

Table des matières

Introduction générale	1
Présentation de la société	2
I. Présentation de la société : LESAFFRE MAROC :	2
II. Description du laboratoire d'analyses LESAFFRE MAROC	3
CHAPITRE I:procédure de fabrication de la levure et principes fondamentaux	
I. Etudes fondamentaux de la levure	5
1. Définition	5
2. Métabolisme de la levure :.....	5
3. Modes de reproduction	6
II. Production industrielle de la levure :	6
1. Conditions de croissance	6
2. Les étapes de la production de la levure	7
CHAPITREII: stations des traitements des sels nutritifs et instrumentations	
I. Définition des sels nutritifs :	12
II. Les engrais azotés et phosphatés :	12
1. Les engrais azotés	12
2. Les engrais phosphatés	13
III. Différentes étapes du traitement des sels nutritifs	13
1. Stockage	13
2. Dilution et désinfection	14
3. Filtration	14
4. Refolement :	14
5. Stockage des sels dilués	14
IV. Instrumentation :	16
1. Bac de préparation	16
2. Les pompes	16
3. Les filtres	16
4. Débitmètre	16
V. Analyses physico-chimiques :	16
1. La conductivité :.....	16
2. Test du pH :	17
3. Dosage de l'azote par la méthode KJELDHAL	17
4. Dosage de Phosphate par spectrophotomètre	20
VI. Analyses microbiologiques :	21
1. Recherche des bactéries totales	22
2. Recherche des coliformes totaux	22
3. Recherche des levures sauvages et moisissures :	23
4. Ensemencement	24
CHAPITREIII: résultats et interprétations	



<u>I.</u>	<u>ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES</u>	27
<u>1.</u>	<u>Test de la conductivité :</u>	27
<u>2.</u>	<u>Test du pH :</u>	29
<u>3.</u>	<u>Dosage de N₂</u>	30
<u>4.</u>	<u>Dosage de P₂O₅</u>	32
<u>II.</u>	<u>ANALYSES MICROBIOLOGIQUES :</u>	33
<u>Conclusion</u>	34

Introduction générale

L'industrie agroalimentaire est l'ensemble des activités industrielles qui transforment des matières premières, en produits alimentaires destinés essentiellement à la consommation humaine.

LESAFFRE MAROC, est comme toute industrie alimentaire, face à l'importance du pain dans la vie des marocains, exerce son savoir-faire et propose des produits et services à base de levure, que l'on ajoute au pain.

Ce document constitue le rapport de mon stage de fin d'études effectué pendant une durée d'un mois et demi dans l'entreprise industrielle «**LESAFFRE MAROC**» spécialisée dans la fabrication de levure de panification, et plus précisément au sein des laboratoires d'analyses microbiologiques et physico-chimiques .

L'objectif de ce stage consiste à contrôler la qualité par le suivi et la maîtrise des sels nutritifs et par la recherche des Coliformes totaux, des Bactéries totales, des moisissures et levures sauvages dans le but de garantir un produit de bonne qualité aux consommateurs.

Ce manuscrit, sera composé de trois parties :

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

Ces trois parties seront précédées d'une présentation du lieu de stage.

Présentation de la société

LESAFFRE est un groupe familial, né dans le Nord de la France, LESAFFRE est aujourd'hui un acteur mondial de référence à la fois multi-local et pluriculturel.

Avec un chiffre d'affaires de **1,5** milliard d'euros en **2014**, LESAFFRE emploie **7700** collaborateurs répartis dans plus de **80** filiales implantées dans une quarantaine de pays. Ses produits sont distribués dans plus de **180** pays.

I. Présentation de la société : LESAFFRE MAROC :

En 1993, la société **SODERS** a été majoritairement détenue par le groupe Français LESAFFRE et porte 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, située au quartier industriel SIDI BRAHIM Fès, son Directeur générale est **Mr Damien LESAFFRE**.

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 via ses **35** sites de production et sociétés commerciales et de distribution afin d'être plus proche de ses clients.

Elle fabrique et commercialise les marques suivantes :

-Levure fraîche : JAOUDA



-Levure sèche : RAFIAA et NEVADA



-Améliorants de panification : IBIS BLEU et MAGIMIX



II. Description du laboratoire d'analyses LESAFFRE MAROC

LESAFFRE MAROC dispose de deux laboratoires, microbiologique et physicochimique, qui sont chargés de faire des analyses le long de la chaîne de production, depuis la préparation de la matière première jusqu'à l'obtention du produit fini (levure fraîche ou sèche) ; qui répond à toutes les normes de qualité.

Laboratoire d'analyses microbiologiques :

Toutes les conditions de la réalisation des analyses performantes sont réunies. Un matériel suffisant et moderne, des techniques d'identifications des microorganismes assez rigoureuses imposées par le groupe, un système d'épuration d'air, un personnel hautement qualifié et expérimenté, un climat professionnel encourageant, et la vaillance d'un chef de laboratoire.

- Ce laboratoire est divisé en quatre parties :

- Salle des pathogènes où s'effectue les analyses des germes pathogènes ;
- Salle des préparations (préparation des milieux de culture, la stérilisation)
- Salle de stockage des matières premières ;
- Salle d'analyses bactériologiques.

Laboratoire d'analyses physicochimiques :

Equipé de matériel sophistiqué, alimenté de différents types d'eau (eau adoucie, eau distillée, eau de ville) utilisée selon les besoins. Un personnel qualifié y effectue quotidiennement des analyses physicochimiques (Brix, pH, conductivité, dosage de l'azote, des phosphates et des sulfates) .

- Il est divisé en trois parties :

- Salle de panification où s'évalue la force panitaire ;
- Salle de stockage où se trouvent 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

Chapitre I

**Procédure de fabrication de la levure
et principes fondamentaux**

I. Etudes fondamentaux de la levure

1. Définition

Les levures, champignons microscopiques unicellulaires et eucaryotes, sont utilisées dans la fabrication du vin, du pain, de la bière et sont souvent utilisées comme aliments pour les animaux, aptes à provoquer la fermentation des matières organiques animales ou végétales. La levure la plus connue porte le nom de *Saccharomyces cerevisiae* : **saccharo** pour sucre et **myces** pour champignon.

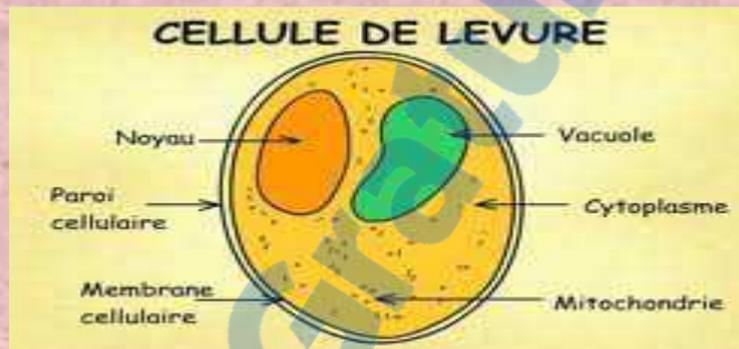


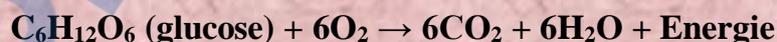
Figure 1: Structure de la levure *Saccharomyces Cerevisiae*

2. Métabolisme de la levure :

La levure, comme tout être vivant, vit en présence d'oxygène (aérobiose); mais elle a aussi la remarquable faculté de s'adapter à un milieu sans air (anaérobiose) :

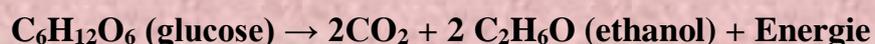
a. La respiration (Aérobiose)

Lorsque la levure se trouve en présence d'air, elle produit à partir du sucre et de l'oxygène, du gaz carbonique, de l'eau et une grande quantité d'énergie. C'est grâce à elle que l'on fait lever le pain.



b. La fermentation (Anaérobiose)

Ce processus métabolique a été défini par Pasteur comme étant celui de la fermentation. Les sucres sont transformés en gaz carbonique et en alcool.



3. Modes de reproduction

Les modes de reproduction varient en fonction des espèces de levures elles peuvent se multiplier par :

-Scissiparité: fission d'une cellule de levure en deux cellules filles identiques à la cellule mère.

-Bourgeonnement : la plupart des levures se reproduisent par bourgeonnement, une petite hernie apparait en un point de la surface d'une cellule mère, grossit et s'étrangle. Le bourgeon (Cellule fille) se détache, grossit et bourgeonne à son tour.

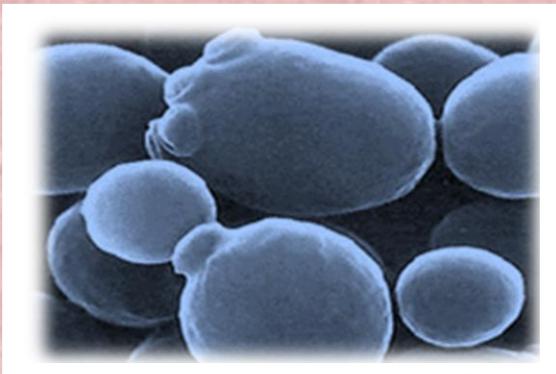


Figure 3:Reproduction par bourgeonnement de saccharomyces cerevisiae

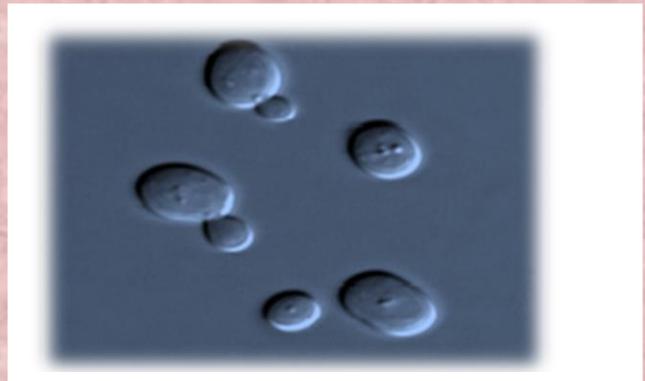


Figure 2:Reproduction par scissiparité de saccharomyces cerevisiae

II. Production industrielle de la levure :

1. Conditions de croissance

Matières premières : comme tout être vivant la levure a besoin de :

-Source de carbone : La mélasse présente pour la levure une source de Carbone, sa préparation (75% betterave+25% canne) consiste en une :



-Source d'azote, de sulfate de phosphate :Sels nutritifs :(Urée, Sulfate d'ammonium, Mono Ammonium phosphate)

-Source de vitamines (**B1, B6, B8**) et de minéraux (magnésium, **Zinc, Potassium...**)

-Température : la température optimale de culture des levures se situe en général entre 25°C et 30°C, mais comme les autres microorganismes, les levures peuvent être classées en levures psychrophiles, mésophiles et thermophiles. D'une façon générale, les levures ne sont pas thermorésistantes. La destruction cellulaire commence dès 52°C.

-Oxygène : toutes les levures sont capables de se développer en présence d'oxygène (aérobie anaérobie facultatif) : il n'y a pas de levure anaérobie stricte.

-pH : Les levures tolèrent des gammes de pH acide théoriquement de 2,4 à 8,6.

2. Les étapes de la production de la levure

a. Echelle du laboratoire :

- **Ensemencement :**

Chaque mois, la société LESAFFRE Maroc reçoit de la France deux souches de *Saccharomyces cerevisiae*, conservés dans des tubes à 4°C. Une destinée à la **levure fraîche(L20)** et l'autre à la **levure sèche(L13)**. Ces souches sont ensemencées dans des tubes dans un milieu nutritif spécifique à la croissance des levures pour préparer **60** tubes par mois (**30** tubes de chaque souche). Cette étape demande un travail dans des conditions strictement aseptiques pour éviter tout risque de contamination. Puis le contenu des tubes est transvasé dans un petit icône appelé « **Van Lear** » (**250 ml**) dont le milieu nutritif à base de sucre (**T=30°C**) laissera possible une première multiplication des cellules, après 8h, le contenu du « **Van Lear** » est versé dans un ballon plus grand appelé « **Carlsberg** » **7l** (**T=30°C**) ou elles se multiplient a nouveau. Après 16h le contenu du **Carlsberg** est versé dans la cuve de **800L** dans des conditions stériles.

b. Echelle industrielle :

- **Pré-Fermentation :**

Le moût obtenu passe à la cuve de la pré-fermentation où on ajoute des éléments nutritifs : eau, mélasse stérile, sels minéraux, H₂SO₄, oligo-éléments et vitamines, dont cet ajout se fait d'une manière semi-continu selon les besoins.

- **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 en continue, après (**17h**) elle permet d'obtenir une grande population de levure (levure mère) sous forme liquide.



On ajoute aussi une anti-mousse pour éviter les mousses qui se produisent lors de la fermentation.

- **Séparation :**

La séparation s'effectue dans deux étapes du procédé : Après l'obtention de la levure mère et après l'obtention de la levure commerciale. Le principe repose sur la séparation des cellules de levures du reste du milieu nutritif par centrifugation. On obtient un liquide léger « le reste du milieu nutritif », et un liquide dense «la crème ».

- **Stockage :**

Acidification par l'acide sulfurique (pH = 2) de la crème obtenue après séparation pour éviter la contamination, puis stockage à 4°C pour ralentir le métabolisme cellulaire.

- **Filtration :**

Consiste à éliminer l'eau présente dans la levure pour la préserver d'une éventuelle contamination.

Levure fraîche :

Cette phase permet de passer d'une crème de levure à 22% de matière sèche à un gâteau de levure à 32% de matière sèche, donnant après boudinage la levure bien friable que le boulanger recherche.

Levure sèche :

La crème arrive au niveau d'un filtre rotatif qui contient une couche filtrante d'amidon, dont le but est de ne laisser pénétrer que l'eau. La crème s'étale sur la surface du filtre et se récupère sous forme de levure râpée, l'eau filtrée est injectée vers l'extérieur par une pompe d'évacuation.

- **Conditionnement :**

Levure fraîche :

S'effectue par une machine spéciale constituée d'une boudineuse, découpeuse et enveloppeuse. Une fois le gâteau de la levure fraîche passe par cette machine, on obtient des cubes de **500g** enveloppés individuellement dans un papier paraffiné. Après mise en carton, la levure est conservée en chambre froide.

Levure sèche :

La levure provenant de la filtration sous vide est mélangée avec une quantité d'émulsifiant et est transformée 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**.

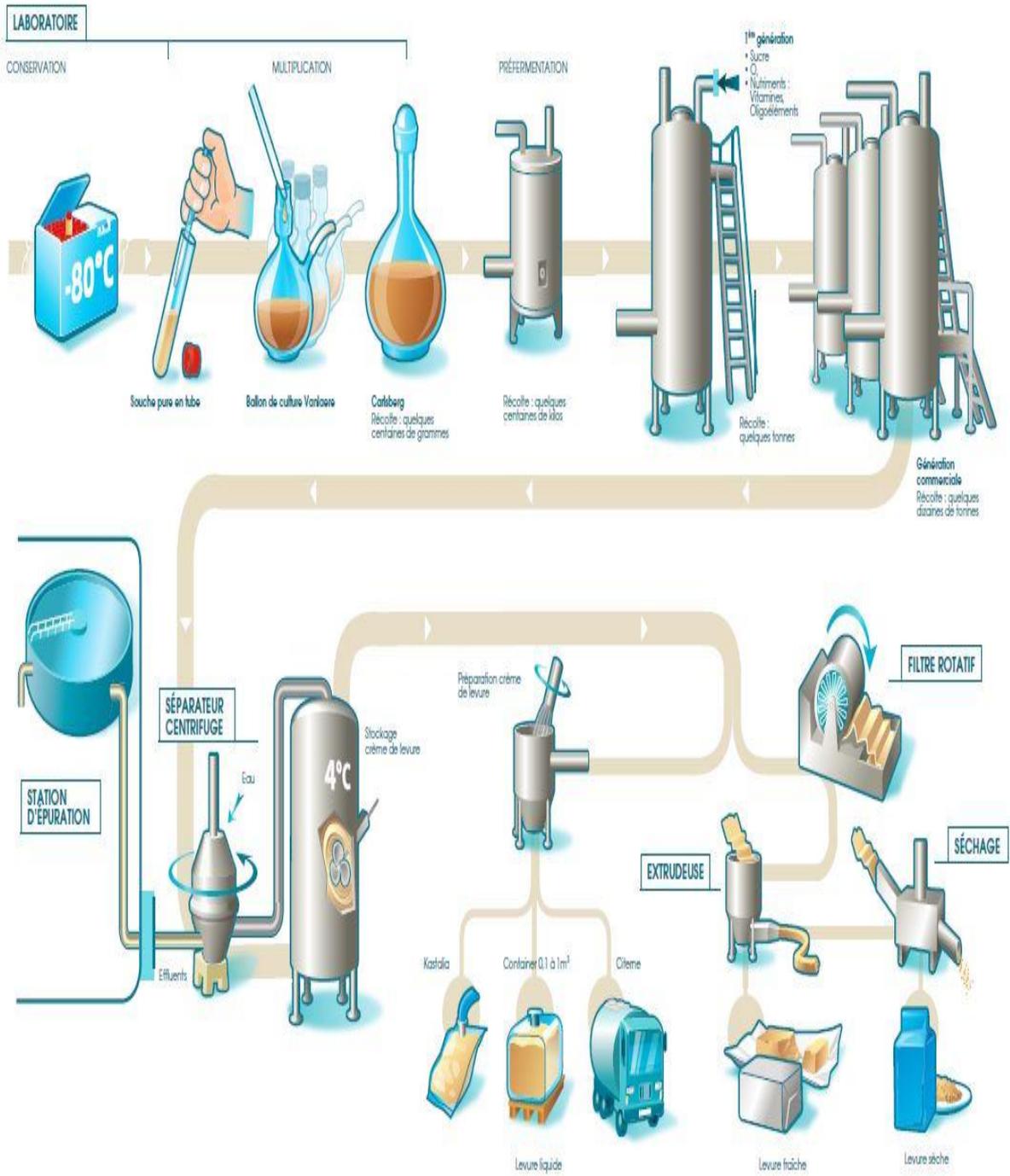
SPH : levure sèche active ou à réhydratation sous forme de petits grains sphériques, emballées sous air dans des sachets de 50g, 100g et 500g. (**JAOUDA**), sa durée de séchage est de 4h pour 400 kg à 500 kg, à une T° de 45°C.

SPI : levure sèche instantanée sous forme des bâtonnets, emballés sous vide dans des sachets de 125g, 13g (**Rafiaa**) ou 500g, 25g (**Nevada**). Son temps de séchage est de 20min pour 1000 kg, elle est caractérisée par une force de fermentation supérieure à celle de la **SPH** ce type de levure ne nécessite aucune réhydratation avant son utilisation.

- **Conservation**

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

FABRICATION DE LA LEVURE DE BOULANGERIE



LESAFFRE © 2010

Figure 4: Schéma général des étapes de production de la levure de boulangerie

Chapitre II

**Stations de traitement des sels
nutritifs et instrumentations**

L'apport azoté de mélasse est 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. Et puisque la mélasse ne contient pas du phosphore, il est ajouté sous forme de sel (mono ammonium phosphate).

I. Définition des sels nutritifs :

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

II. Les engrais azotés et phosphatés :

1. Les engrais azotés

- **L'urée :**

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



Puisque l'azote est combiné avec le carbone, l'urée est une source organique d'azote, il se présente sous forme de granules sphériques blancs, fin, ininflammable, sans odeur

-Poids moléculaire : 60,05539g/mol ;

-Formule : $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$;

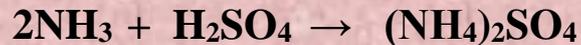
-Contient : 46%N₂ ;

L'urée contient **46%** de N₂ la teneur la plus élevée en azote de tous les engrais solides communs, ainsi elle est moins hygroscopique et moins corrosive.

Conservée dans des sacs de **50 kg**.

- **Sulfate d'ammonium :**

Le sulfate d'ammonium est un sel très pur. Il résulte de la réaction entre l'ammoniac et l'acide sulfurique



-Poids moléculaire: 132,1g/mol;

-Formule: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$;

-Contient 21% de N₂;

Le sulfate d'ammonium est utilisé pour sa teneur en azote ammoniacal.

Il se présente sous forme d'une poudre blanche cristalline, fine, ininflammable et sans odeur.

Conservé dans des sacs de **50 kg**.

2. Les engrais phosphatés

- **Mono ammonium phosphate :**

Produit de la réaction d'une molécule d'ammoniac avec une molécule d'acide phosphorique



-Poids moléculaire : 132g/mol ;

-Formule : $(\text{NH}_4) \text{H}_2\text{PO}_4$;

-Contient : 12% de N₂et 63% de P₂O₅

Le MAP est utilisé pour sa teneur élevée en phosphore.

Conservé dans des sacs de **50 kg**.

III. Différentes étapes du traitement des sels nutritifs

1. Stockage

Les sels proviennent de différents fournisseurs du Maroc par des camions. On calcule la teneur en Azote et Phosphate pour le Mono ammonium Phosphate, et l'Azote pour l'Urée et Sulfate d'Ammonium, pour s'assurer de la bonne qualité.

Après on stocke les sels dans un dépôt à l'abri de la lumière et exempt d'odeur .

2. Dilution et désinfection

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

Les sels sont évacués dans une cuve munie d'un agitateur afin d'accélérer la solubilisation, et d'un filtre afin d'éliminer les impuretés, cette cuve contient l'eau désinfectée avec de l'eau de javel (**chloration**),

Afin d'obtenir la concentration souhaitée dans chaque cuve de préparation, les normes caractérisées par le volume d'eau et la quantité des sels évacuée doivent être respectées.

Tableau 1: Concentration des sels nutritifs

sels	Volume des cuves(l)	Capacité de la cuve (m ³)	Nombre de sacs	Densité	Eau de javel (L)
UREE	10000	25	45	1.05	1L
S.A	10800	15	50	1.055	1L
MAP	6000	7	25	1.095	0.5L

3. Filtration

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

4. Refoulement :

Le refoulement s'effectue par les pompes centrifuges pour faire passer les sels dilués des bacs de préparation vers les bacs de stockage.

5. Stockage des sels dilués

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

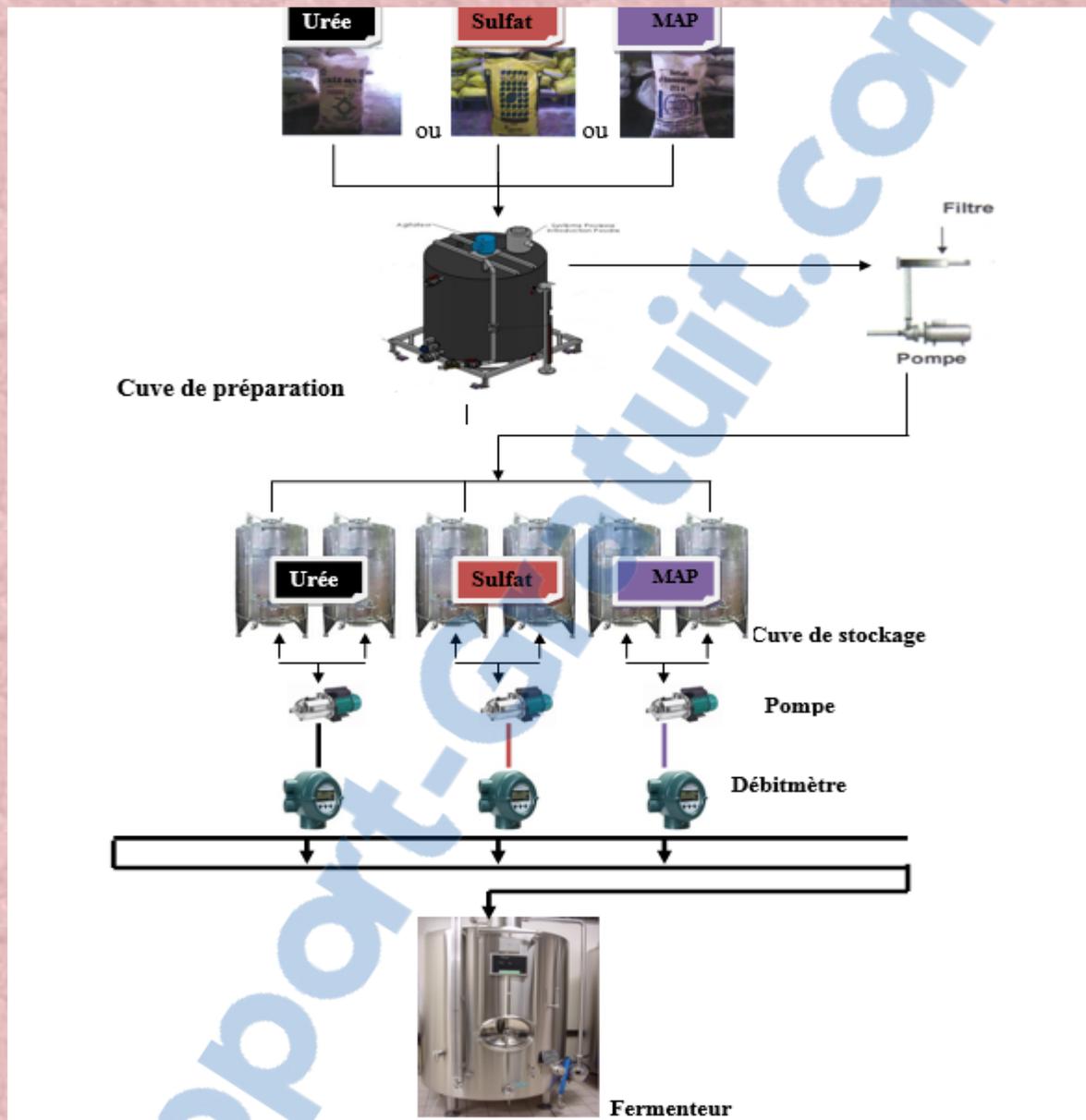


Figure 5: Schéma du Circuit de préparation des sels nutritifs

IV. Instrumentation :

1. Bac de préparation

Le **bac de préparation** des sels se compose :

- D'une cuve isolée de type inox (anti corrosion).
- D'une cuve intérieur qui présente une bonne conductibilité, solide, indéformable.
- D'un agitateur assurant la solubilisation des sels dans l'eau .

2. Les pompes

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

- ❖ **Les pompes centrifuges** : ce sont des pompes utilisées pour le refoulement des sels dilués au bac de stockage.

3. Les filtres

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

- éliminer les impuretés
- Stabiliser la limpidité

4. Débitmètre

Un **débitmètre** est un appareil destiné à mesurer le débit d'un fluide. Il doit être :

- Fiable
- Précis

V. Analyses physico-chimiques :

1. La conductivité :

- La conductivité c'est la capacité d'une solution à transmettre le courant électrique.
- Cette mesure est le signe de la présence d'ions dans l'eau.
- Plus l'eau contient d'ions (de sel dissous), plus sa capacité à conduire le courant est importante et plus sa conductivité est grande.

Mode Opérateur :

Cette mesure s'effectue en immergeant dans la solution une cellule de mesure comportant l'électrode afin d'afficher directement sur l'écran électronique du conductimètre la valeur correspondante de la conductivité en en micro-siemens par centimètre ($\mu\text{s}/\text{cm}$).

2. Test du pH :

La mesure du pH des sels stockés se fait par mesure potentiométrique à l'aide d'un pH-mètre. Le pH du sel est une indication de sa tendance à être acide ou alcaline, il est en fonction de la concentration des ions H_3O^+ contenus dans l'échantillon.

3. Dosage de l'azote par la méthode KJELDHAL

La principale méthode utilisée pour la détermination de la teneur en azote est fondée sur le procédé de Kjeldahl ;

Dans cette méthode, l'azote organique est transformé en azote minéral, sous forme ammoniacale $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, par action d'acide sulfurique concentré, et on mesure la quantité d'ammoniac libérée par le sel d'ammonium.

a. Minéralisation

Cette méthode débute par une minéralisation qui va transformer l'azote organique en azote minéral. Cette opération se fait dans un digesteur Büchi à 6 postes.



Figure 6:Appareil de minéralisation

Mode Opérateur :

- **Urée sac :**

Introduire 1,5 g de l'urée dans une fiole de 1000ml, compléter jusqu'au trait de jauge par l'eau distillée

- **Urée stockée et préparée :**

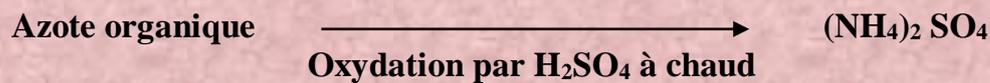
Introduire 2ml de la solution dans une fiole jaugée de 200ml, puis compléter avec l'eau distillée

-Prélever 20ml de chaque solution et la mettre dans les matras ;

-Ajouter 5ml de H₂SO₄ concentré ;

-Ajouter ½ comprimé du catalyseur de Kjeldahl ;

-Poser les tubes d'évacuation avec les joints sur les tubes de digestion et les livrer par des pinces .On chauffe environ à 370°C pendant 1h.



b. Distillation et titrage

- **Distillation :**

La distillation se fait par l'appareil de Büchi, cette distillation consiste à récupérer l'ammoniac pour pouvoir le doser à l'aide d'une solution étalonnée d'acide fort.



Figure 7: Appareil de Distillation

Mode Opérateur :

- **Urée (sac et stockée)**

- Après minéralisation (1heure) et refroidissement, introduire la solution des matras dans une fiole de 100ml et ajuster avec l'eau distillée.

- Prélever 50ml de cette solution et les mettre dans les matras,

- Placer le tube dans le distillateur ;

- Fixer les valeurs : (20 ml de la soude à 30% et 20 ml de l'acide borique à 2%) sur le distillateur

- Réglér le temps de distillation à 3min ;

- Démarrer la distillation.

- **MAP et SA (sac) :**

- Introduire 0,4g dans une fiole jaugée de 200ml, ajuster avec l'eau distillée

- Prélever 20 ml de la solution et la mettre dans le matras

- Fixer les valeurs : (20 ml de la soude à 30% et 20 ml de l'acide borique à 2%) sur le distillateur

- Réglér le temps de distillation à 3min ;

- Démarrer la distillation.

- **MAP et SA (stocké) :**

- Introduire 2ml de chaque solution dans une fiole jaugé de 200ml, ajuster avec l'eau distillée

- Prélever 50 ml de la solution du MAP et 20 ml de celle de SA et les mettre dans les matras

- Fixer les valeurs : (20 ml de la soude à 30% et 20 ml de l'acide borique à 2%) sur le distillateur

- Réglér le temps de distillation à 3min ;

- Démarrer la distillation.

→ Déplacement par la soude en excès



→ Entrainement par distillation de l'acide borique en excès :

L'ammoniac est recueilli dans une solution d'acide borique (H_3BO_3). L'acide borique est un acide faible qui ne réagit pas avec l'ammoniac, il sert simplement de le piéger on donnant un complexe : $(\text{NH}_4)_3\text{BO}_3$



• **Titrage**

Titrer le distillat récupéré avec H_2SO_4 (0.05N) à l'aide d'un titreur automatique tout en introduisant l'électrode du pH-mètre (pour lire le pH) dans le bécher tout en agitant par agitateur magnétique.

→ Titrage du Borate d'ammonium par l'acide sulfurique



- Le taux d'azote est calculé par la relation suivante :

$$\% \text{N}_2 = \frac{\text{VT}(\text{H}_2\text{SO}_4) \cdot 0,07}{\text{P.E}}$$

Avec : V.T= volume de titrant en ml ;

P.E = Prise d'essai

4. Dosage de Phosphate par spectrophotomètre

La spectrophotométrie est une méthode analytique quantitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée, généralement en solution. Plus l'échantillon est concentré, plus il absorbe la lumière.

Mode opératoire

- **MAP sac :**

-Introduire 0,4g dans une fiole jaugé de 200ml, ajuster avec l'eau distillée

-Prélever 20 ml de la solution et la mettre dans une fiole de 200ml, compléter avec l'eau distillée

- **MAP stocké :**

-Introduire 2 ml de la solution dans une fiole de 200ml, compléter jusqu'au trait de jauge.

-Prélever 20ml de la solution obtenue après dilution du MAP sac et prélever 1ml de celle obtenue après dilution du MAP stocké et introduire chaque prélèvement dans une fiole de 50ml, puis on ajoute à chaque fiole :

- ⇒ 10 ml de H₂SO₄ à (5%) ;
- ⇒ 4ml de METOL à 1% : joue le rôle d'un catalyseur ;
- ⇒ 4ml d'héptamolibdate d'ammonium (2,5) : joue le rôle d'un complexe ;
- ⇒ 2ml de bisulfite de sodium à 17,5% : joue le rôle d'un réducteur.
- ⇒ On complète au trait de jauge par l'eau distillée.
- ⇒ On obtient un complexe bleu « phosphomolibdate d'ammonium », qu'on va laisser reposer une demi-heure, avant de lire l'absorbance dans le spectrophotomètre à une longueur d'onde de 660nm.

CALCUL du % de P₂O₅ :

$$\% P_2O_5 := \frac{A \cdot K \cdot 0,5}{PE}$$

Avec : A= absorbance affichée sur le spectrophotomètre

K= 1/Absorbance du témoin

P.E= prise d'essai

REMARQUE :

-La minéralisation se fait seulement pour l'urée

-La teneur en P₂O₅ est déterminée seulement pour le mono ammonium phosphate.

VI. Analyses microbiologiques :

Dans le cadre des analyses microbiologiques, on va prendre en considération le risque de contamination des sels préparés dans les bacs, car au moment de préparation elles sont en contact direct avec l'air.

1. Recherche des bactéries totales

a. Définition

Les bactéries totales ou 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.

b. Milieu de culture

La gélose nutritive glucosée GNG un milieu qui permet de compter l'ensemble des bactéries capables 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
- pH =7

c. Incubation et lecture des résultats

Les boîtes sont incubées à 30°C, et après 72h le nombre de colonies est compté dans chaque boîte



Figure 8: Aspect du milieu de la gélose nutritive glucosée

2. Recherche des coliformes totaux

a. Définition

Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne de l'eau parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale.

Les principaux genres inclus dans le groupe sont : Citrobacter, Entérobactérie, Escherichia, Klebsiella et Serratia.

b. Milieu de lecture

Le milieu utilisé à Lesaffre Maroc pour les coliformes est la Gélrose au désoxycholate

- Ce milieu 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



Figure 9:Aspect du milieu au Désoxycholate

c. Incubation et lecture des résultats

Les boîtes sont incubées à 30°C, après 24h le nombre de colonies est compté dans les boîtes.

3. Recherche des levures sauvages et moisissures :

a. levures sauvages

Il s'agit d'un type de levures à forme allongée, ne participant pas à la fermentation et causent différents problèmes sanitaires et influençant sur la qualité de levure (force, conservation).

b. Moisissures :

Les moisissures sont des champignons microscopiques, de couleur verdâtre ou blanchâtre, qui se développent, à la faveur de l'humidité, à la surface des substances organiques.

c. Milieu de culture

La lysine est la dénomination donnée à ce milieu de culture. Son nom découle de sa composition, enrichie en fer et en lysine. Il sert à mettre en évidence les levures sauvages et pathogènes.

Ce milieu est composé de :

- Peptone de gélatine : 5,0 g
- Extrait de levure : 3,0 g
- L-lysine : 10,0 g
- Glucose : 1,0 g
- Citrate de fer III ammoniacal : 0,5 g
- Bromocrésol pourpre : 20,0 mg
- Thiosulfate de sodium : 40,0 mg
- Agar 13,5 g
- Le pH = 6,7



Figure 10: Aspect du milieu à la lysine

d. Incubation et lecture des résultats

Les boîtes sont incubées à 30°C, après 72h le nombre de colonies est compté dans les boîtes.

4. Ensemencement

a. Sels nutritifs en solution :

Le même principe pour les bactéries totales, les coliformes totaux, les levures sauvages. La seule différence est le temps d'incubation qui est de 24h pour les coliformes totaux alors que c'est de 72h pour les deux autres :

L'ensemencement consiste à :

- Débarrasser la paillasse et à désinfecter avec de l'alcool.

- Régler le bec benzène pour avoir une flamme bleue, seule une zone de 15cm est considérée, et toutes les manipulations doivent être réalisées près de la flamme.
- Prendre une pipette, la flamber et la laisser près de la flamme.
- Prendre le flacon de l'échantillon dans la main gauche, ouvrir dans la zone stérile, garder le bouchon dans la main droite et flamber l'ouverture du flacon.
- On utilisant la pipette, prélever 1 ml de l'échantillon.
- Déposer le flacon et prendre une boîte de pétri stérile, l'ouvrir près de la flamme et déposer l'échantillon.
- Verser la gélose refroidie à 45°C dans la boîte de pétri, mélanger rapidement en faisant des mouvements circulaires.
- Laisser solidifier, et mettre à l'incubation.

b. Sels en poudre :

Pour la recherche des bactéries totales, les coliformes totaux, les levures sauvages, dans les sels en poudre ; On effectue le même principe que les sels nutritifs en solution :

- On réalise des dilutions dans le tryptone-sel (17g de NaCl, 2g de tryptone-0,8ml du pourpre de bromocrésol), et l'ensemencement se fait à partir de la dilution.

Chapitre III

Résultats et interprétations

Ce chapitre sera consacré aux résultats du suivi des paramètres physico-chimiques et micro biologiques constatés aux différents stades des traitements des sels nutritifs effectués au sein du laboratoire de **LESAFFRE MAROC** pendant 10 jours.

I. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES

Tableau 2: Normes de taux de l'azote et du phosphore dans les sels bruts ,préparé et stockés

Produits	%N ₂			%P ₂ O ₅		
	sac	préparé	stocké	sac	préparé	stocké
Urée	46%	8,4%	9-8%	-----	-----	-----
SA	21%	-----	3,8%	-----	-----	-----
MAP	12%	-----	1 ,38%	63%	-----	6,7%

1. Test de la conductivité :

- L'urée

Le graphe ci dessous représente la conductivité de l'urée des solutions préparées et stockées.

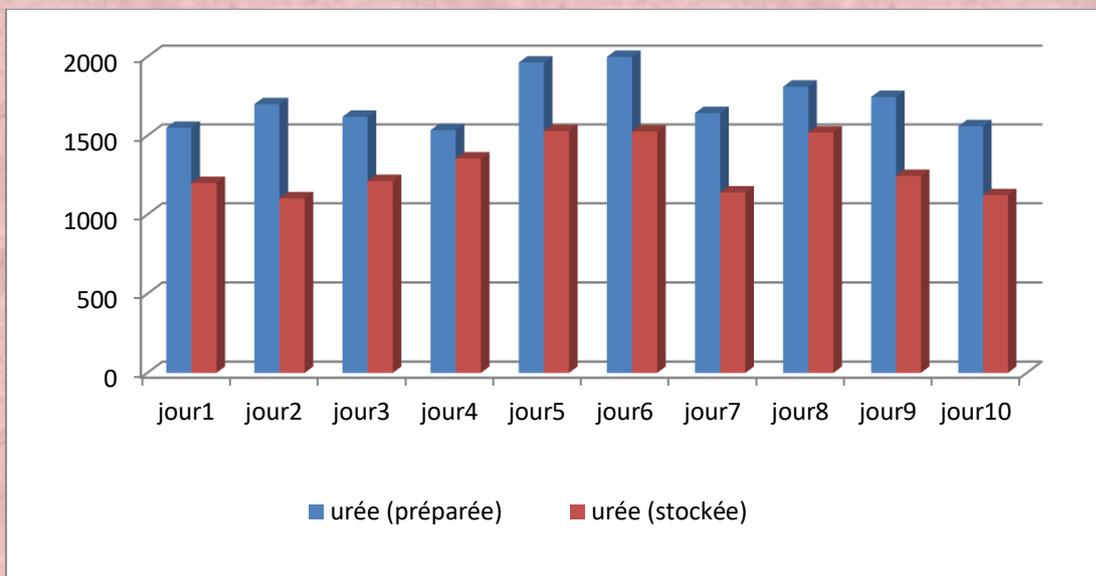


Figure 11: Représentation graphique de la conductivité de l'urée

Selon l'histogramme de la conductivité de l'urée on observe que la conductivité des sels dans les solutions préparées est plus élevée que celle des solutions stockées et désinfectées car au cours de la préparation on effectue une agitation qui sert à solubiliser les sels.

- **Sulfate d'ammonium**

Le graphe ci dessous représente la conductivité de sulfate d'ammonium des solutions stockées.

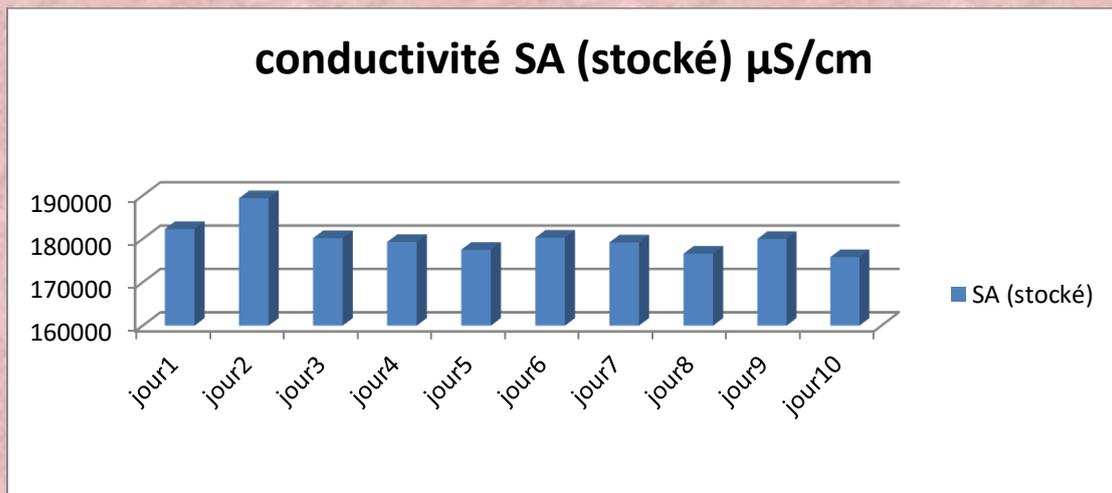


Figure 12: Représentation graphique de la conductivité du sulfate d'ammonium

- **Mono ammonium phosphate**

Le graphe ci dessous représente la conductivité de sulfate d'ammonium des solutions stockées.

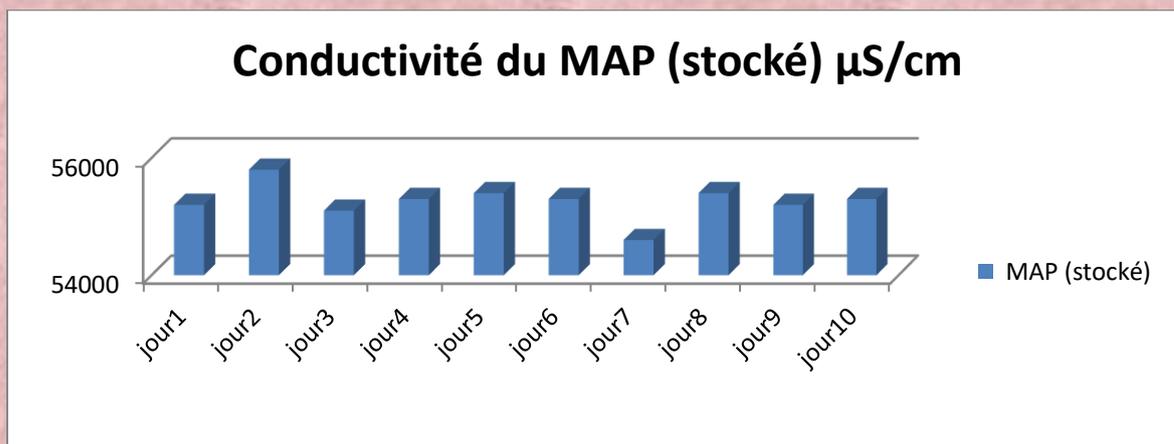


Figure 13: Représentation graphique de la conductivité du Monoammoniom phosphate

⇒ **Interprétations**

À partir de ces trois sels on constate que la conductivité du sulfate d'ammonium est plus élevée que celle du MAP et l'urée ; Ceci est expliqué par la différence du nombre des charges et le nombre des ions entre SA et MAP.

Pour l'urée sa faible conductivité est due à la présence des liaisons covalentes qui ne se décomposent pas en ions. Donc sa conductivité est équivalente à celle de l'eau.

2. Test du pH :

- **L'urée :**

Le graphe ci-dessous représente la variation du pH des solutions stockées de l'urée.

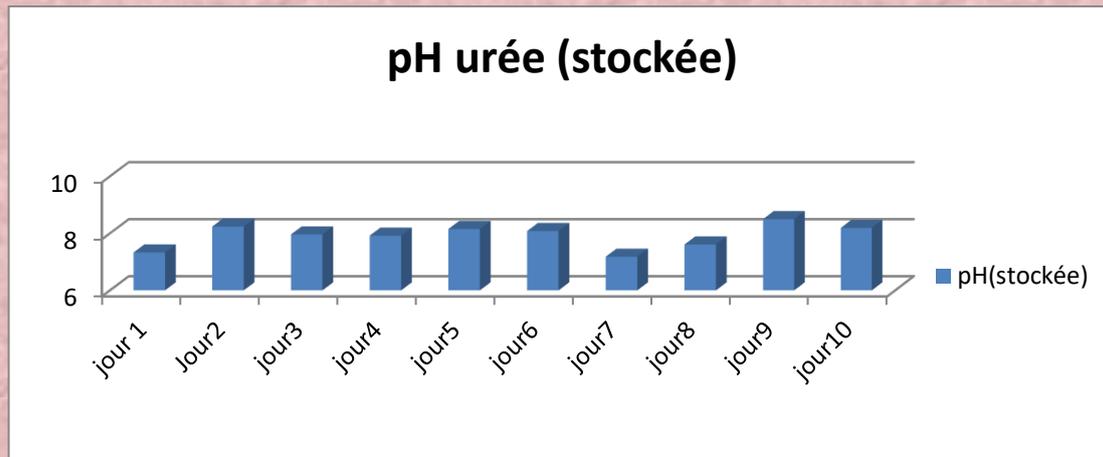


Figure 14: Représentation graphique de la variation du pH de l'urée

- **SA :**

Le graphe ci-dessous représente la variation du pH des solutions stockées de sulfate d'ammonium

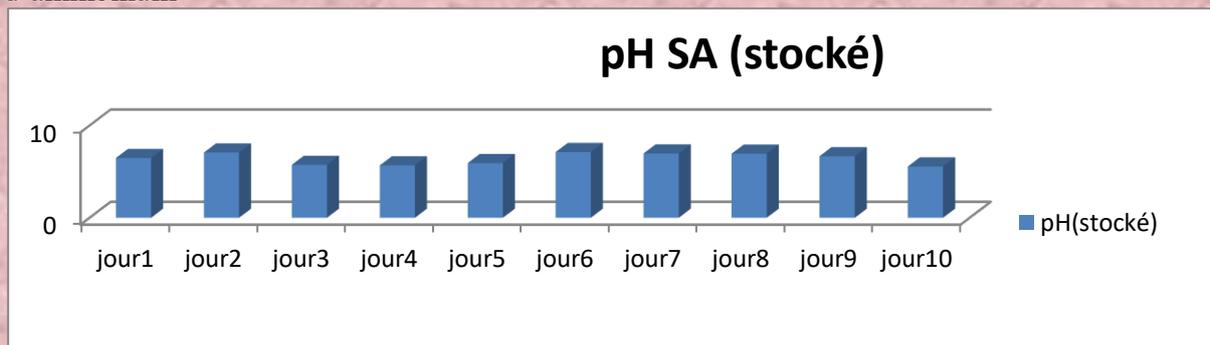


Figure 15: Représentation graphique de la variation du pH du sulfate d'ammonium

- **Mono ammonium phosphate :**

Le graphe ci-dessous représente la variation du pH des solutions stockées du mono ammonium phosphate.

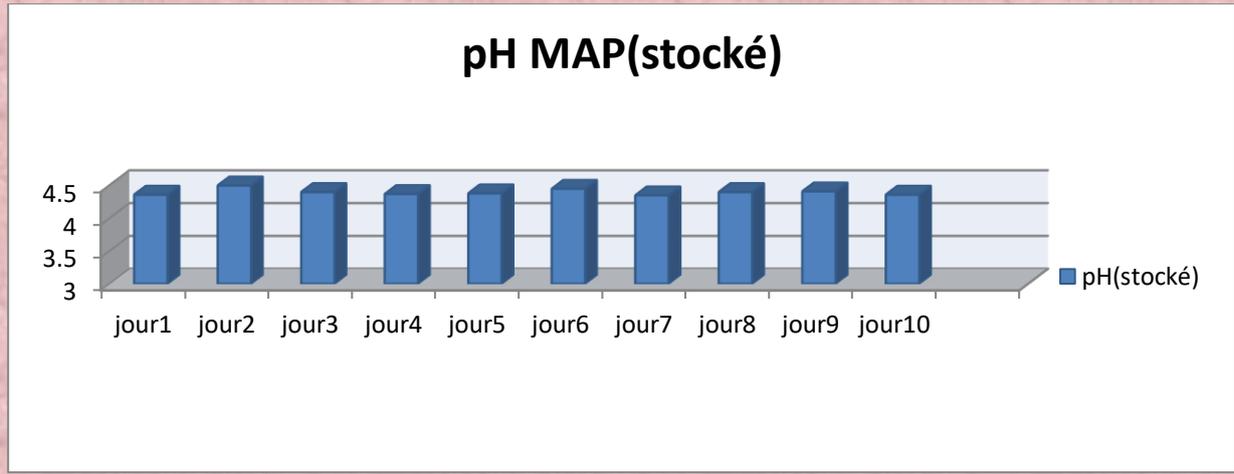


Figure 16: Représentation graphique de la variation du pH du Mono ammonium phosphate

⇒ **Interprétations :**

D'après les trois histogrammes on observe que la gamme du pH est stable pour chaque sel. A partir de ces trois sels, on constate que le mono ammonium phosphate est plus acide que le sulfate d'ammonium et l'urée. Il s'agit de la concentration relative en ammoniac.

3. Dosage de N₂

- **L'urée**

Le graphe si dessous représente la teneur en N₂ dans les sacs, les solutions préparées et celles stockées de l'urée.

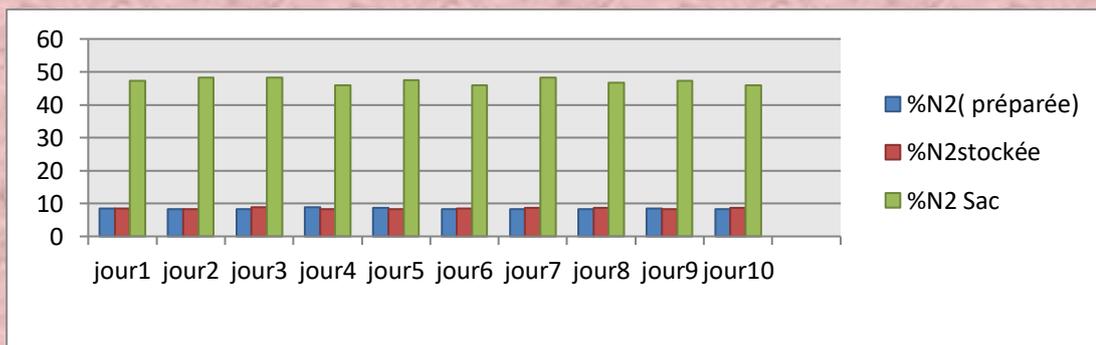


Figure 17: Représentation graphique de la teneur en N₂ dans l'Urée

⇒ **Interprétations :**

On remarque que la teneur de l'azote des sacs de l'urée est égale a 46% ce qui est conforme avec les valeurs déterminées par les fournisseurs.

Les histogrammes ci-dessus montrent que la teneur en N_2 est élevée dans les solutions préparées que dans les solutions stockées à l'exception de certaines fluctuations qui peuvent être du à une simple décantation au fond des cuves de préparation.

- **SA :**

Le graphe ci dessous représente la teneur en N_2 des solutions préparées et celles stockées du sulfate d'ammonium.

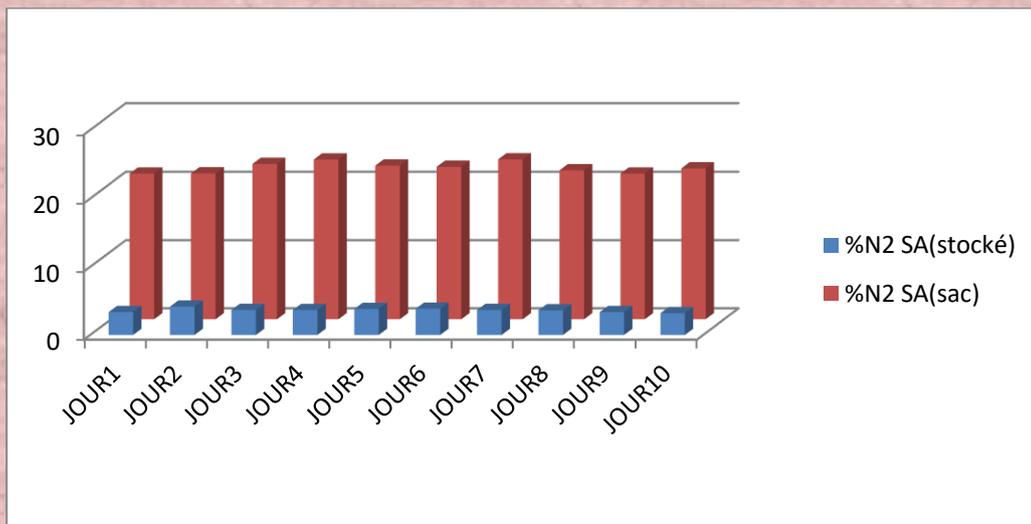


Figure 18: Représentation graphique de la teneur en N_2 dans SA

⇒ **Interprétations :**

On remarque que la teneur de l'azote des sacs de sulfate d'ammonium est égale à 21% ce qui est conforme avec les valeurs déterminées par les fournisseurs.

Les résultats des solutions sont dans les normes d'après le tableau au dessus (min 3,5%).

- **MAP :**

Le graphe si dessous représente la teneur en N_2 dans les solutions préparées et celles stockées du mono ammonium phosphate.

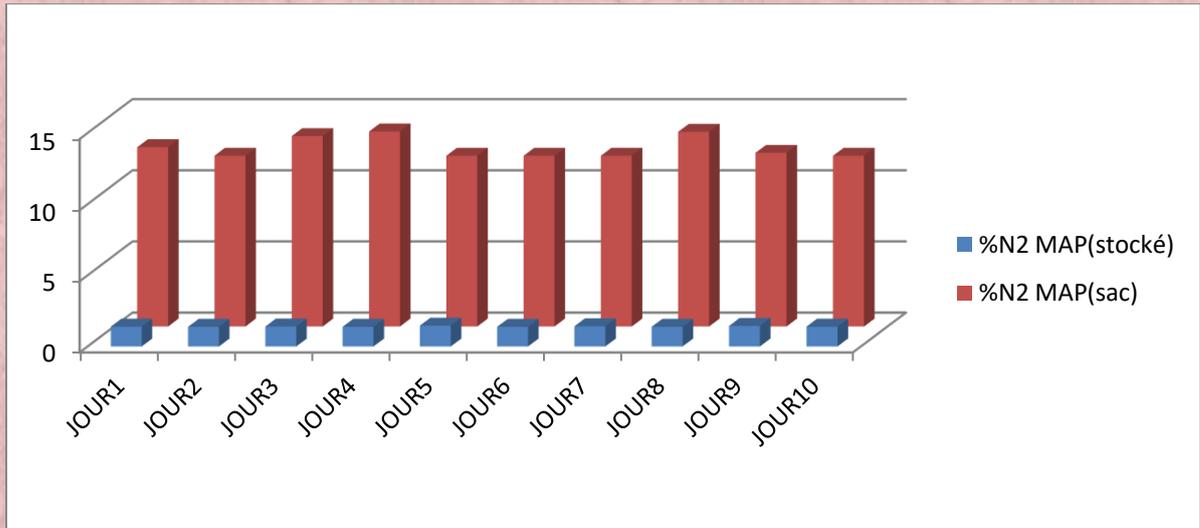


Figure 19: Représentation graphique de la teneur en N2 dans le Mono ammonium phosphate

⇒ **Interprétations :**

On remarque que la teneur de l'azote dans les sacs du mono ammonium phosphate est égale à 63% ce qui est conforme avec les valeurs déterminées par les fournisseurs.

Les résultats des solutions sont dans les normes d'après le tableau au dessus (min 1,38%)

4. Dosage de P₂O₅

• **MAP**

Le graphe ci-dessous représente la teneur en P₂O₅ dans les sacs et dans les solutions stockées du mono ammonium phosphate.

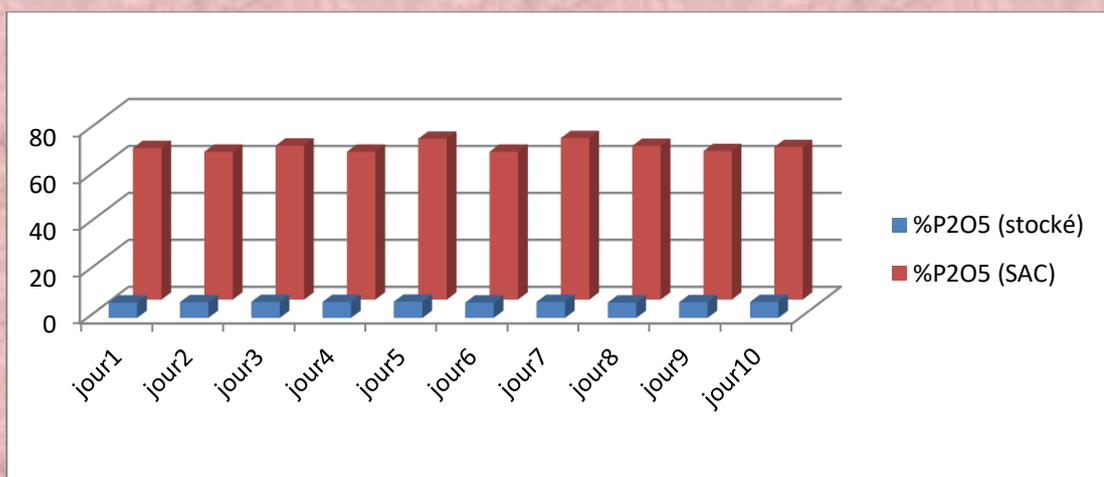


Figure 20: Représentation graphique de la teneur en P₂O₅ dans le MAP

⇒ **Interprétations :**

On remarque que la teneur de P_2O_5 dans les sacs du mono ammonium phosphate est égale à 63% ce qui est conforme avec les résultats déterminées par les fournisseurs.

Les résultats des solutions sont dans les normes d'après le tableau au dessus (min6, 7%).

II. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES :

Les analyses microbiologiques vont concerner les sels nutritifs bruts, stockés, car on risque d'avoir une contamination par certains microorganismes, ayant un effet néfaste sur la fermentation de la levure. Les analyses sont réalisées dans une période de 10 jours

Urée, MAP, SA :

Tableau 3: Résultats des analyses microbiologiques

	Levures sauvages et moisissures	Bactéries totales	Coliformes totaux
Jour1	P.C	P.C	P.C
Jour2	P.C	P.C	P.C
Jour3	P.C	P.C	P.C
Jour4	P.C	P.C	P.C
Jour5	P.C	P.C	P.C
Jour6	P.C	P.C	P.C
Jour7	P.C	P.C	P.C
Jour8	P.C	P.C	P.C
Jour9	P.C	P.C	P.C
Jour10	P.C	P.C	P.C

P.C = pas de contamination

On note l'absence des germes étudiés au cours de la période d'analyse, qui résulte d'un bon nettoyage des bacs, ainsi une éventuelle croissance des germes peut être bloquée par l'utilisation de l'eau de javel.

En générale, les sels nutritifs sont des compositions chimiques très acides, qui vont empêcher la croissance des germes étudiés.

Conclusion

Mon stage de fin d'étude s'est déroulé au sein des laboratoires d'analyses physico-chimiques et microbiologiques de l'industrie Lessafre Maroc qui fabrique des produits à base de levure essentielles pour la levée du pain.

Durant les 8 semaines de travail, mon sujet de fin d'étude fut d'un réel enrichissement et une réelle source d'intérêts pour moi, il m'a permis de mettre en épreuve des connaissances acquises lors des études universitaires, c'était aussi l'occasion pour tester mes capacités d'adaptation et mes qualités personnelles au rythme du travail pour une meilleur confrontation de la vie professionnelle.

Le travail demandé au laboratoire était le contrôle des sels nutritifs en se basant sur des paramètres physico-chimiques et microbiologiques car ces sels jouent un rôle très important dans l'alimentation des levures, et on a pu constater que tous les paramètres physico-chimiques et microbiologiques étudiés répondent aux normes, ce qui prouve que le suivi est rigoureux de la part des responsables de la qualité.

Plus qu'un stage technique cela fut vécue pour moi comme une expérience professionnelle. Il m'a permis d'approfondir mes connaissances techniques et je vois que j'ai eu la chance de travailler dans un domaine qui passionne et en évolution permanente.