

Université A. Mira de Bejaïa — Faculté des Sciences Exactes

Département de Chimie



Polycopié de Cours

Techniques d'Analyses des Produits Alimentaires

AIT AHMED Nadia epse TAHIR

PREFACE

Le présent polycopié est le fruit de l'enseignement et de la préparation du cours : «Techniques d'Analyses des Produits Alimentaires » destiné aux étudiants Master 2 Chimie Analytique. Il peut également servir aux étudiants de licence et master en biologie. Ainsi qu'à tous ceux qui dans d'autres disciplines, s'intéressent à cette science.

Ce polycopié traite des principales méthodes d'analyses physico-chimiques des produits issus des industries agroalimentaires.

Le contenu de ce polycopié se subdivise en trois chapitres qui sont présentés d'une manière simple et facile à concevoir et enrichis par des travaux pratiques pour faciliter la compréhension de ces techniques d'analyses.

Le polycopié est composé de trois chapitres :

Chapitre I : Les huiles alimentaires

Chapitre II : Le lait

Chapitre III : Les sucres alimentaires

SOMMAIRE

Chapitre I : Les huiles alimentaires.....	1
I.1)- Introduction	1
I.2)- Définition	1
I.3)- Origine des huiles alimentaires	1
I.4)-. Méthodes d'extraction :.....	2
I.4.1)- Méthode mécanique	2
I.4.2)- Méthode industrielle	2
I.5)- Composition des corps gras	3
I.5.1)- Constituants majeurs	3
I.5. 1.1)- Triglycérides	3
I.5.2)- Constituants mineurs	4
I.5.2.1)- Phospholipides.....	5
I.5.2.2)- Cérides.....	5
I.5.2.3)- Substances insaponifiables	5
I.6)- Propriétés chimiques	5
I.6.1)- Saponification.....	6
I.6.2)- Hydrolyse ou acidification.....	6
I.6.3)- Oxydation.....	6
I.7)- Propriétés physiques.....	7
I.7.1)- Point de fusion.....	7
I.7.2)- Viscosité.....	7
I.7.3)- Solubilité.....	7
I.7.4)- Densité.....	7
I.8)- Analyses des huiles.....	7
I.8.1)- Analyses chimiques.....	7
I.8.1.1)- L'acidité (A%) ou l'indice d'acide (IA).....	7
I.8.1.2)- Indice de peroxyde (IP).....	8
I.8.1.3)- Indice d'iode.....	8
I.8.1.4)- Indice de saponification.....	8
I.8.2)- Analyses physiques.....	8
I.8.2.1)- Densité.....	8
I.8.2.2)- Viscosité.....	9
I.8.2.3)- L'indice de réfraction.....	9
I.8.2.4)- Analyse spectrale par le spectrophotomètre UV-Visible.....	9
I.8.2.5)- Détermination de la couleur par UV-visible.....	9
Chapitre II : Le Lait.....	11
II.1)- Définitions	11
II.2)- Composition du lait.....	12
II.2.1)- Eau.....	12
II.2.2)- Glucides.....	12
II.2.3)- Lipides.....	12
II.2.4)- Protéines.....	12
II.2.4.1)- Caséines.....	13

II.2.4.2)- Protéines de sérum	13
II.2.5)- Minéraux.....	13
II.2.6)- Vitamines.....	13
II.2.7)- Enzymes.....	13
II.2.8)- Gaz dissous.....	13
II.3)- Importance Nutritionnelle	14
II.4)- Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait	14
II.4.1)- Qualité organoleptique du lait.....	14
II.4.1.1)- Couleur.....	14
II.4.1.2)- Odeur.....	14
II.4.1.3)- Saveur.....	15
II.4.1.4)- Viscosité.....	15
II.4.2)- Caractéristiques physico-chimiques.....	15
II.4.2.1)- Densité.....	15
II.4.2.2)- Acidité de titration ou acidité Dornic.....	15
II.4.2.3)- Point de congélation.....	15
II.4.2.4)- Point d'ébullition.....	16
II.4.2.5)- pH.....	16
II.4.2.6)- Extrait sec.....	16
II.4.3)- Caractéristiques microbiologiques du lait.....	16
II.4.3.1)- Microflore lactique.....	17
II.4.3.2)- Microflore de contamination.....	16
II.5)-Facteurs influençant la composition du lait.....	17
II.5.1)- Facteurs génétiques.....	17
II.5.2)- Stade de lactation.....	17
II.5.3)- Age ou numéro de lactation	18
II.5.4)- Facteurs alimentaires.....	18
II.5.5)- Etat sanitaire.....	18
II.5.6)- Facteurs climatiques et saisonniers.....	18
II.6)-Traitement et méthodes de conservation du lait	18
II.6.1)- Réception du lait	19
II.6.2)- Clarification	19
II.6.3)- Thermisation	19
II.6.4)- Ecrémage.....	19
II.6.5)- Standardisation.....	19
II.6.6)- Homogénéisation.....	20
II.6.7)- Pasteurisation.....	20
II.6.8)- Stérilisation.....	21
II.7)-Analyses physico-chimiques effectuées sur le lait	21
II.7.1)- Détermination de la densité.....	21
II.7.2)- Détermination de l'acidité titrable.....	21
II.7.3)- Détermination de la matière grasse.....	22
II.7.4)- Mesure de la teneur en matière sèche totale.....	22
II.7.5)- Mesure de la teneur en matière sèche dégraissée.....	22
II.7.6)- Dosage des Chlorures	22
II.7.7)- Dosage de lactose par la méthode de « G. Bertrand ».....	22
II.7.8)- Dosage des protéines par la méthode de Sorensen.....	23

Chapitre III : Les sucres Alimentaires	24
III.1)- Rappel en biochimie	24
III.1.1)- Oses : monosaccharides.....	24
III.1.2)- Osides et saccharides.....	24
III.2)- Généralités	25
III.2.1)- Définition du sucre.....	25
III.2.2)- Synthèse et origine.....	25
III.3)- Notions générales sur la chimie sucrière	25
III.3.1)- Brix.....	25
III.3.2)- Pureté.....	26
III.3.3)- Solubilité.....	26
III.3.4)- Non sucres.....	26
III.4)- Etapes de fabrication du sucre	26
III.4.1)- Affinage et refonte.....	26
III.4.2)- Carbonatation.....	27
III.4.2.1)- Préparation du lait de chaux.....	27
III.4.2.2)- Procès de la carbonatation.....	27
III.4.3)- Filtration.....	27
III.4.4)- Décoloration.....	28
III.4.5)- Concentration.....	28
III.4.6)- Cristallisation.....	28
III.4.7)- Séchage et maturation.....	29
III.4.8)- Stockage et conditionnement.....	29
III.5)- Variétés du sucre	29
III.5.1)- Sucre blanc.....	29
III.5.2)- Sucre en poudre.....	29
III.5.3)- Sucre glace.....	29
III.5.4)- Sucre en morceaux.....	30
III.5.5)- Sucre en cubes.....	30
III.5.4)- Mélasse.....	30
III.5.5)- Sucre pour confitures.....	30
III.5.6)- Casonade.....	30
III.5.8)- Sucre candi.....	30
III.6)- Propriétés physicochimiques du sucre de table: le saccharose	30
III.6.1)- Aspect.....	30
III.6.2)- Solubilité.....	30
III.6.3)- Inversion ou hydrolyse du saccharose.....	31
III.6.4)- Décomposition acide.....	31
III.6.5)- Pouvoir rotatoire.....	31
III.6.6)- Décomposition thermique.....	31
III.6.7)- Température d'ébullition et point de congélation.....	32
III.6.8)- Activité de l'eau.....	32
III.7)- Analyse physico-chimique du sucre	32
III.7.1)- Mesure de l'humidité.....	32
III.7.2)- Détermination des cendres.....	33
III.7.3)- Mesure de l'alcalinité.....	34
III.7.4)- Détermination de la coloration.....	35
III.7.5)- Dosage des sucres réducteurs.....	35
III.7.6)- Dosage des sulfites dans le sucre blanc.....	36

Références bibliographiques
Annexes

Chapitre I : Les huiles alimentaires

I.1)-Introduction

Les huiles alimentaires forment une classe de constituants biologiques nutritionnels importants pour leur part calorifique et leur apport indispensable d'acides gras essentiels et de vitamines liposolubles qu'ils présentent dans la ration alimentaire.

$$1\text{g de corps gras} = 9\text{Kcal} = 37,6\text{Kj}$$

I.2)- Définition

-Une huile alimentaire est une huile végétale comestible, par définition liquide à la température de 15°C.

-Les huiles alimentaires sont constituées à 100 % de lipides (environ 99 % de triglycérides, le reste étant composé principalement de lécithines et de vitamine E, elles ne contiennent pas d'eau et sont très caloriques. Les huiles sont un mélange de triglycérides différents dont la composition moyenne est connue. Leur teneur élevée en acides gras mono-insaturés ou polyinsaturés est bénéfique pour la santé. Chaque huile a une composition en acides gras différente, ce qui justifie les recommandations de varier les sources d'huiles consommées afin de varier les apports.

-Les huiles alimentaires sont très utilisées en cuisine pour assaisonner les salades, comme huiles de cuisson ou pour les fritures.

-Pour chaque huile, il existe une température critique (ou point de fumage) au-dessus de laquelle il ne faut pas chauffer l'huile. Quand l'huile atteint la température critique, ses composants se dégradent, forment des composés toxiques et l'huile fume. C'est pour cela que certaines huiles comme l'huile de noix dont la température critique est faible sont déconseillées pour la cuisson.

I.3)- Origine des huiles alimentaires

Ces huiles sont extraites de grains dits *oléagineux* (colza, tournesol, maïs, arachide, soja, lin, pépin de raisin...) ou de fruits (olive, palmier à huile, noix, noix de cocotier, avocat.....°). Elles sont constituées essentiellement par des acides gras et chaque huile végétale peut en comporter plus de dix différents.

Les proportions en acides gras varient d'une espèce à une autre, ou même d'un cultivar à un autre au sein d'une même espèce. Les acides gras peuvent être classés soit en fonction de leur longueur soit en fonction de leur degré d'insaturation ; saturés, mono insaturés ou polyinsaturés.

I.4)- Méthodes d'extraction

Il existe deux grands processus d'extraction :

-**La méthode mécanique** : permet d'obtenir l'appellation huile vierge, cette huile est extraite directement des fruits ou grains par des procédés mécaniques à froid sans avoir subi aucun traitement chimique, ni raffinage, elle est souvent appréciée pour sa couleur et son goût plus marqué (huile d'olive).

Le processus d'extraction de l'huile d'olive inclut : le triage, le broyage, le malaxage et la séparation des phases liquides (Figure.1).

-**La méthode industrielle** : donne les huiles raffinées, obtenues par pressage puis extraction par solvant à haute température suivie du raffinage.

La figure 2 montre l'extraction de l'huile et de tourteau à partir des grains de colza

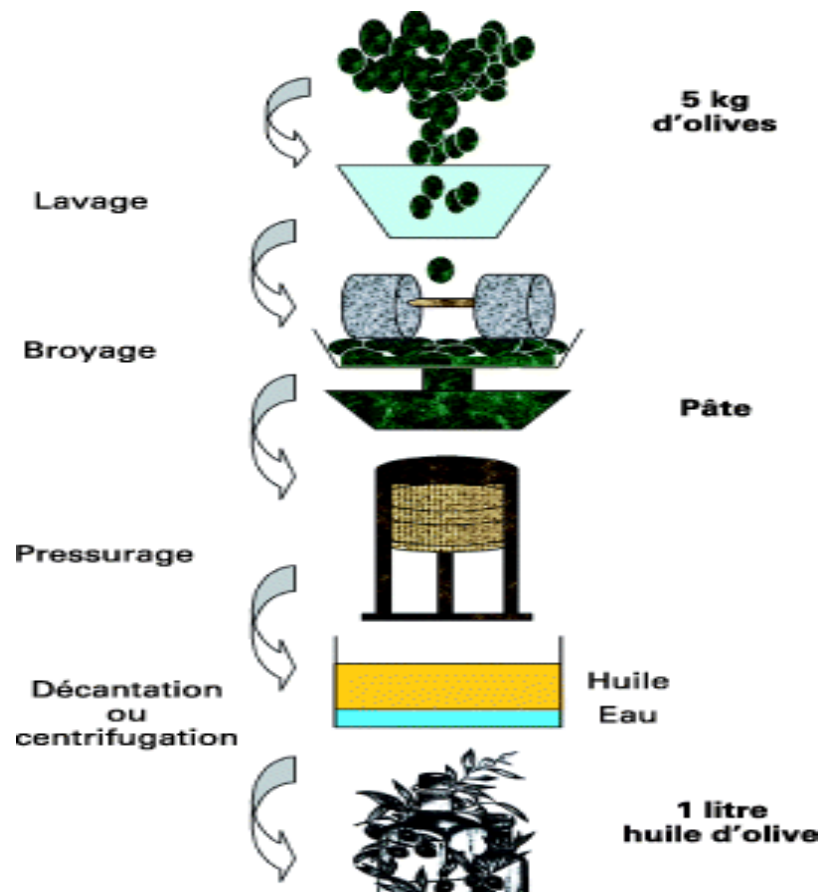


Figure1 : Schéma de l'extraction de l'huile d'olive (extraction mécanique)

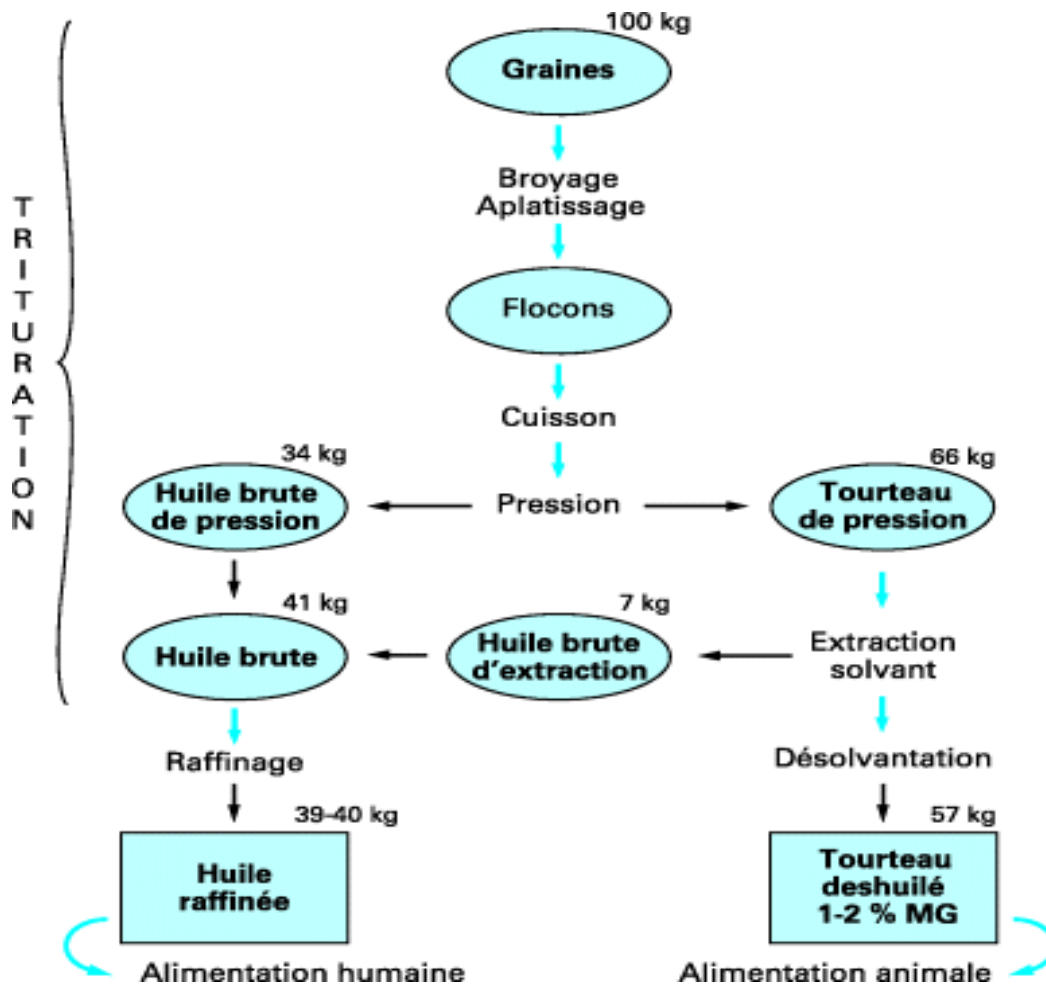


Figure 2 : Extraction de l'huile et du tourteau à partir de graines : exemple du colza

I.5)- Composition des corps gras

Du point de vue chimique, les corps gras sont constitués de carbone, d'oxygène et d'hydrogène. Ils appartiennent à la catégorie des esters, combinaison d'un trialcool (le glycérol) et d'acides organiques particuliers (acides gras). Ils ont pour constituants majeurs les triglycérides et pour constituants mineurs les phospholipides, les cérides et les composants de l'insaponifiable.

I.5.1). Constituants majeurs

Les constituants majeurs des corps gras sont les triglycérides

I.5.1.1). Triglycérides

Les triglycérides sont les constituants les plus abondants des lipides simples et présentent la masse essentielle des corps gras. Ils résultent de l'estérification de trois fonctions alcool de

glycérol par trois acides gras. Ils peuvent être homogènes lorsque les molécules d'acides gras estérifient le glycérol et sont identiques, hétérogènes ou mixtes dans les cas contraires.

Voici la réaction d'estérification (ou réaction de formation de triglycérides).

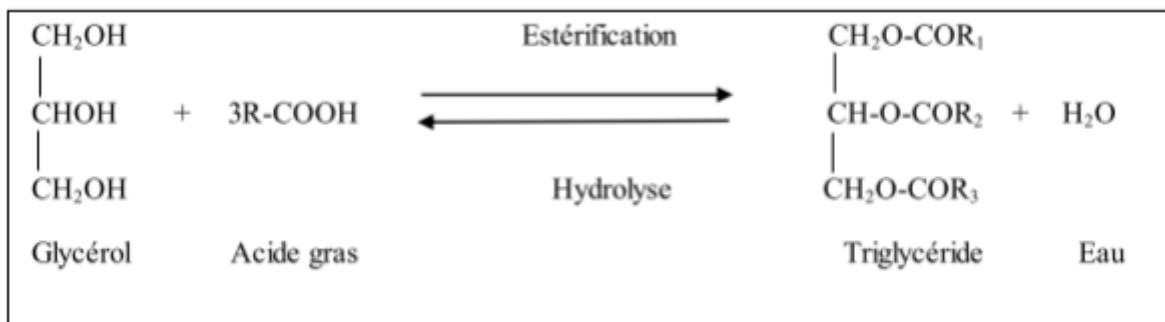


Figure 3 : Synthèse de triglycéride

~Acides gras

Ce sont des acides carboxyliques portant des chaînes carbonées. Ils sont rarement à l'état libre dans la nature et ils se trouvent à l'état estérifié. Ce sont des composés pondéralement majoritaires des triglycérides. En règle générale ces acides gras sont mono carboxyliques à chaîne linéaire non ramifiée comprenant un nombre paire d'atomes de carbone compris entre 4 et 24. Ils peuvent être saturés ou insaturés.

a-Acides gras saturés

Ils ont pour formule générale $\text{CH}_3\text{---}(\text{CH}_2)_n\text{---CO}_2$, sont solides à température ambiante. Les plus rencontrés sont l'acide palmitique ($\text{C}_{16}:\text{O}$) et l'acide stéarique ($\text{C}_{18}:\text{O}$).

b-Acides gras insaturés

Ils sont fluides à température ambiante, et ils se présentent en deux catégories.

❖ Acides gras monoinsaturés

Deux atomes de carbone consécutifs de la molécule sont unis par une double liaison exemple : l'acide oléique ($\text{C}_{18}:\text{1}$).

❖ Acides gras polyinsaturés

Plusieurs atomes de carbone consécutifs de la molécule sont unis par des doubles liaisons exemple : l'acide linoléique ($\text{C}_{18}:\text{2}$) et l'acide linoléique ($\text{C}_{18}:\text{3}$)

I.5.2). Constituants mineurs

En plus des triglycérides qui sont les constituants majoritaires, les corps gras contiennent des constituants mineurs dont la teneur est très faible mais dont l'intérêt n'est pas moindre. On peut citer les phospholipides, les cérides, les substances insaponifiables.

I.5.2.1). Phospholipides

Ce sont des diester d'acides gras et de glycérol dont la troisième fonction alcoolique est liée à un acide phosphorique qui lui-même peut être associé à une base alcoolique azotée ou un acide aminé. Ce sont les principaux constituants des membranes biologiques.

I.5.2.2). Cérides

On désigne par ce nom général des esters d'acides gras et de mono ou dialcools dont les masses moléculaires très élevées les rendent insolubles dans l'eau. On compte parmi les cérides :

- **Cires**

Ce sont des esters d'acides gras et de monoalcools aliphatiques. Les cires sont présents aussi bien dans les lipides animaux que dans les lipides végétaux. Les cires contribuent à la formation des pellicules protectrices des grains et des fruits.

- **Stérides**

Ce sont des esters d'acides gras et de stérols. Les stérols sont des alcools tétracycliques rattachés au groupe des stéroïdes. Les esters de cholestérol sont les seuls stérides des tissus animaux dans lesquels ils sont très réponsus, tandis que les tissus végétaux renferment des esters de nombreux stérols différents.

I.5.2.3). Substances insaponifiables : la fraction insaponifiable d'un corps gras donné, comprend l'ensemble de ses constituants, qui après hydrolyse basique (saponification), sont très peu soluble dans l'eau et soluble dans les solvants organiques (hexane, heptane, éther de pétrole et le chloroforme...).

❖ La proportion de ces composés dans un corps gras dépend de son origine, des traitements qu'il a subit ainsi que de la nature du solvant de l'extraction. Cette fraction représente 0,2 à 2% des lipides totaux du corps gras. Les principaux constituants de l'insaponifiables sont :

~ **Les hydrocarbures divers** : -hydrocarbures aliphatiques saturés et insaturés, - hydrocarbures triterpéniques (squalène), -des composés terpéniques : des alcools terpéniques et stérols, -des alcools gras, - les vitamines liposolubles (A, D, E), -les composés phénoliques.

I.6). Propriétés chimiques

Les corps gras ont des propriétés chimiques qui dépendent des glycérides et des acides gras qui les constituent.

I.6.1). Saponification

La saponification est une réaction qui permet la transformation des corps gras libres ou combinés en savon par une base caustique tel que KOH ou NaOH.

La réaction est la suivante :

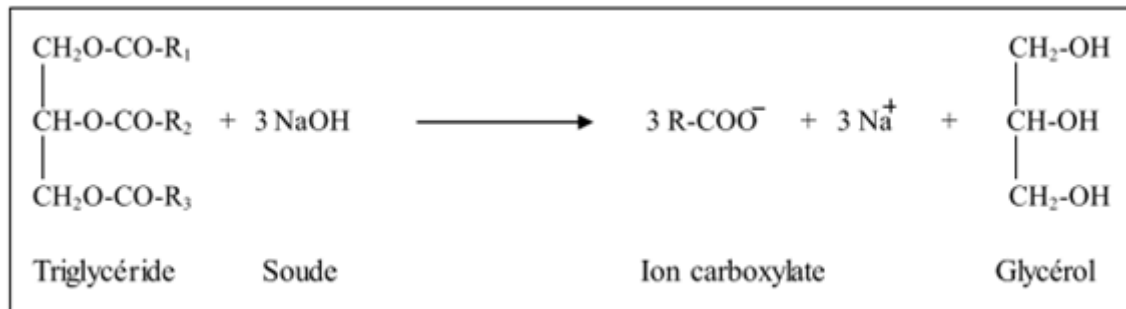


Figure 4 : Saponification des triglycérides

I.6.2). Hydrolyse ou acidification

L'acidification est le résultat d'une hydrolyse partielle ou totale des triglycérides qui donne des acides gras libres. Elle entraîne la diminution du pH des corps gras. Elle peut se dérouler en trois étapes donnant successivement un di glycéride, un mono glycéride et du glycérol. : Ces réactions s'accompagnent généralement d'une oxydation car les acides gras s'oxydent facilement lorsqu'ils sont à l'état libre.

Ils existent deux types de réactions d'hydrolyse :

- **Hydrolyse enzymatique** : elle n'affecte que les huiles brutes car le raffinage élimine les lipases qui sont à l'origine de cette réaction.
- **Hydrolyse spontanée** : elle se produit au cours du stockage et du traitement thermique, auto catalysé par les acides gras libres.

I.6.3). Oxydation

Les principaux facteurs déterminant la durée de vie des lipides sont les réactions d'oxydation. Les substrats de ces réactions sont les acides gras insaturés. Ils s'oxydent en général plus vite lorsqu'ils sont libres. Les acides gras saturés ne s'oxydent qu'à une température supérieure à 60°C, tandis que les acides polyinsaturés s'oxydent même lors de l'entreposage des aliments à l'état congelé.

Les principaux problèmes posés par l'oxydation des lipides résident dans la dégradation des propriétés organoleptiques (formation de composés volatils d'odeur désagréable : rancissement) et nutritionnelles (par interaction des produits d'oxydation avec les acides aminés de l'aliment).

L'oxydation des lipides conduit également à la formation des peroxydes qui sont des molécules cancérigènes.

I.7). Propriétés physiques

Les corps gras sont liquides ou solides à la température ambiante suivant leur composition chimique. Les glycérides sont d'autant plus solides qu'ils sont saturés et que leur poids moléculaire est élevé.

I.7.1). Point de fusion

La valeur du point de fusion d'un acide gras diminue avec le degré d'insaturation et augmente avec la longueur de la chaîne carbonée. Les graisses et les huiles naturelles ne présentent jamais un point de fusion mais une zone de fusion à cause de la diversité des triglycérides qu'elles contiennent.

I.7.2). Viscosité

La viscosité d'un corps gras augmente avec le poids moléculaire et diminue avec l'augmentation du nombre d'insaturations (double liaisons) et de la température.

I.7.3). Solubilité

Elle croit avec l'augmentation du degré d'insaturation. Les corps gras sont insolubles dans l'eau même à chaud mais soluble dans les solvants organiques (hexane, éther....) et dans quelque alcools à froid.

I.7.4). Densité

Elle augmente au fur et à mesure que le poids des acides constituant le corps gras diminue et que leurs insaturations augmentent. La densité des huiles végétales varie de 0,915 à 0,964 et celle des corps gras animaux varie de 0,866 à 0,933.

I.8). Analyses des huiles

I.8.1). Analyses chimiques

I.8.1.1). Acidité (A%) ou l'indice d'acide (IA)

L'acidité représente le pourcentage d'acides gras libres d'un corps gras. Pour l'huile d'olive elle s'exprime en pourcentage d'acide oléique.

On définit également l'indice d'acide comme étant le nombre de milligrammes de potasse nécessaires pour neutraliser les acides gras libres d'un gramme de corps gras.

- L'acidité permet d'apprécier la quantité d'acide gras libre R-COOH résultant d'une hydrolyse éventuelle de ce composé.

- Elle indique le degré de lipolyse donc le degré de dégradation de la matière grasse.

I.8.1.2). Indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de milliéquivalents gramme d'oxygène contenus dans un kilogramme de produit et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode.

- Il permet d'estimer la quantité de peroxyde présente dans une matière grasse.
- Un indice de peroxyde élevé indique une matière en cours de dégradation mais un indice faible n'indique pas que la matière grasse n'est pas oxydée.
- Le rancissement de la matière grasse conduit dans un premier temps à la production du peroxyde, composé primaire d'oxydation. Ces peroxydes sont instables et se décomposent en composés secondaires d'oxydation, une valeur faible d'indice de peroxyde n'est pas forcément indicateur d'une absence d'oxydation.

I.8.1.3). Indice d'iode

- C'est le nombre de grammes d'iode fixés par 100g de corps gras, il indique le degré d'insaturation de la matière grasse.
- Ce n'est pas un critère de qualité de la matière grasse, mais plus la matière grasse est insaturée plus elle est susceptible de s'oxyder.

I.8.1.4). Indice de saponification

C'est la quantité de potasse, exprimée en mg, nécessaire pour saponifier 1g de corps gras.

- L'indice de saponification rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras estérifiants.
- Il est inversement proportionnel à la taille de la chaîne d'acide gras estérifiant de triglycéride.

Ou autrement dit : le nombre de mg de KOH nécessaires pour transformer en savon tous les acides libres et liés sous forme d'un triglycéride.

I.8.2). Analyses physiques

I.8.2.1). Densité

La densité des lipides est inférieure à celle de l'eau. La densité augmente au fur et à mesure que le poids des acides gras constituant le corps gras diminue et que leurs insaturations augmentent.

- A longueur de chaîne égale, la masse volumique est d'autant plus élevée que l'insaturation du corps gras est plus grande.
- A l'insaturation égale, la masse volumique croît lorsque la longueur de la chaîne grasse diminue.

I.8.2.2). Viscosité

Peut-être définie, comme étant la résistance à l'écoulement uniforme.

- La viscosité augmente, la capacité du fluide à s'écouler diminue.
- La viscosité d'un corps gras augmente avec le poids moléculaire et diminue avec l'augmentation du nombre d'insaturations et de la température.

I.8.2.3). Indice de réfraction

- L'indice de réfraction est une caractéristique physique souvent utilisée dans les analyses des produits industriels ou naturels afin de vérifier la pureté des corps gras.
- Le but de cette technique est de déterminer l'indice de réfraction d'une huile qui indique le mode de réfraction de la lumière en traversant l'échantillon d'huile.
- L'indice de réfraction dépend, comme la densité de la composition chimique de l'huile et de la température. Il croît avec l'insaturation ou la présence sur la chaîne grasse de fonctions secondaires, il est considéré comme étant un paramètre de pureté d'un corps gras.

I.8.2.4). Analyse spectrale par le spectrophotomètre UV-Visible

L'oxydation d'un corps gras conduit à la formation d'hydroxy peroxyde linoléique diène conjugué qui absorbe au voisinage de 232nm.

- Si l'oxydation se poursuit, il se forme des produits secondaires d'oxydation en particulier de dicétones α insaturés qui absorbent vers 270nm.

Autrement dit, l'absorbance des radiations UV nous renseigne sur la nature, le nombre et la position de la double liaison des acides gras les λ_{\max} d'absorption dépendent de la forme et de la position des doubles liaisons.

- La détermination de l'extinction spécifique en UV des huiles est un critère pour détecter l'état d'oxydation des corps gras.
- Plus l'extinction à 232 est forte, plus l'huile est riche en produits secondaires d'oxydation.

I.8.2.5). Détermination de la couleur par UV-visible

La mesure de la couleur de l'huile est basée sur la détermination de son absorbance, les mesures se font à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible aux longueurs d'onde suivantes : 460nm, 550nm, 620nm et 670nm

- La valeur de la couleur se calcule par la formule suivante :

$$\text{Couleur} = 1,29A_{460} + 69,7A_{550} + 41,2A_{620} + 56,4A_{670}$$

A : désigne l'absorbance d'une huile.

- La détermination de la couleur des huiles nous renseigne sur les pigments qui peuvent éventuellement exister dans une huile.

Exemple : 24,33 et 29,33 valeurs correspondantes à une coloration jaune à brunâtre des huiles, ceci laisse penser qu'en plus de la chlorophylle, les huiles sont riches en pigments caroténoïdes et en xanthophylles.

Remarque

Le principe et le mode opératoire de chaque analyse sont présentés dans l'annexe I

Chapitre II : Le Lait

II.1)- Définitions

a- Le lait est le produit de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne doit pas contenir de « Colostrum ». Telle est la définition adoptée par le 1^{er} congrès international pour la répression des fraudes alimentaires tenu à GENEVE en 1908.

b- Le lait est le produit de sécrétion des glandes mammaires des mammifères comme la vache et la brebis destiné à l'alimentation du jeune animal naissant.

c- Selon la réglementation Algérienne, la dénomination « lait » est réservée exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans addition ou soustraction et n'ayant pas été soumis au traitement thermique.

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

-Le lait cru est un lait qui n'a subi aucun traitement de conservation sauf la réfrigération à la ferme. La date limite de vente correspond au lendemain du jour de la traite. Le lait cru doit être porté à l'ébullition avant consommation (car il contient des germes pathogènes). Il doit être conservé au réfrigérateur et consommé dans les 24h.

II.2)- Composition du lait

Le lait est un liquide blanc, opaque, deux fois plus visqueux que l'eau, de saveur légèrement sucrée et d'odeur peu accentuée.

Le lait est un fluide aqueux opaque, blanc, légèrement bleuté d'une saveur douceâtre et d'un pH (6,6 à 6,8) légèrement acide, proche de la neutralité.

Le lait, proche du plasma sanguin, est un sérum comportant une émulsion de matière grasse, une suspension de matière protéique caséuse, du lactose, des sels et minéraux, des protéines solubles et des traces d'éléments divers.

La composition du lait varie d'une espèce animale à une autre, sa composition générale est présentée dans le tableau 1.

Tableau 1. Composition moyenne du lait de différentes espèces animales

Animaux	Eau %	Matière grasse %	Protéines %	Glucide %	Minéraux%
Vache	87.5	3.7	3.2	4.6	0.8
Chèvre	87.0	3.8	2.9	4.4	0.9

Brebis	81.5	7.4	5.3	4.8	1.0
Chamelle	87.6	5.4	3.0	3.3	0.7
Jument	88.6	1.9	2.5	6.2	0.5

II.2.1)- Eau

L'eau est le constituant le plus important du lait en proportion, elle représente 80% du lait. Son caractère polaire lui permet de former une solution vraie avec les substances polaires telles que les glucides, les minéraux et une solution colloïdale avec les protéines.

II.2.2)- Glucides

Les glucides sont les constituants les plus importants après l'eau. Ils représentent 38% de la matière sèche du lait. Le lactose est le sucre principal du lait ; sa teneur moyenne est de 50g par litre. C'est un disaccharide constitué d'une unité galactose et d'une unité glucose.

II.2.3)- Lipides

La matière grasse du lait se compose principalement de triglycérides, phospholipides et une fraction insaponifiable constituée en grande partie de cholestérol et de β -carotène. Le tableau 02 résume la constitution en matière grasse du lait de vache.

Tableau 2. Composition en lipides de lait de vache

Lipides	Composition (%)
Triglycérides	98
Glycérides partielles	0.5
Cholestérol	0.3
Phospholipides	0.9
Acides gras libres	0.3

II.2.4)- Protéines

Les protéines sont des éléments essentiels au bon fonctionnement des cellules vivantes. Le lait contient en moyenne 3.5 % de protéines.

Les principales protéines du lait sont :

II.2.4.1)- Caséines

La caséine est un polypeptide complexe, résultat de la polycondensation de différents aminoacides, dont les principaux sont la leucine, la proline, l'acide glutamique et la sérine. Le caséinate de calcium, de masse molaire qui peut atteindre 56000 g mol^{-1} , forme une dispersion colloïdale dans le lait.

II.2.4.2)- Les protéines de sérum (β -lactoglobuline, α -lactalbumine) :

Elles se retrouvent sous forme d'une solution colloïdale et qui précipitent sous l'action de la chaleur.

II.2.5)- Minéraux

La teneur en sels minéraux dans le lait est de 0,5 %. Les sels minéraux jouent un rôle très important dans le fonctionnement de l'organisme (ils sont impliqués dans des mécanismes physiologiques tels que la régulation du système nerveux et la régulation enzymatique).

Le lait contient tous les éléments minéraux indispensables à l'organisme. Il est riche en phosphore (90 mg /ml), calcium (125 mg/100 ml), sodium (50 mg/100 ml), potassium en moyenne de 150 mg /100 ml ainsi que du magnésium et du chlore qui sont des microéléments. Il contient aussi de petite quantités du soufre et du fer.

II.2.6)- Vitamines

Les vitamines sont des molécules complexes de faible taille et de structure très variées qui jouent un rôle de coenzymes. Le lait a d'assez fortes teneurs en vitamines qu'on peut classer en deux grandes catégories :

- Les vitamines hydrosolubles (vitamines du groupe B et vitamine C) de la phase aqueuse du lait.
- Les vitamines liposolubles (vitamines A, D, E, et K) associées à la matière grasse, certaines sont au centre du globule gras et d'autres à sa périphérie.

II.2.7)- Enzymes

Ce sont des substances organiques de nature protidique, produites par des cellules ou des organismes vivants, agissant comme catalyseurs dans les réactions biochimiques. Le lait contient trois groupes principaux d'enzymes : les hydrolases, les déshydrogénases (ou oxydases) et les oxygénases. Une grande partie se retrouve dans la membrane des globules gras mais le lait contient de nombreuses cellules (leucocytes, bactéries) qui élaborent des enzymes.

II.2.8)- Gaz dissous

Les différents composants qui ont été développés dans cette partie relèvent de l'aspect

chimique. Il est toutefois intéressant de signaler que le lait est un excellent milieu de culture et de protection pour certains germes, en particulier pour les bactéries pathogènes (la flore), dont la prolifération dépend essentiellement de la température ainsi que des micro-organismes et de nombreux enzymes (lipase).

Le lait contient des gaz dissous (5% en volume), essentiellement du dioxyde de carbone (CO₂), du diazote (N₂) et de l'oxygène (O₂).

II.3)-Importance Nutritionnelle

Le lait joue un rôle très important dans l'alimentation humaine tant du point de vue calorique que nutritionnel.

Un litre de lait correspond à une valeur d'environ 750Kcal facilement utilisables, comparativement aux autres aliments, il constitue un élément de haute valeur nutritionnelle.

L'intérêt alimentaire du lait est :

- Une source de protides d'excellente valeur biologique
- La principale source de calcium
- Une source de matière grasse
- Une bonne source de vitamines.
- Le lait est également une excellente source de minéraux intervenant dans divers métabolismes humains comme cofacteurs et régulateurs d'enzymes. Le lait assure aussi un apport non négligeable en vitamines connues comme les vitamines A, D, E (liposolubles) et les vitamines B₁, B₂, B₃ hydrosolubles.

Il est néanmoins pauvre en fer et en cuivre et il est dépourvu de fibres.

II.4)- Caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques du lait-

II.4.1)- Caractéristiques organoleptiques

II.4.1.1)- Couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait).

II.4.1.2)- Odeur

La présence de la matière grasse dans le lait lui confère une odeur caractéristique, Au cours de sa conservation, le lait est caractérisé par une odeur aigue due à l'acidification par l'acide lactique.

II.4.1.3)- Saveur

Il est difficile de définir cette caractéristique du lait normal car elle provient de l'association d'éléments diversement appréciés selon l'observateur. En effet, on distingue la saveur douce du lactose, la saveur salée du NaCl, la saveur particulière de lécithines qui s'équilibre et qui est atténuée par la masse des protéines.

II.4.1.4)- Viscosité

La viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques. Elle est fonction de l'espèce, on distingue :

- Un lait visqueux chez les monogastriques (jument, ânesse, carnivores et femme).
- Un lait moins visqueux chez les herbivores (lait de brebis plus visqueux que celui de la vache). Le lait est dit caséineux.

II.4.2)- Caractéristiques physico-chimiques

II.4.2.1). Densité

Elle varie entre 1,028 et 1,034. Elle doit être supérieure ou égale à 1,028 à 20°C.

La densité des laits de grand mélange des laiteries est de 1,032 à 20°C. La densité des écrémés est supérieure à 1,035. Un lait à la fois écrémé et mouillé peut avoir une densité normale.

II.4.2.2). Acidité de titration ou acidité Dornic

L'acidité de titration indique le taux d'acide lactique formé à partir du lactose. Un lait frais à une acidité de titration de 16 à 18°Dornic (°D) (avec 1°D = 0.1 g d'acide lactique par litre). Conservé à la température ambiante, il s'acidifie spontanément et progressivement. C'est la raison pour laquelle on distingue l'acidité naturelle, celle qui caractérise le lait frais, d'une acidité développée issue de la transformation du lactose en acide lactique par divers microorganismes.

L'acidité titrable du lait est exprimée en gramme d'acide lactique par litre de lait.

Deux laits peuvent avoir le même pH et des acidités titrables différentes et inversement. C'est-à-dire qu'il n'y a pas de relation d'équivalence réelle entre le pH et l'acidité de titration.

II.4.2. 3). Point de congélation

Le point de congélation du lait est l'une de ses caractéristiques physiques les plus constantes. Sa valeur moyenne, si l'on considère des productions individuelles de vaches, se situe entre -0,54 °C et -0,55°C.

La mesure de ce paramètre permet l'appréciation de la quantité d'eau éventuellement ajoutée au lait. Un mouillage de 1% entraîne une augmentation du point de congélation d'environ 0,0055°C.

II.4.2.4). Point d'ébullition

On définit le point d'ébullition comme la température atteinte lorsque la pression de vapeur de la substance ou de la solution est égale à la pression appliquée. Ainsi comme pour le point de congélation, le point d'ébullition subit l'influence de la présence des solides solubilisés. Il est légèrement supérieur au point d'ébullition de l'eau, soit 100.5°C.

II.4.2.5). pH

Le pH renseigne précisément sur l'état de fraîcheur du lait. Un lait de vache frais a un pH de l'ordre de 6,7. S'il y a une action des bactéries lactiques, une partie du lactose du lait sera dégradée en acide lactique, ce qui entraîne une augmentation de la concentration du lait en ions hydronium (H_3O^+) et donc une diminution du pH, car : $pH = \log 1 / [H_3O^+]$. La différence avec l'acidité titrable qui, elle mesure tous les ions H^+ disponibles dans le milieu, dissociés ou non (acidité naturelle + acidité développée), reflétant ainsi les composés acides du lait.

Un lait mammitique, contenant des composés à caractéristiques basiques, aura un $pH > 7$ et le colostrum un pH voisin de 6.

II.4.2.6). Extrait sec

La teneur en extrait sec du lait des différentes espèces de mammifères se situe entre des valeurs extrêmes très éloignées : de 100 à 600 g/l. La cause de ces différences est essentiellement la teneur en matière grasse. Le lait de vache présente un extrait sec total de 125 à 130 g/l.

II.4.3)- Caractéristiques microbiologiques du lait

Le lait contient peu de microorganismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores : microcoques mais aussi streptocoques lactiques (*Lactococcus* et *Lactobacillus*). D'autres microorganismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade, ils sont généralement pathogènes et dangereux au point de vue sanitaire, il peut s'agir d'agents de mammites.

II.4.3.1). Microflore lactique

Elle fait partie de la flore normale du lait et se caractérise par son aptitude à fermenter le lactose avec production d'acide lactique et donc, abaissement du pH. Les ferments lactiques

laitiers constituent un groupe diversifié de bactéries qui ont néanmoins un certain nombre de caractéristiques communes : elles sont à Gram positifs, catalase négatifs, anaérobies facultatifs ou micro-aérophiles et hétérotrophes.

II.4.3.2). Microflore de contamination

Elle est composée de la flore pathogène et de la flore d'altération.

❖ Flore pathogène

Les bactéries les plus importantes de cette flore pathogène sont le plus souvent mésophiles et les principaux microorganismes pathogènes associés aux produits laitiers sont :

Salmonella, Staphylococcus aureus, Clostridium botulinum, Clostridium perfringens, Bacillus cereus, Yersinia enterocolitica, Listeria monocytogenes, Escherichia coli, Campylobacter Jejuni, Shigella sonnei et certaines moisissures.

❖ Flore d'altération

La flore d'altération causera des défauts sensoriels de goût, d'arômes, d'apparence ou de texture et réduira la vie du produit laitier. Les principaux genres identifiés comme flore d'altération sont : Pseudomonas sp, Proteus sp, les coliformes soit principalement les genres : Escherichia et Enterobacter, les sporulées telles que Bacillus sp, Clostridium sp et certaines levures et moisissures.

II.5)- Facteurs influençant la composition du lait

La composition du lait est variable elle dépend bien entendu du génotype de la femelle laitière (race, espèce) mais l'âge, la saison, le stade de lactation, l'alimentation sont des facteurs qui peuvent avoir des effets importants sur la composition du lait.

II.5.1)- Facteurs génétiques

On observe des variations importantes de la composition du lait entre les différentes races laitières et entre les individus d'une même race. D'une manière générale, on remarque que les fortes productrices donnent un lait plus pauvre en matières azotées et en matière grasse. Ces dernières sont les plus instables par rapport au lactose.

II.5.2)- Stade de lactation

Les teneurs du lait en matières grasses et protéiques évoluent de façon inverse à la quantité de lait produite. Elles sont élevées en début de lactation (période colostrale), elles chutent

jusqu'à un minimum au 2^{ème} mois de lactation après un palier de 15 à 140 jours. Les taux croissent plus rapidement dans les trois derniers mois de lactation.

II.5.3)- Age ou numéro de lactation

On peut considérer que l'effet de l'âge est très faible sur les quatre premières lactations. On observe une diminution du TB (TB : taux butyreux en g/Kg) de 1% et du taux protéique de 0.6%.

II.5.4)- Facteurs alimentaires

L'alimentation joue un rôle important ; elle permet d'agir à court terme et de manière différente sur les taux de matière grasse et de protéines. En effet, le taux protéique varie dans le même sens que les apports énergétiques, il peut aussi être amélioré par des apports spécifiques en acides aminés (lysine et méthionine). Quant au taux butyreux, il dépend à la fois de la part d'aliment concentré dans la ration, de son mode de présentation et de distribution (finesse de hachage, nombre de repas, mélange des aliments).

II.5.5)- Etat sanitaire

Lors d'infection, il y a un appel leucocytaire important qui se caractérise par une augmentation de comptage cellulaire induisant des modifications considérables dans la composition du lait.

Les mammites sont les infections les plus fréquentes dans les élevages laitiers. Elles sont à l'origine d'une modification des composants du lait avec pour conséquence, une altération de l'aptitude à la coagulation des laits et du rendement fromager.

II.5.6)-Facteurs climatiques et saisonniers

L'effet propre de la saison sur les performances des vaches laitières est difficile à mettre en évidence compte tenu de l'effet conjoint du stade physiologique et des facteurs alimentaires. Il a été montré que la production laitière est maximale au mois de Juin et minimale en Décembre. A l'inverse, les taux butyreux et protéiques du lait sont les plus faibles en été et les plus élevés en hiver. Chez des vaches de type pie noire, ils atteignent 3g/Kg pour le taux butyreux et près de 2g/Kg pour le taux protéique.

II.6)-Traitements et méthodes de conservation du lait

Avant la commercialisation, les laits subissent plusieurs traitements physiques et thermiques.

Traitement physique : Clarification, l'écémage, standardisation, homogénéisation

Traitement thermique : thermisation, pasteurisation, stérilisation.

II.6.1)-Réception du lait

Les laiteries sont équipées des stations de réception qui prennent en charge le lait provenant des exploitations laitières. Le délai entre la traite et la livraison du lait aux entreprises laitières est fixé 48h au maximum et le délai entre la traite et le premier traitement thermique est fixé à 72h au maximum.

II.6.2)-Clarification

C'est l'opération par laquelle le lait est soumis à une force centrifuge dans le but d'en extraire les particules plus denses, tels les débris cellulaires, les leucocytes et les matières étrangères.

II.6.3)-Thermisation

C'est le préchauffage de lait à une température inférieure à la température de pasteurisation pour inhiber provisoirement la croissance des bactéries notamment les pathogènes. Le lait est chauffé à 63-65 °C pendant environ 16 secs.

- Pour éviter la multiplication des bactéries aérobies après la thermisation, le lait doit être refroidi rapidement à 4°C ou moins et ne doit pas être mélangé au lait non traité.

II.6.4)- Ecrémage

Le lait est écrémé à l'aide d'une écrémeuse, cette dernière sépare la crème et le lait à l'aide d'un séparateur centrifuge (qui décharge en continu la crème d'une part et le lait écrémé d'autre part).

Cela peut paraître paradoxal, mais après l'écémage du lait, celui-ci passe par le tank mélangeur afin de lui rajouter de la crème, le but de la manœuvre est de pouvoir ensuite rajouter la quantité de crème souhaitée selon le type de lait désiré, aussi on obtient alors trois types de lait ;

- Le lait entier (3,5% de matière grasse au minimum).
- Le lait demi-écémé (de 1,5 % à 1,8 % de matière grasse).
- Le lait écémé (0,5% en matière grasse au maximum).

II.6.5)- Standardisation

Elle consiste à amener le lait à une concentration donnée en matière grasse (par centrifugation) ou en protéines (par ultrafiltration). Ces ajustements permettent de pallier les variations de composition naturelles inhérentes à la race bovine ou liées à l'alimentation des vaches aux saisons.

-La standardisation a pour but d'harmoniser la composition du lait ; elle peut se faire soit en cuve ou en continu.

❖ En cuve

Mélanger dans un réservoir du lait entier, du lait écrémé ou encore de la crème avec des proportions calculées.

❖ En continu

Injecter du lait écrémé dans le lait entier dans un clarificateur-séparateur- normalisateur.

II.6.6)- Homogénéisation

- L'homogénéisation est une opération qui consiste à faire éclater les globules de la matière grasse du lait en fines particules ; qui de par leur taille ne remontent plus à la surface. Elles se répartissent de façon homogène dans le lait empêchant ainsi la remontée de la crème à la surface, même après un entreposage de plusieurs jours.

Elle est obtenue en faisant passer le lait au travers d'une buse avec une pression de 100 à 250 bars. Ce processus diminue le diamètre des globules gras de 3.6 μ m à un diamètre moyen de 1 μ m, ce qui empêche la crème de remonter à la surface du lait.

-Selon la durée de conservation et l'état bactériologique souhaité, le lait standardisé et homogénéisé subit ensuite des traitements thermiques, la pasteurisation et la stérilisation.

II.6.7)- Pasteurisation

La pasteurisation est un traitement thermique permettant la destruction des microorganismes pathogènes et d'un grand nombre de microorganismes d'altération, le lait pasteurisé ainsi traité doit être refroidi dans les 60 min qui suivent son traitement thermique, à une température T qui n'excèdent pas les 6°C.

La pasteurisation est le traitement thermique du lait le plus doux. Il consiste à chauffer le lait à une température comprise entre 72°C et 85°C pendant 15sec, puis à le refroidir immédiatement. Ce traitement doux permet d'éliminer toutes les éventuelles bactéries pathogènes et de supprimer une partie de la flore normale et des enzymes actives.

❖ Avantages

-Traitement thermique doux (70°C- 80°C).

-Destruction des bactéries pathogènes éventuellement présentes et la plus grande partie de tous les autres germes.

-Le gout et la valeur nutritive de l'aliment se rapprochent avant et après la pasteurisation

❖ Inconvénients

-Une série d'enzymes restent encore active.

-L'aliment qui a subi la pasteurisation ne se conserve que d'une façon limitée et doit se conserver au frais au maximum une semaine avant ouverture et 3 jours après l'ouverture à moins de 7°C.

- La perte protéique.

- Une perte de la valeur nutritionnelle.

II.6.8)- Stérilisation

La stérilisation est un traitement thermique aboutissant à la destruction ou à l'inhibition des enzymes, des micro-organismes et de leurs toxines.

-La conservation du lait stérilisé est assurée par traitement à T=120°C, t=30min,

-La conservation du lait stérilisé UHT est assurée par chauffage T=140°C à 150°C, t=1 à 3sec.

➤ Avantages

Le traitement UHT permet d'une part de conserver le lait très longtemps, environ 3 mois, voire plus. Gros avantage pour les consommateurs mais encore plus pour les distributeurs, le lait UHT se conserve sans problème à Temperature ambiante.

➤ Inconvénients

-Légère modification du goût, selon le procédé employé (UHT indirect).

-Exige un emballage imperméable à la lumière et à l'oxygène.

II.7)-Analyses physico-chimiques effectuées sur le lait

II.7.1). Détermination de la densité

La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau. Elle est déterminée à 20°C par un lactodensimètre, renfermant un thermomètre et une table de correction, étalonné par rapport à l'eau, à +/- 20°C.

La densité du lait cru obtenue est de 1.0302. Cette valeur est en conformité à la réglementation algérienne (1.030 / 1.034).

II.7.2). Détermination de l'acidité titrable

L'acidité titrable du lait est exprimée en gramme d'acide lactique par litre de lait. Son principe est basé sur un titrage de l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine comme indicateur.

II.7.3). Détermination de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique de GERBE)

La méthode acido-butyrométrique est une technique conventionnelle qui lorsqu'elle est appliquée à un lait entier de teneur en matière grasse moyenne et de masse volumique moyenne à 20°C donne une teneur en matière grasse exprimée en grammes pour 100g de lait ou 100 ml de lait.

➤ Principe

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

II.7.4). Mesure de la teneur en matière sèche totale

C'est le taux de la matière sèche restant après une dessiccation à T=130°C.

Cette dessiccation est faite dans une étuve à une température de 130± 2 °C pendant 3 heures. La teneur en matière sèche totale du lait de vache est en moyenne de 125 à 130 g/l.

II.7.5). Mesure de la teneur en matière sèche dégraissée

La matière sèche dégraissée est obtenue par différence entre la matière sèche totale et la matière grasse. Les laits normaux contiennent habituellement de 90 à 95 g de matière sèche non grasse.

$$ESD = EST - MG$$

ESD : extrait sec dégraissée.

EST : extrait sec total.

MG : matière grasse.

II.7.6). Dosage des Chlorures

-La teneur en chlorure du lait est exprimée en g de NaCl/l. Les chlorures sont précipités en milieu nitrique par les nitrates d'argent titrés. L'excès de ce réactif est dosé par le solfocyanure d'ammonium titré en présence d'alun de fer ammoniacal comme indicateur de fin de réaction.

- Le taux moyen des chlorures exprimé en NaCl est dans le lait, de l'ordre de 1,6 à 1,8 g/l.

II.7.7). Dosage du lactose par la méthode de « G. Bertrand »

Le lactose est le constituant majeur de la matière sèche du lait. Sa teneur dans le lait normal varie de 48 à 50 g/l. D'autres sucres sont également présents mais à l'état de traces.

Après défécation du ferrocyanure de zinc, le lactose est dosé dans le filtrat, grâce à son pouvoir réducteur, on exprime le résultat en lactose hydraté. Celui-ci ne sera valable que si le lactose n'a subi aucun début d'hydrolyse.

II.7.8). Dosage des protéines par la méthode de Sorensen

- L'acidité titrable des protéines se trouve augmenté par l'addition de formol, ce dernier bloquant les fonctions amine (NH_2) libres.

-Ce principe sert en général au dosage des protéines dans le lait. Pyne a étalonné cette méthode, il a ainsi établi un coefficient ($c=1,7$) qui multiplie par la valeur de l'acidité titrable (augmente après l'addition de formol) donne un taux approximatif des protéines pour un lait normal.

- Pour un lait normal le taux moyen de protides est de 33,5 g/l. Il varie de 30 à 34 g/l.

Remarque

Le principe et le mode opératoire de chaque analyse sont présentés dans l'annexe II.

Chapitre III : Les sucres Alimentaires

III.1)- Rappel en biochimie

Les glucides sont des composés organiques naturels ou artificiels constitués principalement de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Ils sont également appelés " Hydrate de carbone " à cause de leur formule brute : $C_n(H_2O)_n$.

La littérature anglo-saxonne utilise le terme de " Carbohydrates ".

Les glucides sont classés en deux grandes catégories : oses et osides (figure 1).

III.1.1)- Les oses : monosaccharides

Les oses, ou monosaccharides, sont les plus simples des glucides. Ce sont des polyalcools portant une fonction aldéhyde ou cétone voisine d'une fonction alcool, non hydrolysables et doués d'un pouvoir réducteur. Ils ont pour formule brute : $C_n(H_2O)_n$.

III.1.2)- Osides et saccharides

Un oside, ou saccharide, est un composé qui par hydrolyse libère des oses. Cette hydrolyse peut libérer, à côté des oses, des groupements de nature non glucidique appelés " groupement aglycones ".

En fonction de la présence ou non d'un groupement aglycone, on distingue

- **Les holosides** : sont des osides qui par hydrolyse ne libèrent que des oses.
- **Les hétérosides** : sont les osides qui libèrent par hydrolyse des oses et un ou plusieurs groupements aglycones

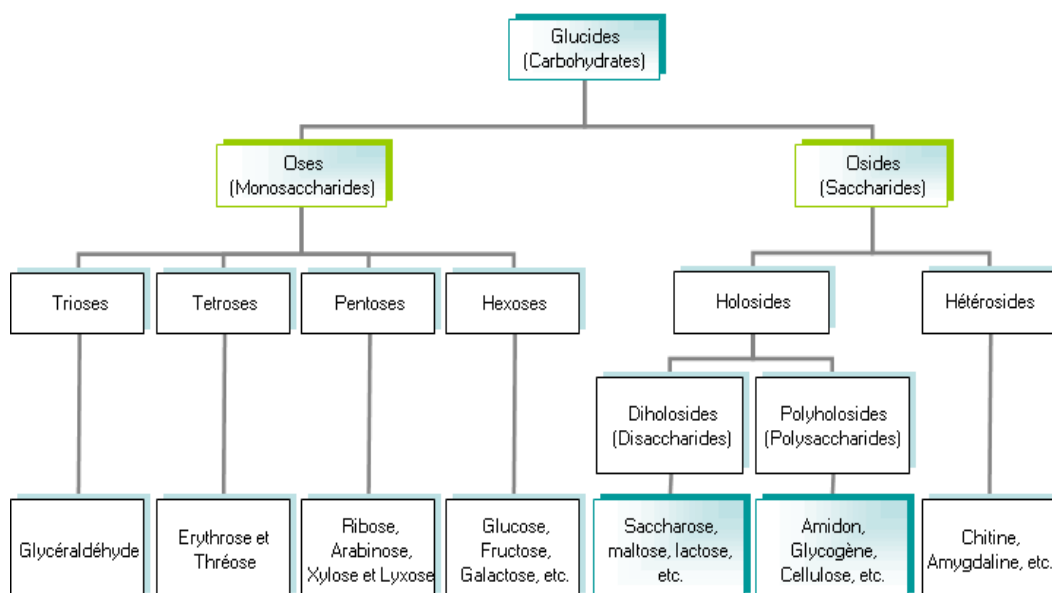


Figure 1 : Classification des glucides

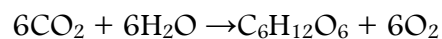
III.2)- Généralités

III.2.1)- Définition du sucre

Le sucre est un produit alimentaire d'origine végétale, composé pour l'essentiel de saccharose et de diverses substances naturelles appartenant à la classe des glucides responsables d'une des quatre saveurs gustatives fondamentales (le sucré).

III.2.2)- Synthèse et origine

Le sucre se trouve naturellement dans certaines plantes (fruits, racines, feuilles, tiges et même dans la sève des arbres). Toutes les plantes vertes utilisent, grâce à la chlorophylle, l'énergie solaire pour transformer le CO_2 de l'air et l'eau du sol, en matières organiques, en particulier en glucides.



Au cours de cette photosynthèse, le composant glucidique le plus important qui apparaît est le fructose. Une partie du fructose se transforme en glucose et la molécule de glucose se lie au fructose pour former le saccharose. Une partie de ces glucides est utilisée pour la respiration de la plante (réaction qui se passe la nuit avec dégagement de CO_2), ainsi que pour ses besoins de croissance. Le reste de glucides est stocké dans les organes de réserve.

Exemples : Tubercule : pomme de terre

Racine : betterave sucrière ; carotte

Tige : canne à sucre.

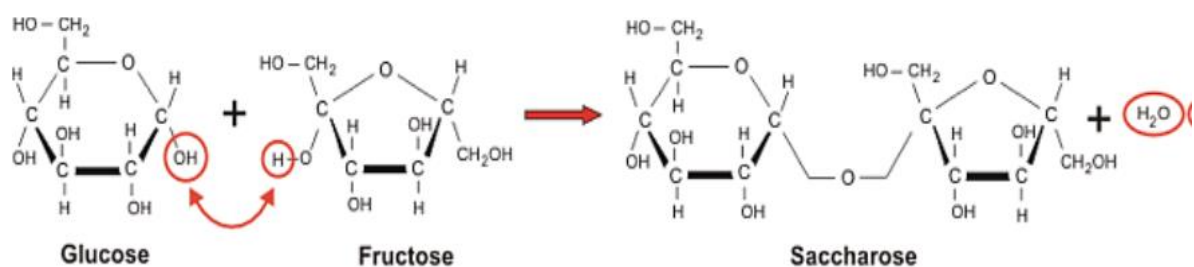


Figure 2 : Formation du saccharose

III.3). Notions générales sur la chimie sucrière

III.3.1)- Brix

Lorsqu'une solution est chauffée jusqu'à évaporation totale de l'eau qu'elle contient, un résidu est obtenu comme matière sèche (MS). Le brix traduit le pourcentage de cette matière sèche contenue dans la solution.

$$\text{Brix} = [\text{quantité de matière sèche (g)} / \text{quantité de solution (g)}] \cdot 100$$

III.3.2)- Pureté

La pureté définit la quantité de sucre (S) contenue dans la matière sèche (MS).

$$\text{La pureté} = [\text{quantité de sucre (g)} / \text{quantité de la matière sèche (g)}] * 100$$

III.3.3)- Solubilité

La solubilité s'obtient en divisant la quantité (Q) du sucre dissout par la quantité (Q) d'eau dans laquelle a été dissoute selon la formule suivante.

$$\text{La solubilité} = [Q \text{ de sucre dissout (g)} / Q \text{ d'eau (g)}]$$

III.3.4)- Non sucres

Les non sucres sont toutes les substances dissoutes autre que le sucre, après évaporation totale de l'eau, il reste (ms).

$$ms = s + ns = s + \text{matières organiques} + \text{cendres}$$

ms : matière sèche

s : sucre

ns : non sucre

III.4)- Etapes de fabrication du sucre

III.4.1)-Affinage et fonte

III.4.1.1)-Affinage

Le sucre roux est déversé dans un malaxeur et mélangé par un brassage à un sirop chaud légèrement sous-saturé (favorise la dissolution superficielle des cristaux). Cette opération constitue « l'empattage ». Ceci va permettre à la couche superficielle des cristaux (la plus impure), de se dissoudre.

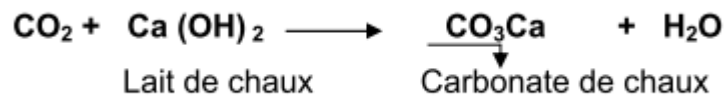
Cette étape aboutit à la préparation du magma d'un brix variant entre 80 et 85%.

III.4.1.2)-Refonte

Le sucre affiné passe dans des turbines d'affinage pour être débarrassé des impuretés et matières colorantes sur la surface des cristaux, puis refondu dans un fondoir avec de l'eau sucrée et chaude à 85° C (pour augmenter la solubilité du sucre) pour donner « un sirop de fonte ».

III.4.2)- Carbonatation

La carbonatation a été proposée en sucrerie de betteraves, si l'on provoque dans un jus un précipité de carbonate de chaux, ce dernier va enrober les matières colorantes et les gommés. La réaction est alcaline, et fournit ainsi un complément de clarification notable. Le précipité formé est granuleux et filtré aisément, comme le montre la réaction suivante ;



La chaux, sous l'action du gaz carbonique, se transforme en carbonate de calcium et piège les impuretés responsables de la couleur.

III.4.2.1)- Préparation du lait de chaux

Le lait de chaux est constitué d'un mélange de chaux industrielle et du petit jus provenant de la filtration.

On utilise le petit jus car la chaux se dissout plus facilement dans une eau sucrée et permet de minimiser la quantité d'eau dans le procès.

La chaux est mélangée modérément avec le petit jus, le mélange est homogénéisé afin d'éviter la décantation de la chaux.

Le sirop obtenu est mélangé au lait de chaux dans des réacteurs de carbonatation. A ce niveau on parle de « jus chaulé ».

III.4.2.2)- Procès de la carbonatation

Le sirop chaulé est envoyé vers la première chaudière pour subir « la première carbonatation »

Le gaz carbonique est pompé avec un débit régulé par une vanne jusqu'à avoir un pH = 11, le produit est renvoyé dans la deuxième chaudière pour subir « la deuxième carbonatation ».

Le sirop carbonaté sort avec un pH d'environ 8 et à une température de 90°C vers la troisième section.

III.4.3)- Filtration

Le sirop carbonaté passe à travers des filtres à bougies, le liquide sort du support filtrant, tandis que les impuretés sont arrêtées. Le sirop est récolté dans un bac tampon muni d'agitateur pour éviter toute décantation et envoyé vers un autre bac tampon pour subir la décoloration. Une fois le filtre vidangé, la boue résultante contenant du sucre résiduel passe dans le filtre à presse.

Les éléments du filtre à presse sont des plaques carrées en plastique portant des cannelures sur chaque face, ses faces supportent des toiles filtrantes en plastique, l'ensemble sera entre deux plaques en acier.

III.4.4)- Décoloration

A l'issue de la filtration, la majorité des impuretés ont été enlevées, mais le sirop est toujours coloré. La décoloration est l'opération permettant d'éliminer la majorité des colorants résiduels, le sirop résultant étant clair.

III.4.5)- Concentration

Avant de cristalliser le sirop est concentré dans un évaporateur, et les vapeurs issues de ce dernier sont récupérées pour les besoins de chauffage durant le procès. Le jus est ramené à une température d'ébullition afin d'éliminer l'eau, entraînant ainsi sa concentration sous forme d'un sirop entre 60 et 70% de saccharose. Le sirop initialement a environ 58% de brix se retrouve à la sortie du concentrateur à un brix de 72%. A la fin de l'évaporation, le sirop de sucre se caractérise par un taux de pureté de 93%.

Ce sirop va entrer dans le processus de cristallisation. Pour cela, il est transvasé dans une cuve sous vide à une pression d'environ 0,2 bar et maintenu à une température inférieure à 80°C (ce qui évite la caramélisation du sirop et permet l'évaporation de l'eau).

III.4.6)- Cristallisation

Lorsque le sirop est concentré dans la cuite jusqu'à une certaine viscosité, l'introduction d'une semence (alcool isopropylique + cristaux de sucre fins), permet d'amorcer la cristallisation par introduction progressive de sirop. Le saccharose vient recouvrir la surface des fins cristaux de la semence et grossissent jusqu'à atteindre un diamètre suffisant puis la cuite passe en coulée.

Une fois coulée, la masse cuite passe à travers les turbines pour séparer les cristaux de sucre de l'eau mère (égout).

Cette étape va permettre l'obtention d'un maximum de cristaux homogènes à partir d'un sirop bien concentré.

La cuite permet la cristallisation par évaporation de l'eau. Le sirop y est transformé en masse cuite qui est composée de cristaux et d'eau.

Après essorage dans des turbines, on obtient un sucre blanc dit de premier jet « R1 », égouts riches et égouts pauvres. Le cycle de fonctionnement d'une turbine est discontinu

L'égout riche va être recyclé et l'égout pauvre est envoyé pour produire « R2 » dit sucre de deuxième jet ainsi de suite.

Le sucre est ensuite évacué sur tapis vibrant, puis il est séché avant d'être conditionné.

III.4.7)- Séchage et maturation

Le sucre cristallisé blanc, issu du premier jet, est évacué encore chaud (45 à 60°C) vers un sécheur, il présente un taux d'humidité de 1%, puis subit un séchage pour ramener ce taux à des valeurs comprises entre 0.03 et 0.06%.

Au niveau du sécheur, le sucre circule à co-courant avec de l'air chaud à 91°C, puis à contre courant avec de l'air froid sec à 6°C, pour refroidir le sucre et obtenir un équilibre stable en humidité et température avec l'ambiante environnante.

L'air requis pour le séchage doit être sec, chaud et filtré, avec une température de 35°C, et un volume d'air de l'ordre de 1600 m³ par tonne de sucre.

III.4.8)- Stockage et conditionnement

Après séchage, le sucre est tamisé, classé et pesé puis dirigé vers les ateliers de conditionnement où il peut être directement ensaché, conditionné en morceaux ou stocké en silos. Le sucre destiné au stockage en silo est en apparence sec et fluide, mais la cristallisation du sucre se poursuit au cours des premiers jours de stockage ; et s'accompagne d'une libération d'eau qu'il faut éliminer par ventilation des silos (maturation).

Le temps de maturation du sucre est de 48 heures. Un air conditionné circule à l'intérieur des silos avec un débit de 2500 m³ /h en continu, dont le but est de maintenir le sucre dans de bonnes conditions de température et d'humidité, et pour que le sucre soit fluide au moment de la vidange des silos.

III.5)- Variétés du sucre

Afin de tirer le meilleur parti de toutes ces qualités, le sucre est retrouvé en une large variété de formes et de couleurs. Des présentations les plus classiques aux spécialités modernes, l'univers du sucre de canne se compose de huit variétés aux saveurs, arômes et usages spécifiques.

III.5.1)- Sucre blanc cristallisé : Est le plus pur, puisqu'il est constitué à 99,9 % de saccharose. Il est recueilli dans les turbines après concentration sous vide et cristallisation des sirops, au stade final de l'extraction en sucrerie. Il se présente sous la forme de cristaux plus ou moins gros.

III.5.2)- Sucre en poudre : Est obtenu après broyage et tamisage du sucre cristallisé blanc. Il se présente en cristaux d'environ 0,4 mm.

III.5.3)- Sucre glace : Est une poudre blanche impalpable obtenue par le broyage extrêmement fin du sucre cristallisé blanc. De l'amidon est ajouté afin d'éviter son

agglomération. Ses grains sont tellement fins que c'est le sucre qui se dissout le plus rapidement. Il se présente sous forme de cristaux inférieurs à 0,15 mm.

III.5.4)-Sucre en morceaux : Est formé par compression et moulage de cristaux de sucre blanc ou brun encore chauds et humides. Le sucre en morceaux se présente sous la forme de dominos de taille variable.

III.5.5)- Sucre en cubes : Blanc ou brun, est issu du concassage de lingots de sucre de canne, eux-mêmes obtenus par réhumidification, moulage et séchage des cristaux de sucre.

III.5.6)- Mélasse: saccharose 40-50%

C'est un sirop épais et visqueux et est un résidu de raffinage de la canne à sucre. Plus riche en minéraux et vitamines que le sucre blanc, elle est aussi moins calorique.

III.5.7)-Sucre pour confitures : Est une spécialité élaborée pour les confitures, marmelades et gelées de fruits. C'est un sucre cristallisé auquel sont ajoutés des ingrédients qui facilitent la prise des préparations (pectine naturelle de fruits, acide citrique).

III.5.8)-Cassonade : Est un sucre cristallisé brun obtenu directement à l'issue de la première cuisson du jus de canne. Moins pur que le sucre cristallisé blanc, ce sucre brun contient environ 95 % de saccharose ainsi que des impuretés résiduelles (sels minéraux, matières organiques) qui lui donnent sa couleur et ses notes aromatiques.

III.5.9)- Sucre candi : Résulte de la cristallisation, pendant 10 à 12 jours, d'un sirop très pur concentré et chaud. Le sirop est ensuite refroidit lentement à température ambiante. C'est la caramélisation qui lui donne sa couleur brune caractéristique.

III.6)- Propriétés physicochimiques du sucre de table : le saccharose

III.6.1)-Aspect

Le saccharose à l'état pur est un solide sans couleur ni odeur qui possède bien entendu une saveur sucrée. C'est le sucre de table ordinaire, extrait essentiellement de la betterave sucrière et de la canne à sucre.

III.6.2)-Solubilité

Il est soluble dans l'eau (à 0°C, on peut dissoudre jusqu'à 180g de sucre dans 100g d'eau pure : concentration environ égale à 64% en poids), faiblement soluble dans l'éthanol pur solvant polaire et insoluble dans les solvants apolaires (éther, benzène...).

III.6.3)-Inversion ou hydrolyse du saccharose

Elle peut être obtenue soit par :

- **Voie chimique** (chauffage en milieu acide jusqu'à pH 8.5)
- **Voie enzymatique** à pH 4.5 (action de α -glucosidase ou sucrase ainsi que la β -fructosidase ou invertase). Dans l'intestin des êtres humains, l'inversion du saccharose s'effectue à l'aide de ces deux enzymes : l'invertase et la sucrase.

Dans ce cas le saccharose s'hydrolyse de manière irréversible en libérant le glucose et le fructose ; le mélange de quantités équimolaires de sucres réducteurs : fructose et glucose est appelé : sucre inverti (ou interverti).

III.6.4)-Décomposition acide

En milieu acide, la molécule de saccharose se décompose en D-glucose et D-fructose. La décomposition des hexoses se poursuit par la perte d'une molécule d'eau et la formation d'hydroxyméthyl furfural.

III.6.5)-Pouvoir rotatoire :

Lorsqu'il se cristallise, le saccharose forme de longues aiguilles minces faites de cristaux **dextrogyres** (qui dévient vers la droite le plan d'une lumière polarisée). Soumis à une hydrolyse, le saccharose donne un mélange **lévogyre** (qui dévie vers la gauche le plan d'une lumière polarisée) de glucose et de fructose. Le pouvoir rotatoire fortement négatif du fructose (-92°) amène une **inversion** du sens de déviation de la solution d'origine d'où le terme sucre inverti (figure 3).

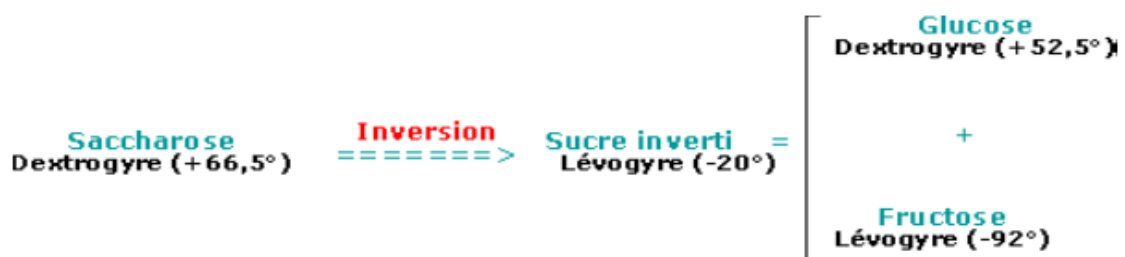


Figure 3 : Inversion du saccharose

Remarque : Notons que le sucre inverti a un pouvoir sucrant plus important que celui du saccharose. Le goût très sucré du miel est dû à sa richesse en sucre inverti.

III.6.6)-Décomposition thermique

- **Point de fusion** : la valeur de point de fusion généralement admise est de 186°C et elle peut varier entre : 182 - 192°C .

- Le saccharose à l'état cristallin est assez stable jusqu'à son point de fusion.
- Lorsqu'il est chauffé au-delà de son point de fusion et en présence de catalyseur acide, le saccharose se transforme en une substance amorphe (qui n'est pas cristallisée), brune et sirupeuse appelée caramel.
- **En ébullition**, il se décompose en glucosane et en fructosane.

III.6.7)-Température d'ébullition et point de congélation

En solution, le saccharose provoque un abaissement de la pression de vapeur, ce qui entraîne une augmentation significative du point d'ébullition et un abaissement du point de congélation. Ces propriétés ont une importance pour la fabrication des produits sucrés qui comportent une ébullition ou une congélation dans leur processus.

Exemple : une solution aqueuse de saccharose à environs 40% de solution va bouillir à partir de 101,2°C, et son point de congélation sera de -4.5°C.

III.6.8)-Activité de l'eau (aw: activity of water)

$$AW = \frac{\textit{pression de vapeur d'eau du produit}}{\textit{pression de vapeur d'eau à la meme temperature}}$$

L'activité de l'eau rend compte de la mobilité des molécules d'eau dans un produit. Lorsque l'aw est faible, cela veut dire qu'une proportion importante de l'eau du produit est liée fortement et n'est plus disponible.

C'est un critère fondamental pour juger la stabilité d'un aliment par rapport aux réactions de dégradation ou à la croissance des micro-organismes.

Dans la phase liquide d'un produit, le sucre se lie aux molécules d'eau ce qui permet d'abaisser l'activité de l'eau, donc de stabiliser le produit.

III.7)- Analyses physico-chimiques du sucre

III.7.1)- Mesure de l'humidité

Principe

Dessiccation dans une étuve sous vide à +60°C et pesée du résidu, en répétant l'opération pour contrôle.

Mode opératoire

- Dessécher la capsule et son couvercle entre +105°C et +110°C.
- La peser, à 0.1mg près, après refroidissement dans un dessiccateur.
- Verser environ 10g de l'échantillon dans la capsule et les peser.

-Maintenir la capsule dans l'étuve sous vide pendant 5h ; la laisser refroidir dans le dessiccateur après l'avoir bouchée avec le couvercle.

-Peser.

Répéter l'opération jusqu'à ce que des séchages d'une heure donnent une différence de poids < à 1mg.

Résultats

Soit p le poids du sucre et p' la perte de poids à l'étuve, exprimés en grammes ; on aura :

$$\text{Humidité (en g) \%} = (p' \times 100) / p$$

Interprétation des résultats

Le sucre raffiné et le sucre blanc cristallisé doivent renfermer moins de 0.25% d'humidité ; les sucres bruts en contiennent des proportions variables, voisines de 2%.

III.7.2)- Détermination des cendres

Il existe deux méthodes

- La 1^{ère} méthode : Par incinération

Principe

Incinération à +800°C en milieu sulfurique pour fixer les cations et pesée du résidu des sulfates. Pour tenir compte du poids apporté par l'anion sulfurique, on multiplie le résultat obtenu par 0.9.

Mode opératoire

-Peser exactement dans la capsule desséchée et tarée 5g environ de sucre, que l'on humecte avec quelques ml d'eau distillée et X gouttes d'acide sulfurique.

-Chauffer au bec Bunsen puis au four électrique à +550°C.

-Au bout de 2 à 3h, lorsque les cendres sont blanches, ou brunes, ajouter à nouveau X gouttes d'acide sulfurique et calciner à +800°C pendant 30min.

-Peser les cendres après refroidissement dans un dessiccateur.

Résultats

Soit p le poids du sucre et p' le poids des cendres, exprimés en grammes ; 0.9 : coefficient pour tenir compte du poids apporté par l'anion sulfurique, on aura :

$$\text{Cendres (en g) \%} = [(p' \times 100) / p] \times 0.9$$

Interprétation des résultats

Le sucre cristallisé ou raffiné contient moins de 0.1% de cendres, le sucre candi moins de 0.3%, les sucres bruts (roux) en contiennent de 0.4 à 2%.

Les cendres entrent en déduction du sucre cristallisable (saccharose) pour la détermination du titre commercial.

➤ **La 2^{ème} méthode : Cendres conductimétriques**

On détermine la conductivité spécifique d'une solution de sucre blanc de 28g/100g et on calcule les cendres équivalentes en utilisant un facteur conventionnel.

Principe

Les cendres conductimétriques dans les solutions à 28g/100g permettant de mesurer la concentration des sels solubles ionisés présents dans les solutions de faibles conductivité.

Mode opératoire

On pèse 28g de sucre blanc dans un bécher de 250 ml en ajustant à 100 g avec de l'eau distillée. Puis on mélange soigneusement la solution jusqu'à la dissolution complète. On mesure la conductivité de cette solution ($C_{\text{mesurée}}$), ainsi que la conductivité de l'eau (C_{eau}) distillé à 20°C.

La conductivité corrigé (C_{28}) de la solution à 28g/100g est donnée par la formule :

$$C_{28} = C_{\text{mesurée}} - 0,35 C_{\text{eau}}$$

$$\text{Cendres conductimétriques (\%)} = 6 \cdot 10^{-4} \cdot C_{28}$$

III.7.3)- Mesure de l'alcalinité

Principe

C'est la quantité de chaux exprimé en g/l de CaO. L'alcalinité doit être contrôlée durant le chaulage de la première et la deuxième carbonatation. Les ions de calcium réagissent avec un acide (HCl) et forment les chlorures de calcium selon la réaction :



Mode opératoire

-Ajouter 2 à 3 gouttes de phénolphtaléine à 28ml de sirop chaulé au carbonate mis dans un bécher, titrer avec HCl (0,1) jusqu'à la zone de virage (changement de couleur du rose à l'incolore).

Expression des résultats

$$\text{Alcalinité (g/l)} = 1,4 V_{\text{HCl}} \cdot N_{\text{HCl}}$$

III.7.4)-Détermination de la coloration**Principe**

La couleur de la solution est déterminée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à partir de la valeur de l'absorbance mesurée à 420 nm.

Mode opératoire

On pèse 50g de sucre blanc et on ajuste à 100 g avec de l'eau distillée filtrée, on dissout le sucre, puis on filtre la solution à travers une membrane filtrante de 0,45 µm de porosité.

On jette la première fraction de la solution, puis on récupère le filtrat dans un bécher propre et sec.

On ajuste le pH du filtrat à 7 ± 0.1 , par l'ajout de fines gouttelettes de solution de NaOH 0.1N ou d'HCl 0.1N.

Avec un spectrophotomètre UV-visible, on lit l'absorbance de la solution à 420 nm dans une cellule de 1 cm, après avoir annulé l'absorbance de l'eau distillée filtrée.

On lit le brix de la solution, puis on calcule la couleur à partir de la formule incluse dans le logiciel Cléopâtre.

Expression des résultats

$$\text{Couleur} = \frac{A_s * 1000}{b * c}$$

As : Absorbance de la solution à 420 nm

b : longueur de la cellule en cm

c : concentration de la solution de sucre en g/ml.

III.7.5)- Dosage des sucres réducteurs**Principe**

Une solution de sucre est chauffée dans un bain d'eau bouillant avec un réactif alcalin cuivrique. Les ions sont réduits en oxyde cuivreux par les sucres réducteurs présents.

Après refroidissement, les ions cuivriques résiduels sont titrés à l'EDTA en utilisant le murexide comme indicateur coloré.

Mode opératoire

On pèse 5g de sucre blanc dans un tube à essai en ajoutant 5ml d'eau distillée, puis on agite jusqu'à dissolution complète.

On ajoute 5ml de solution alcaline au cuivre, on apporte le tube dans un bain d'eau bouillant pendant 5mn exactement.

On refroidit immédiatement le tube à l'eau courante et on transvase le contenu du tube et les eaux de rinçage dans un erlenmeyer en ajoutant une pincée de murexide.

On titre la solution avec l'EDTA à 0.005 mol/l jusqu'au virage de la couleur du vert au pourpre et on note le volume de titrage (T).

Expression des résultats

La teneur en sucres réducteurs est calculée en % par rapport au volume de titrage

III.7.6)- Dosage des sulfites dans le sucre blanc

Cette méthode se base sur le dosage colorimétrique du SO₂ et n'est applicable qu'aux sucres blancs.

Principe

On mesure la couleur d'un complexe sulfite/ rosaniline par photométrie, à une longueur d'onde proche de 560 nm, après réaction avec le formaldéhyde.

Mode opératoire

Dissoudre entre 10 et 40g d'un échantillon de sucre blanc en solution aqueuse dans une fiole jaugé de 100ml.

- Ajouter 4ml de NaOH à 0,1mol/l,
- Ajuster avec de l'eau distillée au trait de jauge,
- Transvaser 10 ml dans un tube à essai propre et sec,
- Ajouter 2 ml de la solution rosaniline décolorée,
- Ajouter 2 ml de la solution de formaldéhyde,
- Laisser reposer les tubes à température ambiante pendant 30 min.

Mesure l'absorbance dans une cellule de 1cm à 560 nm, en utilisant de l'eau distillée comme référence.

Expression des résultats

$$M SO_2 (g)/Kg \text{ de sucre} = \frac{(\mu g SO_2 \text{ de la courbe}) \cdot 10}{\text{masse prise d'essai}}$$

$\mu g SO_2$ de la courbe d'étalonnage = ((c.n)/10).

c : est la teneur en sulfite

n : est le nombre de ml de solution de sulfite diluée (courbe d'étalonnage)

Références bibliographiques

- AFNOR.** (2011) Contrôle de la qualité des produits laitiers –Analyses physiques et chimiques, 3^{ème} édition.
- Alais, C,** Linden. G et Miclo. L. (2008). Biochimie alimentaire, Dunod 6^{ème} édition. Paris.88.
- Ait Amar, A,** (1981). Cours de technologie du sucre. Institut national des industries légères Boumerdes- Alger.
- Arzate. A.** (2005). Extraction et raffinage du sucre de canne, Revue de l'ACER (Centre de recherche, de développement et de transfert technologique en acériculture), Saint-Norbert-d'Arthabaska, novembre.
- Boulfane et al.** J. Appl. Biosci. Journal of Applied Biosciences 87 (2014)8022– 8029
- Bonie. D.** (2004). Cours de technologies industrielles: l'usine agroalimentaire, école polytechnique universitaire de Lille.
- Boumedine. F. H,** (2017). Etude des bactéries thermorésistante du lait. Université Mustapha Stambouli, Maskara. 147p.
- Corinne. M,** (1989). Les aliments : les produits sucrés. Le sucre. Eds. Maloine, 200.
- Hadj .S et al.** Revue Agrobiologia (2018) 8(1) : 706-718.
- Jeauntet. R.,** Croguennec. T., Mahaut. M., Schuck. P. et Brule. G., (2008).Les produits laitiers ,2^{ème} édition, Tec et Doc, Lavoisier : 1-3-13-14-17.
- Journal Officiel de la République Algérienne (2017), N°69.
- Manuel des corps gras. A. Karleskind. (1992).
- Haddam. M.** et al. : OCL (2014) 21(5) D507
- Mathlouthi. M.** et Reiser. P. (1995). Le saccharose. In : « propriétés et application ». Edition française polytechnique
- Mathieu. J,** (1999). Initiation à la physicochimie du lait, Tec et Doc, Lavoisier, Paris : 3-190.
- Ollé. M.,** (2002). Analyse des corps gras. Bases document : technique d'analyse ; référence P3325 ; Ed. Techniques de l'ingénieur.
- Romain. J.,** Thomas. C., Pierre. S. et Gérard. B. (2007). Science des aliments. Lavoisier, Tec et Doc.
- Pougheon. S.** (2001) Contribution a l'étude des variations de la composition du lait et ses conséquences en technologie laitière, Ecole Nationale Vétérinaire Toulouse, France : 34.

ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES, COMPOSITION DES HUILES VEGETALES (Principe et protocole)

I.1)-Analyses physico-chimiques

I.1.1)-Détermination de la densité

La densité de l'huile est définie comme étant le rapport de la masse volumique de l'huile sur celle de l'eau ou bien le rapport de la masse d'huile sur celle de l'eau dans un volume déterminé à une température donnée.

Son principe est basé sur la mesure de la masse, à une température ambiante, d'un volume de corps gras contenu dans un pycnomètre préalablement étalonné à la même température.

La méthode est basée sur la formule suivante :

$$d_{20} = \frac{M_2 - M_0}{M_1 - M_0}$$

M₀: Masse en gramme du pycnomètre vide.

M₁: Masse en gramme du pycnomètre rempli d'eau.

M₂: Masse en gramme du pycnomètre rempli d'huile.

I.1.2)-La viscosité

La viscosité est l'ensemble des forces constituées par les forces de frottements entre les différentes couches d'un fluide qui glissent les unes sur les autres et que nous appelons forces de cohésion qui prennent naissance au niveau moléculaire. La viscosité est mesurée avec un viscosimètre capillaire.

Réactifs ·

- Chloroforme
- Eau distillée

Mode opératoire

- Laver et sécher le viscosimètre;
- Mettre de l'eau distillée dans le viscosimètre et attacher la poire au viscosimètre;
- Aspirer l'eau jusqu'au remplissage de l'ampoule ;
- Détacher la poire et prélever le temps de vidange de l'ampoule ;
- Laver le viscosimètre de nouveau avec le chloroforme et sécher ;
- Faire la même opération pour l'huile.

Et appliquer la relation suivante pour avoir la viscosité :

$$\mu_2/\mu_1 = d_1 * t_2 / d_2 * t_1$$

d_1 : masse volumique de l'eau

d_2 : masse volumique de l'huile

μ_1 : viscosité de l'eau (10^{-3} Pa.S ou N. S/m² ou poiseuille).

μ_2 : viscosité de l'huile

t_1 : temps d'écoulement de l'eau

t_2 : temps d'écoulement de l'huile

I.1.3)-Teneur en eau et en matière volatiles

La teneur en eau et en matière volatiles d'un corps gras est définie comme étant la perte de la masse subie par ce produit après son chauffage à $103 \pm 2^\circ\text{C}$.

Cette technique consiste à chauffer une prise d'essai jusqu'à l'élimination de l'eau des matières volatiles et calcul de la perte de masse. On pèse 5 ou 10 g de l'huile d'olive dans une capsule préalablement séchée et tarée cette prise d'essai est maintenue dans l'étuve, réglée à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant une heure.

Après refroidissement dans un dessiccateur jusqu'à la température ambiante .La capsule remplie d'huile séchée à 0.001g près est pesée.

La perte en eau et en matières volatiles (m.v) exprime en pourcentage est exprimé par l'expression suivante :

$$Teneur\ en\ eau\ et\ en\ m.v(\%) = \frac{M_1 - M_0}{M_1 - M_0} \times 100$$

m_0 : masse en gramme de la capsule.

m_1 : masse en gramme de la capsule contenant la prise d'essai avant le chauffage.

m_2 : masse en gramme de la capsule après le chauffage.

I.1.4)-Détermination de l'absorbance spécifique en rayonnement UV-visible

Cette méthode consiste à mesurer l'absorbance d'un échantillon de corps gras en solution dans un solvant aux longueurs d'onde de 232nm et 270nm à l'aide d'un spectrophomètre UV-visible.

La relation donnant les résultats de l'extinction est :

$$K_\lambda = \frac{E_\lambda}{S \times C}$$

K_{λ} : extinction spécifique à la longueur d'onde ;
 E_{λ} : densité optique à la longueur d'onde ;
S : épaisseur de la cuve (cm) ;
C: concentration de la solution à analyser (g/100ml).

Réactif

Hexane pure.

Mode opératoire

Peser à 0.0001 g près de 0,05 à 0,25 g d'huile dans une fiole jaugée de 25 ml. Dissoudre cette prise d'essai avec de l'hexane et compléter jusqu'au trait de jauge. Mesurer l'absorbance de la solution de matière grasse dans une cuve en quartz par rapport à celle du solvant utilisé à l'aide d'un spectrophotomètre à la longueur d'onde de 232 et 270 nm.

I.1.5)-Détermination de l'acidité (A%)

On définit l'indice d'acide comme étant le nombre de milligrammes de potasse nécessaires pour neutraliser les acides gras libres d'un gramme de corps gras.

Cette méthode consiste à mettre une prise d'essai dans un mélange de solvant (éthanol-étherdiéthylique (50/50 (V/V)), puis titrage des acides gras libres à l'aide d'une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium en présence de la phénolphtaléine (indicateur coloré). L'acidité est donnée par la relation suivante :

$$A\% = \frac{N \times M \times V \times 100}{m \times 1000}$$

V: volume de la solution de KOH utilisé en ml ;

N: normalité de la solution de KOH utilisé en mol/l ;

M: masse molaire d'acide gras en g/mole ;

m: masse de la prise d'essai en g.

Réactifs

- Mélange 1+1 (en volume) d'oxyde diéthylique et d'éthanol 96%.
- Hydroxyde de potassium : solution 0,1 N.
- Phénolphthaléine.

Mode opératoire

Peser à 0.01g près 2g d'huile. Ajouter à la prise d'essai 50 ml du mélange à parties égales d'éthanol et d'oxyde diéthylique. Titrer en agitant énergiquement avec la solution éthanolique d'hydroxyde de potassium 0.1 N jusqu'au virage de l'indicateur coloré. On note le volume de KOH.

I.1.6)-Détermination de l'indice de peroxyde (IP)

L'indice de peroxyde d'un corps gras est le nombre de milliéquivalents d'oxygène contenus dans un kilogramme de produit et oxydant l'iodure de potassium avec libération d'iode.

Le principe consiste à traiter une prise d'essai dissoute dans une solution d'acide acétique et de chloroforme avec une solution d'iodure de potassium. L'iode libéré est par la suite titré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon comme indicateur coloré.

L'indice de peroxyde est donné par la formule suivante :

$$IP = \frac{(V_2 - V_1) \times N \times 1000}{m}$$

V_1 : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en ml ;

V_2 : volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé en ml ;

N : normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée en eqg/l ;

m : masse de la prise d'essai en g.

Réactifs

- Chloroforme.
- Acide acétique.
- Iodure de potassium : solution aqueuse saturée.
- Thiosulfate de sodium : solution 0.01 N.
- Empois d'amidon.

Mode opératoire

Dans un flacon de 250 ml, on introduit 2g d'huile que l'on dissout dans 10 ml de chloroforme et 15 ml d'acide acétique. Ajouter 1ml de solution d'iodure de potassium, boucher aussitôt le flacon, l'agiter pendant une minute et l'abandonner pendant cinq minutes à l'abri de la lumière puis ajouter 75 ml d'eau distillée. Titrer en agitant vigoureusement et en présence

d'empois d'amidon comme indicateur, l'iode libéré avec la solution de thiosulfate de sodium 0.01 N.

Effectuer sans le corps gras un essai à blanc.

I.1.7)-Détermination de l'indice de saponification

L'indice de saponification est le nombre en milligrammes de potasse caustique (KOH), nécessaire pour transformer en savon les acides gras et les triglycérides d'un gramme de produit. Cet indice est déterminé en soumettant notre échantillon à ébullition (à reflux) avec une solution éthanolique d'hydroxyde de potassium à 0,5 N. Cet excès est ensuite titré par une solution d'acide chlorhydrique à 0,5 N en présence de phénophtaléine.

L'indice de saponification est donné par la relation suivante :

$$IS = (V_0 - V) \cdot (56,1 \times N) / m$$

V_0 : Volume en ml de la solution d'HCl utilisée pour l'essai à Blanc.

V_1 : Volume en ml de la solution d'HCl utilisée pour l'échantillon.

N : Normalité exacte de la solution d'HCl utilisée (0,5N).

m : Masse en gramme de la prise d'essai (2g).

Réactifs

-Hydroxyde de potassium : solution environ 0.5N dans l'éthanol 96%

-Acide chlorhydrique : solution aqueuse titrée 0.5N.

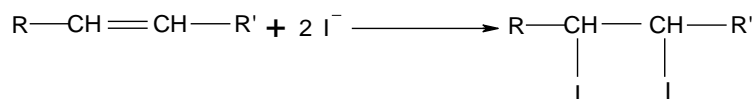
-Phénolphtaléine.

Mode opératoire

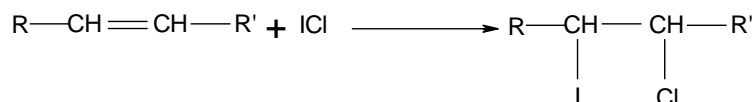
Peser 2g de matière grasse dans un ballon à fond plat, ajouter 25ml d'une solution d'hydroxyde de potassium 0.5N, porter le tout à ébullition sous un réfrigérant à reflux. Maintenir l'ébullition pendant une heure en agitant de temps en temps. Titrer l'excès d'alcool, dans la solution savonneuse chaude avec une solution d'acide chlorhydrique 0.5N en présence de phénolphtaléine.

I.1.8)-Détermination de l'indice d'iode

L'indice d'iode renseigne sur le degré d'insaturation d'un acide gras. Cette insaturation facilite le rancissement du corps gras. L'indice d'iode d'un corps gras est le nombre de g d'halogène fixés par 100g de corps gras exprimé en iode selon la réaction suivante :



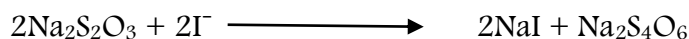
Le principe de la manipulation consiste en l'addition, à une prise d'essai (se trouvant en solution dans le tétrachlorure de carbone) d'un excès de réactif de Wijs (réactif composé de monochlorure d'iode en solution dans un mélange d'acide acétique et de tétrachlorure de carbone).



Après le temps de réaction, l'excès d'iode est réduit par une solution aqueuse d'iodure de potassium selon la réaction suivante :



L'iode libéré est alors titré par une solution de thiosulfate de sodium à 0,1N.



L'indice d'iode est donné par la relation suivante :

$$II = \frac{12,96 \times N \times (V_0 - V_1)}{m}$$

V_0 : Volume, en ml, de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour essai à blanc.

V_1 : Volume, en ml, de la solution de thiosulfate de sodium utilisée pour l'échantillon.

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium utilisée 0,1N.

m : Masse, en grammes, de la prise d'essai en g.

12,69 : Nombre de gramme d'iode correspondant à 1 ml de thiosulfate 1N.

Réactifs

-Solution d'iodure de potassium : solution saturée.

-Solution d'amidon.

-Solution volumétrique standard de thiosulfate de sodium : solution 0.1N.

-Solvant préparé en mélangeant des volumes égaux de cyclohexane et d'acide acétique.

-Réactif de Wijs.

Mode opératoire

Introduire 0,2g d'huile dans une fiole de 500ml ajouter 20ml du solvant a volume égale cyclohexane et acide acétique, ajouter exactement 25ml du réactif de Wijs, boucher, agiter énergiquement le contenu et placer la fiole dans un endroit sombre pendant une heure, puis ajouter 20ml de la solution saturé de l'iodure de potassium et 150ml d'eau, boucher et agiter vigoureusement pendant 5mn.

Titrer avec une solution de thiosulfate de sodium jusqu'à ce que la couleur jaune due à l'iode ait pratiquement disparu.

Ajouter quelques gouttes de la solution d'amidon et poursuivre le titrage jusqu'au moment ou la couleur bleue disparaît après avoir agité le contenu.

On effectue la même détermination avec un essai à blanc (sans corps gras) dans les mêmes conditions.

I.1.9)-Détermination de l'indice de réfraction

a)-Réfractométrie

L'indice de réfraction est une caractéristique physique souvent utilisée dans les analyses des produits industriels ou naturels afin d'en vérifier la pureté. On peut aussi l'utiliser pour caractériser une solution, notamment aqueuse, au cours du processus de fabrication (sucrierie, confitures).

L'indice de réfraction relie le sinus de l'angle d'incidence à celui de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile maintenue à une température constante.

But

Le but de cette technique est de déterminer l'indice de réfraction d'une huile qui indique le mode de réfraction de la lumière en traversant l'échantillon d'huile.

Principe

L'échantillon est placé au contact de l'une des faces d'un prisme, d'indice de réfraction supérieur à celui de l'échantillon. L'ensemble est illuminé par une gamme de rayons rasant la face de contact. Les rayons réfractés délimitent plus ou moins nettement une zone claire et une zone sombre.

La limite forme un angle qui dépend de l'indice de réfraction de l'échantillon. La mesure consiste donc à ramener cette ligne de séparation en position droite et lire l'indice sur l'échelle supérieure.

Ainsi, la valeur affichée correspond à celle de l'indice de réfraction, noté n_D^t . Il faut noter que cette valeur de l'indice de réfraction varie en fonction de la température et des éventuelles impuretés que renferme le produit.

Mode opératoire

Avant toute manipulation, l'appareil est étalonné avec de l'ED à la température de la salle et à celle de l'appareil. Il est important d'attendre 5 à 10 min pour que la température soit stable. Cette température doit être vérifiée après chaque prise. Deux gouttes de l'échantillon d'huile sont déposées sur le prisme de l'appareil. Après le dépôt, l'appareil est refermé, la ligne de séparation est ramenée verticalement et enfin, l'indice de réfraction est lu dans l'oculaire du réfractomètre. Pour des températures différentes de 20°C, la valeur de l'indice est donnée par la formule suivante :

$$n_D^t = n_D^{t'} + 0,0004(t' - t)$$

Où $n_D^{t'}$ est la valeur lue obtenue à la température t' , à laquelle a été effectuée la détermination et n_D^t est la valeur de l'indice de réfraction à la température de référence $t = 20^\circ\text{C}$. Le résultat est exprimé avec quatre décimales.

Notons que pour un même échantillon, la mesure de la réfractométrie est effectuée trois fois et on prend la moyenne des 3 valeurs.

I.1.10)-Détermination du pouvoir rotatoire

a)-Polarimétrie

Il s'agit d'une opération qui permet de rechercher l'activité optique aléatoire d'un produit en solution ou d'un liquide. Elle est réalisée suivant les indications de la norme ISO 592: 1998. Cette technique a pour objectif de déterminer la valeur de l'angle de rotation, exprimée en milliradians ou en degré d'angle du plan de polarisation de la lumière. Ceci après que cette dernière ait traversé certaines substances pouvant faire dévier le plan de vibration. Des substances douées d'une telle propriété appelée « pouvoir rotatoire » sont qualifiées d'optiquement actives. Il s'agit d'isomères appelés énantiomères.

Principe

Le passage d'un faisceau lumineux à travers un échantillon optiquement provoque une déviation du plan de vibration d'un rayon de lumière polarisée. Le pouvoir rotatoire correspond à l'angle de déviation de ce plan de vibration. La capacité de la substance à dévier la lumière est variable :

- Si la substance est lévogyre, le plan de vibration bascule vers la gauche ;

- Si la substance est dextrogyre, le plan de vibration est dévié du côté droit.

Appareillage

- Polarimètre, d'une précision au moins égale à $\pm 0,5$ mrad ($\pm 0,03^\circ$), et réglé de façon à donner 0° à 100° avec l'eau.
- Tubes d'observation, en général de $100 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$ de longueur

Réactifs

- Les réactifs doivent être de qualité analytique. L'eau utilisée doit être de l'eau distillée ou de l'eau de pureté au moins équivalente
- Ethanol

Mode opératoire

Après avoir rempli d'eau distillée un tube de 100 mm de longueur, celui-ci est placé dans le polarimètre afin d'étalonner l'appareil. Une fois le tube vidé, il est nettoyé avec de l'éthanol et séché au moyen d'un papier filtre pour ensuite y mettre l'huile. Le tout est placé de nouveau dans le polarimètre afin de le confronter à la lumière polarisée durant 15 min.

La valeur de l'angle de rotation du plan est ainsi mesurée et lue sur l'oculaire de l'appareil. Noté α_D^t , le pouvoir rotatoire du produit est exprimé en milliradians et/ou degrés d'angle, à la température t et se calcule comme suit :

$$\alpha_D^t = \frac{A}{l} \times 100$$

Où :

A : la valeur de l'angle de rotation, en milliradians et/ ou degrés d'angle ;

l : la longueur du tube utilisé, en mm.

Deux essais pour le même produit sont nécessaires, le volume de celui-ci devant être suffisant pour remplir totalement le tube.

I.2)-Composition

I.2.1)- Détermination des insaponifiables

L'insaponifiable d'une matière grasse est l'ensemble des composés extractibles par solvants des lipides après saponification du corps gras par une solution de potasse.

Le principe de la manipulation repose sur la saponification d'une prise d'essai de 5g d'huile par une solution de potasse éthanolique (2N) à chaud, pendant 20 minutes. Les substances insaponifiables sont extraites par l'éther éthylique puis lavées avec de l'eau jusqu'à réaction

neutre de lavage. L'évaporation du solvant se fait par un évaporateur rotatif et le résidu restant représente les insaponifiables. La teneur des insaponifiables est déterminée par la relation suivante :

$$\text{Teneur en insaponifiable (\%)} = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

m_1 : Masse, en gramme, du résidu séché.

m_2 : Masse, en gramme, de la prise d'essai.

Réactifs

- Hydroxyde de potassium 0,5N
- Oxyde diéthylique neutre
- Acétone
- Ethanol 95% récemment distillé.
- Hydroxyde de potassium : solution éthanoïque titré 0,1N
- Phénolphaléine

Mode opératoire

✓ Saponification

Peser à 0,01g près, environ 5g de l'échantillon pour essai. Ajouter 50ml de solution éthanolique d'hydroxyde de potassium. Adapter le réfrigérant à reflux et laisser bouillir doucement pendant une heure. Arrêter le chauffage et ajouter par le haut du réfrigérant environ 100ml d'eau distillée et agiter.

✓ Extraction

Après refroidissement, transvaser le contenu de la fiole conique dans une ampoule à décanter (A). Rincer la fiole à plusieurs reprises avec au total 100ml d'oxyde diéthylique et verser dans (A) le liquide de rinçage. Boucher et agiter vigoureusement pendant une minute en équilibrant périodiquement la pression par retournement de l'ampoule et ouverture du robinet.

Laisser reposer jusqu'à séparation complète des deux phases, et recueillir la phase savonneuse dans une seconde ampoule à décanter (B). Répéter l'extraction de la phase savonneuse deux fois encore en utilisant à chaque fois 100ml d'oxyde diéthylique. Rassembler les trois extraits étherés dans une ampoule à décanter (C). Après séparation des deux phases, éliminer la phase aqueuse et laver la phase étherée deux fois avec environ 40 ml d'eau distillée en agitant vigoureusement et en éliminant à chaque fois le liquide de lavage. Puis opérant de même en lavant successivement avec environ 40ml de KOH (0,5N), environ 40ml d'eau distillée, de nouveau avec KOH (0,5N) et encore au moins deux fois avec environ 40ml d'eau distillée.

✓ Détermination

Par le haut de l'ampoule, transvaser quantitativement la phase étherée dans un ballon séché et taré, en opérant en plusieurs fois et en faisant évaporer à chaque fois l'oxyde diéthylique par distillation sur bain d'eau bouillante. Rincer l'ampoule avec un peu d'oxyde diéthylique, transvaser le liquide de rinçage dans le ballon et évaporer comme ci-dessus :

Ajouter 5ml d'acétone et éliminer complètement le savon volatil en s'aidant d'un léger courant d'air, terminer le séchage à l'étuve à 103°C jusqu'à stabilisation de la masse.

I.2.2)- Détermination des acides gras

La détermination des acides gras est effectuée par chromatographie phase gazeuse (CPG). Le principe de ces techniques repose sur la transformation des acides gras en dérivés esters d'acides gras ou esters méthyliques.

Préparation des ester éthyliques d'acides gras

Réactifs

- Hydroxyde de sodium : solution méthanolique 0,5N.
- Trifluorure de bore : sodium méthanolique de 12 à 15%
- Heptane
- Sulfate de sodium anhydre.
- Chlorure de sodium : solution aqueuse saturée.

Mode opératoire

✓ Saponification

On introduit une prise d'essai d'environ 350mg dans un ballon de 50ml. On ajoute 6 ml de la solution méthanolique d'hydroxyde de sodium et on adapte le réfrigérant sur le ballon. On porte à l'ébullition à reflux jusqu'à disparition des gouttelettes de matière grasse (cette opération dure en général 5 à 10minutes).

✓ Préparation des esters méthyliques

Dans le mélange maintenu à l'ébullition, on ajoute 7ml de la solution méthanolique de F₃B, On poursuit l'ébullition pendant 2minutes.

On ajoute ensuite au mélange bouillant 2 à5 ml d'heptane par le haut du réfrigérant et on poursuit l'ébullition pendant 1minute.

On arrête le chauffage puis on débranche le réfrigérant. On ajoute un peu de solution saturée de chlorure de sodium, et on agite doucement le ballon plusieurs fois par rotation.

On continue à ajouter de la solution saturée de chlorure de sodium pour amener la hauteur du liquide au col du ballon

I.2.3)-Détermination de la teneur en composés phénoliques

Réactifs

- Hexane pur.
- Solution aqueuse de méthanol à 60%
- Réactif de Folin Denis.
- Solution saturée de carbonate de sodium Na_2CO_3
- Méthanol pur.
- Acide gallique : solution standardisée (on dissout 0,4g d'acide gallique dans 100 ml d'eau distillée).
- Eau distillée.

Mode opératoire

✓ Courbe d'étalonnage

On dilue la solution standardisée de l'acide gallique de manière à obtenir les concentrations suivantes : 0,025, 0,05, 0,1, 0,2 mg dans un ml de la solution.

On dilue 0,5ml de chacune de ces solutions standardisées dans 10ml d'eau distillée. On ajoute 0,5ml du réactif de Folin Denis puis on laisse reposer pendant trois minutes. On ajoute ensuite 1ml de la solution saturée de Na_2CO_3 , la couleur bleue apparaît.

On mesure la densité optique (D) des solutions standardisées avec un spectrophotomètre UV-visible à 750 nm.

✓ Extraction des composés phénoliques

Une fois l'échantillon dissous dans 10ml d'hexane, on procède à l'extraction des polyphénols successivement dans trois volumes de 5ml dans la solution de méthanol à 60%.

L'extrait phénolique est séparé du méthanol et séché à l'air libre à une température \leq à 40°C. On garde les extraits riches en composés phénoliques à -20°C jusqu'à utilisation.

✓ Détermination de la teneur en composés phénoliques.

On dilue 0,5 ml de chaque extrait riche en composés phénoliques dans 10ml d'eau distillée. On ajoute 0,5ml du réactif de Folin Denis, après 3minutes, on rajoute 1ml de la solution saturée de Na_2CO_3 . On agite et on laisse à l'obscurité pendant 1heure jusqu'à apparition d'une coloration bleue.

On mesure la densité optique des solutions contre l'essai à blanc par un spectrophotomètre UV-visible à 750 nm.

I.2.4)- Détermination de la chlorophylle

Les chlorophylles jouent un rôle important dans la stabilité oxydative de l'huile d'olive, grâce à leur activité antioxydant dans l'obscurité et pro-oxydante dans la lumière. En raison de ce dernier effet, elles sont considérées comme étant non désirables à des teneurs élevées dans l'huile.

La méthode de dosage de la chlorophylle est basée sur l'existence d'une bande d'absorption spécifique pour ce composé donné par un spectrophotomètre visible.

La méthode consiste à dissoudre 7,5g d'huile d'olive dans le cyclohexane jusqu'à un volume final de 25 ml.

$$\text{Chlorophylle (mg/kg)} = A_{670} \times 10^6 / 613 \times 100 \times d$$

A : absorbance à la longueur d'onde indiquée ;

d : épaisseur de la cuve en cm.

I.2.5)-Détermination des caroténoïdes

Les caroténoïdes, en particulier le β -caroténoïdes, sont des antioxydants efficaces en raison de leur capacité à éteindre les radicaux libres de l'oxygène.

La méthode de dosage des caroténoïdes est basée sur l'existence d'une bande d'absorption pour ce composé donné par le spectrophotomètre visible.

La méthode est consistée à dissoudre 7.5g d'huile d'olive dans du cyclohexane jusqu'à un volume fin de 25 ml.

$$\text{Caroténoïde (mg/kg)} = A_{470} \times 10^6 / 2000 \times 100 \times d$$

A : absorbance à la longueur d'onde indiquée ;

D : épaisseur de la cuve en cm.

ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES DU LAIT

II.1)-Analyses physico-chimiques

II.1.1) Test d'ébullition

Un lait qui n'est pas frais présente une structure de caséines particulièrement instables. Dès lors, un simple traitement thermique suffit à les précipiter.

Mode opératoire

- Dans un tube introduire 2 à 5ml de lait et porter à l'ébullition.

Expression des résultats

Si le lait est normal, le liquide reste homogène après quelques instants il se forme en surface une pellicule blanche, plissée (formée principalement de calcium, de protides et de matière grasse), les laits acidifiés (au 25°D) coagulent par ébullition.

II.1.2)-Détermination de la densité

Définition

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

Principe

La densité est déterminée à 20°C par lactodensimètre.

Appareillage

- Lactodensimètre avec thermomètre incorporé,
- Eprouvette cylindrique sans bec, de hauteur apportée à celle de lactodensimètre et de diamètre intérieur supérieur de 9 mm au moins au diamètre de la carène de lactodensimètre.

Mode opératoire

- Verser le lait dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse ou de bulles d'air,
- Remplir l'éprouvette jusqu'à un niveau tel que le volume restant soit inférieur à celui de la carène du lactodensimètre (il est commode de repérer ce niveau par un trait de jauge sur l'éprouvette),
- L'introduction de lactodensimètre dans l'éprouvette pleine de lait provoque un débordement de liquide, ce débordement est nécessaire, il débarrasse la surface du lait des traces de mousse qui gêneraient la lecture.
- Placer l'éprouvette ainsi remplie en position verticale, il est recommandé de la plonger dans le bain à 20°C lorsque la température du laboratoire n'est pas comprise entre 18°C et 22°C.

- Plonger doucement le lactodensimètre dans le lait en le maintenant dans l'axe de l'éprouvette en le retournant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre.
- Attendre trente secondes à une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation, cette lecture étant effectuée à la partie supérieure du ménisque, lire la température.

Expression des résultats

La densité du lait est une grandeur sans dimension.

Corrections

- Si le lactodensimètre est utilisé à une température autre que 20°C, une correction de la lecture doit être faite de la façon suivante :
- Si la température du lait au moment de la mesure est supérieure à 20°C, augmenter la densité de 0.0002 par degré au-dessus de 20°C.
- Si la température du lait au moment de la mesure est inférieure à 20°C, diminuer la densité lue de 0.0002 par degré au-dessous de 20°C.

II.1.3)-Détermination de l'acidité titrable

Définition

L'acidité titrable du lait est exprimée en gramme d'acide lactique par litre de lait.

Principe

Titration de l'acidité par l'hydroxyde de sodium en présence de phénolphthaléine comme indicateur.

Réactifs

- Solution de phénolphthaléine à 1% (m/v) dans l'éthanol à 95%.
- Solution titrée d'hydroxyde de sodium 0.1N.

Appareillage

- Pipette à lait de 10 ml ou seringue de précision réglée à 10 ml ou balance analytique.
- Burette graduée en 0.05 ou en 0.1 ml permettant d'apprécier la demi-division.
- Bêchers.

Mode opératoire

- Dans un bécher introduire 10 ml de lait prélevé à la pipette, ou peser à 0.001g près, environ 10g de lait,
- Ajouter dans le bécher quatre gouttes de la solution de phénolphthaléine,
- Titrer par la solution d'hydroxyde de potassium 0.1N jusqu'à virage au rose, facilement perceptible par comparaison avec un témoin constitué du même lait.

- On considère que le virage est atteint lorsque la coloration rose persiste pendant une dizaine de secondes,
- Effectuer au moins deux déterminations sur le même échantillon préparé.
- Noter le nombre de ml versés.

Résultats

Les résultats sont exprimés en degrés Dornic, c'est-à-dire en dg d'acide lactique par litre. Chaque 1/10 de ml de soude N/9 correspond donc à 1mg d'acide lactique contenu dans 10 ml de lait soit à 1 dg contenu dans 1 litre de lait.

1dg d'acide lactique par litre= 1 degré Dornic

II.1.4)- Dosage des protéines : Méthode « SORENSEN »

Appareillage

- Tube à essai avec bouchons.
- Pipettes de 1ml, 2ml et 10 ml et une pipette graduée.
- Erlenmeyer.

Réactifs

- Phénolphtaleine (1%)
- Soude (NaOH à 0.1N)
- Solution d'oxalate de sodium (saturée).
- Formol

Mode opératoire

a-Préparation du tube de comparaison

- Dans un tube à essai, mettre 1ml de phénolphtaléine puis remplir le tube de lait.
- Neutraliser avec de la soude (NaOH 0.1N) jusqu'à obtention d'une coloration rose pâle.

Attention

Bien boucher le tube, et ne laisser presque pas l'air entre le bouchon et le liquide afin d'éviter la décoloration de l'échantillon par le CO₂.

- Conserver ce tube pendant toute l'analyse, car il servira de tube de comparaison.

b-Dosage

- Dans l'érlen mettre :
- 10ml de lait
- 1ml de phénolphtaléine

- 0,4ml d'une solution d'oxalate de sodium (saturée).
- Laisser reposer 2mn. L'oxalate de Na élimine les sels de calcium solubles qui gênent le dosage.
- Neutraliser avec de la soude (NaOH 0.1 N) jusqu'à égalité de teinte avec le tube de comparaison
- Ne pas tenir compte du nombre de ml de NaOH utilisés. On prend cette teinte comme point de repère.
- Ajouter 2 ml de formol, le tube se décolore.
- Titrer avec NaOH (0.1N) jusqu'à égalité de teinte avec le tube de comparaison.
- Noter le volume de soude utilisé : Soit n ml de NaOH (N/10).

c- Essai à Blanc ou Témoin

- Faire un témoin pour déterminer l'acidité du formol lui-même.
- Dans un tube à essai mettre :
- 10 ml de l'eau distillée.
- 1 ml de phénolphtaléine
- 2 ml de formol et 0.4 ml d'oxalate de Na.
- Titrer avec NaOH (0.1 N) jusqu'à obtention de la couleur du tube de comparaison.
- Soit n' le nombre de ml de soude utilisés.
- Le pourcentage approximatif des protéines dans le lait est donnée par la relation : $(n-n') \cdot 1.7$

II.1.5)-Dosage de la matière grasse (méthode acido-butyrométrique)

Définition

La méthode acido-butyrométrique est une technique conventionnelle qui lorsqu'elle est appliquée à un lait entier de teneur en matière grasse moyenne et de masse volumique moyenne à 20°C donne une teneur en matière grasse exprimée en grammes pour 100g de lait ou 100 ml de lait.

Principe

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

Réactifs

- Acide sulfurique concentré $\rho_{20} = 1.820 \pm 0.005$ g/ml, incolore ou à peine ambré ne contenant aucune impureté pouvant agir sur le résultat.
- Alcool amylique, exempt de furfural (densité 0,815, point d'ébullition de $130^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Appareillage

- Butyromètre à lait muni d'un bouchon approprié,
- Pipette à lait de 1 ml à un seul trait,
- Pipette ou système automatique permettant de délivrer $10.0 \text{ ml} \pm 0.2 \text{ ml}$ d'acide sulfurique,
- Pipette ou système automatique permettant de délivrer $1.00 \text{ ml} \pm 0.05 \text{ ml}$ d'alcool amylique,
- Centrifugeuse GERBER, dans laquelle les butyromètres peuvent être placés munie d'un indicateur de vitesse donnant le nombre de tours à la minute à $\pm 50 \text{ tr/mn}$ maximum près,
- Bain d'eau à la température de $65^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$,
- Thermomètre approprié destiné à vérifier la température du bain d'eau.

Mode opératoire

a-Préparation du butyromètre à la prise d'essai

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

b-Dissolution des protéines

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

c-Centrifugation

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

d-Lecture

- Sortir le butyromètre verticalement du bain-marie ($65-70^{\circ}\text{C}$) et essuyer la tige graduée.

- Placer le butyromètre verticalement et examiner le plan inférieur de la colonne grasse.
- Lire le niveau le plus bas du ménisque supérieur de la colonne grasse.
- Soit n' = la valeur atteinte par le niveau supérieur de la colonne grasse.
- n = la valeur atteinte par le niveau inférieur de la colonne grasse.
- La teneur en matière grasse du lait exprimée en gramme au litre est égale à $n'-n$. Son dosage par la méthode « GERBER » permet d'apprécier cette teneur à 0,5g près.

II.1.6) - Mesure de la teneur en matière sèche totale

Définition

- On entend par matière sèche du lait le produit résultant de la dessiccation du lait.

Principe

Dessiccation par évaporation d'une certaine quantité de lait et pesée du résidu.

Appareillage

- Capsule en platine ou en autre matière inaltérable dans les conditions de l'essai de forme cylindrique de préférence avec couvercle.
- Bain-marie à niveau constant, fermé par un couvercle métallique dans lequel sont ménagées des ouvertures circulaires.
- Étuve à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.
- Dessiccateur.
- Balance analytique.
- Pipette à lait de 5ml.

Mode opératoire

- Dans la capsule séchée et tarée, introduire à l'aide de la pipette 3g de lait.
- Introduire dans l'étuve réglée à $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ et l'y laisser 3 heures.
- Mettre ensuite la capsule dans le dessiccateur et laisser refroidir jusqu'à la température ambiante.
- On pèse en suite à l'aide d'une balance analytique le résidu.

Expression des résultats

La matière sèche exprimée en grammes par litre de lait est donnée par la formule suivante :

$$M_s = (M_1 - M_0) \times \frac{1000}{V}$$

M_0 : est la masse en grammes de la capsule vide.

M_1 : est la masse en grammes de la capsule et du résidu après dessiccation et refroidissement

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

II.1.7)- Dosage de Calcium

Matériel

- Capsule en porcelaine
- Pipette de 25 ml à un seul trait de jauge
- Pipette graduée
- Burette
- Becher de 250 ml
- Eprouvette de 100ml

Réactifs

- HCl concentré
- NH_4OH Concentré
- CH_3COOH pur
- NH_4Cl à 25%
- Oxalate d'ammonium
- H_2SO_4
- KMnO_4 (N/10)

Mode opératoire

a- Minéralisation du lait

- Le dosage s'effectue sur les cendres de 25ml de lait.
- Les cendres sont reprises par 2,5ml d'HCl concentré.
- Diluer avec de l'eau distillée de façon à obtenir 50 à 60ml.
- Filtrer éventuellement s'il y a dépôt de carbone.

b- Précipitation de l'oxalate de Ca :

- Neutraliser avec NH_4OH concentré.
- Ajouter 0,25ml de CH_3COOH pur et 2,5% de NH_4OH à 25% afin de favoriser la précipitation ultérieure d'oxalate et aussi ramené à $\text{pH} = 4,44$;
- Porter la solution à ébullition commençante puis ajouter lentement 20ml de solution saturée chaude (90°) d'oxalate d'ammonium.
- Maintenir l'ébullition 3mn, frotter une tige d'agitation contre la paroi et laisser reposer 30 mn.
- Décanter le liquide clair surnageant sur un filtre non plissé en gardant le précipité dans le bécher.
- Récupérer le 1^{er} filtrat, y ajouter de l'oxalate et chauffer. Récupérer le précipité éventuel.

- Laver à l'eau distillée chaude ammoniacale (1 à 2%) 6 à 7 fois de façon à éliminer l'oxalate d'ammonium.
- Sur les dernières gouttes de lavage, ajouter H_2SO_4 et $KMnO_4$, chauffer à $70^\circ C$ s'il n'y a plus d'oxalate, il n'y a pas de décoloration.
- Si $KMnO_4$ se décolore, ajouter une autre goutte.

c-Dosage du Ca

- Placer le bécher contenant le précipité sous l'entonnoir.
- Percer le filtre avec un agitateur et faire descendre le précipité avec un jet d'eau chaude.
- Verser sur le filtre H_2SO_4 dilué au quart ou faire couler 20ml
- Amener le volume à 100ml avec de l'eau distillée
- Titrer par $KMnO_4$ (N/10) à $70^\circ C$, soit N ml versés.

d-Calcul

1ml de $KMnO_4$ (N/10) correspond à 1ml de $H_2C_2O_4$ (N/10)

1ml de $KMnO_4$ (N/10) correspond à $40/20 = 2$ mg de Ca. Car une mole de $(COO)_2 Ca$ correspond à 2 normalités (Ca=40).

N ml de $KMnO_4$ (N/10) correspond à $N \times 2$ mg de Ca provenant de 25ml de lait.

$$\text{Teneur en Ca} = \frac{N \times 2 \times 1000}{25} = 80 \times N \text{ mg/l ou } 0,08 \times N \text{ g/l}$$

II.1.8)-Dosage des Chlorures par la méthode dite « Charpentier-Vohlard »

Réactifs

- Solution titrée 0,1N de nitrate d'argent
- Solution aqueuse de ferrocyanure de potassium $Fe(CN)_6K_4, 3H_2O$ à 15 grammes dans 100ml.
- Solution aqueuse d'acétate de zinc $Zn(CH_3COO)_2, 2H_2O$ à 30 grammes dans 100ml.
- Solution aqueuse et saturée à froid d'alun ferri ammoniacque $(SO_4)_3Fe_2, SO_4(NH_4)_2, 24H_2O$.

Acide nitrique $d=1,38$

-Solution titrée 0,1N de sulfocyanure d'ammonium.

Mode opératoire

1. Défécation

Dans une fiole jaugée de 200 ml, introduire successivement :

- 20ml de lait exactement mesurés.
- 2ml de solution de ferrocyanure de potassium, agité
- 2ml de la solution d'acétate de zinc, agité

- Compléter au trait de jauge avec l'eau distillée tout en mélangeant. Ajouter alors à la pipette
- 2ml d'eau distillée (pour tenir compte du volume du précipité). Agiter, laisser reposer 10 à 15 minutes et filtrer. Filtrer à nouveau si le filtrat n'est pas absolument limpide.

2. Dosage argentimétrique

Dans un bécher, introduire en agitant après chaque affusion :

- 100ml du filtrat précédent, exactement mesurés et correspondant à 10ml de lait.
- 1ml d'acide nitrique
- 5ml de nitrate d'argent exactement mesurés.
- 2ml de la solution d'alun ferri ammoniacque
- Agglomérer le précipité, par exemple par une agitation de quelques instants.
- Titrer par une solution de sulfocyanure d'ammonium jusqu'à teinte rouge faible persistante, à l'aide d'une burette graduée en 0,05ml.

Expression des résultats

Soit n le nombre de ml nécessaires pour obtenir cette coloration rouge faible persistante

- La teneur en chlorure du lait exprimée en grammes de NaCl au litre est égale : $(5-n) 0,585$

$$T_{Cl} = (5-n) 0,585$$

Précision

± 0,05 gramme de chlorures au litre exprimés en NaCl.

I.1.9)- Dosage de lactose : Technique de « Gabriel-Bertrand »

Réactifs

- Solution d'acétate de zinc à 30%
- Solution de ferrocyanure de potassium à 15%

Solution A : liqueur cuprique

- Sulfate de cuivre
- Eau distillée 1000ml

Solution B : liqueur tartrique alcaline.

- Tartrate de sodium et de potassium 200g
- Soude caustique 150g
- Eau distillée 1000ml
- Liqueur ferrique :
- Sulfate ferrique 50g
- Acide sulfurique (d=1,83), 20g
- Eau distillée 1000ml
- Solution de permanganate de potassium (N/10)

Mode opératoire

a-Défécation

Opérer comme pour le dosage des Chlorure

b-Réductimétrie

Mettre dans un erlen de 150ml ;

- 20ml de la solution aqueuse de filtrat (10 ml de filtrat+10 ml d'H₂O).
- 40ml de liqueur de fehling (20 ml de liqueur cuprique +20 ml de liqueur sodique tartrique).
- Bien mélanger.

Remarque : il faut que le volume total du liquide dans l'erlen soit de 60ml et que l'on ait 40ml de liqueur de fehling.

- On chauffe jusqu'à l'ébullition commençante, puis on maintient l'ébullition pendant 3mn exactement.
- On retire alors l'erlen du feu et on le met dans une position inclinée ; on le laisse ainsi jusqu'à ce que le précipité se soit bien rassemblé au fond.
- Décanter le liquide sur le filtre en verre fritté ou en amiante, en s'aidant d'une trompe à vide.
- Laver deux fois le précipité resté dans l'erlen avec un peu d'eau distillée bouillie.
- Dissoudre ensuite le précipité de la fiole (2 fois) avec 10ml de la solution de sulfate ferrique, la solution devient verte, cela est dû à la formation de sulfate ferreux.
- Faire passer cette solution verte sur le filtre, et l'y laisser quelques instants en grattant la surface du filtre avec une petite tige d'agitation.
- Recommencer avec les 10ml suivant, afin de récupérer les dernières traces d'oxyde.
- Laver la fiole et filtrer à l'eau distillée bouillie.
- Titrer directement le sulfate ferreux formé à l'aide d'une solution titrée de permanganate (N/10).

c- Lecture :

A l'aide du titre de solution de permanganate utilisée, on détermine la quantité de cuivre précipité en oxyde et à l'aide d'une table, on en déduit la quantité de sucre qui a précipité cette quantité de cuivre.

Tableau 1 : donnant le taux de lactose hydraté en grammes au litre de lait en fonction du volume de permanganate de potassium 0,1N versé.

Colonnes 1 : ml de solution de permanganate de potassium 0,1N versés ;

Colonnes 2 : lactose hydraté en grammes au litre de lait

1	2	1	2	1	2
5,0	23,6	9,0	43,5	11,8	57,9
5,1	24,1	9,1	44 ,0	11,9	58,4
5,2	24,6	9,2	44,5	12,0	58,9
5,3	25,1	9,3	45,0	12,1	59,5
5,4	25,6	9,4	45,5	12,2	60,0
5,5	26,1	9,5	46 ,0	12,3	60,5
5,6	26,6	9,6	46,5	12,4	61,0
5,7	27,4	9,7	47,1	12,5	61,5
5,8	27,6	9,8	47,6	12,6	62,1
5,9	28,0	9,9	48,1	12,7	63,1
6,0	28,5	10,0	48,6	12,8	63,6
6,1	29,0	10,1	49 ,1	12,9	64,1
6,2	29,50	10,2	49,6	13,0	64,1
6,3	30,0	10,3	50,1	13,1	64,7
6,4	30,5	10,4	50,6	13,2	65,2
6,5	31,0	10,5	51,2	13,3	65,7
6,6	31,5	10,6	51,7	13,4	66,2
6,7	32,0	10,7	52,2	13,5	66,8
6,8	32,5	8,4	40 ,5	13,6	67,3
6,9	33,0	8,5	41,0	13,7	67,8
7,0	33,50	8,6	41 ,5	13,8	68,4
7,1	34,0	8,7	42,0	13,9	68,9
7,2	34,50	8,8	42,5	14,0	69,4
7,3	35,0	8,9	43,0	14,1	69,9
7,4	35,5	10,8	52,7	14,2	70,5
7,5	36,0	10,9	53,2	14,3	71,0
7,6	36,5	11,0	53,7	14,4	71,5
7,7	37,0	11,1	54,2	14,5	72,0
7,8	37,5	11,2	54,8	14,6	72,6
7,9	38,0	11,3	55,3	14,7	73,1
8,0	38,5	11,4	55,8	14,8	73,6
8,1	39,0	11,5	56,3	14,9	74,2
8,2	39,50	11,6	56,8	15,0	74,7
8,3	40,0	11,7	57,4		

II.2)-Analyses microbiologiques

L'analyse microbiologique du lait est une étape importante qui vise d'une part à conserver les caractéristiques organoleptiques et sensorielles du lait, donc d'allonger sa durée de vie et d'autre part à prévenir les cas d'intoxication alimentaire liée à la présence des microorganismes pathogènes avant la transmission au consommateur.

L'analyse microbiologique du lait cru consiste en la recherche et /ou dénombrement d'un certain nombre de microorganismes susceptibles d'être présents dans le lait. Les analyses effectuées sont portées sur :

- la flore aérobie mésophile totale.
- les coliformes totaux et fécaux.
- les microorganismes pathogènes : *les staphylococcus aureus*.

II.2.1)-Méthode de dénombrement des microorganismes

✓ Homogénéisation

Elle est facilement réalisable par agitation manuelle.

✓ Préparation des dilutions

- Une série de dilutions est réalisée à partir de l'échantillon à l'aide d'une pipette pasteur stérile, 1ml de l'échantillon à analyser est prélevé, ensuite introduire dans un tube contenant 9 ml de diluant ; l'eau physiologique (dilution 10^{-1}).
- Répéter ces étapes jusqu'à la dilution 10^{-7} .

✓ Le dénombrement des colonies

On retient les boites contenant de 15 à 300 colonies. Le dénombrement des colonies est réalisé selon la formule suivante : $N = \frac{\sum c}{(n_1 + 0.1n_2) d}$

$\sum c$: somme des colonies de toutes les boites.

d: le facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus.

n_1 : nombre de boites positives de la première dilution.

n_2 : nombre de boites positives de la deuxième dilution.

II.2.2)-Dénombrement de la flore totale

Principe

La technique est celle de numération en milieu solide en boite de Pétri avec l'ensemencement en masse sur le milieu PCA (Plate Count Agar)

Mode opératoire

- Préparer les boites de pétries stériles.

- Ensemencer les boîtes par 1 ml de chaque dilution (10^{-4} , 10^{-5} et 10^{-6}).
- Ajouter la gélose PCA maintenue en surfusion à (45°C).
- Le mélange est homogénéisé par des mouvements circulaires.
- Après solidification, les boîtes sont retournées puis incubées à 30°C pendant 72 h, l'opération est réalisée en double.

Lecture des résultats

La flore totale apparaît sous forme de colonies blanchâtres de tailles et de formes différentes.

II.2.3)-Recherche et dénombrement des coliformes totaux et fécaux

Principe

Le dénombrement des coliformes peut se faire soit sur milieu solide tel que le V.R.B.G (violet cristal rouge neutre bile glucosée) ; soit sur milieu liquide le bouillon lactosé au vert brillant et à la bile (BLBVB).

Les boîtes sont incubées pendant 24 h, à 30°C pour les coliformes «totaux» et à 44°C pour les coliformes «fécaux».

Mode opératoire

- Préparer les boîtes de pétri stériles ;
- Introduire dans les boîtes 1ml de chaque dilution 10^{-4} pour les coliformes fécaux et 10^{-5} pour les coliformes totaux ;
- Ajouter la gélose VRBG ;
- Homogénéiser avec des mouvements circulaires ;
- Après la solidification, recouvrir la surface avec une 2^{ème} couche mince du même milieu et laisser gélifier à température ambiante ;
- L'incubation a lieu pendant 24 heures, à 30°C pour les coliformes «totaux» et à 44°C pour les coliformes «fécaux».

Expression des résultats

Les coliformes apparaissent sous forme de colonies de forme lenticulaires, violet avec un anneau rosâtre.

II.2.4)-Recherche et dénombrement de Staphylococcus aureus

Principe

On peut utiliser soit le milieu Baird Parker solide ou bien le milieu Chapman mannité contient une forte teneur en NaCl (7,5%) et inhibe la croissance de nombreuses bactéries autres que les Micrococcus et Staphylococcus.

On a utilisé le milieu Chapman, avec ensemencement en stries de 1ml de lait prélevé de la solution mère et l'incubation à 30°C pendant 24h.

Mode opératoire

- Préparer une boîte de pétrie stérile.
- Ajouter la gélose Chapman mannité.
- Après la solidification, prélever une goutte du lait cru avec l'anse de platine.
- Ensemencer la goutte par des stries croisées et incuber à 30°C pendant 24 h.
- La présence de *Staphylococcus aureus* est confirmée par le test de la catalase.

Expression des résultats

Les staphylococcus apparaissent sous forme de colonies bombés jaunes dorées et entourées d'un halo jaune résultant de la réduction de mannitol.

Test de la catalase

