

Production de la levure de panification par biotechnologie

par **Annie LOÏEZ**

Directeur du département Analyses
Lesaffre International

1. La levure <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	J 6 013 - 2
1.1 Principales caractéristiques	— 2
1.2 Rôle de la levure dans la panification	— 3
1.3 Principaux types de pains	— 4
1.4 Obtention de nouvelles souches	— 4
2. Conditions industrielles de production	— 5
2.1 Matières premières	— 5
2.2 Premières étapes de la fabrication	— 6
2.3 Cycle industriel	— 6
2.3.1 Conditions générales	— 6
2.3.2 Générations successives	— 7
2.4 Récolte et conditionnement de la levure fraîche	— 8
2.5 Techniques de séchage	— 8
2.6 Contrôle sur les produits finis	— 9
3. Fiche produit	— 9
3.1 Présentation	— 9
3.2 Composition type des produits commercialisés	— 10
3.3 Valeur nutritionnelle	— 10
Pour en savoir plus	Doc. J 6 013

La levure de boulangerie peut, à juste titre, être considérée comme un des plus anciens produits issus de la fermentation industrielle. Aujourd'hui encore, elle est un des plus importants produits de la biotechnologie, à la fois par la quantité (plus de 2,5 millions de tonnes annuelles) et par la fonction (les qualités du pain levé à la levure sont reconnues à travers le monde, dépassant les frontières nationales et culturelles).

Pour le biochimiste et le généticien, son importance va plus loin que sa place dans l'industrie agroalimentaire et que son rôle dans la panification. En effet, ***Saccharomyces cerevisiae***, espèce à laquelle appartient la levure de boulangerie, a été et est encore l'un des organismes modèles parmi les plus utilisés dans les laboratoires de recherche universitaires pour des études biochimiques, physiologiques et génétiques : c'est l'eucaryote le plus simple (eucaryote : cellule différenciée contenant un noyau ; l'homme comme la levure est un eucaryote) ; sa croissance est rapide avec un doublement toutes les deux heures, sa manipulation en laboratoire est aisée et son utilisation séculaire dans les aliments fermentés est l'assurance de son innocuité.

La majeure partie des connaissances sur la physiologie et la génétique de « ***Saccharomyces cerevisiae*** » a été acquise dans les laboratoires universitaires sur des souches dites de laboratoire que Carlos Gancedo [1] appelle avec humour « ***Saccharomyces laboratorii*** ». Ces souches, mieux adaptées aux

analyses génétiques que les souches industrielles, présentent des taux de croissance et des niveaux d'activité fermentaire nettement inférieurs à ceux des souches de levure utilisées par les industries de fermentation. En conséquence, ces connaissances ne peuvent être utilisées directement et doivent être transposées aux souches industrielles et aux conditions industrielles d'utilisation de la levure. Les avancées scientifiques ont permis des progressions importantes dans la maîtrise des cultures en fermenteur, la stabilisation du produit par séchage ménageant (c'est-à-dire en lit fluidisé, permettant de conserver 80 % du pouvoir fermentatif), par exemple, et la construction de nouvelles souches mieux adaptées aux habitudes alimentaires rencontrées dans les pays utilisateurs et aux contraintes liées à l'évolution des techniques boulangères.

La levure de boulangerie est donc à la fois un produit traditionnel et un produit en évolution permanente.

1. La levure *Saccharomyces cerevisiae*

1.1 Principales caractéristiques

La levure de boulangerie est un champignon unicellulaire, de la classe des Ascomycètes, du genre *Saccharomyces* (le nom réfère à son affinité pour le sucre) et de l'espèce *cerevisiae* (le nom réfère à son rôle dans la fabrication de la bière) ; le nom *Saccharomyces cerevisiae* a été donné à la levure de bière en 1838 par Meyer.

On peut observer, au microscope optique, des cellules individualisées, de forme ovoïde, de 4 à 10 µm de diamètre. Un gramme de levure pressée contient 8 à 10 milliards de cellules. Sur une coupe observée en microscopie électronique, on distinguera, de l'extérieur vers l'intérieur, la paroi cellulaire, la membrane cytoplasmique, le noyau, des vacuoles, des ribosomes et des mitochondries (figure 1).

La **paroi cellulaire**, d'une épaisseur de 70 ± 10 nm, représente 15 à 18 % des matières sèches cellulaires ; elle est composée presque exclusivement de polysaccharides : des glucanes, polymères de glucose, reliés par des liaisons β 1-3 et β 1-6 et des mannanes, polymères de mannose, dont le squelette est formé de liaisons β 1-6 et dont les ramifications comprennent des liaisons β 1-2 et β 1-3.

Le rôle de la paroi est principalement de protéger et de maintenir la forme de la cellule de levure, grâce à sa structure semi-rigide : les glucanes forment un réseau de fibrilles maintenu par liaisons covalentes et liaisons hydrogène ; les mannanes et les complexes mannanes-protéines, de masses moléculaires élevées et insolubles, forment la couche la plus externe, portant les déterminants antigéniques.

Cependant, la paroi a une certaine élasticité qui lui permet de réagir, par des variations de volume cellulaire, aux conditions de pression osmotique du milieu.

La **membrane cytoplasmique**, composée principalement de lipides (triglycérides, phospholipides et stérols), de protéines et de lipoprotéines, a une structure en bicouche, caractérisée par un arrangement des molécules phospholipidiques côte à côte et dos à dos, avec les groupements polaires vers l'extérieur. Dans cette structure s'intercalent les protéines.

Le rôle de la membrane est capital pour le métabolisme de la levure. Ses trois fonctions principales sont :

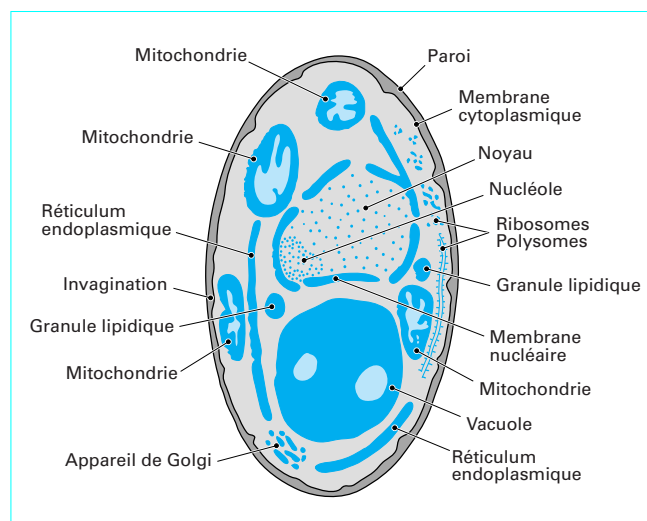


Figure 1 - Schéma d'une cellule de levure de boulangerie (*Saccharomyces cerevisiae*)

- de former une barrière extensible qui permet à la cellule de gonfler ou de rétrécir selon la pression externe ;
- de contrôler l'entrée ou la sortie de solutés, soit par diffusion simple, soit par transport actif grâce à de nombreuses enzymes appelées perméases ;
- de servir de base sur laquelle les composants de la paroi sont attachés.

Le **cytoplasme** est une substance colloïdale dans laquelle se déroule toute une série de réactions biochimiques.

Il contient de nombreux **organites** dont les principaux sont :

- le **réticulum endoplasmique** et l'**appareil de Golgi**, réseau de membranes, intervenant dans la sécrétion de protéines ;
- le **noyau** qui contient les chromosomes au nombre de 16 pour la forme haploïde ;
- les **vacuoles**, lieux de stockage de nombreuses substances de réserve. Elles jouent pour la levure le rôle de lysosomes, c'est-à-dire qu'elles contiennent à l'état inactif des enzymes (protéases, nucléases, estérases...) capables d'hydrolyser certaines macromolécules. Ces enzymes deviennent actives, en particulier au cours de la lyse cellulaire ;

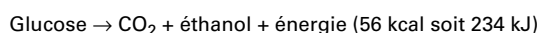
– les **mitochondries**, structures sphériques ou en bâtonnets, de 0,3 à 1 µm de large et jusqu'à 3 µm de long, entourées d'une double membrane. Elles sont le siège de la respiration. Elles sont équipées d'enzymes capables d'oxyder divers substrats, avec des systèmes de transport d'électrons et d'enzymes qui convertissent l'énergie libre des réactions oxydatives en ATP ;

– les **ribosomes**, sites de synthèse des protéines sont des particules composées de deux sous-unités (40 S et 60 S) et ressemblent aux ribosomes des autres organismes. La levure de boulangerie est caractérisée par sa richesse en ARN ribosomique (ARN = acide ribonucléotidique).

La levure de boulangerie appartient à un groupe relativement mineur de levures : les 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.

La levure tire son énergie du sucre (figure 2).

■ En **anaérobiose**, le sucre est fermenté. L'oxydation du glucose est incomplète :



Cette voie métabolique, appelée glycolyse, fait intervenir pas moins de 12 enzymes, qui constituent de 30 à 65 % des protéines cytosoliques selon les cas.

On estime que 95 % du glucose est transformé en CO₂ + alcool et que 5 % aboutit à des produits de fermentations secondaires : glycérol, acides organiques, aldéhydes, esters, alcools supérieurs, etc.

L'ensemble de ces réactions est la base de la fermentation panariaire : le gaz carbonique provoque la levée de la pâte tandis que les métabolites secondaires contribuent à la création du goût et de l'arôme du pain.

■ En **aérobiose**, l'oxydation du glucose est complète :



Comme en anaérobiose, 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 acétyl-CoA qui permettra l'entrée dans le cycle de dégradation des acides tricarboxyliques ou cycle de Krebs qui permet la synthèse de composés riches en énergie, précurseurs de lipides et de protéines.

■ 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 ou répression catabolique ou, dans certains documents anciens, « **contre-effet Pasteur** » : le glucose réprime l'expression de gènes codant pour des enzymes impliquées dans son propre métabolisme ou dans celui d'autres sources de carbone. Dans la levure, ce sont principalement les enzymes du cycle de Krebs qui sont soumises à la répression catabolique.

Ce phénomène de **répression catabolique** revêt une grande importance dans la production industrielle de levure et justifie le procédé d'alimentation continue, appelé procédé « fedbatch ».

1.2 Rôle de la levure dans la panification

Comme nous pouvons le voir (cf. encadré « *Historique* »), la fermentation joue un rôle prépondérant dans l'élaboration des qualités physiques du pain, par la levée de la pâte qui contribue à la formation du réseau glutineux, et dans le développement de ses qualités organoleptiques grâce aux fermentations secondaires.

La pâte à pain est constituée de farine, d'eau, de sel (1,5 à 2 % de la farine), de levure (0,5 à 6 % selon les formules), auxquels

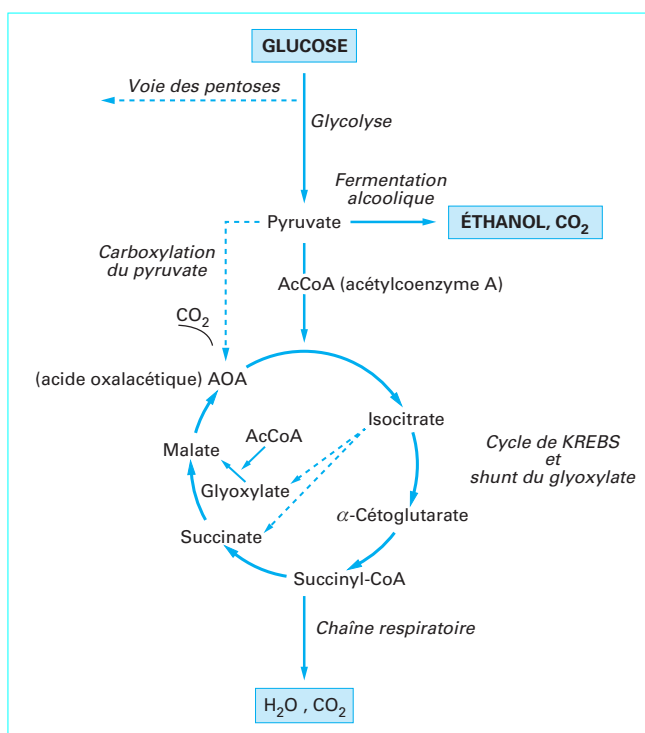


Figure 2 – Voies métaboliques de dégradation du glucose (synthèse)

peuvent être ajoutés, selon les recettes, du sucre, des matières grasses et des adjuvants ou additifs autorisés appelés améliorants de panification.

■ Il convient de distinguer trois types de sucres pouvant être fermentés par la levure :

– les **sucres préexistants**, qui représentent environ 1 % de la farine : **glucose, fructose, saccharose, raffinose et lévuline** qui est un polymère formé d'un résidu glucose relié à plusieurs molécules de fructose. L'invertase de la levure, enzyme externe, est capable d'hydrolyser saccharose, raffinose et lévuline pour libérer du glucose et du fructose directement assimilables et fermentescibles ;

– le **maltose**, qui provient de la dégradation enzymatique de l'amidon de la farine par les α et β-amylases présentes dans celle-ci, pénètre grâce à une perméase spécifique dans la cellule où il est hydrolysé par la maltase en deux molécules de glucose. Maltase et maltoperméase sont induites par le maltose et plus ou moins réprimées par le glucose, selon les souches ;

– les **sucres ajoutés**, dont la dose et la nature varient selon les recettes et les pays. En France, le **saccharose** est encore souvent employé mais il peut être remplacé, comme aux USA, par des **sirops de glucose et fructose**, plus faciles à utiliser en boulangerie industrielle. Dans d'autres pays, des matières premières locales, comme le jus de datte, peuvent être employées.

Lorsque la quantité de sucre ajouté augmente (> 5 % de la farine), on observe une diminution de l'activité fermentative, proportionnelle à l'augmentation de la pression osmotique. Cette dernière étant proportionnelle au nombre de molécules dissoutes dans l'eau libre de la pâte, on notera que l'addition de sirop de glucose + fructose engendre une pression osmotique supérieure à celle d'une quantité équivalente de saccharose.

Pour la même raison, les levures riches en invertase seront moins performantes dans les pâtes riches en saccharose que des levures à taux d'invertase plus bas.

Historique de la panification et de la levure

Il y a au moins cinq mille ans que l'homme a inventé le pain, après avoir utilisé, pendant une très longue période, des préparations de céréales, bouillies ou galettes, comme élément de base de sa nourriture.

Les Égyptiens puis, plus tard, les Hébreux, ont observé que, avec de la pâte naturellement fermentée, on pouvait faire lever les galettes traditionnelles et leur donner une saveur et une texture nouvelles : **le pain était né.**

Les boulangers continuèrent pendant longtemps à utiliser presque exclusivement l'ensemencement au levain, pâte dans laquelle on a laissé se développer les microorganismes naturellement présents dans la farine. Ces microorganismes sont des levures de différents genres et espèces et des bactéries acidifiantes.

À la fin du XVII^e siècle, les boulangers français commencèrent à ajouter de la levure de bière au levain, ce qui améliorait le goût et accélérerait la levée du pain. C'est vers 1840 qu'un boulanger autrichien introduisit en France l'utilisation de la levure seule. La fabrication du pain viennois, dite *sur poolish*, restait limitée aux pains de luxe car elle nécessitait une première préparation liquide, faite d'eau, de farine et de levure, qu'on laissait fermenter plusieurs heures avant d'ajouter le reste de la farine, de l'eau et du sel pour obtenir la pâte.

Les premières levures pressées, commercialisées sous forme de blocs, apparurent en Allemagne en 1825. Mais l'industrie de la levure a réellement démarré en Autriche en 1867 avec le procédé **Mautner**. Ce procédé empirique consistait à préparer un moult de grains, de telle sorte que le dégagement gazeux entraînait la levure à la surface où elle était recueillie.

En 1872, le baron **Max de Springer**, venu de Vienne, créa à Maisons-Alfort, près de Paris, la première fabrique française de levure de grains, selon la méthode viennoise : **ce furent les débuts de la société Fould-Springer.**

La Société « **Lesaffre et Bonduelle** », ancêtre du groupe Lesaffre, imita son confrère et commença également en 1872 à vendre, comme levure de boulangerie, la levure extraite des mouls de fermentation de grains, produits dans sa distillerie de Marcq-en-Barœul, près de Lille.

Les recherches de Louis Pasteur en 1876 avaient révélé que l'insufflation d'air favorisait la croissance de la levure – les levuriers adoptèrent rapidement l'aération continue du moult qui permettait d'obtenir davantage de levure et moins d'alcool.

Les progrès décisifs se firent entre 1915 et 1920 en Allemagne et au Danemark avec le procédé d'alimentation continue qui consiste à synchroniser l'addition des sucres, dont se nourrit la levure, avec la croissance de celle-ci. **La fabrication moderne de levure repose toujours sur ces bases.**

1.3 Principaux types de pains

La variété des pains est très grande, aussi bien en France que dans les cinq continents. Elle est le reflet des usages, de la demande du consommateur, des matières premières disponibles et aussi des impératifs techniques.

On distingue sept grandes familles de pains.

- **Les pains à croûte dure** : c'est le pain français traditionnel.
- **Les pains de mie ou pains toasts** cuits en moule : c'est le pain anglo-saxon par excellence. Sa fabrication est plus « automatisable » que celle du pain français, ce qui explique le développement important de la boulangerie industrielle dans ces pays.

- **Les pains plats ou pains arabes** : il en existe deux grandes variétés.

Pour le pain de type libanais, la pâte, composée de farine, eau, sel et levure, est laminée en fines galettes, mise à reposer pendant une heure et cuite en moins d'une minute dans un four brûlant à 500 ou 600 °C. Pendant la cuisson, le disque de pâte se gonfle brusquement et se dégonfle à la sortie du four, produisant ainsi une fine galette formée de deux couches.

La seconde variété est une galette plus épaisse et avec une mie plus importante ; elle correspond au *baladi égyptien* ou à la *pita grecque*.

- **Les pains noirs** qui sont traditionnellement consommés en Allemagne et dans toute l'Europe de l'Est. Ils sont à base de farines complètes et de farine de seigle. Pour limiter le collant, on inclut dans la pâte des acidifiants (levain, vinaigres). Ces pains acides, très denses, se conservent très longtemps.

- **Le pain vapeur** est largement répandu en Chine et dans toute l'Asie du Sud-Est. Le produit final, assez dur et sans couleur, se consomme garni de viande ou de farce aux légumes et aux herbes.

- **Les pains frits** sont plus proches d'une bouillie de céréales cuite en friture que d'un véritable pain. On peut citer, à titre d'exemple, le *chappati* en Inde ou la *tortilla* au Mexique.

- **Les pains gâteaux**, riches en sucre (20 à 30 % par rapport à la farine), en matières grasses et parfois en œufs, consommés le plus souvent comme friandises, se rencontrent aussi bien en Europe (la *brioche*, le *cramique belge*) qu'en Extrême-Orient (les *rotimans* indonésiens) ou au Mexique avec le *pan dulce*.

1.4 Obtention de nouvelles souches

La diversité des recettes de pain dans le monde et aussi l'évolution des technologies boulangères et les exigences industrielles et économiques de la production nécessitent un travail important d'amélioration des souches de levure de boulangerie.

Le généticien dispose aujourd'hui de techniques performantes issues du génie génétique mais les techniques classiques, mutagenèse et hybridation, ne sont pas délaissées pour autant [2].

Saccharomyces cerevisiae présente deux modes de reproduction. Dans des conditions favorables, la levure se multiplie par bourgeonnement. Le bourgeon grossit et se détache de la cellule-mère pour donner une cellule-fille identique. C'est la **multipliation végétative ou reproduction asexuée**.

Il existe également une **reproduction sexuée**. En effet, en carence de nutriments et en présence d'acétate, la cellule de levure diploïde (2 lots de chromosomes) ou tétraploïde (4 lots) va sporuler ; la cellule se transforme en une asque composée en théorie de 4 spores ; pratiquement, dans les souches industrielles, de 1 à 4 spores.

Dans ce processus de reproduction sexuée, une cellule à 2n chromosomes donne naissance à 4 spores à n chromosomes : c'est la **méiose** ou division réductionnelle. Dans l'asque, 2 spores sont de signe a et 2 sont de signe α. Le croisement n'est possible qu'entre 2 cellules de signes opposés : il y a donc hétérothallisme. Chez *Saccharomyces cerevisiae*, de nombreuses recombinaisons géniques ont lieu lors de la méiose d'où une grande diversité génétique des haploïdes ou ségrégeants et la possibilité d'établir des programmes de croisements entre ségrégeants issus de souches ayant des propriétés différentes.

Bien que les protocoles utilisés dans les laboratoires universitaires ne puissent être transposés aux souches industrielles, en raison de la faible fréquence d'obtention de spores viables et de

l'impossibilité d'utiliser des tests simples pour la sélection, c'est ainsi pourtant que nombre de souches de levure de boulangerie utilisées actuellement ont été construites.

Nous citerons les souches rapides, adaptées à la fermentation du maltose, performantes sur des pâtes pas ou peu sucrées [3] ainsi que les souches à large spectre d'utilisation, performantes à la fois sur pâtes sucrées et non sucrées [4] [5].

Les mutants, spontanés ou induits, ont été relativement peu exploités pour les levures industrielles. La mutagenèse induite par agents chimiques ou rayonnements peut endommager des gènes importants pour les propriétés industrielles. L'isolement de mutants spontanés réduit cet écueil, mais il reste essentiel de disposer d'un test de sélection efficace. Des mutants présentant des propriétés de meilleure résistance à la congélation ont ainsi pu être obtenus [6].

Les techniques de biologie moléculaire permettent d'éviter ces difficultés en agissant avec précision au niveau d'un gène. Elles permettent ainsi, soit de modifier ou de supprimer une activité, soit d'introduire une nouvelle fonctionnalité, ce que ne permet pas la génétique traditionnelle.

Ainsi ont été construites, par exemple, des levures de boulangerie capables d'utiliser le lactose, le mélibiose ou le maltose de façon constitutive.

Grâce au séquençage complet du génome de la levure en 1996, premier génome d'un organisme eucaryote séquencé, l'approche moléculaire se développe rapidement dans les laboratoires universitaires et industriels. Cependant, il existe une réaction négative forte des consommateurs à l'encontre des aliments contenant des organismes génétiquement modifiés (OGM) et, à notre connaissance, aucune levure génétiquement modifiée n'est utilisée aujourd'hui pour faire du pain.

2. Conditions industrielles de production

2.1 Matières premières

Les matières premières utilisées doivent répondre aux exigences nutritionnelles imposées par la croissance et la multiplication des cellules de levure. Si la levure est produite sur un milieu de composition définie, à base de glucose comme substrat carboné et de sels d'ammonium et de phosphore comme sources d'azote et de phosphate, le milieu de culture devra être complété par un apport de sels minéraux, de vitamines et d'oligoéléments. Une composition type de milieu a été donnée dans le brevet de Plomb [7] et est reprise dans le tableau 1. Ce milieu est complexe et onéreux, c'est pourquoi les mélasses de sucrerie de betterave ou de canne sont des substrats de choix sur les plans économique et technique et sont, à ce jour, la principale matière première utilisée en levurerie.

Leur composition est variable et dépend des procédés sucriers dont elles sont issues ainsi que de la qualité des récoltes. On trouvera, dans le tableau 2, la composition type de mélasses de betterave et de canne, extraite du livre de Reed et Nagodawithana [8].

■ Les 77 à 82 % des matières sèches de la mélasse apportent pour l'essentiel du **saccharose** comme **source de carbone**, des **minéraux**, des **oligoéléments** et des **vitamines**. La mélasse de betterave contient environ 1 à 1,5 % de raffinose (trisaccharide formé de galactose-glucose-fructose) dont la levure n'assimile que le résidu fructose car elle ne possède pas d'activité α -galactosidase pour hydrolyser le mélibiose (galactose-glucose).

Tableau 1 – Besoins nutritifs pour la croissance de la levure, pour un kilogramme de glucose dans le milieu

Matière première	Quantité	Matière première	Quantité
Sels minéraux		Vitamines	
K ₂ SO ₄	24 g	B1	25 mg
MgSO ₄ , 7H ₂ O	12 g	B2	1,25 mg
CaCl ₂ , 2H ₂ O	1,6 g	B5	95 mg
		B6	12 mg
Oligoéléments		Biotine	0,5 mg
Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ , 6H ₂ O	1 025 mg	Acide p-aminobenzoïque	5,8 mg
ZnSO ₄ , 7 H ₂ O	192 mg	Acide nicotinique	40 mg
CuSO ₄ , 7H ₂ O	30 mg	Acide nicotinamide	40 mg
MnSO ₄ , H ₂ O	17 mg		
H ₃ BO ₃	23 mg	Inositol	1 440 mg
Na ₂ MoO ₄ , 2H ₂ O	23 mg	Ribitol	43 mg
KI	11 mg		

Tableau 2 – Composition type des mélasses
(en % des matières sèches totales)

Matière première	Mélasse de betterave	Mélasse de canne
Sucres totaux	66,5	73,1
Saccharose	63,5	45,5
Raffinose.....	1,5	0
Sucre inverti	0	22,1
Autres	1,5	5,5
Composés organiques totaux	23,0	15,2
AG et PY (1)	4,0	2,4
Aminoacides	3,0	0
Bétaïne.....	5,5	0
Autres formes d'azote	0	3,1
Acides organiques.....	5,5	7,0
Pectines, etc.	5	2,7
Composés minéraux totaux	10,5	11,7
K ₂ O.....	6,0	5,3
Na ₂ O	1,0	0,1
CaO	0,2	0,2
MgO	0,2	1,0
Al ₂ O ₃ ; Fe ₂ O ₃	0,1	0
SiO ₂	0,1	0
Cl	1,7	1,1
SO ₂ + SO ₃	0,5	2,3
P ₂ O ₅	0,1	0,8
N ₂ O ₅	0,4	0
Autres	0,2	0,9

(1) Acide glutamique + acide pyrrolidine carboxylique.

■ La levure a besoin de **biotine** (vitamine H) pour sa croissance. Les mélasses de canne en sont riches (0,5 à 0,8 ppm). Dans le cas de fermentations sur mélasses de betterave ou d'autres substrats carbonés comme des hydrolysats d'amidon, cette vitamine doit être ajoutée à raison de 60 à 100 µg pour 100 g de matières sèches de levure produite. Les autres vitamines sont habituellement présentes en quantités suffisantes dans les mélasses. Les vitamines B1 et B6 sont quelquefois ajoutées pour améliorer l'activité fermentative de la levure.

■ L'apport **azoté** des mélasses est largement insuffisant pour couvrir les besoins de la levure. La bétaine présente dans la mélasse de betterave n'est pas assimilée.

Le taux d'azote de la levure de boulangerie varie de 6 à 9 % sur matières sèches soit 37 à 56 % de protéines. La composition azotée dépend de la qualité souhaitée : une levure riche en azote est plus active mais moins stable. L'apport d'azote dans le milieu se fait habituellement sous forme d'hydroxyde ou de sels d'ammonium (sulfate ou phosphate), ou d'urée. Cette dernière, qui exige pour sa bonne assimilation des niveaux élevés de biotine, est utilisée principalement avec la mélasse de canne.

■ La mélasse manque de **phosphore**. En règle générale, la composition en phosphore de la levure, exprimée en P₂O₅, représente un tiers de celle de l'azote, soit entre 2 et 3 % sur matières sèches. Le phosphore est ajouté sous forme d'acide phosphorique ou de ses sels.

■ Les mélasses contiennent suffisamment de **potassium**, de **calcium** et de **soufre**, mais du **magnésium** (et parfois du **zinc**) doivent être ajoutés.

■ Elles peuvent, dans certains cas, présenter une **toxicité** pour la croissance des levures. Les éléments toxiques sont mal définis ; ils proviennent des techniques agricoles ou sucrières (ammonium quaternaire, sulfites, fongicides) ou de minéraux en excès (Na⁺) ou encore d'acides gras à chaînes courtes. Dans le processus de levurerie, la mélasse est filtrée, diluée, clarifiée et stérilisée. Il est relativement facile de clarifier la mélasse de betterave, tandis que la mélasse de canne contient des substances colloïdales qui rendent la clarification plus difficile.

■ D'autres substrats carbonés peuvent être utilisés pour la production de levure de boulangerie. Autrefois, avant 1920, la principale source de carbone était le **maltose** dérivé des moûts de grains convertis en maltose. Les **sirops de glucose**, obtenus par hydrolyse enzymatique des amidons de maïs ou de blé, sont une bonne matière première potentielle, pouvant être utilisée seule, comme source de carbone, ou en complément d'autres matières premières carbonées et présentant l'avantage de diminuer sensiblement la DCO des effluents.

2.2 Premières étapes de la fabrication

La conduite de la multiplication des cellules de levure répond à un triple objectif :

- celui de fournir au client un produit adapté à ses besoins, notamment en termes de pouvoir fermentatif, de stabilité et de présentation ;
- celui de maîtriser les risques de contamination microbiologique ;
- celui de produire la levure au meilleur prix.

À partir du tube gélosé contenant la souche, une série de cultures dans des volumes de plus en plus grands conduira au produit commercial. Les différentes étapes de la production sont présentées figure 3.

Les premières étapes, réalisées au laboratoire dans des conditions strictes de stérilité, sont appelées *culture pure*. Elles sont réalisées dans un milieu nutritif riche composé de saccharose et d'extrait de levure en *batch* agité. Il y a donc coproduction d'alcool.

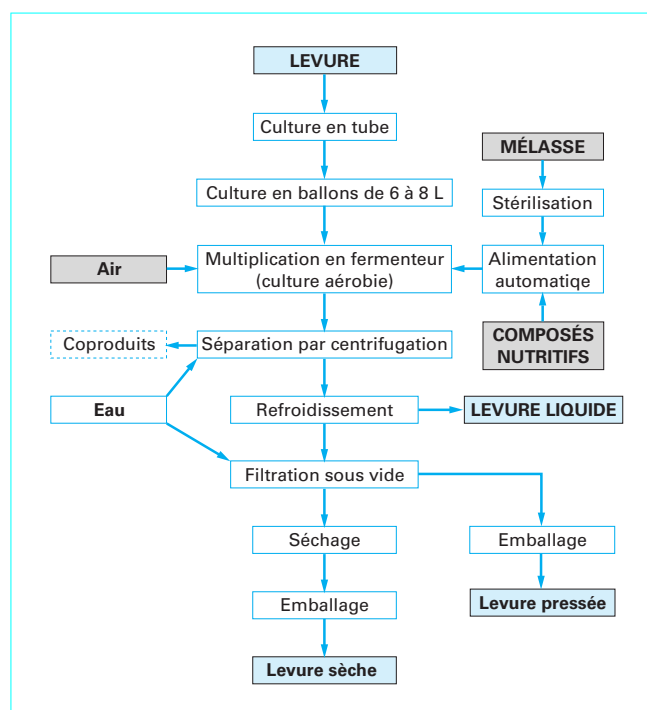


Figure 3 – Procédé de fabrication de la levure

Dans ces conditions de semi-aérobie, le rendement biomasse/sucre est faible. Les récoltes sont de 20 à 50 g/L, soit 6 à 15 g de matières sèches/L.

Une récolte de 500 g environ (exprimée en levure à 30 % de matières sèches) sera suffisante pour ensemençer un premier fermenteur industriel de 8 à 10 m³ dit *préfermenteur*. À partir de cette première étape de fermentation industrielle, également conduite en *batch*, avec une faible aération, la mélasse sert de substrat.

Il faut une vingtaine d'heures pour obtenir environ 200 kg de levure (soit un taux d'enrichissement de 400 fois) qui serviront à l'ensemencement de la cuve de première génération industrielle (G1).

2.3 Cycle industriel

2.3.1 Conditions générales

Les fermentations commerciales sont menées en mode *fed-batch*. Cette méthode consiste à pourvoir aux besoins en sucres de la levure en les apportant graduellement, de telle sorte qu'ils ne s'accumulent pas dans le milieu. La mélasse est coulée en quantités progressives, en fonction de la masse cellulaire présente à un instant donné, et de la capacité du milieu à dissoudre l'oxygène. Il n'y a pas de soutirage simultané et la fermentation se termine quand le fermenteur est plein. La durée totale d'une fermentation est comprise entre 10 et 18 h.

■ Le rendement théorique de conversion du sucre en levure en anaérobie est $Y_s = 0,075$ (g/g) tandis que, en conditions d'aérobie sur substrat mélasse, il est généralement de l'ordre de 0,5 : on comprend aisément que le producteur de levure recherche les conditions permettant d'optimiser le rendement. Il faut pour cela respecter deux conditions :

– le taux de croissance :

$$\mu = \frac{1}{x} \frac{dx}{dt}$$

ne doit pas dépasser 0,2 ;

avec x biomasse,
 t temps ;

– la concentration du substrat présente à un moment donné ne doit pas dépasser 1 mM en glucose pour éviter l'effet Crabtree (cf. § 1.1).

■ Le **quotient respiratoire** ($RQ = Q_{CO_2}/Q_{O_2}$) est défini comme le rapport entre le CO_2 produit Q_{CO_2} exprimé en moles de CO_2 par gramme de matières sèches de levure et par heure, et l'oxygène consommé Q_{O_2} exprimé en moles d' O_2 par gramme de matières sèches de levure et par heure.

En aérobic, le quotient respiratoire est égal à 1. Pour des taux de croissance supérieurs au taux critique μ qui est environ de 0,2 et dépend des conditions de préculture et de la souche utilisée, le quotient respiratoire augmente à des niveaux correspondant à la fermentation continue, à l'état d'équilibre, en faisant varier le taux de dilution, c'est-à-dire le taux de renouvellement du milieu dans le fermenteur qui est égal au taux de croissance (figure 4, [8]).

■ La **quantité d'oxygène** nécessaire à la croissance est de l'ordre de 1 g d'oxygène par gramme de matières sèches de levure. L'oxygène est fourni en « soufflant » de l'air à travers le liquide contenu dans le fermenteur. Le volume d'air soufflé par minute est de 1 fois à 1,5 fois le volume de liquide dans le fermenteur. On peut utiliser de l'air enrichi en oxygène.

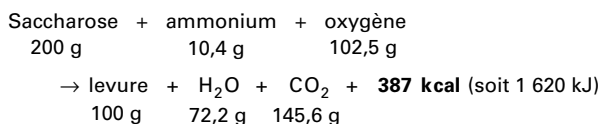
L'efficacité des systèmes d'aération est très variable. D'une façon générale, il est intéressant d'obtenir des bulles plus petites qui remontent plus lentement dans le fermenteur et qui présentent une plus grande surface totale de bulles, ce qui améliore la surface d'échange et le transfert d'oxygène.

De nombreux systèmes ont été décrits et sont utilisés : réacteurs à boucle de type *air-lift*, réacteurs à colonne à bulles, réacteurs-tanks agités.

■ L'aération intense des fermenteurs provoque une formation de mousse importante, nécessitant l'emploi d'**agents antimousses** : huiles végétales de qualité alimentaire ou antimousses synthétiques autorisés. L'addition d'antimousse se fait automatiquement grâce à une sonde située au-dessus du niveau de liquide dans le fermenteur. Les agents antimousses affectent le transfert d'oxygène d'une façon complexe : ils tendent à diminuer les coefficients de transfert d'oxygène, mais augmentent la surface de l'interface entre les bulles d'air et le liquide.

■ La levure de boulangerie tolère une **large gamme de pH**, de 3 à 6 avec un optimum de croissance à pH 4,5 à 5. La plupart des fermentations commerciales commencent à des pH bas pour limiter la contamination bactérienne et se terminent à pH entre 5 et 6.

■ La production de levure dégage une **grande quantité de chaleur** qui est fonction du taux de multiplication et de la concentration cellulaire. La valeur mesurée est de l'ordre de 4,4 kcal/g (18,4 kJ/g) de matières sèches produites, supérieure à la valeur théorique de 3,9 kcal/g (16,3 kJ/g) qui est déduite de l'équation simplifiée de Harrison [9] :



Le refroidissement des cuves se fait par circulation d'eau froide dans un réseau de tuyauteries situé le long des parois du fermenteur

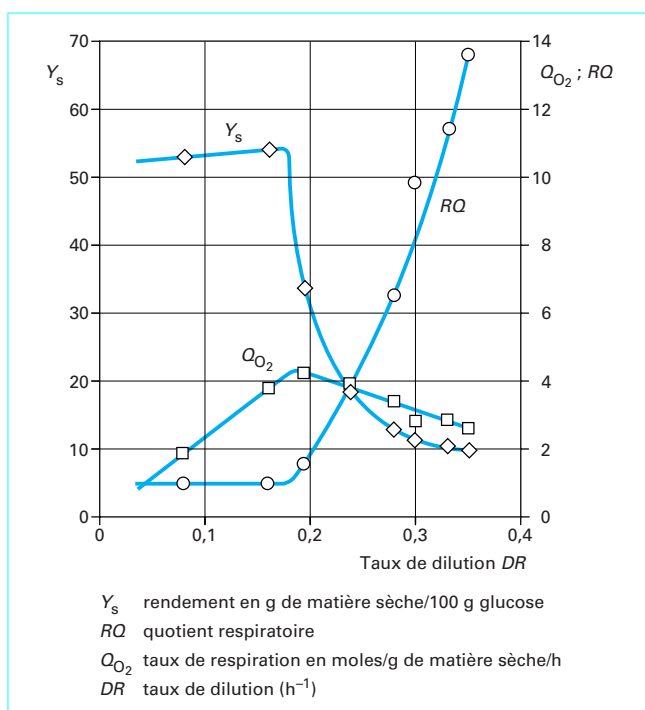


Figure 4 – Effet du taux de dilution sur le métabolisme de la levure en culture continue

teur ou par échangeur thermique à plaques. La capacité de refroidissement des cuves est le deuxième facteur limitant, après l'apport d'oxygène, pour la productivité des grands fermenteurs.

Au dernier stade de fermentation, la concentration finale en cellules atteint régulièrement 5 à 6 % (exprimé en matières sèches). Expérimentalement, au stade pilote, avec un transfert d'oxygène adapté, des concentrations de 10 % peuvent être atteintes.

2.3.2 Générations successives

Le premier stade de *fedbatch* (G1) permet de récolter entre 35 et 40 fois l'ensemencement initial. Les conditions ne sont plus celles d'une stérilité parfaite mais sont en conformité avec les normes de l'agroalimentaire.

La récolte obtenue, séparée ou non du moût, servira à ensemencer la 2^e génération industrielle (G2). Les taux de multiplication sont plus bas car le coefficient de transfert de l'oxygène et la capacité de refroidir le fermenteur limitent la concentration de la biomasse pouvant être produite. On récolte 5,5 à 6 fois la quantité de levure ensemencée dont une partie servira à ensemencer la génération suivante.

La conduite de dernière génération, ou **génération commerciale**, est primordiale pour ce qui concerne la qualité de la levure :

- l'ajustement de la composition biochimique (azote, P₂O₅, sucres de réserve) dont dépendront le pouvoir fermentatif et la stabilité ;
- l'aptitude à fermenter dans des conditions d'applications spécifiques (pâtes acides, sucrées, surgelées...);
- l'aptitude à subir des traitements physiques comme le séchage.

En génération commerciale, la multiplication totale est également de l'ordre de 6. Elle se termine habituellement par une phase de mûrissement dont le but est d'assurer la stabilité de la levure en lui permettant de synthétiser des sucres de réserve (tréhalose, glycogène) en fin de fermentation.

2.4 Récolte et conditionnement de la levure fraîche

La séparation des cellules de levure du moût de fermentation s'effectue en continu sur des centrifugeuses à plateaux, qui permettent de laver la levure et d'obtenir une suspension ou crème de levure à 18 à 20 % de matières sèches, ce qui correspond à environ 50 % de cellules en volume.

La crème est refroidie à 4 °C sur échangeur à plaques et stockée à cette température dans des cylindres de garde.

■ La levure peut être vendue sous cette forme **liquide** qui correspond à une demande de la boulangerie industrielle, principalement en Australie, aux États-Unis et au Canada.

Cette présentation, qui nécessite un investissement en tanks de stockage chez l'utilisateur, se développe également en Europe. **Ses avantages sont :**

- la possibilité d'automatiser le dosage de la levure ;
- une dispersion homogène dans la pâte en pétrissage à haute vitesse ;
- la possibilité de standardiser l'activité de la levure ;
- une bonne stabilité assurée par un bon contrôle de la température de stockage ;
- pas de matériaux d'emballage à éliminer ;
- un coût plus faible car peu d'opérations unitaires après la fermentation.

■ La présentation la plus répandue reste la **levure pressée**, sous forme de blocs compacts appelés pains de levure. Elle est obtenue par concentration de la crème sur un filtre rotatif sous vide, appelé déshydrateur. L'addition de 0,5 % de sel à la crème avant la filtration permet d'extraire plus d'eau des cellules par la différence de pression osmotique.

Deux rampes de lavage éliminent le sel du gâteau de levure aspiré sur la précouche de fécule du déshydrateur. On obtient ainsi des matières sèches de 30 à 33 %. Après raclage, le gâteau est malaxé, boudiné et extrudé au travers de filières téflonnées de sections carrées, puis divisé en pains.

La filtration peut également être réalisée sous pression sur des filtres-presses à travers des toiles. Un des avantages de ce procédé est qu'il ne nécessite pas d'adjuvant de filtration.

■ Une présentation alternative, appréciée des industriels, est la **levure émietlée**, sous forme de particules relativement fines et d'écoulement facile, ce qui lui permet d'être dosée automatiquement. Elle est emballée en sacs de 25 kg.

La **levure fraîche**, sous ses différentes présentations, doit être transportée et stockée à des températures de 3 à 7 °C. Elle conserve ainsi une bonne activité fermentative et une bonne qualité bactériologique pendant au moins 3 à 4 semaines.

2.5 Techniques de séchage

C'est pendant la Seconde Guerre mondiale qu'a été développé aux États-Unis un produit à 92 % de matières sèches, sous forme de **granules à réhydrater**, présentant une stabilité suffisante pour

être transporté sur de longues distances et conservé dans des conditions difficiles.

Les années 1970 ont vu apparaître une nouvelle génération de **levure sèche active**, qualifiée d'**instantanée**, en raison de la possibilité de l'utiliser directement dans la pâte, sans passer par une phase de réhydratation préalable.

Les différentes techniques de séchage partent du gâteau de levure prélevé à la sortie du déshydrateur [10].

■ La **levure sèche à réhydrater** peut être produite sous forme de granules plus ou moins poreux ou de sphérules, petites billes de 0,2 à 1 mm de diamètre. La levure à 30-35 % de matières sèches est extrudée en particules de 1 à 4 mm de section et 1 à 3 cm de long.

● Pour la production de **granules**, ces fibres sont transportées en continu sur un tapis à mailles métalliques, dans un tunnel comportant 4 à 6 chambres traversées par des flux d'air verticaux portés à des températures différentes. La durée du processus de séchage est de 3 à 5 h, à des températures ne dépassant pas 45 °C. Les « granules » sont obtenus par broyage et tamisage.

● Les **sphérules** sont obtenues par séchage, dans des tambours rotatifs, de particules extrudées comme ci-dessus. Les particules sont projetées, en permanence, dans un courant d'air chaud jusqu'à 60 °C, qui traverse le tambour. Leur frottement continu contre la paroi entraîne la formation de petites billes qui se lissent et s'entourent d'une « coque » de cellules mortes qui fera office de barrière protectrice contre l'oxygène et l'humidité. Le séchage, jusqu'à l'obtention de 92,5 % ± 1 % de matières sèches, peut être mené entièrement en tambour ou bien on pourra préférer une finition sur tour. La durée totale du processus est de l'ordre de 15 à 18 h.

■ La **levure sèche instantanée** est obtenue par traitement sur lit fluidisé, en continu ou par batches successifs. Lors du malaxage, un émulsifiant est ajouté à la levure pour favoriser la réhydratation ; il s'agit en général de monoesters de sorbitan.

Le gâteau de levure est ensuite extrudé en « vermicelles » de 0,6 mm de diamètre et de 20 à 40 cm de longueur. Le passage de l'air chaud s'effectue au travers de soles perforées, de bas en haut, ce qui a pour effet de mettre en suspension les vermicelles qui se fragmentent. La température de l'air est élevée pendant la phase d'évaporation de l'eau libre, mais le produit ne devra pas dépasser 40 °C pendant la seconde phase du séchage.

La durée totale du séchage est de l'ordre d'une heure pour atteindre 95 % de matières sèches. Les particules obtenues sont fines et poreuses, ce qui les rend très hygroscopiques et perméables à l'oxygène. L'emballage est donc effectué sous vide d'air après balayage d'azote ou sous gaz neutre dans des sachets formés d'un complexe de polyéthylène et d'aluminium imperméable à l'eau et à l'air.

■ Depuis le milieu des années 1980 est apparue une présentation nouvelle et originale appelée **LHIS ou levure à humidité intermédiaire surgelée**. Il s'agit de vermicelles, préparés comme pour la levure sèche instantanée mais sans émulsifiant, séchés sur lit fluidisé jusqu'à des matières sèches de 78 ± 2 % et ensuite surgelés et conservés à - 20 °C.

L'avantage de ce procédé est qu'il permet d'obtenir une levure :

- à pouvoir fermentatif élevé car, si le séchage est bien conduit, la perte d'activité due au séchage est peu importante jusque 80 % de matières sèches environ ;
- avec un maintien de ce pouvoir fermentatif pendant 2 ans ou plus ;
- qui peut être utilisée comme de la levure sèche instantanée grâce à sa caractéristique *free flowing*.

Nota : *free flowing* : écoulement facile, grâce à la présentation en petites particules de 0,6 mm de diamètre et quelques millimètres de longueur, durcies par le froid.

2.6 Contrôle sur les produits finis

Le contrôle qualité régulier porte sur les cinq points suivants.

■ Aspect et caractères organoleptiques

La levure de teinte claire, blanc crème ou ivoire, doit présenter une odeur *sui generis* (due au glutathion et à la vitamine B₁) sans odeur étrangère. Pour la levure pressée en pains, la consistance et la friabilité sont contrôlées. Pour les levures sèches, on surveillera la taille et la forme des particules.

■ Composition biochimique

Le contrôle porte sur le taux de matières sèches, d'azote et de phosphore.

■ Activité fermentative

L'aptitude à fermenter la pâte à pain est vérifiée sur chaque lot. Différentes méthodes sont utilisées permettant de mesurer la vitesse du dégagement de gaz carbonique sur des pâtons à base de farine de blé auxquels sont ajoutés les principaux ingrédients rencontrés dans les formules de panification : chlorure de sodium, sucres, sels d'acides faibles. Les plus répandues utilisent le **fermentomètre de Burrows et Harrison**, qui permet douze mesures simultanées sur des pâtons à base de 20 g de farine, le **Risographe**, matériel proche du fermentomètre qui permet l'enregistrement des volumes gazeux en fonction du temps sur douze réacteurs contenant 100 g de pâte, le **fermentographe SJA**, le **rhéofermentomètre de Chopin**. Ces deux derniers appareils, qui permettent de travailler sur des pâtons de 250 à 400 g, sont plus proches de la panification mais plus lourds à mettre en œuvre en routine.

■ Bonne aptitude à la conservation

Cela concerne le maintien de l'aspect et surtout du pouvoir fermentatif après un test de vieillissement accéléré à 21 ou 26 °C pour les levures pressées, à 35 ou 43 °C pour les levures sèches.

■ Qualité bactériologique

Dans la mesure où les étapes de production industrielle ne sont pas conduites de façon totalement stérile, la levure de boulangerie contient toujours une microflore étrangère, principalement composée de bactéries lactiques. Le plan de contrôle est établi de façon à vérifier l'absence de bactéries pathogènes. Le nettoyage des fermenteurs et de tous les équipements (pompes, vannes, tuyauteries) est un point important pour limiter la contamination, mais il ne faut pas négliger les étapes de récolte et d'emballage : la levure fournit un excellent milieu de culture pour les contaminants bactériens et tout dépôt de levure sur les équipements devient rapidement source d'infection.

■ D'autres analyses sont réalisées à fréquences déterminées soit pour vérifier des paramètres relatifs à la **sécurité alimentaire**, tels que métaux lourds, résidus de pesticides, nitrates, nitrites, nitrosamines, soit pour déterminer des **composés cellulaires particuliers**, tels que lipides, tréhalose, vitamines.

3. Fiche produit

3.1 Présentation

■ La levure fraîche est vendue :

- en vrac, sous forme de crème à $18 \pm 2\%$ de matières sèches ;
- en vrac, sous forme de levure émietlée, emballée en sacs de papier multicouche, doublés de polyéthylène, de 25 kg, soudés afin d'en préserver l'étanchéité ;
- sous forme de blocs ou pains. Le conditionnement habituel est le carton de 10 kg, contenant quatre fardeaux de cinq paquets de 500 g chacun. Chaque fardeau est enveloppé de cellophane assurant une conservation optimale du produit. On trouve également des cubes de 20 à 40 g, destinés à la ménagère.

■ La levure sèche active à réhydrater, sous forme de granules ou de sphères, est emballée sous air :

- dans des boîtes de métal ou de plastique, de 125 ou 500 g ;
- dans des sacs ou fûts en plastique de 25 kg ;
- il existe également des sachets de 5 à 11 g pour la grande distribution.

■ La levure sèche instantanée est emballée :

- sous vide ou sous gaz neutre, en sachets de 450 ou 500 g ;
- en caisses-poches de 10 kg ;
- il existe également des sachets de 10 ou 125 g pour la consommation domestique.

Les sachets sous vide d'air sont durs, ils garantissent la bonne stabilité du produit à température ambiante.

Pour la mise en œuvre de la levure sèche instantanée, il faut éviter tout contact direct avec l'eau froide, la glace ou les parois des pétrins réfrigérés.

■ La L_{HIS} est emballée sous air dans des poches de polyéthylène de 3,5 ou 14 kg. Il faut la stocker en froid négatif de préférence à -20 °C et éviter toute rupture de la chaîne de froid.

3.2 Composition type des produits commercialisés

Une composition type des levures de boulangerie est donnée dans le tableau 3.

3.3 Valeur nutritionnelle

En prenant les coefficients en kcal/g de : 4 pour les protéines ; 4 pour les glucides (assimilables) ; 9 pour les lipides ; on obtient par calcul une valeur énergétique de 250 à 320 kcal/100 g de produit sec (soit 1 046 à 1 340 kJ). La levure est riche en quelques acides aminés essentiels : lysine (6 à 8 %/protéines), leucine (6 à 8 %), isoleucine (4 à 6 %), phénylalanine (4 à 6 %) et en vitamines du groupe B.

Tableau 3 – Composition type des levures de boulangerie

Composé (1)	Quantité	Composé (1)	Quantité
Azote (g/100 g MS)		Vitamines (mg/100 g)	
Total	6 à 9	Thiamine (B1).....	2 à 15
Phosphore en P 205 (g/100 g MS)		Riboflavine (B2).....	2 à 8
Total	1,8 à 3	Pyridoxine (B6).....	0,5 à 6
Sucres (g/100 g MS)		Niacine (PP ou B3)	10 à 60
Total	35 à 45	Acide folique (B9)	1 à 6
Dont : glucanes.....	8 à 12	Acide pantothénique (B5)	5 à 15
mannanes	8 à 12	Minéraux (g/100 g MS)	
tréhalose.....	10 à 18	Fe	0,005 à 0,100
glycogène	1 à 5	Ca	0,02 à 0,15
Lipides (g/100 g MS)		Mg	0,05 à 0,25
Total	4 à 7	K	0,8 à 2,5
Dont : phospholipides	1,5 à 3	Métaux lourds (ppm/MS)	
stérols	0,4 à 0,8	Pb	< 0,2
Oligoéléments (ppm/MS)		Cd	< 0,1
Cu	< 10	As	< 0,5
Zn	< 150	Hg	< 0,05
		Se	< 0,5

(1) MS : matière sèche.