



Licence Sciences et Techniques (LST)

GENIE CHIMIQUE

PROJET DE FIN D'ETUDES

Dosages d'alcool au cours de la production de la levure. Mise en place d'une nouvelle méthode « colorimétrie »

Présenté par :

◆ BOUQUADIDA Ilham

Encadré par :

◆ Mr. Ali BENNANI (LESSAFRE)

◆ Pr. Elhadi LAMCHARFI (FST)

Soutenu Le 13 Juin 2012 devant le jury composé de:

- Mr. Ahmed GHAZOUILI

- Mr. Hammou SOUHA

- Mr. Elhadi LAMCHARFI

Stage effectué à LESAFFRE MAROC

Année Universitaire 2011 / 2012

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : Résultats théoriques du taux d'alcool en fonction des absorbances

Tableau n°2 : Résultats théoriques du taux d'alcool en fonction des absorbances

Tableau n°3 : Résultats du taux d'alcool par la méthode chimique

Tableau n°4 : Résultats du taux d'alcool par la méthode colorimétrique

Tableau n°5 : Résultats du taux d'alcool dans le 8^{ème} fermenteur par la méthode chimique

Tableau n°6 : Résultats du taux d'alcool dans le 8^{ème} fermenteur par la méthode colorimétrique

Tableau n°7 : Résultats : taux d'alcool - cellules bourgeonnantes

LISTES DES COURBES

Courbe1: courbe de référence (absorbance en fonction du % de l'alcool)

Courbe2: courbe étalon pratique de la méthode colorimétrique

Courbe 3: Corrélation taux d'alcool - cellules bourgeonnantes

LISTES DES HISTOGRAMME

Histogramme 1 : taux d'alcool par le dosage en retour dans les différentes étapes de production

Histogramme 2: Evolution du taux d'alcool par colorimétrie dans les différentes étapes de production

Histogramme 3: Evolution du taux d'alcool par le dosage en retour et colorimétrie

Histogramme 4: Comparaison du taux d'alcool dans les différent cas par le dosage en retour

Histogramme 5 : Comparaison du taux d'alcool dans les différent cas par la méthode colorimétrique.

Histogramme 6: Evolution du taux d'alcool par les deux méthodes dans les différent cas.

INTRODUCTION

Partout dans le monde, les clients exigent que le produit qu'ils ont achetés, répond à leurs attentes, qu'il fonctionne comme prévu et correspond à sa spécification

Le niveau de qualité requis dans un produit peut être atteint en maîtrisant les facteurs de production. Leur amélioration et évaluation qualitative est recommandée afin d'assurer aux consommateurs un produit qualitatif, qui répond à leur exigences.

Aujourd'hui, la levure boulangère peut, à juste titre, être considérée comme un des plus anciens produits issus de la fermentation industrielle, ou encore elle est l'un des plus importants produits de la biotechnologie en termes de quantité (plus de 2,5 millions de tonnes annuelles)

Toutefois, cette importance se manifeste par la maîtrise des paramètres physicochimiques survenant de l'extrapolation des opérations de fermentation du laboratoire à l'échelle industrielle.

La production de l'éthanol pendant le procédé de fermentation constitue l'un de ces paramètres importants et significatifs vis-à-vis du succès de ce procédé.

Les conditions optimales pour réaliser cette production à une grande échelle présentent plusieurs contraintes qui imposent des suivies par des méthodes chimiques et physico-chimiques.

Pendant cette période de stage, nous allons suivre l'évolution de l'éthanol produit au cours de la fabrication de la levure fraîche par la méthode chimique (dosage en retour) qui va être remplacé par une nouvelle méthode : colorimétrique dont le but est de la valider et de :

- Minimiser les nuisances et détecter les irrégularités au cours de la production.
- Assurer une qualité du produit.

Ce sujet suscite un véritable intérêt, dans la mesure où son étude permettra de mieux connaître ce facteur déterminant de la qualité qui est « le taux de l'alcool », de comprendre son impact sur la qualité du produit final et peut améliorer de plus les procédés et les conditions de fabrication qui répondent aux exigences du consommateur.

Présentation de l'Entreprise

Toute attendue en **1901**, les familles Lesaffre et Bonduelle décident de poursuivre séparément leurs activités. L'entreprise deux frères Louis Lesaffre-Roussel et Louis Bonduelle-Dalle crée une distillerie d'alcool de grains et de genièvre à Marquette-lez-Lille. Un premier moulin est acquis en **1863** à Marcq-en-Barœul. Mais l'industrie de la levure démarre réellement en Autriche en **1867** avec le procédé **Mautner**. Ce procédé empirique consistait à préparer un moût de grains, de telle sorte que le dégagement gazeux entraînait la levure à la surface où elle était recueillie. Lorsqu'en **1871**, le baron du groupe agroalimentaire Lesaffre est le leader mondial dans le domaine de la levure de panification. Fort de ses connaissances approfondies de la levure et de ses compétences pointues en biotechnologies, Lesaffre intervient également dans les domaines de la nutrition, santé humaine

et animale. Symbole de proximité et de fidélité, l'hirondelle est l'emblème fédérateur du groupe Lesaffre à travers le monde.

1 .Historique du groupe

L'histoire raconte qu'en **1853** richien Max de Springer, propriétaire à Maisons-Alfort près de Paris d'une très belle distillerie, rapporte de chez Mautner [2], à Vienne, l'idée d'extraire la levure des moûts de fermentation des grains et de la vendre aux boulangers ; Lesaffre & Bonduelle décident à leur tour en **1873** de développer la fabrication de levure fraîche à Marcq-en-Barœul, à la place de l'ancien moulin. Mais contre est partagée en 3 branches :

- Lesaffre & Cie (alcool et levure)
- Lesaffre Frères (sucrierie et distillerie).
- Bonduelle est aujourd'hui un acteur reconnu sur le marché du légume.

Mais en **1910**, l'usine de Marcq-en-Barœul subit un grand incendie qui la détruit totalement, elle est reconstruite. **1923** avec la crise de l'alcool de grains, l'Etat français décide brutalement d'augmenter les prix, rendant sa production économiquement impossible. Une nouvelle matière première pour la levure sera trouvée, **la mélasse**, moyennant quelques aménagements techniques. De **1939-1945** lors de la seconde guerre mondiale, Lesaffre met au point des produits à base de levure destinés à atténuer la pénurie alimentaire : production de la première levure sèche active. L'envolée vers l'international aura lieu entre 1963 et 2000 dont une implantation au Maroc.

2 .Lesaffre-Maroc :

En **1993**, la société SODERS (créée en 1975) a été majoritairement détenue par le groupe français LESAFFRE, renommée « LESAFFRE-MAROC ». Elle représente la première entreprise privatisée du Maroc bénéficiant 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 levures par an avec un effectif de 200 personnes et un capital de 30.800.000 DH, elle est subdivisée en un site de production à Fès et un BANKING CENTER à Casablanca.

Ce dernier site constitue une vitrine des produits **lesaffre** où les boulangers peuvent suivre des formations et des démonstrations applicables à leur métier. Produits et marques de référence

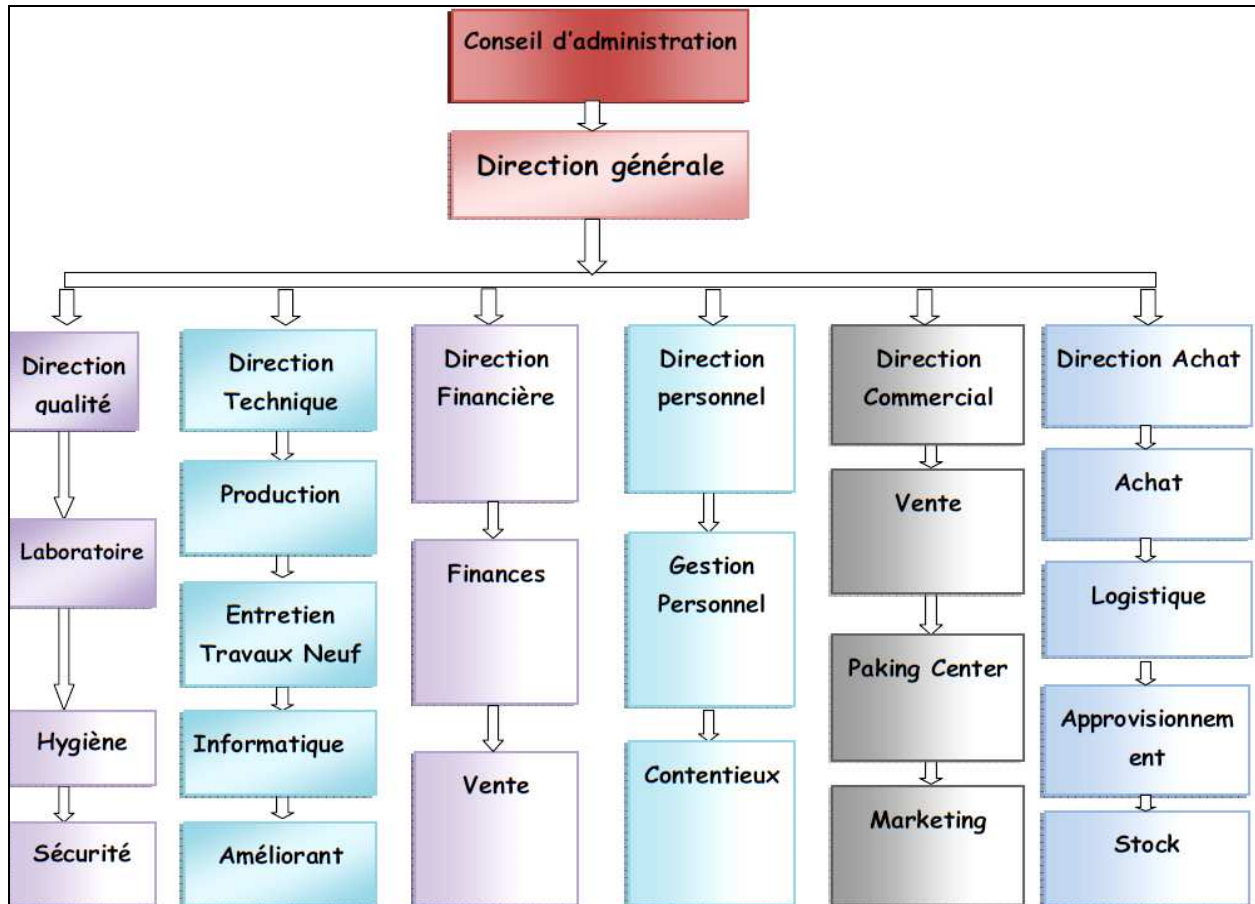
LESAFFRE-MAROC est spécialisée dans la fabrication de levure fraîche "levure pressée" conditionnée en pain de 500g et dans la production de levure sèche conditionnée en sachet de 50g, 125g et 500g. Ce dernier type se subdivise en deux produits:

- La **SPI**: levure sèche instantanée.
- La **SPH**: levure sèche à réhydrater.

Il fabrique et commercialise la levure fraîche sous la marque **Jaouda**, **Rafiaa** et **Nevada** pour la sèche.

Les améliorants de panification sont quant à eux commercialisés sous les marques **Ibis bleu** et **Magimix**. Tout ceci est produit, conditionné, contrôlé et distribué par une organisation d'entreprise bien ficelée.

3) Organigramme de l'entreprise :



4. Description et activités du laboratoire d'analyses de Lesaffre Maroc

Le laboratoire d'analyses de Lesaffre Maroc, dans sa nouvelle conception, joue un rôle très important dans la démarche qualité qui constitue l'une des priorités de la société. Il est composé de deux laboratoires :

Figure.1 organigramme de l'entreprise LESAFFRE-MAROC

Laboratoire d

La validité des contrôles microbiologiques nécessite notamment des résultats d'analyses fiables. C'est pour cela que la société Lesaffre exige un matériel suffisant et moderne, des techniques d'identification des micro-organismes assez rigoureuses imposées par le groupe, un système d'épuration d'air, un personnel qualifié et expérimenté et un climat professionnel.

Ce laboratoire est divisé en quatre parties :

- ✓ Salle des pathogènes où s'effectue les analyses des germes pathogènes.
- ✓ Salle des préparations des milieux de culture.

- ✓ Salle de stockage des matières premières.
- ✓ Et enfin une salle d'analyses bactériologiques.

Laboratoire physico-chimique

Equipé de matériels sophistiqués, alimenté de différents types d'eaux (eau adoucie, eau distillée, eau de ville) utilisées selon les besoins, et un personnel qualifié y effectue quotidiennement des analyses physico-chimiques (Brix, PH, conductivité, dosage de l'azote, dosage de phosphate,...).

Ce laboratoire est divisé en trois parties :

- Salle de panification où s'évalue la force panaire.
- Salle de stockage des matériels et les produits initiaux.
- Salle d'analyses physico-chimiques répartie elle-même en trois sections :
 - Section des analyses d'azote et de phosphate.
 - Section des analyses de la mélasse.
 - Section des analyses de l'eau.

CHAPITRE 1 :

LA LEVURE BOULANGÈRE ET CA

I .Généralités sur la levure :

I.1 Caractéristiques générales :

La **levure de boulanger** (*Saccharomyces cerevisiae*), est une levure, c'est-à-dire un champignon unicellulaire microscopique. Ce champignon se présente sous forme sèche, en paillettes ou en gélules.

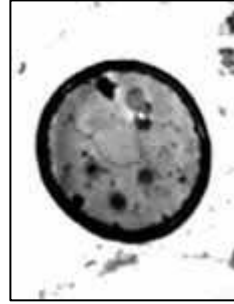
Les levures sont des micro-organismes eucaryotes, ainsi possèdent-elles les caractéristiques structurales propres à ce type cellulaire et d'autres plus spécifiques aux levures elles-mêmes. Ces micro-organismes, de forme variable selon l'espèce (sphérique, ovoïde, en bouteille, triangulaire ou apiculée, c'est-à-dire renflée à chaque bout comme un citron) mais généralement ovales, d'environ 6 à 10 μm et jusqu'à 50 μm , se multiplient par bourgeonnement ou par division .

La dénomination **levure** découle de l'observation des fermentations et tout particulièrement celle qui a lieu durant la fabrication du pain : on dit communément et depuis longtemps que le pain *lève*. Ce n'est pas, à proprement parler, une dénomination scientifique actuelle. Mais l'importance des levures dans le domaine des fermentations conduit à conserver ce terme générique qui continue à être correctement perçu.

Les levures mettent tout en œuvre pour transformer les éléments et en créer de nouveaux. Leur rôle est bien connu dans la fabrication du pain. Petites reines de chimie, les bactéries nous apparaissent comme des organismes complexes car elles jouent avec les éléments pour les métamorphoser. Si on ne se tient qu'aux alcools et pains, on se rend compte que, finalement, elles ne savent faire qu'une seule chose : **transformer le glucose en éthanol et dioxyde de carbone (CO₂)**. Mais c'est déjà bien le principal pour faire gonfler notre bon pain.



Levure observée en électronique



microscopie

I.2 Métabolisme :

La levure de boulangerie appartient à un groupe relativement mineur de levures : levures aérobies facultatives et fermentaires capables d'utiliser le glucose en présence ou en absence d'oxygène et de fermenter le glucose même en présence d'air. Pour cela deux modes sont possible :

Respiration aérobie : $C_6H_{12}O_6$ (glucose) + $6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{énergie}$ (688kcal)

En présence d'oxygène *Saccharomyces cerevisiae* produit son énergie par respiration. Cette voie métabolique est très énergétique et permet aux cellules de subir une multiplication avec un rendement cellulaire élevé.

Fermentation alcoolique : $C_6H_{12}O_6$ (glucose) $\rightarrow 2CO_2 + 2CH_3CH_2OH$ (éthanol) + énergie (56 kcal). En absence d'oxygène (anaérobiose), elle la produit par fermentation alcoolique en faisant intervenir plusieurs sortes d'enzymes.

Comme en anaérobie, le glucose suit la voie de la glycolyse jusqu'au pyruvate ; mais, en présence d'oxygène, celui-ci ne sera pas transformé en éthanol mais en acétyle-COA qui permettra l'entrée dans le cycle de Krebs. En raison de son meilleur rendement énergétique, la voie respiratoire est utilisée préférentiellement par la levure. Cependant, si la concentration en sucre du milieu augmente (> 100 mg/L), il y a inhibition de la respiration par la fermentation et production d'alcool malgré la disponibilité d'oxygène. C'est *l'effet Crabtree*, appelé aussi effet glucose.

II. La chaîne de production :

Etape 1: Ensemencement

La base de tous les produits dérivés de la levure Lesaffre est la culture d'une souche pure de *Saccharomyces cerevisiae* effectué dans des conditions stériles. Chaque mois Lesaffre reçoit 2 souches de *Saccharomyces cerevisiae* conservés dans des tubes à 4°C dans un milieu glycosé, un destiné à la levure fraîche L20 et un à la levure sèche L13 qui sont régénérés dans 4 tubes, deux pour chacun. Ils sont incubés dans des fioles stériles de 250 ml (Van Lear) contenant une solution nutritive à base de sucre à une température constante de 30 °C, avec agitation pendant 8h. Elle est transférée dans un Carlsberg (7l) dans les mêmes conditions mais dans un temps de 16h puis dans une cuve de 800 L mais cette fois dans un milieu nutritif à base de mélasse. Enfin elle est destinée au pré fermentation.



Etape 2: pré fermentation

Après la récolte la levure (la culture) est transférée dans de grandes cuves de pré fermentation en acier inoxydable où elle sera mise en culture dans les conditions optimales de pH (par l'ajout l'acide sulfurique qui maintient le pH entre 3,4 et 4,5), d'O₂, de température et de milieu nutritif (la mélasse stérile, l'eau, et d'autres aliments comme l'urée, phosphate, sulfate, chlorure de magnésium et les éléments de traces (les vitamines) et qui servira après à l'ensemencement de la cuve de première génération industrielle (G1) ou levure-mère.



Etape 3: fermentation

Le moût issu de la pré fermentation sera transféré vers d'immenses cuves en acier dites fermenteurs (le 4ème fermenteur) avec un milieu nutritif bien spécifique (un mélange de mélasse, de l'azote, des sels préparés et des éléments de traces), on peut aussi ajouter une

anti-mousse pour éviter les mousses se produisant lors de la fermentation .Après 18 à 20 heures de fermentation, on obtient la levure mère, qui va subir une séparation puis un stockage. La levure mère obtenue va encore servir à la fermentation, par un ensemencement pour donner naissance à une levure commerciale.

La fermentation se fait en présence d'oxygène pour minimiser la production de l'alcool. les fermenteurs sont équipés avec des soufflantes qui les alimentent en air filtré.

La température dans les fermenteurs est contrôlée à l'aide d'un régulateur lié à un échangeur de chaleur servant à refroidir le mout.

Bioréacteurs :


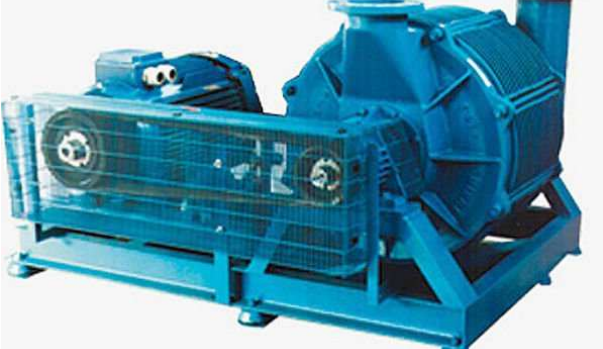
Un bioréacteur, appelé également fermenteur, est une cuve en acier de grande dimension dans laquelle se multiplient les micro-organismes pour la production de la biomasse.

Soufflante :

Une soufflante est un élément constitutif d'un turboréacteur à double flux. C'est elle que voit un observateur placé devant le moteur. Elle est constituée de pales et d'aubes.

Située en avant du compresseur, elle est entraînée par la turbine et brasse l'air ambiant pour le diriger vers l'arrière et créer de la poussée. Cette masse d'air est en partie absorbée par le compresseur, le reste formant un écoulement d'air froid cylindrique enveloppant le moteur.

Il existe deux types de soufflantes :

Soufflante à canal latéral	Soufflante multi-étagée type centrifuge
	
<p>Elle est équipée d'une roue à ailettes montée dans le corps de turbine. Quand la volute d'air entre dans la chambre de</p>	<p>Cette soufflante est un compresseur dynamique radial. Elle atteint une pression par accélération du fluide dans un jeu de roues</p>

compression ; elle est accentuée et repoussée de plus en plus vite par la turbine au travers d'une dérivation vers le conduit de refoulement, réduisant la vitesse et augmentant la pression.

à aubes en rotation et ensuite par décélération de celui-ci dans des diffuseurs à long rayon de courbure et haut rendement.

Le type utilisé par la société LESAFFRE Maroc c'est la soufflante multi étagée type centrifuge.

Les échangeurs :

Dans les installations industrielles, il est souvent nécessaire d'apporter ou de retirer une quantité de chaleur importante à une partie du système, d'où la nécessité d'implantation des échangeurs de chaleur, c'est un système qui permet de transférer un flux de chaleur d'un fluide chaud à un fluide froid à travers une paroi sans contact direct entre les fluides.

Il existe plusieurs types d'échangeurs de chaleur selon les critères de classement, on peut citer :

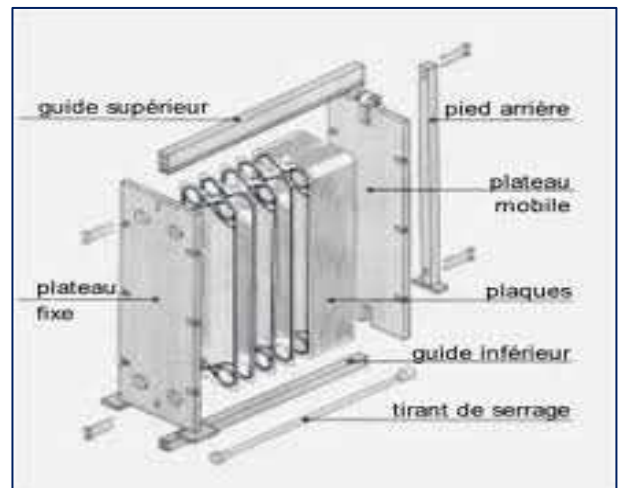
Echangeurs à plaque

Echangeurs tubulaires

Echangeurs à spirale

Au sein de la société LESSAFRE MAROC on utilise les échangeurs à plaque : se sont les échangeurs de chaleur les plus utilisés dans l'usine est celui à plaque c'est un type d'échangeur de

chaleur qui connaît un usage croissant dans l'industrie, il est composé d'un grand nombre de plaques disposés en forme de millefeuilles et séparés les uns des autres d'un petit espace (quelques millimètres) où circulent les fluides



Etape 4: La séparation :

Pour éliminer les déchets (reste du milieu nutritif) des mouts issus des fermenteurs on utilise un séparateur fonctionnant par centrifugation ; Il y a des séparateurs pour les phases solide/solide et pour liquide/solide. Pour la levure on utilise un séparateur de deux phases liquides. A la fin de la séparation on obtient une crème dense et liquide c'est le mout délouvé qui sera rejeté vers les égouts.

La séparation se fait dans deux phases :

La 1^{ère} permet de faire passer à séparation, la levure mère. Et Une 2^{ème} concerne les levures commerciales, qui sont après séparation refroidies, stockées à 4°C. La crème obtenue a une faible teneur en matières sèches (18 à 20%) d'où la nécessité d'aspirer son eau sur filtre afin d'atteindre 30 à 33% de matières sèches.

Etape 5 : Stockage de la crème :

La crème obtenue après la séparation est acidifiée par l'acide sulfurique à pH = 2 pour éviter la contamination, et stockée à 5 °C pour ralentir le métabolisme cellulaire.

Le système de refroidissement se fait par un échange thermique entre la crème et le liquide de refroidissement: l'eau glycolée (par des échangeurs de froid).

Etape 6 : La filtration :

Dans le filtre tournant par le vide revêtu d'une précouche d'amidon (toile filtrante) qui ne laisse passer que l'eau sans la suspension solide, de l'eau est extraite de la levure liquide. Il en naît une masse pâteuse, qui peut être pressée à la forme souhaitée (barres, cubes). Pendant la rotation les cellules sont immergées à tour de rôle dans l'auge contenant la crème et le Na Cl. Sous l'action du vide, l'eau traverse la pré couche et la levure se dépose sur celle-ci sous forme de gâteau. Un lavage est fait sur le gâteau obtenu par un liquide approprié toujours sous vide afin d'éliminer le Na Cl. La pâte est obtenue grâce couteau racleur, le gâteau est malaxé, boudiné et extrudé, l'eau filtrée est refoulée vers l'extérieur par une pompe d'évacuation.



Etape 6 : Séchage :

On distingue deux types de levure sèche :

- La levure sèche active ou SPH :

Sous forme de petits grains sphériques, sa durée de séchage est d'environ quatre heures pour une qualité de 400kg à 500kg, et s'effectue à 45°C.

- La levure sèche instantanée ou SPI :

Sous forme des bâtonnets, elle a une durée de séchage réduite, durant 20min environ pour une quantité de 1000 Kg. Elle est caractérisée par une force fermentaire supérieure à celle de la SPH

Etape 7 : Conditionnement :

Levure fraîche :

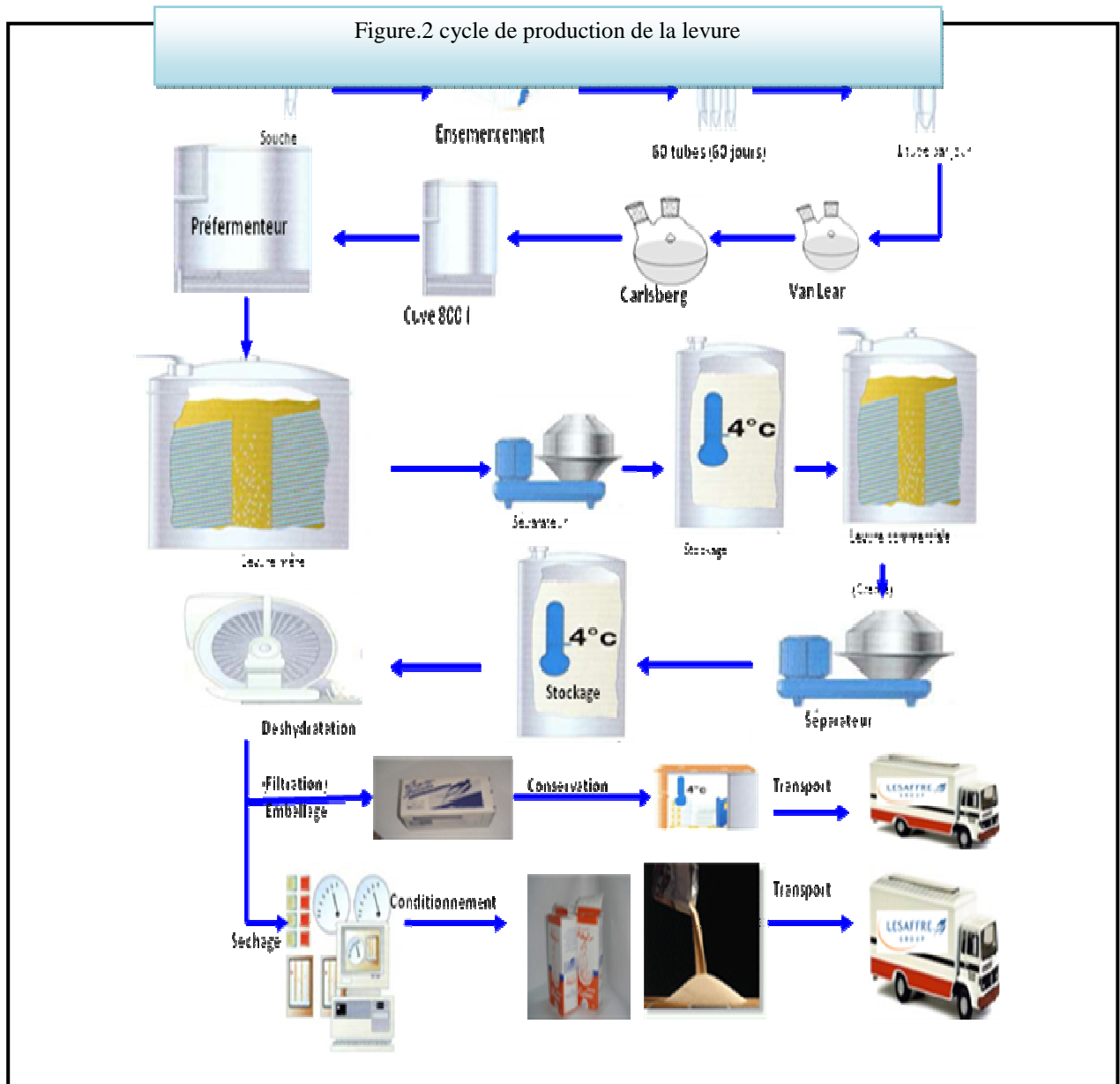
Le gâteau obtenu est envoyé à la boudineuse ou il est malaxé après l'ajout de l'huile de vaseline, puis il est pressé pour obtenir un pain de levure. Ce dernier est découpé en portions de 500g. Ces portions sont à leur tour enveloppées par du papier paraffiné

Levure

(La levure sèche active) est emballé sous air dans des sachets de elle a une durée de conservation d'un an.

SPH:

SPI: (*La levure sèche instantanée*), elle est emballée soit sous vide : sachet de 125g ou sous azote : sachets de 10g.



Chapitre 2 :

SUIVI DU TAUX DE L'ALCOOL

Introduction :

La conception et la mise en œuvre optimale d'un procédé de fermentation doit se baser sur une connaissance du procédé et sur la maîtrise des processus biologiques et physiques limitant.

Dans les conditions industrielles, les levures sont produites par croissances en aérobiose, à partir de substrats glucidiques (mélasse de canne ou de betterave). Une production optimisée exige la fourniture de composés azotés et phosphorés, ainsi que des facteurs biotiques (biotine). La maîtrise de la culture de la levure à l'échelle industrielle demeure un art très important dans le savoir du levurier car la formation de l'éthanol peut nuire la qualité de produit fini.

Le but de notre travail est de faire le suivi de ce paramètre (taux d'alcool) à travers la chaîne de fabrication depuis la phase laboratoire jusqu'au produit fini, de signaler les irrégularités dans le système de production et de valider la méthode colorimétrique comme une nouvelle méthode.

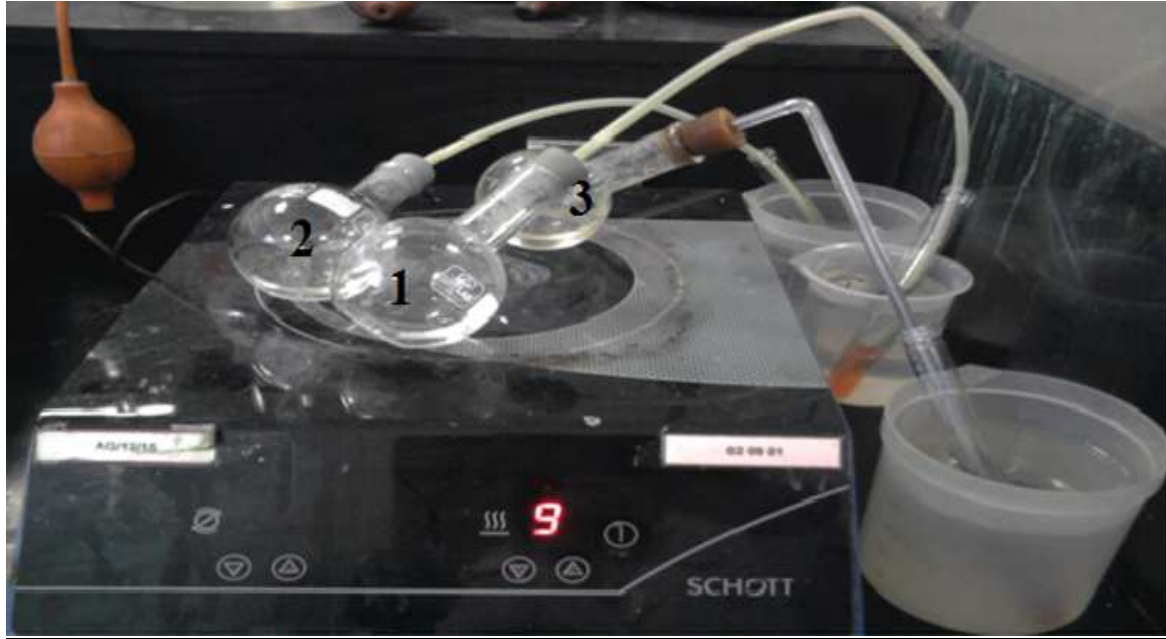
I. Etablissement de la courbe d'étalonnage :

Pour effectuer nos analyses on réalise une série de mesure d'absorbance par colorimétrie des solutions de concentrations connues puis les résultats obtenus sont extrapolés par une courbe d'étalonnage comparée à la courbe de référence .

Protocole :

a. méthode chimique : (dosage en retour)

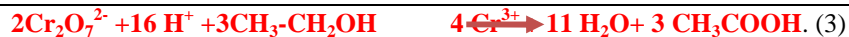
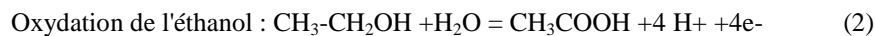
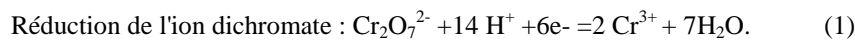
On vérifie le taux d'alcool d'une solution de concentration connue. Pour cela, le distillat (C_2H_5OH) est récupéré dans un tube à essais contenant une solution oxydante de bichromate ($2K^{2+}Cr_2O_7^{2-}$) en excès, puis **on dose la quantité de $Cr_2O_7^{2-}$ restante avec une solution de sel de Mohr de concentration connue en utilisant le diphenylamine comme indicateur coloré.**



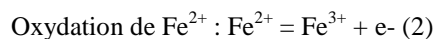
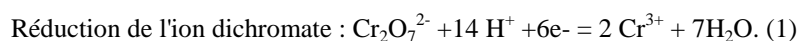
Distillation de trois fractions différentes d'alcool:

1: C = 0,02% 2: C = 0,03% 3: C = 0,04%

Equation bilan de l'oxydation de l'éthanol en acide éthanóique :



Equation bilan Du dosage de l'exés du bichromate par une solution de sulfate ferreux :



β. méthode colorométrie :

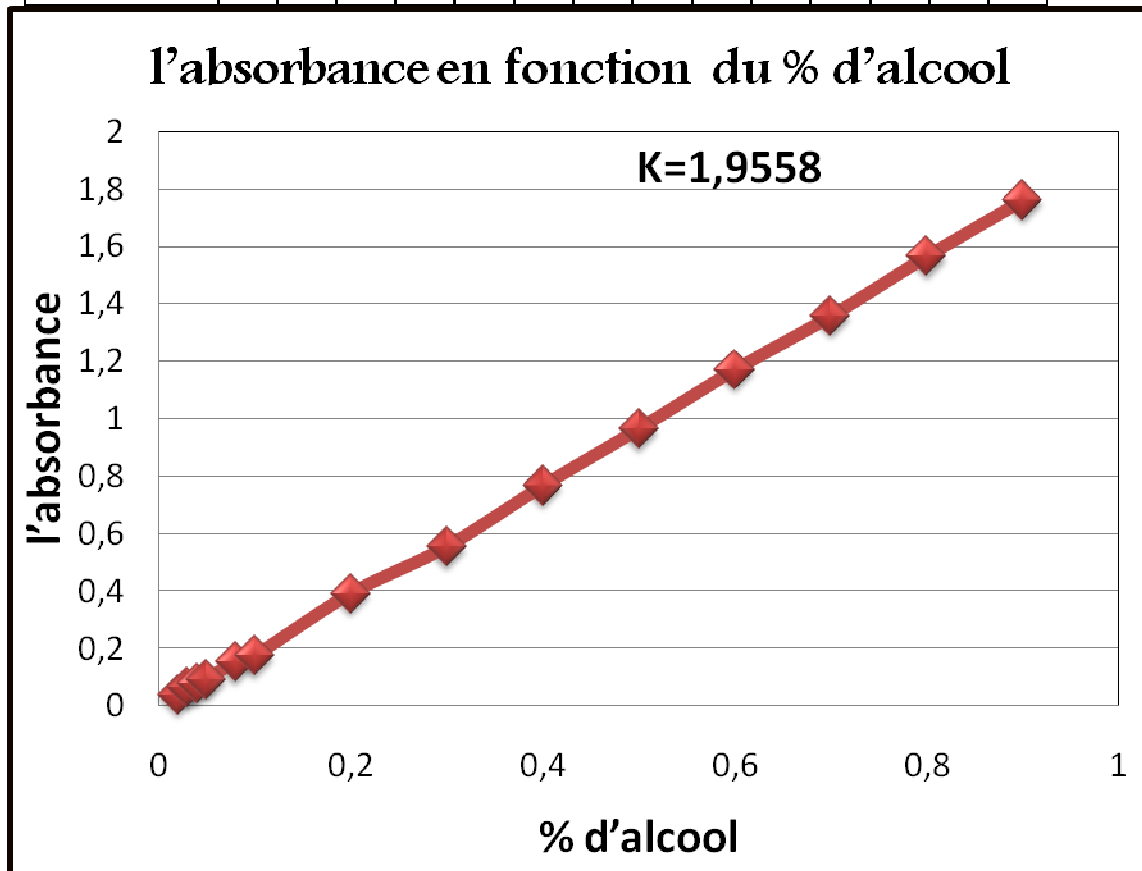
Principe : Le spectrophotomètre fait passer une radiation (lumière) monochromatique (une seule longueur d'onde) à travers une longueur l (longueur de la cuve du spectrophotomètre) de solution et mesure l'absorbance A (grandeur liée à la quantité de lumière absorbée par la solution). On a choisi la longueur d'onde $\lambda=620\text{nm}$ qui correspond à l'absorbance maximale des ions Cr^{3+} . On procède tel que décrit dans la première étape c'est-à-dire l'oxydation de l'alcool par ($2\text{K}^2+\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), mais cette fois ci on va mesurer l'absorbance du mélange obtenu après oxydation.

Note :(il faut étalonner le spectromètre avant usage)

Résultats :

Résultats de Courbe de référence :

(%) d'alcool	0,02	0,03	0,04	0,05	0,08	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Absorbance	0,04	0,06	0,08	0,09	0,15	0,17	0,39	0,55	0,77	0,96	1,12	1,36	1,57	1,76



Courbe1 : courbe de référence (absorbance en fonction de concentration)

Résultats de Courbe étalon :

On va calculer les concentrations expérimentales par la formule suivante :

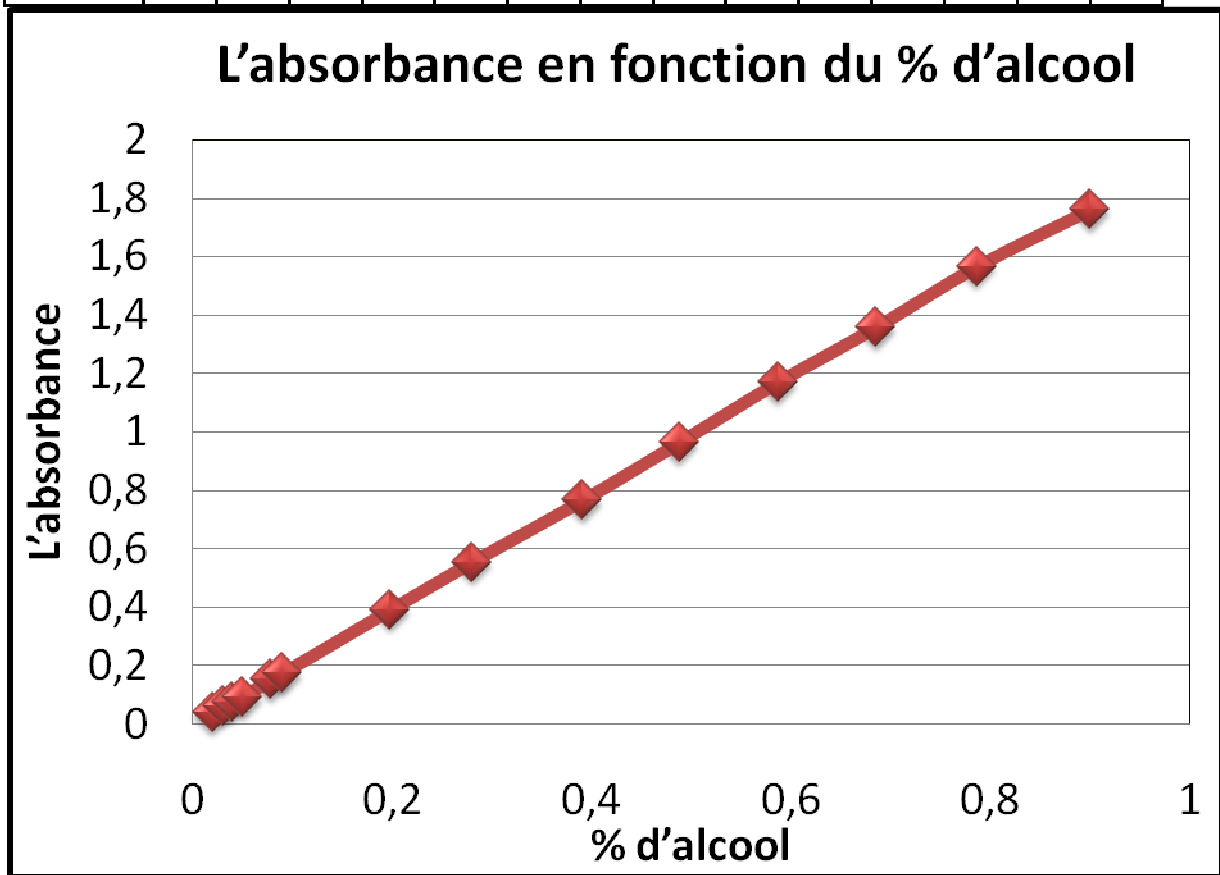
$$\frac{V_{\text{blanc}} - V_{\text{ech}}}{\text{Blanc}} = \% \text{ alcool}$$

Vblanc : volume de dosage du blanc de bichromate

Vech : volume de dosage de l'exés de bichromate

Les valeurs du courbe étalon :

(%) d'alcool	0,019	0,030	0,039	0,050	0,078	0,090	0,198	0,280	0,391	0,488	0,587	0,685	0,786	0,900
Absorbance	0,039	0,062	0,076	0,092	0,153	0,174	0,391	0,554	0,766	0,964	1,170	1,357	1,565	1,760



Courbe 2 : courbe étalon (absorbance en fonction de concentration)

Interprétions :

Le tracé de l'absorbance en fonction du %d'alcool nous a permis d'obtenir une droite linéaire de pente ($k=1,9766$) cette valeur est très voisine de la pente de la courbe de référence. Le facteur d'erreur et de l'ordre de 1% certainement du au mode de distillation.

II. Résultats et Interprétations :

Une fois l'appareil est étalonner, on ce procède a un suivi journalière dans les différent étapes de production de la levure depuis la phase laboratoire jusqu'au produit fini, les échantillons prise subissent même procédé que je viens de les citer précédemment.

I- Résultats :

Les résultats obtenus par l'analyse physico-chimique de la levure à différente étapes de production, sont présentés comme suivant :

Suivi du taux d'éthanol dans la chaine de fabrication par :

- **Méthode chimique :(dosage en retour)**

Tableau n°3 : résultats du taux d'alcool dans les différentes étapes de production

ABREVIATION

PC : (petit cône), fiole stérile de 250 ml

Cb : (Carlsberg), fioles stériles de 7 l

Cul : (culture), levure fermentée dans la cuve de 800 l

LM : levure mère après séparation

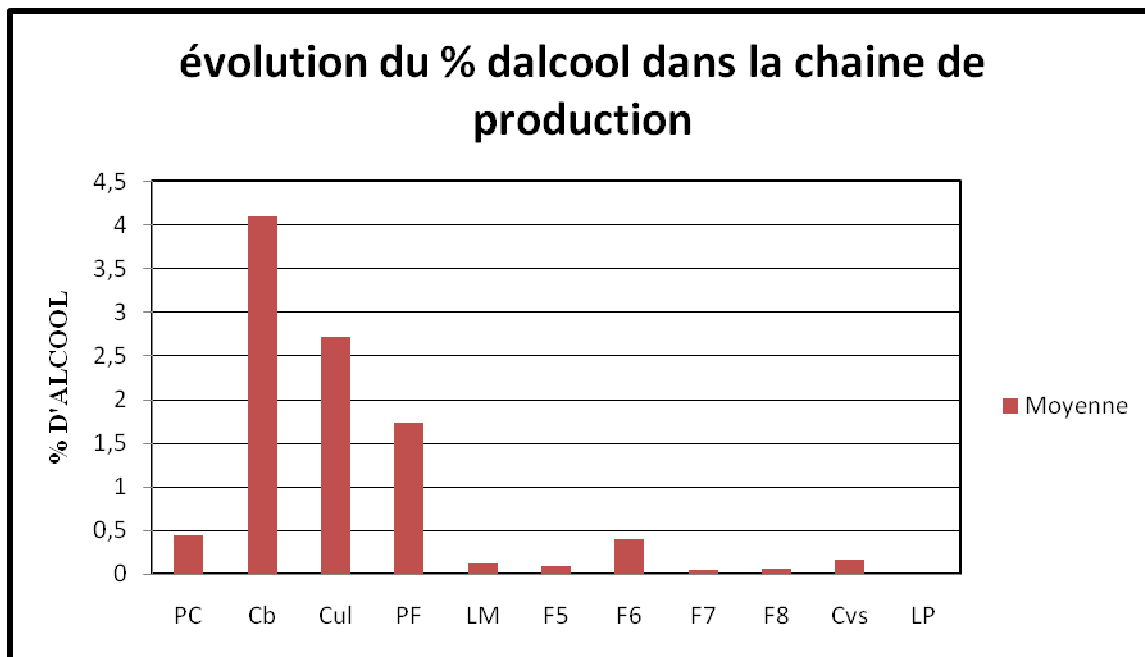
PF : levure pré-fermentée

F5 : fermenteur

Cvs : crème de stockage

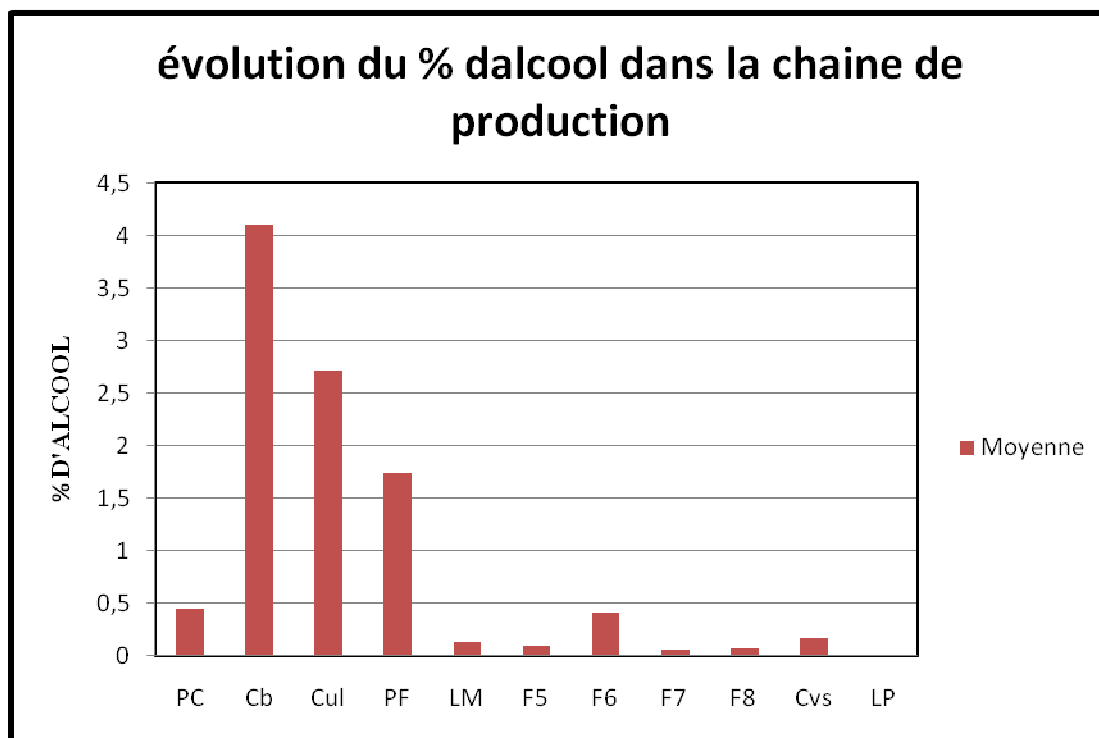
% d'Alcool											
	PC	Cb	Cul	PF	LM	F5	F6	F7	F8	Cvs	LP
27/04/2012	0,47	4 ,188	2,597	1,623	0,15	0 ,091	0,419	0,07	0,071	0,17	0,012
28/04/2012	0 ,441	4,025	2,792	1,428	0,123	0,072	0,437	0,058	0,082	0,123	0,013
30/04/2012	0,425	3 ,963	2,889	1,625	0,11	0,085	0,376	0,061	0,069	0,175	0,006
02/05/2012	0,437	4,025	2,643	2,001	0,142	0,101	0,394	0,067	0,053	0,129	0,016
03/05/2012	0,463	4,176	2,807	1,814	0,153	0,097	0,421	0,051	0,066	0,21	0,009
05/05/2012	0,459	4,127	2,723	1,597	0,137	0,088	0,386	0,071	0,055	0,188	0,007
06/05/2012	0,447	4,065	2,52	1,903	0,122	0,076	0,407	0,055	0,062	0,145	0,01
07/05/2012	0,468	4,108	2,615	1,783	0,108	0,106	0,427	0,064	0,071	0,203	0,007
08/05/2012	0,429	4,134	2,864	1,834	0,146	0,1	0,412	0,048	0,059	0,132	0,008
Moyenne	0,449	4,094	2,716	1,734	0,132	0,09	0,408	0,06	0,065	0,163	0,009
Max	0,468	4,176	2,889	2,001	0,153	0,106	0,427	0,071	0,071	0,21	0,016
Min	0,425	4,025	2,52	1,597	0,108	0,076	0,376	0,048	0,053	0,129	0,006
Ecartype	0,017	0,058	0,129	0,178	0,017	0,012	0,02	0,008	0,009	0,032	0,003

LP : levure fraîche



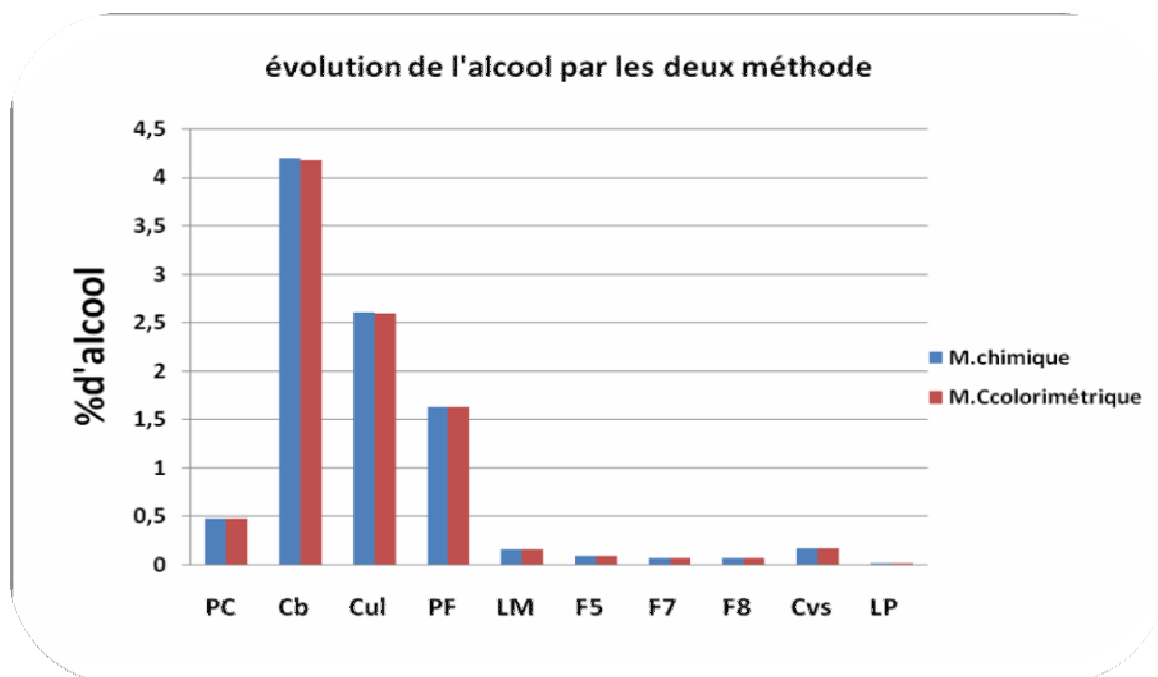
Histogramme 1: évolution taux d'alcool dans les différentes étapes de production en fonction des dates de prélèvement par le dosage en retour

Méthode colorimétrique :



Histogramme2: évolution du taux d'alcool dans les différentes étapes de production en fonction des dates de prélèvement par la méthode colorimétrique

Courbe de comparaison de dosage en retour et la méthode colorimétrique:



Histogramme3 : Evolution du taux d'alcool dans les différentes étapes de production en fonction des dates de prélèvement par les deux méthodes : colorimétrique et dosage en retour

Interprétations :

- suivi du taux d'alcool :

La croissance de *Saccharomyces cerevisiae* met en jeu différentes voies métaboliques selon la nature du milieu (aérobie ou anaérobie), cela se traduit par les variations importantes des % d'alcool :

- ✓ Dans les premières étapes d'ensemencement (**Petit cône et Carlsberg**) règnent les conditions anaérobiques ce qui explique le taux élevé de l'éthanol produit par l'action métabolique fermentaire chez la levure ; la différence signalée dans le % d'alcool entre ces deux étapes est due au temps d'incubation (Petit cône : 8h et Carlsberg:18h).
- ✓ En culture sur milieu nutritif non renouvelé (mélasse) mais aéré (présence d'oxygène) à l'étape **800L**, la levure montre une croissance par respiration quand la concentration est importante au départ la croissance de la levure devient rapidement élevée. La forte concentration de glucose réprime la respiration et l'éthanol s'accumule, cette répression est classiquement appelée effet de Crabtree.
- ✓ Le mode de culture semi-continu et celui le plus utilisé pour la production de levure. la fermentation est démarrée en discontinu. la source de carbone et d'autres nutriments sont ajoutés en continu sans soutirer de milieu. ce mode de culture est bien adapté à la production de levure parce qu'il permet de ce maintenir à une faible concentration en glucose, évitant ainsi une production importante de l'éthanol. cela nécessite une augmentation du débit d'alimentation simultanément avec l'augmentation de la quantité des cellules. tout cela conduira à la diminution du taux d'alcool ce qui n'est pas le cas à l'étape de pré fermentation à cause de l'intervention de l'aération comme facteur limitant. Compte tenu de ça faible solubilité dans l'eau, et de la combinaison de plusieurs facteurs : l'augmentation de température, la mousse, et le taux des sels agissant sur sa capacité de transfert l'oxygène devient le processus limitant de la respiration ce qui engendre la formation d'éthanol dans : **PF, LM et les fermenteurs**.
- ✓ Dans le cas des fermenteurs et à la 8^{ème} heure de fermentation l'alcool commence à diminuer à cause de la diminution du débit d'alimentation du milieu nutritif (mélasse) ce qui engendre chez la levure un métabolisme respiratoire par consommation de l'éthanol produit comme nouvelle source de carbone ce qui diminue le taux de ce dernier jusqu'à atteindre presque le zéro % 0 à la fin de fermentation.
- ✓ Le temps de séparation et celui nécessaire pour atteindre la température du stockage (4°C) permet l'activation du métabolisme de la levure en produisant de l'alcool.
- ✓ La séparation (**LM**) et la filtration (**LP**) contribue également à la réduction du % d'éthanol

Validation de la méthode colorimétrique :

Les tableaux, les graphes de chaque méthode et celui de comparaison montre une très grande correspondance entre les résultats des deux méthodes d'un facteur de 99%. ce qui prouve la conformité de la méthode colorimétrique (spectrophotométrique) au dosage du taux d'alcool.



La méthode peut être validée .

2). Comparaison du taux d'alcool dans les différents cas:

Pour mieux compléter nos résultats on a effectué nos analyses dans différent cas :

F8 (8h) : fermenteur 8 a la 8^{ème} heure

F8 (fin) : fermenteur a la fin

Test de mollesse : on a laissé un paquet de levure fraiche à une température de 35°C pendant trois jours.

Cvs : (crème de stockage : levure stocké à 4°C après séparation) à température ambiante pendant 24h.

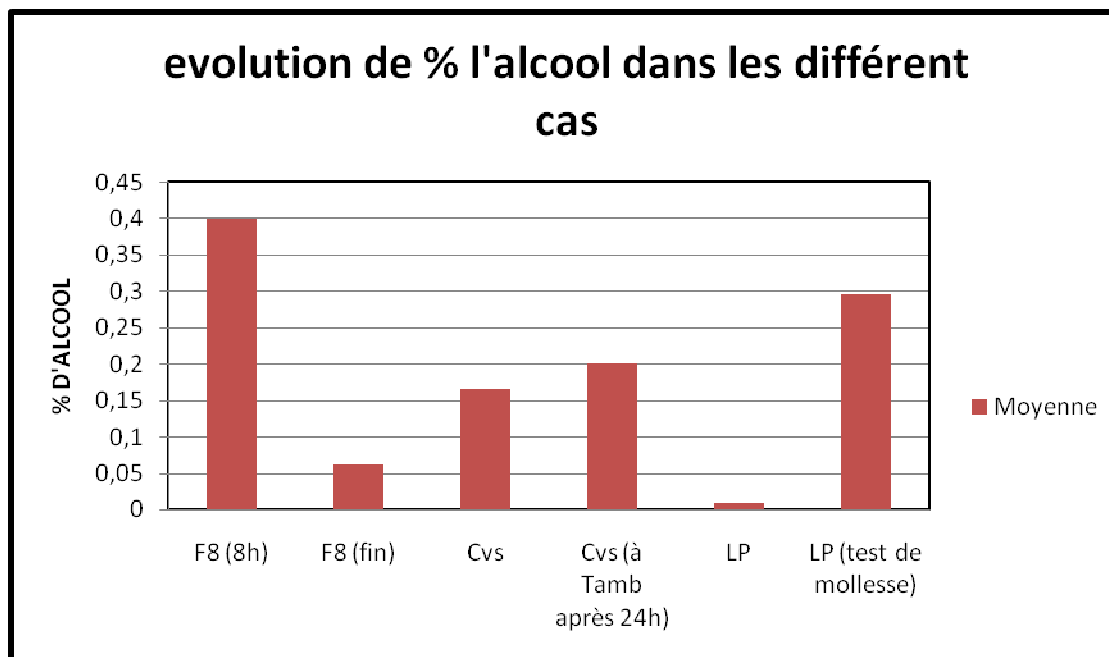
Pour examiner l'effet de la température sur la variation du pourcentage d'alcool.

Méthode chimique :(dosage en retour)

%d'Alcool						
	F8 (8h)	F8 (fin)	Cvs	Cvs (à Tamb après 24h)	LP	LP (test de mollesse)
30/04/2012	0,376	0,069	0,175	0,213	0,006	0,287

02/05/2012	0,402	0,053	0,129	0,189	0,016	0,313
03/05/2012	0,409	0,066	0,201	0,234	0,009	0,297
05/05/2012	0,356	0,055	0,188	0,205	0,007	0,291
06/05/2012	0,39	0,062	0,145	0,197	0,01	0,303
07/05/2012	0,415	0,071	0,198	0,21	0,007	0,29
08/05/2012	0,425	0,059	0,132	0,173	0,008	0,294
09/05/2012	0,431	0,063	0,189	0,2	0,011	0,305
10/05/2012	0,389	0,056	0,142	0,195	0,005	0,276
Moyenne	0,399	0,061	0,166	0,201	0,008	0,295
Max	0,431	0,071	0,201	0,234	0,016	0,313
Min	0,356	0,053	0,129	0,173	0,005	0,276
Ecartype	0,024	0,006	0,029	0,016	0,003	0,01

Tableau n°5 : résultats du taux d'alcool dans les différent cas par le dosage en retour



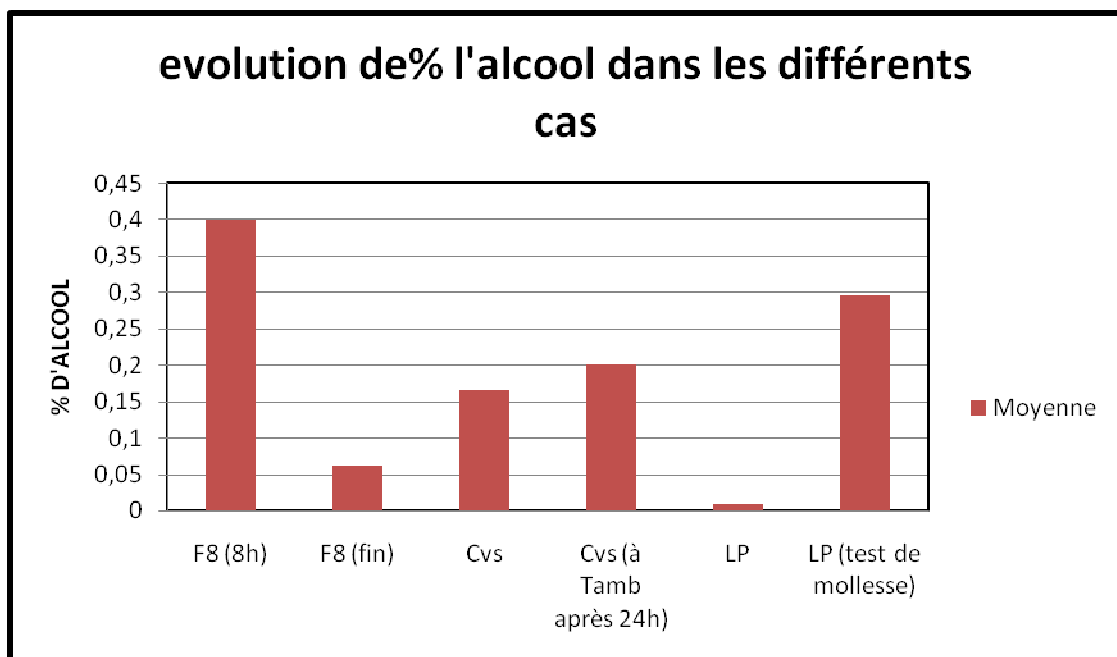
Histogramme 4 : évolution de taux d'alcool dans les différent cas

Méthode colorimétrique :

%d'alcool												
	F8 (8h)		F8 (fin)		Cvs		CBS (à Tamb après 24h)		LP		LP (test de mollesse)	
	Abs	% d'alc	Abs	% d'alc	Abs	% d'alc	Abs	% d'alc	Abs	% d'alc	Abs	% d'alc
30/04/2012	0,731	0,37	0,132	0,067	0,341	0,173	0,419	0,212	0,011	0,006	0,112	0,284
02/05/2012	0,794	0,402	0,1	0,051	0,253	0,128	0,369	0,187	0,026	0,015	0,123	0,312
03/05/2012	0,8	0,405	0,13	0,066	0,391	0,198	0,458	0,232	0,017	0,009	0,116	0,295
05/05/2012	0,701	0,355	0,106	0,054	0,367	0,186	0,401	0,203	0,011	0,006	0,114	0,29
06/05/2012	0,751	0,38	0,118	0,06	0,282	0,143	0,385	0,195	0,017	0,009	0,118	0,301
07/05/2012	0,81	0,41	0,136	0,069	0,387	0,196	0,407	0,206	0,013	0,007	0,113	0,288
08/05/2012	0,836	0,423	0,112	0,057	0,256	0,13	0,33	0,172	0,013	0,007	0,114	0,29
09/05/2012	0,847	0,429	0,124	0,063	0,373	0,189	0,391	0,198	0,019	0,01	0,119	0,302
10/05/2012	0,76	0,385	0,108	0,055	0,272	0,138	0,383	0,194	0,009	0,005	0,108	0,275

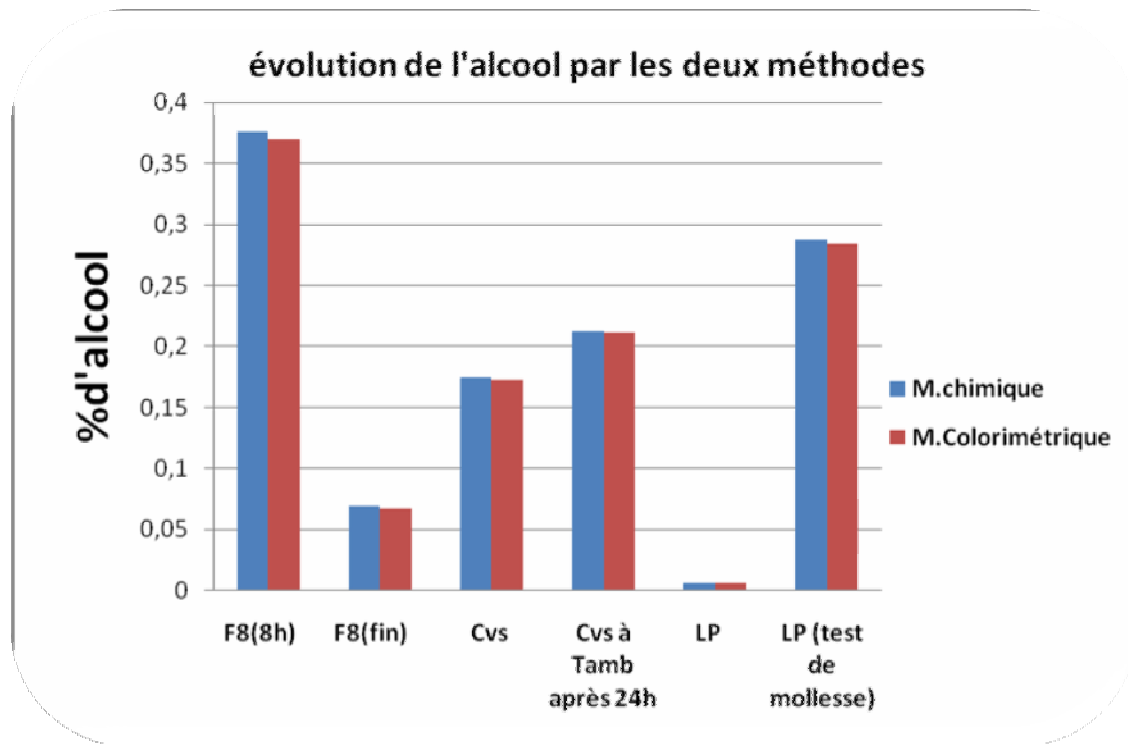
Moyenne	0,781	0,395	0,119	0,06	0,325	0,164	0,395	0,199	0,016	0,008	0,115	0,293
Max	0,847	0,429	0,136	0,069	0,391	0,198	0,458	0,232	0,029	0,015	0,123	0,312
Min	0,701	0,355	0,1	0,051	0,253	0,128	0,339	0,172	0,009	0,005	0,108	0,275
Ecartype	0,048	0,024	0,012	0,006	0,058	0,029	0,033	0,016	0,005	0,003	0,004	0,01

Tableau n°6: résultats du taux d'alcool dans les différents cas par la méthode colorimétrique



Histogramme 5: Evolution du taux d'alcool dans les différents cas par la méthode colorimétrique

Courbe de comparaison des deux méthodes:



Histogramme6 : Evolution du taux d'alcool par les deux méthode dans les deux méthodes

Interprétation :

Les résultats du 8^{ème} fermenteur affirment ceux trouvé préalablement dans l'étude mené sur la totalité de la chaîne de production.

Les même interprétations qu'avant sont valables pour la description de l'évolution du taux d'alcool, La méthode colorimétrique et également valider.

Les deux tests effectuer sur la levure fraiche et la crème de stockage montre l'effet de température de conservation sur l'activation du métabolisme cellulaire de la levure ce qui est traduit par l'augmentation du % d'éthanol

c). Suivi de l'évolution des cellules bourgeonnantes :

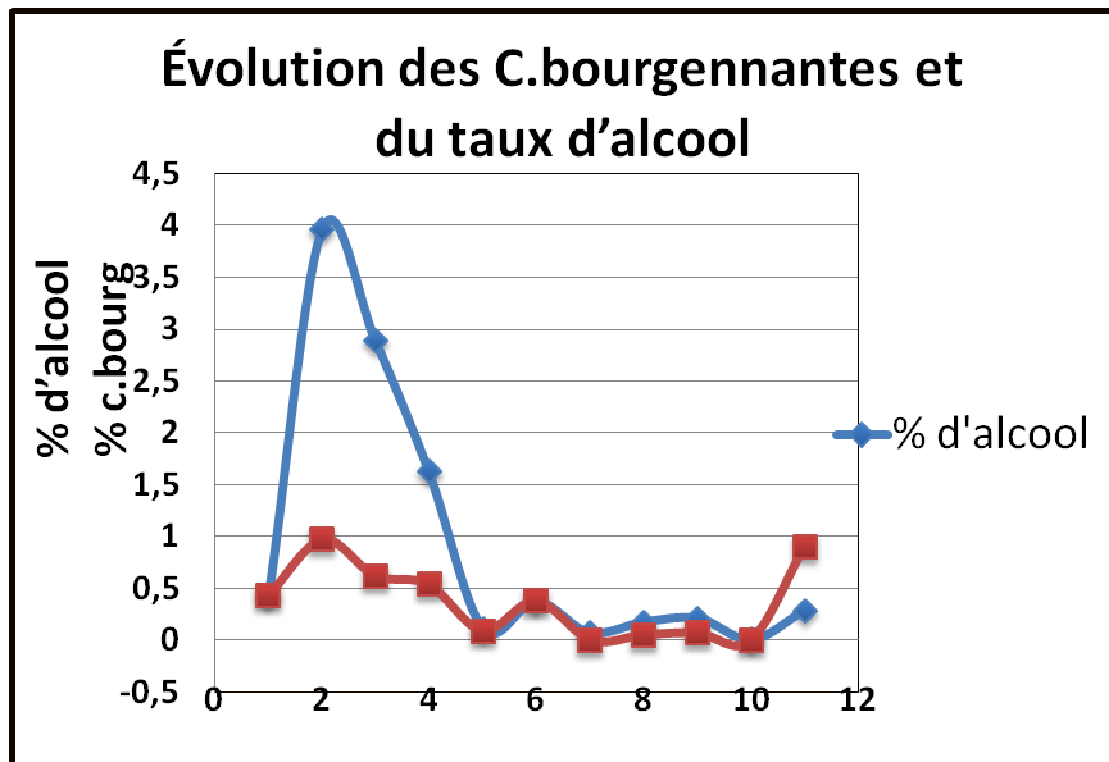
En parallèle de ces études nous avons suivi le % des cellules bourgeonnantes à l'aide d'un microscope :

% cellule bourgeonnant= totalité des cellules bourgeonnante/totalité des cellules présent dans le champ

Les résultats des observations sont présentés simultanément avec l'évolution du taux d'alcool dans le graphe suivant :

	PC	Cb	Cul	PF	LM	F8 (8h)	F8 (fin)	Cvs	Cvs T _{amb}	à LP	LP (molle)
% d'alcool	0,425	3,963	2,889	1,625	0,11	0,376	0,069	0,175	0,213	0,006	0,287
% C.bourgeonnantes (*100)	0,436	0,97	0,62	0,54	0,09	0,38	0,0002	0,05	0,07	0	0,9

Tableau n°7 : résultats du taux d'alcool et du % des cellules bourgeonnantes dans les Différentes étapes de production



Courbe 9 : Evolution du taux d'alcool et des cellules bourgeonnantes dans les différentes étapes de production

1 : PC

7 : F8 (fin)

2 : Cb

8 : Cvs

3 : Cul

9 : Cvs à T_{amb}

4: PF

10: LP

5: LM

11: LP molle

6: F8 (8h)

Interprétation :

On remarque que le pourcentage des cellules bourgeonnantes suit la même variation que le taux de l'alcool.

Au cours de la production de la biomasse, les cellules sont toujours en multiplication, donc en bourgeonnement et produisent l'alcool.

Conclusion générale

Au terme de ce stage, effectué au service d'analyse laboratoire LESAFFRE Maroc, nous nous sommes intéressés à la détermination de pourcentage de l'alcool dans la levure par deux méthodes :

- le dosage en retour et la méthode colorimétrique.

La quantité de l'alcool dans la levure est déterminée par oxydation de l'alcool éthylique par le bichromate de potassium.

D'après les différentes analyses effectuées sur les données collectées, nous pouvons affirmer que la méthode colorimétrique est validée.

Le service laboratoire LESAFFRE Maroc peut remplacer l'ancienne méthode « le dosage en retour » par cette nouvelle méthode « colorimétrie », dans le but d'économiser le sel de mohr.

A la lumière des analyses réalisées, le bilan de ce stage s'avère positif. Il nous a permis de perfectionner et de confronter nos connaissances théoriques et pratiques acquises durant nos études universitaires. Aussi nous avons développés nos relations interpersonnelles et acquis une méthode de travail et de la discipline de soi.

Toutes ces connaissances sont nécessaires pour l'équilibre et la stabilité de notre futur.

BIBLIOGRAPHIQUES

1. Annie LOÏEZ, production de la levure de panification par biotechnologie, les Essentiels, www.techniques-ingenieur.fr
2. Patrice COGNART, Françoise RERGOAT, Maurice NONUS, Jean-Michel LEBEAUT, Fermenteurs industriels-conception et réalisation, les Essentiels, www.techniques-ingenieur.fr
3. Biotechnologie des levures, J.P LARPENT
4. www.lesaffre.com
5. www.wikipedia.org/wiki/Levure