provoquant instantanément l'évaporation de l'eau dans la tour de séchage. Cette déshydratation presque totale permet à la PL de se conserver un an à température ambiante (**NOBLET B., 2012 ; PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., 2013**).

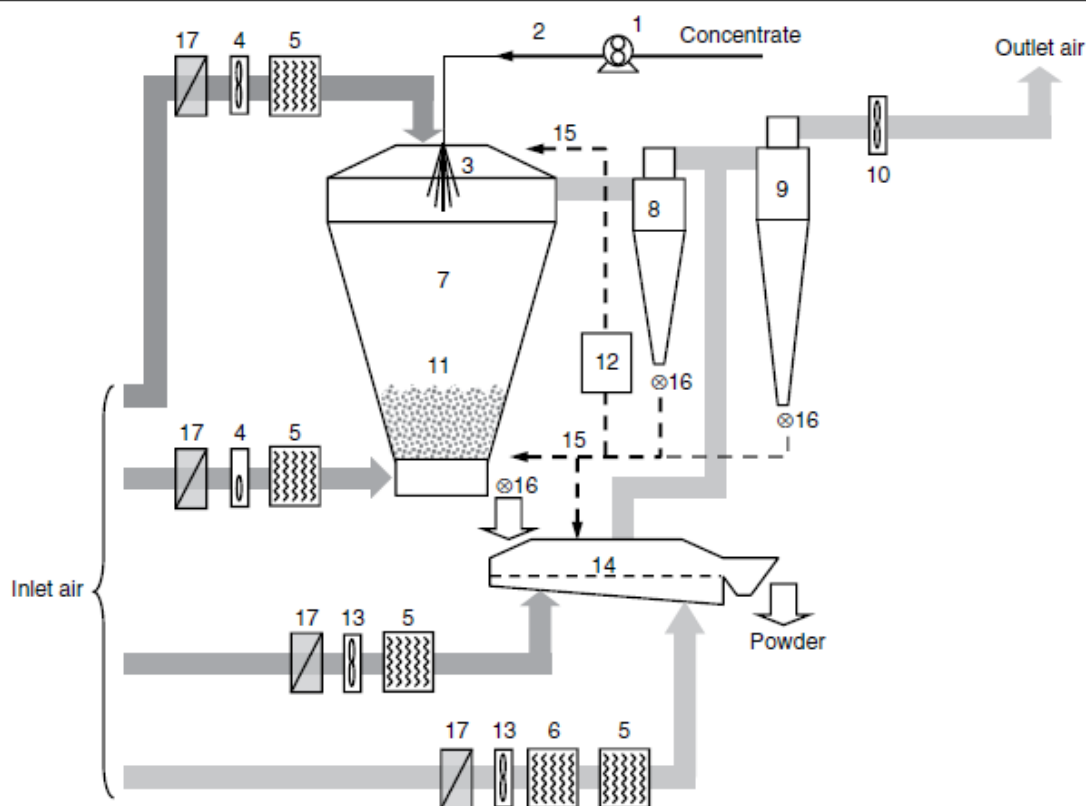


Figure 19.7. Multiple-stage spray-drying installation: 1, feed pump; 2, feed flow; 3, sprayer/air disperser; 4, inlet air fan; 5, air heater; 6, air cooler; 7, drying chamber; 8, primary cyclone; 9, secondary cyclone; 10, outlet air fan; 11, integrated fluid bed; 12, pressure conveyer system; 13, vibro-fluidiser air fan; 14, vibro-fluidiser; 15, reincorporation of fines; 16, rotary valve; 17, air filtration.

Figure 4 : Schéma représentant le dispositif utilisé dans le spray-drying.

le séchage donne lieu à des niveaux d'humidité d'environ 5 - 7%. Ainsi, en termes d'humidité, le danger de prolifération microbienne n'est pas élevé, mais les particules entraînées dans des zones où l'humidité peut être élevée peuvent toujours présenter un risque (**ROBINSON R. K., 2005**).

viii. Emballage et stockage :

Le lait est emballé dans des conditions aseptiques puis stocker.

Le lait écrémé en poudre a une durée de conservation maximale d'environ 3 ans, tandis que le lait entier en poudre a une durée de conservation maximale d'environ 6 mois (**PAL M. et al., 2016**).

II-3 Caractéristiques du lait :

II-3-a. Caractéristiques organoleptiques :

Saveur : Lors de la réhydratation, la PL doit avoir une saveur propre, riche, douce, fraîche et agréable.

Odeur : Pas de mauvaises odeurs, fraîche.

Couleur : La couleur de la PL selon la source de graisse varie du blanc au jaune foncé.

Composition :

Selon le *Codex Alimentarius* CXS 207-1999 :

Tableau 1 : Composition de la poudre de lait selon le *Codex Alimentarius*.

Lait en poudre	Entier	Partiellement écrémé	Écrémé
Teneur en matière grasse laitière	>26% et < 42%	>1,5% et <26%	1,5%
Teneur maximale en eau	5%	5%	5%
Teneur minimale en protéines du lait dans l'extrait sec dégraissé	34%	34%	34%

II-3-b. Caractéristiques physico-chimiques :

- **La taille des particules :**

La taille des particules est une propriété physique importante de la PL et peut être liée à son apparence, sa reconstitution et ses caractéristiques d'écoulement. Elle peut affecter les propriétés de reconstitution de la poudre et sa différence de taille peut conduire à une stratification de la poudre avec les solides supérieurs concentrés en haut, ce qui affectera la reconstitution du produit sec (**KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016**).

La granulométrie des poudres, qui affecte son aspect, sa reconstitution et ses caractéristiques de débit, dépend des conditions d'atomisation et de la viscosité du concentré ; une pression d'atomisation élevée et une faible viscosité concentrée réduisent la taille des particules (**CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002**).

Les particules de poudre séchées par pulvérisation sont généralement sphériques avec des diamètres compris entre 10 et 250µm. Les particules de la PL agglomérées sont plus grosses et de forme irrégulière et contiennent très peu de petites particules séparées. L'agglomération entraîne une augmentation de la quantité d'air incorporée entre les particules de poudre. L'air est remplacé par de l'eau lors de la reconstitution. Par conséquent, les agglomérats sont facilement dispersés et se dissolvent rapidement (**KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016**) La meilleure granulométrie pour une dispersion rapide lors de la reconstitution est de $150 \pm 200\mu\text{m}$ (**CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002**).

- **Densité :**

Les densités sont classées en trois groupes : la densité apparente, la densité des particules et la densité des solides de lait sec ; les trois sont étroitement liés (**CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002**).

La densité apparente est considérée comme le poids par unité de volume généralement déterminée en mesurant le volume de 100 g de poudre dans un cylindre gradué de 250 ml après exposition au compactage par taraudage standardisé. Une densité apparente élevée est souhaitable pour réduire les coûts d'expédition et d'emballage. (KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016 ; CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002).

La densité relativement faible a plusieurs implications pratiques. Il n'est pas souhaitable car il entraîne des coûts d'emballage, de stockage et de transport plus élevés (CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002). D'un autre côté, la faible densité apparente, influence d'autres propriétés de la poudre telles que l'aptitude à l'écoulement et les caractéristiques instantanées. (KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016).

La densité apparente du lait sec non gras a une large gamme, de 0,18 à 1,25 g ml⁻¹. Le lait sec non gras sec pulvérisé est d'environ 0,50–0,60 g ml⁻¹, tandis que le lait sec non gras séché au rouleau est de 0,30–0,50 g ml⁻¹. La densité apparente de la poudre finale est le résultat de la densité des particules (air occlus et densité des solides) et de l'air interstitiel (KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016).

La densité des particules correspond à la masse en grammes de particules ayant un volume total de 1 cm³. La densité des particules est influencée principalement par la quantité d'air emprisonné. Les facteurs de traitement qui contribuent de manière significative à la densité des particules sont la viscosité et l'incorporation de l'air dans le concentré avant le séchage (CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002).

- **Stabilité à la chaleur :**

Les caractéristiques de stabilité à la chaleur des poudres de lait reconstituées sont importantes, en particulier lorsque les poudres sont destinées à être utilisées dans les boissons chaudes, la crème anglaise, les mélanges de sauce blanche, les produits de boulangerie, le lait évaporé recombinaison et le blanchisseur de café (CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002).

Le principal facteur de transformation qui influe sur la stabilité à la chaleur des poudres de lait reconstituées est le niveau de traitement thermique appliqué pendant la phase de préchauffage. De plus, les constituants du lait (protéines, sels, etc.), y compris le pH, sont d'une importance particulière pour la stabilité à la chaleur du lait (CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002).

- **Coulabilité (Fluidité) :**

La fluidité est la capacité d'une poudre à couler librement sans former de grumeaux ou d'aggrégats. Il peut être mesuré comme le temps nécessaire à un volume donné de poudre pour quitter un tambour rotatif. La fluidité dépend de la taille et de la forme des particules, de la densité et de la charge électrique. Les particules plus grosses s'écoulent plus facilement que les particules plus petites d'un diamètre <90µm (KALYANKAR S. D. et al. (a), 2016).

- **Dissolution (Solubilité) :**

L'indice de solubilité est une mesure du résidu non dissous de la PL. L'indice de solubilité est le volume (ml) de sédiments restant au fond d'un tube à centrifuger après dispersion et centrifugation d'une quantité connue de PL dans l'eau (**CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002**).

Lors de la dissolution de la PL dans l'eau, il est dispersé, ce qui implique que les particules de poudre seront complètement mouillées, ce qui peut prendre un certain temps. Par la suite, les composants solubles se dissolvent et les particules colloïdales (globules gras et micelles de caséine) se dispersent dans la solution. Cela prendra plusieurs minutes. Généralement, une petite partie ne se dissout pas. Une fois la solution obtenue, il peut s'écouler environ un jour avant que sa composition, en particulier la distribution du sel, ait plus ou moins atteint l'équilibre (**KALYANKAR, S. D. et al., 2016**).

Lors de la reconstitution, la partie insoluble de la poudre se dépose et forme une couche de sédiments au fond. Puisque la solubilité réduite de la poudre est principalement la conséquence de la dénaturation des protéines du lait, le degré de dénaturation détermine la solubilité de la poudre dans une large mesure (**CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002**).

La solubilité est une condition préalable pour la plupart fonctionnelle autre attributs, car si la poudre ne peut pas être efficacement solubilisé il ne peut pas donner l'attribut souhaité efficacement. Si la poudre n'est pas complètement dissoute il peut causer des problèmes dans le traitement tels que le colmatage des filtres et de la perte de matière due à la sédimentation, et il est également nécessaire pour l'élimination ultérieure de Matériau non dissous (**AZZA M. et al., 2010**).

- **Mouillabilité :**

La mouillabilité est la capacité, nécessaire pour qu'une quantité donnée de poudre pénètre dans la surface calme de l'eau. En d'autres termes, la mouillabilité est la capacité d'une poudre à absorber l'eau à la surface et à se mouiller. En raison du manque de mouillabilité, la PL forme des grumeaux après avoir été en contact avec de l'eau (**CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., 2002**).

Pour une poudre à reconstituer, il doit tout d'abord être pénétré par l'eau dans laquelle il est dissous. La poudre doit être capable de surmonter la tension superficielle entre elle-même et l'eau dans un premier temps. Un procédé typique pour la mesure de la mouillabilité est constitué de placer systématiquement une quantité pesée de poudre sur la surface d'un volume connu d'eau, à une température de consigne, puis en mesurant le temps pris pour l'ensemble de la poudre à disparaître sous la surface de l'eau (**AZZA M. et al., 2010**).

Le degré de mouillabilité est surtout influencé par la teneur en matière grasse libre et de l'état du lactose (**KELLY A.L. et al., 2016**).

III. Microbiologie de la poudre de lait :

La conversion du lait cru en poudre augmente sa durée de conservation et lui permet d'être stocké pendant une période prolongée sans perte substantielle de qualité, même à température ambiante. Comme nous vivons dans un monde microbien, il existe de nombreuses opportunités pour que le lait soit contaminé à n'importe quel stade de la chaîne alimentaire.

Les micro-organismes résistants à la chaleur (sporifères et non sporulants) et les moisissures sont responsables de la détérioration des poudres de lait, si le produit est susceptible d'absorber l'humidité pendant un stockage prolongé. La *aw* des laits séchés est par ailleurs beaucoup trop faible pour soutenir la croissance microbienne, et une diminution générale des numérations microbiennes est enregistré pendant le stockage.

Bien que les produits laitiers en poudre aient été impliqués dans un certain nombre d'épidémies de maladies d'origine alimentaire, ils ont généralement été le résultat d'une contamination post-pasteurisation par des agents pathogènes. Les bactéries pathogènes d'origine alimentaire sont incapables de se développer dans les poudres de lait, mais peuvent survivre pendant de longues périodes (**FERNANDES R., 2009**).

Les micro-organismes qui prédominent dans les PL sont sporogènes, car les spores survivent aux étapes thermiques appliquées pendant la pasteurisation, l'évaporation et le séchage du lait. Les thermophiles et les thermophiles facultatifs sont également des micro-organismes prédominants trouvés dans les poudres de lait, les thermophiles sont utilisés comme mesure d'hygiène et de contrôle des processus (**LINDSAY D. et al., 2020**).

D'autres micro-organismes qui peuvent être présents dans la PL à des niveaux inférieurs comprennent les sporogènes mésophiles et les bactéries anaérobies. Si les conditions du processus ne sont pas optimales, une gamme d'autres micro-organismes peut être présente, notamment des entérobactéries et des levures et moisissures (**LINDSAY D. et al., 2020 ; ROBINSON R. K., 2005**).

III-1. Microorganismes transmissibles par la poudre de lait :

- **Micro-organismes sporogènes :**

Les *Bacillus* sont considérés comme les principaux contaminants bactériens des PL suivis par les espèces appartenant aux genres *Geobacillus* et *Anoxybacillus* (**SADIQ F. A. et al., 2018**). Cependant, les spores de thermophiles dans le lait cru sont très faibles et des études ont montré que le lait cru n'est pas à l'origine de *Geobacillus* et *Anoxybacillus*.

La présence de spores thermophiles est directement liée au processus de fabrication dans les zones où se produisent des températures de 55 à 68°C. Des études menées dans des usines de fabrication de produits laitiers ont montré que *Geobacillus* et *Anoxybacillus* forment des biofilms dans les équipements

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

de processus de fabrication et que de longues durées de traitement de la poudre peuvent entraîner un nombre élevé dans les poudres de lait (**LINDSAY D. et al., 2020**).

Des échantillons de lait en poudre en Nouvelle-Zélande ont été analysés pour détecter la présence de thermophiles, la majorité des isolats se sont révélés être *Bacillus licheniformis*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Anoxybacillus flavithermus* et *Bacillus subtilis* (**RONIMUS A. et al., 2003**).

De même, une enquête complète visant à identifier et comparer les bactéries sporulantes dans les poudres de lait collectées dans 18 pays différents a rapporté la prévalence d'*A. flavithermus* suivie de *B. licheniformis* (**RÜCKERT A. et al., 2004**).

En Chine, *B. licheniformis*, *A. flavithermus* et *G. stearothermophilus* ont également été signalés comme les micro-organismes les plus répandus dans les poudres de lait chinois (**SADIQ F.A. et al., 2016 ; YUAN D.-D. et al., 2012**).

Parmi toutes les bactéries aérobies formant des spores, *B. cereus* est la seule espèce sporogène qui a été documenté comme étant impliqué dans des éclosions de maladies d'origine alimentaire dans les produits laitiers (**SADIQ F. A. et al., 2018**).

L'ingestion de cellules de *B. cereus* en grande quantité peut provoquer deux types de maladies, un syndrome émétique ou une diarrhée (**GUO R. et al., 2020**).

- Le syndrome diarrhéique comprend des symptômes de gastro-entérite ; elle peut être causée par au moins cinq toxines diarrhéiques différentes
- Syndrome émétique, on sait que la toxine émétique peut être produite à l'avance dans les aliments, elle est très stable et elle ne peut pas être inactivée par traitement thermique

Il convient de noter que le processus de séchage du lait concentre également le produit. Cet effet de concentration explique généralement la présence occasionnelle de *Clostridium* dans la PL (pas de croissance car les processus laitiers sont aérobies) (**LINDSAY D. et al., 2020**).

- ***Staphylococcus aureus* :**

Une petite proportion de cellules de *S. aureus* trouvés dans le lait cru pourrait survivre aux conditions de séchage.

Cependant, alors que *S. aureus* était présent dans les approvisionnements de lait cru, les études ont montré qu'il n'y avait aucun lien avec les souches isolées de la PL et ont conclu que la source la plus probable était la contamination en usine, seulement 2% des *S. aureus* ont survécu au séchage par atomisation. Cependant, si *S. aureus* est autorisé à se développer dans le lait avant le traitement thermique, les entérotoxines peuvent être transportées dans la PL produit par la suite et à des niveaux qui peuvent provoquer une intoxication alimentaire (**ROBINSON R. K., 2005**).

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

Les entérotoxines thermostables de *Staphylococcus aureus* sont considérées comme l'une des causes les plus fréquentes de gastro-entérite dans le monde, dans lesquelles les principaux symptômes sont des vomissements et une diarrhée survenant après l'ingestion d'une ou plusieurs entérotoxines staphylococciques thermostables préformées dans des aliments contaminés par *S. aureus* (PAL M. et al., 2016).

Les entérotoxines staphylococciques ne sont normalement pas ou peu inactivées pendant la transformation des aliments, le stockage, la distribution ou pendant la préparation des aliments en cuisine. Par conséquent, si les staphylocoques entérotoxinogènes sont capables de se développer dans les aliments en grand nombre avant qu'ils ne soient tués. Il existe toujours un risque d'intoxication avec la consommation de la PL (PAL M. et al., 2016).

- ***Listeria monocytogenes* :**

L. monocytogenes est stable dans divers aliments à faible activité de l'eau. Des études ont montré la résistance thermique considérablement améliorée de *L. monocytogenes* dans les aliments en poudre à faible teneur en humidité, qui variait en fonction de la matrice alimentaire et de l' a_w (BALLOM K. F. et al., 2019).

La survie de *L. monocytogenes* pendant le spray-drying et le stockage du produit a été étudiée. On a constaté que le séchage par atomisation réduisait légèrement leur nombre et que le nombre viable continuait de diminuer pendant le stockage, mais des *L. monocytogenes* viables pouvaient encore être isolées de certains échantillons après 12 semaines (FERNANDES R., 2009).

- ***Cronobacter* spp. :**

Cronobacter spp. anciennement connus sous le nom d'*Enterobacter*, sont des agents pathogènes opportunistes pour les nouveau-nés vulnérables (PAL M. et al., 2016). Ils ne sont normalement pas considérés comme des agents pathogènes d'origine alimentaire, mais il y a eu un certain nombre d'épidémies sporadiques de méningite néonatale causées par *Cronobacter sakazakii* associées à la consommation de PL, avec des taux de mortalité pouvant atteindre 30 à 80% (FERNANDES R., 2009).

les nourrissons étant infectés à la suite de la consommation de préparations en poudre reconstituées contaminées, un aliment qui est le plus souvent à base de PL (JACOBS C. et al., 2011).

C. sakazakii a déjà été détecté dans des installations de production de PL, qui est le principal ingrédient des préparations en poudre pour nourrissons (JACOBS C. et al., 2011).

- **Salmonella spp. :**

Salmonella est un bacille anaérobie facultatif Gram négatif, petit, non sporulant, bien qu'il soit facilement détruit par la pasteurisation à la chaleur des aliments, il a été démontré que la résistance thermique de *Salmonella* augmente considérablement avec la diminution de a_w (WEI X. et al., 2020).

Des études ont démontré que *Salmonella spp.* ne sont pas complètement éliminés de la PL par séchage par atomisation. Ils ont également signalé que, alors que le stockage à 45°C et 55°C avait un effet létal sur les organismes d'essai, le nombre de *Salmonella* n'était réduit, mais pas éliminé, uniquement à des températures de 25°C et 35°C (ROBINSON R. K., 2005).

III-2. Control de la qualité bactériologique de la poudre du lait :

III- 2. a. Techniques (protocoles) de recherche et dénombrement des micro-organismes :

- ❖ **Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale :**

Norme AFNOR NF V 08-051 + JORA N°32:2004 (Figure 5 Annexe).

Mode opératoire :

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-8} à 10^{-1} , porter aseptiquement 1ml dans une boîte de Petri vide.

Compléter avec 15-20 ml de gélose PCA fondue refroidie à $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

Faire des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « ∞ » pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée et laisser solidifier sur paillasse.

Incubation :

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30°C pendant 24/48/72h :

Dénombrement :

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussé sur les boîtes. En tenant compte des boîtes de Pétri contenant un nombre de colonies compris entre 30 et 300.

$$N = \frac{\sum \text{colonies}}{V_{ml} \times (n_1 + 0.1n_2) \times d_1}$$

- N : nombre d'UFC par gramme ou par ml de produit initial.
- $\sum \text{colonies}$: sommes des colonies des boîtes interprétables.
- V_{ml} : volume de solution déposé (1 ml).
- n_1 : nombre de boîtes considérées à la première dilution retenue.
- n_2 : nombre de boîtes considérées à la seconde dilution retenue.
- d_1 : facteur de la première dilution retenue.

❖ Dénombrement de coliformes totaux et fécaux :

Norme AFNOR NF V 08-050 (Figure 6 Annexe).

Mode opératoire :

- A partir des dilutions décimales 10^{-5} à 10^{-1} voire 1, porter aseptiquement 1ml de chaque dilution dans une boîte de Petri vide.
- Cette opération doit être effectuée en double pour chaque dilution.
- La première série de boîtes sera incubée à 37°C et sera réservée à la recherche des coliformes totaux.
- La deuxième série de boîtes sera incubée à 44°C et sera réservée à la recherche des coliformes fécaux.
- Compléter avec 15ml de gélose VRBL fondue puis refroidie à $45^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- Faire des mouvements circulaires de va-et-vient en forme de « 8 » pour bien mélanger la gélose a l'inoculum, et laisser solidifier les boîtes sur pailleasse.

Incubation :

Les boîtes seront incubées couvercle en bas pendant 24 à 48 h :

- 37°C pour la première série (recherche des coliformes totaux).
- 44°C pour la deuxième série (recherche des coliformes fécaux).

Lecture :

Les coliformes apparaissent en mass sous forme de petites colonies rondes, de couleur rouge-pourpre, de 0,5 à 2 mm de diamètre, pouvant être entourées d'un halo rouge-pourpre pâle (micro-organismes lactose +) ou d'un halo verdâtre (micro-organismes lactose -).

❖ Dénombrement des streptocoques fécaux (Groupe D) :

Mode opératoire :

La recherche des streptocoques fécaux (Groupe D) se fait en milieu liquide par la technique du nombre le plus probable (NPP) (**Figure 7 Annexe**) (**LEBRES E. A. et MOUFFOK F., 1999**).

- Cette technique fait appel à deux tests consécutivement à savoir :
 - Le test de présomption : qui se fait sur milieu de Rothe S/C.
 - Le teste de confirmation : qui se fait sur milieu Eva Lytski.

Test présumptif :

- Préparer dans un portoir une série de tubes contenant le milieu sélectif de Rothe S/C à raison de trois tubes par dilution.
- A partir de dilution décimales 10^{-3} à 10^{-1} voire 1, porter aseptiquement 1 ml dans chacun des trois tubes correspondant à une dilution donnée et bien mélanger l'inoculum.

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

Incubation :

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

Lecture :

- Les tubes présentant un trouble microbien sont considérés comme positifs.

Aucun dénombrement ne se fait à ce stade, les tubes positifs feront l'objet d'un repiquage.

Test de confirmation :

Chaque tube de Rothe positif fera donc l'objectif d'un repiquage l'aide d'une anse bouclée sur tube contenant le milieu Eva Lytski.

Bien mélanger l'inoculum dans le milieu.

Incubation :

- L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

Lecture :

- Les résultats sont considérés comme positifs si les tubes présentent à la fois :
 - Un trouble microbien
 - Une pastille blanchâtre ou violette au fond du tube.

Le nombre de streptocoques fécaux est exprimé par le NPP selon la table de Mac Grady.

❖ Dénombrement de *Staphylococcus aureus* :

Norme AFNOR NF V 08-052 + JORA N°43:2004 (Figure 8 Annexe).

Mode opératoire :

Méthode de Baird Parker :

A partir des dilutions décimales 10^{-5} dans le cas des toxi-infections alimentaires et à partir de 10^{-3} dans le cas des contrôles de routine, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution répartie en surface à raison de 3 fractions sensiblement égales dans trois boîtes contenant le milieu de Baird Parker puis étaler à l'aide d'un même étaler en commençant par la plus forte dilution.

Incubation :

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

Lecture :

Les résultats sont considérés comme positifs si les boîtes contenant des colonies caractéristiques à savoir des colonies noires, brillantes, convexes entourées d'une zone de transparence qui peut être translucide.

Après 24h, peut apparaître dans cette zone transparente, un anneau opalescent immédiatement au contact des colonies.

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

Pour s'assurer qu'il s'agit bien de colonies de *Staphylococcus aureus*, effectuer sur 2 à 3 colonies des tests biochimiques rapides (Tableau 2).

Tableau 2 : Quelques caractères biochimiques de différentes espèces de staphylocoques.

<i>Staphylococcus</i>	<i>aureus</i>	<i>intermedius</i>	<i>saprophyticus</i>	<i>epidermitis</i>
Catalase	+	+	+	+
Coagulase	+	+	-	-
Mannitol en anaérobie	+	-	-	-
Resistance à la Novobiocine (5 µg)	S	S	R	S

S : sensible ; R : résistante

❖ Dénombrement de *Clostridium* sulfito-réducteurs :

Norme AFNOR NF V 08-056 + JORA N°39:2013 (Figure 9 Annexe).

Mode opératoire :

Selon la disponibilité des milieux de culture, deux techniques sont recommandées pour la recherche de *Clostridium* sulfito-réducteurs (CSR).

- Méthode générale sur gélose Viande-Foie (VF) à 37°C.
- Méthode sélective sur gélose Tryptone Sulfite Néomycine (TSN) ou Tryptone Sulfite Cyclosérine (TSC).

➤ **Méthode générale :**

Au moment d'emploi faire fondre un flacon de gélose Viande Foie, le refroidir dans un bain marie à 45°C puis ajouter une ampoule d'alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium.

Mélanger soigneusement et aseptiquement.

Maintenir dans une étuve à 45°C jusqu'au moment de l'utilisation.

Ensemencement :

Les tubes contenant les dilutions 10^{-2} et 10^{-1} seront soumis :

- D'abord à un chauffage à 80°C pendant 8-10 min.
- Puis à un refroidissement immédiat sous l'eau de robinet dans le but d'éliminer les formes végétatives et de garder uniquement les formes sporulées.

A partir de ces dilutions, porter aseptiquement 1 ml de chaque dilution en double dans deux tubes à vis stériles de 16 mm de diamètre, puis ajouter environ 15ml de gélose VF prête à l'emploi, dans chaque tube, et laisser solidifier sur paillasse pendant 30 min.

Incubation :

Les tubes seront incubés à 37°C pendant 16, 24 ou au plus tard 48h.

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

Lecture :

La première lecture doit se faire impérativement à 16h car :

- D'une part les colonies de CSR sont envahissantes auquel cas on se trouverait en face d'un tube complètement noir rendant alors l'interprétation difficile voire impossible et l'analyse à refaire.
- D'autre part, il faut absolument repérer toute colonie noire ayant poussé en masse et un diamètre supérieur à 0.5 mm.

Dans le cas où il n'y a pas de colonies caractéristiques, re-incuber les tubes et effectuer une deuxième lecture au bout de 24h voire 48h.

Interprétation des résultats :

Il est donc impératif de repérer toute colonie noire, puis procéder à son identification biochimique.

Certains auteurs préconisent de casser le tube à l'aide d'une lime métallique à 1 cm au-dessus de la colonie suspecte et de prendre le centre de la dite colonie, car très souvent il y a développement de colonies de Staphylocoques et de *Bacillus* à côté, qu'on prendrait à tort pour des colonies de CSR.

Identification biochimique :

Le centre de la colonie noire suspecte (qui est en réalité blanche mais entourée d'une auréole noire) sera alors déposé soigneusement dans un tube contenant du bouillon TGY ou TY préalablement régénéré à 80°C pendant 15 min.

Placer ensuite ce tube dans un agitateur (Vortex) pour bien mélanger la colonie dans le milieu puis l'incuber en anaérobiose pendant 24 à 48h.

Après la période d'incubation, constater le trouble du milieu, puis réaliser les étapes suivantes :

- Etat frais pour constater s'il y a mobilité ou non...
- Coloration de Gram pour constater les types de colonies et leur coloration
- S'il s'agit de bacilles Gram positifs, faire un isolement sur deux boîtes de gélose au sang de mouton frais :
 - l'une sera incubée à 37°C en aérobiose.
 - l'autre sera incubée à 37°C en anaérobiose.

Après 24 à 48h d'incubation :

- Sélectionner les boîtes ayant poussé strictement en anaérobiose.
- Noter le type d'hémolyse.
- Faire une coloration de Gram puis une réaction catalase.
- S'assurer qu'il s'agit bien d'une souche pure, sinon purifier.

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

- Puis ensemencer une Galerie biochimique Api 20A à incuber toujours à 37°C et toujours en anaérobiose.

➤ Méthode Sélective :

La méthode sélective de recherche de *Clostridium perfringens* est identique à la méthode générale, mise à part :

- le milieu de culture : il s'agit cette fois ci d'un milieu sélectif TSN ou TSC. Les deux antibiotiques inhiberont toute la flore éventuellement présente hors mis les spores de *Clostridium perfringens*, rendant ainsi le milieu sélectif.
- la température d'incubation : à 46°C. la sélection est encore plus stricte.

❖ Dénombrement de *Bacillus* spp. :

Norme ISO 7932:2004 (Figure 10 Annexe).

Mode opératoire :

Transférer, au moyen d'une pipette stérile, 0,1 ml de l'échantillon pour essai dans deux boîtes de Petri contenant le milieu MYP agar, Ou 1 ml à 3 boîtes (en double). Répétez la procédure en utilisant d'autres dilutions décimales si nécessaire.

Incubation :

Incuber pendant 18 à 24h à 30°C

Lecture :

Comptez les colonies présumées de *B. cereus* sur chaque boîte. Les colonies présumées sont grandes, roses (indiquant que la fermentation du mannitol n'a pas eu lieu) et généralement entourées d'une zone de précipitation (indiquant la production de lécithinase) (Tableau 3).

Confirmation :

Stries, poignardez ou repérez les colonies sélectionnées sur la surface de la gélose au sang de mouton d'une manière qui permet une bonne interprétation de la réaction d'hémolyse (Tableau 3).

Incuber à 30°C pendant 24h ± 2 h et interpréter la réaction d'hémolyse.

Tableau 3 : Interprétation biochimique - Résultats des tests.

Test	Résultat confirmant un <i>Bacillus cereus</i> présumé
MYP agar	Formation de colonies roses entourées de précipité
Hémolyse	Réaction positive ^a
^a : La largeur de la zone d'hémolyse peut varier.	

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

❖ Dénombrement de *Listeria monocytogenes* :

Norme AFNOR NF V 08-055 + JORA N°03:2006 (Figure 11 Annexe).

Mode opératoire :

Jour 1 : Pré-enrichissement.

Introduire aseptiquement 25 g de produit à analyser dans 225ml de bouillon Fraser ou UVM I (University of Vermont Broth) additionné de suppléments.

Bien mélanger, puis incuber à 30°C pendant 24h.

Jour 2 : Enrichissement.

Prendre 0.1 ml du bouillon de pré-enrichissement, dans un tube contenant 10 ml de bouillon Fraser ½ ou UVM II additionné lui aussi de suppléments.

Bien mélanger, puis incuber à 30°C pendant 24h.

Jour 3 : Isolement.

L'isolement se fait à partir du bouillon Fraser 1/2 ou UVM II, à raison de 2 gouttes que l'on étale sur une boîte de gélose PALCAM agar (Polymyxin Acriflavine Lithium chloride Ceftazidime Aesculin Mannitol) additionné de son supplément.

Incuber à 37°C pendant 24h.

Jour 4 : Lecture des isollements et identification biochimique.

Observer les colonies noires ayant poussé sur gélose PALCAM

Effectuer les tests suivants

- Catalase (+)
- Coloration de Gram (petits BGP)
- Mobilité (en état frais ou gélose mobilité à 20-25°C)
- Camp-test
- API-*Listeria*.

❖ Dénombrement de *Cronobacter* spp.

Norme FDA : 2002 (CHEN Y. et al., 2002) (Figure 12 Annexe).

Pré-enrichissement :

En utilisant une procédure NPP à trois tubes, peser aseptiquement en triple, 100g, 10g et 1g de l'échantillon et ajouter respectivement à des flacons Erlenmeyer de 2 litres, 250ml et 125ml.

Ajouter neuf parties (dilution 1:10) d'eau distillée stérile préchauffée à 45 ° C et agiter doucement à la main jusqu'à ce que la poudre soit uniformément mise en suspension. Incuber à 36°C pendant 24h.

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

Enrichissement :

Retirer 10 ml de chaque suspension et ajouter à 90 ml de bouillon EE (Enterobacteriaceae enrichment broth) dans des flacons de dilution stériles de 160 ml. Incuber à 36°C pendant 24h.

Isolement :

Mélangez doucement chaque bouteille et procédez aux méthodes de placage suivantes :

- **Méthode d'étalement direct** : Inoculer des boîtes d'agar VRBG (Violet Red Bile Glucose) en double avec chaque culture d'enrichissement en étalant 0,1 ml uniformément sur la surface de chaque boîte avec une tige d'étalement en verre stérile.
- **Méthode de stries directes** : ensemer des boîtes d'agar VRBG en double avec chaque culture d'enrichissement en striant une boucle de 3 mm (10 µl) sur au moins trois quadrants de la boîte pour l'isolement de colonies uniques. (Remarque : les boîtes striées sont incluses comme sauvegarde au cas où la croissance sur les boîtes étalées serait trop concentrée pour contenir des colonies isolées).

Incuber les boîtes de Pétri à 36°C pendant 24h.

Lecture :

Les colonies typiques apparaîtront sous forme de colonies violettes entourées d'un halo violet d'acides biliaires précipités.

Confirmation :

Prélever un total de 5 colonies présumées de *C. sakazakii* dans les boîtes ci-dessus et repiquer chaque isolat en les étalant sur une seule boîte de TSA (Trypticase Soy Agar). Incuber à 25°C pendant 48 à 72h.

Lecture :

Les colonies typiques apparaîtront sous forme de colonies pigmentées de jaune après une incubation de 48 à 72h à 25°C.

Confirmez à l'aide du système d'identification biochimique API 20E conformément aux instructions du fabricant. Pour une identification positive de *C. sakazakii*, le test d'oxydase doit être inclus.

❖ Dénombrement de *Salmonella* spp. :

Norme ISO 6579:2002 / AMD 1:2007 + JORA N° 42:2007 (Figure 13 Annexe).

Mode opératoire :

Jour 1 (Pre-enrichissement) :

Prélever 25g de poudre de lait dans sachet stérilisé stomacker avec 225ml d'eau peptonée tamponnée, et bien homogénéiser.

Incuber à 37°C pendant 18h.

Chapitre III : Microbiologie de la poudre de lait

Jour 2 (Enrichissement) :

L'enrichissement doit s'effectuer sur deux milieux différents :

- Le bouillon de peptone de Soja Rappaport-Vassiliadis (RVS) reparti en raison de 10ml par tube.
- Le bouillon de Tétrathionate-Novobiocine Muller-Kauffmann (MKTTn) reparti a raison de 10ml par tube.

L'enrichissement proprement dit, se fait donc à partir du milieu de pré-enrichissement.de la façon suivante :

- 0.1ml en double pour les tubes de RVS.
- 1ml en double pour les tubes de MKTTn.

Incubation :

- Les tubes de RVS seront incubés à 42°C/24h.
- Les tubes de MKTTn seront incubés à 37°C/24h.

Jour 3 (isolement) :

Chaque tube fera l'objet d'un isolement sur deux milieux gélosés différents :

- Le milieu gélosé Xylose Lysine Deoxycholate agar (XLD).
- Deuxième gélose de choix, *eg.* Gélose Brilliant Green.

Incubation :

- Incuber les boîtes contenant le milieu XLD à 35-37°C pendant 18-24h.
- Incuber les boîtes contenant le milieu Brilliant Green agar à 35°C pendant 24h.

Lecture :

- Sur gélose XLD les colonies apparaissent rouges avec des centres noirs.
- Sur gélose Brilliant Green les colonies apparaissent opaques de couleur rouge-rose-blanc entourées de zones rouge brillant.

Conclusion :

Le lait et les produits laitiers font partie de l'alimentation de tous les pays. Les propriétés nutritionnelles et fonctionnelles du lait en font un aliment intéressant pour l'industrie agroalimentaire.

Le lait en poudre est un produit microbiologiquement stable et sûr. Sa faible teneur en eau en fait un milieu moins adapté à la croissance bactérienne, c'est pourquoi les micro-organismes fréquemment isolés de ce dernier sont des bactéries sporulantes généralement non-pathogènes, responsables de la détérioration de la poudre de lait. Ces derniers sont contrôlés lors de la fabrication de la poudre, ainsi les maladies d'origine alimentaire dues à la poudre de lait sont rares.

Les bactéries thermophiles sporulantes sont les populations les plus importantes présentes dans la fabrication du lait en poudre et les producteurs les évaluent et les contrôlent comme indicateurs de l'hygiène des procédés.

Certains micro-organismes émergents constituent une menace pour l'industrie laitière en raison de leur potentiel d'altération et de résistantes à la chaleur. Les sources possibles et les stratégies d'élimination de ces micro-organismes devraient être déterminées pour contrôler ces nouveaux contaminants microbiens de l'industrie laitière.

Références bibliographiques :

AGGAD H., MAHOUZ F., AMMAR Y.A., KIHAL M., (2009). *Assessment of milk hygienic quality in Western Algeria.* Revue de Medecine Veterinaire. 160. 590-595.).

ANONYME, (2020). <https://www.nationmaster.com/nmx/sector/milk-powder#trade>. Site consulté le 20-08-2020 à 16:28.

AZZA M., M. DEEB, AL HAWARY I. I., I. AMAN ET DOAA M H SHAHINE., (2010). *Bacteriological investigation on milk powder in the Egyptian market with emphasis on its safety.* Journal Global Veterinaria .4(5) Pgs: 424-433.

BALLOM K. F., TSAI H.-C., TAYLOR M., TANG J., & ZHU M.-J. (2019). *Stability of Listeria monocytogenes in non-fat dry milk powder during isothermal treatment and storage.* Food Microbiology, 103376. doi:10.1016/j.fm.2019.103376

BHESH BHANDARI, NIDHI BANSAL, MIN ZHANG AND PIERRE SCHUCK., (2013). *Handbook of food powders Processes and properties.* Woodhead Publishing Limited, (2013), Pgs: 437-438.

BOGDANOVICOVA K., NECIDOVA L., HARUSTIAKOVA D., JANSTOVA B., (2016). *Milk powder risk assessment with staphylococcus aureus toxigenic strains.* Food Control. 73. 10.1016/j.foodcont.2016.07.007.

BRULE G., (2004). *Progrès technologiques au sein des industries alimentaires impact sur la qualité des produits –La filière laitière,* Rapport commun de l'Académie des technologies et de l'Académie d'Agriculture de France : 8 (24 pages).

CARIĆ M., & MILANOVIĆ S., (2002). *MILK POWDERS | Physical and Functional Properties of Milk Powders.* Encyclopedia of Dairy Sciences, 1874–1880. doi:10.1016/b0-12-227235-8/00316-3

CHAVAN R. S., SEHRAWAT R., MISHRAV., BHATT S., (2016). *Milk: Processing of Milk.* Encyclopedia of Food and Health (pp. 729–735). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00464-5>

CHEN Y., LAMPEL K., HAMMACK T., (2002). *Bacteriological Analytical Manual: Methods for Specific Pathogens, Chapter 29: Cronobacter.* Food and Drug Administration, United States.

CODEX ALIMENTARIUS., (1999). *Norme pour les laits en poudre et la crème en poudre CXS 207-1999.*

DE OLIVEIRA, M. N. (2014). *FERMENTED MILKS | Fermented Milks and Yogurt.* Encyclopedia of Food Microbiology, 908–922. doi:10.1016/b978-0-12-384730-0.00121-x

Références bibliographiques

- DEETH H. C., & DATTA, N., (2011).** *Heat Treatment of Milk | Ultra-High Temperature Treatment (UHT): Heating Systems*. Encyclopedia of Dairy Sciences, 699–707. doi:10.1016/b978-0-12-374407-4.00216-8.
- FERNANDES R., (2009).** *Microbiology Handbook: Dairy Products*. Leatherhead Food International Ltd, 2009.
- GAUCHERON F., (2011).** *MILK SALTS | Distribution and Analysis*. Encyclopedia of Dairy Sciences, 908–916.
- GUO R., TIAN Y., ZHANG H., GUO D., PEI X., WEN H., FAZLANI S. A. (2020).** *Biological characteristics and genetic evolutionary analysis of emerging pathogenic Bacillus cereus isolated from Père David's Deer (Elaphurus davidianus)*. Microbial Pathogenesis, 104133. doi:10.1016/j.micpath.2020.104133.
- HOLT C., CARVER J. A., ECROYD H., & THORN D. C., (2013).** *Invited review: Caseins and the casein micelle: Their biological functions, structures, and behavior in foods*¹. Journal of Dairy Science, 96(10), 6127–6146. doi :10.3168/jds.2013-6831.
- ISO 6579:2002 / AMD 1:2007.** *Microbiology of food and animal feeding stuffs — Horizontal method for the detection of Salmonella spp. — Amendment 1: Annex D: Detection of Salmonella spp. in animal faeces and in environmental samples from the primary production stage*.
- ISO 7932 : 2004.** *Microbiology of food and animal feeding stuffs --- Horizontal method for enumeration of presumptive Bacillus cereus --- Colony count technique at 30°C*.
- JACOBS C., BRAUN P., & HAMMER P., (2011).** *Reservoir and routes of transmission of Enterobacter sakazakii (Cronobacter spp.) in a milk powder-producing plant*. Journal of Dairy Science, 94(8), 3801–3810. doi:10.3168/jds.2011-4318
- JEANTET R., CROGUENNEC T., SCHUCK P., BRULÉ G., 2016.** *Handbook of Food Science and Technology: Food process engineering and packaging*. 2. ISTE, Limited, 2016.
- JENSEN R. G., (1995)** *Handbook of Milk Composition*. Academic Press, 1995.
- JOUAN P.-N., POULIOT Y., GAUTHIER S. F., & LAFOREST J.-P. (2006)** *Hormones in bovine milk and milk products: A survey*. International Dairy Journal, 16(11), 1408–1414. doi: 10.1016/j.idairyj.2006.06.007.
- JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE (2004)** Bulletin officiel N° 43 du 16 Joumada El Oula 1425 (4 juillet 2004) Arrêté du 4 Rabie Ethani 1425 correspondant au 24 mai 2004 rendant obligatoire une méthode de recherche des staphylocoques à coagulase positive pour le lait en poudre.

Références bibliographiques

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE., (1993). Bulletin officiel n°69 du 11 Joumada El Oula 1414 (27 octobre 1993), Arrêté interministériel du 29 Safar 1414 (18 août 1993) relatif aux spécifications et à la présentation de certains laits de consommation.

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE., (2004), Bulletin officiel N° 32 du 3 Rabie Ethani 1425 (23 mai 2004) 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.

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE., (2005), Bulletin officiel N° 42 du 8 Joumada El Oula 1426 (15 juin 2005) Arrêté du 13 Dhou El Hidja 1425 correspondant au 23 janvier 2005 rendant obligatoire une méthode de recherche des salmonella dans le lait et les produits laitiers.

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE., (2006), Bulletin officiel N° 03 du 18 Dhou El Hidja 1426 (18 janvier 2006) Arrêté du 21 Cha,bane 1426 correspondant au 25 septembre 2005 rendant obligatoire la méthode de recherche de *Listeria monocytogenes* dans le lait et les produits laitiers.

JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE., (2013), Bulletin officiel N° 36 du 9 Ramadhan 1434 (18 juillet 2013) Arrêté du 23 Rajab 1433 correspondant au 13 juin 2012 rendant obligatoire la méthode de recherche et de dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfito-réductrices (Clostridia)

KALYANKAR S. D., DESHMUKH M. A., CHOPDE S. S., KHEDKAR C. D., LULE V. K., & DEOSARKAR S. S. (a), (2016). *Milk Powder*. Encyclopedia of Food and Health, Pgs: 724–728. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-384947-2.00465-7>

KALYANKAR S. D., KHEDKAR, C. D., PATIL, A. M., & DEOSARKAR, S. S. (b), (2016). *Milk: Sources and Composition*. Encyclopedia of Food and Health, Pgs: 741–747. doi:10.1016/b978-0-12-384947-2.00463-3.

KELLY A.L. & PATRICK F.F., (2016). *Manufacture and properties of Dairy Powders*. School of Food and Nutritional Sciences. PLH Mc Sweeney J.A.O'Mahony. Advanced Dairy Chemistry. New York. London, 1-27

KENT R., FITZGERALD G., HILL C., STANTON C., & ROSS R., (2015). *Novel Approaches to Improve the Intrinsic Microbiological Safety of Powdered Infant Milk Formula*. *Nutrients*, 7(2), 1217–1244. doi:10.3390/nu7021217

LEBRES E. A. et MOUFFOK F., (1999). *Guide pratique d'analyses microbiologiques des denrées alimentaires*. Service de Bactériologie Alimentaire. Institut Pasteur d'Algérie. P: 1- 25.

LINDMARK MÅNSSON H., (2008). *Fatty acids in bovine milk fat*. *Food & Nutrition Research*, 52(1), 1821. doi:10.3402/fnr.v52i0.1821.

LINDSAY D., COLLIN R., & VAN HEKEZEN R. (2020). *Microorganisms in Milk Powders*. Reference Module in Food Science. doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.22974-0

Références bibliographiques

- MARKUS C. R., OLIVIER B., PANHUYSEN G. E., VAN DER GUGTEN J., ALLES M. S., TUITEN A., DE HAAN E. E., (2000).** *The bovine protein α -lactalbumin increases the plasma ratio of tryptophan to the other large neutral amino acids, and in vulnerable subjects raises brain serotonin activity, reduces cortisol concentration, and improves mood under stress.* The American Journal of Clinical Nutrition, 71(6), 1536–1544. doi:10.1093/ajcn/71.6.1536.
- MAZOYER M., (2002).** *Larousse Agricole. Dictionnaire encyclopédie. 4ème édition Larousse. Paris, 767*
- NIEUWENHUIJSE H., (2016).** *Concentrated Dairy Products: Sweetened Condensed Milk. Reference Module in Food Science.* doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.00697-1
- NIEUWENHUIJSE J. A. (2016).** *Concentrated Dairy Products: Evaporated Milk. Reference Module in Food Science.* doi:10.1016/b978-0-08-100596-5.00695-8
- NOBLET B. (2012).** *Le lait : produits, composition et consommation en France.* Cahiers de Nutrition et de Diététique, 47(5), 242–249. doi: 10.1016/j.cnd.2012.04.001
- Pal M., Alemu J., Mulu S., Karanfil O., Parmar B. & Nayak J.B., (2016).** *Microbial and Hygienic aspects of Dry Milk Powder.* Beverage and Food World. 43. 28-31.
- PAL S., & ELLIS V., (2009).** *The Chronic Effects of Whey Proteins on Blood Pressure, Vascular Function, and Inflammatory Markers in Overweight Individuals.* Obesity, 18(7), 1354–1359. doi :10.1038/oby.2009.397.
- PARK Y. W., HAENLEIN G. F. W., (2013).** *Milk and Dairy Products in Human Nutrition: Production, Composition and Health.* Wiley Blackwell, 2013.
- ROBINSON R. K., (2005)** *Dairy Microbiology Handbook: The Microbiology of Milk and Milk Products 3rd edition.* John Wiley & Sons, 2005.
- RONIMUS R. S., PARKER L. E., TURNER N., POUDEL S., RÜCKERT A., MORGAN H. W. (2003).** *A RAPD-based comparison of thermophilic bacilli from milk powders.* International Journal of Food Microbiology, 85(1-2), 45–61. doi:10.1016/s0168-1605(02)00480-4
- RÜCKERT A., RONIMUS R. S., & MORGAN H. W. (2004).** *A RAPD-based survey of thermophilic bacilli in milk powders from different countries.* International Journal of Food Microbiology, 96(3), 263–272. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.020
- SADIQ F. A., FLINT S., & HE G., (2018).** *Microbiota of milk powders and the heat resistance and spoilage potential of aerobic spore-forming bacteria.* International Dairy Journal, 85, 159–168. doi:10.1016/j.idairyj.2018.06.003
- SADIQ F. A., LI Y., LIU T., FLINT S., ZHANG G., & HE G. (2016).** *A RAPD based study revealing a previously unreported wide range of mesophilic and thermophilic spore formers associated with milk*

Références bibliographiques

- powders in China. International Journal of Food Microbiology*, 217, 200–208. doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2015.10.030
- SURONO, I. S., & HOSONO, A. (2011).** *FERMENTED MILKS | Types and Standards of Identity.* Encyclopedia of Dairy Sciences, 470–476. doi:10.1016/b978-0-12-374407-4.00180-1
- VAN BELZEN N., (2017).** *Achieving sustainable production of milk Volume 1: Milk composition, genetics and breeding.* Burleigh Dodds Science Publishing. 2017.
- VARNAM A. H., (2012).** *Milk and Milk Products: Technology, chemistry and microbiology.* Springer Science & Business Media, 2012
- VILAIN A.-C., (2010).** *Qu'est-ce que le lait ? Revue Française d'Allergologie*, 50(3), 124–127. doi: 10.1016/j.reval.2010.01.032.
- WEI X., LAU S. K., CHAVES B. D., DANA O M.-G. C., AGARWAL S., & SUBBIAH J. (2020).** *Effect of water activity on the thermal inactivation kinetics of Salmonella in milk powders.* Journal of Dairy Science. doi:10.3168/jds.2020-18298.
- WILEY A. S., (2011).** *Cow milk consumption, insulin-like growth factor-I, and human biology: A life history approach.* American Journal of Human Biology, 24(2), 130–138. doi: 10.1002/ajhb.22201.
- YUAN D.-D., LIU G.-C., REN D.-Y., ZHANG D., ZHAO L., KAN C.-P., ZHANG, L.-B. (2012).** *A survey on occurrence of thermophilic bacilli in commercial milk powders in China.* Food Control, 25(2), 752–757. doi:10.1016/j.foodcont.2011.12.020.

Annexe :

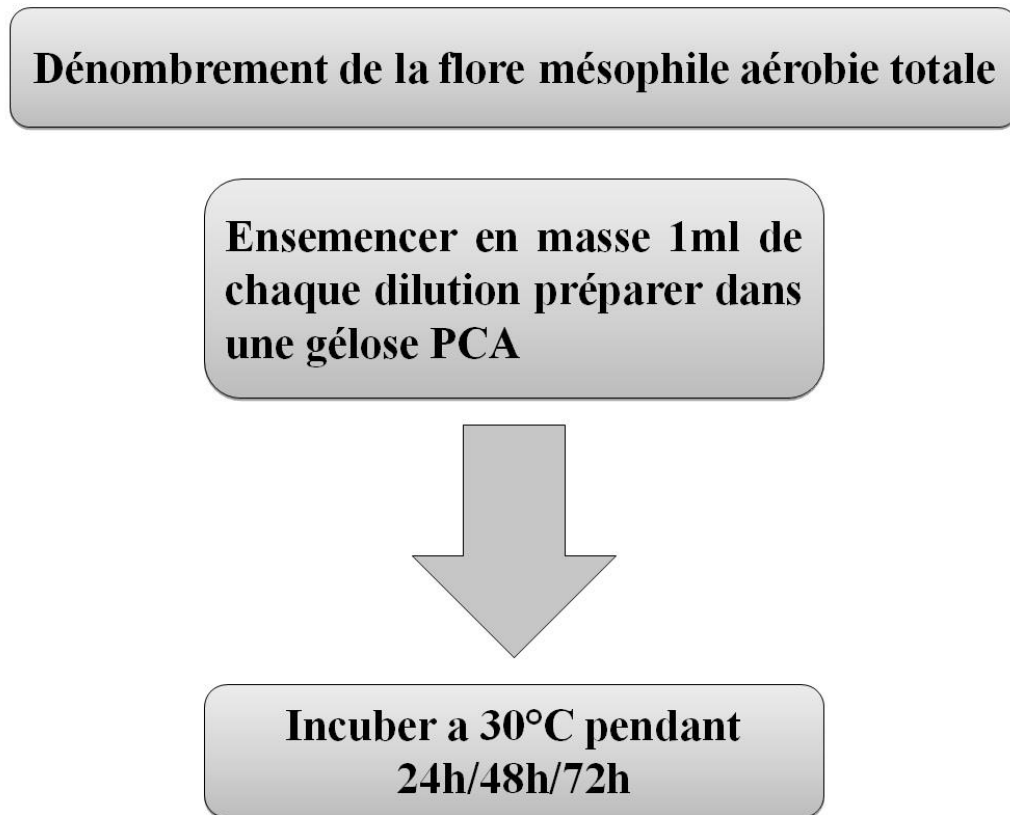


Figure 5 : Dénombrement de la flore mésophile aérobie totale (LEBRES E. A. et MOUFFOK F., 1999 ; JORA N°32, 2004).

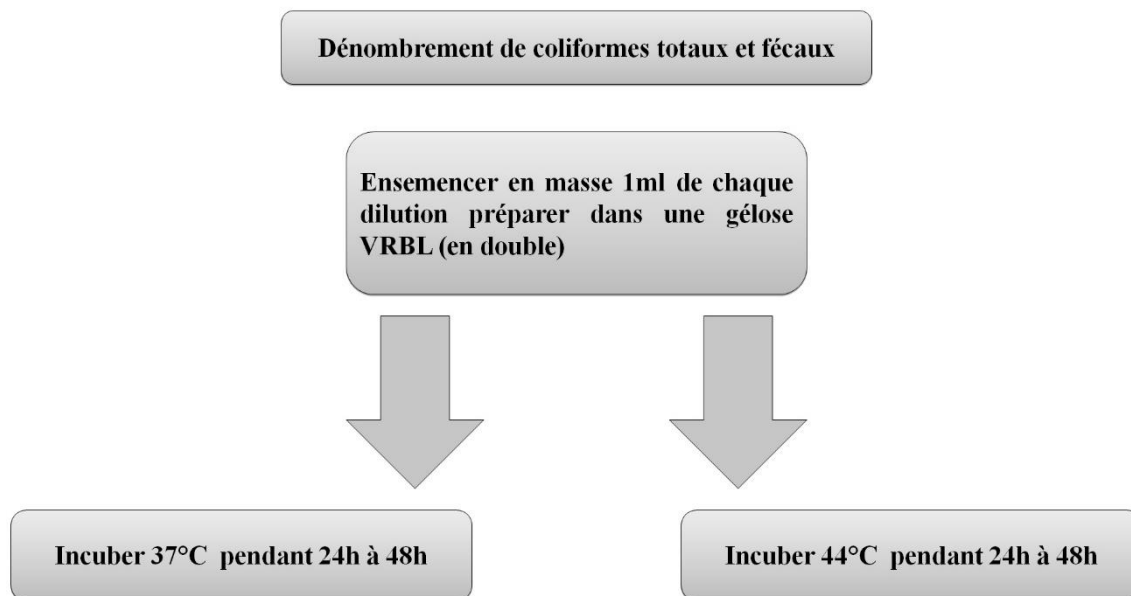


Figure 6 : Dénombrement des coliformes totaux et fécaux (LEBRES E. A. et MOUFFOK F., 1999).

Dénombrement de streptocoques fécaux (groupe D).

Test présomptif

Ensemencer 1ml de chaque dilution dans des tubes contenant le milieu Rothe S/C (en triple)

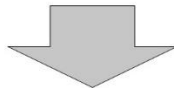


Incuber à 37°C pendant 24h à 48h



Test confirmatif

Chaque tube de Rothe positif fera donc l'objectif d'un repiquage l'aide d'une anse bouclée sur tube contenant le milieu Eva Lytski.



Incuber à 37°C pendant 24h

Figure7 : Dénombrement des streptocoques fécaux (Groupe D) (LEBRES E. A. et MOUFFOK F., 1999).

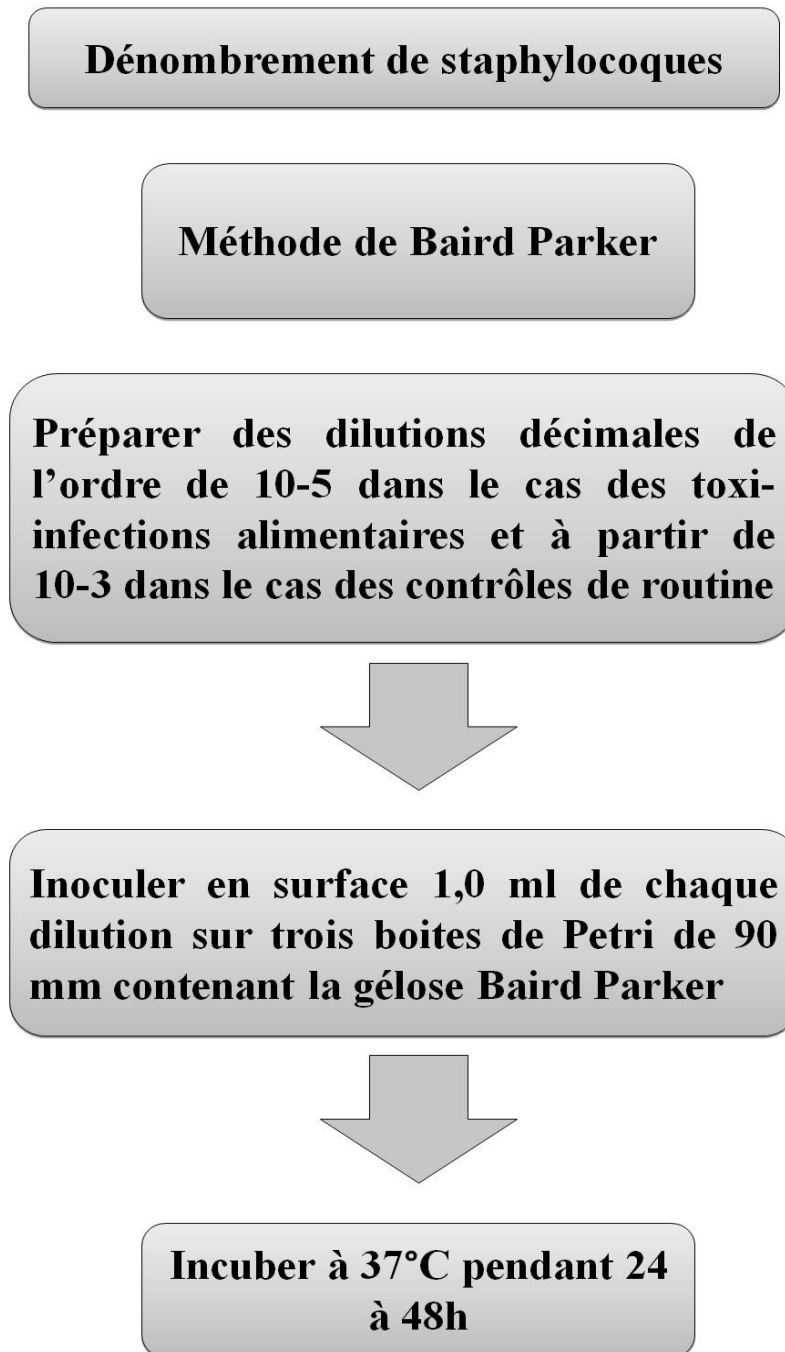


Figure 8 : Méthode de Baird Parker pour dénombrement des staphylocoques (LEBRES E. A. et MOUFFOK F., 1999 ; JORA N°43, 2004).

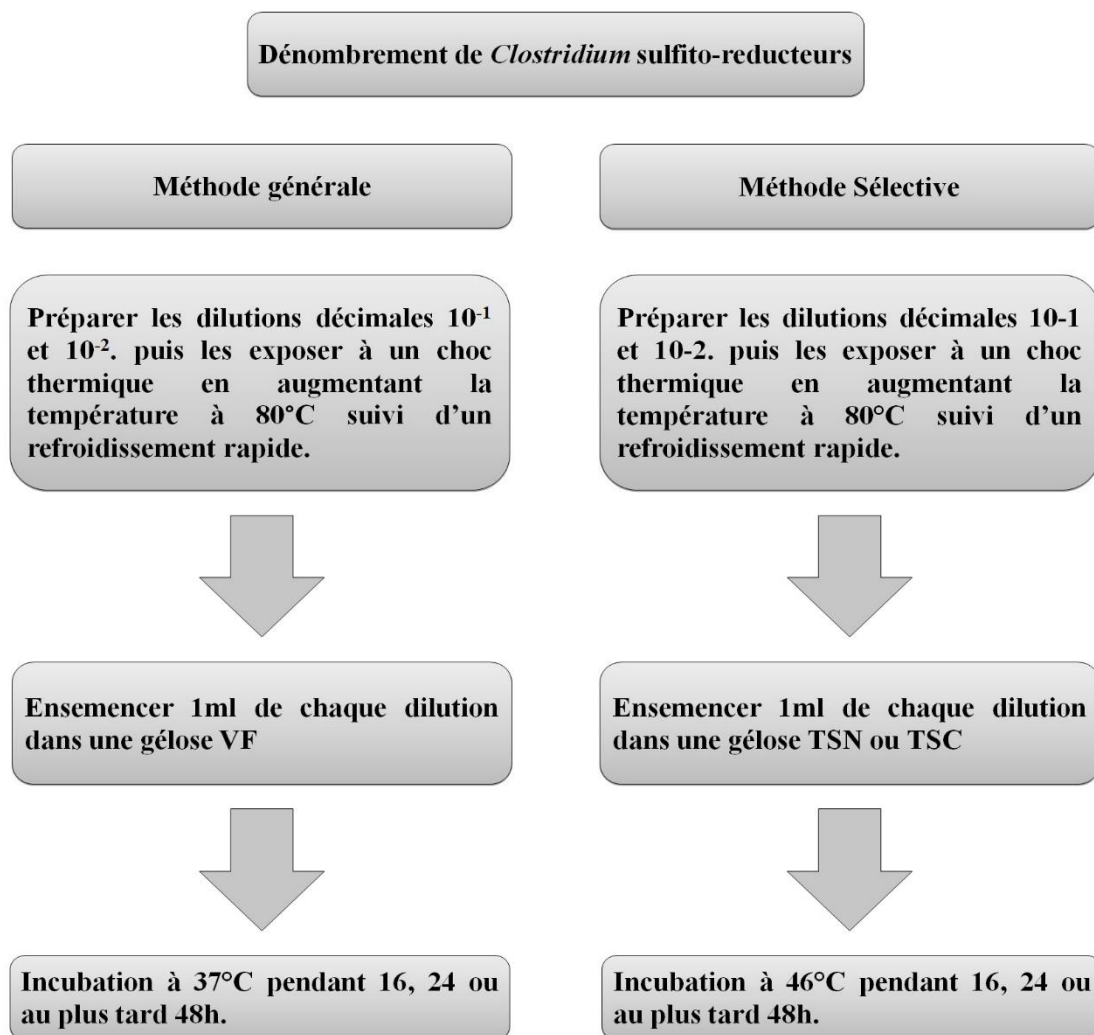


Figure 9 : Dénombrement de *Clostridium* sulfito-réducteurs (LEBRES E. A. et MOUFFOK F., 1999 ; JORA N°39, 2013).

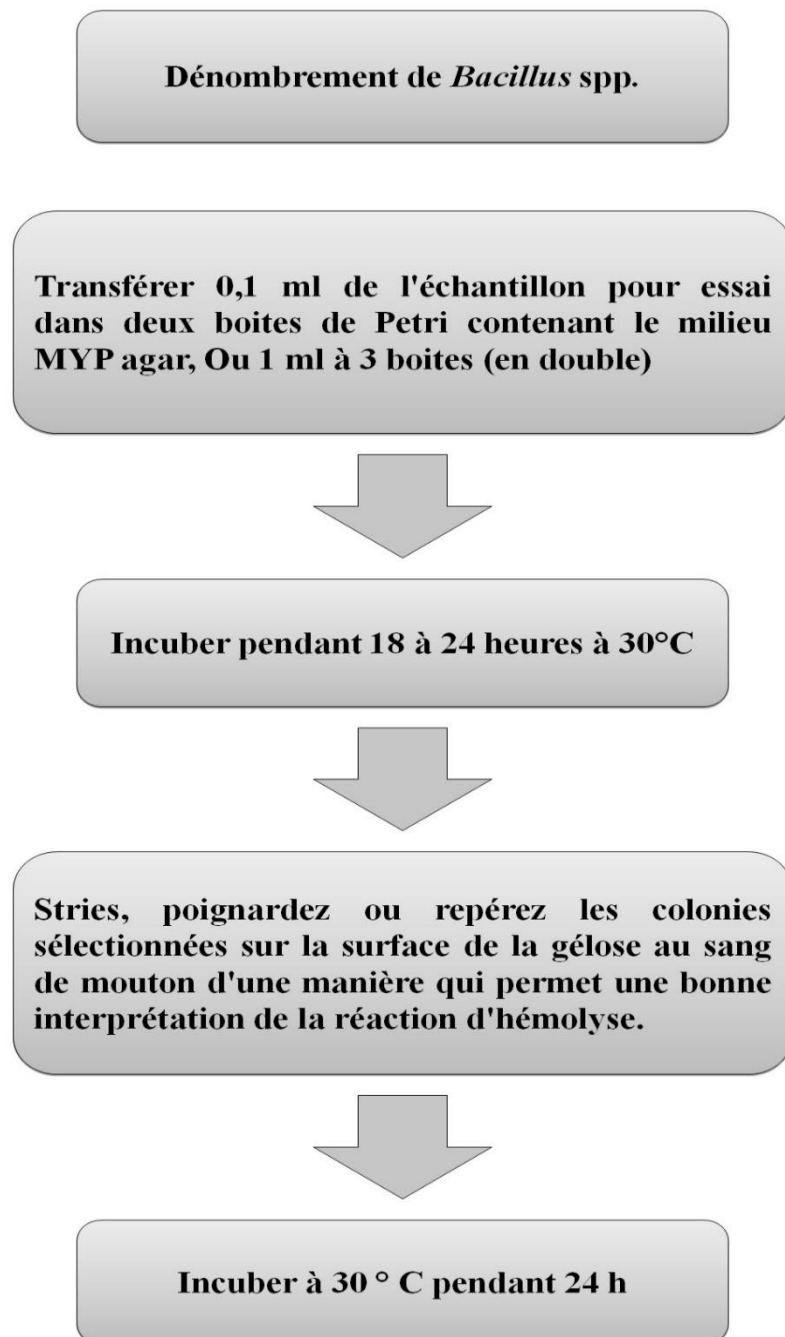


Figure 10 : Dénombrement de *Bacillus* spp. (ISO 7932 : 2004).

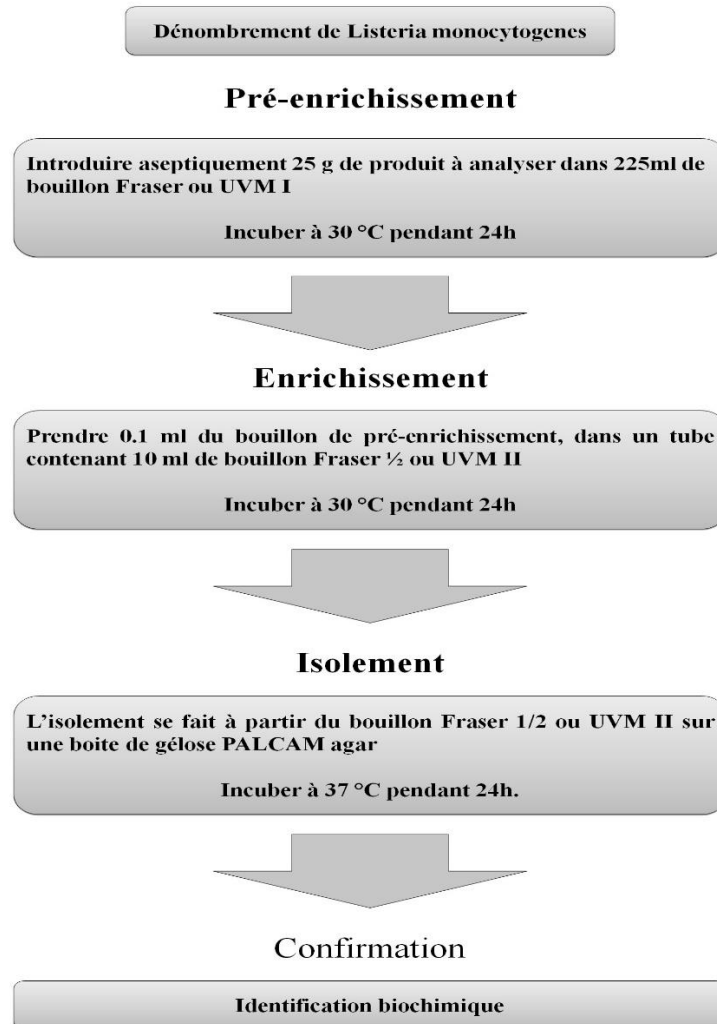


Figure 11 : Dénombrement de *Listeria monocytogenes* (LEBRES E. A. et MOUFFOK F., 1999 ; JORA N°03, 2006).

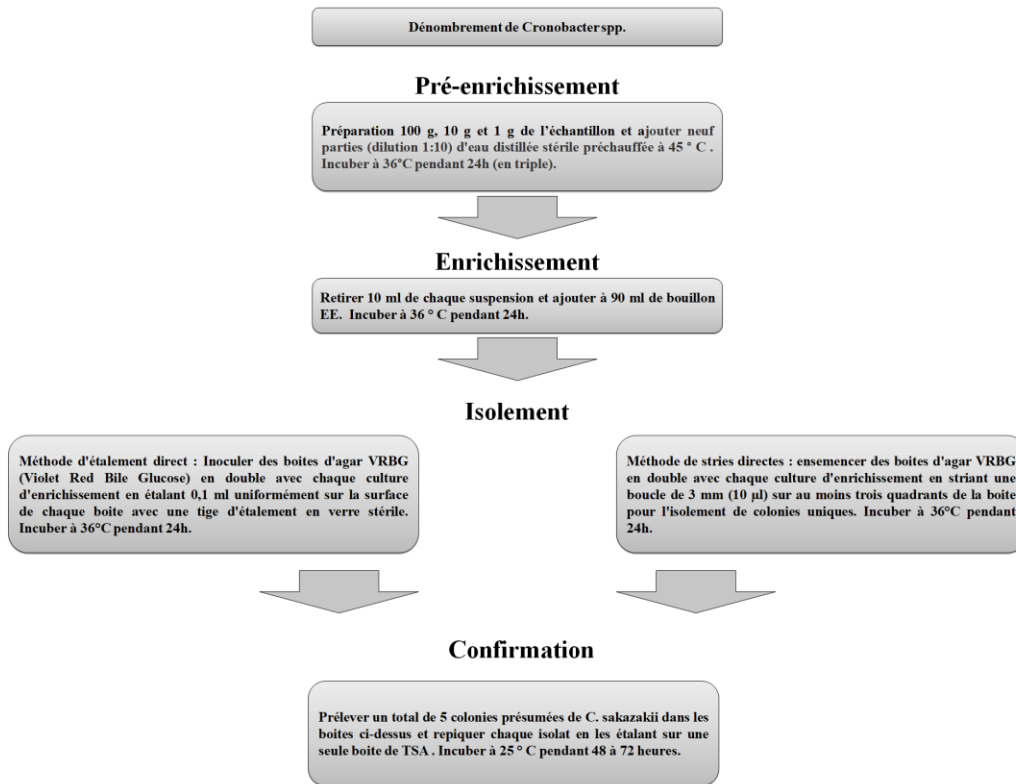


Figure 12 : Dénombrement de *Cronobacter* spp. (CHEN Y. et *al.*, 2002).

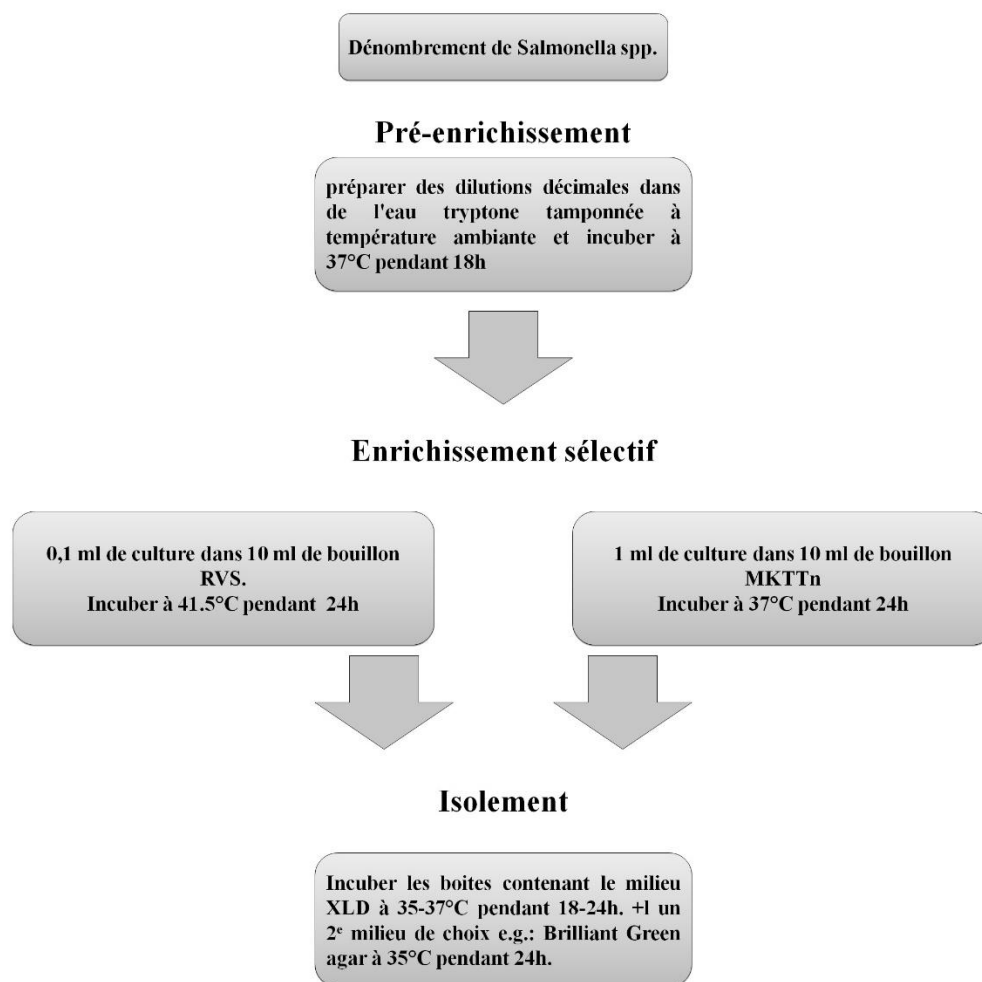


Figure 13 : Dénombrement de *Salmonella* spp. (ISO 6579:2002 / AMD 1:2007 ; JORA N°42, 2005).