



Université Sidi Mohammed Ben Abdellah
Faculté des Sciences et des Techniques Fès



Projet de fin d'étude

Licence en sciences & techniques

Biotechnologie Hygiène et Sécurité des Aliments

***Analyse Microbiologique de Millefeuille et
composants à la société AL HANINI***

Présenté par :

El Mrini Fatima Zahra

Encadré par :

Pr. Mme Naïma EL GHACHTOULI, FST FES

Mr. T. ATMOUNIA, société AL HANINI

Soutenu le :

10 Juin 2014

Devant Jury :

Pr. Mme Naïma EL GHACHTOULI, FST FES

Pr. Mr Noureddine Chadli, FST FES

Stage effectué au sein de la société de
pâtisserie et de boulangerie AL HANINI



Année Universitaire : 2013/2014

Dédicace

A la mémoire de ma très chère mère

Affable, honorable, aimable : Tu as toujours représenté pour moi le Symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours
pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire
Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et
nuit pour mon éducation et mon bien être.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond
amour. Puisse Dieu, le tout puissant,
t'accorder la paix dans ses paradis.

A ma très chère Tante Khadija et sa fille

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour,
l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours
pour vous.

Vous avez toujours été présentes pour les bons conseils.
votre affection et votre soutien m'ont été d'un grand secours au
long de ma vie scolaire et personnelle.

Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et
vous accorder santé, longue vie et bonheur.

Veillez trouver dans ce modeste travail ma reconnaissance pour
tous vos efforts

Remerciements

Le travail faisant l'objet de ce mémoire a été réalisé au sein du Laboratoire d'analyses de qualité à la société de pâtisserie et de boulangerie AL HANINI

*Tout d'abord, je remercie Dieu tout puissant qui m'a aidé à mener ce travail à terme. J'ai le plaisir de remercier le tuteur et encadrant **Mr T. ATMOUNIA** pour son acceptation et de son généreuse réception au sein de la société AL HANINI de boulangerie et pâtisserie, ainsi que pour sa patience et ses diriges pendant cette période inoubliable de stage.*

*Je tiens à exprimer ma grande gratitude à **Madame Naïma El Ghachtouli**, pour avoir dirigé très judicieusement ce travail. J'aimerais exprimer ma reconnaissance pour sa grande qualité humaine et sa disponibilité ainsi que pour sa précieuse aide qui m'ont été d'un grand soutien pour avoir réalisé ce mémoire.*

Je remercie vivement tous les enseignants du cycle Licence Sciences et Techniques de la filières de biotechnologie hygiène et sécurités des aliments, et tous les enseignants pour leur participation à notre formation.

Je tiens à remercier les membres de jury pour avoir lu et commenté mon modeste travail.

Je remercie également tout les membres du personnel de la société AL HANINI pour le soutien la coopérativité et les bons moments passés ensemble, ainsi qu'à tous les étudiants de LST BHSA.

Sommaire

Introduction Générale.....	1
Présentation de l'entreprise.....	3
I. Généralités	3
II. Fiche technique	4
III. Organisation interne et diversification de produits	4
Chapitre I : Bibliographie.....	6
I. Pâtisserie Millefeuille	7
I.1. Présentation	7
I.3. Dangers sanitaires	7
II. Fabrication des Millefeuilles	7
II.1. Pâte feuilletée	7
II.1.1. Composition	8
II.1.2. Chaîne de fabrication	8
II.2. Crème blanche (Mantequilla)	8
II.2.1. Composition	8
II.2.2. Chaîne de fabrication	9
II.3. Crème de fourrage	9
II.3.1. Composition	9
II.3.2. Chaîne de fabrication	10
II.4. Crème de garnissage	10
II.4.1. Composition	10
II.4.2. Chaîne de fabrication	10
III. Micro-organismes contaminants en pâtisserie industrielle	10
III.1. Les germes témoins du niveau d'hygiène	11
III.1.1. Microorganismes aérobies mésophiles (ou 30°C)	11
III.1.2. Coliformes totaux et coliformes fécaux	11
III.1.3 Levures et moisissures	11
III.2. Les germes pathogènes	12
III.2.1. Staphylococcus aureus	12
III.2.2. Anaérobies sulfito-réducteurs (46°C)	12
III.2.3 Salmonella (Salmonelles)	12

Chapitre II:	13
Matériel et Méthode	13
I. Prélèvements et préparation des échantillons	14
II. Analyse microbiologique de la FMAT	15
II.1. Milieu PCA de la FMAT	15
II.1.1. Composition	15
II.1.2. Préparation	15
II.1.3. Principe	15
II.2. Ensemencement.....	15
II.3. Incubation.....	16
II.4. Lecture des résultats.....	16
III. Analyse microbiologique des coliformes	16
III.1. Milieu Tergitol TTC.....	16
III.1.1. Composition	16
III.1.2. Préparation.....	16
III.2. Ensemencement	16
III.3. Incubation	17
III.4. Lecture des résultats	17
IV. Analyse microbiologique des levures et des moisissures.....	17
IV.1. Milieu Sabouraud	17
IV.1.1. Composition.....	17
IV.1.2. Préparation.....	17
IV.1.3. Principe	18
IV.2. Ensemencement	18
IV.3. Incubation	18
IV.4. Lecture des résultats.....	18
Chapitre III :	19
Résultats et discussions.....	19
I. Analyses microbiologiques de la crème Mantiquilla	20
II. Analyse microbiologique de la crème de fourrage.....	21
III. Analyse microbiologique de la crème de garnissage	22
IV. Analyses microbiologiques de millefeuille complète	23
Conclusion	24
ANNEXES.....	25
Références bibliographiques.....	26

Liste des abréviations

SA : Société anonyme

PCA : Plate Count Agar

FMAT : Flore Mésophile Aérobie Totale

TTC : Chlorure de Triphényl Tétrazolium

A_w : Activité de l'eau (water activity)

Nc : Non comptable

Liste des figures et tableaux

Tableau 1 : Fiche technique de la société AL HANINI

Tableau 2 : Diversification de production AL HANINI

Tableau 3 : Ingrédients pâte feuilletée et leurs quantités

Tableau 4 : Ingrédients de la mantiquella et leurs quantités

Tableau 5 : Ingrédients de la crème de fourrage et leurs quantités

Tableau 6 : Ingrédients de la crème de garnissage et leurs quantités

Tableau 7 : Dénombrement des différents contaminants dans la crème de Mantiquella

Tableau 8 : Dénombrement des différents contaminants dans la crème de Fourrage

Tableau 9 : Dénombrement des différents contaminants dans la crème de Garnissage

Tableau 10 : Dénombrement des différents contaminants dans la mille-feuille complet

Tableau 8 : Critères microbiologiques des pâtisseries à la crème

Figure 1 : Préparation des échantillons à analyser

Introduction Générale

Les mille-feuilles comme produits de l'industrie de pâtisserie par excellence représentent un principal dessert vendu dans les marchés d'une façon exponentielle dû à son extrapolation avec le désir du consommateur qui séduit par le goût sucré et la structure croustillante que lui offrent les différents étages de pâte feuilletée.

L'importance de ce produit pour le consommateur se traduit dans le degré de production dont se charge l'industrie pour satisfaire les besoins des clients. Cette importance peut être présentée par l'exemple de degré de production moyenne en périodes de demande minimale par la société al Hanini des pâtisseries et boulangeries qui peut atteindre des valeurs variantes de 1784 à 5509 unités.

Les millefeuilles présentent du même degré un domaine sensible de point de vue qualité et sécurité microbiologique. La pâte qui constitue les mille-feuilles est de nature très sèche (facteur défavorisant pour la multiplication des contaminants). Alors que les crèmes (pâtissière, blanche et chocolat) qui représentent en totalité presque le 60% du produit, sont très mouillées et principalement graisseuses particulièrement sucrées pour la pâtissière et chocolat (milieu idéale à la prolifération des micro-organismes).

La démarche qualité mise en place dans les industries agroalimentaires vise à garantir la conformité de leur production à un ensemble de critères et répond en cela aux exigences de sécurité des consommateurs.

Le respect de ces critères, en particulier microbiologiques, nécessite des contrôles pratiqués tant sur les matières premières, les produits en cours de fabrication et les produits finis, que sur les locaux et le personnel (Bonney, 2002).

Ces analyses prennent aujourd'hui largement place dans la plupart des usines et des réseaux de distribution et permettent, par la réalisation de contrôles judicieux, une bonne évaluation de la qualité et une mise en évidence d'éventuelles contaminations, les actions correctives qui en découlent sans pour autant trop alourdir les charges.

Le laboratoire au sein de AL HANINI ainsi que les analyses réalisées au dehors de ses murs au niveau des zones de production de matière première (farine, sucre..) se collaborent pour contrôler le plus possible de ces qualités sanitaires mais aussi marchandes dans un certain

niveau où les consommateurs commencent à avoir conscience de l'importance de « BONNE qualité ».

Ce rapport est réalisé suite à une période de stage effectuée au sein de la société AL HANINI de boulangerie et de pâtisserie. L'objectif de ce stage était d'étudier la contamination microbiologique du produit millefeuille et ses différents composants, au cours de sa préparation et en tant que produit fini destiné à distribution vers les consommateurs.

Ce contrôle avait l'intérêt de réaliser une quantification de certaines bactéries et moisissures dont la présence se traduit par une pathogénicité du produit et alors d'un danger pour le consommateur et surtout révèle le niveau du respect des conditions d'hygiène et de sécurité alimentaire qui peut être causé par différents facteurs : milieu de travail, la bonne pratique du personnel, le matériel ... (Bellec, 2009).

Le rapport est présenté en 5 parties :

- La première partie est une présentation détaillée de la société de pâtisserie et de boulangerie AL HANINI au sein de laquelle ce stage a été effectué ;
- La deuxième partie présente une étude bibliographique sur la procédure de fabrication du produit mille-feuille et sur les contaminants susceptibles de le menacer ;
- La troisième partie donne une vue sur le côté pratique des analyses et du matériel et méthodes utilisés ;
- La quatrième partie se chargera d'étudier les résultats obtenues au cours des analyses est de conclure sur la conformité ou non de la qualité microbiologique du produit millefeuille ;
- On conclura ce rapport dans la cinquième partie par donner des suggestions de mesures préventives et correctives possibles pour améliorer la qualité de production.

Présentation de l'entreprise

I. Généralités

AL HANINI est une société de boulangerie et de pâtisserie créée en 2003 par Mr abdelmoula Atmounia et son fils Mr Tarik Atmounia et encore en bon continuation ce qui lui donne 11 ans de productivité et de développement positifs que lui assurent :

- Sa stratégie d'innovation et d'encouragement pour les nouvelles idées soit au niveau produit ou techniques facilitant de travail.
- La qualité à la fois marchande et sanitaire des produits.
- Au niveau qualité le service de laboratoire fait de son mieux et tout ce qu'il faut pour garder son niveau croissant des techniques de contrôles continues et suivies qui assurent la persistance au marché de l'entreprise.

La marque AL HANINI est actuellement très répandue dans le Maroc vue la diversification de produits mis dans le marché. Cette diversification a pu atteindre même le produit célèbre de ce rapport « millefeuille » qui présente aujourd'hui de nouveaux arômes en état d'essai et de progression, ainsi la société montre son perfectionnement au niveau de la production de madeleine de plusieurs goûts et formes et surtout à la portée de tout le monde, en plus la biscuiterie prend une large place dans la production.

L'établissement de l'unité nouvelle de la société pas loin de celle ancienne a permis de garder un développement exponentiel mais aussi une qualité parfaite du fait que le transport de matière première et de produit fini d'une unité à l'autre n'est pas menaçant pour l'innocuité des produits. Cela se voit claire même au niveau production car la société essaie de son mieux de faire importer de nouveaux matériaux surtout au niveau de la production de madeleines et de biscuits qui dans le plupart de temps sépare le contact direct du personnel ce qui diminue le risque de contamination.

Au niveau millefeuille les techniques de production ont connu un développement dans les composants de crème et aussi des techniques de convoyage de décoration et de découpage de morceaux de millefeuilles mais le problème de pertes et de contamination.

II. Fiche technique

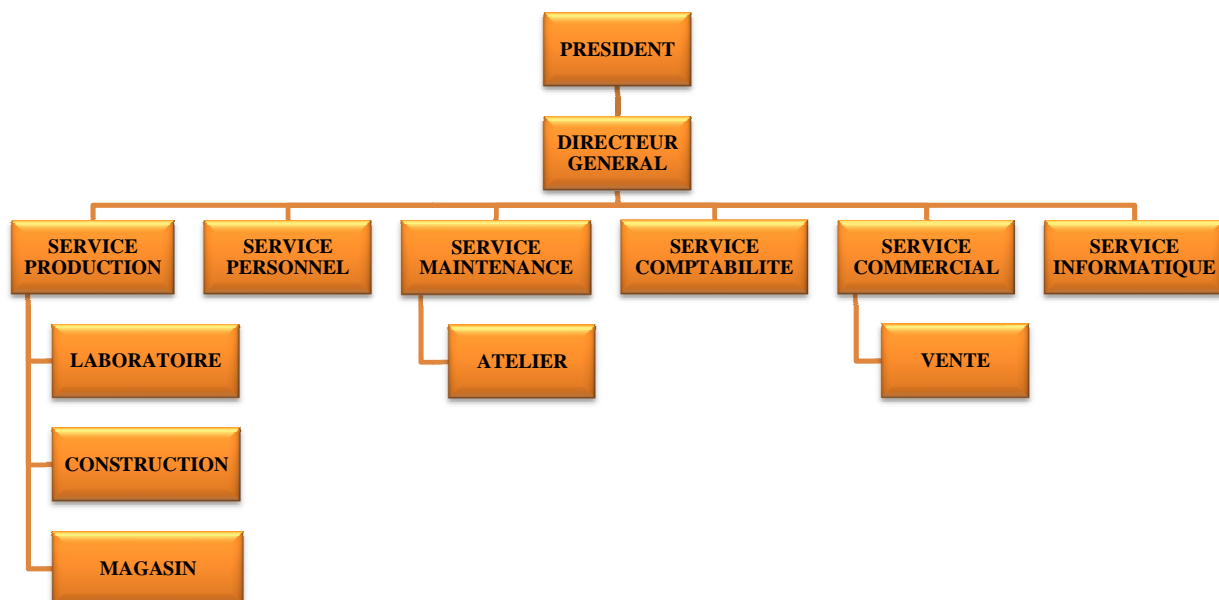
Tableau 1 : Fiche technique de la société AL HANINI

Nom	Société pâtissière « AL HANINI »
Statut juridique	Société anonyme (SA)
Capital social	2 .200.000 DH
Date de création	2003
Activité principale	Production et commercialisation des produits de pâtisserie et biscuiterie.
Marques	« AL HANINI »
Effectif du personnel	520
Marchés	Fès, Marrakech, Tétouan, Agadir, Oujda, Laâyoune ...
Adresse	Hay Ennamae Lot, 335 Quartier industriel Bensouda - FES
Tél	+212556553 :42/34/35
Fax	+21255655328

III. Organisation interne et diversification de produits

La société AL HANINI se caractérise par une organisation interne bien spécifique comme le montre le diagramme suivant :

Diagramme : Organisation des services internes de la société AL HANINI



Le tableau 2 présente quelques exemples parmi d'autres des différents produits de l'industrie AL HANINI de pâtisserie et de boulangerie

Tableau 2 : Diversification de production AL HANINI

Madeleines	<p>Maréchal</p> 	<p>Lamsila</p> 	<p>Wester</p> 
Biscuits	<p>Tomix</p> 	<p>Castro</p> 	<p>The bingo</p> 
Mille-feuilles	<p>A la crème de chocolat</p> 	<p>A la crème de pistache</p> 	<p>A la crème de fraise</p> 

Chapitre I :

Bibliographie

I. Pâtisserie Millefeuille

I.1. Présentation

Une mille-feuille ou millefeuille comme la plupart des pâtisseries est d'origine européenne française plus particulièrement créé par François Pierre de La Varenne qui le décrit dans son Cuisinier françois en : « C'est une pièce de pâtisserie faite de trois couches de pâte feuilletée et deux couches de crème pâtissière. Le dessus est glacé avec du sucre glace ou du fondant. On peut y ajouter de la confiture ou des fruits ». (De La Varenne, 1651).

La crème pâtissière dont on parle est remplacée par une caramélisation de sucre invertie qu'on appelle « crème de fourrage » et celle glacée par une autre fraîche huileuse au sein de la société AL HANINI, du à des intensions marchandes et surtout qualitatives.

Le nom français de cette pâtisserie fait référence au nombre élevé de feuilletés de pâte qui le compose. Compte tenu de la méthode traditionnelle de préparation de la pâte feuilletée, en six étapes de pliages en trois, la mille-feuille comporte en réalité 729 paires de feuilletés. L'adoption plus récente d'un pliage en deux par certains cuisiniers conduit à une mille-feuille comportant un nombre différent de feuilletés, 2048 paires dans le cas de la recette d'André Guillot.

I.3. Dangers sanitaires

Les millefeuilles faisant partie des pâtisseries les plus consommées arrivent en deuxième classe après les produits laitiers avec un pourcentage de contamination de 9,40% selon la (Bernichi, 2009).

Ce pourcentage est traduit sur le plan vivant par les différents cas des intoxications alimentaires collectives annoncés. Le produit millefeuille constitue la première possibilité de source d'intoxication soupçonné par les autorités de sécurité alimentaire nationales et internationales.

II. Fabrication des Millefeuilles

La fabrication de millefeuille passe par différentes étapes selon les composants qui entrent dans sa formation finale.

II.1. Pâte feuilletée

La pâte feuilletée est la partie unique qui est de nature solide sèche par rapport aux autres composants.

II.1.1. Composition

La pâte est préparée fabriquée au troisième étage de l'unité industrielle, elle est composée des ingrédients présentés dans le tableau 3 :

Tableau 3 : Ingrédients de la pâte feuilletée et leurs quantités

Ingrédients	farine	œufs	eau	beurre	sel
quantité pour 100 kg	75 kg	300 unités	28 kg	10 kg	800 g

II.1.2. Chaîne de fabrication

Les ingrédients cités ci-dessus passent par différentes étapes de fabrication pour obtenir une pâte prête à utiliser pour le millefeuille :

Premièrement on mélange les ingrédients au mélangeur de pâte (PM) à deux reprises pour bien homogénéiser la pâte. La pâte obtenue est divisée en morceaux de 2kg à chacun de ces morceaux, 750 g de beurre de feuilletage est ajoutée.

Ensuite arrive l'étape qui constitue l'origine du nom de millefeuille, où des machines de feuilletage permettent d'avoir l'aspect feuilleté et croustillant. Les pâtes encore crues sont ensuite étalées sur des plats rectangulaires larges et à l'aide d'un ustensile de perforation des trous à la surface de la pâte sont faites pour éviter sa levée au cours de la cuisson.

La cuisson se fait dans des fours régulés à 222 °c pendant 22 min environ, la bonne cuisson de la pâte permet d'éliminer les contaminants et aussi de donner un aspect marchand attirant pour le consommateur.

Finalement pour éviter la cassure de la pâte pendant le transport on procède par un refroidissement à l'air libre. Le transport au cave se fait à l'aide des ascenseurs pour la préparation de millefeuilles.

II.2. Crème blanche (Mantequilla)

La première crème dont on traite la fabrication est celle blanche qu'on remarque la première étalée à la surface des millefeuilles.

II.2.1. Composition

La crème de Mantequilla est une crème essentiellement grasseuse comme nous montre le tableau 4 :

Tableau 4 : Ingrédients de la Mantequilla et leurs quantités

Ingrédients	huile	Beurre	Vanille
quantité pour 100 kg (en kg)	24 ,5	59	0,230

II.2.2. Chaîne de fabrication

Après réception de la matière première de crème, le stockage de celle-ci se fait à froid dans des grands réfrigérateurs (beurre) ou des zones de stockage sèches et à l'abri de lumière (huile) pour les préserver de se décomposer ou de s'oxyder en températures élevées.

Le déstockage de la matière première se fait juste avant son utilisation vue sa sensibilité face aux changements des conditions.

Le mélange de crème se fait en 3 étapes successives:

- Première étape:

-produit : beurre

-Méthode : le pétrin malaxeur casse les masses solides de beurre à vitesse maximale pour 15 minutes.

- Deuxième étape:

-produit : beurre malaxé

-Méthode : dans un mélangeur batteur, les travailleurs transmettent le beurre pour remélanger pendant 10 minutes de plus et éliminer tous les petits granules restés.

- Troisième étape:

- Produits : Beurre malaxé et mélangé, Huile de palm, Poudre de vanille.

-Méthode : les travailleurs après débranchement de l'enceinte du mélangeur ajoutent au beurre l'huile et la vanille et puis le remettent une deuxième fois à mélanger une quinzaine de secondes de plus.

II.3. Crème de fourrage

Cette crème est essentielle car c'est elle qui permet de coller les étages de pâtes entre eux on aura comme résultat trois étages de pâte séparés par deux de crème.

II.3.1. Composition

C'est cette crème qui donne le gout sucré du produit puisque la quantité de sucre utilisée pour la fabriquer est très élevée comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Ingrédients de la crème de fourrage et leurs quantités

Ingrédients	Sucre	Eau	Farine	Vanille	Sorbate
Quantités pour 100 Kg (en Kg)	46	54	10	0,22	0,17

II.3.2. Chaîne de fabrication

Cuisson : dans un premier temps on procède par une solubilisation du sucre dans l'eau bouillante dans les grandes chaudières puis arrive l'étape où on ajoute la farine et en mélange pour qu'elle ne coagule pas le sorbate, on laisse en cuisson pendant environ 2 h.

Vers la fin de cette durée où la crème atteint une certaine viscosité et prend sa couleur rouge foncé arrive l'étape de l'addition de la poudre d'arôme de vanille pour éviter sa volatilisation.

Refroidissement est dans des enceintes à l'air libre cette étape se fait pendant la période de travail journalier pour que l'équipe de soir se charge de l'étaler entre les feuilles de pâte en conditions de viscosité de cette dernière adéquates à la manipulation.

II.4. Crème de garnissage

Cette crème varie d'arômes selon le besoin (Chocolat, fraise, Pistaches) et satisfaisant les variétés de goûts des clients mais généralement la crème caractéristique de millefeuille est celle de chocolat.

II.4.1. Composition

La composition reste la même pour les différents arômes que cette dernière qui change présente un taux élevé de sucre. Avec la crème de fourrage, elles constituent la source unique de goût sucré dans la millefeuille. Sa composition est comme suivant :

Tableau 6 : Ingrédients de la crème de garnissage et leurs quantités

Ingrédients	Eau	Sucre	Cacao	Citrate	Sorbate	Amidon	Amidon	Colorant
Quantités pour 100 Kg de crème (en Kg)	60	56	12	250	200	1,4	0,4	0,3

II.4.2. Chaîne de fabrication

La fabrication de la crème de garnissage ne diffère pas de celle de fourrage sauf les amidons ajoutés à bouillir avec l'eau au départ. Les autres ingrédients sont ajoutés après vue leur point de fusion moins élevé et le temps de cuisson moins long qui est d'environ une heure seulement à température d'ébullition d'eau.

III. Micro-organismes contaminants en pâtisserie industrielle

Les analyses de qualité microbiologiques concernent en générale deux types de micro-organismes : les germes témoins du niveau d'hygiène et les germes pathogènes.

III.1. Les germes témoins du niveau d'hygiène

III.1.1. Microorganismes aérobies mésophiles (ou 30°C)

Ils représentent l'ensemble des microbes qui se développent en présence d'air et à une température moyenne (entre 20 et 40°C).

Ceux-ci se retrouvent un peu partout et en particulier dans l'air et dans la terre.

Leur présence en grand nombre sur un produit alimentaire peut avoir 3 causes :

- séjour d'aliments dans un lieu sujet à des mouvements d'air ;
- apport dans un aliment par une matière première chargée ;
- séjour d'aliments à une température favorable à un développement microbien.

III.1.2. Coliformes totaux et coliformes fécaux

Le dénombrement des Coliformes dans les aliments constitue un « test d'hygiène » ; il est révélateur de contaminations dues à des mauvaises manipulations environnement polluée, matériel sale, etc.

Les Coliformes totaux sont représentatifs des conditions générales d'hygiène au cours des préparations et du stockage, alors que les Coliformes fécaux sont plus spécifiques de contaminations fécales (mauvais lavage des mains, viandes contaminées lors de l'abattage suite à l'éviscération) ou de contaminations telluriques (végétaux terreux).

Parmi les Coliformes fécaux, *Escherichia coli* est un germe spécifique de contaminations fécales (il appartient à la flore intestinale). Les Coliformes totaux et fécaux sont différenciés par leur température de culture au laboratoire (respectivement 30°C et 44°C). Les Coliformes fécaux appartiennent au groupe des Coliformes totaux.

III.1.3 Levures et moisissures

Les levures et les moisissures sont largement répandues dans l'environnement. On les trouve, entre autres, dans l'eau, le sol, le bois en décomposition, les débris organiques, les excréments, sur les plantes et les produits de plante, la mousse de sphaigne, les grains, le fourrage, les fruits, les légumes et les noix, ainsi que sur le pelage des animaux...

Lorsqu'elles prolifèrent dans les aliments et que leurs populations atteignent des niveaux excessifs, les levures et les moisissures peuvent occasionner la détérioration des produits (goût, texture, apparence) et entraîner des pertes économiques importantes.

Certaines espèces de moisissures synthétisent des métabolites toxiques, les mycotoxines (aflatoxines, lactones, certains stéroïdes), dans certaines conditions, ce qui les rend

potentiellement pathogènes pour l'homme. Des cas d'intoxication alimentaire ont été attribués à des mycotoxines.

III.2. Les germes pathogènes

III.2.1. Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus est un germe pathogène au sein de la famille des staphylocoques susceptible de provoquer une intoxication.

Celui-ci provient de contaminations d'origine humaine :

- par voie aérienne lors d'infection de la sphère rhinopharyngée du personnel (gorge, nez);
- par contact des mains avec les aliments lors des infections au niveau de la peau.

III.2.2. Anaérobies sulfito-réducteurs (46°C)

Les anaérobies sulfito-réducteurs représentent un groupe de germes dont *Clostridium perfringens* fait partie. D'autres germes comme des *Bacillus*, des entérobactéries font aussi partie de ce groupe.

Clostridium perfringens est un germe pathogène susceptible d'engendrer des intoxications. Il est retrouvé dans l'intestin de l'homme et des animaux. Sa particularité est de former des spores résistantes à la température et donc à une cuisson normale; seule la stérilisation permet de les détruire.

III.2.3 Salmonella (Salmonelles)

Les salmonelles sont des germes pathogènes qui sont apportés par l'homme et les matières premières (volailles, œufs ...).

Il existe plusieurs milliers de salmonelles plus ou moins virulentes ; des maladies comme la typhoïde et la paratyphoïde sont dues à des salmonelles.

Les salmonelles les plus couramment rencontrées dans les intoxications alimentaires sont dans l'ordre : *salmonella enteritidis* et *salmonella typhimurium*.

Les salmonelles sont sensibles à la chaleur et leur présence résulte donc d'une contamination après cuisson. (ISHA, 2010).

Vue les moyens d'analyse disponibles dans le laboratoire internes de la société en se limitera dans l'étude de la contamination par les germes témoins du niveau d'hygiène pour le produit millefeuille.

Chapitre II: Matériel et Méthode

I. Prélèvements et préparation des échantillons

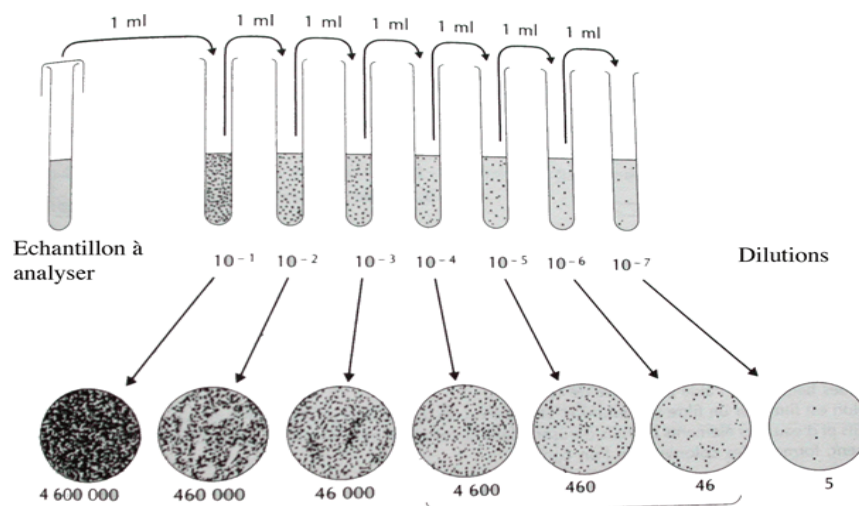
Au cours des prélèvements des différents échantillons de crèmes que nous avons analysé au laboratoire, nous avons pris soin de respecter les procédures de prélèvement en condition d'asepsie pour éviter toute contamination extérieure provenant des conditions de pots d'échantillonnage ou du manipulateur de cette étape. On a précisément pris en considération de se désinfecter les mains et d'utiliser un matériel de laboratoire stérile pour le prélèvement et de prélever une quantité suffisante caractéristique de l'état du produit et finalement de ne pas oublier de noter l'identification de l'échantillon sur les pots de prélèvement (dénomination, date de prélèvement, température...).

Notre analyse repose sur la quantification de taux de la FMAT, des coliformes totaux et fécaux et des levures et moisissures présents dans les différents composants du millefeuille AL HANINI ainsi que dans la mille-feuille comme produit fini de la société.

Pour réaliser les dilutions en séries de nos différents échantillons on a pris pour quantité représentative du produit 25 g et on la dilue dans 225 ml de diluant (eau peptoné tamponné) ajouté de citrate de sodium à 2% comme dispersant au cas de produit gras comme la crème de Mantiquella, le diluant est préalablement chauffé à 45°C pour permettre une émulsion complète du gras avant l'homogénéisation le prélèvement est effectué depuis la phase aqueuse de l'émulsion) on trouve alors la dilution 10^{-1} . Ensuite on part de cette dilution aux autres en introduisant à chaque fois 1 ml de la dilution précédente dans 9 ml de diluant (Bigonnesse, 2013).

L'ensemencement de chaque boîte est fait avec la dilution correspondante en respectant de le noter ainsi que les informations nécessaires sur le coté des boîtes.

Figure 1 : préparation des échantillons à analyser



II. Analyse microbiologique de la FMAT

Pour effectuer l'analyse microbiologique de la FMAT nous avons utilisé le milieu PCA qui favorise leur prolifération et garantie leur nutrition, la technique utilisée pour son ensemencement est la méthode d'ensemencement en profondeur.

II.1. Milieu PCA de la FMAT

La gélose glucosée à l'extrait de levure appelée par les Anglo-Saxons "Plate Count Agar" est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières.

II.1.1. Composition

Le milieu de culture déshydraté est composé des éléments suivants pour 1 L d'eau distillée :

Tryptone	5g
Extrait autolytique de levure	2,5g
Glucose	1g
Agar agar	15g

pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C: 7,0 +/- 0,2.

II.1.2. Préparation

Pour préparer le milieu on a besoin de mettre en suspension 23,5 g de milieu déshydraté dans 1 litre d'eau distillée, le porter à ébullition lentement, en agitant jusqu'à dissolution complète, le répartir en flacons. Puis le stériliser à l'autoclave à 120 °C pendant 15 minutes.

II.1.3. Principe

Les substances nutritives apportées par la Tryptone, les facteurs vitaminiques de l'extrait de levure et le glucose utilisé comme source énergétique favorisent la croissance de la plupart des bactéries.

II.2. Ensemencement

Durant l'ensemencement des milieux de cultures le milieu PCA a été ensemencé en profondeur en mettant une goutte de 0,1 ml de la suspension à analyser aseptiquement dans la boîte de pétrie et y ajouter le milieu de culture fondu température entre 40 et 45 °C, on le mélange et le laisse gélifier (Larpen, 1975).

II.3. Incubation

L'incubation des boîtes de Pétri contenant le milieu PCA ensemencé par la suspension bactérienne à été faite pendant 24 heures à température de 30 °C.

II.4. Lecture des résultats

Nous avons réalisé le dénombrement macroscopique de l'ensemble des colonies apparentes sur le milieu en les comptant sur compteur de boîtes.

III. Analyse microbiologique des coliformes

Pour effectuer l'analyse microbiologique des coliformes nous avons utilisé le milieu Tergitol-TTC qui favorise leur prolifération et sélectivité, la technique utilisée pour son ensemencement est la méthode d'étalement sur surface.

III.1. Milieu Tergitol TTC

C'est un milieu de recherche et de dénombrement des coliformes. Il est surtout utilisé pour la colimétrie des eaux par la méthode de filtration.

III.1.1. Composition

Le milieu de culture déshydraté est composé des éléments suivants pour 1 L d'eau distillée :

Peptone	10g
Extrait de viande	5g
Extrait de levure	6g
Tergitol	0,71g
Lactose	20g
TTC (Triphenyl Tetrazolium Chloride)	0,025g
Bleu de bromothymol	0,05g
Agar	13g
pH = 7,2	

III.1.2. Préparation

Nous avons suivi pour la préparation de ce milieu la même procédure que le milieu PCA sauf quand prend dans ce cas 51,1 g du milieu déshydraté.

III.2. Ensemencement

Les milieux de cultures le milieu PCA ont été ensemencés par étalement à la surface de la gélose, en mettant une goutte de 0,1 ml de la suspension à analyser aseptiquement sur la surface de la gélose, et l'étaler à l'aide d'un étaloir en verre stérile.

III.3. Incubation

L'incubation des coliformes sur milieu Tergitol TTC est de deux types :

- Pour les coliformes totaux on a réalisé une incubation de 24 heures sous une température de 30 °C.
- Pour les coliformes fécaux on a réalisé une incubation de 24 heures sous une température de 44 °C.

III.4. Lecture des résultats

Selon le type des colonies présentes suite à l'ensemencement de l'échantillon, les aspects de ces derniers changent, ceux qui fermentent le lactose présentent un halo jaune alors que les autres présentent un halo bleu-vert autour des colonies qui eux même changent de couleurs selon la réduction du TTC dans le milieu. Les colonies bactériennes pouvant réduire le TTC sont rouge alors que les autres (*E.coli* et *Enterobacter aerogenes*) sont de couleur jaune.

Le dénombrement de chaque type s'est fait de la même façon que celle de la FMAT.

IV. Analyse microbiologique des levures et des moisissures

Pour effectuer l'analyse microbiologique des levures et des moisissures nous avons utilisé le milieu sabouraud, la technique utilisée pour son ensemencement est la méthode d'étalement sur surface.

IV.1. Milieu Sabouraud

C'est un milieu sélectif pour les levures et les moisissures uniquement.

IV.1.1. Composition

Le milieu de culture déshydraté est composé des éléments suivants pour 1 L d'eau distillée :

Peptone	10g
Chloramphénicol	0,5g
Glucose	20g
Agar	15g
pH = 6,0	

IV.1.2. Préparation

Même procédure que les milieux PCA et Tergitol TTC sauf qu'on prend dans ce cas 45,5 g du milieu déshydraté.

IV.1.3. Principe

Milieu qui favorise la culture des champignons microscopiques grâce à son pH relativement acide.

Le chloramphénicol est un antibiotique à large spectre, actif sur les bactéries à Gram négatif et à Gram positif.

IV.2. Ensemencement

L'ensemencement du milieu de culture Tergitol TTC a été réalisé en profondeur de la gélose, en mettant une goutte de 0,1 ml de la suspension à analyser aseptiquement sur la boîte pétri stérile, y ajouter le milieu fondu stérile, et le laisser refroidir pour se gélifier avant de l'incuber à l'envers pour éviter que les gouttes d'eau formées sur le couvercle ne tombent et dispersent les colonies (cela est valable pour toutes les autres cultures).

IV.3. Incubation

L'incubation des boîtes de pétri contenant le milieu Sabouraud ensemencé par la suspension bactérienne a été faite pendant 48 heures à température de 25 °C.

IV.4. Lecture des résultats

Nous avons réalisé le dénombrement macroscopique de l'ensemble des colonies apparentes sur le milieu en les comptant sur compteur de boîtes (Marchal, 1990).

Chapitre III :

Résultats et discussions

I. Analyses microbiologiques de la crème Mantiquella

Le tableau ci-dessous présente les résultats obtenus au cours de la période du stage en moyenne pour chaque contaminant au niveau de la crème Mantiquella.

Tableau 7 : Dénombrement des contaminants dans la crème de Mantiquella

Date \ Contaminant	FMAT en (UFC/g)	Coliformes totaux en (UFC/g)	Coliformes fécaux en (UFC/g)	Levures et moisissures en (UFC/g)
17/05/14	2,39.10 ⁸	3,9.10 ⁷	0	nc
19/05/14	1,3.10 ⁸	6,82.10 ⁶	0	nc
20/05/14	3,1.10 ⁷	2,9.10 ⁶	0	–
21/05/14	1,4.10 ⁸	1,73.10 ⁷	0	–
22/05/14	2,94.10 ⁶	7,2.10 ⁵	–	–
23/05/14	2,59.10 ⁶	10 ⁶	–	nc
26/05/14	1,1.10 ⁸	2,12.10 ⁷	–	–
27/05/14	1,21.10 ⁷	1,74.10 ⁶	–	–
Moyenne	9,23.10⁷	1,13.10⁷	0	nc
Normes	3.10⁵	10³	absence	10⁴

nc : non comptable

D'après les résultats (tableau : 7) on constate que La charge bactérienne moyenne pour la FMAT et les coliformes est très élevée par rapport à la norme avec une absence de contamination fécale est une détection de charge excessive des champignons. Ce niveau élevé de contamination de la crème diffère selon la propreté des machines de la fabrication, transport et manipulation de la matière. L'absence de coliformes fécaux s'explique par le bon respect condition d'hygiène par le personnel. Durant la période du stage les échantillons pris en différents temps de manipulation présentait des niveaux de contaminations différents (les échantillons pris au début de la journée du travail sont moins chargés que celle pris au milieu de la journée) ainsi que par la charge portée par la matière première transportée et stockée dans des conditions qui favorisent la prolifération des micro-organismes.

II. Analyse microbiologique de la crème de fourrage

Le tableau ci-dessous présente les résultats obtenus au cours de la période du stage pour chaque contaminant au niveau de la crème de fourrage.

Tableau 8 : Dénombrement des contaminants dans la crème de Fourrage

Date \ Contaminant	FMAT en (UFC/g)	Coliformes totaux en (UFC/g)	Coliformes fécaux en (UFC/g)	Levures et moisissures en (UFC/g)
17/05/14	$8,6.10^7$	$9,25.10^6$	0	nc
19/05/14	$2,92.10^6$	$1,15.10^6$	0	–
20/05/14	4.10^7	$1,5.10^6$	0	nc
21/05/14	$1,66.10^6$	6.10^7	0	nc
22/05/14	$2,18.10^6$	$1,42.10^6$	–	–
23/05/14	$4,7.10^6$	$9,7.10^5$	–	–
26/05/14	3.10^7	$6,02.10^5$	–	–
27/05/14	$6,3.10^7$	$2,46.10^6$	–	–
Moyenne	$1,81.10^7$	$2,92.10^6$	0	nc
Normes	3.10^5	10^3	absence	10^4

Nc : non comptable

Les échantillons prisent pour établir l'analyse microbiologique de cette crème sont obtenus des tanks de stockage destinés à utilisation du jour même par l'équipe de travail du soir. La charge bactérienne obtenue suite à l'analyse microbiologique de cette crème est largement supérieure aux normes pour la FMAT, les coliformes totaux et les levures et moisissures, elle est pourtant relativement moins élevée que celle de la crème Mantiquilla. Cette contamination abondante est principalement du aux conditions de stockage qui ne respectent pas les règles d'hygiène et de préservation de la matière (lavage insuffisant des tanks de stockage, humidité, couvercles non adaptés qui laissent entrer des insectes), elle peut également arriver de la durée de stockage de la matière avant l'heure de sont utilisation. L'absence de contamination fécale indique le bon respect des critères d'hygiène par le personnel. La différence par rapport à la crème Mantiquilla serait due à l'élimination durant la cuisson en températures de 120°C de la charge initiale de la matière première. La concentration élevée de sucre dans cette crème cuite pour plus de 2 heures diminue l' a_w et rend difficile la prolifération des micro-organismes.

Ces résultats en comparaison avec les résultats d'analyses microbiologiques effectués en précédemment qui donnent une charge de $1,86.10^8$ pour la FMAT (Tirry, 2012) montrent que le niveau d'hygiène récemment amélioré est généralement en développement.

III. Analyse microbiologique de la crème de garnissage

Le tableau ci-dessous présente les résultats obtenus au cours de la période du stage pour chaque contaminant au niveau de la crème de garnissage.

Tableau 9 : Dénombrement des contaminants dans la crème de Garnissage

Date \ Contaminant	FMAT (en UFC/g)	Coliformes totaux (en UFC/g)	Coliformes fécaux (en UFC/g)	Levures et moisissures
17/05/14	$1,23.10^8$	$3,56.10^7$	0	–
19/05/14	$2,44.10^6$	$4,3.10^5$	0	nc
20/05/14	$1,82.10^8$	$1,7.10^7$	0	nc
21/05/14	$7,6.10^7$	$3,7.10^6$	0	–
22/05/14	$1,32.10^6$	$2,2.10^5$	–	nc
23/05/14	$2,5.10^7$	$3,4.10^6$	–	–
26/05/14	$2,93.10^6$	$1,65.10^5$	–	–
27/05/14	$3,8.10^7$	$1,29.10^7$	–	–
Moyenne	$5,6.10^7$	$9,18.10^6$	0	nc
Normes	3.10^5	10^3	absence	10^4

nc : non comptable

Les prélèvements des échantillons de cette crème sont obtenus du convoyeur de décoration juste avant son écoulement sur les mille feuilles. La charge microbienne de cette crème est encore hors normes pour les FMAT comme pour les coliformes totaux et les moisissures. On remarque également une absence de contamination fécale peut être expliquée comme précédemment par le respect des bonnes pratiques d'hygiène par le personnel. En comparaison avec celles des crèmes précédentes elle est moins élevée que la charge de la Mantiquilla ce qui peut s'expliquer par l'élimination de la charge initiale des matières premières utilisés dans sa préparation nécessitant une cuisson d'une heure à température d'ébullition. La charge est également plus abondante que la charge de la crème de fourrage du aux condition de transport de cette crème du troisième étage jusqu'à la cave par des ascenseurs et dans des enceintes non couverts ainsi que son stockage dans

des tanks à mélanger en attendant leurs utilisation sans couvercle et très près de la zone de nettoyage de la cave.

IV. Analyses microbiologiques de millefeuille complète

Le tableau ci-dessous présente les résultats obtenus au cours de la période du stage en moyenne pour chaque contaminant au niveau des mille-feuilles complètes comme produit fini de cette industrie destiné à la consommation directe par les consommateurs.

Tableau 10 : Dénombrement des différents contaminants dans le millefeuille complet

Date \ Contaminant	FMAT en (UFC/g)	Coliformes totaux en (UFC/g)	Coliformes fécaux en (UFC/g)	Levures et moisissures
21/05/14	1,21.10 ⁹	2,22.10 ⁷	0	–
22/05/14	2,96.10 ⁸	5,2.10 ⁸	0	–
23/05/14	2,1.10 ⁷	8,6.10 ⁷	–	nc
26/05/14	9,1.10 ⁸	2,79.10 ⁸	–	nc
27/05/14	1,19.10 ⁸	1,62.10 ⁸	–	–
Moyenne	5,11.10⁸	2,14.10⁸	0	nc
Normes	3.10⁵	10³	Absence	10⁴

nc : non comptable

La mille-feuille étant constituée des différents composants analysés en détails ci-dessus avec la pate feuilletée et passant par l'étape de coupage et de conditionnement, présente une charge bactérienne plus élevée que ses composants pour ce qui concerne la FMAT, les coliformes totaux et les levures et moisissures et reste toujours supérieure aux normes. C'est principalement dû à la sommation de différentes contaminations précédentes ainsi que par les conditions de coupage, emballage et stockage du produit fini. Le niveau de contamination par les coliformes fécaux est toujours conforme aux normes ce qui prouve le suivie de bonne conditions d'hygiène.

Conclusion

Pour conclure en se basant sur le travail expérimental pratiqué dans le cadre du stage. Les résultats des analyses microbiologiques très supérieurs aux normes internationales pour les coliformes totaux, la FMAT et les levures et moisissures nous donnent la raison de considérer le taux de contamination non conformes aux critères d'acceptation. Cela montre qu'il y a eu une contamination lors de la préparation ou lors du stockage associée à un développement microbien à un moment donné au cours de la préparation, du stockage. La contamination d'origine fécale est par contre absente et ce conforme avec les critères d'acceptation. Cela met en valeur les bonnes pratiques lors de la préparation du produit.

Nous tenons par conséquent à citer ci-dessous quelques idées de mesures préventives pouvant améliorer le niveau d'hygiène et de la qualité microbiologique du produit:

- Etablir un programme de contrôle de nettoyage du matériel utilisé dans la production et celui préservé pour le stockage des crèmes de fourrage et de garnissage (analyse des surfaces).
- Utiliser des produits de désinfection à la fin du nettoyage des différents matériels et s'assurer de son bon rinçage.
- Séchage des machines de coupage après nettoyage pour éliminer l'humidité favorable au développement des microorganismes.
- Contrôle des comportements des personnels (utilisation de gants et de bonnets, propreté personnelle, respect de poste de travail précis pour chaque travailleur).
- Amélioration de la qualité des outils de protection personnels (bonnets plastiques, gants spéciales non facile à être endommagés)
- Séparation des zones et horaire de nettoyage de celle de production.
- Respect de la marche en avant de production (ne pas inter-croiser le personnel et zone de l'emballage avec ceux de coupage, de production de crème et de gestion des déchets de coupage).
- Le stockage des produits préparés (crèmes) doit être en bonnes condition (température basse, fermeture hermétique de tanks de crème surtout celle de fourrage et de garnissage).
- Précision des dates des maintenances préventives des machines pour éviter la contamination par le personnel du service atelier.
- Surveillance des températures et temps de cuisson des différents composants.

ANNEXES

Normes

Arrêté. 21 décembre 1979, art. 6 modifié par l'Arrêté. 11 mars 1998 ont fixaient les normes aujourd'hui prises en compte pour vérifier la conformité des denrées alimentaire, le tableau suivant présente une partie de ces normes concernant notre sujet de la qualité microbiologique des produits de l'industrie de pâtisserie.

Tableaux 8 : Critères microbiologiques des pâtisseries à la crème

Désignation	Pâtisserie et crème pâtissière
Micro-organismes Aérobie 30 °C/g	3.10^5
Coliformes 30°C /g	10^3
Coliformes fécaux /g	1
Staphylococcus aureus /g	10^2
Anaérobie Sulfite-réducteurs 46 °C /g	10
Salmonella /25g	Absence
Levures et moisissures	10^4

Observation : Les critères au niveau national se rapprochent de ceux fixés par les dispositions communautaires. L'arrêté du 11 mars 1998 fait bien référence à la directives CEE n°89/437 du 20 juin 1989.

Cependant les critères nationaux sont plus sévères pour les aérobies (10 000 au lieu de 100 000) et les entérobactéries (10 au lieu de 100) (Dehove, 1999)

Références bibliographiques

- Bonnefoy. C, Guillet. F, Leyral. G, Verne-Bourdais. E (Mai 2002), Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaire in *Biosciences et techniques: Sciences des aliments* Wolters Kluwer France.
- Marchal. N, Bourdon. J.L, Richard. C, (1990) Les milieux de culture: pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries in *Biologie appliquée*, Doin, 1987
- De La Varenne. F.P (1651) Cuisinier françois, Bibliothèque municipale de Lyon
- Bellec. J.F, Chaing. V, Drzewiecki. E, Dugast. A, Marcelino. V, (2009) la qualité dans la filière de pâtisserie, UPMC
- Bernichi, L (2009) Maroc Hebdo Internationale archive (MHI) 842
- ISHA (2010) Les dangers Microbiologiques
- Bigonnesse. F, Bouchard. G, Daigle. P (2013) Préparation des échantillons pour l'analyse microbiologique LEAA-REF-MIC-550
- Larpent. J.P, Larpent Gourgand. M, (1975) Mémento technique de microbiologie, Diffusion Technique et Documentation
- Nabil Tirry (2012) Rapport de stage de fin d'étude, analyses physico-chimiques et microbiologiques de la crème pâtissière de millefeuille à la société AL HANINI, FSTF
- Dehove. L (1999) TOME1 Réglementation des produits - qualité - Répression des fraudes, College Marie-Victorin 1971