TB
309

Université ibn tofail
Faculté des Sciences Kenitra
U.F.R. Biologie humaine et santé de la population

Mémoire de thèse

Présenté par : **Mr. SOBH Mohammed**
Pour l'obtention du diplôme de doctorat en sciences

Discipline : Biologie
Spécialité : Biotechnologie, Qualité Et Environnement

Sous le thème :

Mise au point d'une fermentation contrôlée pour la conservation biologique de l'artichaut et application de la norme BRC en ligne de production d'une industrie agro-alimentaire.

Soutenue le : 09 / 03 / 2013

Devant le jury :

Pr. Mohamed OUHSSINE	Faculté des sciences de Kenitra	Président
Pr. Rahma OKOUCHOUD	Ecole Normale Supérieure - Rabat	Rapporteur
Pr. Mohamed FADLI	Faculté des sciences de Kenitra	Rapporteur
Pr. Abdelaziz CHAOUCH	Faculté des sciences de Kenitra	Examinateur
Pr. Adil ECHCHELH	Faculté des sciences de Kenitra	Examinateur
Pr. Hasan OUDDA	Faculté des sciences de Kenitra	Directeur de thèse

RESUME

Le présent travail a fixé comme objectif l'obtention d'une conserve biologique d'artichaut. Pour l'atteindre, un levain a été recherché pour accomplir les actions de fermentation et de conservation.

A partir des procédés traditionnels de conservation, des souches ont été isolées de la saumure des produits fermentés. Trois sont avérés intéressantes. Elles ont un pouvoir acidifiant, fermentaire et inhibiteur élevé. Il s'agit de deux bactéries lactiques et une levure.

L'étude des paramètres de croissances et de caractérisation de chacune des trois souches susmentionnées a donné pour la bactérie lactique SMBL1 une croissance à température de 35°C, une diminution de pH à 3,74 ; une production d'acide de 1,22 ; une abondance microbienne après 24h d'incubation de 8.10^6 ufc/ml et une inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et d'*Escherichia coli* ATCC 25921. Pour la bactérie lactique SMBL2, nous avons noté : une croissance à température de 35°C ; une diminution de pH à 3,85 ; une production d'acidité de 1,21 ; une abondance microbienne après 24h d'incubation de 7.10^6 ufc/ml et une inhibition de la croissance de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Pour la levure SMLV1, il a été distingué par une croissance à température de 30°C ; une diminution de pH à 4,23; une production d'acide de 1,12 et une augmentation de l'abondance microbienne à 2.10^7 ufc/ml.

Les tests biochimiques utilisés pour l'identification des bactéries lactiques précitées, nous ont permis de statuer qu'elles appartiennent au genre (*Lactobacillus sp*). La levure quant à elle appartient au genre (*Candida sp)*.

Les trois souches sont combinées et utilisées pour orienter le sens de la fermentation contrôlée. Les résultats qui en découlent sont meilleurs en terme du temps de fermentation 30 jours, de réduction du pH 3,57 et de production d'acide 1,22, Ces résultats ne sont pas de même pour la fermentation traditionnelle.

Les résultats obtenus étaient encourageants et nous ont permis de réaliser des essais d'application. Nous avons examiné la possibilité de conservation biologique. Le traitement biologique accompagné de traitement thermique nous a permis d'obtenir une augmentation de la durée de vie des produits conservés dans des bocaux en verre. Les premièrs essais âgés de six mois sont encore stable et n'ont pas changé d'aspect ni de couleur. L'instauration d'un système de management de la sécurité des denrées alimentaires pourrait être une alternative.

Mots clés : Artichauts, Carottes, Olives, Fermentation traditionnelle, Fermentation contrôlée, *Candida sp, Lactobacillus sp*, Système de management de la sécurité des denrées alimentaire.

SOMMAIRE

Dédicace 2
Remerciements 3
Résumé 4
Summary 5
ملخص 6
Production scientifiques 7
Liste des abréviations 8
Liste des tableaux 9
Listes des figures 11
Liste des photos 12
Sommaire 13
Introduction générale 21
PARTIE I : Etude bibliographique 24
CHAPITRE 1 : Etude Bibliographique 25
I. Généralités 25
II. Provenance phylogénétique de la plante 25
III. Biologie de l'artichaut 26
1. La plante 26
2. Le cycle physiologique de la plante 28
3. La biologie florale 29
4. La pollinisation 30
5. La protandrie 31
6. La graine 31
7. Le style de diffusion de la plante 32
7.1 La multiplication par graines 33
7.2 La reproduction végétative 33
IV. Privilège de l'agriculture 34
1. Nourriture animale 34
2. Nourriture humaine 35
3. Caractéristiques curatives et thérapeutiques 36
3.1 Richesse enzymatique 39
4. Différents usage de l'artichaut 40
V. Artichauts dans le monde 41
VI. Artichauts au Maroc 43
1. Consommation et superficies de productions de l'artichaut 43
2. Les variétés cultivées 45
3. Les problèmes soulevés par la culture d'artichauts 45
3.1. Type de propagation de la plante 46
3.2. Aspects phytosanitaires 46
3.3. Les problèmes phytosanitaires 46
3.4. Les pesticides 47
3.4.1. Les avantages des pesticides 47

SOMMAIRE

3.4.2. Les inconvénients des pesticides 48
VII. Artichauts dans l'industrie 51
Réception 52
Préparation / trempage en solution acide 53
lavage / triage / coupe / conditionnement 54
Détecteur de métaux / palettisation / stockage en chambre négative 55
Expédition / Echantillonnage / alimentation en eau 56
lavage caisses et barquettes / Outil de travail / Hygiène 57
Nettoyage et désinfection / Gestion de l'environnement du travail / maintenance ... 58
Dératisation et insectisation / traçabilité / communication 59
VIII. Conservation chimique 60
1. La problématique des additifs alimentaire 61
IX. Le BIO 63
1. Conservation biologique 63
2. Agriculture biologique 64
2.1 L'agriculture biologique face au défi de la sécurité alimentaire 64
2.2 L'agriculture biologique sera t'elle en mesure de nourrir 66
notre population ?
2.3 L'agriculture biologique dans le monde 66
2.4 Disposition du bio au Maroc 67
2.4.1 Introduction 67
2.4.2 L'agriculture biologique au Maroc 68
2.4.3 Hétérogénéité des produits biologiques au Maroc 69
2.4.4 Effet économique et commerciale 70
2.4.5 Avantages des produits biologiques 71
2.4.6 Les réseaux commerciaux 71
2.4.7 Le marché national 72
2.4.8 Apparences agronomiques et techniques 73
2.4.9 Organisation du domaine 74
2.4.10 Les contraintes du domaine 75
2.4.11 Perspectives futures 76
2.4.12 Conclusion 77
X. Démarche de gestion de la qualité dans les entreprises agroalimentaires 77
1. Introduction 77
2. Global gap : les bonnes pratiques agricoles 78
3. British Retail Consortium (BRC) 79
4. International Food Standard (IFS) 82
5. Norme ISO 22000 VERSION 2005 84
6 Système HACCP 85
7. Norme ISO 9001 V 2008 87
8. Conclusion 88
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES 90
CHAPITRE I. Conduite technique et analytique des essais 91
de fermentation traditionnelle

SOMMAIRE

I. Préparatifs pré-analytiques 91
1. Mode de traitement des échantillons 91
2. Collecte 91
3. Préparation du matériel végétal 91
4. Préparation de la saumure 91
5. Démarrage de la fermentation 91
6. Réalisation de prélèvement 92
II. Analyses physicochimiques 92
1. Mesure de la température 92
2. Mesure du pH 92
3. Mesure de l'acidité 92
III. Analyses microbiologiques 93
1. Flore d'intérêt hygiénique 93
1.1 Dénombrement de la FMAT 93
1.2 Dénombrement des coliformes fécaux 93
2. Flore d'intérêt biotechnologique 93
2.1 Dénombrement des levures 93
2.2 Dénombrements des bactéries lactiques 94
IV. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques 94
1. Isolement et purification 94
2. Conservation des souches 94
3. Identification préliminaire 94
3.1 Examen macroscopique 94
3.2 Examen microscopique 94
3.3 Coloration de gram 95
3.4 Recherche de la catalase 95
3.5 Production du gaz (CO_2) 95
3.6 Température de croissance 95
4. Caractérisation des bactéries lactiques 96
4.1. Température 96
4.2. pH 96
4.3. Source de carbone 96
4.4. Source d'azote 96
4.5. Effet de la concentration de la source de carbone 97
4.6. Effet de la concentration de la source d'azote 97
5. Identification des bactéries lactiques 97
6. Production et caractérisation de la bactériocine 97
6.1. Pouvoir antibactérien des souches face à S.aureus 97
6.2. Spectre antibactérien des souches à fort pouvoir acidifiant 98
6.3. Localisation de la substance inhibitrice de la souche SMBL1 99
6.4. Etudes de la thermostabilité de la bactériocine 99
V. Isolement, purification et identification de la levure 100
1. Isolement et purification 100
2. Conservation de la souche 100

3. Identification préliminaire 100
3.1. Examen macroscopique 100
3.2. Examen microscopique 100
3.3. Température de croissance 100
4. Caractérisation de la levure 101
4.1. Température 101
4.2. pH 101
4.3. Source de carbone 101
4.4. Source d'azote 102
4.5. Effet de la concentration de la source de carbone 102
4.6. Effet de la concentration de la source d'azote 102
5. Identification de la levure 102
CHAPITRE II. Conduite technique et analytique des essais de fermentation contrôlée 103
1. Composition du ferment 103
2. Choix du ferment 103
3. Préparation du ferment 104
3.1 Effet de l'ajout du sucre sur la prolifération du ferment 104
3.2 Effet de l'ajout d'extrait d'amidon sur la prolifération du ferment 104
4. Fermentation contrôlée 104
4.1 Effet de la saumure sur la prolifération du ferment 105
5. Analyses physicochimiques et microbiologiques 105
5.1 Analyses physicochimiques 105
5.1.1 Effet de la température 105
5.1.2 Effet du pH 105
5.1.3 Mesure de l'acidité 105
5.2 Analyses microbiologiques 106
5.2.1. Flore d'intérêt hygiénique 106
5.2.1.1. Dénombrement de la FMAT 106
5.2.1.2. Dénombrement des coliformes fécaux 106
5.2.2. Flore d'intérêt biotechnologique 106
5.2.2.1. Dénombrement des levures 106
5.2.2.2. Dénombrement des bactéries lactiques 107
6. Etude de la stabilité physico-chimique des artichauts en culture mixte 107
CHAPITRE III. Essais d'application 108
I. Essai semi pilote et pilote 108
1. Préparation de la saumure 108
2. Essai semi pilote 108
3. Essai pilote 108
4. Analyses physico chimiques et microbiologiques 108
4.1. Analyse physico chimiques 108
4.1.1. Mesure de la température 109
4.1.2. Mesure du pH 109
4.1.3. Mesure de l'acidité 109

4.2. Analyse microbiologique 109
4.2.1. Flore d'intérêt hygiénique 109
4.2.1.1. Dénombrement de la FMAT 109
4.2.1.2. Dénombrement des coliformes fécaux 110
4.2.2. Flore d'intérêt biotechnologique 110
4.2.2.1. Dénombrement des levures 110
4.2.2.2. Dénombrement des bactéries lactiques 110
II. Essai en bocaux 111
1. Préparation 111
2. Evaluation de la qualité hygiénique du produit 112
2.1. Liquide de couverture 112
2.2. Analyses physico chimique 112
2.2.1. Mesure du pH 112
2.2.2. Mesure de l'acidité 112
2.3. Analyse microbiologique 112
2.3.1. Dénombrement de la FMAT 112
2.3.2. Dénombrement des coliformes fécaux 113
2.3.3. Dénombrement des levures 113
2.3.4. Dénombrement des bactéries lactiques 113
3. Analyses organoleptiques 113
CHAPITRE IV. Contribution à la mise en place de certaines exigences de la norme BRC en conserverie d'artichaut 114
I. Introduction 114
II. Diagnostic des préalables 114
1. Formation du personnel 114
2. Identification des CCP en ligne de conditionnement des artichauts 117
3. Contrôle analytique de l'hygiène en entreprise 117
3.1. Analyse microbiologique 118
3.2. Dureté de l'eau 118
PARIE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS 120
CHAPITRE I. Essai De Fermentation Traditionnelle 121
Introduction 121
I. artichauts 121
1. Analyse physicochimique 122
1.1 Mesure de la température 122
1.2 Mesure du pH 122
1.3 Mesure de l'acidité 124
2. Analyse microbiologique 124
2.1 Flore d'intérêt hygiénique 124
2.1.1 La FMAT 124
2.1.2 Les coliformes fécaux 125
2.2. Flore d'intérêt biotechnologique 125
2.2.1 Les bactéries lactiques et levures 125
3. Conclusion 126

II. Isolement, purification et identification des bactéries lactiques 127
1. Isolement et purification 127
2. Conservation 127
3. Identification préliminaire 128
4. Caractérisation des bactéries lactiques 129
4.1. Effet de la température 129
4.2. Variation du pH 131
4.3. Substrat 131
4.3.1. Etude de l'effet de la source de carbone 132
4.3.2. Etude de l'effet de la source d'azote 132
4.4 Concentration du substrat 132
4.4.1. Etude de l'effet de la concentration de carbone 132
4.4.2. Etude de l'effet de la concentration d'azote 133
5. Identification des bactéries lactiques 134
6. Production et caractérisation de la bactériocine 134
6.1 Pouvoir antibactérien des souches face à S. aureus 134
6.2 Spectre antibactérien des souches à fort pouvoir acidifiant 135
6.3 Localisation de la substance inhibitrice de la souche SMBL1 136
6.4 Etude de la thermostabilité de la bactériocine 137
6.5 Discussion et conclusion 138
IV. Isolement, purification, et identification de la levure 140
1. Isolement et purification 140
2. Conservation 140
3. Identification préliminaire 140
4. Caractérisation de la levure 141
4.1 Effet de la température 141
4.2 Effet du pH 141
4.3 Substrat 142
4.3.1 Etude de l'effet de la source de carbone 142
4.3.2. Etude de l'effet de la source d'azote 142
5.4. Concentration du substrat 142
5.4.1 Étude de l'effet de la concentration de saccharose 142
5.4.2 Étude de l'effet de la concentration d'azote 143
6. Identification des levures 143
7. Conclusion 143
CHAPITRE II. Conduite technique et analytique des essais de fermentation contrôlée 144
Introduction 144
1. Composition et choix du ferment 144
2. Préparation du ferment 146
2.1 Effet de l'ajout du sucre sur la prolifération du ferment 146
2.2 Effet de l'ajout l'extrait d'amidon sur la prolifération du ferment..... 147
3. Fermentation contrôlée 147
3.1 Effet de la saumure sur la prolifération du ferment 148

4. Analyses physicochimique et microbiologique 148
4.1 Analyses physicochimiques 148
4.1.1 Mesure de la température 148
4.1.2 Mesure du pH 149
4.1.3 Mesure de l'acidité 149
5. Analyse microbiologique 149
5.1 Flore d'intérêt hygiénique 149
5.1.1 La FMAT 149
5.1.2 Les coliformes fécaux 151
5.2 Flore d'intérêt biotechnologique 151
5.2.1 Les bactéries lactiques et levures 151
6. Etude de la stabilité physico-chimique des artichauts en culture mixte 151
7. Conclusion 152
CHAPITRE III : essais d'application 153
Introduction 153
1. Préparation de la saumure 153
2. Essai semi pilote et pilote 153
3. Analyses physicochimiques et microbiologiques 154
3.1 Analyses physicochimiques 154
3.1.1. Mesure de la température 154
3.1.2 Mesure du pH 155
3.1.3 Mesure de l'acidité 155
3.2 Analyse microbiologique 155
3.2.1 Flore d'intérêt hygiénique 155
3.2.1.1 Dénombrement La FMAT 155
3.2.1.2 Dénombrement des coliformes fécaux 155
3.2.2 Flore d'intérêt biotechnologique 156
3.2.2.1 Dénombrement des bactéries lactiques et levures 156
4. Essai en bocaux 156
4.1 Analyses microbiologique et physicochimique 157
4.1.1 Analyses physicochimiques 157
4.1.1.1 Température 157
4.1.1.2 Variation du pH 157
4.1.1.3 Variation de l'acidité 157
4.1.2 Analyse microbiologique 157
4.1.2.1 la FMAT 157
4.1.2.2 les coliformes 157
4.1.2.3 les bactéries lactiques et levures 158
4.2 Analyses organoleptiques 158
4.3 Conclusion 158

CHAPITRE IV. Contribution à la mise en place de certaines exigences de la norme BRC en conserverie d'artichaut 160
Introduction 160

SOMMAIRE

1. Impact des variables qualitative et quantitative sur l'efficacité de la formation du personnel : cas d'une unité de production agro-alimentaire Marocaine 160
1.1 Impact du sexe sur l'acquis des objectifs de formation 160
1.2 Impact de l'âge sur l'acquis des objectifs de la formation 161
1.3 Impact de l'expérience sur l'acquis des objectifs de formation 162
1.4 Impact des ressources éducatives sur l'acquisition des objectifs de formation 163
1.5 Impact de l'indice de richesse sur l'acquisition des objectifs de formation 164
1.6 Impact de lieu de vie sur l'acquisition des objectifs de formation 165
1.7 Conclusion 166
2. Identification des CCP en ligne de conditionnement des artichauts 167
2.1 CCP1: la réception 169
2.2 CCP2 : le lavage 170
2.3 CCP3 : le rinçage 170
2.4 CCP4 : détecteur de métaux 171
2.5 CCP5 : stockage en chambre négatif 171
2.6 Conclusion 172
3. contrôle des opérations de nettoyage et de désinfection d'une chaine de transformation des artichauts 173
3.1 Résultats et analyse statistique 173
3.2 Discussions et interprétation 174
3.3 Conclusion 175
Conclusion générale 177
Perspective 180
Bibliographie 181
Annexe 193