



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»

(LST-BVPR)

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

Présenté par : SKIREDJ GHITA

Soutenu le : 08/06/2016

Devant le jury composé de :

- *Pr RACHIQ SAAD : Encadrant pédagogique*
- *Pr TAHRI JOUTEI MOHAMMED ALI : Jury*
- *Mr EL HARTI AMINE : Encadrant à COSUMAR*

Stage effectué à : COSUMAR
Année Universitaire : 2015-2016



DEDICACE

A mes chers parents, A qui je dois tout, et pour qui aucune dédicace ne saurait exprimer mon amour infini, ma gratitude, ni mon éternelle reconnaissance pour l'ampleur des sacrifices consentis pour mon éducation et mon bien être.

Ma réussite est le fruit de votre dévouement.

Je souhaite en ce jour vous apporter la joie de voir aboutir vos espoirs et vos rêves.

A ma sœur, pour son amour, son soutien sans limite et son grand cœur.

A tous mes collègues, en souvenir des joies et difficultés que nous avons partagés, je vous souhaite beaucoup de bonheur dans votre vie professionnelle.

A tout le personnel des laboratoires de COSUMAR et de la faculté.

A toute ma famille, en témoignage de mon respect et mon estime envers vous.



REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Mr.El Harti.A, qui m'a accordé ce stage de fin d'études au sein de la compagnie COSUMAR. Permettez-moi de vous exprimer, dans ce travail, ma très grande estime.

Je souhaite exprimer mon profond respect et ma sincère gratitude à Pr.Rachiq.S qui m'a si bien encouragé, soutenu et aidé à accomplir mon projet de fin d'études.

Que mon rapport puisse combler vos attentes.

Sa rigueur scientifique, son large expérience et ses qualités humaines m'ont été d'une très grande utilité tout au long de mon parcours.

J'aimerai également remercier Pr.Tahri.M, qui a fait preuve de beaucoup de patience et gentillesse en participant à ce jury.

J'espère témoigner bientôt sur le terrain professionnel l'efficacité de vos méthodes et la qualité de l'enseignement reçu.

DEDICACE

REMERCIEMENTS

SOMMAIRE

	<i>Page</i>
Introduction	9
I. Présentation de l'entreprise d'accueil	
1. Présentation de COSUMAR	9
1.1. Historique	10
2. Présentation de la COSUMAR SA de Casablanca	11
2.1. La raffinerie de Casablanca	12
2.2. Processus de raffinage	13
+Stockage	13
+Affinage	14
+Epuration	14
• Fonte du sucre affiné.....	14
• Carbonatation.....	14
+Filtration.....	15
+Décoloration	15
+Evaporation	15
+Cristallisation	15
+Conditionnement	15
II. Généralités sur les bactéries influençant le rendement du sucre	
1. Les différentes bactéries	15
1.1. <i>Mésophiles</i>	15
1.2. <i>Leuconostoc</i>	16
1.3. <i>Thermophiles</i>	17
2. Norme usage bactériologique à la COSUMAR.....	18
3 .Dénombrement des bactéries	18
3.1. Aspect de bactéries <i>mésophiles</i>	18
3.2. Aspect des <i>leuconostoc mesenteroides</i>	19
3.3. Aspect de bactéries <i>thermophiles</i>	19

III. Etude des bactéries au sein du laboratoire

+Objet.....	20
+Domaine d'application	20
+Principe de la méthode	21
1. Matériel et méthodes	21
1.1. Matériel.....	21
1.1.1. Appareillage et verrerie	21
1.1.2. Diluant, milieu de culture, réactive et autre produits	21
1.2 .Méthodes.....	21
1.2.1. Echantillonnage	21
1.2.2. Inoculation et incubation	22

IV. Test de validation du biocide (Bisulfite d'ammonium 70%)

+Objectif du travail.....	23
1. Descriptif du protocole de validation	23
2. Résultats et discussion	25
CONCLUSION	26
REFERENCES CITEES	27



LISTE D'ABREVIATION:

CEFT: Corps Evaporator Flow Tomb

CGEM: Confédération Générale des Entreprises du Maroc

COSUMAR: Compagnie Sucrière Marocaine et de Raffinage

EDS: Eau Distillée Stérile

FAO: Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

L: *Leuconostoc*

ONA: Omnium Nord-Africain

p.p.m: Partie Par Million

SA: Société Anonyme

SNI: Société Nationale d'Investissement

UFC: Unité Formant de Colonies



LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : Historique du groupe COSUMAR.....	10
FIGURE 2 : Différentes produits de COSUMAR SA	12
FIGURE 3 : Processus de raffinage du sucre brut.....	13
FIGURE 4 : Silo de stockage.....	14
FIGURE 5 : Image microscopique de bactéries des <i>mésophiles</i>	16
FIGURE 6 : Image microscopique des <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	17
FIGURE 7 : Image microscopique de bactéries <i>thermophiles</i>	18
FIGURE 8 : Image des colonies de bactéries <i>mésophiles</i>	19
FIGURE 9 : Image des colonies des <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	19
FIGURE 10 : Image des colonies de bactéries <i>thermophiles</i>	20

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Norme bactériologique utilisée à COSUMAR	18
Tableau 2 : Concentration de biocide ajouté aux huit dilutions.....	24
Tableau 3 : Comptage obtenu après l'ajout des différentes concentrations de biocide .	24

INTRODUCTION

Le sucre est un hydrate de carbone, composé de carbone, d'hydrogène et d'oxygène.

L'homme consomme principalement le saccharose (sucre de table) et le fructose (sucre converti se trouvant dans les fruits).

La contamination du sucre par les bactéries peut être à l'origine des pertes indéterminées.

Il existe divers végétaux d'où on extrait le sucre mais les principales plantes saccharifères sont :



BETTERAVE SUCRIERE



CANNE A SUCRE

- la betterave sucrière

Appelée aussi *Beta vulgaris*, appartenant à la famille des *chénopodiacées*, la betterave est de couleur blanche et particulièrement enterrée, elle est cultivée pour ses racines riches en saccharose.

La betterave est une plante bisannuelle, c'est-à-dire que la première année correspond à la phase de culture (morphologique) et la deuxième année à la phase de floraison.

- la canne à sucre

C'est une plante vivace de la famille des Poacées et du genre *saccharum*. Elles sont cultivées pour leur tige. Cette dernière renferme un taux élevé en sucre. Son aspect général rappelle celui du maïs ou du roseau, sa hauteur peut atteindre 6m,



des tiges d'un diamètre 1,5 à 6cm, des feuilles alternes et une inflorescence sous forme de panicule. La canne est généralement coupée avant floraison.

Son aire de culture se trouve dans les régions tropicales et subtropicales apportant chaleur et forte humidité pour la croissance.

Le raffinage est un processus important pour extraire le sucre, qui passe par plusieurs étapes. Les bactéries (*mésophiles*, *leuconostoc mesenteroides* et *thermophiles*) influencent par colonisation et dégradation en réduisant le rendement du sucre.

Pour empêcher la contamination, il faut souvent utiliser des antiseptiques, contrôler l'état sanitaire de l'usine et bien évidemment utilisé un biocide au niveau des bacs.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est d'aboutir à une diminution de la charge bactérienne présente dans le produit intermédiaire de la production du sucre, en utilisant un biocide.

Pour cela j'ai procédé comme suit :

D'abord, j'ai fait une étude globale sur les bactéries présentes au niveau de ce produit, ensuite j'ai déterminé la dose optimale et maximale du biocide utilisé.

I. Présentation de la société d'accueil

1. Présentation de la COSUMAR

Groupe COSUMAR (Compagnie Sucrière Marocaine et de Raffinage) est une entreprise leader sur le marché national du sucre, COSUMAR est le 4ème opérateur sucrier du continent africain. Il a développé un modèle économique équilibré et résilient reposant sur une activité d'extraction du sucre à partir de la betterave et de la canne à sucre et une activité de raffinage du sucre brut importé. Ce modèle permet ainsi au Groupe COSUMAR de satisfaire continuellement les besoins croissants du marché marocain en bénéficiant d'une capacité de raffinage comme variable d'ajustement en cas d'aléas climatiques défavorables pouvant affecter l'amont agricole national.



Le Groupe COSUMAR dispose en effet d'une capacité moderne de production de 1,65 millions de tonnes de sucre, répartie entre 1 million de tonnes pour la raffinerie de Casablanca et 0,65 millions de tonnes pour les sucreries.

1.1. Historique

L'historique du groupe ainsi que les principales étapes de développement de La COSUMAR se présentent comme suit :

1929	Création de Cosuma par la société Saint Louis de Marseille.
1967	Cosuma devient Cosumar suite à l'acquisition de 50% du capital de la société par l'Etat marocain.
1985	Prise de contrôle du capital de la société par le groupe ONA. Introduction en Bourse.
1993	Fusion absorption des sucreries de Zemamra et de Sidi Bennour (sucreries des Doukkala) par COSUMAR.
2003	Lancement de la démarche QSE. Certification des sucreries des Doukkalas ISO 9001 V2000 par l'organisme AFAQ
2005	Acquisition des 4 sociétés sucrières publiques : SUTA, SURAC, SUNABEL et SUCRAFOR, à l'issue d'un processus de privatisation conduit par l'Etat.
2006	Mise en œuvre du plan d'intégration et de développement des sucreries acquises dans le cadre du programme « INDIMAGE 2012 ». Début du processus de modernisation et de mise à niveau de l'outil industriel.
2007	Lancement du projet de modernisation et d'extension de la raffinerie de Casablanca
2008	Création de SUCRUNION. Signature contrat Programme Etat-FIMASUCRE.
2009	Obtention du prix FAO par le groupe Cosumar pour son rôle d'agrégation.

2011	Obtention du Label RSE CGEM par Surac et Cosumar SA.
2012	Obtention du Label RSE CGEM par Sucrafor, Sunabel et Suta
2013	Cession de 27,5% du capital de Cosumar détenu par SNI au Groupe Wilmar qui devient l'actionnaire industriel de référence.
2014	Cession de 15,2% du capital de Cosumar détenu par SNI à un consortium d'Investisseurs Institutionnels marocains. Suite à ces opérations de cession, les Investisseurs Institutionnels détiennent 26,5% du capital et des droits de vote de Cosumar et forment, avec Wilmar Sugar Holdings Pte. Ltd, un bloc commun de contrôle de 54,0% du capital et des droits de vote de Cosumar et ce, en vertu d'un pacte d'actionnaires.

[Figure 1 : L'historique du groupe COSUMAR](#)

2. Présentation de COSUMAR SA de Casablanca

2.1. La raffinerie de Casablanca

Le groupe COSUMAR dispose 5 filiales sucrières y compris la seule raffinerie de Casablanca. Cette usine s'occupe du raffinage de sucre brut et de son conditionnement de ce sucre sous différentes formes :



Le pain de sucre

Associé à des moments forts de la vie du marocain, le pain de sucre est servi lors de la cérémonie traditionnelle du thé mais également donné comme offrandes lors d'évènements comme le pèlerinage, les mariages et les naissances. Longtemps, cette forme s'est confondue avec le sucre.



Le Morceau

Le morceau de sucre est la forme moulée la plus connue dans le monde. Commercialisé en boîte de 1 kg et en fardeau de 5 kg, il est utilisé le plus souvent dans le café.



Le Lingot

Forme inventée par COSUMAR dans les années 70, le lingot est utilisé pour préparer le thé à la menthe mais également le café (préparation à la manière traditionnelle). Il est commercialisé en boîte de 1 kg et en fardeaux de 5 kg.



Le Granulé

Forme utilisée par les industriels comme par les ménages, le granulé est commercialisé en sachet de 1 kg et 2 kg regroupé par 6, 12 ou 15 et sac de 50 kg s'adaptant ainsi à chaque installation de réception et de stockage des clients utilisateurs.

[Figure 2 : Les différents produits de la COSUMAR](#)

2.2. Processus de raffinage du sucre brut

Le processus de raffinage du sucre brut se présente comme suit :

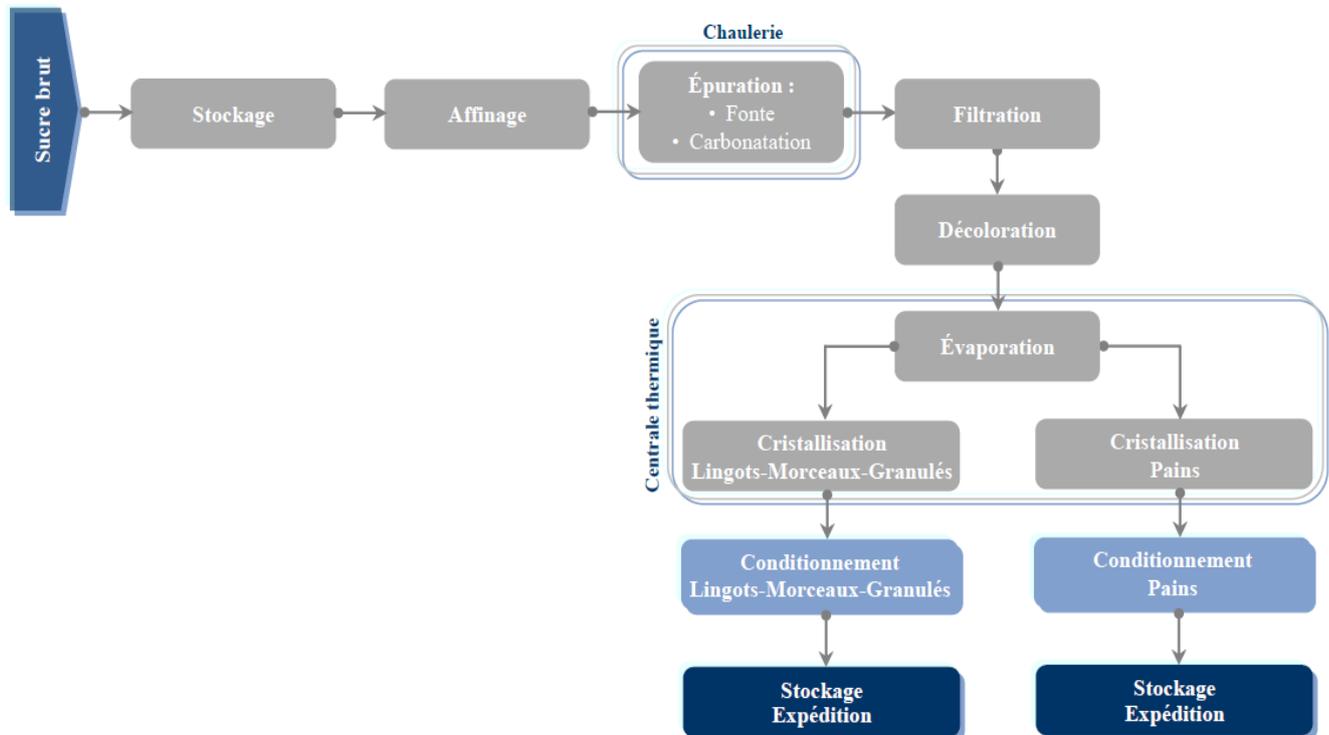


Figure 3 : Processus de raffinage du sucre brut

Le raffinage est le procédé qui permet d'obtenir à partir d'un sucre brut (mélange de saccharose et non sucrés) un sucre raffiné de haute pureté.

La matière première sous forme de sucre brute, passe par de nombreuses étapes, les étapes sont liées et dépendent l'une de l'autre.

+ Stockage

La matière première des raffineries est à base de sucre brut. La COSUMAR importe 55% du sucre, alors que 45% de sa consommation est locale. La quantité importée est traitée à la raffinerie de Casablanca.

Une fois arrivé, le sucre brut passe par des bandes transporteuses vers deux silos de stockage dont la capacité de chacun est : 75000 tonnes.

Le contrôle du poids du sucre traité se fait par un pesage à l'aide d'une balance dynamique. Ensuite, le sucre brut est transféré vers le raffinage à l'aide des bandes transporteuses en passant par un aimant pour éliminer les métaux ferreux, puis par un tamis vibreur afin d'isoler les grosses impuretés.



[Figure 4 : Silo de stockage](#)

+Affinage

C'est la première opération que subit le sucre brut afin d'éliminer les impuretés externes.

+Epuration

- Fonte du sucre affiné

La dissolution du sucre affiné afin de défaire le système cristallin pour pouvoir attaquer ses impuretés.

Cette opération s'effectue dans des fondoirs où le sucre est mélangé avec les eaux sucrées sous-saturées qui ne contiennent pas de sels minéraux solubles (qui risquent d'augmenter la concentration de la fonte en cendres).

- Carbonatation

Cette opération est effectuée dans le but d'enlever les impuretés internes existantes dans le sirop provenant de la fonte. Elle est réalisée par l'addition d'un lait de chaux au sirop, où on fait barboter du CO₂ issu de la fumée des chaudières de la centrale thermique. Cette opération assure une décoloration jusqu'à 60%.



+Filtration

Cette étape permet l'élimination du reste des impuretés internes qui ne sont pas précipités lors de la carbonatation à l'aide de filtres.

+Décoloration

Cette étape consiste à enlever les colorants. À COSUMAR le procédé utilisé est la décoloration sur résine.

+Evaporation

Cette opération consiste à évaporer, par réchauffage, l'eau contenue dans sirop sortant de la filtration. Ceci s'effectue dans des chaudières CEFT (Corps Evaporator Flow Tomb).

Ces dernières sont alimentées par la vapeur provenant du bouilleur, appareil producteur de la vapeur, lui-même alimenté par la vapeur d'échappement issue des turboalternateurs ou celle provenant directement des chaudières.

+Cristallisation

Cette étape permet de remettre sous forme solide le sucre affiné et épuré par formation de cristaux. Elle se fait dans des cuites et permet alors d'enlever une grande partie de l'eau, et d'extraire le saccharose.

+Le conditionnement

COSUMAR dispose de trois stations de conditionnement, selon le produit fini désiré. Les stations du sucre granulé, sucre moulé, la station des pains turbinés et station des pains.

II. Généralités sur les bactéries influençant le rendement du sucre

1. Les différentes bactéries

1.1. Mésophiles

Un organisme *mésophile* qualifie des organismes qui se développent le mieux à des températures modérées variant entre 25 et 40°C, et se dit d'un organisme qui ne

peut vivre que dans les milieux où les facteurs écologiques ne prennent pas de valeurs extrêmes.(Willey, Joanne M, 2008)

Le milieu de culture le plus favorable est la gélose nutritive. Cette dernière permet la culture des *mésophiles*, et offre aux germes une source de vitamines, de sels essentiels et des composés azotés.

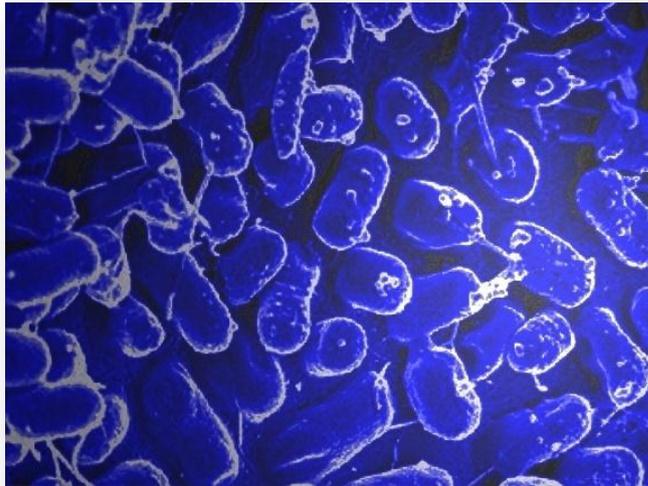


Figure 5 : Image microscopique de bactéries des *mésophiles*

1.2. *Leuconostoques*

Ce sont des bactéries lactique *mésophiles* des genres *leuconostoc* à gram positif. Elles se multiplient à des températures variant de 10 à 35°C avec un optimum allant de 20 à 30°C les valeurs de pH optimale de croissance sont généralement comprises entre 6 et 6,5 pour les *leuconostoc* (George Corrieu, François-Marie luquet,2008).

Leuconostocs mesenteroides sont les premiers à apparaître et sont rapidement développé en *lactobacillus brevis* et *lactobacillus plantarum* qui ont dominé et terminé la fermentation (Martin dworkin, stanleyfalkow).

L. mesenteroide synthétise des dextranses à partir de saccharose et a donc son importance dans la production industrielle de dextrane. Des espèces de *leuconostoc* sont impliquées dans la détérioration des aliments, elles tolèrent des concentrations élevées en sucre, de sorte qu'elles peuvent croître dans les sirops et constitue un

problème majeur pour les raffineries du sucre (Lansing M. Prescott, Linda M. Sherwood, Christopher J. Woolverton, 2010)

Le milieu de culture le plus favorable est celui de la gélose de Mailleux, Sandine et Elliker.

C'est ainsi que cette bactérie est la plus abondante au niveau de la betterave sucrière et de la canne à sucre transformant ainsi le saccharose en dextrane.



Figure 6 : Image microscopique des *leuconostocs mesenteroides*

1.3. Thermophiles

Les organismes *thermophiles* ont besoin d'une température élevée pour survivre. Certains microorganismes sont des *thermophiles* : ils peuvent se développer à des températures de 55°C ou plus. Leur minimum est situé autour de 45°C, avec des optimums entre 55 et 65°C. (Lansing M. Prescott, Linda M. Sherwood, Christopher J. Woolverton - 2010)

Le milieu de culture est le dextrose tryptone agar. Ce dernier, contient la tryptone pentone qui constitue une source de carbone et d'azote. Le dextrose est principalement une source de glucide, l'agar est l'agent de solidification.

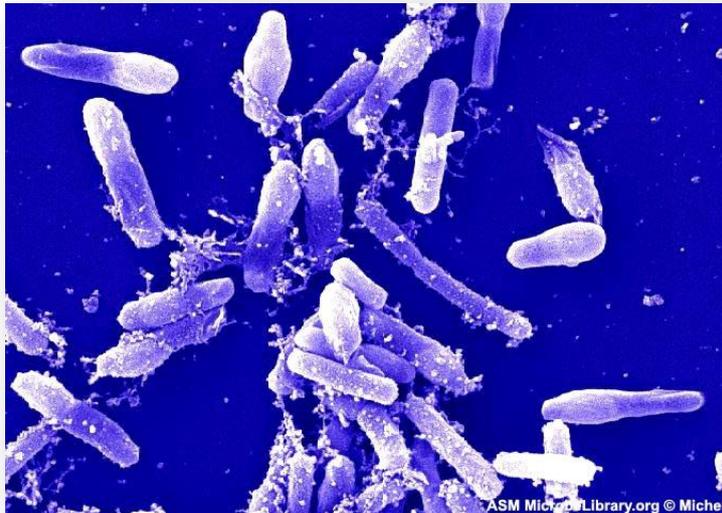


Figure 7 : Image microscopique de bactéries *thermophiles*

2. Norme usage bactériologique à la COSUMAR

Les normes sont établies par l'association nationale des producteurs de cannes par P.Devillers 20/04/1959 à la faculté de pharmacie

Bactéries	UFC normes pour 10g de produit	Milieux de cultures
<i>Mésophiles totaux</i>	<200	Gélose nutritive
<i>Leuconostoc (mesenteroides)</i>	0	Milieu Mailleux
<i>Thermophiles</i>	<75	Dextrose tryptone agar

Tableau 1 : Norme bactériologique utilisées à COSUMAR

3. Dénombrement des bactéries

On utilise un appareil appelé compteur de colonies alimenté d'une lumière et d'une loupe. La loupe servira à agrandir les colonies durant le comptage

3.1. Aspect des *mésophiles*

Aspect de colonie des mésophiles :



FIGURE 8 : Aspect des colonies de bactéries mésophiles

Petites et moyennes de taille de couleur blanche

3.2. Aspect des *Leuconostoc mesenteroides*

Aspect de colonie des *Leuconostoc mesenteroides*

Présence de colonies incolores muqueuses et élastiques.



FIGURE 9 : Image des colonies des *Leuconostoc mesenteroides*

3.3. Aspect des *thermophiles*

Aspect de colonie des *thermophiles* :

Des colonies entourées d'un halo jaune sont des acidophiles et bleu des basophiles.

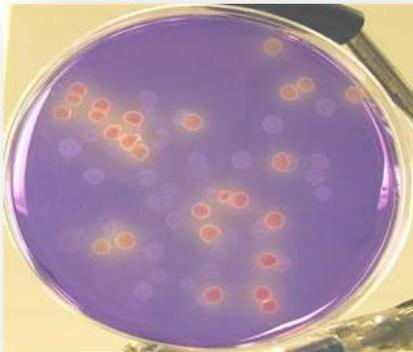


FIGURE 10 : Image des colonies des thermophiles

III. Etude des bactéries au sein du laboratoire

Les analyses bactériologiques ont pour but :

- de détecter la présence des bactéries susceptibles de causer des ennuis au niveau du stockage, fabrication et conditionnement du sucre.
 - la détermination quantitative et qualitative des différentes espèces bactériennes.
- Afin de minimiser les pertes de sucre (dégradation du saccharose) due à la présence des microorganismes, on procède à :

- ✓ la désinfection par ajout d'un désinfectant ;
- ✓ au nettoyage des bacs ;
- ✓ au contrôle des bouches d'égout et au stockage du sucre brut à une température moyenne (20 à 25°C) tout au long de l'année afin d'éviter sa dégradation.

+Objet

Détermination des bactéries contenues dans le produit intermédiaire par la méthode d'ensemencement par incorporation.

+Domaine d'application

Produit intermédiaire du sucre.



+Principe de la méthode

La méthode de plaque versée.

Les boites de pétri sont préparées en utilisant un milieu de culture sélectif spécifique.

Les solutions de l'échantillon sont mélangées avec le milieu liquide sélectif dans des boites de Pétri, puis incubées quand les milieux seront solidifiés.

1.Materiel et méthodes

1.1. Matériel

1.1.1. Appareillage et verrerie

- Erlenmeyer
- Pipettes graduées 1mL,5mL et 10mL (pour les dilutions)
- Boites de pétri (90 - 100mm)de diamètre stérile en verre
- Bécher
- Balance
- Autoclave (122°C)
- Etuve
- Bain marie ou appareil similaire 47 +-1°C
- Bec benzène
- Compteur de colonies
- Incubateur (30°C)

1.1.2. Diluant, milieu de culture, réactifs et autres produits

- Eau distillée stérile: autoclavée à 121°C pendant 15min
- Milieu de culture
 - + Milieu Mailleux (pour l'isolement des *leuconostocs*)
 - +Agar nutritif(pour l'isolement des *mésophiles totaux*)
 - +Glucose tryptone Agar(pour l'isolement des *thermophiles*)



1.2. Méthodes

1.2.1. Echantillonnage

L'échantillon analysé provient du bac de fonte du rejet sinex,

L'échantillon est dilué à des proportions V/V, pour l'obtention de 10g de sucre.

A l'aide d'un réfractomètre on obtient la masse volumique de la matière sèche se trouvant dans les 100g de sucre qui est égale à 40,6%.

100g durejet sinex —————→ 40,6% de brix

X —————→ 10g de matière sèche

Prise d'essai : $X = (10 \cdot 100) / 40,6$

$$\Rightarrow X = 24,6g$$

On introduit aseptiquement 24,6g de l'échantillon à analyser dans chacun des deux erlens, on complète ensuite jusqu'à 100ml avec de l'eau distillée stérile, puis on procède à une homogénéisation pour dissoudre la solution du produit intermédiaire.

1.2.2. Inoculation et incubation

1ml de la solution initiale est mise dans deux boîtes de pétri stériles, ensuite 15ml du milieu de culture froid sont ajoutés dans chacune des deux boîtes. Après homogénéisation, les boîtes sont inversées et incubées pendant 48 heures.

Une boîte témoin contenant seulement le milieu d'ensemencement pour vérifier la stérilité est préparée et incubée dans les mêmes conditions que l'essai.

L'azide de sodium est ajouté seulement au milieu des *Leuconostoc mesenteroides* pour favoriser leur développement.

3,5 d'azide de sodium —————→ 500ml

X —————→ 100ml

$$\Rightarrow X = 0,7ml$$

0,7 ml d'azide de sodium sera ajouté au milieu Mailleux.



IV. Test de validation du biocide

+Objectif du travail

Ce travail a pour objectif de

- contrôler l'efficacité du biocide afin de déterminer la dose optimale et de;
- déterminer la limite de dosage d'efficacité maximal au-delà de laquelle le biocide n'a pas d'effet (Dose optimale).

1. Descriptif du protocole de validation

On procède d'abord à la détermination de la charge microbienne initiale. Ensuite on prépare huit échantillons pour 10g du sucre ;

Afin de savoir si la dilution influence sur l'efficacité du produit, nous avons préparé une série de dilutions (tab.2) :

Un p.p.m correspond à 1mg/kg

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.

1000mg \longrightarrow 1000ml

0,1mg \longrightarrow X

\Rightarrow X=0,1ml

Ajouter différentes concentrations de biocide allant de 10 à 320p.p.m ;

Faire le test de contrôle de charge selon la méthode habituelle (Ensemencement et incubation) ;

Déterminer la charge microbiologique de chaque échantillon (comptage) ;

Résultats et interprétations ;

Le tableau suivant présente les résultats de concentrations du biocide, ajoutées aux huit dilutions

Différentes concentrations du biocide	10 p.p.m	20 p.p.m	30 p.p.m	40 p.p.m	80 p.p.m	160 p.p.m	240 p.p.m	320 p.p.m
Quantité du biocide à ajouter	0,1ml	0,2ml	0,3ml	0,4ml	0,8ml	1,6ml	2,4ml	3,2ml

Tableau 2 : Concentration de biocide ajouté aux huit dilutions

Différentes concentrations de biocide à	<i>Mésophiles Totaux</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Thermophiles Sporulées</i>
Test témoin (0 p.p.m)	INCOMPTABLE	550	95
10 p.p.m	INCOMPTABLE	335	90
20 p.p.m	ICOMPTABLE	90	75
30 p.p.m	INCOMPTABLE	80	55
40 p.p.m	INCOMPTABLE	65	35
80 p.p.m	INCOMPTABLE	48	30
160 p.p.m	3050	8	29
240 p.p.m	680	0	28
320 p.p.m	270	0	22

Tableau 3 : comptage obtenu après l'ajout des différentes concentrations de biocide

Le dénombrement est obtenu grâce à l'équipement de comptage, ensuite cette subdivision m'entraîne à multiplier par 10 du facteur de dilution

$$UFC = (BP1 + BP2) / 2 * 10$$

Nombre de bactéries *thermophiles* exprimé en UFC des thermopiles = $[(84 + 26) / 2] * 10 = 550$ thermopiles/10g de Sucre.



Pour les bactéries *mésophiles* totaux, leur densité très élevée les a rendues incomptables.

Leuconostoc mesenteroides exprimés en UFC = $[(12+7)/2]*10 = 95$
L.mesentéroïdes/10g de sucre

On a remarqué que l'échantillon est infecté, car le nombre de germes obtenu par rapport à chaque bactérie est supérieur à celui cité dans les normes.

Ceci peut-être expliqué par :

- +Le taux élevé des charges bactériennes de départ que contient l'échantillon
- +Apparition non habituelles des bactéries dans l'échantillon.

Les résultats obtenus montre en effet qu'en augmentant la concentration du biocide on remarque la diminution de la densité bactérienne.

Sans le biocide, la densité exprimée en unité formant de colonies des trois bactéries est très élevée voir incomptable.

En injectant le biocide à différente concentration, on remarque la diminution des colonies : exemple, pour les *thermophiles* le nombre de colonies est passé de 335 UFC à 22 UFC, au niveau des *leuconostoc mesenteroides* on remarque la diminution des colonies de 90 jusqu'à 0 UFC.

Les *mésophiles totaux* passent d'une charge incomptable à 270 UFC.

D'après le tableau 3 on peut déduire que la dose optimale est de 240 p.p.m parce que le nombre de colonies restent constant.

A partir de 320 p.p.m le biocide n'a plus d'effet complémentaire car le nombre de colonies est pratiquement stable.

⇒ la dose optimale est alors à **240** p.p.m et au-delà de cette dose (**320** p.p.m) l'ajout du biocide est inutile.



CONCLUSION

Les analyses microbiologiques permettent de détecter clairement les contaminations bactériennes exprimées en *mésophiles totaux*, *leuconostoc mesentéroïde* et *thermophiles*.

Ces bactéries sont présentes avec des densités élevées au niveau du début du processus (l'affinage),

L'emploi du biocide, à une concentration de 240 p.p.m permet d'aboutir à des résultats satisfaisants en matière d'inhibition de cette flore bactérienne.

Ces bactéries sont toujours présentes dans le produit final mais à une quantité minimale équivalente aux normes validées par l'association nationale de la production de canne.

En effet, grâce à cette étude j'ai pu connaître l'efficacité du biocide qui a un effet bactéricide important en travaillant avec des concentrations plus élevées en ppm, et une limite du dosage pour pouvoir économiser le biocide.

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

En outre, j'ai appris à avoir des contacts avec le monde professionnel et d'échanger des informations.



REFERENCES CITEES

- Willey, Joanne M, Linda Sherwood, Christopher J, Woolverton, and Lansing M. Prescott. Prescott, Harley, and Klein's Microbiology. New York: McGraw-Hill Higher Education, 2008.Print.

- CORRIEU Georges, LUQUET François-Marie, Bactéries lactiques. De la génétique aux ferments - Page 533 ,2008

- Dworkin, Martin, Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, the Prokaryotes Vol. 1: Symbiotic Associations, Biotechnology, AppliedMicrobiology

- Lansing M. Prescott, Linda M. Sherwood, Christopher J. Woolverton Microbiologie - Page 583- 2010

- P.Devillers 'association nationale des producteurs de cannes' 1959 à la faculté de la pharmacie