



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN
ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES



Licence sciences et techniques

Biotechnologie Hygiène et Sécurité des Aliments

Projets de fin d'études

Suivi microbiologique des sels
nutritifs depuis la préparation
jusqu'aux fermenteurs à la
société Lesaffre Maroc

Préparé par : El BOUZAIDI CHEIKHI Hanae

Encadré par : - Mr. BENNANI (LESAFFRE MAROC)

- Mr. BELRHITI ALAOUI (FST Fès)

Soutenu le : 13/06/2014

Devant le jury composé de :

- **Mr. BELRHITI ALAOUI**
- **Mr. EL FARICHA**
- **Mr. BENNANI**

Sommaire

Introduction.....	Erreur ! Signet non défini.
Présentation du lieu de stage.....	Erreur ! Signet non défini.
organigramme.....	Erreur ! Signet non défini.
Description du laboratoire d'analyses LESAFFRE MAROC.....	Erreur ! Signet non défini.
1 ère partie	Erreur ! Signet non défini.
I. Levure :	Erreur ! Signet non défini.
1. Historique :	Erreur ! Signet non défini.
2. Définition :	Erreur ! Signet non défini.
3. Taxonomie :	Erreur ! Signet non défini.
4. Caractéristiques structurales :	Erreur ! Signet non défini.
5. Mode de reproduction :	Erreur ! Signet non défini.
6. Conditions de croissance	Erreur ! Signet non défini.
7. Métabolisme de la levure :	Erreur ! Signet non défini.
II. Production industrielle de la levure :	Erreur ! Signet non défini.
1. Matières premières.....	Erreur ! Signet non défini.
2. Etapes de la production de la levure.....	Erreur ! Signet non défini.
2. 1. Préparation de la levure mère	Erreur ! Signet non défini.
2. 2. Séparation	Erreur ! Signet non défini.
2. 3. Stockage « crème commerciale »	Erreur ! Signet non défini.
2. 4. Filtration	Erreur ! Signet non défini.
2. 5. Séchage	Erreur ! Signet non défini.
2.6. Emballage	Erreur ! Signet non défini.
2. 7. Conservation	Erreur ! Signet non défini.
2ème partie.....	Erreur ! Signet non défini.
I. Sels nutritifs.....	Erreur ! Signet non défini.

- 1. Sels nutritifs utilisés par la société Lesaffre Maroc** Erreur ! Signet non défini.
 - Urée Erreur ! Signet non défini.
 - Phosphate mono ammonium (MAP) Erreur ! Signet non défini.
 - Sulfate d'ammonium Erreur ! Signet non défini.
- 2. Etapes de production des sels nutritifs**.....Erreur ! Signet non défini.
 - 2.1. Tamisage Erreur ! Signet non défini.
 - 2.2. Dilution Erreur ! Signet non défini.
 - 2.3. Stockage Erreur ! Signet non défini.
 - 2.4. Distribution Erreur ! Signet non défini.
- 3 éme Partie**..... Erreur ! Signet non défini.
 - I. Matériel**..... Erreur ! Signet non défini.
 1. Cuve de préparation.....Erreur ! Signet non défini.
 2. FiltreErreur ! Signet non défini.
 3. Pompe.....Erreur ! Signet non défini.
 4. DébitmètreErreur ! Signet non défini.
 - II. Plan de nettoyage :** Erreur ! Signet non défini.
 - III. Contrôle microbiologique des sels nutritifs** Erreur ! Signet non défini.
 - 1. Echantillonnage** Erreur ! Signet non défini.
 - 1.1. Prélèvement Erreur ! Signet non défini.
 - 1.2. Echantillons prélevés Erreur ! Signet non défini.
 - 2. Analyse microbiologique** Erreur ! Signet non défini.
 - 2.1. Recherche des bactéries totales Erreur ! Signet non défini.
 - 2.2. Recherche des coliformes totaux Erreur ! Signet non défini.
 - 2.3. Recherche des levures sauvages Erreur ! Signet non défini.
 - 3. Ensemencement**.....Erreur ! Signet non défini.
 - 3.1. Sels en poudre Erreur ! Signet non défini.
 - 3.2. Sels nutritifs Erreur ! Signet non défini.
 - 4 éme partie : Résultats et analyses** Erreur ! Signet non défini.
 - 1. Sels en poudre** Erreur ! Signet non défini.
 - 2. Station de préparation** Erreur ! Signet non défini.
 - 3. Station de stockage** Erreur ! Signet non défini.
 - 4. Station de distribution** Erreur ! Signet non défini.

Conclusion..... Erreur ! Signet non défini.
Références Erreur ! Signet non défini.

Introduction

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires (cellules rondes ou ovales) qui interviennent dans les différents processus de fermentation. On les trouve dans la nature, le sol et sur les plantes

Les levures non seulement occupent une place essentielles dans l'industrie alimentaire-elleparticipent à l'élaboration de nombreux produitalimentaires (pain,bière,cidre,vin,frommage), mais elle contribuent aussi à la revalorisation des déchets agricoles ou industriels et à la production de protéines. Cependant elles jouent parfois un roles négatif en contaminant et en dégradant les aliments ; Certaines sont pathogène pour l'homme ou les animaux

En effet, ***Saccharomyces cerevisiae***, espèce à laquelle appartient la levure de boulangerie, a été et est encore l'un des organismes modèles parmi les plus utilisés dans les laboratoires de recherche universitaires pour des études biochimiques, physiologiques et génétiques

Cependant, comme toute industrie agroalimentaire l'industrie de la production de la levure de boulangerie présente des risques de contamination microbiologique qui peuvent concerner les différentes étapes de production, Ceci nécessite la réalisation des analyses permanentes.

Dans ce cadre j'ai eu l'opportunité d'effectuer un stage au sein de la société « **LESAFFRE MAROC** » spécialisée dans la fabrication de levure de panification et plus précisément au sein du laboratoire d'analyses microbiologiques pour analyser les différentes étapes de préparation de **sels nutritifs** utilisés comme source d'azote et de phosphate pour la levure depuis les sacs jusqu'aux fermenteurs, cette analyse consiste à la recherche des coliformes totaux, levures sauvages, et des bactéries totales dont le but est de garantir un produit de bonne qualité aux consommateurs.

Présentation du lieu de stage

Présentation de la société : LES AFFRE MAROC

En 1993, la société SODERS a été majoritairement détenue par le groupe Français LES AFFRE et porte aujourd'hui comme nouvelle appellation " LES AFFRE MAROC ", elle présente le leader mondial dans la fabrication de la levure de panification grâce à ses connaissances approfondies sur la levure et ses compétences en biotechnologie.

Située à Fès, elle emploie 170 personnes avec une superficie de 2 hectares qui applique une politique salariale attractive et des possibilités de formation continue d'un groupe, qui a su conserver les valeurs humaines d'une entreprise familiale.

LES AFFRE MAROC a choisi " l'hirondelle " comme logo, ce dernier est un symbole de proximité et de fidélité, qui traversa le temps et l'espace, c'est un logo qui identifie les produits de la société et se considère comme l'emblème fédérateur du groupe LES AFFRE MAROC dans le monde via ses 35 sites de production et sociétés commerciales et des distribution afin d'être plus proche de ses clients.

Les marques fabriquées par LES AFFRE MAROC :



- Levure fraîche : **JAUDA**



- Levure sèche : **RAFIAA et NEVADA**



- Améliorants de panification : **Ibis bleu et Maximin**

- Levure destinée pour saturer les besoins des forces armées royales : FAR

organigramme

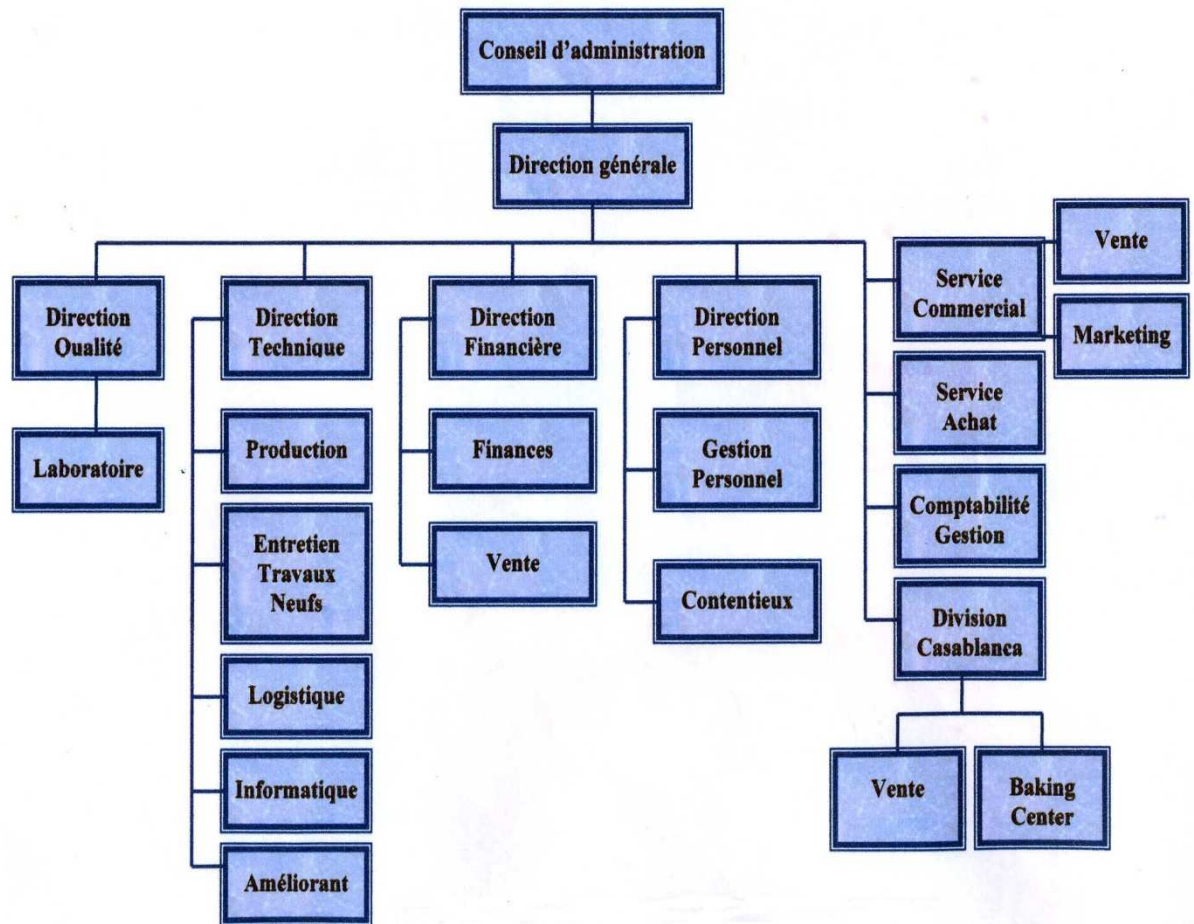


Figure 1 : Organigramme de la société LESAFFRE MAROC

Description du laboratoire d'analyses LESAFFRE MAROC

LES AFFRE MAROC dispose de deux laboratoires, microbiologique et physicochimique qui sont chargés de faire des analyses le long de la chaîne de production, depuis la préparation de la matière première jusqu'à l'obtention du produit fini (levure fraîche ou sèche).

➤ Laboratoire d'analyses microbiologiques :

Toutes les conditions de la réalisation des analyses performantes sont réunies. un matériel suffisant et moderne, des techniques d'identifications des microorganismes assez rigoureuses imposées par le groupe, un système d'épuration d'air, un personnel hautement qualifié et expérimenté, un climat professionnel encourageant, et la vaillance d'un chef de laboratoire .

Ce laboratoire est divisé en :

- ◆ Salle des pathogènes où s'effectue les analyses des germes pathogènes.
- ◆ Salle de stockage des matières premières .
- ◆ Salle d'analyses bactériologiques.

➤ Laboratoire d'analyses physicochimiques :

Equipé de matériel sophistiqué, alimenté de différents types d'eau (eau adoucie , eau distillée, eau de ville) utilisée selon les besoins. Un personnel qualifié y effectue quotidiennement des analyses physicochimiques (Brix, pH, conductivité, dosage de l'azote, des phosphates et des sulfates).

Il est divisé en trois parties :

- ◆ Salle de préparation de la souche.
- ◆ Salle de panification.
- ◆ Salle d'analyse physicochimique.

1 ère partie

A decorative frame resembling a scroll, with a red outline and grey circular accents at the corners and along the left edge.

Partie bibliographique

I. Levure :

1. Historique :

L'Homme a toujours utilisé la levure au cours de l'Histoire, et ce bien avant de savoir écrire. Les Égyptiens l'utilisaient déjà pour fabriquer leur pain, il y a cinq mille ans ; Cependant, ils ignoraient le processus de fermentation.

L'histoire de la levure nous amène en 1680 : à l'aide d'un microscope, Leeuwenhoek observe pour la première fois les globules de levure de bière. Mais il faudra attendre 1857 et les travaux du scientifique français, **Louis Pasteur** pour comprendre le processus de fermentation. Pasteur affirme que les agents responsables de la fermentation sont les levures. Il établit le rôle essentiel de la levure comme micro-organisme de la fermentation alcoolique.

En perçant ainsi ces mystères, il démontre que la cellule de levure peut vivre avec ou sans oxygène. Pasteur comprit aussi très tôt que les levures étaient un élément essentiel à la formation des arômes et des saveurs du pain.

La levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae* s'est imposée au fil de l'histoire pour faire lever universellement les pâtes boulangères.

2. Définition :

On appelle levures les champignons microscopiques de types unicellulaire ou présentant dans leur cycle biologique une phase unicellulaire pondérante.

La forme végétative des levures peut être sphérique, globuleuse, ovoïde, allongée ou cylindrique. il existe cependant des formes cellulaires caractéristiques : forme en bouteille et forme triangulaire .

Les levures sont employées pour la fabrication du vin, de la bière, des alcools industriels, des pâtes levées et d'antibiotiques.

3. Taxonomie :

- Règne Fungi
- Division Ascomycètes
- Sous embranchement Saccharomycotina
- Classe Saccharomycètes
- Sous-classe Saccharomycetidae
- Ordre Saccharomycétales
- Famille Saccharomycetaceae
- Genre *Saccharomyces*

● Espèce

Saccharomyces cerevisiae

(Leclerc H., 1983)

La levure la plus connue porte le nom de *Saccharomyces cerevisiae* : Saccharo pour sucre et Myces pour champignon. Le genre *cerevisiae* signifie en latin « brasserie ». C'est cette levure qui est utilisée pour la fabrication du pain. En effet, elle a la particularité de transformer les sucres naturellement présents dans la farine en alcool (évapouré à la cuisson) et en gaz carbonique. C'est ce dernier qui donne du volume au pain.

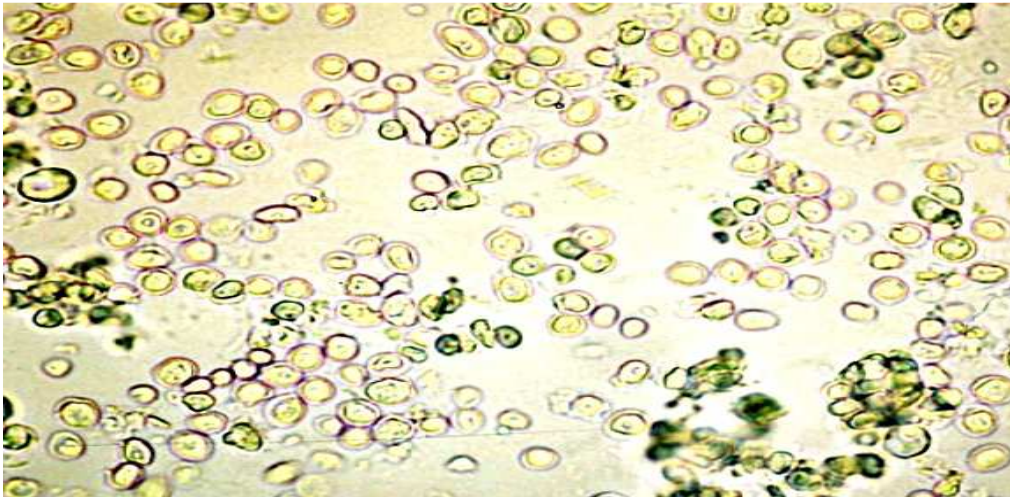


Figure 2: Cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae* (Microscope optique *100)

4. Caractéristiques structurales :

Les levures sont des micro-organismes eucaryotes, ainsi possèdent-elles les caractéristiques structurales propres à ce type cellulaire et d'autres plus spécifiques aux levures elles-mêmes :

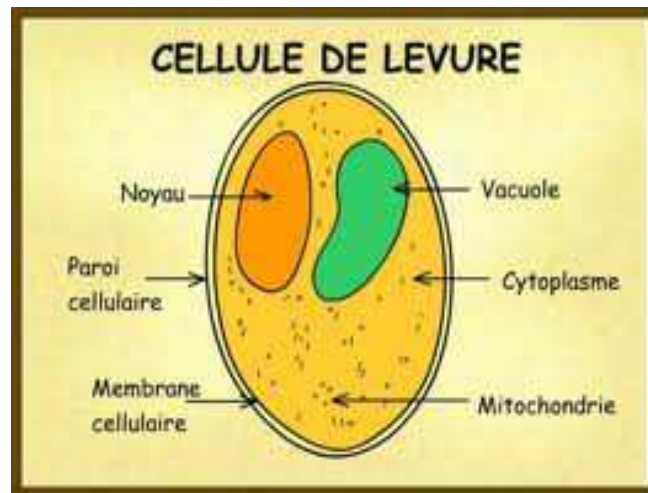


Figure 3 : Structure de la levure *Saccharomyces cerevisiae*

- ❖ Une **paroi cellulaire** entourant la membrane plasmique et protégeant la levure des agressions physico-chimiques du milieu extérieur. Elle est constituée d'une couche externe de mannoprotéines, associés à des glucanes et une couche interne de glucanes associés à une petite quantité de chitine.
- ❖ Une **membrane cytoplasmique** composée principalement de phospholipides double couche (partie hydrophile à l'extérieur et partie lipophile à l'intérieur). Elle contient aussi de nombreux complexes protéiques intrinsèques et extrinsèques dont les rôles sont variés.
- ❖ Un **noyau** contenant l'information génétique du génome chromosomique de la levure.
- ❖ Des **mitochondries** qui jouent un rôle important dans la respiration aérobie de la levure et la production d'ATP.
- ❖ Des **vacuoles**, organites à l'aspect homogène, qui servent d'espaces de stockage pour diverses substances.
- ❖ Des **Chromosomes** : les levures sont des organismes eucaryotes et possèdent un noyau avec des chromosomes linéaires. Chez les *Saccharomyces*, les chromosomes sont au nombre de 16 simples ou 16 paires selon la forme haploïde ou diploïde de la cellule.

5. Mode de reproduction :

Les modes de reproduction varient en fonction des espèces de levures elles peuvent se multiplier par :

- ✓ **Scissiparité** : fission d'une cellule de levure en deux cellules filles identique à la cellule mère

- ✓ **Bourgeoisement** : la plupart des levures se reproduisent par bourgeoisement, une petite hernie apparait en un point de la surface d'une cellule mère, grossit et s'étrangle. Le borgeon (cellule fille) se détache, grossit et bourgeoisonne à son tour.

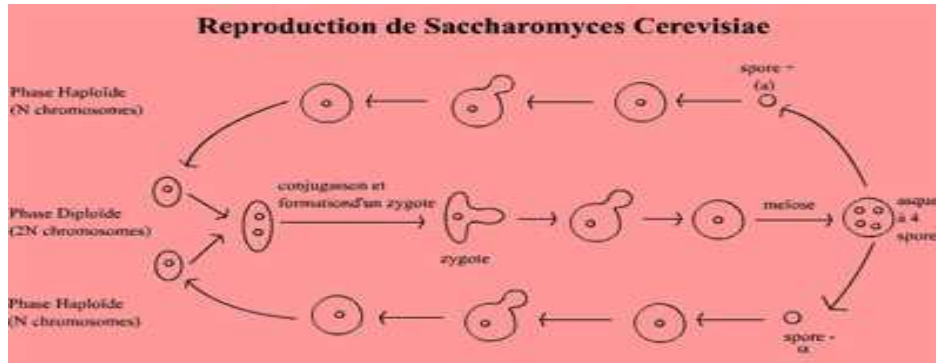


Figure 4 : Cycle de vie de la levure *Saccharomyces cerevisiae*

6. Conditions de croissance

- ❖ **Matières premières** : les matières premières utilisées doivent répondre aux exigences nutritionnelles imposées par la croissance et la multiplication des cellules de levure. la levure est produite sur un milieu de composition définie à base de glucose comme substrat carbonné et de sels d'ammonium et de phosphate comme source d'azote et de phosphate, le milieu de culture devra être complété par un apport de sels minéraux, de vitamines et d'oligoéléments.
- ❖ **Température** : la température optimale de culture des levures se situe en général entre 25°C et 30°C, mais comme les autres micro-organismes, les levures peuvent être classées en levures psychrophiles, mésophiles et thermophiles. D'une façon générale, les levures ne sont pas thermorésistantes. La destruction cellulaire commence dès 52°C.
- ❖ **Activité de l'eau** : la plupart des souches ne peuvent se développer pour une activité de l'eau inférieure à 0,90 ; mais certaines tolèrent des pressions osmotiques plus élevées, correspondant à une activité de l'ordre de 0.60
- ❖ **Oxygène** : toutes les levures sont capables de se développer en présence d'oxygène : il n'y a pas de levure anaérobie stricte.
- ❖ **pH** : les enveloppes cellulaires sont imperméables aux ions H_3O^+ et OH^- . Les levures tolèrent donc des gammes de pH très larges, théoriquement de 2,4 à 8,6.

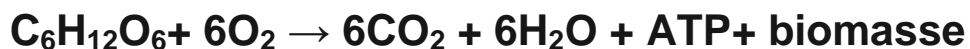
❖ **Agitation.**

7. Métabolisme de la levure :

La levure, comme tout être vivant, vit en présence d'oxygène (aérobiose); mais elle a aussi la remarquable faculté de s'adapter à un milieu sans air (anaérobiose) :

a. Aérobiose :

Lorsque la levure se trouve en présence d'air, elle produit à partir du sucre et de l'oxygène, du gaz carbonique, de l'eau et une grande quantité d'énergie. C'est le processus métabolique de la respiration. Dans ces conditions l'oxydation du glucose est complète :



Toute l'énergie biochimique potentiellement contenue dans le glucose est libérée. Grâce à cette énergie, la levure assure son maintien en vie. Mais elle peut aussi l'utiliser pour synthétiser de la manière organique, c'est-à-dire entrer en croissance et se multiplier. Il lui faudra alors trouver dans le milieu d'autres éléments nutritifs, en particulier de l'azote. Ce processus métabolique est optimisé par les industriels pour cultiver la levure.

b. Anaérobiose :

Lorsque la levure ne dispose pas d'oxygène, elle peut néanmoins utiliser des sucres pour produire l'énergie nécessaire à son maintien en vie. Ce processus métabolique a été défini par Pasteur comme étant celui de la fermentation. Les sucres sont transformés en gaz carbonique et en alcool. L'oxydation du glucose est incomplète:



II. Production industrielle de la levure :

Dans une levurerie, on utilise la fermentation aérobie de la levure. La multiplication se fait par bourgeonnement. La durée totale du dédoublement de la cellule est d'au moins 1h30

1. Matières premières

Comme tout être vivant la levure a besoin de :

- ❖ **Source de carbone** : la mélasse, sa préparation (75 % betterave + 25% canne), Il s'agit d'un co-produit sirupeux de l'industrie sucrière qui constitue la source principale de matières premières de la levurerie. La mélasse est riche en saccharose (contient 50% de sucre), de l'eau, des sels minéraux , de la vitamine B et des matières azotées, des protéines (10 %),des acides aminées (4%), la bétaine (4%), et des cendres en faibles quantités (K_2O, Na_2O ...).
- ❖ **Source d'azote, de sulfate et de phosphate** (Urée, Sulfate d'ammoniac, mono ammonium phosphate) : sels nutritifs.
- ❖ **Source de minéraux et de vitamines.**

2. Etapes de la production de la levure

2. 1. Préparation de la levure mère

Chaque mois la société Lesaffre Maroc reçoit de la France 2 souches de *Saccharomyces cerevisiae*. L'une à la levure fraîche et l'autre à la levure sèche.

Ces souches reçus sontensemencées dans des tubes dans un milieu nutritif spécifique à la croissance des levures pour préparer 60 tubes par mois (30 tubes pour chaque souche). Cette étapes exige des conditions strictement aseptiques pour éviter tout risque de contamination, puis le contenu est transvasé dans un petit ballon « van lear » dont le milieu nutritif est très riche qui sert à une première multiplication cellulaires, puis on verse le contenu de « van lear » en augmentons la taille de ballon « Carlsberg » où se multiplient à nouveau, cette étape se fait en continue.

❖ Pré-fermentation

Après incubation dans la cuve de 800L, le mout obtenu passe à la cuve de la pré-fermentation où en ajoute de la mélasse et les autres éléments comme l'azote et l'acide sulfurique (H_2SO_4) car les levures vivent dans les milieux acides. On contrôle aussi le pH qui doit être entre 3,4 et 4,5 avec l'agitation.les levures sont aérées grâce à l'oxygène de l'air, cette étape se fait en semi-continue.

❖ Fermentation

Après la pré-fermentation arrive la phase de la fermentation qui se fait dans des grandes cuves. Dans cette étape l'alimentation en mélasse, sels nutritifs est continu après certain temps (17 heures grâce au volume de la cuve), on a une grande population de levure sous forme liquide qu'on appelle le mout.

On ajoute aussi un anti-mousse des agents tensioactifs pour éviter les mousses qui se produisent lors de la fermentation.

Au cours de la fermentation il faut des contrôles stricts de température et de pH pour assurer le bon développement et le bon équilibre de la cellule.

2. 2. Séparation

Vient ensuite, la séparation de la cellule de levure du mout, Ce dernier est un mélange de levure, d'eau et du reste de la mélasse. L'opération est effectuée en continu sur des appareils centrifuges qui permettent de laver la levure et d'obtenir une crème qui contient de la levure pure.

Après refroidissement de la crème, celle-ci est stockée à une température de 4°C, puis elle est passée à la cuve d'acidification pour lutter contre le développement des bactéries.

Puis on effectue une deuxième séparation de la crème qui se refroidit avant le stockage à 4°C.

2. 3. Stockage « crème commerciale »

Après la séparation, la crème obtenue est acidifiée par l'acide sulfurique à pH = 2 pour éviter la contamination et réguler la matière sèche.

La crème est refroidie à 4°C et stocké dans de grands bacs.

2. 4. Filtration

La levure-crème contient encore plus de 30 % d'eau, alors que cette étape consiste à éliminer cet eau pour la préserver d'une éventuelle contamination puisque l'eau facilite l'altération par des microorganismes.

La crème arrive au niveau d'un tambour rotatif sous vide qui contient une couche d'amidon, dont le but est ne laisse pas pénétrer que l'eau.

La crème étant étalée sur la surface du filtre et récupérée sous forme de levure rappée.

2. 5. Séchage

On distingue deux types de levures sèche **SPI** et **SPH**, qui diffèrent par la durée de séchage et par le pourcentage de matière sèche :

➤ **La SPI (levure sèche instantanée)**

Sous forme de bâtonnets, elle a une durée de séchage réduite, 20 min environ pour une quantité de 1000 Kg, elle est caractérisée par une force fermentaire supérieure à celle de la SPH. Ce type de levure ne nécessite aucune phase de réhydratation avant son utilisation. Elle est emballée sous vide ou sous azote.

➤ **La SPH (levure sèche active)**

Sous forme de granules sphériques, et caractérisés par une durée de séchage de 4h pour une quantité de 400 Kg à 500 Kg et s'effectue à 45 °C.

Elle est séchée de manière à obtenir 93 à 94% de matière sèche. Ce types de levure nécessite une phase de réhydratation avant son utilisation. Elle est emballée sous air.

3. 5. Emballage

Il existe 2 types d'emballage selon les 2 types de la levure :

➤ **Levure Fraiche**

La levure sous forme de pate tombe dans des trémies où elle est mélangée avec une huile végétale avant de passer dans la boudineuse.

Le boudin de levure pressée est découpé en pain de 500g (Jaouda), qu'on enveloppe individuellement dans un papier paraffiné. Après mise en carton, la levure est conservée en chambre froid afin d'être réfrigérée avant son expédition.

➤ **Levure Sèche**

Pour la levure sèche, le gâteau provenant de la filtration sous vide est mélangé avec une quantité d'émulsifiant qui sert à conserver le produit plus longtemps et donne aussi la couleur caractéristique de la levure.

- ✓ **SPI** : levure sèche instantanée sous forme de petits bâtons fissurés emballées sous vide dans des sachets de 125 g ; 13g (Rafiaa) ou 500 g ; 25g (Nevada).

- ✓ **SPH** : levure sèche active ou à réhydratation sous forme de granules ou de sphérules, emballées sous air dans des sachets de 50 g ; 100 g et 500g.

2. 6. Conservation

La levure fraîche est conservée à 4°C, alors que la levure sèche est conservée à température ambiante.

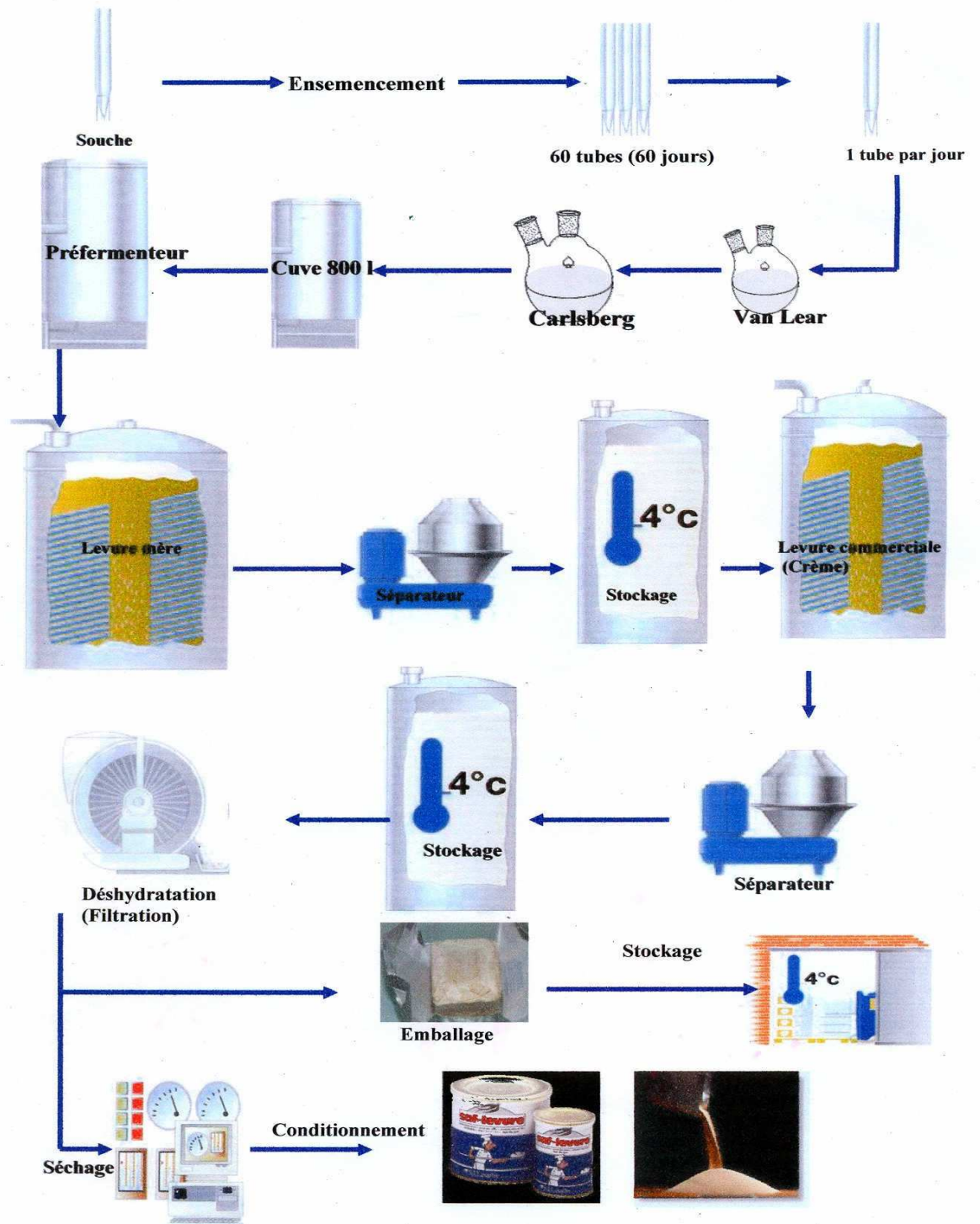


Figure 5 : Schéma général de la production de la levure

2ème partie

Station de traitement des sels nutritifs

I. Sels nutritifs

Les sels nutritifs offrent pour les levures les sources d'azote, de phosphate et de sulfate, qui sont nécessaires pour leur croissance et leur multiplication ; car l'apport azoté et phosphaté de mélasse est insuffisant pour couvrir les besoins de la levure.

Lesaffre Maroc importe les sels nutritifs des sociétés qui fabriquent les engrais utilisés par les agriculteurs.

1. Sels nutritifs utilisés par la société Lesaffre Maroc

- **Urée**

La levure peut utiliser des sources d'azote différentes tels les acides aminés, les peptides, les bases simples. Mais l'azote sous forme d'ion ammonium est plus facilement assimilable.

L'urée utilisée par Lesaffre Maroc se présente sous forme de poudre cristalline blanche, de formule chimique $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ car elle est fabriquée à partir d'ammoniac (NH_3) et de dioxyde de carbone (CO_2), conservée dans des sacs de 50 Kg, sans odeur et soluble dans l'eau. Il contient 21% d'azote.

- **Phosphate mono ammonium (MAP)**

Saccharomyces cerevisiae utilise le MAP comme unique source de phosphore. Il sert à la synthèse des lipides, des hydrates de carbone et participe au maintien de l'intégrité membranaire. Il est aussi une source d'azote.

Pour assurer la disponibilité de cet élément pour la levure, Lesaffre Maroc utilise le MAP de formule chimique $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$. Il s'agit d'un sel d'ammoniac NH_3 et d'acide phosphorique H_3PO_4 , sous forme de cristaux, conservé dans des sacs de 25 Kg, sans odeur et soluble dans l'eau.

Le phosphate d'ammonium comprend PO_4 (61%) et l'azote ammoniacal (21%)

- **Sulfate d'ammonium**

Grace à sa teneur en azote, le sulfate d'ammonium est indispensable à la biosynthèse des protéines de levures nécessaires à la multiplication cellulaires, ainsi qu'à la biosynthèse des protéines pariétales au transfert des sucres de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule.

Lesaffre Maroc utilise le sulfate d'ammonium de formule chimique $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Sous forme de poudre cristalline blanche, conservé dans des sacs de 50Kg, sans odeur, et soluble dans l'eau.

Il contient 21 % d'azotesous forme d'ammonium NH_4^+ et 24 % de soufre sous forme de sulfate SO_4^{2-} .

Lesaffre Maroc importe les sels nutritifs des sociétés qui fabriquent les engrais utilisés par les agriculteurs.

2. Etapes de production des sels nutritifs

Les étapes principales de préparation des sels nutritifs sont schématisées dans la figure 6.

2.1. Tamisage

A partir de la salle du stockage des 3 types des sels, ceux-ci sont transportés à l'aide d'un chariot jusqu'aux cuves de préparation pour les tamiser avant de les verser dans les cuves de préparation. Dont le but est de séparer les grands débris des sels nutritifs.

Cette fonction est assurée par les tamis déposés à l'entrée des cuves de préparation lors du versement des sels dans les cuves. Une fois le versement est fini ces tamis sont enlevées automatiquement.

2.2. Dilution

Dans la station de préparation il existe un seul bac pour les trois sels : le matin est réservé pour préparer l'urée, l'après-midi pour préparer le sulfate et enfin le soir pour préparer le MAP.

Les sels sont tamisés dans une cuve qui est déjà remplie d'eau désinfectée avec de l'eau de javel (la chloration), qui est un produit chloré, qui a des propriétés rémanentes, ce qui signifie que son action désinfectante est valable sur tout le long des préparations des sels. La cuve de préparation est menue d'un agitateur pour accélérer la solubilisation des sels.

Afin d'obtenir la concentration souhaitée dans chaque cuve de préparation, les normes caractérisées par le volume d'eau et la quantité des sels évacuée doivent être respectés.

Tableau 1: Concentration des sels nutritifs

	Capacité de bacs	Nombre de sacs	Volume d'eau (L)	Densité	Eau de Javel (L)
Urée	25 m ³	45 de 50 Kg	1000	1,05	1

MAP	15m ³	50 de 25 Kg	10800	1,055	1
Sulfate	7 m ³	25 de 50 Kg	6000	1,095	0,5

2. 3 .Stockage

Lorsque la préparation des sels est terminée (10min), ces sels sont pompé vers la station de stockage contenant pour chaque type de sel deux cuves munis d'une pompe.

2. 4. Distribution

Les cuves se trouvant dans la salle de stockage sont connectées aux fermenteurs pour leur alimentation. Le contrôle de la quantité des sels qui passe dans les cuves se fait dans la salle de contrôle par des débitmètres.

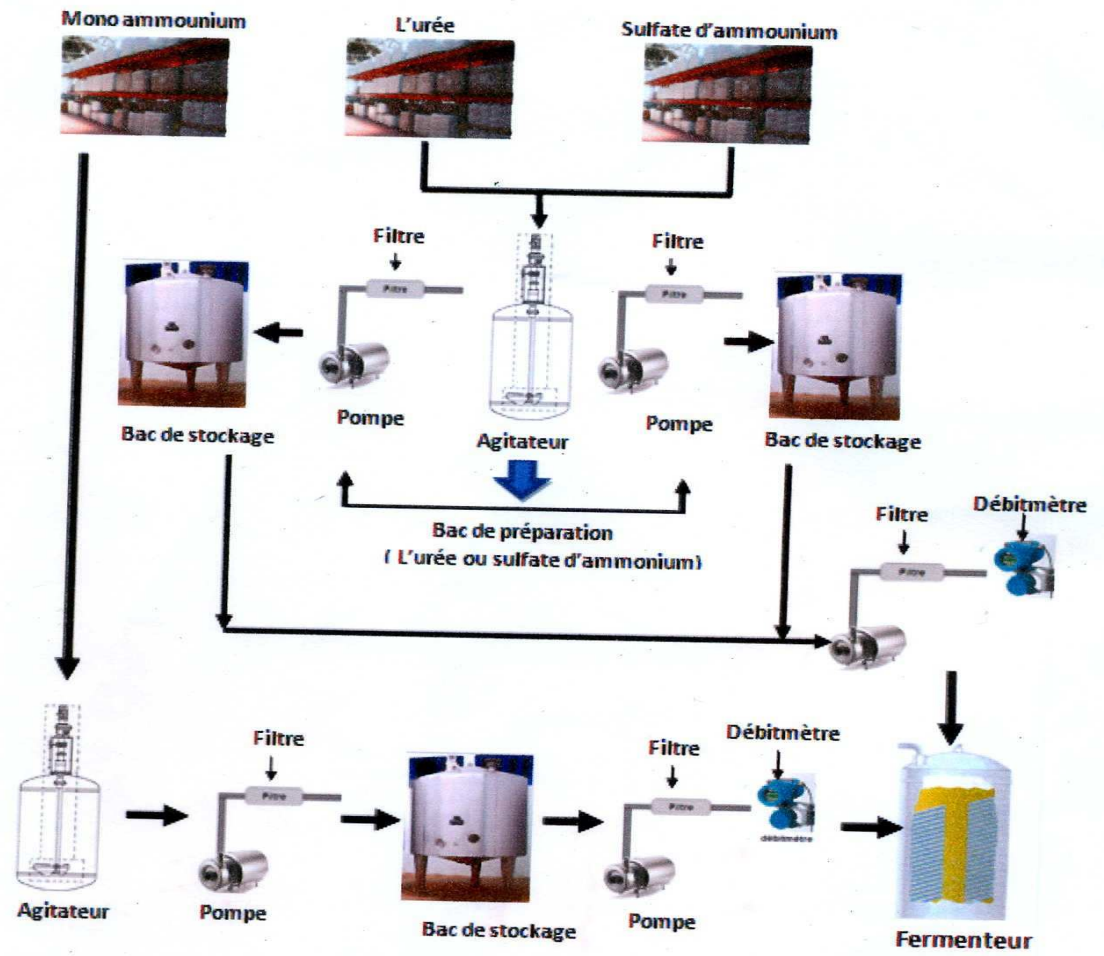


Figure 6 : Schéma du circuit de préparation des sels nutritifs

3^{ème} Partie

Matériel et Méthodes

I. Matériel

1. Cuve de préparation



Figure 7 : Cuve de préparation des sels

Le cuve de préparation des sels nutritifs est un récipient, qui se compose :

- D'une isolée de type inox (anticorrosion),
- D'une cuve intérieure présentant une bonne conductibilité solide, indéformable (matériaux inoxydables),
- D'un agitateur assurant la solubilisation des sels dans l'eau,
- Sa forme et notamment son fond est conçu de façon que l'écoulement des liquides par la vanne de vidange disposée en un point bas se fasse complètement et rapidement.

2. Filtre



Figure 8 : Filtre

Avant de transférer la solution vers les cuves de stockage, elle traverse un filtre qui contient des pores très fins dans le but d'éliminer les impuretés.

Le filtre utilisée par Lesaffre Maroc est un filtre à cartouche sous forme d'un cylindre, disposant d'une entrée et d'une sortie généralement opposées.

✓ Principe

L'eau sale aspirée ou poussée par la pompe de filtration, pénètre dans la cuve par l'extérieur de la cartouche, traverse la matière filtrante, puis ressort par le tube central de la cartouche. Un Clapet anti-retour évite le retour des impuretés à l'arrêt de la pompe.

Le nettoyage de la cartouche se fait une fois par jour.

3. Pompe



Figure 9 :Pompe centrifuge

Une pompe est un dispositif permettant d'aspirer et de refouler un fluide.

Les pompes véhiculant des liquides se divisent en deux catégories principales:

- **les pompes centrifuges** : le mouvement du liquide résulte de l'accroissement d'énergie qui lui est communiqué par la force centrifuge. c'est le type utilisé chez la société Lesaffre Maroc.

Principe de fonctionnement de pompe centrifuges :

Une pompe centrifuge est constituée par:

- une roue à aubes tournant autour de son axe.
- un distributeur dans l'axe de la roue.
- un collecteur de section croissante, en forme de spirale appelée volute.

Le liquide arrive dans l'axe de l'appareil par le distributeur et la force centrifuge le projette vers l'extérieur de la turbine. Il acquiert une grande

énergie cinétique qui se transforme en énergie de pression dans le collecteur où la section est croissante.

L'utilisation d'un diffuseur (roue à aubes fixe) à la périphérie de la roue mobile permet une diminution de la perte d'énergie.

- **les pompes volumétriques** : l'écoulement résulte de la variation d'une capacité occupée par le liquide.

4. Débitmètre



Figure 10 : Débitmètre

Un **débitmètre** est un appareil destiné à mesurer le débit d'un fluide, liquide ou gazeux.

Selon le niveau du débit et la nature du fluide, le principe du débitmètre adapté est très variable :

- Certains sont basés sur la mesure de la vitesse du fluide comme les anémomètres ; on utilisera dans ce cas un tube de Pitot, un débitmètre à turbine, un débitmètre à ultrasons, un débitmètre ionique ou un courantomètre.
- On peut également utiliser la mesure de la perte de charge (perte de pression) ou pression différentielle entre un repère amont et un repère aval, ceci à l'aide d'une plaque à orifice, d'une tuyère (comme dans le cas d'un débitmètre à tube de Venturi), d'un débitmètre électromagnétique, d'un débitmètre à effet vortex, ou d'un débitmètre à diaphragme.

II. Plan de nettoyage :

Tableau 2 : Plan de nettoyage

	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
Cuve de préparation	Soude+ acide nitrique		Soude		Soude		Soude
Cuve de stockage Urée n°1		Soude+ acide nitrique		Soude		Soude	
Cuve de stockage Urée n°2	Soude		Soude+ acide nitrique		Soude		Soude
Cuve de stockage Sulfate n°1		Soude		Soude+ acide nitrique		Soude	
Cuve de stockage Sulfate n°2	Soude		Soude		Soude+ acide nitrique		Soude
Cuve de stockage MAP n° 1		Soude		Soude		Soude+ acide nitrique	
Cuve de stockage MAP n°2	Soude		Soude		Soude		Soude+ Acide nitrique
Circuit refoulement Vers stockage		Soude+ acide nitrique		Soude		Soude	
Circuit de Consommation des sels	Soude		Soude+ acide nitrique		Soude		Soude

III. Contrôle microbiologiques des sels nutritifs

Après la compréhension des principales informations sur intérêt et la chaîne de préparation des sels nutritifs ont été intégrées dans l'équipe du laboratoire microbiologique afin de réaliser les analyses nécessaires pour évaluer les risques de contamination.

1. Echantillonnage

Afin de vérifier si les sels nutritifs répondant aux normes comme une source de nutriments pour la production des levures des échantillons ont été prélevés à chaque étape de préparation.

1. 1. Prélèvement

❖ Matériel utilisé

- ✓ Pissette contenant l'alcool
- ✓ Flacons stériles

❖ Protocole suivi

- ✓ Rincage des robinets des cuves où se trouvent les sels avec l'alcool.
- ✓ Ouverture des robinets afin d'éliminer la fraction de sels qui reste dans les conduits (brix-jet).
- ✓ Prélèvement des sels nutritifs dans des flacons stériles.
- ✓ Fermeture des robinets et leur désinfection avec de l'alcool.

1. 2. Echantillons prélevés

Les échantillons analysés ont été prélevés à partir de différentes étapes de préparation :

- Les sels en poudre
- Les sels nutritifs (urée, Sulfate, Phosphate), à partir de :
 - Salle de préparation.
 - Station de stockage.
 - Entrée du fermenteur.

2. Analyse microbiologique

2. 1 .Recherche des bactéries totales

2. 1. 1. Définition

Les bactéries totales ou La **Flore Mésophile Aérobie Totale** (FMAT) est un indicateur sanitaire qui permet d'évaluer le nombre d'UFC (Unité Formant une Colonie) présentes dans un produit ou sur une surface.

2. 1. 2. Milieu de culture

La gélose nutritive glucosée est un milieu ordinaire (pour éliminer les levures de cultures).

Ce milieu est composé de :

- Peptone : 5,0 g/L
- Extrait de levure : 2,5 g/L
- Glucose : 1,0 g/L
- Agar : 15,0 g/L

Le pH =7

2. 1. 3. Incubation et lecture des résultats

Les boites sont incubées à 37°C, et après 72h le nombre de colonies est compté dans chaque boite.



Figure 11 : Aspect du milieu de la gélose nutritive glucosée

2. 2. Recherche des coliformes totaux

2. 2. 1. Définition

Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale. Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives.

Les principaux genres inclus dans le groupe sont : Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, Klebsiella et Serratia.

2. 2. 2. Milieu de lecture

Le milieu utilisé à Lesaffre Maroc pour les coliformes est la Gélose au désoxycholate

- Ce milieu est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes dans les eaux, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

- Ce milieu est également employé pour la différenciation et l'isolement des entérobactéries à partir des prélèvements d'origine animale.

- Ce milieu est composé de :

- Peptone 10,0 g
- Citrate de sodium 1,0 g
- Lactose 10,0 g
- Rouge neutre 0,03 g
- Désoxycholate de sodium 1,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Hydrogénophosphate de potassium 2,0 g
- Agar 13,0 g

Le pH = 7,3

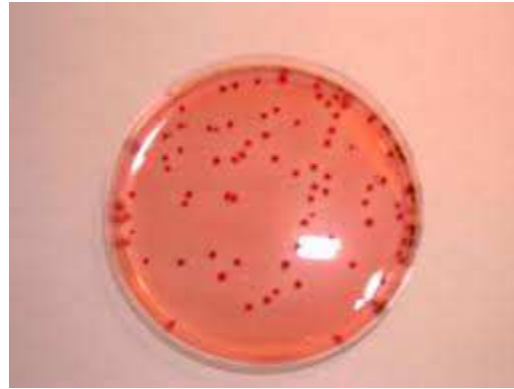


Figure 12 : Aspect du milieu au Désoxycholate

2. 2. 3. Incubation et lecture des résultats

Les boîtes sont incubées à 30°C, après 24h le nombre de colonies est compté dans les boîtes.

2. 3. Recherche des levures sauvages

2. 3. 1. Définition

Il s'agit d'un type de levures à forme allongée, ne participant pas à la fermentation et causent différents problèmes sanitaires et influençant sur la qualité de levure *Saccharomyces cerevisiae* (force, conservation).

2. 3. 2. Milieu de culture

La lysine est la dénomination donnée à ce milieu de culture. Son nom découle de sa composition, enrichie en fer et en lysine. Il sert à mettre en évidence les levures sauvages et pathogènes.

Ce milieu est composé de :

- Peptone de gélatine : 5,0 g
- Extrait de levure : 3,0 g
- L-lysine 10,0 g
- Glucose 1,0 g
- Citrate de fer III ammoniacal 0,5 g
- Bromocrésol pourpre 20,0 mg
- Thiosulfate de sodium 40,0 mg
- Agar 13,5 g

Le pH = 6,7



Figure 13 : Aspect du milieu à la lysine

2. 3. 3. Incubation et lecture des résultats

Les boîtes sont incubées à 30°C, après 72h le nombre de colonies est compté dans les boîtes.

3. Ensemencement

3. 1. Sels nutritifs

Le même principe pour les bactéries totales, les coliformes totaux, les levures sauvages ; La seule différence est le temps d'incubation qui est de 24h pour les coliformes totaux alors que c'est de 72h pour les deux autres :

L'ensemencement consiste à :

- ✓ Débarrasser la paillasse et à désinfecter avec de l'alcool.
- ✓ Régler le bec bensen pour avoir une flamme bleue, seule une zone de 15cm est considérée, et toutes les manipulations doivent être réalisées près de la flamme.
- ✓ Prendre une pipette, la flamber et la laisser près de la flamme.
- ✓ Prendre le flacon de l'échantillon dans la main gauche, ouvrir dans la zone stérile, garder le bouchon dans la main droite. et flamber l'ouverture du flacon.
- ✓ On utilisant la pipette, prélever 1 mL de l'échantillon.
- ✓ Déposer le flacon et prendre une boîte de pétri stérile, l'ouvrir près de la flamme et déposer l'échantillon.
- ✓ Verser la gélose refroidie à 45°C dans la boîte de pétri, mélanger rapidement en faisant des mouvements circulaires.

- ✓ Laisser solidifier, et mettre à l'incubation.

3. 2. Sels en poudre

Pour la recherche des bactéries totales, les coliformes totaux, les levures sauvages, dans les sels en poudre ; On effectue le même principe que les sels nutritifs :

Nous avons réalisé des dilutions dans le tryptone-sels (10 g de sels sur 100 g de tryptone), et l'ensemencement a été fait à partir de la dilution.

4 éme partie

A decorative red scroll frame with rounded corners and a vertical strip on the left side, containing the text 'Résultats et discussion' in a dark red serif font.

Résultats et discussion

1. Sels en poudre

Le tableau suivant présente le nombre de colonies par apport aux types de sels.

Tableau 3 : Nombre de colonies au niveau des sels en poudre

Germes Sels	Nombre de levures sauvages	Nombre de bactéries totales	Nombre de coliformes totaux
Urée	0	0	0
Sulfate	0	10	0
MAP	0	0	0

➤ Graphique :

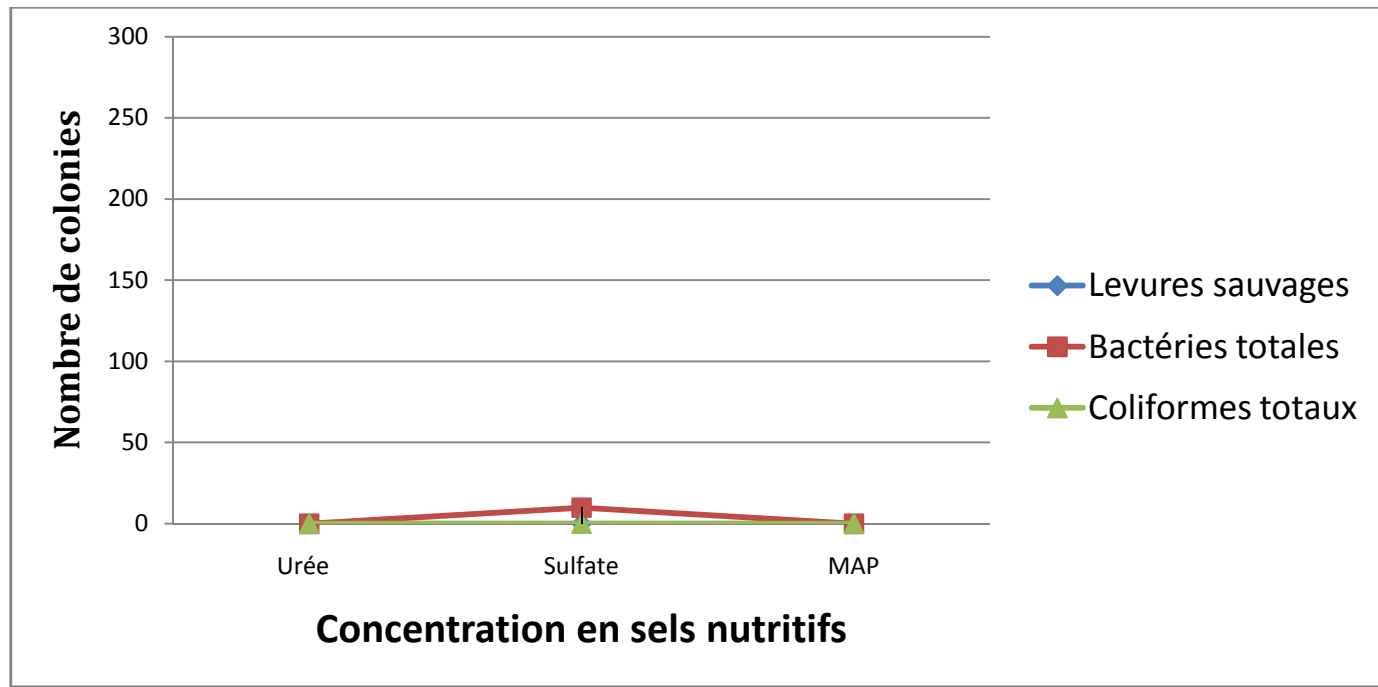


Figure 14 : Représentation graphique du nombre de colonies au niveau des sels en poudre

➤ Interprétation

D'après les résultats, on observe l'absence des germes recherchés à part quelques colonies de bactéries totales au sulfate, mais cela peut être due à une mauvaise manipulation.

2. Station de préparation

Le tableau ci-dessous présente le nombre de colonies par apport aux date de prélèvements au niveau de la station de préparation.

Tableau 4 : Nombre de colonies au niveau de la station de préparation des sels nutritifs au cours du temps

Station	Préparation								
	Nmbre de coliformes totaux			Nombre de levures sauvages			Nombre de bactéries total		
Germes									
Date/ Sels	Urée	Sulfate	MAP	Urée	Sulfate	MAP	Urée	Sulfate	MAP
23/04/2014	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25/04/2014	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29/04/2014	0	0	0	3	0	0	7	1	0
05/05/2014	0	0	0	0	0	0	0	0	0
07/05/2014	0	0	0	0	0	0	0	1	0
11/05/2014	0	0	1	0	0	0	0	0	0
13/05/2014	0	0	0	0	0	0	1	0	0
15/05/2014	0	0	0	0	0	0	0	0	0
19/05/2014	0	0	0	0	0	0	2	0	0
21/05/2014	0	0	0	0	0	0	1	0	0
27/05/2014	0	0	0	0	0	0	0	0	0

➤ Graphique

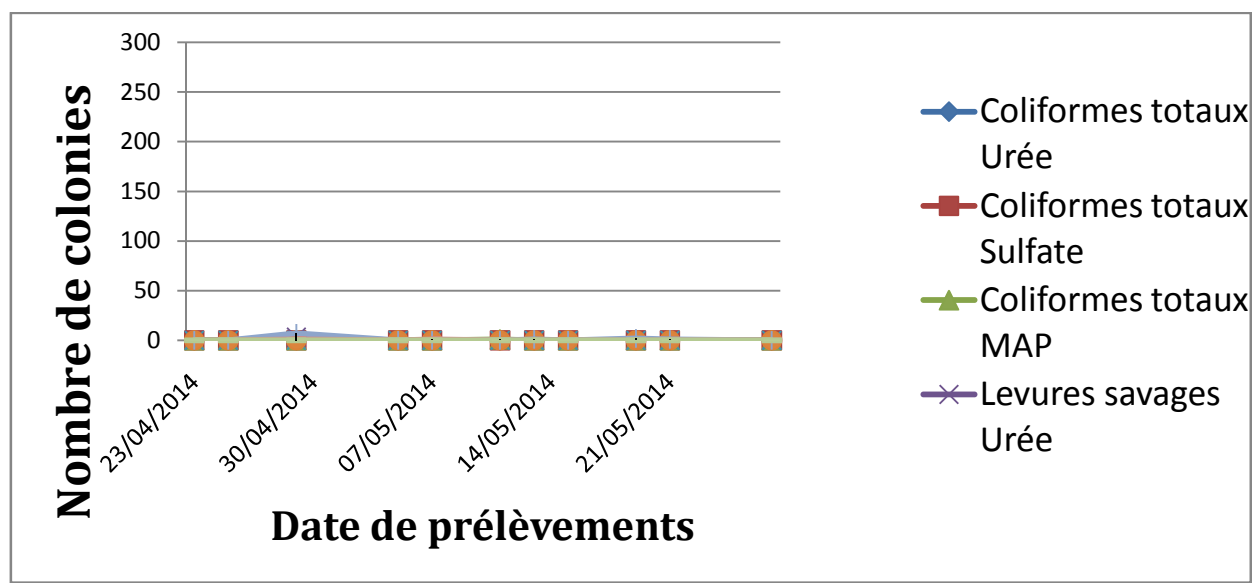


Figure 15 : Représentation graphique du nombre de colonies au niveau de la station de préparation des sels nutritifs

➤ Interprétation

Les résultats montrent l'absence de contamination. Ceci peut être expliqué par l'utilisation de l'eau de Javel comme désinfectant.

3. Station de stockage

Le tableau ci-dessous présente le nombre de colonies par apport aux date de prélèvements au niveau des 2 stations de stockages.

Tableau 5 : Nombre de colonies au niveau de deux cuves de stockage des sels nutritifs au cours du temps

Station	stockage																
Germes	Nombre de coliformes totaux						Nombre de Levures sauvages						Nombre de bactéries totales				
Sels Date	U A	U D	S A	S D	MAP A	MAP D	U A	U D	S A	S D	MAP A	MAP D	U A	U D	Su A	Su D	MAP A
23/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29/04/14	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
03/05/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
05/05/14	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	+	0	0
13/05/14	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
19/05/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	+	0	0
21/05/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0
23/05/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25/05/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

➤ **Graphique**

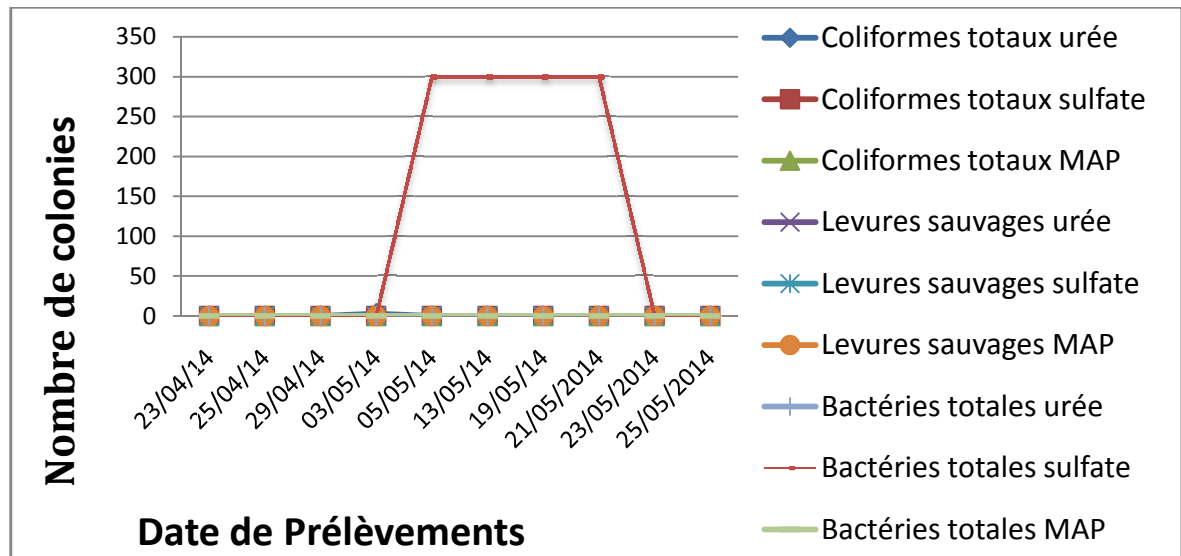


Figure 16 : Représentation graphique du nombre de colonies au niveau de la station de stockage A des sels nutritifs

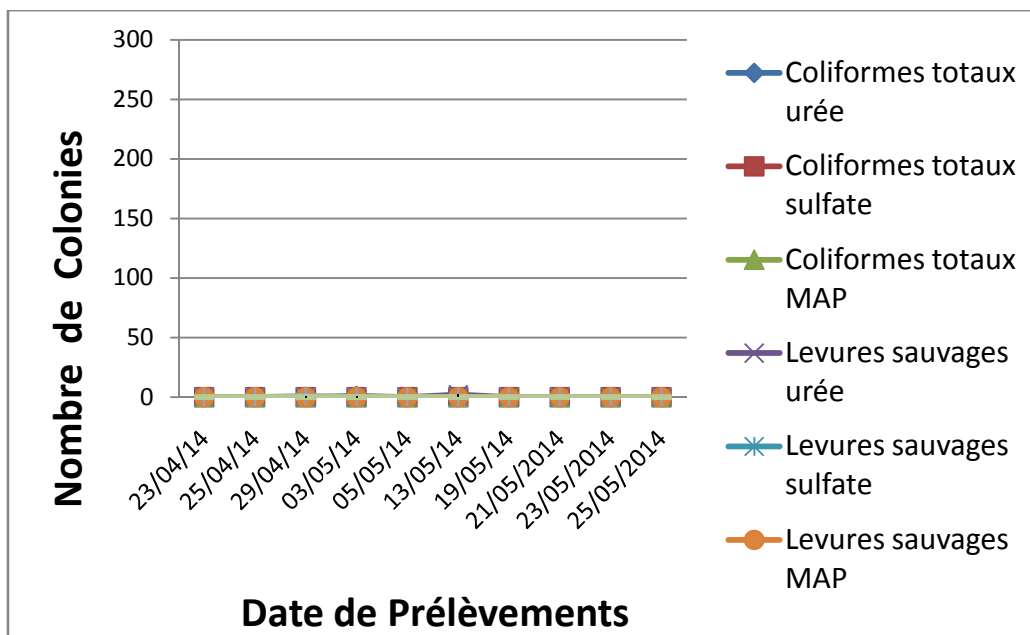


Figure 17 : Représentation graphique du nombre de colonies au niveau de la station de stockage D des sels nutritifs

➤ Interprétation

La plupart des résultats montrent l'absence des germes sauf 4 coliformes le 29 avril, 2 bactéries le Mai..., ceci peut être due à un mauvais prélèvement ou une mauvaise manipulation.

Mais on remarque un problème au niveau des bactéries totales des sulfates qui est de 300 colonies depuis le 5 Mai jusqu'au 21 mai dans la station de stockage A et l'absence des mêmes germes dans la station D. les germes ont disparu le 21 mai, cela peut être due au nettoyage des cuves et des pompes qui est effectué le 20 mai après avoir informé les responsables.

Les colonies sont comptées entre 30 et 300.

4. Station de distribution

Le tableau ci-dessous présente le nombre de colonies par rapport aux dates de prélèvements au niveau de la station de distribution.

Tableau 6 : Nombre de colonies au niveau de distribution des sels nutritifs au cours du temps

Station	Distribution								
Germes	Nombre de coliformes totaux			Nombre de levures sauvages			Nombre de bactéries totales		
Sels Date	Urée	Sulfate	MAP	Urée	Sulfate	MAP	Urée	Sulfate	MAP
21/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
25/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
29/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3/05/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
07/05/14	0	0	0	0	3	0	0	300	0
15/05/14	0	0	0	0	0	0	0	300	0
22/05/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24/04/14	0	0	0	0	0	0	0	0	0

➤ Graphique

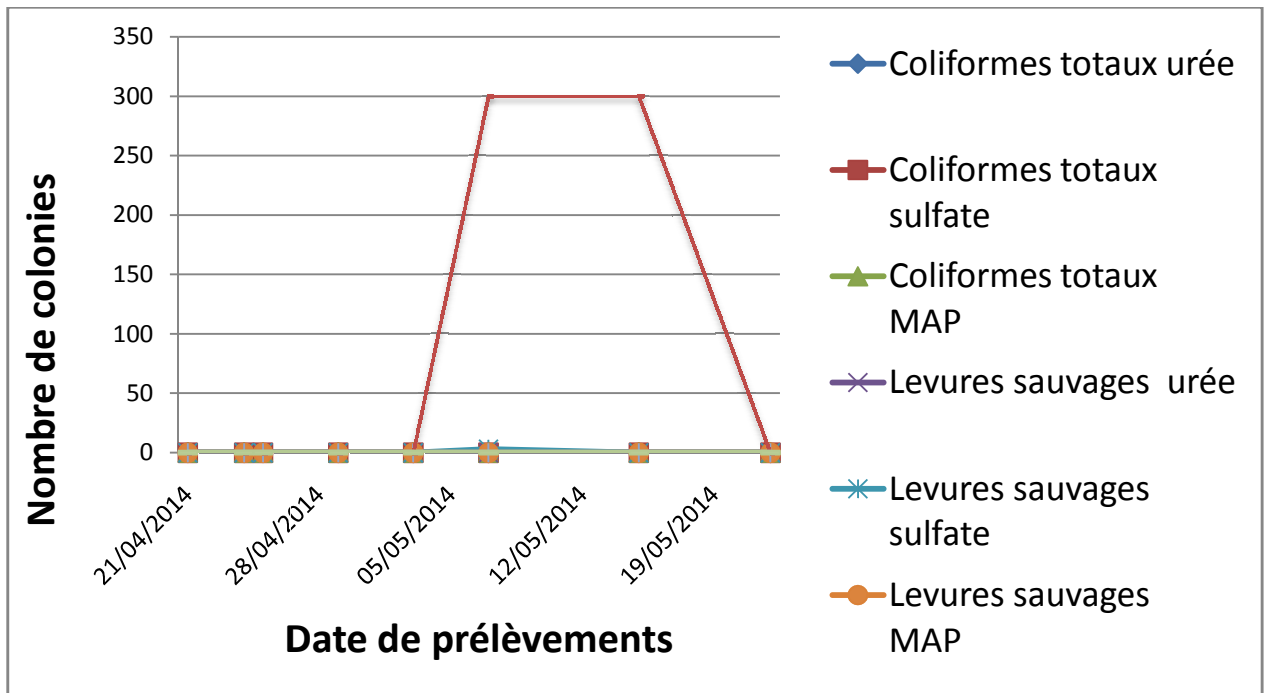


Figure 18 : Représentation graphique du nombre de colonies au niveau de la station de distribution des Sels nutritifs

➤ Interprétation

D'après les résultats on remarque qu'on a encore le problème des bactéries totales sur les sulfates car les sels passent directement de stockage à l'entrée sans aucun traitement, mais une fois le problème de stockage est réglé, la contamination a disparu.

➤ Commentaire

La présence du germe résulte d'une mauvaise manipulation, un mauvais nettoyage des cuves de stockage et des pompes ou un mauvais prélèvement.

Conclusion

D'après les analyses microbiologiques que nous avons effectué durant les différentes étapes de la préparation des sels nutritifs au sein du laboratoire des analyses microbiologiques de la société LESAFFRE MAROC on constate que :

- Il y a un problème de nettoyage au niveau de la cuve A de stockage des sulfates, mais la disponibilité de personnels qui à effectué un nettoyage de cette cuve sur place explique le suivie des bonnes pratiques d'hygiène au cours de circuit de préparation.

Mon stage au sein de la société Lesaffre Maroc présente une véritable expérience professionnelle qui m'a permis de :

- Bien connaitre la procédure de la production de la levure de boulangerie.
- Bien maitriser la méthode de recherches microbiologiques.
- Respecter la bonne pratique d'hygiène.
- De développer la communication interpersonnelle et le travail en groupe.

Références bibliographiques

- Biotechnologies de la levure (Jean-Paul Larpent)
 - ✓ Date de parution : 01/10/90
 - ✓ Editeur : Elsevier Masson

- Les levures et les moisissures :
 - ✓ C.Bärtschi – juin 2009.
 - ✓ 10 Rue Raphael Dubois – Bâtiment Lwoff
69622 Villeurbanne cedex
Tel : 04-72-43-10-43

- Rapports des stages de fins d'études FST : « Sels nutritifs ».
 - ✓ Meryem Makran (2012/2013).
 - ✓ Zakia(2009/2010).

