



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



## **Rapport du Projet de Fin d'Etudes**

*Pour l'obtention du*

**Diplôme du Cycle Licence sciences et techniques**

**Bioprocédé, hygiène et sécurité alimentaire**

*Sous le thème*

**SUIVI MICROBIOLOGIQUE DE LA PREPARATION DES  
SELS NUTRITIFS DEPUIS LES SACS JUSQU'AUX  
FERMENTEURS**

*Réalisé par :*

**BENDAHOU Mohammed Amine**

Encadré par : Pr El Farricha (FST FES)  
Mr Bennani (LESAFFRE MAROC)

*Soutenu le 16 Juin 2015 devant le jury :*

Pr El Farricha (FST FES)  
Pr Alaoui Belghiti (FST FES)  
Mr Bennani (LESAFFRE FES)

*Année universitaire 2014-2015*

# REMERCIEMENTS

Je tiens fort bien à remercier mon encadrant, le professeur EL FARRICHA, pour qui je témoigne un grand respect, pour son aide, ses enseignements et ses conseils qui m'ont été précieux pour mener à bien ce travail. Je le remercie car il a su faire preuve de beaucoup de patience et de détermination.

Je remercie le Professeur ALAOUI Belghiti qui a bien voulu accepter de faire partie du jury de soutenance, ainsi que tous nos enseignants de la filière BHSA.

Je remercie le Directeur de la filiale « LESAFFRE-MAROC », pour m'avoir accepté comme stagiaire dans sa société LESAFFRE.

Je remercie mon encadrant externe, Monsieur BENNANI, pour son apport en connaissances et expériences, et sa disponibilité inconditionnée.

Je remercie mes parents pour tous les sacrifices qu'ils ont consentis pour que je puisse poursuivre mes études avec détermination et courage.

Je remercie mon frère Oussama qui m'a accompagné tout au long de mon cursus universitaire.

# Sommaire

<b>Introduction Générale</b> .....	2
<b>PRESENTATION DU LIEU DU STAGE :</b>	
I. Historique de LESSAFRE: .....	3
II Description et activités du laboratoire d'analyses de LESAFFRE Maroc.....	4
<b>Partie 1 : Etude bibliographique</b>	
I. La levure : .....	5
1 Généralités sur la levure.....	5
2 Classification.....	5
3 Caractères morphologique et physiologiques.....	5
4 Effet de paramètres physicochimiques sur la croissance .....	6
5 Métabolisme.....	6
II. Chaîne de production.....	7
1 Préparation de la mélasse.....	7
2 Ensemencements .....	8
3 Fermentation.....	8
4 Séparation.....	9
5 Stockages de la crème .....	9
6 Filtration .....	9
7 Séchage .....	9
8 Emballage .....	9
III Sels nutritifs.....	10
1 Définition.....	11
2 Urée.....	11
3 Sulfate d'ammoniaque.....	11
4 Mono ammonium phosphate.....	11
IV Différentes étapes de préparations des Sels nutritifs.....	11
1 Stockage des sels.....	11
2 Dilution et chloration .....	11
3 Stockage des sels dilués.....	12
4 Distribution .....	12
Matériel et plan de nettoyage.....	13
<b>Partie 2 : Partie expérimentale</b>	
Echantillonnage et analyses microbiologiques.....	15
1 Echantillonnage .....	15
2 Analyses microbiologiques.....	15
2 – 1 Recherche des coliformes.....	15
2 – 2 Recherche des bactéries totales.....	15
2 – 3 Ensemencement.....	15
Résultats et discussion.....	17
<b>Conclusion</b> .....	21
<b>Références</b> .....	22

## INTRODUCTION

Le projet de fin d'étude est un travail à caractère professionnel qui a pour but de développer l'autonomie et la responsabilité des étudiants à créer une dynamique de groupe et d'esprit du travail collectif et bien sûr à mettre en pratique les enseignements reçus et permettre ainsi aux étudiants d'affirmer leur savoir-faire et de considérer leurs compétences.

Dans ce contexte, j'ai effectué mon stage au sein du laboratoire microbiologique de la société LESAFFRE Maroc.

L'objectif de ce stage est d'une part la maîtrise des procédés industriels de fabrication de la levure, et d'autre part l'analyse microbiologique des sels nutritifs utilisés pour la nutrition de la levure. Ces analyses ont été réalisées sur les différentes étapes de préparation de ces sels depuis les sacs jusqu'aux fermenteurs, par la recherche des coliformes totaux et des bactéries totales.

Ce rapport est élaboré selon le plan suivant :

- Une partie bibliographique portant sur des généralités sur les levures et leurs métabolismes, la chaîne de production de la levure et les différentes étapes de préparations des Sels nutritifs.
- Une partie expérimentale s'intéresse aux matériels et méthodes utilisés pour effectuer les analyses et les résultats obtenus et leurs interprétations.

## **PRESENTATION DU LIEU DE STAGE**

### **I -Historique de LESSAFRE :**

En 1853 deux fils de cultivateurs du nord de la France, Louis LESSAFRE et Louis Bonduelle, s'associent pour construire une fabrique d'alcool de grains et de genièvres. A l'origine, la levure n'était qu'un sous-produit de la fabrication des alcools de grains.

En 1871, le baron autrichien Max de Springer rapporte de chez Mautner, l'idée d'extraire la levure des moûts de fermentation des grains et de la vendre aux boulangers. L'année suivante, LESSAFRE et Bonduelle développent la fabrication de levure fraîche à Marcq-en-Barœul.

C'est à partir de ce site que se développera la Société Industrielle LESSAFRE.

A la fin du 19ème siècle, la société affiche déjà une volonté exportatrice. Ce qui semble tout naturel aujourd'hui représente un tour de force pour l'époque, en raison des conditions de transport et de distribution.

Après la seconde guerre mondiale, une série de progrès technologiques et d'innovations, se réalisent, suite à la construction d'un puissant réseau commercial exportateur, permet à LESSAFRE un développement continu.

Au Maroc, créée en 1975, la société LESSAFRE (appelée précédemment SODERS), a été majoritairement détenue par le groupe Français LESSAFRE et porte aujourd'hui comme nouvelle appellation « LESSAFRE Maroc ». Elle représente la première entreprise privatisée au Maroc, bénéficiant de l'expérience et de l'expertise du leader mondial dans la fabrication de la levure de panification. Son siège est situé au quartier industriel Sidi Brahim Fès. Elle produit environ 30.000 tonnes de levure par an avec un effectif de 200 personnes et un capital de 30.800.000 DH.

LESSAFRE fabrique et commercialise au Maroc de la levure et des améliorants de panification des marques suivantes :

- Jaouda pour la levure fraîche.
- Rafiaa et Nevada pour la levure sèche, ainsi qu'un type spécial destiné pour satisfaire les besoins des forces armées royales (FAR) en levure.
- Ibis bleu et Magimix pour les améliorants, produits qui apportent au consommateur le pain qu'il apprécie, que ce soit en terme de volume, de texture et couleur, d'aspect et

couleur de croûte, de conservation et bien sûr du goût. Sa large gamme de produits en fait d'elle, aujourd'hui le leader sur le marché des professionnels en la matière.

## **II Description et activités du laboratoire d'analyses de LESAFFRE Maroc :**

Le laboratoire a été créé en 2006 par une équipe marocaine afin de répondre au besoin des contrôles microbiologiques et physicochimiques intervenant dans tous les niveaux de fabrication depuis la réception de la matière première jusqu'à l'obtention du produit fini. Il est chargé d'effectuer ces procédés dans des conditions de qualité et de confidentialité.

Il se divise en deux laboratoires :

### **- Laboratoire de microbiologie :**

Ce laboratoire est divisé en quatre parties :

- Salle de stockage des matériaux et des matières premières.
- Salle de préparation des milieux de culture, la stérilisation et d'autres activités.
- Salle des pathogènes où sont effectuées les analyses des germes pathogènes.
- Salle des analyses bactériologiques bien équipée.

### **- Laboratoire de physico-chimie :**

Il est divisé en trois salles :

- Salle de panification où s'évalue la force panaire de la levure.
- Salle de stockage des matériaux et des matières premières.
- Salle des analyses physico-chimiques où s'effectuent les analyses d'azote, de phosphate, de conductivité, de pH ....

Les deux laboratoires communiquent entre eux par une laverie où se fait le nettoyage du matériel, la préparation de l'eau adoucie et la destruction des milieux contaminés.

# I. La levure

## 1 Généralité sur les levures :

Les levures sont des champignons microscopiques unicellulaires capables de :

- Dégrader les aliments qui se trouvent dans leur milieu de culture grâce à une gamme très étendue d'enzymes d'hydrolyse.
- Effectuer toutes ou presque les synthèses dont elle ont besoin pour leur croissance.

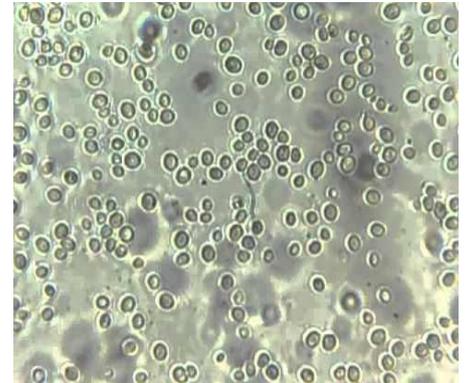


Fig 1 : Observation de cellules de levure *Saccharomyces cerevisiae* au grossissement 1000x

## 2 Classification :

**Tableau 1 :** la classification de la levure .

Règne	Fungi
Division	Ascomycète
Sous-embanchement	Saccharomycotina
Classe	Saccharomycètes
Sous-classe	Saccharomycetidae
Ordre	Saccharomycetales
Famille	Saccharomycetaceae
Genre	<i>Saccharomyces</i>

**Commentaire :** LESAFFRE MAROC utilise la souche *Saccharomyces cerevisiae* .

## 3 Caractères morphologiques et physiologiques :

- Taille : comprise entre 6 à 50 microns.
- Forme : sphérique, ovale, ovoïde ... selon l'espèce.
- Eucaryotes.
- Aérobie.
- Immobiles.
- Acidophiles : se multiplie à des pH entre 3 et 7,5.
- Mésophiles : se développent à des températures optimales : 25-28 ° C.
- Assimilent de nombreux substrats carbonés.

La levure possède :

- Paroi cellulaire : protège la cellule de certaines agressions du milieu extérieur.
- Membrane cellulaire : double la paroi cellulaire et joue un rôle dans les échanges.

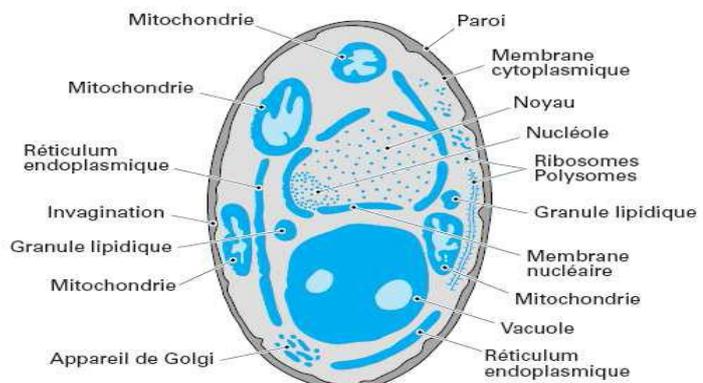


Fig 2 : Schéma de la levure *Saccharomyces cerevisiae*

- Cytoplasme : le constituant intérieur de la cellule, il renferme en suspension les éléments qui assurent la transformation des aliments (vacuole, mitochondries, appareils de sécrétion).
- Noyau : organise l'activité générale de la cellule.

#### 4 Mode de multiplication :

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 bourgeon (cellule fille) de détache grossit et bourgeonne à son tour.

#### 5 Différentes utilisations de la levure :

Les levures sont utilisées pour :

- La fabrication du pain.
- La fabrication des boissons alcoolisées.
- Affinage des fromages.
- Production des protéines.

#### 6 Effet des paramètres physicochimique sur la croissance :

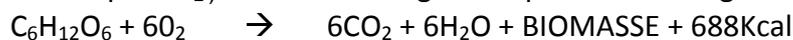
- Matière première : les matières premières utilisées doivent répondre aux exigences nutritionnelles imposées par la croissance de la levure comme le glucose, les sels minéraux, les vitamines et oligoéléments.
- Température : gamme de tolérance de 0 à 55 °C.
- Oxygène : aérobies, anaérobies facultatives.
- Activités de l'eau : la plupart des souches ne peuvent se développer pour une activité de l'eau  $\leq$  à 0,90.
- pH : les levures tolèrent des gammes de pH de 2,4 à 8.
- Pression osmotique : les levures peuvent pousser et fermenter jusqu'à des concentrations en sucres de l'ordre de 3M.
- Tolérance alcoolique jusqu'à 20% d'alcool.
- Agitation.

#### 7 Métabolismes :

La transformation des sucres par la levure est possible par deux façons :

- **Aérobiose :**

Lorsque la levure se trouve en présence d'air, elle produit à partir du sucre et de l'oxygène du gaz carbonique CO<sub>2</sub>, de l'eau et une grande quantité d'énergie.



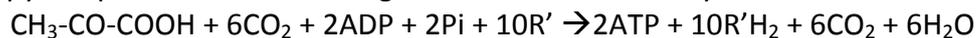
1ere étape : (la glycolyse se fait dans le cytoplasme)

La dégradation d'une molécule de glucose en deux molécules d'acide pyruvique.

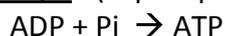


2eme étape : (le cycle de KREBS se fait dans la matrice des mitochondries)

L'acide pyruvique est totalement dégradé sous l'action d'enzymes.



3eme étape : (la phosphorylation oxydative se fait dans la membrane des mitochondries)



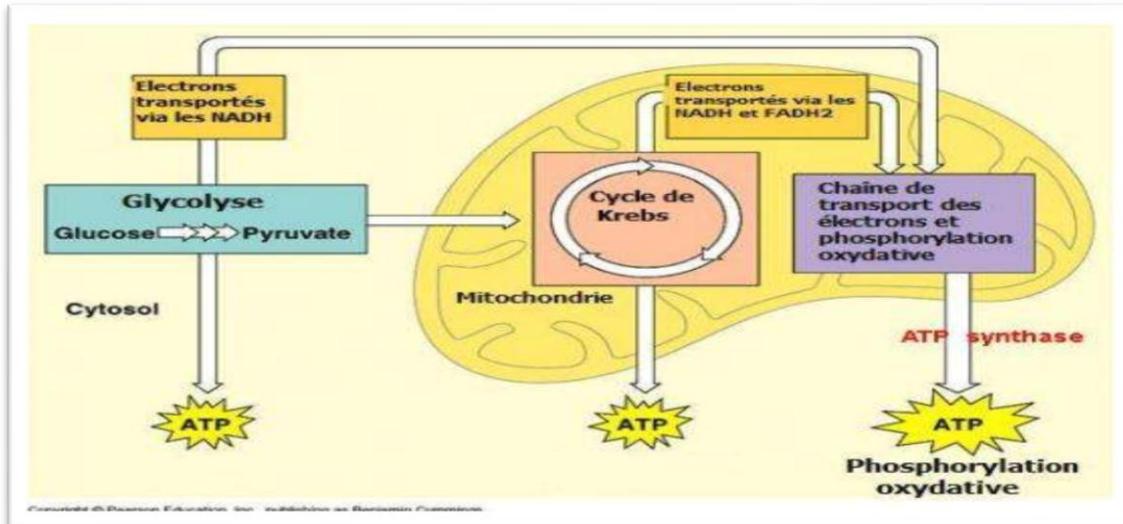


Fig 3 : Schéma général de la respiration aérobie chez la levure *Saccharomyces cerevisiae*

- **Anaérobiose :**

Les enzymes fermentent le sucre en dégageant de l'alcool éthylique et du gaz carbonique. Le gaz carbonique provoque la levée de la pâte ainsi que les composés secondaires dont l'importance est très grande pour les caractéristiques organoleptiques des produits finis (arômes et goût).

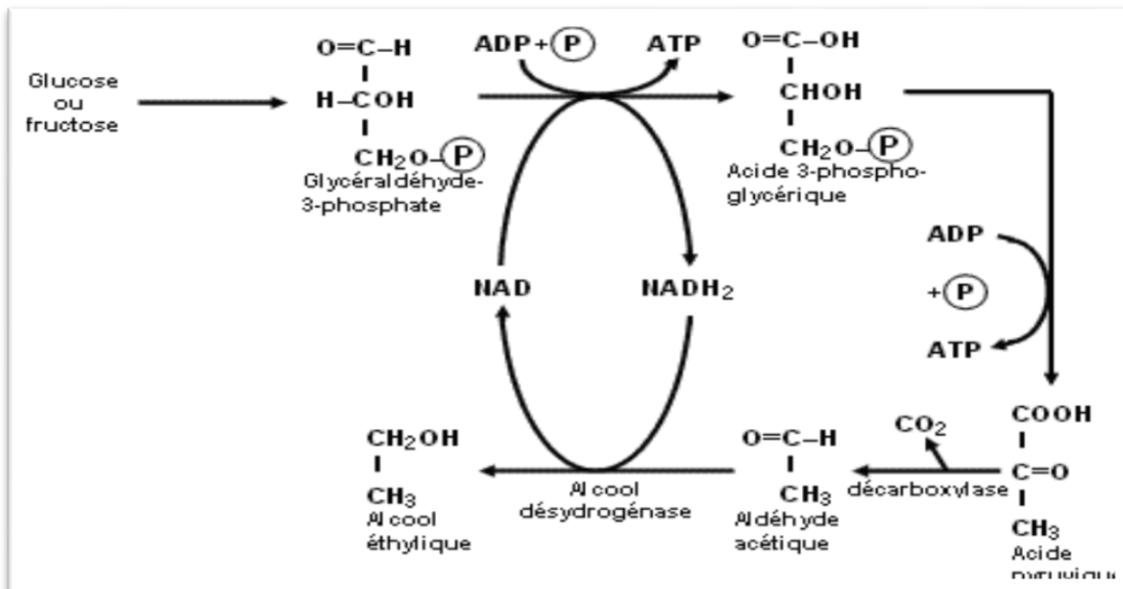
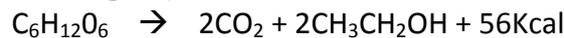


Fig 4 : Schéma général de la fermentation alcoolique de la levure *Saccharomyces cerevisiae*

## II – Chaîne de production :

### 1 – Préparation de la méléasse :

La méléasse est une matière première riche en sucres, utilisée dans le processus de fermentation comme source de carbone essentielle ( 75% betterave + 25% canne à sucre )

La méléasse contient :

- 50% de sucres.
- 20 à 25 % d'eau.
- 10% protéines.
- 4% acides aminés.

4% la betaine (substance végétale extraite de la betterave).  
Sels minéraux, vitamine B et des cendres en faible quantité (K<sub>2</sub>O).

Sa préparation consiste à :

- Dilution : la mélasse brute qui provient des cuves se mélange dans une cuve de dilution (15 m<sup>3</sup>) avec l'eau chaude (66°C) et de la vapeur (à 3,5bars).
- Clarification : la mélasse diluée passe dans des clarificateurs où elle est centrifugée : c'est l'opération qui permet de séparer la mélasse de toutes les impuretés comme les boues et les colloïdes.
- Stérilisation : la mélasse diluée et clarifiée est stérilisée par injection de vapeur : le contact direct de la vapeur avec la mélasse permet l'augmentation de la température de 90°C à 120 - 130°C.
- Stockage de la MDSC : la mélasse est stockée à 90°C dans deux cuves.
- Refroidissement : la MDSC passe par des échangeurs à plaques mélasse (120°C)/eau froide (22°C). La mélasse se refroidit (30°C à 40°C) et passe dans les fermenteurs et l'eau se réchauffe (60°C) et passe dans la cuve de stockage de l'eau chaude.

## 2- Ensemencement :

Chaque mois la société reçoit de la France deux tubes et dans chacun elle existe une souche de *Saccharomyces cerevisiae*. La première est destinée à la levure fraîche et l'autre à la levure sèche. Ces souches sont ensemencées dans des tubes contenant un milieu nutritif spécifique à la croissance des levures pour préparer 60 tubes par mois (30 tubes pour chaque souche). Cette étape exige un travail dans des conditions strictement aseptiques pour éviter tout risque de contamination puis le contenu des tubes est évacué dans un petit ballon « Van Lear » (250 mL) dont le milieu nutritif très riche laissera possible une première multiplication des cellules puis, le contenu du « Van Lear » est versé dans un ballon de 7 L appelé « Carlsberg » (7 L) où les cellules se multiplient à nouveau.

## 3- Fermenteur de 800 L :

Le contenu de Carlsberg est versé dans un fermenteur de 800L, dans lequel la levure commence pour la première fois à s'adapter à la mélasse comme milieu nutritif.

## 4- Pré-fermentation :

Le contenu de 800 L est versé dans un pré-fermenteur et on ajoute les ingrédients avec des quantités précises :

- Eau.
- Mélasse stérile.
- Sels minéraux.
- Eléments de traces (oligo-élément et vitamine).
- Air.

## 5- Fermentation :

A la fin de la pré-fermentation, on obtient un mout qui servira à ensemercer les fermenteurs (4 et 5) avec un milieu nutritif bien spécifique et après 14 à 16 heures de fermentation, on obtient la levure mère qui va subir une séparation puis un stockage à +4°C. La levure mère obtenue va encore être utilisée pour ensemercer les fermenteurs (6, 7,8) pour donner naissance à une levure commerciale.

Le mode de culture industriellement le plus utilisé pour la production des levures est le semi-continu. La source de carbone et d'autres nutriments sont ajoutés en continu sans qu'il y ait soutirage du milieu. Le volume du milieu dans le fermenteur augmente donc durant le procédé. Ce mode de culture est bien adapté à la production de levures parce qu'il permet de se maintenir à une faible concentration en glucose et éviter ainsi une production

importante d'éthanol (l'effet Crabtree). L'ajout du milieu de culture se fait selon la formule suivante :  $Q(t) = \mu \frac{X_0 V_0 \exp(\mu t)}{Y\left(\frac{X}{S}\right)(S_0 - S)}$ .

Avec :  $X_0$  : la concentration de la biomasse initiale ;  $V_0$  : le volume initiale ;  $\mu$  : taux de croissance de la levure.

$Y\left(\frac{X}{S}\right)$  : Rendement en biomasse par rapport au substrat.

$S_0$  : la concentration du substrat glucosé dans le milieu à l'entrée du fermenteur.

$S$  : la concentration du substrat glucosé dans le fermenteur.

### 6-Séparation :

La séparation se fait en deux étapes de fermentation : après l'obtention de la levure mère et la levure commerciale. Le mout obtenu à la sortie des fermenteurs contient les cellules de levures et une solution liquide qui présente les restes du milieu nutritif.

Pour éliminer ces déchets, on utilise un séparateur qui utilise comme principe : la centrifugation. On obtient un liquide dense (crème) et un liquide léger : c'est le mout déluvé.

### 7- Stockage de la crème :

La crème obtenue après la séparation est acidifiée par l'acide sulfurique à pH=2 afin d'éviter la contamination et stockée à 4°C pour ralentir le métabolisme cellulaire.

### 8- Filtration :

Consiste à éliminer l'eau présente dans la levure pour la préserver d'une éventuelle contamination puisque l'eau facilite l'altération par des micro-organismes. La crème arrive au niveau d'un filtre rotatif qui contient une couche d'amidon, dont le but est d'éviter la pénétration de l'eau.

La crème étant étalée sur la surface du filtre est récupérée sous forme de levure râpée.

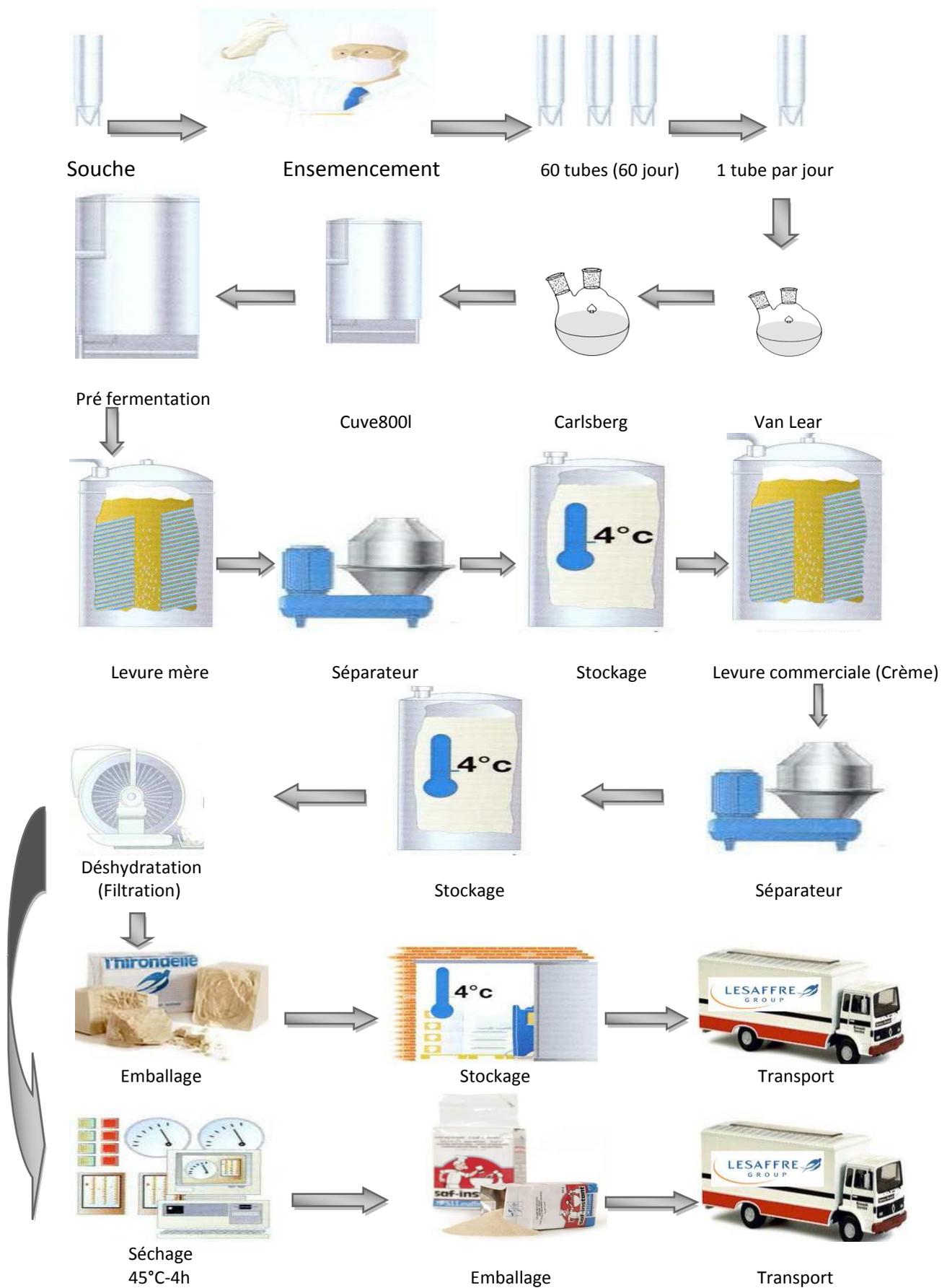
### 9- Séchage :

On distingue deux types de levure :

- Levure sèche active : sous forme de petits grains sphériques : sa durée de séchage est d'environ quatre heures 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 type de levures sèches nécessite une phase de réhydratation avant son utilisation. Elle est emballée sous air.
- Levure sèche instantanée : sous forme de bâtonnets, elle a une durée de séchage réduite, 20min environ pour une quantité de 1000Kg. Elle est caractérisée par une force fermentaire sèche. Ce type de levures sèches ne nécessite aucune phase de réhydratation avant son utilisation. Elle est emballée sous vide ou sous azote.

### 10- Emballage :

- Emballage de la levure fraîche : s'effectue grâce à une machine spéciale, constituée d'une boudineuse, découpeuse et enveloppeuse. Quand le gâteau de la levure fraîche passe par cette machine, on aura à la fin un produit fini sous forme de paquets de poids net de 500 g, qu'on met en cartons disposés sur des palettes de manière à avoir un vide entre eux pour faciliter la circulation d'air froid.
- Conditionnement des levures sèches : après séchage, de la levure dans un appareil de conditionnement spécifique qui aspire l'air des paquets pour une conservation à longue durée.



**Fig 5 : Schéma des étapes de production de la levure**

### III - Les sels nutritifs :

#### 1- Définition :

Les sels nutritifs sont définis comme étant des engrais azotés et phosphatés utilisés pour répondre aux exigences nutritionnelles imposées par la croissance et la multiplication des cellules.

#### 2- L'urée :

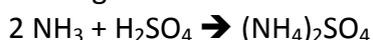
L'urée de formule chimique  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (sous forme de poudre cristalline blanche) est fabriquée en faisant agir l'ammoniac avec  $\text{CO}_2$  sous pression.



C'est une source d'azote organique sans odeur et soluble dans l'eau. Elle contient : 46%  $\text{N}_2$

#### 3- Sulfate d'ammoniaque :

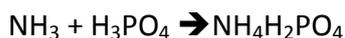
Le sulfate de forme chimique  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  (sous forme de poudre blanche cristalline, fine) est fabriquée en faisant agir l'ammoniac et l'acide sulfurique.



Le sulfate d'ammonium est utilisé pour sa teneur en azote ammoniacal. Il contient 21%  $\text{N}_2$ . Ce composé est indispensable à la biosynthèse des protéines pariétales indispensables au transfert des sucres de l'intérieur vers l'extérieur de la cellule.

#### 4- Mono ammonium phosphate :

Le MAP de formule chimique  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  (sous forme de cristaux) est fabriquée en faisant agir une molécule d'ammoniac avec une molécule d'acide phosphorique.



Le MAP est utilisé comme source d'azote et de phosphate nécessaire à la synthèse des acides nucléiques, des protéines ... Il n'a pas d'odeur, soluble dans l'eau et il contient 12% de  $\text{NH}_3$  et 61% de  $\text{PO}_4$ .

### IV Différentes étapes de préparations des Sels nutritifs :

#### 1- Stockage des sels :

Les sels proviennent de différents fournisseurs du Maroc par des camions. On calcule la teneur en azote et phosphore pour le mono ammonium phosphate, et l'azote pour l'urée et sulfate d'ammonium, pour s'assurer de la bonne qualité. Après on stocke les sels dans un dépôt à l'abri de la lumière et exempt d'odeur.

#### 2- Dilution et chloration :

Dans la station de préparation il existe un seul bac pour les trois sels. Les sels sont évacués dans une cuve menue d'un agitateur pour accélérer la solubilisation des sels.

La chloration s'effectue par l'ajout d'un volume d'eau de javel afin d'éviter toute contamination des solutions qui traversent un filtre qui contient des pores très fines afin d'éliminer les impuretés.

Afin d'obtenir la concentration souhaitée dans le bac de préparation, on doit respecter les normes caractérisées par le volume d'eau et la quantité des sels évacués .

- Urée :
  - Volume d'eau (L) : 1000
  - Eau de javel (L) : 1
  - Nombre de sac : 45 de 50 Kg
  - Capacité ( $\text{m}^3$ ) : 25
- Sulfate :
  - Volume d'eau (L) : 6000
  - Eau de javel (L) : 0,5
  - Nombre de sacs : 25 de 50 Kg

- Capacité (m<sup>3</sup>) : 7
- MAP :
  - Volume d'eau (L) : 10800
  - Eau de javel (L) : 1
  - Nombre de sac : 50 de 25 Kg
  - Capacité (m<sup>3</sup>) : 15

**3- Stockage des sels dilués :**

A l'aide d'une pompe ,le mélange préparé passe vers la station de stockage.

**4- Distribution :**

Les cuves de stockage sont liées aux fermenteurs pour leur alimentation. Le contrôle de la quantité se fait par un débitmètre.

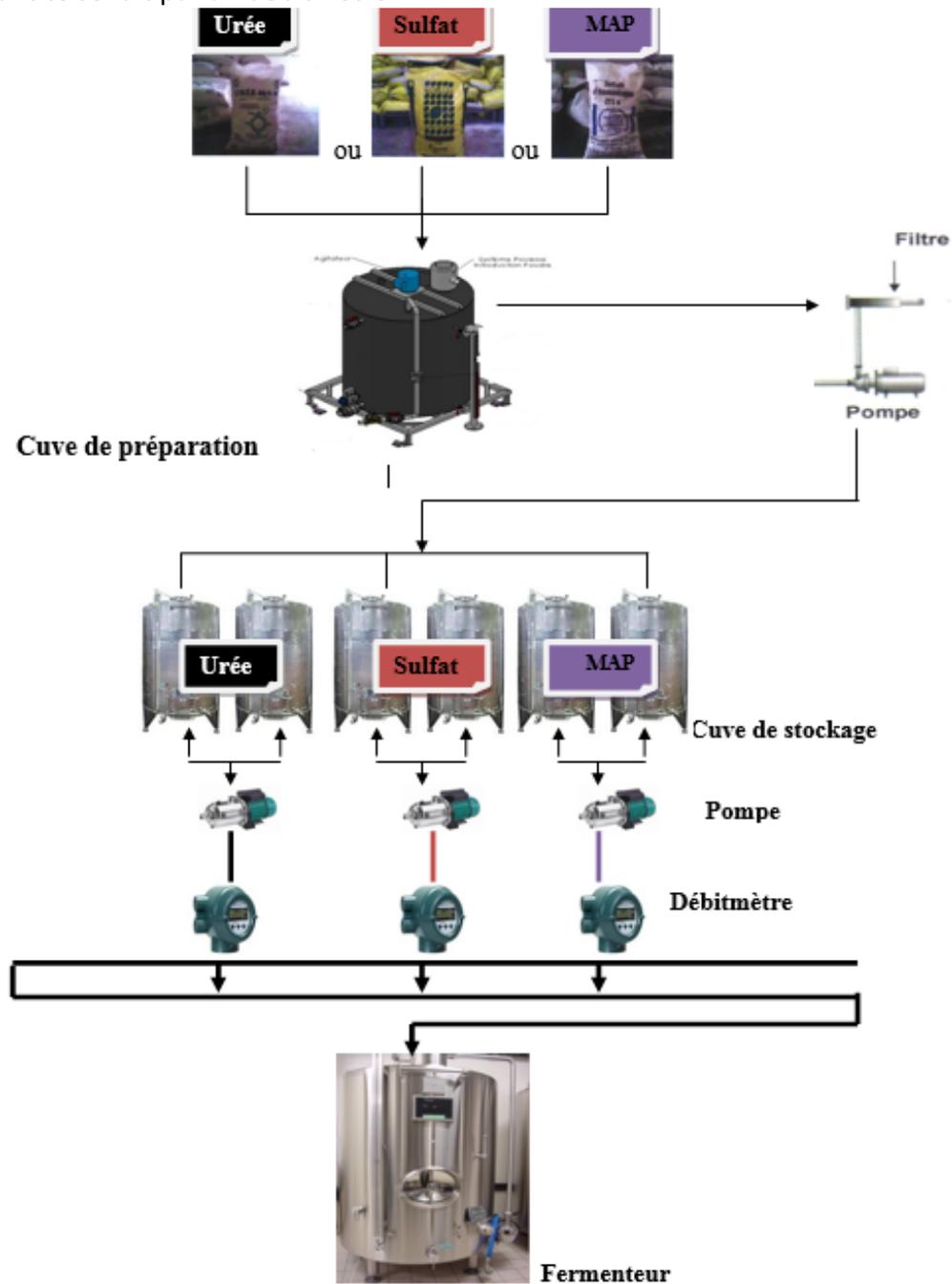


Fig 6 : Schéma du circuit de préparation des sels nutritifs

# Matériel et plan de nettoyage

## I Matériel :

### 1 - Bac de préparation :

Le bac de préparation des sels se compose :

- D'une cuve isolée de type inox.
- D'un cube intérieur qui présente une bonne conductibilité, solide, indéformable.
- La forme ainsi que le fond de la cuve est conçue de façon que l'écoulement des liquides par la vanne de vidange disposé en un point bas se fasse complètement et rapidement.
- D'un agitateur assurant la solubilisation des sels dans l'eau.



Fig 7 : Bac de préparation

### 2 – Pompe :

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



Fig 8 : Pompe

### 3 – Filtre :

Le filtre est un cylindre au travers de laquelle passe le produit afin de le purifier, améliorer la clarté, stabiliser la limpidité.



Fig 9 : Filtre

### 4 – Débitmètre

Appareil de contrôle, de mesure ou de réglage du débit, en volume ou en masse, d'un fluide, d'un liquide ou d'un gaz s'écoulant à l'air libre ou dans une canalisation.



Fig 10 : Débitmètre

## 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

## Echantillonnage et analyse microbiologique

### 1 Echantillonnage :

Afin de vérifier si les sels nutritifs répondent aux normes comme une source de nutriments pour la production des levures, des échantillons ont été prélevés à partir de :

- Sels en poudre (les sacs).
- Station de stockage.
- Entrée du fermenteur (circuit).

On utilise comme matériel :

- Pissette contenant de l'alcool.
- Spatule stérile.
- Flacons en plastique stériles pour les sels en poudre.
- Flacons en verre stériles pour les sels dilués.

On suit le protocole suivant :

- Pour les sels en poudre : à l'aide de la spatule ,on prélève directement l'échantillon à partir du sac.
- Pour les sels dilués : on désinfecte le robinet avec de l'alcool puis on prélève l'échantillon.

## 2 Analyses microbiologiques :

### ➤ Recherche des coliformes :

- 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, possédant l'enzyme  $\beta$ -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35 °C afin de produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié.

- Milieu de culture :

La gélose lactosée au désoxycholate est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes dans les produits alimentaires. Ce milieu est également employé pour la différenciation et l'isolement des entérobactéries à partir des prélèvements biologiques.

- Incubation et lecture des résultats :

Les boîtes de pétri sont incubées à 37°C pendant 24 heures puis on fait le dénombrement des colonies rouges de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm.

### ➤ Recherche des bactéries totales :

- Définition :

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.

Il s'agit de l'ensemble des microorganismes capables de se multiplier en aérobiose à des températures optimales de croissance comprises entre +20°C et +45°C. Cette microflore peut comprendre des microorganismes pathogènes pour l'homme et l'animal mais aussi des microorganismes d'altération variable.

- Milieu de culture :

Gélose nutritive glucosée (pour éliminer les levures de cultures) qui est un milieu ordinaire.

- Incubation et lecture des résultats :

Les boîtes de pétri sont incubées à 30°C et on fait le dénombrement après 72h de culture

### ➤ Ensemencement :

Cette opération consiste à :

- Débarrasser la paillasse et à désinfecter avec de l'alcool.
- Régler le bec benzène pour avoir une flamme bleue : seule une zone de 15 cm 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.
- En 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.

# Résultats et discussion

Les résultats obtenus par l'analyse microbiologique des sels utilisés par LESSAFRE dans les différentes stations de préparations, sont présentés en UFC/mL pour les sels dilués et en UFC/g pour les sels en poudre selon la formule suivante :

$$C = \frac{\text{Nombre de colonies} \times F_d}{\text{Volumeensemencé}} \text{ Avec : } F_d = 10 ; \text{ Volumeensemencé} = 1\text{mL}$$

## 1- Urée :

Tableau 3 : la CB au niveau des étapes de préparations.

Germes		Urée					
		Bactéries totales			Coliformes totaux		
Station	Date	Sac	Stockage	Circuit	Sac	Stockage	Circuit
	22/04	10	0	0	0	0	0
	24/04	0	0	0	0	0	0
	27/04	0	0	0	0	0	0
	29/04	10	0	20	0	0	0
	04/05	0	0	0	0	0	0
	06/05	0	40	110	0	0	0
	08/05	0	0	0	0	0	0
	11/05	0	0	0	0	0	0
	15/05	0	0	0	0	0	0
	18/05	10	0	0	0	0	0

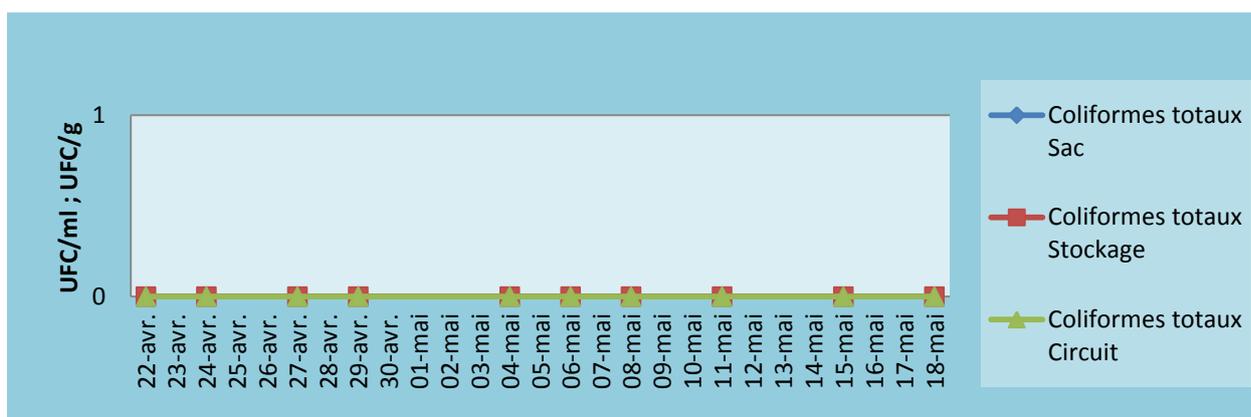
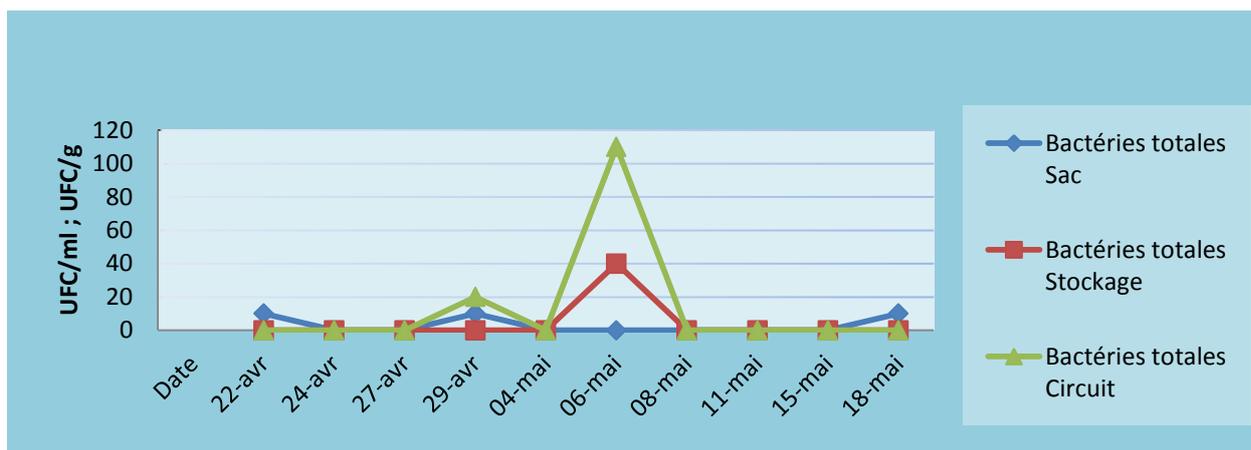


Fig 11 : la CB de l'urée en fonction du temps

Commentaire :

Tout d'abord le graphe montre une variation de la CB des bactéries totales au niveau des sacs et stockage et circuit, et absence totale des coliformes.

**2- MAP :**

Tableau 4 : la CB au niveau des étapes de préparations.

		MAP					
Germes	Station	Bactéries totales			Coliformes totaux		
		Sac	Stockage	Circuit	Sac	Stockage	Circuit
Date							
22/04		0	0	0	0	0	0
24/04		10	0	0	0	0	0
27/04		0	0	0	0	0	0
29/04		10	0	0	0	0	0
04/05		10	0	0	0	0	0
06/05		0	0	0	0	0	0
08/05		0	0	0	0	0	0
11/05		0	0	0	0	0	0
15/05		0	0	0	0	0	0
18/05		0	0	0	0	0	0

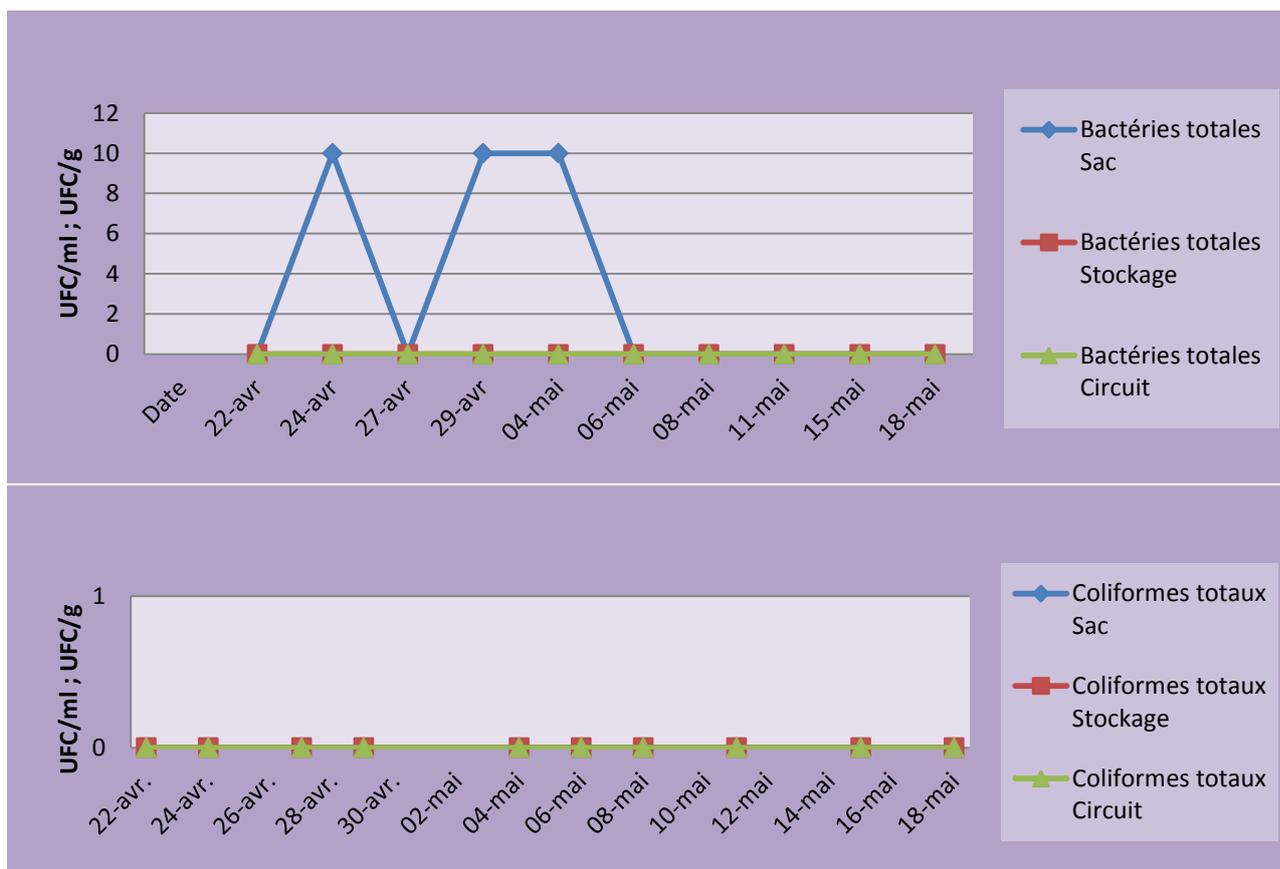


Fig 12 : la CB du MAP en fonction du temps

**Commentaire :**

On remarque l'absence des germes au niveau des différentes stations, mais on note une faible contamination par les bactéries totales au niveau des sacs.

**3- Sulfate d'ammonium :**

Tableau 5 : la CB au niveau des étapes de préparations.

Germes Station Date	Sulfate d'ammonium					
	Bactéries totales			Coliformes totaux		
	Sac	Stockage	Circuit	Sac	Stockage	Circuit
22/04	0	0	0	0	0	0
24/04	40	760	0	0	0	0
27/04	20	10	0	0	0	0
29/04	20	1440	10	0	0	0
04/05	10	0	0	0	0	0
06/05	0	1370	3810	0	0	0
08/05	50	560	3520	0	0	0
11/05	0	4800	890	0	0	0
15/05	0	0	0	0	0	0
18/05	0	0	0	0	0	0

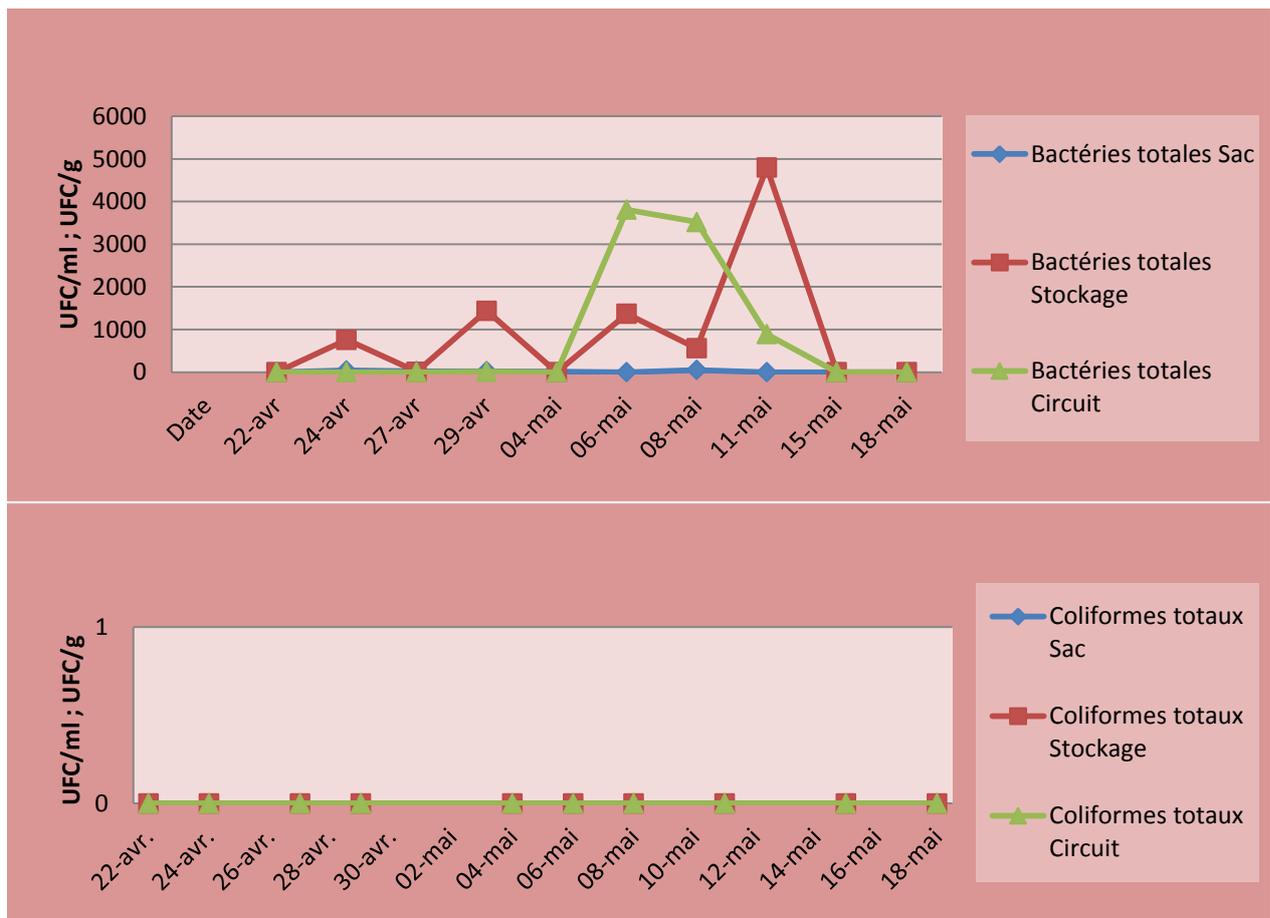


Fig 13 : la CB du SA en fonction du temps .

Commentaire :

On constate une variation de la CB des bactéries totales au niveau du stockage et du circuit, et absence des coliformes dans les différentes stations.

Interprétation :

D'après les tableaux et les graphes, on remarque que la plupart des résultats montrent l'absence des germes recherchés au cours de la période d'analyse, cela revient au bon nettoyage des cuves et du respect du plan de contrôles des sels nutritifs.

Mais ceci n'empêche pas la présence de quelques germes qui peuvent être dû à :

- Un mauvais prélèvement.
- Une mauvaise manipulation.
- Un mauvais nettoyage (produit de nettoyage).
- Un mauvais traitement par chloration.
- Les doses de chlore ne sont pas respectées.

## CONCLUSION

Les résultats obtenus, ont été satisfaisantes, du moment qu'ils étaient, compatibles et vérifiés, suite aux analyses et confrontations, faites dans les laboratoires de LESAFFRE. L'absence des germes recherchés au cours de la période d'analyse, revient au bon nettoyage des cuves et du respect du plan de contrôle des sels nutritifs.

Mon cursus universitaire, de licence en Bioprocédé , Hygiène et Sécurité Alimentaire, vient d'être clôturé, en cette dernière étape, par l'accomplissement de mon stage dans les Labos de l'usine LESAFFRE. Il s'est déroulé sur 1 mois et demi, durant lequel, j'ai pu mettre en pratique mes connaissances théoriques acquises le long de ma formation académique.

La réussite de mon stage, repose d'une part , sur mon intégration au sein de l'entreprise, dont j'ai manifesté un bon relationnel, et d'autre part , sur les bonnes conditions du travail, la disponibilité et le sérieux manifeste de mon encadrant, ainsi que la richesse des labos LESAFFRE en équipement et matériel.

Cette expérience de stage m'a offert, l'opportunité de confronter la théorie avec la pratique dans la production de la levure : source de toute innovation.

# **REFERENCES**

## **Ouvrages**

- VERNES-BOURDAIS.(E), Microbiologie et qualité dans les industries agroalimentaires, Paris, Biosciences et technologies, 2002, 248 p.
- LARPENT. (J), Biotechnologie des levures, collectif, Paris, Biotechnologie, 426 P.
- GUIRAUD. (J), Microbiologie alimentaire, Paris, Dunod, 652 P.

## **WEBOGRAPHIE**

- Process de fabrication des levures par les biotechnologies. <http://www.lesaffrehumancare.fr/nous-connaître/levures-et-biotechnologies/process-de-fabrication.html> (Visité le 06 Mai 2015)
- Production de la levure de panification par biotechnologie - La levure *Saccharomyces cerevisiae*. Annie LOÏEZ. <http://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire> (Visité le 01 Mai 2015)
- LES LEVURES. [http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p235/UElevurepart1.pdf\\_.PDF](http://biologie.univ-mrs.fr/upload/p235/UElevurepart1.pdf_.PDF) (Visité le 11 Mai 2015)

## **RPPORT DE STAGE**

- Rapports de stage de fin d'étude, FST de FES : -MZOURI Rhizlane : 2013/2014  
-ARHERLOU Samya : 2011/2012

**Résumé du Rapport du Projet de Fin d'Etudes**  
**Bioprocédé, hygiène et sécurité alimentaire**

*Sous le thème*

**SUIVI MICROBIOLOGIQUE DE LA PREPARATION DES  
SELS NUTRITIFS DEPUIS LES SACS JUSQU'AUX  
FERMENTEURS**

*Réalisé par :*

**BENDAHOU Mohammed Amine**

*Année universitaire 2014-2015*

## PLAN :

Partie bibliographique :

- I Généralité sur la levure
- II Chaîne de production
- III Définition des Sels nutritifs
- VI Différentes étapes de préparations des Sels nutritifs

Partie expérimentale :

- I Echantillonnage et analyses microbiologiques
  - II Résultats et Interprétation
- 

Partie bibliographique :

### I Généralité sur la levure :

Champignon Microscopique Unicellulaire Taille : 6 à 50 microns. Forme : sphérique, ovale...  
Eucaryote Immobiles

### II Chaîne de production :

- 1 Préparation de la mélasse
- 2 Ensemencements
- 3 Fermenteurs de 800 L
- 4 Pré-fermenteur
- 5 Fermentation
- 6 Séparation
- 7 Stockages de la crème
- 8 Filtration
- 9 Séchage
- 10 Emballage

### III Définition des Sels nutritifs :

Les sels nutritifs sont définis comme étant des engrais azotés et phosphatés utilisés pour répondre aux exigences nutritionnelles imposées par la croissance et la multiplication des cellules

### VI Différentes étapes de préparations des Sels nutritifs :

- 1-Stockage des sels
- 2-Dilution et chloration
- 3-Stockage des sels dilués
- 4-Distribution

Partie expérimentale :

### I Echantillonnage et analyses microbiologiques :

Afin de vérifier si les sels nutritifs répondent aux normes comme une source de nutriments pour la production des levures, des échantillons ont été prélevés à partir de :

- Les sacs.
- La station de stockage.
- Le circuit

Après le prélèvement on passe au laboratoire pour la recherche des bactéries et des coliformes .

### II Résultats et Interprétation :

la plupart des résultats montrent l'absence des germes recherchés au cours de la période d'analyse, cela revient au bon nettoyage des cuves et du respect du plan de contrôles des sels nutritifs.

Mais ceci n'empêche pas la présence de quelques germes qui peuvent être dû à :

- Un mauvais prélèvement.
- Une mauvaise manipulation.
- Un mauvais nettoyage (produit de nettoyage).
- Un mauvais traitement par chloration.
- Les doses de chlore ne sont pas respectées.