UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE FES

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
«Biotechnologie et Valorisation des PhytoRessources»

Etude de la réduction de la charge bactérienne des mésophiles et thermophiles au niveau des produits intermédiaires du sucre

Encadré par : Pr. Mme AL FIGUIGUI Jamila

Présenté par : IDMOUSSI Hajar

Soutenu le : **15/06/2015**

Devant le jury composé de :

- Pr. Mme Al Figuigui Jamila
- Pr. Mme Fadil Fatima

Année universitaire

2014/2015

Sommaire

Dédicaces ……..ii
Remerciements…….iii
Liste des tableaux…….iv
Liste des figures……...V
Liste des abréviations……...VI
Introduction générale.....VII

Chapitre 1: Présentation de la société…….…….....….....1

1- Historique …….....1
2- Organigramme de la Cosumar …….....3
3- Production.....4
4- Organisation du laboratoire de la Cosumar…….....…...5
5- Procédé de fabrication de sucre……..…….....7
5-1 Procédé d'extraction de sucre brut..... …….....7
5-2 Procédé de raffinerie de sucre…..…….....9

Chapitre 2 : Revue bibliographique.....10

1- Généralités..…….……..……...…….....10
2- Culture des mésophiles et thermophiles…….....11
3- Les normes en usage à la Cosumar…….…….…….....12
4- Effets sur les employés de l'augmentation de la charge des germes étudiés.....12
5- Applications du Preventol du biocide…….....13
6- Les mesures appliquées en raffinerie pour le contrôle microbiologique….....15

Chapitre 3 : Matériels et méthodes…….....17

1- Introduction…….....17
2- 1 Matériel utilisé……....…….....……...….....17
2- 2 Méthode.....17
2- 2.1 Préparations.....17
2- 2.2 Dénombrement des mésophiles et thermophiles.....18

Chapitre 4 : Résultats et discussions.....24

Conclusion générale.....28

Annexe.....

Dédicaces

A mes très chers parents, mon frère, et tous les membres de ma famille pour leurs sacrifices ;

A tous mes chers(es) amis(es) avec lesquelles je partage les moments forts dans ma vie ;

A tous ceux qui m'ont aidé de prés ou de loin pour la réalisation de mon projet;

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes chères à mon cœur.

Qu'elles trouvent ici l'expression de toutes mes gratitudes et mes amours.

Remerciements

Avant tout développement sur ce stage de fin d'études, il apparaît opportun de commencer ce rapport de stage par des remerciements, à ceux qui nous ont beaucoup appris au cours de ce stage, et à ceux qui ont eu la gentillesse de faire de ce stage un moment très profitable.

On tient à remercier tout d'abord notre chère professeur **Mme EL FIGUIGI Jamila** pour sa collaboration, son aide, ses efforts et conseils.

Un merci spécial pour notre parrain de stage **Mr. BELMLIH**, pour tous ses conseils et orientations durant toute la période de stage.

Nos remerciements vont aussi à l'ensemble du personnel de **service de laboratoire** pour les conseils qu'ils ont pu nous prodiguer au cours de cette période de stage.

Sans oublier aussi d'exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à nos **Professeurs** et nos **Jurys** : Pr. Mme Al Figuigui Jamila, Pr. Mme Fadil Fatima de la faculté des sciences et techniques de Fès.

Liste des Tableaux

N°	**Titre**	Page
1	Normes de la National Canner's Association American	12
2	Caractéristiques du Preventol de biocide	14
3	Résultats du 1er essai sur produit concentré	24
4	Résultats du 2ème essai sur produit dilué	25

Liste des figures

N°	**Titre**	Page
1	Organigramme de la société COSUMAR	3
2	Produits finis du sucre raffiné	5
3	Schéma simplifié de sucrerie de la betterave	7
4	Schéma simplifié de sucrerie de la canne à sucre	8
5	Diagramme de fabrication du sucre à la COSUMAR	9
6	Exemple de subdivision de boite à pétri	16
7	Echantillon de la fonte bas produit	17
8	Station de prélèvement de fonte bas produit	18
9	Méthode d'ensemencement en profondeur	20
10	Méthode de dilution	21
11	Echantillon du Preventol® Z	21
12	Culture des mésophiles dans 0 ppm	22
13	Culture de mésophiles dans 400ppm	23
14	Culture de thermophiles dans 400ppm	23
15	Courbe montrant la réduction de la charge microbienne après l'ajout du Preventol du biocide dilué	26
16	Courbe montrant la réduction de la charge microbienne après l'ajout du Preventol du biocide concentré	26

Liste des abréviations

ONA : Omnium nord africain

QSE : Qualité, Sécurité, Environnement

pH : Potentiel d'Hydrogène

mPa.s : milliPascal par Seconde

Preventol ® Z : Preventol du biocide

ppm : partie par million

UFC : Unités Formant Vivant

NPP : Nombre le Plus Probable

FD : Facteur de Dilution

EDS : Eau Distillée Stérile

Introduction générale

La compagnie sucrière marocaine et de raffinage est une société qui a pour rôle le raffinage du sucre brut en sucre blanc répondant aux besoins du consommateur.

Le sucre que nous consommons tous les jours est le produit issu du traitement de deux plantes : la betterave et la canne à sucre. En fonction des régions agricoles : les sucreries procèdent soit au traitement de la canne et ou la betterave.

La différence entre un sucre brut de canne, et de betterave et due essentiellement à une présence plus importante en cendre, matière minérales dans le cas d'un sucre de betterave, alors que dans le sucre de canne, c'est le sucre réducteur qui est le plus important.

Par ailleurs, le procédé de raffinerie de sucre passe par plusieurs phases qui résultent en une charge microbienne non négligeable. L'objectif de cette étude est d'essayer de réduire cette charge spécifiquement celle des mésophiles et des thermophiles au niveau des produits intermédiaires par injection d'un nouveau produit appelé Preventol de biocide qui doit être administré au niveau des points où la croissance est importante de micro-organismes, cette réduction va se répercuter positivement sur le rendement du produit fini.

Chapitre1 : Présentation de la société

1) Historique :

1929 : la raffinerie de Casablanca est crée, sous le sigle COSUMA, par la société Saint Louis de Marseille ; elle produit 100 tonnes par jour, exclusivement sous forme de pains de sucre.

1963 : le plan sucrier a été adopté par l'état marocain et dont le but était d'assurer l'auto suffisance du pays en un produit jugé stratégique, 14 unités de transformation ont alors permis de concrétiser cette politique.

L'activité de ces unités se répartie en 3 types :

Les sucreries : qui traitent les plantes sucrières produites localement et les transforment en sucre brut destiné aux unités de raffinage.

Les raffineries : qui transforment le sucre brut importé ou local en sucre raffiné.

Les sucreries – raffinerie : qui traitent les plantes sucrières et raffinent le sucre ainsi produit.

1967: l'état marocain prend participation à hauteur de 50 % du capital de la COSUMA qui devient alors COSUMAR.

1985: ONA prend le contrôle du capital de Cosumar, désormais cotée à la bourse des valeurs de Casablanca.

1993: COSUMAR renforce par voie de fusion avec les sucreries de Doukkala sa capacité de production et le groupe COSUMAR comporte alors depuis, deux nouvelles unités : les sucreries de Zemamra et de Sidi Bennour.

2002 : Passage en blanc de la sucrerie de Sidi Bennour.

2003 : Certification des sucreries ISO9001 V 2000 par l'organisme AFAQ.

2005 : Signature de la primature des contacts de transfert à COSUMAR de la participation publique détenue dans le capital social des autres groupes de sucreries raffinerie.

2006 : Lancement d'un projet d'intégration, de développement industriel et de la mise à niveau globale pour les 6 années à venir « INDIMAG 2012 »

2007 : Elaboration et mise en place d'une stratégie Qualité/Sécurité/Environnement (QSE) traduisant toutes les préoccupations du groupe : amélioration durable des performances, et satisfaction de ses clients, de ses partenaires agricoles, de ses actionnaires et des administrations concernées par son activité.

2008/2009 : la mise en place du nouveau système de management QSE du groupe COSUMAR a permis de créer une dynamique de progrès, ainsi COSUMAR a obtenu la reconnaissance QSE pour ses usines de la sucrerie des doukkalas(Sidi Bennour et Zmamra certifiées en 2008 et reconduites en 2009), pour SUTA, SURAC(KSIBA), SUNABEL(KEK) et SUCRAFOR(certifiées en 2009) et plus récemment du laboratoire de contrôle et de réception de SUTA.

Leader sur le marché marocain de production sucrière, Cosumar vise à consolider sa position et à accroître ses avantages compétitifs. Pour atteindre ce but, Cosumar a adopté une politique d'amélioration continue de la qualité et de la sécurité qui l'a engagée dans une démarche qualité en se basant sur :

La norme ISO 9001 - version 2000 (systèmes de Qualité-Management) : pour la certification de ses trois unités en commençant par la certification des sucreries.

L'accréditation du laboratoire selon la norme ISO 17025 (prescriptions générales concernant la compétence des laboratoires d'étalonnages et d'essais), afin de donner plus de confiance à ses clients sur le niveau efficacité, compétence, et atteindre ses objectifs.

2) Organigramme de la COSUMAR :

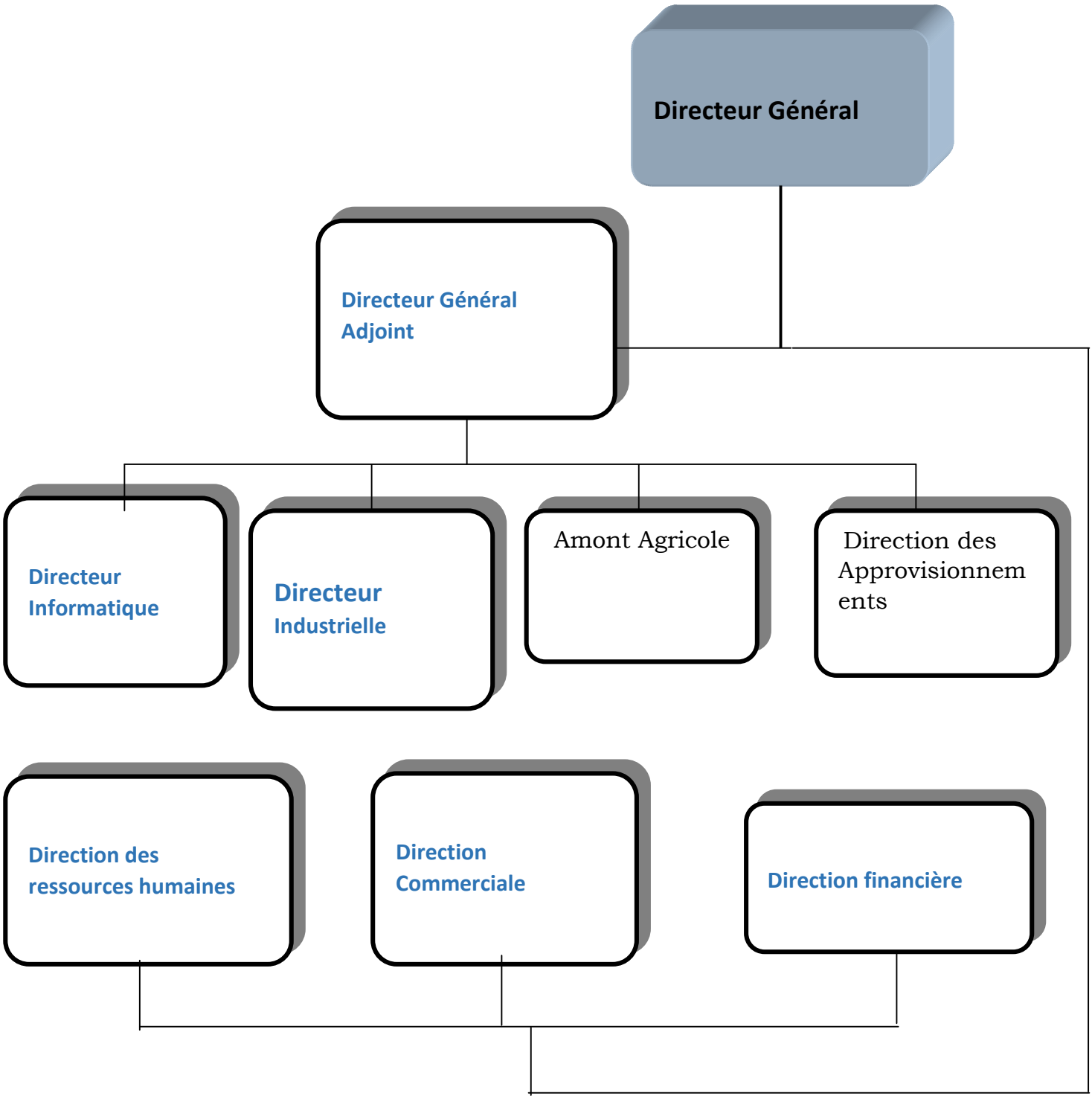

Figure 1 : Organigramme de la société COSUMAR

3) Production :

- **Production annuelle :**

Avec la commercialisation d'un tonnage de 600000 tonnes par ans, la COSUMAR contribue à la satisfaction d'environ 70% des besoins du marché national.

- **Sources énergétiques :**

L'énergie électrique est produite à COSUMAR au niveau du central thermique sous forme de vapeur, cette dernière portée à haute pression fait tourner des turbines alternateurs à grand vitesse.

Différents travaux sont effectués dans ce stade et à leur tête, le traitement des eaux pures pour alimenter les chaudières de l'usine avec une eau déminéralisée.

- **Produits :**

Le sucre raffiné de la COSUMAR est présenté sous diverses formes pour la vente :

- pain de sucre de 2KG en sacs de 64KG, ou en carton de 20 et 24 KG.
- Sucre en lingot et morceau en boite de 1KG, ou en fardeaux de 5KG.
- Sucre granulé en sacs de 50KG ou en sachet de 1et 2 KG

Pain de sucre	Sucre granulé
Lingots (grands morceaux)	Petits morceaux

Figure 2 : Produits finis du sucre raffiné.

La distribution de ces produit à l'intérieur du pays se fait à travers un réseau commercial constitué d'agences dans les principales villes (Rabat, Casa, Fès Agadir, et Safi).

- **Moyennes :**

Capacité de la raffinerie : 2000 tonnes/ jour de sucre blanc sous différent formes.

- **Effectifs :**

➔ permanent : 2400

➔ saisonniers : en moyenne 330 par ans.

4) Organisation du laboratoire de la COSUMAR:

⇨ Laboratoire des analyses chimiques :

Les différents types d'analyses effectuées sont :

- la détermination de Brix
- la teneur en saccharose
- La pureté
- La teneur en cendres
- L'humidité
- Le pH
- La coloration
- La teneur en glucose

⇨ Laboratoire de biologie

Les analyses bactériologiques ont pour but de déterminer quantitativement et qualitativement, la présence des microorganismes susceptibles de causer des ennuis au niveau du stockage, de la fabrication et de la consommation de sucre.

⇨ Laboratoire de traitement des eaux

L'eau est utilisée en vue de produire de l'électricité et la vapeur produite est destiné à la fabrication de sucre.

Tous ces analyses se font sur :

Les produits intermédiaires : ces produits sont issus des différentes étapes du processus de fabrication du sucre comme l'égout riche d'empattage, la masse cuite, la commune carbonatée, filtrée.

Les produits finis : du pain de sucre, jusqu'au morceaux ou sucre granulé.

Les eaux : issues de la centrale thermique, comme les eaux osmosées, déminéralisées, eaux des purges des chaudières.

5) Procédé de fabrication de sucre :

5)1. Procédé d'extraction de sucre brut :

Le sucre saccharose est extrait à l'échelle industrielle, de la canne à sucre et de la betterave sucrière. Ces plantes possèdent la particularité d'avoir comme glucide de réserve le saccharose, résultant de la synthèse chlorophyllienne, qui consiste à transformer l'énergie lumineuse en énergie chimique (photosynthèse : l'inverse de la fonction de respiration), et de le stocker sous forme de solution aqueuse dans les cellules, sans en modifier la composition. Ces plantes accumulent le sucre, au niveau de la tige pour la canne à sucre et au niveau de la racine pour la betterave sucrière.

- **Cas de la betterave : (figure 3)**

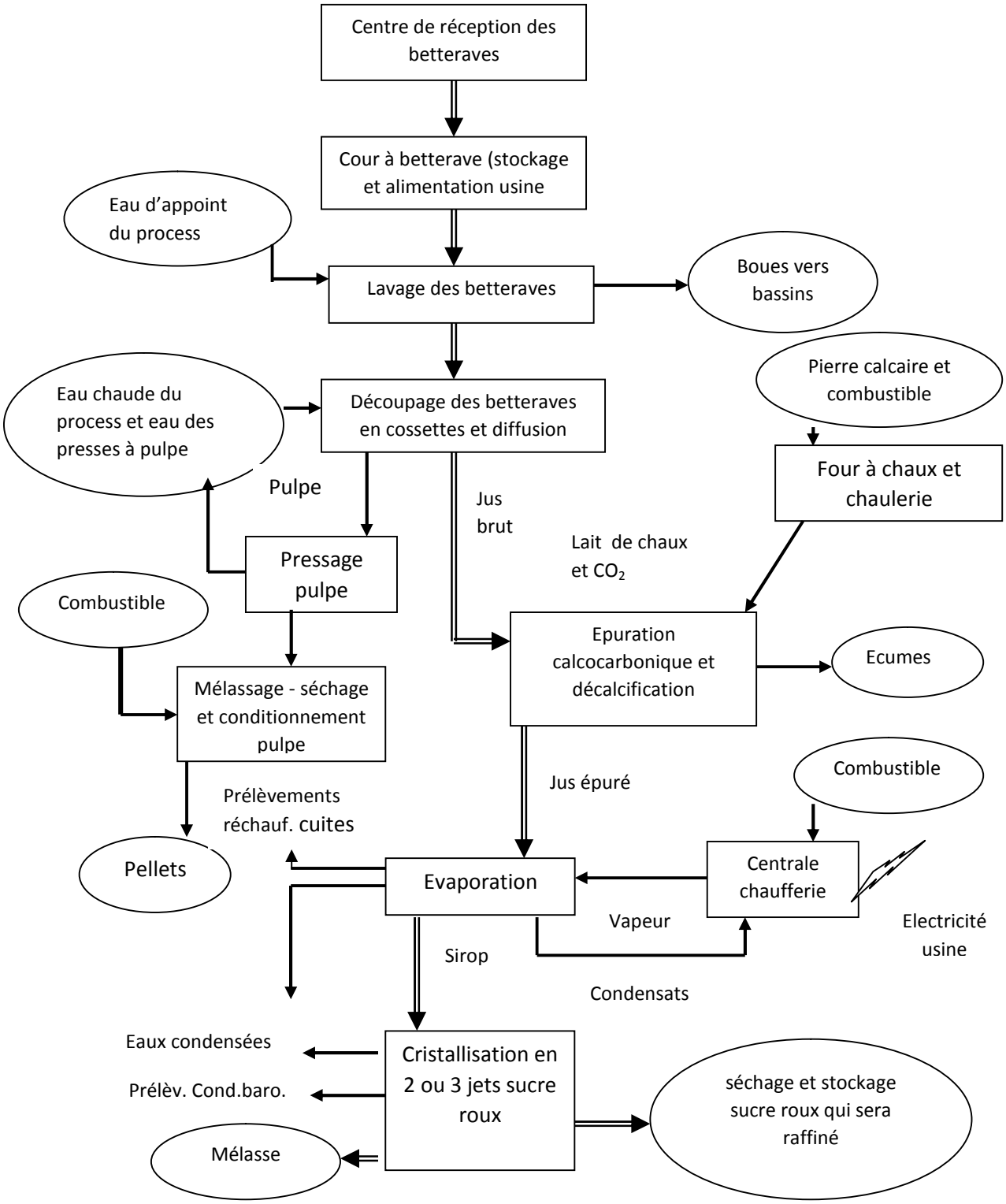

Figure 3 : Schéma simplifié de sucrerie de la betterave

- **Cas de la canne à sucre : (figure 4)**

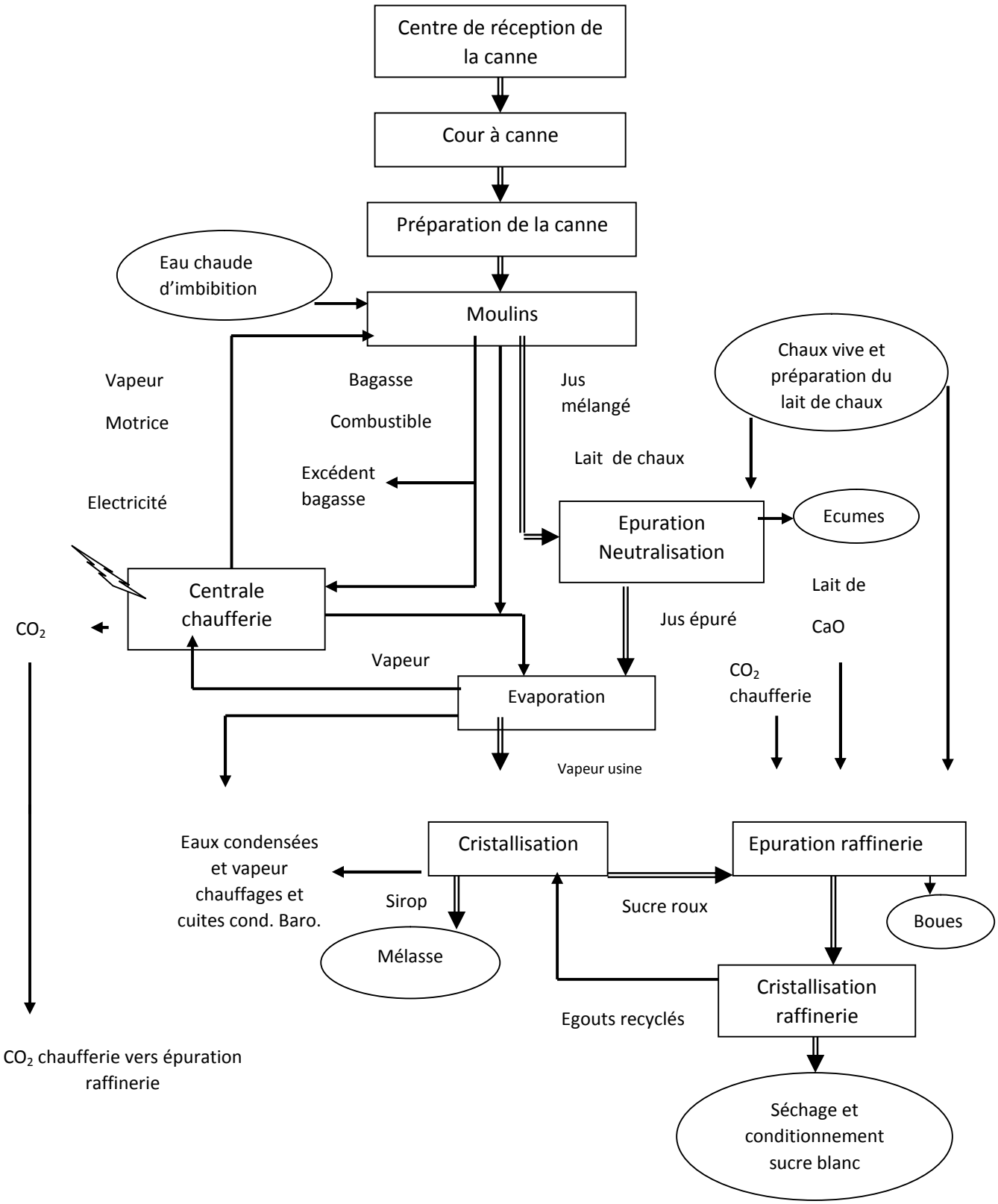

Figure 4 : Schéma simplifié de sucrerie de la canne

5)2. Procédé de raffinerie de sucre :

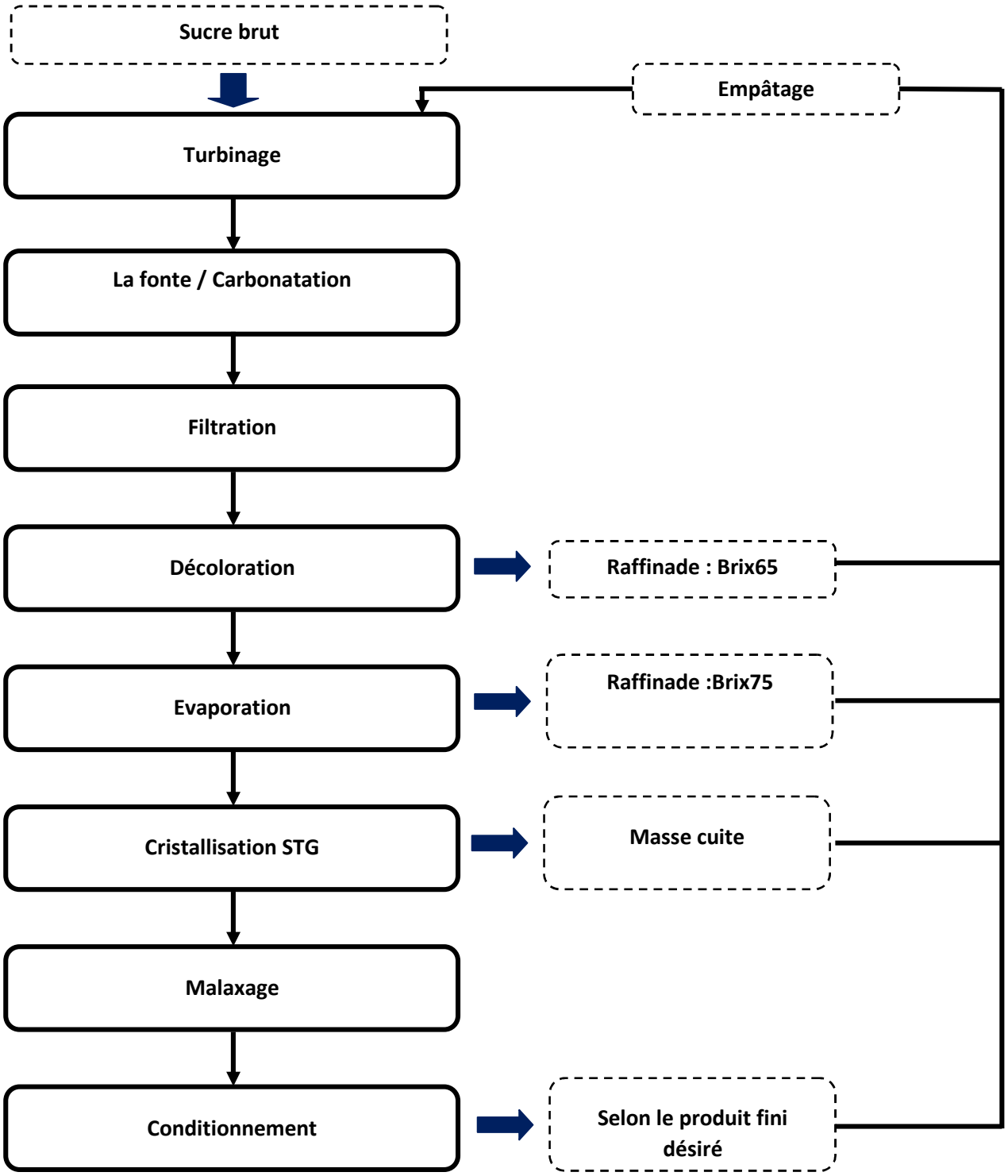

Figure 5 : Diagramme de fabrication du sucre à la COSUMAR

Chapitre 2 : Revue bibliographique

1) Généralités :

Le saccharose, produit alimentaire sain, pur et nutritif, est utilisé dans l'alimentation humaine en raison de ces nombreuses propriétés, outre le pouvoir sucrant.Mais étant un bon nutritif pour l'homme, il l'est également pour les microorganismes.

La contamination peut être à l'origine de pertes relativement importantes souvent mises sur le compte des pertes indéterminées. Les micro-organismes susceptibles de se développer sont selon les milieux (Fondoir N° 1 après l'empattage, bac à eaux sucrées, fonte bas produits appelé aussi chaudière à 4 compartiments, Bac 110 à eaux sucrées) des micro-organismes mésophiles ou thermophiles.

Les produits contaminés entraînent des difficultés de fabrication qui grossissent la rubrique des pertes indéterminées, parmi ces difficultés on peut citer :

- Baisse de pH ;
- Baisse de l'alcalinité effective
- Augmentation des sels de chaux
- Augmentation des colorations
- Augmentation des sucres réducteurs
- Teneurs élevée de cendres
- Difficultés de filtration
- Problèmes de stockage des produits (sucre, mélasse, pulpe)
- Mélasses difficilement fermentescibles

On peut empêcher la plus grande partie de ces pertes, par la lutte contre cette contamination : la propreté la plus rigoureuse de l'usine, l'utilisation d'antiseptiques appropriés, le contrôle quotidien de l'état sanitaire des postes sensibles.

Les germes souvent trouvés sont des mésophiles, des thermophiles, des levures et moisissures.

- **Les mésophiles** se multiplient à des températures allant de 20 à 40°C avec un optimum à 37°C. On les retrouve sur les aliments conservés à température ambiante ou dans les aliments réfrigérés lorsque la chaîne du froid a été rompue.

Exemples de mésophiles : *Bacillus, Lactobacillus, Streptococcus, Leuconoctoc* et *Clostridium.*

- **Les thermophiles** sont des microorganismes qui se développent dans des températures allant de 40 à 65°C avec un optimum à 55°C. On les retrouve dans le sol, l'eau et même dans les sources thermales. En milieux alimentaires, ils sont représentés surtout dans les genres bactériens *Bacillus* et *Clostridium* et certaines moisissures (*Aspergillus, Cladosporium*).

Les thermophiles sont souvent sporulant et se répartissent en deux groupes selon la température permettant la germination des spores :

1. Les thermophiles obligatoires : si leur spores ne peuvent germer et se développer en dessous de 50°C.
2. Les thermophiles facultatifs : si leur spores peuvent germer et se développer à des températures en dessus et en dessous de 50°C.

Parmi les thermophiles obligatoires, certains peuvent se développer jusqu'à une température de 77°C et leurs spores peuvent survivre plusieurs minutes à 121°C.

2) Culture des mésophiles et thermophiles :

La croissance des mésophiles et thermophiles demandent des milieux riches en différents nutriments. Les mésophiles sont essentiellement cultivées dans le milieu Gélose nutritive et les thermophiles dans le milieu Dextrose Tryptone Agar.

La gélose nutritive est un milieu riche qui offre aux bactéries une source de vitamine, de sels essentiels et de composés azotés, sa formulation apporte les éléments nutritifs nécessaires à la croissance d'une grande variété de germes non exigeants.

Le Dextrose Tryptone Agar est un milieu qui contient Tryptone peptones contient pour fournir des sources de carbone et d'azote pour les besoins Dextrose Agar généraux de croissance. Le dextrose est la source de glucides. Le pourpre de bromocrésol est l'indicateur de pH. L'agar est l'agent de solidification.

3) Les normes en usage à la COSUMAR :

Les normes sont ceux celles établis par la National Canner's Association American.

Tableau 1 : Normes de la National Canner's Association American

Microorganismes recherchés	UFC Norme pour 10 grammes de produit	Milieux de culture utilisés et T°c d'incubation
Mésophiles totaux	< 200	Agar nutritif à 35° (BP) = Boite de pétri
Levures totales	<10	Sabouraud à 27°(BP)
Levures osmophiles	<5	Owen à 30°(BP)
Moisissures totales	<10	Sabouraud à 27°(BP)
Moisissures osmophiles	<5	Owen à 30°(BP)
Leuconostoc mesentéroides	0	Mailleux à 22°(BP)
Thermophiles thermorésistants aérobies	<75	Dextrose tryptone agar à 55°(BP)
Thermophiles thermorésistants anaérobies sulfitoréducteurs (producteurs de H2S)	<5	Sulfite agar à 55° en tube, milieu solide laiteux
Thermophiles thermorésistants anaérobies non sulfitoréducteurs (gazogènes)	<2 tubes/6	Bouillon de foie à 55° en tube milieu liquide

4) Effets sur les employés de l'augmentation de la charge des germes étudiés :

Les poussières porteuses de micro-organismes (moisissures, mésophiles, levures..) omniprésentes dans les sucreries, peuvent être responsables de fréquentes réactions allergiques. De nombreux pneumallergènes sont retrouvés dans les poussières de résidus fibreux moisis de canne à sucre, particulièrement les endotoxines des bactéries et des toxines fongiques dont le rôle majeur dans

l'inflammation de l'arbre respiratoire explique l'apparition de bronchites chroniques, de rhinites avec souvent sur infection provoquant des sinusites.

La forte inhalation de poussière de bagasse provoque des crises aiguës de bagassose, avec dyspnée, céphalées et fièvre qui peut évoluer à la longue en fibrose pulmonaire. Le fort dégagement de poussières est généralement accidentel (débourrage d'une machine, arrachement de manches, nettoyage d'un équipement, ruptures et déversements de sacs, erreurs lors de la vidange ou remplissage de silos ...), mais également, il y a une accumulation progressive de poussières très fines qui recouvre le sol, les parois des silos, des bâtiments et des locaux occupés par le personnel, les chemins de câbles, les gaines, les canalisations, les appareils et les équipements, notamment dans tous les volumes morts, les recoins et endroits confinés difficilement accessible au nettoyage.

Les transporteurs et convoyeurs, les postes d'ensachage, les aires de chargement et de déchargement et les abords des silos sont particulièrement concernés par l'empoussièrement de l'air et des surfaces de travail ou de circulation.

5) Applications du Preventol du biocide(ou Sodium dimethyl dithiocarbamate) :

Pour remédier à ce problème, l'application de ce produit peut jouer un rôle très important dans la réduction de cette charge.

- Composition physique et chimique du Preventol :

  Liquide d'env. 40% de diméthyle dithiocarbamate de sodium

- Caractéristiques :

Tableau2 : Caractéristiques du Preventol de biocide

Pression de vapeur (20 ° C)	env. 20 mbar
Viscosité (20 ° C)	env. 4,8 mPa.s
Point de cristallisation	env. 5 ° C
Point de solidification	env. -5 ° C DIN 51556
Point d'éclair	pas possible de mener à bien en raison de la pression de vapeur de l'eau
Température d'inflammation	> 500 ° C DIN 51794
Gamme de Stabilité	pH 7-13
Solubilité	miscible avec de l'eau et les alcools inférieurs en tout rapport

- Stockage :

Si elle est correctement stockée et conservée dans le paquet scellé d'origine, la durée de conservation est de 1 an. Évitez les températures inférieures à 10 ° C et plus de 40 ° C. Le produit est sensible au gel en dessous de 5 ° C. Ci-dessous 10 ° C, les parties du produit peuvent se cristalliser, ce qui peut être résolu par réchauffer le produit à 35 - 40 ° C. Pendant le stockage d'une petite quantité de sédiments peut se former

- Application :

Le métabolisme de bactéries thermophiles peut causer la perte de sucre lors de l'extraction du saccharose, la betterave sucrière ou de la canne à sucre. L'utilisation de microbicides est nécessaire pour éviter le coût-efficacité du processus d'extraction du sucre est réduite de manière significative. La gamme de micro-organismes dans le sucre brut, jus de canne comprend normalement autour de 60 - 70% souches *Leuconostoc* et *Bacillus*, 10% autres c'est-à-dire les bactéries et les levures. Les espèces *Leuconostoc* sont responsables des plus grandes pertes dans le sucre processus d'extraction. En raison de la composition hétérogène des micro-organismes, la dégradation de saccharose se produit de différentes façons, ce qui rend l'évaluation de la perte de saccharose très complexe. Avec son ingrédient actif diméthyl dithiocarbamate de sodium, Preventol ® Z est un microbicide prouvé avec un large spectre d'activité.

- Les ajouts proposés :

Preventol® Z doit être administré au niveau des points où la croissance de micro-organismes est augmentée en particulier marquée. Les Points de mesure importants sont des réservoirs de jus (le sirop) dans cette usine.

L'expérience a montré la concentration d'application située entre 15 et 25 ppm Preventol ® Z dans le jus brut.

Lors de la détermination de la concentration Preventol® Z de l'application, il est nécessaire de prendre en compte la qualité des matières premières en cours de traitement et les conditions d'hygiène.

- Précautions :

Lors de la manipulation Preventol Z, les précautions généralement recommandés pour manipulation de produits chimiques devrait être observée : porter des lunettes de sécurité, des vêtements de protection et des gants de protection.

Si le produit entre en contact avec la peau, la zone affectée doit être immédiatement lavée du savon et beaucoup d'eau; éclaboussures dans les yeux doivent être rincés immédiatement et abondamment avec de l'eau.

Si l'irritation persiste, l'attention médicale devrait être obtenue. Les vêtements contaminés doivent être changé immédiatement.

6) Les mesures appliquées en raffinerie pour le contrôle microbiologique :

Toutes les mesures sont basées sur des prélèvements de l'échantillon aseptiquement le long de l'appareil.

- Mesures du nombre de cellule dans la population microbienne par :

- Comptage total (méthode directe)

Lecture par un appareil « Compteur de colonies » (méthode rapide) :

- Dénombrement des cellules viables ou UFC (Unités Formant Vivant)

Le dénombrement est réalisé après culture cellulaire sur milieu gélosé ou sur milieu liquide. Pour le milieu gélosé, On compte le nombre de cellules vivantes formant une colonie. Donc, on compte le nombre de colonies qui apparaissent après incubation.

On distingue 3 méthodes:

- **Après dilution**
- **Filtration sur membrane**
- **Nombre le plus probable (N.P.P)**

La méthode de dénombrement a pour but de donner le nombre de micro-organismes par unité de volume, très souvent par ml de culture analysée.

Le dénombrement se fait à partir de la formule suivante :

$$\text{Nombre de cellules} = \frac{nombre\,de\,colonies * Fd}{v\,ensemencé}$$

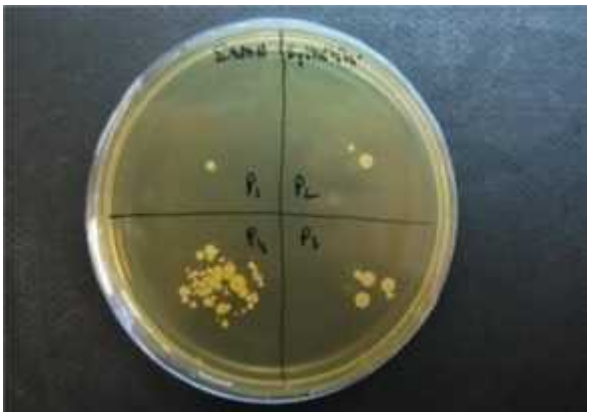

Figure 6 : Exemple de subdivision de boite à pétri

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

1) Introduction :

Cette partie consiste à étudier la réduction de la charge des mésophiles et thermophiles des produits intermédiaires. L'échantillon choisi est celui qui contient une charge très importante en microorganismes cités, qui va être prélevé de la fonte bas produits.

Avant de commencer cette étude, il faut savoir les modalités pratiques de l'injection du Preventol de biocide dans la fonte afin de pouvoir déterminer si il y a un défaut dans la fréquence ou bien notre produit doit subir une dilution ou changer de concentration pour trouver de bons résultats et contribuer à une bonne amélioration.

2) Matériels et méthodes :

a) Matériel utilisé :

La fonte bas produit est considérée comme produit intermédiaire de sucre qui va subir un traitement afin de pouvoir résoudre le problème de l'augmentation de la charge microbienne.

Figure7 : Echantillon de la fonte bas produit

b) Méthode :

b) 1. Préparations :

- **Préparation de milieu de culture :**

Le milieu Agar nutritive est un milieu favorable à la poussé des mésophiles totaux, c'est un milieu qui a été utilisé tout au long mon projet de fin d'études, sa préparation est simple : il suffit de prélever 20g du produit qu'on mélange avec 1l d'eau distillée puis nous portons le mélange à ébullition avant de l'autoclaver.

Le milieu Dextrose Tryptone Agar est un milieu favorable à la poussé des thermophiles, c'est un milieu qui a été tout au long mon projet de fin d'études, sa préparation ressemble au milieu précédent mais dans ce cas nous avons prélevé 27g pour 1L d'eau distillée.

- **Echantionnage :**

La prise de l'échantillon est effectuée au chantier dans une station ou se trouve la fonte bas produit.

Figure 8 : Station de prélèvement de fonte bas produit

b) 2. Dénombrement des mésophiles et thermophiles :

Le 1er essai que nous avons effectué suit une chaine d'étapes:

La 1ère étape est celle de la préparation de milieu de culture :

Pour avoir un volume de 150 ml, 3 g du milieu Agar nutritive ont été pesé dans le cas des mésophiles totaux et 4g du milieu Dextrose Tryptone Agar dans le cas des thermophiles.

Après l'ébullition, les 2 milieux ont été répartis dans 2 bouteilles pour subir une stérilisation à l'autoclave.

La 2ème étape est celle de l'échantionnage.

La 3ème étape : c'est la mesure de Brix

5,1g ont été mesuré de l'échantillon et complété avec 5,1g de l'eau distillée stérile, le mélange obtenu est de 10,2g.

Le Brix de 10g de matière sèche a été mesuré, la valeur obtenue est de 20g qui a été multiplié par 2 pour avoir la valeur vraie du Brix qui est de 40g.

Ensuite, la prise d'essai a été calculée par la relation suivante :

100g de fonte bas produit ⟶ 40g

X ⟶ 10g de matière sèche

$$X = \frac{10*100}{40} = 25g$$

La prise d'essai est de 25g que nous l'avons complété jusqu'à 100 avec de l'eau distillée stérile.

Dans cet essai, 3 différents volumes ont été choisi de Preventol® Z concentré : 1ml, 2ml, 3ml que nous l'avons ajouté au mélange précédent dans chaque flacon avec un témoin qui est sans Preventol dans le cas des mésophiles et thermophiles.

La 4ème étape : c'est l'ensemencement et l'incubation.

Après avoir préparé le mélange, il suffisait de verser 2ml de chaque mélange dans une boite à pétri et incuber à 37°c pendant 72h.

La méthode d'ensemencement est schématisée comme suit :

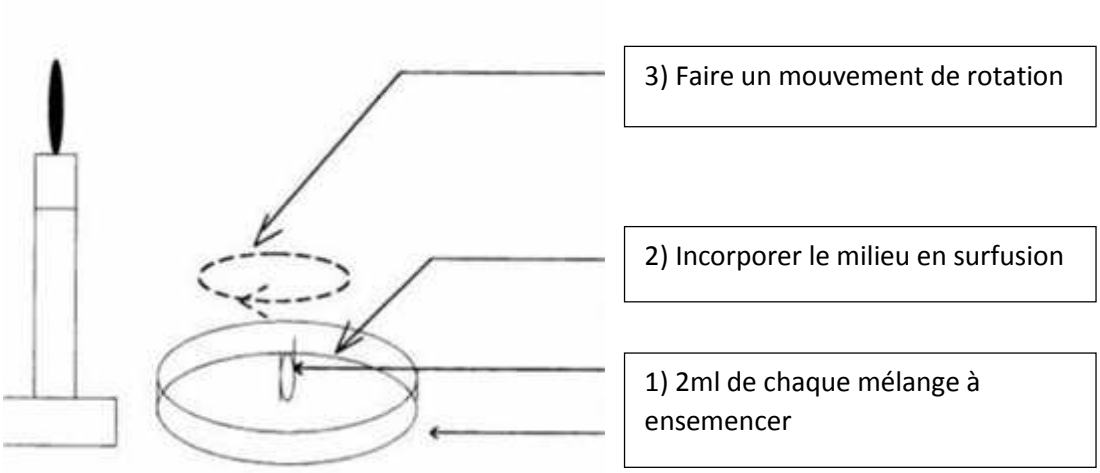

Figure 9 : Méthode d'ensemencement en profondeur

Un 2ème essai a été effectué avec certaines modifications :

La 1ère étape est celle de la préparation de milieu de culture :

Cette fois ci, un volume de 200 ml a été préparé, 4 g du milieu Agar nutritive ont été pesé dans le cas des mésophiles totaux et 5,4 g du milieu Dextrose Tryptone Agar dans le cas des thermophiles.

Après l'ébullition, nous avons réparti les 2 milieux dans 2bouteilles pour subir une stérilisation à l'autoclave.

La 2ème étape est celle de l'échantionnage.

Cette fois ci, un 2ème flacon stérile a été ajouté pour servir au calcul de la charge initiale.

Un volume de 20ml a été prélevé de la fonte bas produit que nous avons complété à 100, c'est une dilution de 10^{-5} suivant la méthode ci-dessous :

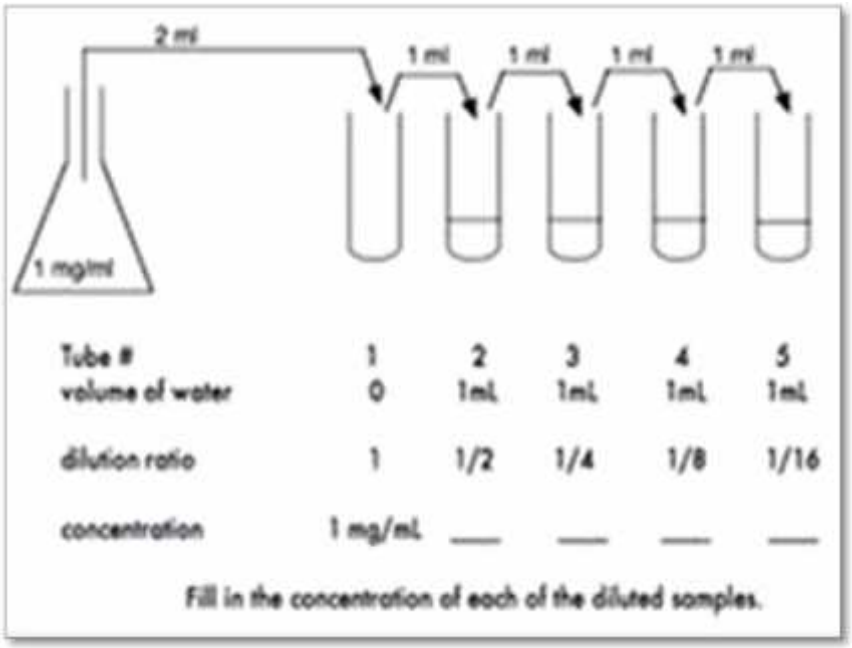

Figure 10 : Méthode de dilution

La 3ème étape : c'est la préparation de dilution du Preventol du biocide.

Figure 11 : Echantillon du Preventol® Z

1g de ce produit a été pesé puis complété jusqu'à 1000ml par de l'eau distillée stérile.

Cette fois ci, nous avons travaillé par des concentrations que nous avons choisi afin de savoir si la dilution influence sur l'efficacité du produit.

Pour 10 ppm = 10 mg/1kg

Nous avons 0,1mg de Preventol/10g du produit

Dans 1g de produit /1000ml d'EDS, le calcul suivant a été effectué pour savoir le volume qui doit être prélevé et qui correspond à une concentration de 10ppm.

1000 mg → 1000ml

0,1mg → X

$X = \frac{0,1*1000}{1000} = 0,1ml$

Donc, une concentration de 10ppm correspond à 0,1ml

La 4ème étape : c'est l'ensemencement et l'incubation.

Après avoir dilué le produit, nous avons prélevé :

0,1ml → 10ppm

0,5ml → 50ppm

0,7ml → 70ppm

1ml → 100ppm

Ainsi que nous avons ajouté un 5ème volume de 4ml du produit concentré qui correspond à 400 ppm pour savoir si le produit dilué est suffisant pour donner cet effet bactéricide ou bien le produit doit être concentré.

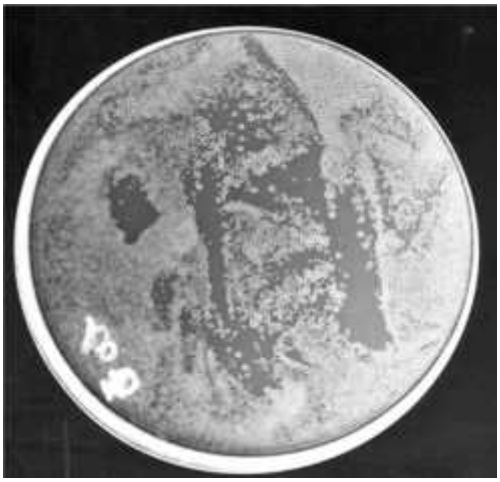

Figure 12 : culture des mésophiles dans 0 ppm

Figure 13 : Culture de mésophiles dans 400ppm

Figure 14 : Culture de thermophiles dans 400ppm

Chapitre 4 : Résultats et discussions

Après avoir étudié les modalités pratiques de l'injection de Preventol de biocide :

L'injection est en continu et automatique par des pompes doseuses ce qui va contribuer à l'homogénéisation du milieu.

Le volume de l'injection de ce produit qui est concentré est de 0,5 litre par heure c.à.d une concentration de 4ppm.

Nous avons effectué des essais pour définir la concentration optimale qui montre l'efficacité du produit.

Les résultats obtenus du 1er essai sur produit concentré de Preventol de biocide:

Tableau3 : Résultats du 1er essai sur produit concentré

volume	0 ml = Témoin	1ml	2ml	3ml
Mésophiles	incomptable	3720 cellules/ml	3320 cellules/ml	2280 cellules/ml
Thermophiles	incomptable	4021 cellules/ml	4015 cellules/ml	3985 cellules/ml

Ces résultats sont obtenus à partir de la méthode de dénombrement.

Au cours de la lecture, cette subdivision nous incite à multiplier chaque résultat par 4 ensuite par 10 du facteur de dilution.

Pour 1ml :

93 * 4 = 372 * 10 = 3720 cellules/ml

Pour 2ml :

83 * 4 = 332 * 10 = 3320 cellules/ml

Pour 3ml :

57 * 4 = 228 * 10 = 2280 cellules/ml.

Interprétation du 1er essai :

Les résultats obtenus montrent qu'avec un produit concentré le taux d'élimination des mésophiles et thermophiles diminuent en augmentant le volume de 1ml à 3ml qui correspond à 100 ppm, 200ppm, 300ppm.

Les résultats obtenus du 2ème essai sur produit dilué de Preventol de biocide :

Tableau4 : Résultats du 2ème essai sur produit dilué

Concentration	0 ppm	10 ppm	50 ppm	70ppm	100ppm
Mésophiles	6050 cellules/ml	6010 cellules/ ml	5988 cellules/ ml	5788 cellules/ml	5540 cellules/ml
Thermophiles	7000 cellules/ ml	7030 cellules/ ml	6982 cellules/ml	6770 cellules/ml	6699 cellules/ml

Le résultat de la 5ème concentration sur produit concentré de Preventol de biocide est :

Dans un volume de 4ml qui correspond à une concentration de 400 ppm, le nombre de mésophiles est de 1980 cellules/ml et le nombre de thermophiles est de 2980 cellules/ml.

Interprétation du 2ème essai :

D'après les résultats du produit dilué, nous avons remarqué une diminution faible de nombre de colonies dans le cas de mésophiles et thermophiles par contre nous avons remarqué une diminution importante quand nous avons travaillé avec un produit concentré ce qui permet de constater qu'un produit concentré est plus efficace qu'un produit dilué.

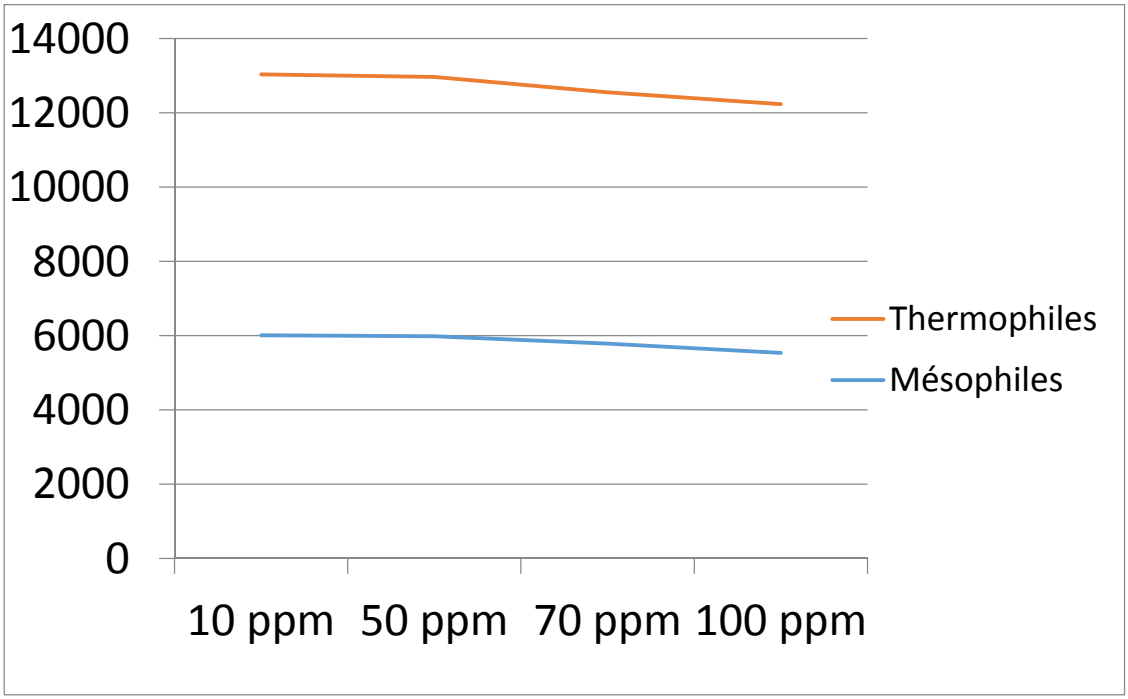

Figure 15 : Courbe montrant la réduction de la charge microbienne après l'ajout du Preventol du biocide dilué

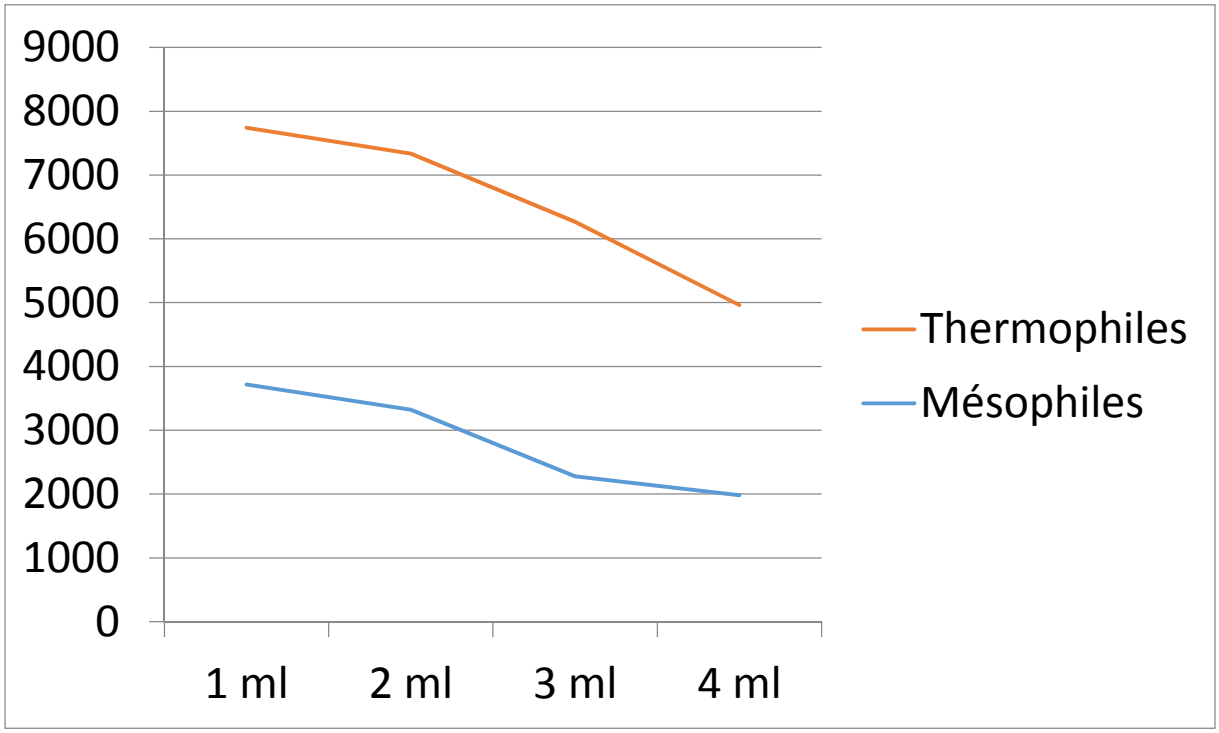

Figure 16 : Courbe montrant la réduction de la charge microbienne après l'ajout du Preventol du biocide concentré

Interprétation des 2 courbes :

Après l'ajout du Preventol de biocide dilué, la courbe montre qu'à partir une concentration de 10 ppm jusqu'à 100 ppm une faible diminution de la charge microbienne des mésophiles et thermophiles.

Par contre, après l'ajout du Preventol de biocide concentré, la courbe montre qu'à partir une concentration de 100 ppm jusqu'à 400 ppm une diminution rapide et importante de cette charge microbienne des mésophiles et thermophiles.

Conclusion générale

La COSUMAR est contrainte à fabriquer un produit qui répond aux besoins implicites et explicites de ses clients. Ce produit qui doit être conforme aux spécifications prédéterminées par la société. Il doit être aussi de bonne qualité pour pouvoir résister à la concurrence et garder sa place sur le marché national.

Ce stage que nous avons effectué au service du laboratoire nous a permis de mettre en œuvre nos connaissances théoriques acquises au cours de notre formation à la faculté des sciences et techniques. Comme nous avons pu développer notre sens d'initiative et de créativité, et améliorer nos capacités de déduction, et ce, dans la mesure où nous avons effectué une étude globale sur la réduction de la charge microbienne des mésophiles et thermophiles au niveau des produits intermédiaires de sucre.

En effet, grâce à cette étude nous avons pu savoir l'efficacité du Preventol du biocide qui a un effet bactéricide important en travaillant avec des concentrations plus élevé en ppm.

Avec ces amplifications nous pouvons être sure que la valeur optimale qui contribuent à une réduction de cette charge microbienne des mésophiles et thermophiles est de 400 ppm qui va jouer en plus de son rôle essentiel, un rôle économique.

Enfin, notre stage nous a permis d'avoir des contacts avec le monde industriel, et d'échanger des informations avec le personnel qui nous a guidé vers un esprit de traitement des problèmes plutôt pratique que purement académique.