

# Examen hygiénique du lait et laitiers

## 1. Examen organoleptique du lait

Caractère examiné	Cas normal	Cas anormal
<b>couleur</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- blanc mat : lait normal</li><li>- blanc jaunâtre : lait riche en crème</li><li>- blanc bleuâtre : lait écrémé ou fortement mouillé (anormal)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>- gris jaunâtre : lait de rétention, lait de mammite</li><li>- bleu, jaune : lait coloré par substances chimiques (bleu de méthylène, dichromate....) ou des pigments microbiens</li><li>- blanc bleuâtre : lait écrémé (normal) ou fortement mouillé</li></ul>
<b>odeur</b>	Odeur faible	Odeur de putréfaction
<b>saveur</b>	Saveur caractéristique et agréable (variable selon le degré de chauffage du lait)	<ul style="list-style-type: none"><li>- saveur salée : lait de rétention ou lait de mammite</li><li>- goût amer : lait très pollué par des bactéries (quelquefois lié à l'alimentation des vaches)</li></ul>
<b>consistance</b>	Aspect homogène	<ul style="list-style-type: none"><li>- aspect grumeleux : lait de mammite</li><li>- aspect visqueux ou coagulé : lait très pollué par des bactéries</li></ul>

Lait de rétention – lait obtenu lorsque, dans la glande mammaire, la pression du lait atteignant un certain seuil, la sécrétion s'interrompt et une résorption des éléments élaborés commence, en particulier celle du lactose, de la caséine et de la matière grasse qui chutent donc au profit des chlorures.

## 2. Examen physique

### 2.1. Densité du lait

La mesure de la densité du lait s'effectue avec lactodensimètre

- on verse lentement l'échantillon du lait dans une éprouvette en évitant la formation de mousse;
- on introduit le lactodensimètre dans l'éprouvette et après stabilisation de celui-ci on effectue la lecture
- interprétation

Le thermo lactodensimètre est étalonné à 20 °C; donc la prise de densité doit être effectuée à cette température sinon il importe d'opérer la correction en prenant en considération la température du lait à analyser, que l'on peut faire comme suit:

\* Si la température du lait au moment de la mesure est supérieure à 20°C, le lait est plus fluide, donc plus léger, la densité brute doit être augmentée 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, le lait est plus visqueux donc plus dense, la densité brute doit être diminuer de 0,0002 par degré au-dessous de 20°C.

Densité du lait entier à 20 °C: Moyennes 1,031; Valeurs extrêmes 1,028-1,033

Densité du lait écrémé: 1,036

Densité du lait dilué : < 1,028

Un lait riche en matière grasse a une faible densité alors qu'un lait écrémé a une densité élevée. L'addition de l'eau au lait (mouillage) diminue la densité. Donc une densité trop faible ou trop élevée laisse soupçonner une fraude; soit addition de l'eau (diminution de la densité); soit écrémage (élévation de la densité).

Donc la prise de la densité est une opération très importante dans les analyses du lait à la réception, mais le laitier peut pratiquer simultanément le mouillage et l'écémage, cette opération convenablement pratiquée, ne modifie pas la densité car les deux opérations ont sur elle des effets inverses de sorte que le lait écrémé et mouillé accuse une densité normal (double fraude); donc il faut pousser plus loin faire le dosage de la matière grasse.

### **3. Examen chimique**

#### **3.1. Détermination de l'acidité du lait (état de fraîcheur)**

Elle permet d'apprécier la quantité d'acide produite par les bactéries, ou d'éventuelles fraudes (alcalinisation).

##### **3.1.1. Dosage par l'hydroxyde de sodium**

Principe – L'acidité du lait est mesurée par une base forte (hydroxyde de sodium en présence de phénolphtaléine). Cette acidité est pratiquement due uniquement à l'acid lactique.

Technique – Une prise d'essai  $V_{\text{lait}} = 10 \text{ ml}$  est neutralisée par une solution de concentration connue 0,1 n en présence de phénolphtaléine.

Dans un balon Erlenmeyer 10 ml lait + 20 ml eau distillé + 2-3 goutte phénolphtaléine.

Titrer avec hydroxyde de sodium jusqu'à la coloration rose qui persiste 2 minutes.

Expression des résultats :

- grames acid lactique = au volume de NaOH (en mL)
- degrés Dornic : il faut multiplier le volume de NaOH par 10

1 degré Dornic °D correspond à 0,1g d'acide lactique par litre de lait, même si l'acide lactique n'est pas le seul acide présent.

- lait frais : 15 – 20 degrés D

- lait très alcalin :  $< 14$  degrés D
- lait acid coagulant à la chaleur (la caséine du lait floccule à l'ébullition; le lait tourne et se transforme en lait caillé) :  $> 30$  degrés D
- lait acid coagulant à la température ambiante :  $60 - 80$  degrés D

### 3.1.2. Épreuve de stabilité à l'ébullition

But

Le lait peut paraître stable à température ordinaire ou basse et une précipitation se révéler à l'ébullition : le lait « tourne », montrant ainsi une modification due au développement de microorganismes.

Technique

L'échantillon de lait est placé dans un bain d'eau en ébullition, puis examiné après refroidissement. Le protocole opératoire est le suivant :

- transférer  $5 \text{ cm}^3$  de lait dans un tube de  $16 \times 160 \text{ mm}$  ;
- le placer au bain d'eau bouillant pendant dix minutes ;
- refroidir sous un courant d'eau froide pendant deux minutes ;
- observer alors la présence éventuelle de floculation, précipitation, ou la formation d'un coagulum.

### 3.1.3. Estimation du pH au bleu de bromothymol

Technique

Déposer quelques gouttes de lait sur une bande de papier-filtre imprégnée d'une solution de bleu de bromothymol à  $5 \text{ g.dm}^{-3}$  dans de l'éthanol à 0,60 (60 %).

Lecture et interprétation

- jaune ( $\text{pH} < 6,2$ ) – lait acide coagulant à la chaleur
- vert – jaunâtre ( $\text{pH } 6,2 - 7$ ) – lait normal
- bleu – vert ( $\text{pH } 7 - 7,2$ ) – lait neutre
- bleu ( $\text{pH} > 7,2$ ) – lait alcalin

## 3.2. Contrôles de pasteurisation et de stérilisation

But

Le lait n'est pas stérile ; sa conservation est très aléatoire. Pour limiter le développement des microorganismes (ou le stopper), il est soumis, soit à une stérilisation détruisant tous les microorganismes, soit à une pasteurisation détruisant seulement les formes végétatives. La plupart des bactéries pathogènes sont détruites par ces techniques utilisant la chaleur.

La chaleur a sur le lait des inconvénients : les qualités organoleptiques sont modifiées. C'est ce qui explique la multiplicité des techniques : haute et basse pasteurisation, stérilisation classique ou en ultra-haute température (UHT), technique qui réduit la durée de chauffage pour préserver le goût du lait.

Les opérations de pasteurisation et de stérilisation doivent bien sûr être contrôlées. C'est le but des techniques exposées.

Principes

Des tests enzymatiques ou des tests empiriques peuvent être mis en œuvre permettant de

préciser:

- s'il y a eu chauffage du lait au-dessus de 100 °C ;
- s'il y a eu chauffage du lait au-dessus de 75 °C et si une haute pasteurisation (chauffage du lait à 85 °C pendant 2 minutes) a été réalisée ;
- s'il y a eu chauffage du lait au-dessus de 60 °C et si une basse pasteurisation (chauffage du lait à 63 °C pendant 20 à 30 minutes) a été réalisée ;
- s'il n'y a pas eu chauffage du lait au-dessus de 60 °C et donc si le lait est présumé cru.

Il faut noter que l'on doit tenir compte à la fois de la température et de la durée de chauffage.

Ces tests sont :

- la recherche de l'activité peroxydasique qui n'est supprimée que si le lait est chauffé au-dessus de 75 °C ;
- la mesure de l'activité phosphatase alcaline qui est détruite lorsque le lait est chauffé au-dessus de 60 °C.

Le tableau suivant résume l'ensemble de ces remarques et les conclusions que l'on peut tirer des résultats de ces tests.

140°C	STÉRILISATION UHT (140°C – 2 secondes)	Absence de PHOSPHATASE	Absence de PEROXYDASE
130°C			
120°C			
110°C			
100°C	STÉRILISATION classique (100°C – 20 min)		
90°C			
80°C			
85°C	HAUTE PASTEURISATION (85°C – 2 min)		
75°C			
70°C	BASSE PASTEURISATION (63°C – 20 min)		
60°C		Présence de PHOSPHATASE	Présence de PEROXYDASE
	LAIT CRU		

### 3.2.1.Épreuve de la peroxydase (réaction de Dupouy)

#### Principe

Les peroxydases sont des enzymes du lait détruites par l'action d'une température supérieure à 75 °C (ou quelques secondes à 80 °C).

La réaction catalysée est un transfert d'électrons d'un réducteur organique sur le peroxyde d'hydrogène ou eau oxygénée. Pour réaliser cette réaction, on utilise un réducteur incolore, le bénydine, qui donne un composé d'oxydation bleu.

#### Technique

Mettre dans un tube :

- 2 cm<sup>3</sup> de lait à examiner ;
- 5 cm<sup>3</sup> de solution benzidine ;
- 1 goutte H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>.
- Agiter et garder le tube dans la main (20- 30°C).
- Lire après 1 minute si une coloration bleu est apparue.

Une coloration bleu traduit la présence de l'activité peroxydase (réaction positive)

### 3.3. Teneur en matières grasses

Les matières grasses sont présentes dans le lait sous forme d'une émulsion de globules gras. La teneur en matières grasses du lait est appelée **Taux Butyreux (TB)**. Méthode de travail – butyrométrie, appareille – lactobutyromètre

#### Principe

Les protéines du lait sont dissoutes par l'acide sulfurique, les matières grasses, résistantes à l'action de l'acide sulfurique sont séparées par centrifugation, à chaud au présence d'alcool isoamylique (3-méthyl-1-butanol) qui facilite la séparation. On mesure le volume vers 65-70°C dans un butyromètre.

#### Technique

- Introduire successivement, dans l'ordre et en évitant de mouiller le col: 10ml d'acide sulfurique concentré GERBER (cd=1,820) 1ml de lait (rendu homogène par agitation douce) avec pipette spéciale pour prélever du lait 1ml d'alcool isoamylique (flacon répartiteur ou pipette automatique) Bien boucher le butyromètre avec un bouchon propre et sec sans mélanger son contenu
- Envelopper le butyromètre dans un chiffon, puis, en maintenant le bouchon, le retourner lentement 3 ou 4 fois, agiter alors énergiquement pour dissoudre complètement la caséine. Le mélange brunit, s'échauffe vers 80°C et s'homogénéise
- Centrifuger aussitôt en plaçant, bouchons vers la périphérie, pendant 5 min. veiller à équilibrer correctement la centrifugeuse. Si la centrifugeuse ne peut avoir lieu immédiatement après l'homogénéisation maintenir le butyromètre dans un bain thermostaté à 65±2 °C pour que la matière grasse reste en fusion
- la lecture : Réchauffer le butyromètre en le plaçant, bouchon vers le bas, dans un bain thermostaté à 65±2°C quelques minutes. S'assurer que la colonne grasse est entièrement dans l'échelle graduée, sinon, agir sur le bouchon en conséquence. La lecture doit être très rapide. Sortir le butyromètre, essuyer rapidement la tige graduée. Repérer la position inférieure de la colonne grasse, soit x, lire aussitôt la position supérieure, soit x'. Vérifier que la position du niveau inférieur n'a pas variée sinon, réajuster et refaire une nouvelle lecture de x'. Retenir x' lorsque deux lectures consécutives sont identiques. si l'on n'a pas réussi ceci en 10s, replonger le butyromètre dans le bain thermostaté et refaire un cycle de lecture après 2 à 3min.

La graduation est en g de matière grasse pour 100ml de lait, x' - x représente la valeur recherchée.

Pour le lait de vache, le taux butyreux varie, en moyenne, entre 3,5 et 4,5 % (g/kg). Lait écrémé: 2,5; 1,8; 0;1 etc

## 4. Examen microbiologique

### 4.1. Mesure de l'activité réductase

#### Principe

La plupart des bactéries modifient, au cours de leur développement, le potentiel d'oxydoréduction du lait. Cette modification peut être mise en évidence par des indicateurs du potentiel rédox tel que le bleu de méthylène, bleu en milieu très oxydant comme l'air, blanc en milieu réduit comme dans une jarre placée en anaérobiose. La durée nécessaire au changement de couleur d'un lait additionné de bleu de méthylène permet d'apprécier le nombre de bactéries du milieu : plus il y a de bactéries, plus le bleu de méthylène est rapidement réduit.

Ce test paraît particulièrement ancien et d'intérêt discutable, mais permet, au niveau des laiteries, de détecter rapidement et simplement des laits très pollués.

#### Technique

Dans un tube stérile placer :

- 10 cm<sup>3</sup> de lait ;
- 1 cm<sup>3</sup> de solution de bleu de méthylène à 50 mg.ditr<sup>3</sup>.

Réaliser en parallèle un témoin avec du lait bouilli ou stérile.

Mélanger et incuber à 37 °C.

Observer la teinte du contenu des tubes avant d'agiter aux temps 0 min, 15 min, 1 h, 3 h (ne pas tenir compte de l'anneau bleu de la surface à la réoxydation du bleu de méthylène par le dioxygène de l'air).

Interpréter en fonction du tableau suivant.

<b>Durée au bout de laquelle il y a décoloration</b>	<b>Conclusion</b>
Avant 15 min	Lait très fortement contaminé
Entre 15 min et 1 heure	Lait fortement contaminé
Entre 1 heure et heures	Lait légèrement contaminé
Plus de 3 heures	Lait de qualité satisfaisante

### 4.2. Formule leucocytaire

#### - Préparation d'un frottis

#### - Colorer au bleu de méthylène pendant 5 minutes environ

#### - Lecture du frottis coloré: Compter 200 éléments cellulaires en différenciant monocytes et lymphocytes (mononucléaires) et granulocytes (polynucléaires)

#### - Etablir le rapport m/p = nombre de mononucléaires /nombre de granulocytes (polynucléaires), lorsque 200 éléments ont été comptés

#### - Interpréter à l'aide du tableau suivant :

	Lait normal	Lait des mammîtes aiguës	Lait d'infection tuberculeuse
--	-------------	--------------------------	-------------------------------

Valeur de m/p	m/p ~ 1 (toujours supérieur à 0,5) Absence d'hématies	m/p < 0,5	m/p >1
---------------	--	-----------	--------

#### REMARQUE

**Les éléments anormaux sont toujours très nombreux dans le colostrum (premier lait après la mise bas) et les laits de rétention.**

#### 4.3. Indicateurs bactériologiques (critère d'hygiène)

- Microorganismes aérobies à 30°C

- **Enterobacteriaceae**

- **Escherichia coli**

- **Salmonella**

- **Staphylococcus coagulase +**

#### Question

1. Semnification de la couleur du lait
2. Interprétez la densité de lait
3. Quelles sont les tests pour l'état de fraîcheur. Exemplifiez
4. Les principes du contrôle de pasteurisation
5. Quelles sont les tests pour l'examen microbiologique
6. Interprétez les résultats

Lait: couleur blanc bleuâtre ; densité 1,030 ; graisse 1,5% ; r peroxidase négatif

Lait : couleur blanc jaunâtre ; densité 1,030 ; r peroxidase positif ; acidité 30 degrés D ; activité reductase durée 30 min ; formule leucocytaire m/p 0,2 ; staphylococcus présent