

# **Cour 2 : Microbiologie industrielle**

Par Dr. ADDI

## **I. Le fermenteur :**

### **1. Définition :**

Le fermenteur ou bioréacteur, est un appareil dans lequel on multiplie des micro-organismes (levures, bactéries, champignons microscopiques) pour la production de biomasse, ou pour la production de métabolites.

Nous retrouvons les fermenteurs de laboratoires qui sont de petites taille, et les fermenteurs d'usines qui sont de grande taille.

Le fermenteur est constitué de :

- Une cuve, dite aussi réacteur. Son volume peut aller de quelques litres (fermenteurs de laboratoire pour recherches, enseignement, petites cultures...) jusqu'à plusieurs mètres cubes dans le cas d'unités industrielles.
- Une seringue avec cathéter ou un tuyau, pour injecter une solution
- Un système d'agitation comportant une ou plusieurs turbines selon leur taille
- Des capteurs pour la mesure de la température (thermomètre), du pH (pH-mètre), de la concentration.
- Un système de contrôle-commande géré par ordinateur permettant d'enregistrer et piloter tous les paramètres de fonctionnement.

Les bioréacteurs permettent la fabrication de nombreux produits tel que :

- yaourts, additifs alimentaires
- vaccins, antibiotiques, anticorps, vitamines,

Le schéma ci après détaille le fermenteur.

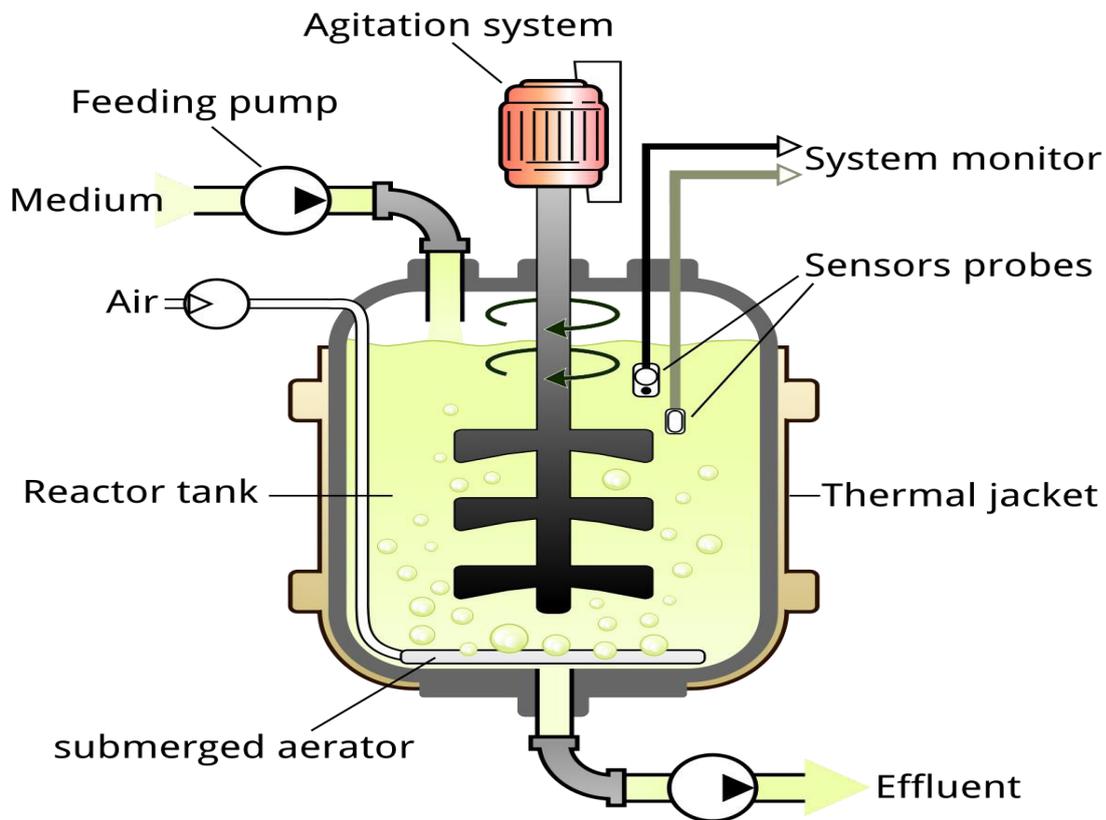


Schéma d'un fermenteur

## 2. Quelques utilisations du fermenteur (Intérêt) :

### **Agro-alimentaire:**

Produits laitiers (crème, beurre, fromage...), Produits carnés (patés, mortadelle) les levures (pain, pâtisserie...), Les Arômes, Vitamines, Acides organiques (lactique, citrique...), Agents de texture.

**Agriculture** : Ensilage (conservation), Biopesticides.

**Santé:** Antibiotiques, Vaccins, Anticorps.

**Chimie fine:** Enzymes, Solvants, Biocarburants.

### 3. Les micro-organismes utilisés en fermenteur :

Bactéries lactiques (Ex : *Lactococcus lactis*, *Bifidobacterium*), levure du genre *Sacharomyces*, des champignons du genre *Penicilium*.

**Exemple détaillé: *Bacillus amyloliquefaciens*** : qui a la capacité de solubiliser le phosphore. Cette bactérie est particulièrement utile lorsque les besoins de phosphore sont importants :

- pour les cultures légumières par exemple : salade, choux fleurs, artichauts.
- dans des sols à pH élevés, où le phosphore a tendance à être fixé par le calcium.

Cette bactérie est cultivée en fermenteurs pour être utilisée par la suite.

### 4. Stérilisation des fermenteurs :

Pour réaliser la culture des cellules ou des micro-organismes choisis, et seulement la culture de ceux-ci, il faut, avant d'introduire l'inoculum, stériliser complètement le bioréacteur.

Dans le cas de petits appareils, on prépare la cuve, puis on stérilise cette dernière dans un autoclave à 120 °C. Ces petits fermenteurs sont donc souvent appelés "Autoclavables".

A l'inverse, dès les tailles supérieures, les réacteurs sont stérilisés sur place, avant culture, par circulation de vapeur. Ils sont dits "Stérilisables in Situ". Certaines unités sophistiquées sont dotées de séquences automatiques de stérilisation.

Quelle que soit la taille du bioréacteur, c'est cette contrainte de stérilisation avant culture, puis de maintien de conditions "stériles" vis à vis de l'extérieur pendant les cultures, qui rend particulièrement complexe la fabrication de ces matériels.

## **II. Le control microbiologique :**

### **1. Objectif du control microbiologique :**

Le control microbiologique a pour but de s'assurer que les produits ne sont pas contaminés par des micro-organismes nocifs. Il est très nécessaire de l'effectuer.

Les germes banaux de contamination peuvent avoir des actions variées qui affectent la valeur alimentaire et commercial des produits allant d'une modification de texture, modification de la coloration, synthèse de produits toxiques ou gonflement des contenants suite à une libération intense de gaz rendant alors le produit alimentaire impropre à la consommation voire même dangereux dans certaine conditions .

Les germes banaux de contamination n'agissent sur l'aliment et n'ont de répercutions hygiéniques que s'ils sont en grand nombre. En conséquence, le contrôle vise à déceler les lots de produits alimentaires dont le niveau de populations de la flore de contamination dépasse le seuil toléré par les normes en vigueur.

### **2. Paramètres à contrôler :**

Afin d'éviter les risques d'accident de fabrication et de situer l'origine de la contamination tous les éléments entrant dans la fabrication du produit doivent être soumis à une analyse microbiologique.

Dans l'industrie agro-alimentaire, ce contrôle concerne :

- **La matière première** : avant son entrée à l'usine voire même l'origine de la matière première par exemple les animaux producteurs du lait.
- **L'eau** : utilisée pour le lavage et la transformation des produits. Dans tous les cas, l'eau utilisable en industrie alimentaire doit être obligatoirement potable y compris celle utilisée pour le lavage des locaux, des ustensiles et de la chaine de fabrication.
- **Les surfaces** des locaux et des ustensiles qui intervient dans le stockage, la découpe ou tout autre processus de transformation.
- **L'air** : ambiant dans les ateliers de transformation, de traitement et des endroits de stockage.
- **Le personnel de l'unité** qui intervient depuis la réception de la matière première jusqu'au stockage du produit fini.
- **Le matériel de conditionnement et emballage**.

### 3. Procédé de control :

1/ **Echantillonnage** : doit se faire dans les conditions steriles.

2/ **Effectuer des dilutions** afin de diminuer la charge des micro-organismes.

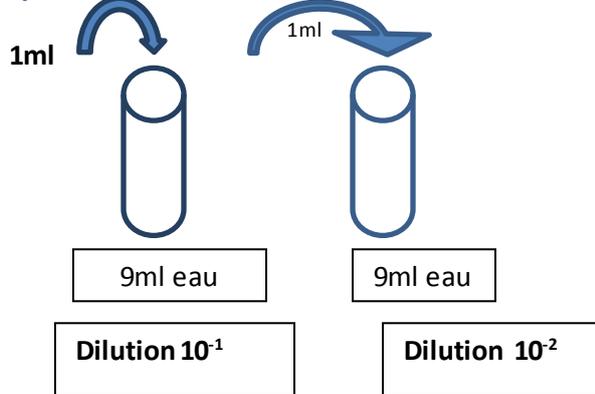
3/ **Traitement des échantillons** selon l'analyse souhaitée.

Pour les germes pathogènes : nous recherchons : *Listeria*, *Vibrio*, *Brucella*, *E. coli*, *Clostridium*, les coliformes fécaux, les *Streptocoques fécaux*.

4. **Dénombrement** et **comparaison avec les normes**.

#### ➤ Comment effectuer un dénombrement :

1/Comment effectuer Les dilutions :



**Facteur de dilution** = dilution initiale x (V prélevé / V total)

2/Comment calculer le nombre de micro-organismes :

- A partir d'un milieu solide (BOITES DE PETRI) :

$$\text{Nb}_{(\text{micro-organismes/ml})} = \frac{\sum \text{ nombres de colonies}}{\sum (\text{NB boites} \times \text{Facteurs de dilutions})}$$

- A partir d'un milieu liquide

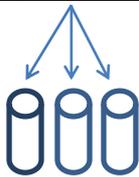
$$\text{Nb} = \text{NPP} / F_{\text{dilution médiane}}$$

Table Mc Crady :

322	210
321	150
320	93
323	290

Exemple :

/	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$
Flore A	3	3	3



Nombre de tubes avec croissance = Tubes positifs

### Exemple de Control microbiologique (recherche de flore indésirable) :

- 1/ Chercher une certaine flore : **coliformes fécaux, flore indologène, flore putride.**
- 2/ Dénombrer (compter le nombre de micro-organismes).
- 3/ Comparer avec les normes données.

Exemple :

Flore	Critères (Normes)
Flore totale	$2 \times 10^5$
Coliformes	$1,5 \times 10^2$
Flore indologène	$2,2 \times 10^2$
Flore putride	$1,6 \times 10^2$