

Sommaire

❖ Introduction	1
❖ Présentation du lieu de stage.....	2
I. La société LESAFFRE-MAROC.....	2
II. Organigramme	2
III. Description et activité du laboratoire d'analyses Lesaffre-Maroc	3
❖ Partie 1 : Revue Bibliographique :.....	4
I. La levure :	5
1. Définition	5
2. Composition d'une cellule de levure.....	5
3. Saccaromyces cerevisiae.....	5
4. Développement de la levure.....	5
II. Différentes étapes de la production industrielle de la levure.....	6
1. Matière première.....	6
2. Etapes de production de la levure :.....	6
a) Préparation de la levure mère :	6
b) Séparation :.....	7
c) Stockage « crème commerciale » :.....	7
d) Filtration :.....	7
e) Conditionnement :.....	8
f) Conservation :.....	8
III. Sels nutritifs :.....	10
1. Sels nutritifs utilisés par la société Lesaffre-Maroc.....	10
a) Urée :.....	10
b) Phosphate mono ammonium (MAP) :.....	10
c) Sulfate d'ammonium :.....	10
2. Etapes de traitement des sels nutritifs.....	10
❖ Partie 2 : Matériel et méthodes.....	13
I. Matériel :.....	14
1. Cuve de préparation :.....	14
2. Filtre :.....	14
3. Pompe :.....	14
4. Débitmètre :.....	15
II. Plan de nettoyage.....	15
III. Analyses effectuées au laboratoire microbiologique :.....	15
1. Recherche des Bactéries totales :.....	15
a) Définition :.....	16
b) Milieu de culture :.....	16
c) Ensemencement, incubation et lecture des résultats :.....	16
2. Recherche des Coliformes totaux :	16
a) Définition :.....	16
b) Milieu de culture :.....	17
c) Ensemencement, incubation et lecture des résultats :.....	17
❖ Partie 3 : Résultats et discussion.....	18
I. Urée :.....	19
II. Mono-ammonium phosphate :	21
III. Sulfate d'ammonium :	23
❖ Conclusion.....	25
❖ Références	26

INTRODUCTION

La levure fait partie des biotechnologies traditionnelles qui ne reposent sur aucune connaissance théorique mais sur une utilisation empirique.

Ce micro-organisme fait penser à l'univers de la boulangerie et de la panification. Or, il n'est pas présent que dans ce domaine.

Dans l'industrie de fermentation, la levure est employée dans les industries alimentaires pour la fabrication du pain, du vin ou de la bière. Elle est également employée dans les filières non alimentaires comme celles des biocarburants pour produire l'éthanol.

D'autres applications :

- en alimentation par exemple comme exhausteurs de goût,
- en nutrition et santé comme complément alimentaire et probiotique,
- en médecine pour la recherche biomédicale et dans la voie de synthèse d'antibiotiques et d'autres molécules d'intérêt, elle est également employée comme organisme modèle en génétique,
- en environnement pour la dépollution, la valorisation des déchets et la protection des cultures.

Cependant, elle joue parfois un rôle négatif en contaminant et en dégradant les aliments ; Certaines sont pathogènes pour l'Homme ou les animaux.

En effet, *Saccharomyces cerevisiae*, espèce à laquelle appartient la levure de boulangerie a été et est encore l'un des organismes modèles les plus utilisés en laboratoires de recherche universitaires pour des études biochimiques, physiologiques et génétiques.

Pendant ce stage, j'ai eu l'occasion d'effectuer au sein de la société « LESAFFRE MAROC » spécialisée dans la fabrication de levure de panification, et plus précisément au sein du laboratoire d'analyse microbiologique un suivi et analyse des différentes étapes de préparation des sels nutritifs qui présentent une source d'azote et de phosphate pour la levure depuis les sacs jusqu'aux fermenteurs. Cette analyse consiste à la recherche des Coliformes totaux et des Bactéries totales dans le but de garantir un produit de bonne qualité aux consommateurs.

Ce manuscrit, sera composé de trois parties :

- Une première partie définissant la levure, relatant les différentes étapes de production de la levure et parlant sur les sels nutritifs.
- Une deuxième partie exposant le matériel et les méthodes utilisés pour le suivi des sels nutritifs.
- La troisième partie portera les résultats du suivi des sels nutritifs depuis les sacs jusqu'aux fermenteurs.

Présentation du lieu de stage

I. La société LESAFFRE-Maroc :

En 1993, la société SODERS (créée en 1975) a été majoritairement détenue par le groupe Français LESAFFRE et portant aujourd'hui comme nouvelle appellation « LESAFFRE Maroc ».

Elle présente le leader mondial dans la fabrication de la levure de panification grâce à ses connaissances approfondies sur la levure et ses compétences en biotechnologie.

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 BAKING CENTER à Casablanca.

LESAFFRE Maroc a choisi “ l'hirondelle ” comme logo, ce dernier est un symbole de proximité et de fidélité, qui traversa le temps et l'espace, c'est un logo qui identifie les produits de la société et se considère comme l'emblème fédérateur du groupe LESAFFRE MAROC dans le monde via ses 35 sites de production et sociétés commerciales et des distributions afin d'être plus proche de ses clients.

LESAFFRE Maroc fabrique et commercialise les marques de levure suivantes :

- **Jaouda** comme levure fraîche, 
- **Rafiaa** et **Nevada** comme levure sèche, ajoutant à cela un type spécial destiné et fabriqué pour saturer les besoins des forces armées royales (FAR) en levure,  
- Les améliorants de panification : les marques **Ibis bleu** et **Magimix**.



II. Organigramme :

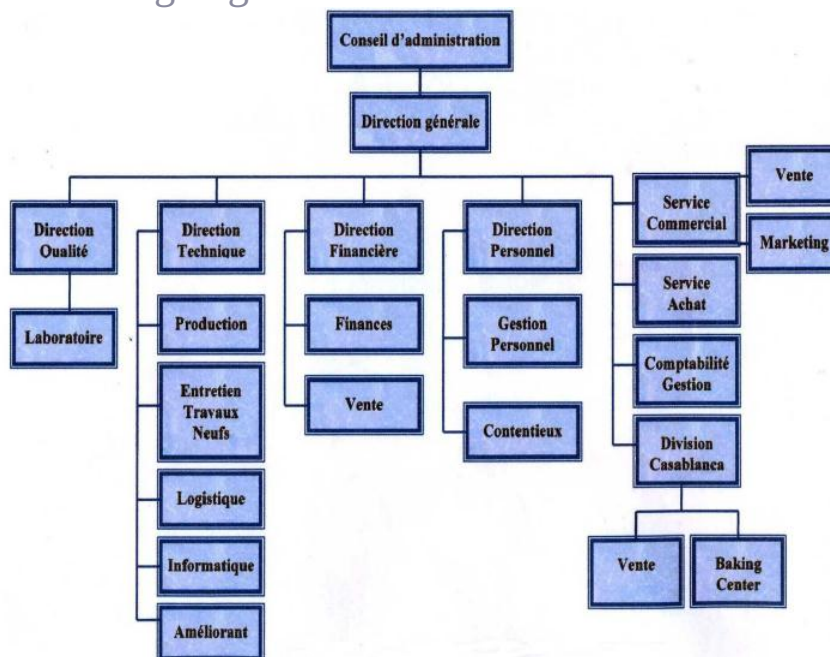


Figure 1 : Organigramme de la société LESAFFRE MAROC

III. Description et activités du laboratoire d'analyses Lesaffre-Maroc :

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

○ **Laboratoire de Microbiologie :**

La validité des contrôles microbiologiques, nécessite notamment l'obtention de résultats d'analyse fiables.

La fiabilité des résultats implique l'utilisation de méthodes validées, mises en œuvre par un laboratoire compétent.

Ce laboratoire est divisé en quatre parties :

- Salle des pathogènes où s'effectue les analyses des germes pathogènes.
- Salle des préparations où il y a la préparation des milieux de culture, la stérilisation et d'autres activités.
- Salle de stockage des matières premières.
- Salle d'analyses bactériologiques.

○ **Laboratoire physico-chimique :**

Il est équipé de matériels sophistiqués, alimenté de différents types d'eaux (eau adoucie, eau distillée, eau RADEEF) utilisées selon les besoins, et fait appel à un personnel qualifié effectuant quotidiennement des analyses physico-chimiques et veillant toujours à bien respecter les consignes du responsable de laboratoire qui lui-même participe à l'application du plan de contrôle et une efficace démarche qualité par la surveillance instantanée et le climat favorable.

Il est divisé en trois parties :

- Salle de panification où s'évalue la force panaire,
- Salle de stockage où se trouve tous les matériels et les produits initiaux,
- Salle d'analyse physico-chimique 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.

Partie 1 :

**Revue
Bibliographique**

I. La levure :

1. Définition :

La levure est un champignon microscopique, unicellulaire de forme ovoïde ou sphérique. La grande particularité de la levure est qu'il s'agit d'un **organisme vivant** !

Tout comme celles de l'homme, les cellules de levures sont vivantes et naturelles. Elles ont besoin d'air pour se multiplier, mais l'absence d'air n'est pas non plus sans conséquence sur son développement.

Sous son aspect inerte, ce bloc de levure est constitué d'une multitude d'organismes vivants, appelés scientifiquement « **micro-organismes** ». La cellule de levure a la forme d'un œuf et n'est visible qu'au microscope. En effet, sa taille ne dépasse pas les 6 à 8 millièmes de millimètres.

2. Composition d'une cellule de levure :

Cette paroi se compose :

- d'une couche externe de mannoprotéines, associés à des glucanes
- d'une couche interne de glucanes associés à de la chitine
- d'une membrane cytoplasmique riche en complexes protéiques.

Les levures sont des organismes **eucaryotes**. Le noyau des cellules contient 16 chromosomes linéaires.

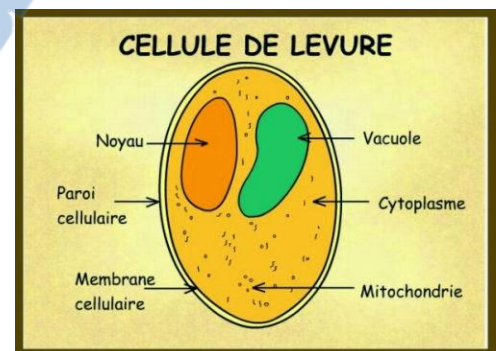


Figure 2 : Cellule de levure

3. *Saccharomyces cerevisiae* :

Il existe plusieurs espèces de levure. La plus connue s'appelle ***Saccharomyces cerevisiae***. Toutefois, il existe beaucoup d'autres genres de levures.

Étymologiquement « saccharo » vient de sucre, « Myces » de champignon et « cerevisiae » signifie « brasserie » en latin. Plus communément, les *Saccharomyces cerevisiae* sont appelées « levures de bière » et « levures de boulangerie » mais elles peuvent également prendre le nom de « levure bourgeon », de par leur mode de reproduction.

4. Développement de la levure :

- **En condition anaérobie : la fermentation est le seul moyen d'avoir de l'énergie.**

Quand il n'y a pas d'air, le sucre est essentiellement transformé en alcool, au détriment de l'énergie libérée. Cela se produit dans le cas de la fabrication du pain. La levure ne peut pas trouver plus d'oxygène. **Le sucre fourni par la farine est transformé en alcool** (qui s'évapore pendant la cuisson) **et le dioxyde de carbone**, ce qui prouve le processus métabolique de la **fermentation**. Dans la cuisson, **cette production de dioxyde de carbone provoque la pâte de lever**. Ici encore, l'énergie est libérée, en faible quantité suffisante pour vivre, mais de ne pas multiplier.

SUCRE → GAZ CARBONIQUE + ALCOOL + BASSE ENERGIE

- **En condition aérobie :**

En présence d'air, levures respirent et se multiplient abondamment, sans former de l'alcool. Le sucre se transforme en dioxyde de carbone et de l'eau. Ce phénomène est accompagné d'**énorme libération d'énergie** pour leur permettre de croître et se multiplier par bourgeonnement. Lorsque les deux cellules ont atteint la même taille, ils se séparent et le bourgeonnement des cellules se poursuit. Ce processus métabolique est appelé **respiration**. Il est utilisé par les fabricants de levure à **multiplier les cellules**.



II. Différentes étapes de la production industrielle de la levure :

Le fabricant de levure a pour objectif de produire une grande quantité de cellules vivantes. De la phase laboratoire aux cuves industrielles, il favorise la multiplication des cellules dans des conditions optimales (mélasse, température, pH...).

Les souches de levures sont des individus uniques. C'est l'association de levures sélectionnées et de procédés industriels spécifiques qui permet d'obtenir des produits performants et adaptés aux attentes des utilisateurs.

1. Matière première :

La levure pour vivre, a besoin de :

- Source de carbone : la mélasse. C'est un sous-produit de l'industrie sucrière et la principale source de matières premières de la levurerie. La mélasse est riche en saccharose (contient 50% de sucre), de l'eau, des sels minéraux, de la vitamine B et des matières azotées, des protéines (10 %), des acides aminés (4%), la bétaine (4%), et des cendres en faibles quantités (K_2O , Na_2O ...).
- Source d'azote, de sulfate et de phosphate : les sels nutritifs (Urée, Sulfate d'ammoniac et mono ammonium phosphate).
- Source de minéraux et vitamines.

2. Etapes de production de la levure :

a) Préparation de la levure mère :

Chaque mois, la société Lesaffre Maroc reçoit de la France deux souches de *Saccharomyces cerevisiae*. Une destinée à la levure fraîche (L20) et l'autre à la levure sèche (L13). Ces souches sontensemencées dans des tubes dans un milieu nutritif spécifique à la croissance des levures pour préparer 60 tubes par mois (30 tubes de chaque souche). Le contenu des tubes est transvasé dans un petit icône appelé « Van Lear » (250 mL) dont le milieu nutritif très riche rendra possible une première multiplication et donc la production de nombreuses cellules.

Après 24h les levures obtenues sont inoculées dans une autre verrerie appelée « Carlsberg » (7L) où elles se multiplient à nouveau à une température de 28°C pendant 24h avec agitation

pour l'aération de la levure. On obtient donc une quantité de levure suffisante pour passer à l'échelle semi industriel qui se déroule dans une cuve de 800 litres.

▪ **Pré-fermentation :**

Après incubation dans la cuve de 800 L, le liquide obtenu passe à la cuve de la pré-fermentation où on ajoute la mélasse et les autres éléments tels que l'urée (source d'azote), le phosphate, les sels minéraux et l'acide sulfurique (H_2SO_4) car les levures vivent dans les milieux acides, ainsi qu'une aération par l'oxygène qui provient de l'air est obligatoire et on contrôle aussi le pH qui doit être entre 3,4 et 4,5 avec agitation.

▪ **Fermentation :**

Après la pré-fermentation on passe à la fermentation qui se fait dans des grandes cuves. Dans cette étape l'alimentation en mélasse et les autres ingrédients est continue, après certain temps (17h) on aura une grande population de levure sous forme liquide qu'on appelle le moût (un mélange de levure, d'eau et du reste de la mélasse).

On ajoute une anti-mousse pour éviter les mousses qui se produisent lors de la fermentation. Les grandeurs qui influencent la levure sont la température, le pH, le taux d'alcool.

Remarque : La température est contrôlée à l'aide d'un régulateur lié à un échangeur de chaleur qui refroidit le mout pour ne pas tuer la levure.

b) Séparation :

La séparation de la cellule de levure du moût est une opération effectuée en continue dans une salle de séparation qui contient des appareils centrifuges, à la fin de l'opération on obtient une crème qui contient de la levure pure.

La crème obtenue est refroidie et stockée à une température de 4°C, puis elle est passée à la cuve d'acidification pour lutter contre le développement des bactéries.

c) Stockage « crème commerciale » :

Après la séparation, la crème obtenue est acidifiée par l'acide sulfurique à $pH = 2$ pour éviter la contamination et réguler la matière sèche.

La crème est refroidie à 4°C et stocké dans de grands bacs.

d) Filtration :

La levure-crème contient encore plus de 30 % d'eau, alors cette étape consiste à éliminer cette eau pour la préserver d'une éventuelle contamination puisque l'eau facilite l'altération par des microorganismes.

La crème stocké passe à travers des filtres rotatifs, recouverts d'une couche d'amidon, cette couche est maintenue par des pompes à vide qui ne laisse passer que les molécules d'eau et empêche le passage de la levure qui reste étalée sur le filtre. La levure est ensuite raclée par un couteau fixé sur le filtre. Ce couteau fonctionne d'une façon à ne pas toucher la couche d'amidon.



e) Conditionnement :

▪ **Pour la levure fraîche :**

La levure sous forme de pâte tombe dans des trémies où elle est mélangée avec une huile végétale avant de passer dans la boudineuse. Le boudin de levure pressée est découpé en cube de 500 g (Jaouda), qu'on enveloppe individuellement dans un papier paraffiné. Après mise en carton, la levure est conservée en chambre froide afin d'être réfrigérée avant son expédition.

▪ **Pour la levure sèche :**

Le gâteau provenant de la filtration sous vide est mélangé avec une quantité d'émulsifiant qui sert à conserver le produit plus longtemps et donne aussi la couleur blanche caractéristique de la levure.

Le gâteau obtenu est transformé en vermicelle à l'aide d'une grille de porosité connue, ensuite elle est transférée au sécheur par une conduite vibratoire afin d'éliminer le maximum d'eau restant dans la cellule sans l'endommager, tout en augmentant le taux de matière sèche jusqu'à 94% pour la SPH et 95.5% pour la SPI.

- **SPI : Levure sèche instantanée** sous forme de bâtonnets, elle a une durée de séchage réduite, 20 min environ pour une quantité de 1000 Kg, elle est caractérisée par une force fermentaire supérieure à celle de la SPH. Ce type de levure ne nécessite aucune phase de réhydratation avant son utilisation. Elle est emballée sous vide ou sous azote dans des sachets de 125 g, 13 g (Rafiaa) ou 500 g, 25 g (Nevada), 450 g ainsi que dans des cartons de 25 kg destinés à l'export.
- **SPH : Levure sèche active ou à réhydratation** sous forme de granules ou de sphérules, caractérisés par une durée de séchage de 4h pour une quantité de 400 Kg à 500 Kg et s'effectue à 45°C. Ce type de levure nécessite une phase de réhydratation avant son utilisation. Elle est emballée sous air dans des sachets de 50 g, 100 g et 500 g.

Remarque : SPI et SPH diffèrent par la durée de séchage et par le pourcentage de matière sèche.

f) Conservation :

La levure fraîche est conservée à 4°C, alors que la levure sèche est conservée à température ambiante.

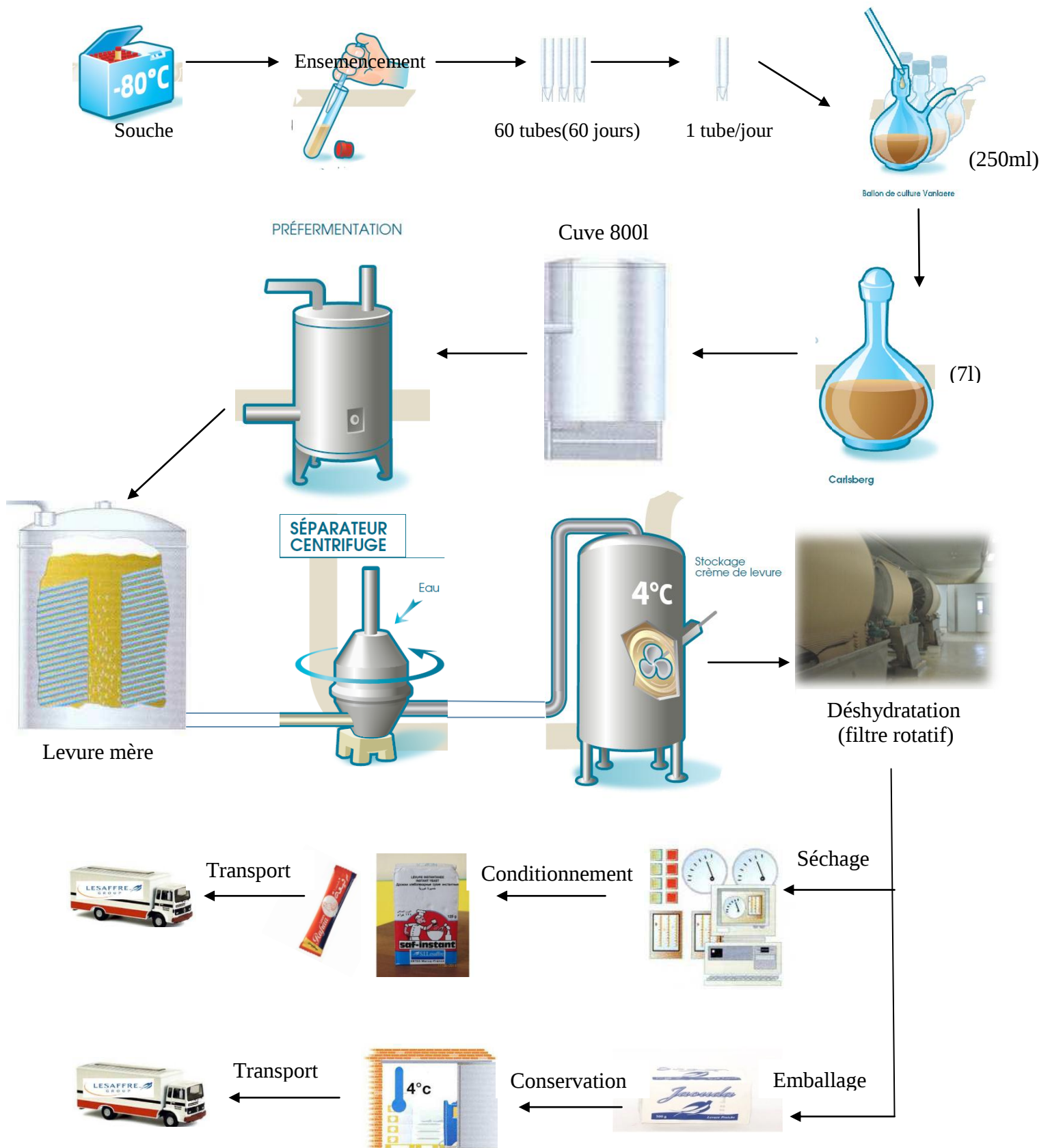


Figure 3 : Différentes étapes de production de la levure

III. Sels nutritifs :

Les sels nutritifs sont des engrais azotés et phosphatés utilisés pour répondre aux exigences nutritionnelles imposés par la croissance et la multiplication des cellules de levure.

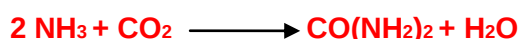
L'apport azoté de mélasse est largement insuffisant pour couvrir les besoins de la levure. L'ajout d'azote dans les fermenteurs se fait habituellement sous forme de sels d'ammonium (sulfate ou phosphate), ou d'urée

1. Sels nutritifs utilisés par la société Lesaffre Maroc :

a) Urée :

La levure peut utiliser des sources d'azote différentes tels les acides aminés, les peptides, les bases simples. Mais l'azote sous forme d'ion ammonium est plus facilement assimilable.

L'urée est fabriquée en faisant agir l'ammoniac (NH_3) avec CO_2 sous pression :



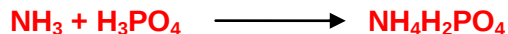
Conservée sous forme de poudre cristalline blanche dans des sacs de 50 Kg, sans odeur et soluble dans l'eau. Il contient 21% d'azote.

b) Phosphate mono ammonium (MAP) :

Saccharomyces cerevisiae utilise le MAP comme unique source de phosphore.

Il sert à la synthèse des lipides, des hydrates de carbone et participe au maintien de l'intégrité membranaire. Il est aussi une source d'azote.

C'est un produit de la réaction d'une molécule d'ammoniac avec une molécule d'acide phosphorique :



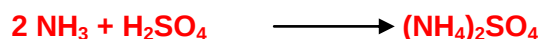
Le MAP est utilisé pour sa teneur élevée en phosphore. Il comprend 61% de PO_4 et 21% d'azote ammoniacal.

Il est conservé sous forme de cristaux dans des sacs de 25 kg, sans odeur et soluble dans l'eau.

c) Sulfate d'ammonium :

Le sulfate d'ammonium est un sel très pur. Il est indispensable à la biosynthèse des protéines de levures nécessaires à la multiplication cellulaires, ainsi qu'à la biosynthèse des protéines pariétales au transfert des sucres de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule.

Il résulte de la réaction entre l'ammoniac et l'acide sulfurique, qui se présente sous forme d'une poudre blanche cristalline, fine, inflammable et sans odeur.



2. Etapes de traitement des sels nutritifs :

✓ Stockage

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.

✓ Dilution

La dilution se fait afin de réaliser la concentration souhaitée des sels.

Les sels bruts se mélangent avec l'eau dans des bacs ayant des volumes différents :

- Pour l'urée on met 45 sacs de 50 kg dans un volume d'eau de 10000 L.
- Pour le sulfate d'ammonium on met 25 sacs de 50 kg dans un volume d'eau de 6000 L.
- Pour le Mono ammonium phosphate, on met 50 sacs de 25 kg dans un volume d'eau de 10800 L.

✓ **Chloration**

La chloration est l'action de désinfecter avec des produits chlorés (eau de javel). Ce composé contient des atomes de chlore, qui a des propriétés rémanentes. Ce qui signifie que son action désinfectante est valable tout le long de la préparation des sels.

On effectue la chloration au moment de préparation des sels nutritifs par l'ajout d'un volume d'eau de javel afin d'éviter toute contamination des solutions :

- 1 L d'eau de javel pour Urée ;
- 1 L d'eau de javel pour MAP ;
- $\frac{1}{2}$ L d'eau de javel pour Sulfate.

✓ **Filtration :**

Avant le transfert au bac du stockage la solution diluée traverse un filtre qui contient des pores très fines afin d'éliminer les impuretés.

✓ **Refoulement :**

Le refoulement de la solution diluée s'effectue par les pompes centrifuges.

✓ **Stockage des sels dilués :**

Après l'élimination de la partie sursaturante, on transfère la partie soluble au bac de stockage.

✓ **Distribution**

Les cuves se trouvant dans la salle de stockage sont connectées aux fermenteurs pour leur alimentation. Le contrôle de la quantité des sels qui passe dans les cuves se fait dans la salle de contrôle par des débitmètres.

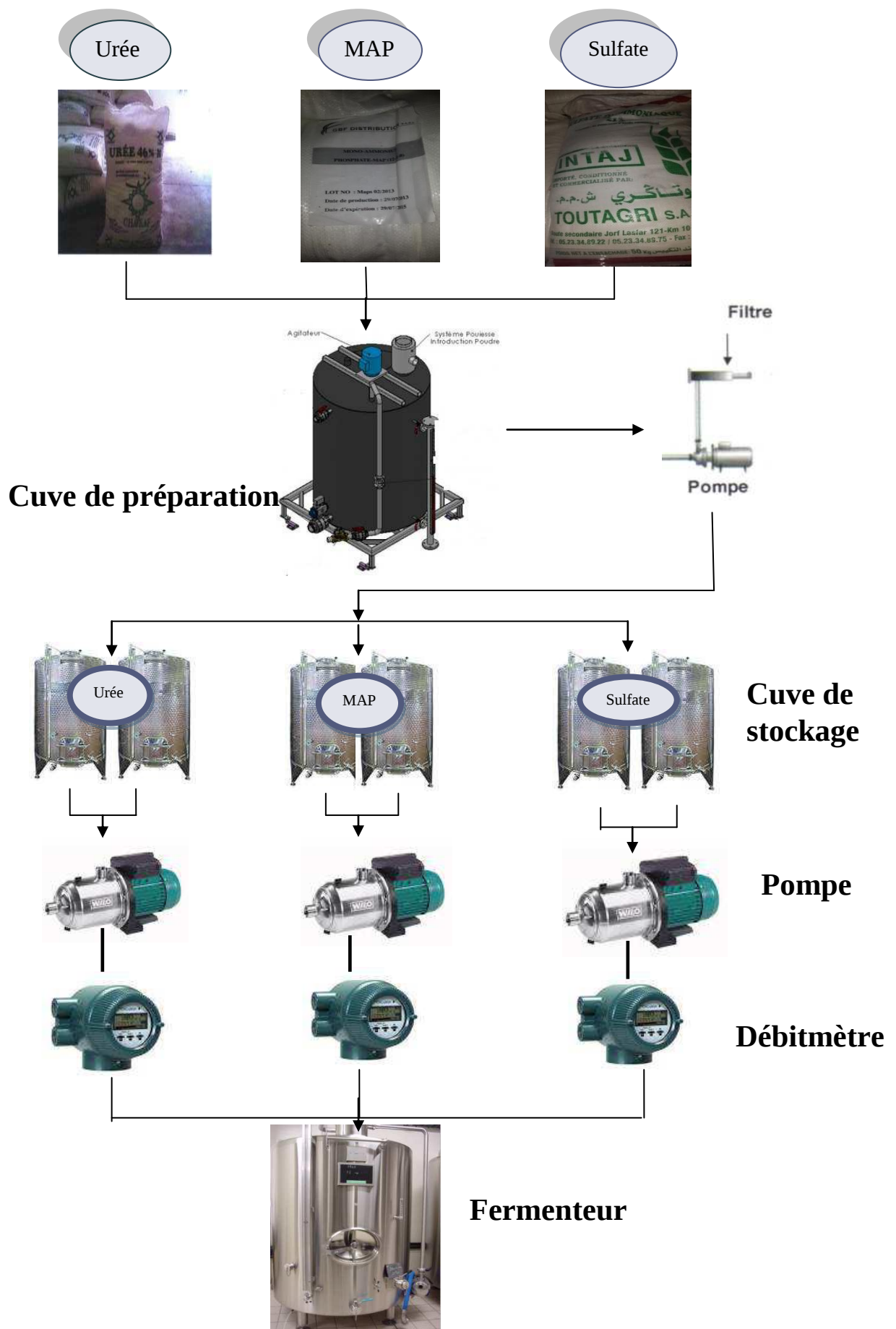


Figure 4 : Schéma général de la préparation des sels nutritifs

Partie 2 :

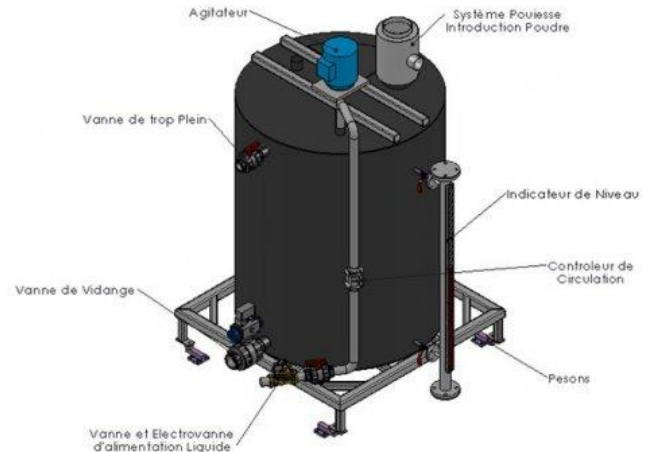
**Matériel
et
Méthodes**

I. Matériel :

1. Cuve de préparation :

La cuve de préparation des sels se compose :

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



2. Filtre :

Un filtre se présente sous forme d'un cylindre, il permet de :

- Améliorer la clarté et la brillance ;
- Stabiliser la limpidité ;
- Affiner les propriétés organoleptiques en réduisant certains défauts.

NB : le filtre de la cuve est nettoyé tous les jours.

3. Pompe :

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

Les pompes véhiculant des liquides se divisent en deux catégories principales :

- **les pompes centrifuges** : le mouvement du liquide résulte de l'accroissement d'énergie qui lui est communiqué par la force centrifuge. C'est le type utilisé chez la société Lesaffre Maroc.
- **les pompes volumétriques** : l'écoulement résulte de la variation d'une capacité occupée par le liquide.

Principe de fonctionnement de pompe centrifuge :

Une pompe centrifuge est constituée par :

- une roue à aubes tournant autour de son axe.
- un distributeur dans l'axe de la roue.
- un collecteur de section croissante, en forme de spirale appelée volute.

Le liquide arrive dans l'axe de l'appareil par le distributeur et la force centrifuge le projette vers l'extérieur de la turbine. Il acquiert une grande énergie cinétique qui se transforme en énergie de pression dans le collecteur où la section est croissante. L'utilisation d'un diffuseur (roue à aubes fixe) à la périphérie de la roue mobile permet une diminution de la perte d'énergie.



4. Débitmètre :

Un débitmètre est un appareil destiné à mesurer le débit d'un fluide, liquide ou gazeux.



Il doit être :

- Fiable
- Précis
- Hygiénique

II. Plan de nettoyage :

	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
Cuve de Préparation	Soude+ Ac Nitrique		Soude		Soude		Soude
Cuve de stockage Urée n°1		Soude+ Ac Nitrique		Soude		Soude	
Cuve de stockage Urée n°2	Soude		Soude+ Ac Nitrique		Soude		Soude
Cuve de stockage SA n°1		Soude		Soude+ Ac Nitrique		Soude	
Cuve de stockage SA n°2	Soude		Soude		Soude+ Ac Nitrique		Soude
Cuve de stockage MAP n° 1		Soude		Soude		Soude+ Ac Nitrique	
Cuve de stockage MAP n° 2	Soude		Soude		Soude		Soude+ Ac Nitrique
Circuit refoulement Vers stockage		Soude+ Ac Nitrique		Soude		Soude	
Circuit de Consommation des sels	Soude		Soude+ Ac Nitrique		Soude		Soude

III. Analyses effectuées au laboratoire microbiologique :

Au sein du laboratoire de la société Lesaffre, 2 sortes d'analyses sont effectuées pour les sels nutritifs pour vérifier s'ils répondent aux normes, il y a les analyses microbiologiques et les analyses physico-chimique.

Les prélèvements sont réalisés dans des conditions stériles pour ne pas contaminer les échantillons (pour l'analyse microbiologique) :

- On désinfecte les robinets des cuves où se trouvent les sels avec de l'alcool
- On ouvre le robinet afin d'éliminer la fraction des sels qui reste dans les conduits
- Prélever les échantillons dans des flacons stériles
- Fermer les robinets et les désinfecter encore une fois avec l'alcool.

Les échantillons analysés ont été prélevés à partir de différents étapes de préparation :

- Les sels en poudre (à partir des sacs)
- Les sels nutritifs (urée, Sulfate, Phosphate), à partir de :
 - Station de stockage.
 - Entrée du fermenteur (circuit).

➤ Analyses microbiologiques :

1. Recherche des Bactéries totales :

a) 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. Ce dénombrement se fait à 30 °C ce qui permet de dénombrer trois grands types de flore :

- la flore thermophile, température optimale de croissance à 45°C ;
- la flore mésophile, température optimale de croissance entre 20°C et 40°C ;
- la flore psychrophile, température optimale de croissance à 20°C.

Comme il s'agit d'un milieu ordinaire, la plupart des micro-organismes peuvent se développer, sauf ceux qui sont exigeants et les micro-organismes anaérobies stricts. Il est donc préférable de parler de Flore Mésophile Aérobie à 30°C que de « flore totale ».

L'unité est l'UFC (Unité Formant Colonie) car une colonie observable sur la gélose peut venir d'un micro-organisme isolé, d'une spore ou encore d'une association de micro-organismes.

b) Milieu de culture :

La gélose nutritive glucosée (GNG) est un milieu ordinaire, sans inhibiteur, qui permet de compter l'ensemble des bactéries capable de croître à 30°C.

Ce milieu est composé de :

- Peptone : 5,0 g/L
- Extrait de levure : 2,5 g/L
- Glucose : 1,0 g/L
- Agar : 15,0 g/L

Le pH =7



c) Ensemencement, incubation et lecture des résultats :

L'ensemencement consiste à prendre 1ml de l'échantillon et le déposer dans une boîte de pétri dans des conditions bien stériles (désinfection de la paillasse, travail près de la flamme, boîtes stériles...).

Les boîtes sont ensuite incubées à 30°C pendant 72h (3 jours).

Le nombre de colonies est compté dans chaque boîte.

Remarque : Pendant la recherche des bactéries totales dans les sels en poudre, on a réalisé des dilutions dans le tryptone-sel et l'ensemencement a été fait à partir de la dilution (dilution 1).

2. Recherche des Coliformes totaux :

a) Définition :

Les coliformes totaux constituent un groupe de bactéries présent naturellement sur les végétaux, dans les sols ainsi que dans les intestins des humains et des animaux à sang chaud. Puisqu'ils

sont très répandus dans l'environnement, ils font partie des nombreux outils opérationnels permettant d'évaluer l'efficacité d'un système de traitement de l'eau potable.

Ces entérobactéries 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 β galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35°C afin de produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié.

b) Milieu de culture :

Le milieu utilisé à Lesaffre Maroc pour les coliformes est la Gélose au Désoxycholate.

Ce milieu est un milieu sélectif utilisé pour le dénombrement des coliformes dans les eaux, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires. Il est également employé pour la différenciation et l'isolement des entérobactéries à partir des prélèvements d'origine animale.

Il est composé de :

- Peptone 10,0 g
- Citrate de sodium 1,0 g
- Lactose 10,0 g
- Rouge neutre 0,03 g
- Désoxycholate de sodium 1,0 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Hydrogénophosphate de potassium 2,0 g
- Agar 13,0 g

Le pH = 7,3



c) Ensemencement, incubation et lecture des résultats :

L'ensemencement se fait de la même façon que pour les bactéries totales.

Ils sont incubés à 30°C pendant 24h.

Le nombre de colonies est compté dans chaque boîte.

Remarque : pour la recherche des coliformes totaux dans les sels en poudre on procède de la même manière que pour les FMAT (dilution dans tryptone-sel et ensemencement à partir de cette dilution).

Partie 3 :

Résultats

et

Discussion

I. Urée :

Tableau 1 : Concentration des germes dans les différentes stations par rapport aux dates de prélèvements pour l'urée

	Urée					
Dates	[Coliformes totaux](UFC/mL)			[Bactéries totales](UFC/mL)		
	Sac	Stockage	Circuit	Sac	Stockage	Circuit
22 avril	0	0	0	10	0	0
24 avril	0	0	0	0	0	0
27 avril	0	0	0	0	0	0
29 avril	0	0	0	10	0	20
04 mai	0	0	0	0	0	0
06 mai	0	0	0	0	40	110
08 mai	0	0	0	0	0	0
11 mai	0	0	0	0	0	0
15 mai	0	0	0	0	0	0
18 mai	0	0	0	10	0	0

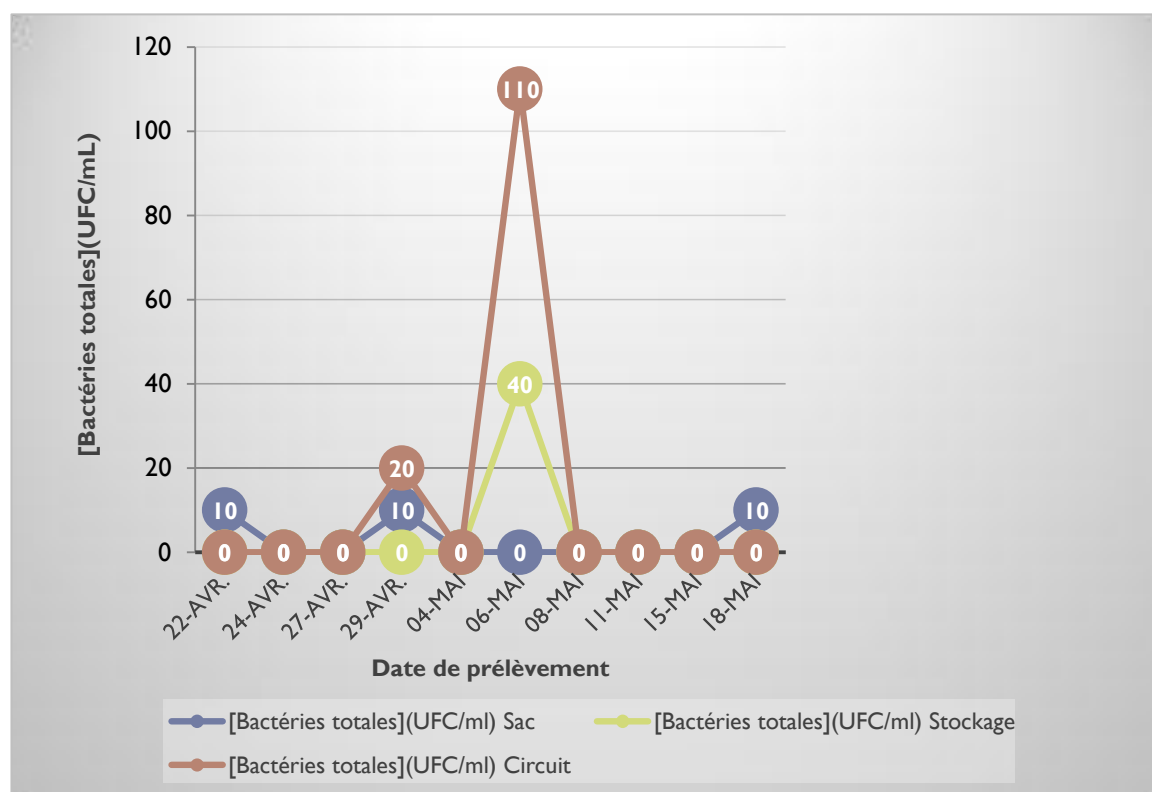


Figure 5 : Représentation graphique des bactéries totales dans les trois stations de l'urée par rapport aux dates de prélèvement

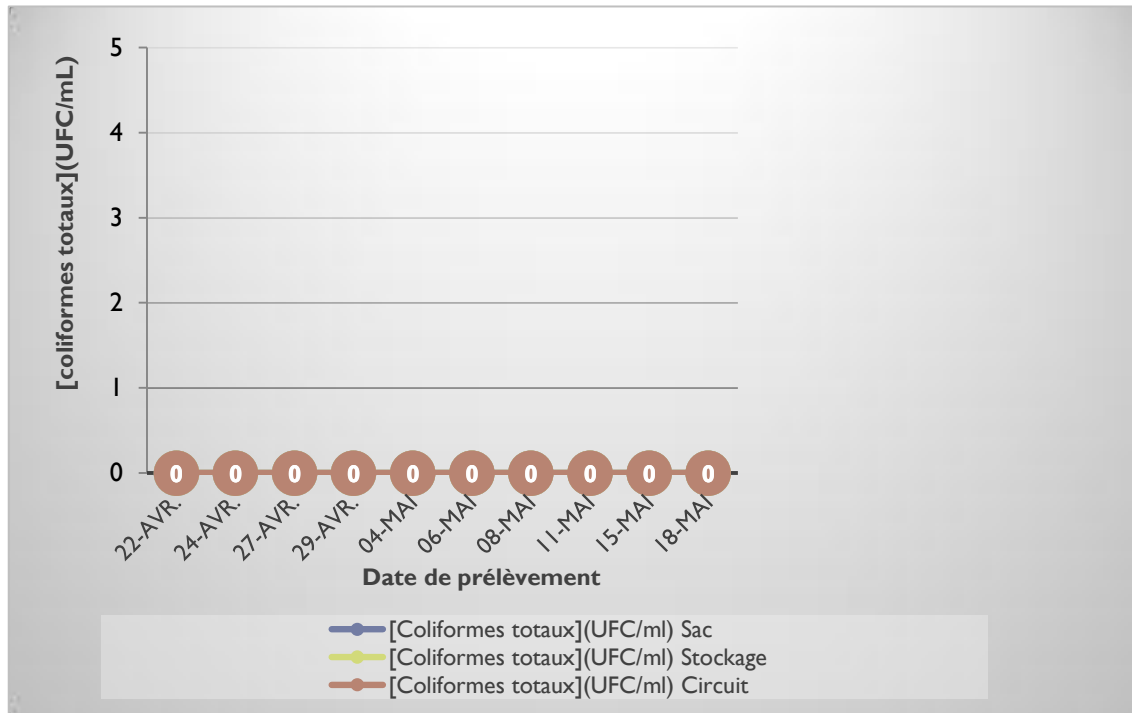


Figure 6 : Représentation graphique des coliformes totaux dans les trois stations de l'urée par rapport aux dates de prélèvement

❖ *Interprétation et commentaire :*

- Pour les Coliformes totaux, on a absence de contamination par ces germes dans les 3 stations de prélèvement.

Ceci peut être expliqué par l'ajout de l'eau de javel comme désinfectant lors de la préparation des sels nutritifs.

- La concentration des bactéries totales est variée d'une station à l'autre :
 - Pour les sels en poudre, on a 10 UFC/mL le 22 avril, qui devient 0 UFC/mL le 24 et le 27 avril. Le 29 avril on a encore 10 UFC/mL. Le jour de prélèvement qui suit (le 4 mai) on a 0 UFC/mL la même chose se répète jusqu'au 15 mai (0 UFC/mL). Le 18 mai, on a apparition de 10 UFC/mL.

Puisqu'il n'y a pas de traitement qui se fait pour les sacs et d'après ces résultats (qui sont faibles par rapport à la norme) on peut dire que ces contaminations peuvent provenir d'une mauvaise manipulation.

- Dans les cuves de stockage, on a 0 UFC/mL du 22 avril jusqu'au 4 mai. Le 6 mai on a 40 UFC/mL, puis du 8 au 18 mai il n'y a plus de contamination.
- Dans les circuits, aucun germe n'apparaît jusqu'au 29 avril (20 UFC/mL) qui devient 0 UFC/mL le 4 mai. Le 6 mai on a 110 UFC/mL et après cette on a plus de contamination. Ceci peut être dû au nettoyage des cuves qui a été efficace.

II. Mono-ammonium Phosphate (MAP) :

Le tableau ci-dessous présente la concentration des germes présents dans le mono ammonium phosphate par rapport à la date de prélèvements au niveau des sacs, des cuves de stockage et du circuit de distribution :

Tableau 2 : Concentration des germes dans les différentes stations par rapport aux dates de prélèvements pour le mono ammonium phosphate

	MAP					
Dates	[Coliformes totaux](UFC/mL)			[Bactéries totales](UFC/mL)		
	Sac	Stockage	Circuit	Sac	Stockage	Circuit
22 avril	0	0	0	0	0	0
24 avril	0	0	0	10	0	0
27 avril	0	0	0	0	0	0
29 avril	0	0	0	10	0	0
04 mai	0	0	0	10	0	0
06 mai	0	0	0	0	0	0
08 mai	0	0	0	0	0	0
11 mai	0	0	0	0	0	0
15 mai	0	0	0	0	0	0
18 mai	0	0	0	0	0	0

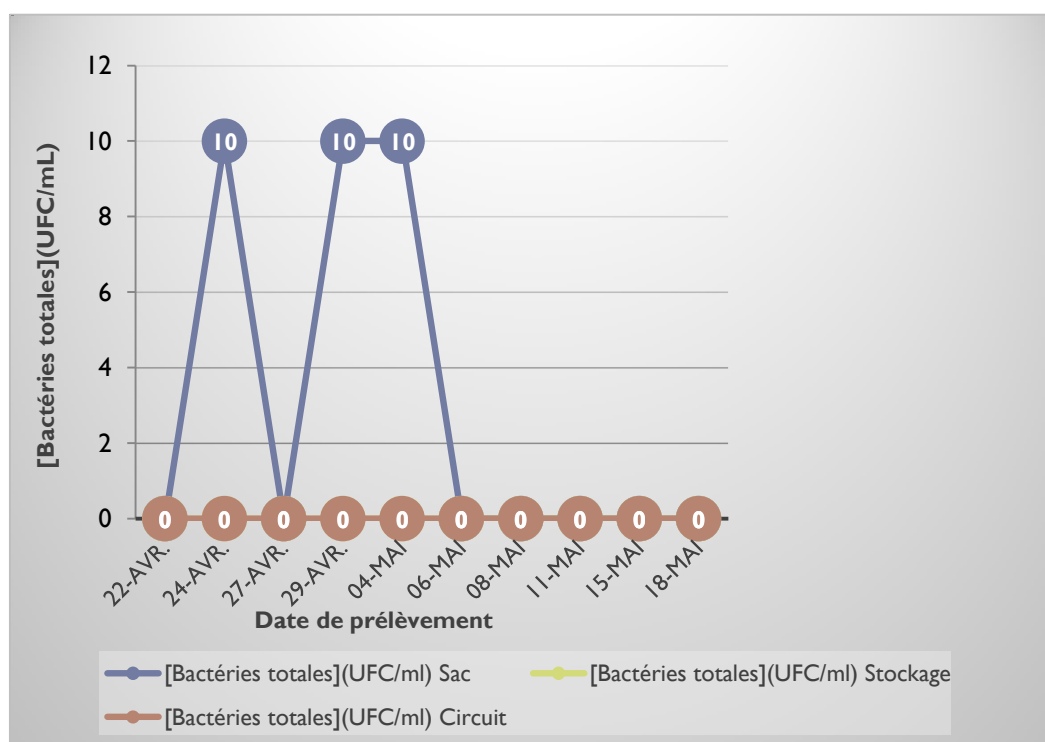


Figure 7 : Représentation graphique des bactéries totales dans les trois stations du MAP par rapport aux dates de prélèvement

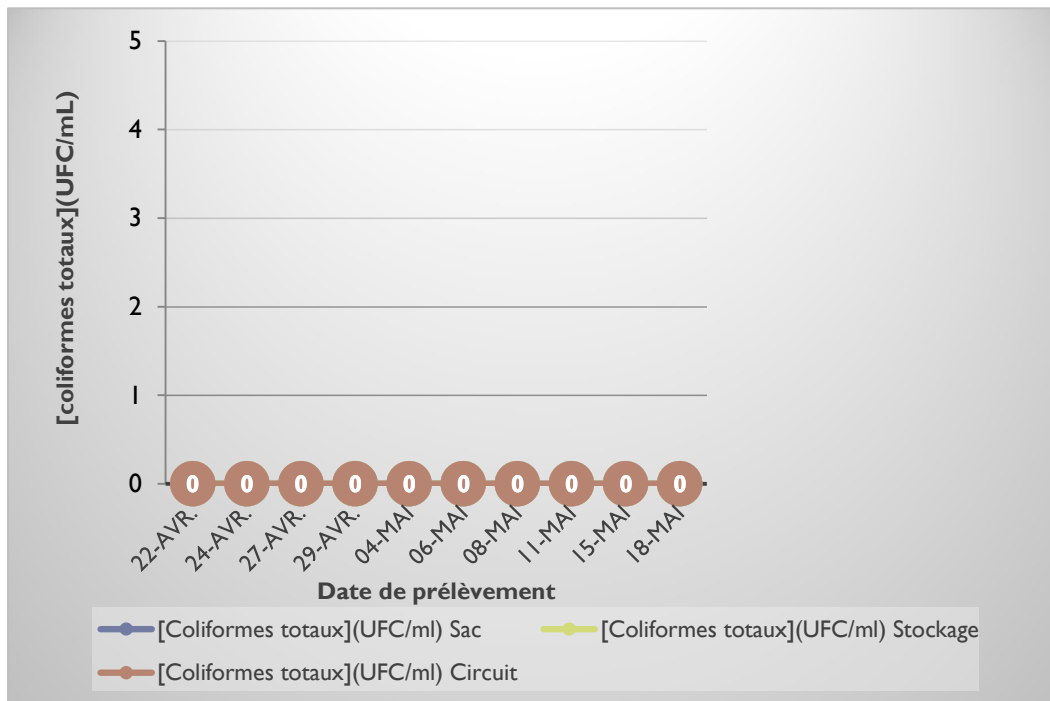


Figure 8 : Représentation graphique des coliformes totaux dans les trois stations du MAP par rapport aux dates de prélèvement

❖ *Interprétation et commentaire :*

- Pour les Coliformes, il n'y a pas de contamination.
- Pour les bactéries totales, à chaque analyse on a obtenu 0 UFC/mL dans le stockage ainsi que dans le circuit. Contrairement au sel en poudre, où on a 10 UFC/mL le 24, 29 avril et le 4 mai. Après cette date, il n'y a plus de contamination. Cette légère contamination est due probablement à un non-respect de bonne pratique d'hygiène.

III. Sulfate d'ammonium :

Le tableau suivant présente la concentration des germes présents dans le Sulfate d'ammonium par rapport à la date de prélèvements au niveau des sacs, des cuves de stockage et du circuit de distribution :

Tableau 3 : Concentration des germes dans les différentes stations par rapport aux dates de prélèvements pour le Sulfate d'ammonium

	Sulfate d'ammonium					
Dates	[Coliformes totaux] (UFC/mL)			[Bactéries totales] (UFC/mL)		
	Sac	Stockage	Circuit	Sac	Stockage	Circuit
22 avril	0	0	0	0	0	0
24 avril	0	0	0	40	760	0
27 avril	0	0	0	20	10	0
29 avril	0	0	0	20	1440	10
04 mai	0	0	0	0	0	0
06 mai	0	0	0	0	1370	3800
08 mai	0	0	0	50	560	3500
11 mai	0	0	0	0	4800	890
15 mai	0	0	0	0	0	0
18 mai	0	0	0	0	0	0

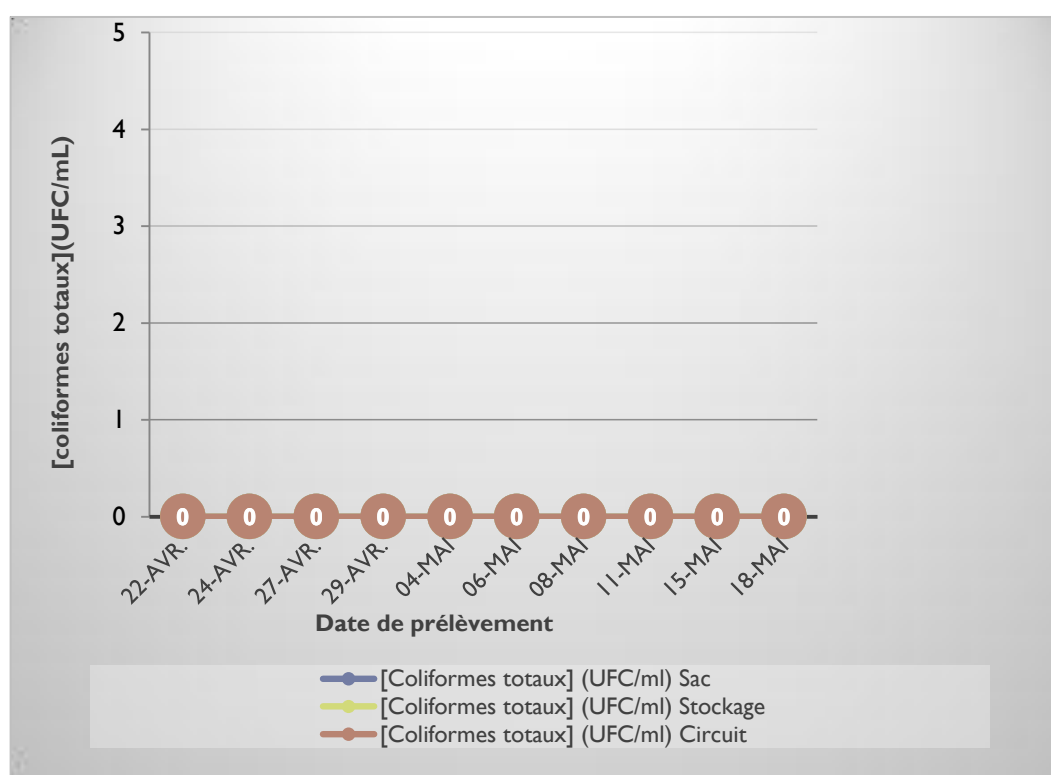


Figure 9 : Représentation graphique des coliformes totaux dans les trois stations de sulfate d'ammonium par rapport aux dates de prélèvement

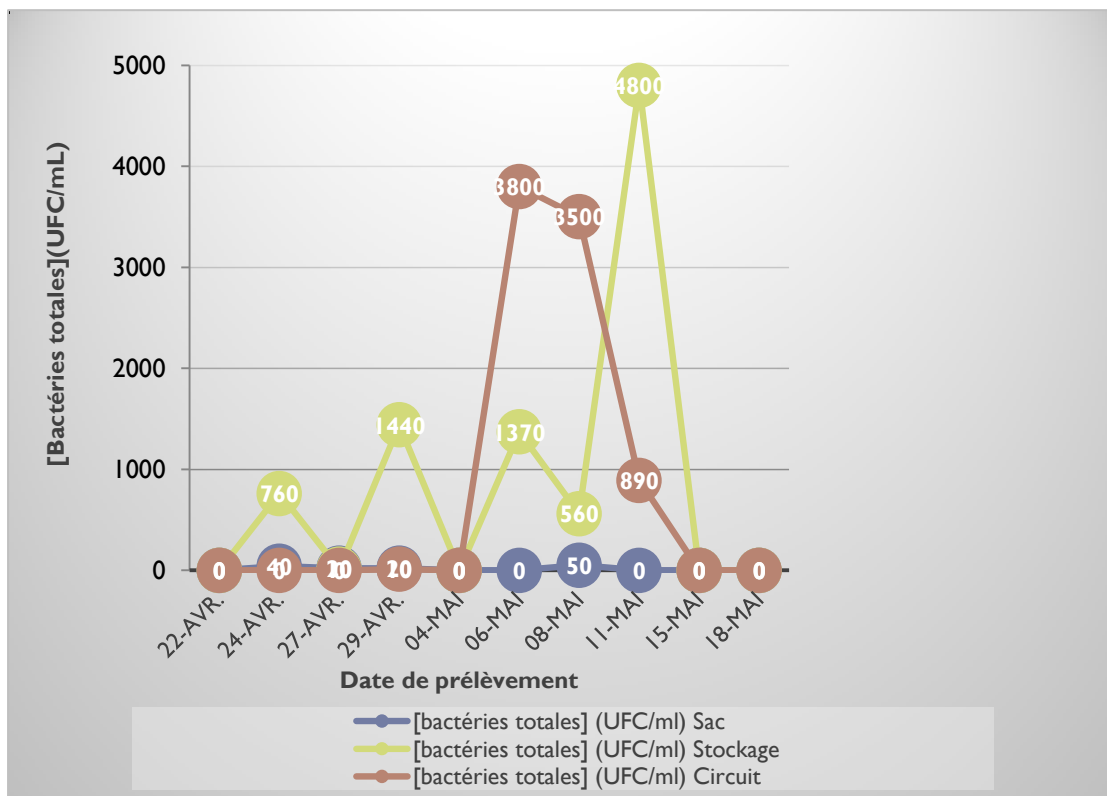


Figure 10 : Représentation graphique des bactéries totales dans les trois stations de sulfate d'ammonium par rapport aux dates de prélèvement

❖ *Interprétation et commentaire :*

- Pour les Coliformes, il n'y a toujours pas de contamination.
 - La concentration des bactéries totales dans les sacs est très faible, dans le stockage et le circuit elle est plus ou moins élevée.
 - Le 22 avril il n'y avait pas de contamination.
 - Le 24 avril, il y avait 40 UFC/mL dans le prélèvement fait du sac, qui devient 760 UFC/mL dans le stockage et disparaît dans le circuit (0 UFC/mL), on peut dire que la désinfection est réalisée.
 - Le 27 avril : 20 UFC/mL dans le sac, 10 UFC/mL dans le stockage et 0 UFC/mL dans le circuit.
 - Le 29 avril, on a 20 UFC/mL dans le sac qui devient 1440 UFC/mL dans le stockage et 10 UFC/mL dans le circuit, ceci montre une bonne désinfection.
- Du 24 au 29 avril, on a remarqué un problème au niveau des bactéries totales dans le sulfate. Les germes ont disparu le 4 mai. On peut expliquer ça par le nettoyage des cuves qui a été réalisé le 3 mai.
- Du 6 au 11 mai, la [Bactéries totales] est très élevée dans le circuit (3800 UFC/mL ; 3500 UFC/mL...) ainsi que dans le stockage (4800 UFC/mL).

Les germes ont disparu le 15 et 18 mai parce que le nettoyage des cuves a été fait le 14 mai après avoir informé les responsables.

Conclusion

D'après les analyses microbiologiques que j'ai effectué durant mon stage sur les différentes étapes de la préparation des sels nutritifs au sein de laboratoire d'analyse microbiologique de la société Lesaffre-Maroc, on constate qu'il y avait certains problèmes au niveau des bactéries totales.

La présence de ces germes peut résulter d'une mauvaise manipulation, un mauvais nettoyage des cuves, ou un mauvais prélèvement, mais ça ne présente pas de risque puisqu'on est toujours dans les normes.

Mon stage au sein de la société Lesaffre-Maroc m'a beaucoup aidé sur le plan professionnel ainsi que relationnel, il m'a permis de :

- ✓ Acquérir une véritable expérience.
- ✓ Bien connaître la procédure de fabrication de la levure de boulangerie.
- ✓ Bien maîtriser la méthode de recherche et de manipulation microbiologique.
- ✓ Enrichir mon vocabulaire scientifique.
- ✓ Respecter les bonnes pratiques d'hygiène.
- ✓ Développer la communication interpersonnelle et le travail en groupe.

Références

- <http://www.lesaffrehumancare.fr/nous-connaître/levures-et-biotechnologies/historique.html>
- <http://www.lesaffre.com/>
- Rapports des stages de fins d'études FST :
 - Suivi de préparation et de traitement des sels nutritifs depuis les sacs bruts jusqu'aux fermenteurs- BOUMJAHED Imane (2013)
 - Suivi microbiologique des sels nutritifs depuis la préparation jusqu'aux fermenteurs à la société Lesaffre Maroc- El BOUZAIDI CHEIKHI Hanae (2014)