

Université de Bejaia
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie



Chapitre 3

Les milieux de culture industriels

1. Introduction

- Les milieux de culture sont des solutions liquides ou des substances solides qui fournissent les nutriments essentiels pour la croissance des micro-organismes en laboratoire ou en milieu industriel.
- Dans le contexte industriel, ces milieux jouent un rôle crucial dans la production de biomasse microbienne et de produits microbiens d'intérêt commercial.



2. Composition des Milieux de Culture Industriels

Milieu de culture peut être : **synthétique**, **semi synthétique** ou **complexe**

- Les milieux de culture industriels sont composés d'ingrédients spécifiques soigneusement sélectionnés pour répondre aux besoins nutritionnels des micro-organismes ciblés.
- Ces ingrédients comprennent **des sources de carbone**, **d'azote**, **de phosphore**, **de soufre**, ainsi que **des sels minéraux** et **des facteurs de croissance**.
- Un agent antimousse et des produits chimiques tampon peuvent également être ajoutés.
- Les sources de carbone les plus couramment utilisées sont **les sucres**, **les hydrocarbures** et **les alcools**.
- Les sources d'azote comprennent **les peptides**, **les acides aminés** et **les sels d'ammonium**.
- Les phosphates et les sulfates sont généralement ajoutés comme sources de phosphore et de soufre respectivement.

3. Types de Milieux de Culture Industriels

- Il existe différents types de milieux de culture utilisés dans l'industrie,

les milieux liquides

les milieux solides

- Les milieux liquides sont souvent utilisés pour la fermentation en vrac, où de grandes quantités de biomasse microbienne sont produites dans des cuves de fermentation.
- Les milieux solides, tels que les géloses, sont utilisés pour l'isolement et la purification des souches microbiennes, ainsi que pour la production de métabolites spécifiques.

- Lorsque **la biomasse** constitue le produit **cible**, le milieu de culture doit permettre une croissance optimale du microorganisme
- Pour la production de métabolites secondaires tels que les antibiotiques, leurs biosynthèse n'est pas liée à leurs croissance. Les milieux sont conçus pour fournir une période initiale de croissance cellulaire, suivi de conditions optimisées pour la production de métabolites secondaires.

3.1. Source de carbone

- **Le glucose** est une excellente source de carbone pour stimuler la croissance microbienne. Il peut toutefois avoir des effets indésirables sur la production de métabolites secondaires.
- Le glucose est ajouté au début de la fermentation pendant la phase de croissance pour favoriser au maximum la croissance et ne fournir pendant la phase de production que des quantités minimales non inhibitrices.
- **Le lactose** est l'un des sucres lentement métabolisables et n'inhibe pas la production de la pénicilline après hydrolyse du lactose en galactose et glucose
- **Le saccharose et dextrane** sont souvent utilisés comme source de carbone simple, toutefois, ils peuvent être fournis dans un substrat industriel complexe tel que **la mélasse (source de carbone, d'azote, vitamines, oligoéléments)**.

Chapitre 3 Les milieux de culture industriels

- **Le choix de la source de carbone**, qui représente en général le cout principal des matières premières, dépend des cultures.

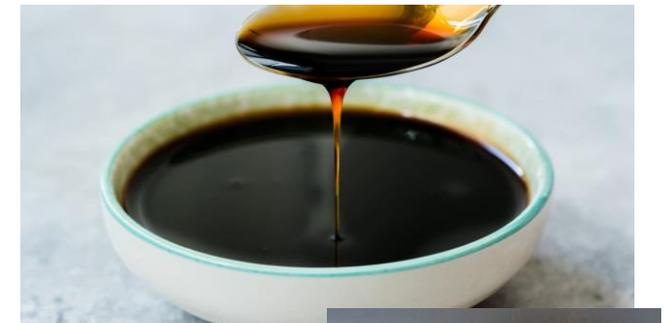
Mélasses de sucre de canne ou de betterave sucrière

- Les mélasses de betterave contiennent **48% de saccharose**, vitamines et acides aminés, 1% raffinose, ...
- Les mélasses de canne contiennent **32% de saccharose**, 14% de glucose, 16% de fructose, principal milieu de l'industrie de levurerie.

Le lactosérum est le sous produit de l'industrie fromagère, contient **50% de lactose**. Il présente une composition bien équilibrée (lactose, protéines, matières azotées, lipides, sels minéraux...)

Exemple:

- Les microorganismes producteurs d'amylases peuvent utiliser de l'amidon et des dextrines au lieu du glucose plus couteux
- **Candida** peut assimiler les n-alcanes et acides gras en tant que sources de carbone



Mélasses

3.2. Source d'azote

Azote inorganique

Sels de sulfate d'ammonium ($\text{NH}_4^+ \text{SO}_4^-$)
Le phosphate d'ammonium $(\text{NH}_4)_2 (\text{HPO}_4)$
ou l'ammoniac (NH_3)
 NH_3 est utilisé pour ajuster le pH de la fermentation

Azote organique

Les acides aminés, les protéines et l'urée
Le maïs, l'extrait de levure, les peptones et la farine de soja (riches en protéines, acides nucléiques, vitamines, oligoéléments, lipides, sucres, soufre et phosphate)

Le Corn Steep Liquor, un sous produit féculier de maïs (le concentré d'eau de trempage des graines de maïs), utilisé dans l'industrie de production d'antibiotiques (8% d'azote et vitamines).

3.3 Les sels minéraux

Les sels minéraux sont essentiels dans tout milieu de culture ayant des rôles très divers:

Eléments constitutifs des antibiotiques (P, S, Cl..)

Eléments constitutifs de la biomasse (Mg, P, Cl, Ca, Fe...)

Eléments responsables de la pression osmotique (NaCl, KCl...)

Eléments modificateurs de pH (CaCO₃..)

Catalyseurs de réactions (Mg²⁺, Ca²⁺, Mn²⁺, Zn...)

3.4 Les vitamines et facteurs de croissance

- Les vitamines sont des composées organiques essentiels pour la croissance des microorganismes
- Ils peuvent être ajouté comme suppléments aux milieux de fermentation

3.5. Les précurseurs

Les précurseurs sont des molécules intermédiaires qui servent de substrats de départ des réactions au cours de la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les antibiotiques

Exemple:

D-thréonine est ajoutée comme précurseur dans la production de L-isoleucine par *Serratia marsecens*

Les milieux de culture industriels sont très divers et peuvent être utilisés pour :

- La croissance et la production de la biomasse cellulaire et des protéines d'origine microbienne
- La production de nombreux métabolites primaire et secondaire dans des bioréacteurs
- Le contrôle microbiologique (recherche de germes pathogènes) de matières premières et produits finis
- Recherche de nouvelles souches d'intérêt industriel (Isolement, criblage et identification)

La formulation du milieu est déterminée par la nature des produits de fermentation souhaités et par la culture utilisée

4.1. Milieux synthétiques

- Ce sont des milieux bien définis ayant des quantités spécifiques de composés chimiques purs et une composition chimique bien déterminée.
- Ils sont plus reproductibles, donnant à l'opérateur un meilleur contrôle de la fermentation, mais sont plus coûteux que les milieux complexes

4.2. Milieux semisynthétiques

Ce sont des milieux dont la composition exacte n'est pas connue

- Ils contiennent des **sources de carbones simples** (comme le glucose) ou **complexe** (amidon, cellulose) et **source d'azote simples** (minérales : $\text{NH}_4^+\text{SO}_4^-$, NO_3^- ; ou organiques : acide aminés) ou **complexe** (extrait de levure, de la peptone).
- souvent utilisés comme milieux optimisés pour la production d'**enzymes, acides aminés**, ou des **métabolites secondaires**: antibiotiques et antifongiques, etc.)

4.3. Milieux complexes

- Ce sont des milieux contenant des composés naturels dont la composition chimique précise n'est pas connue tels que **l'extrait de levure, de peptone, de mélasse**,
- Ils fournissent des nutriments nécessaires et génèrent des rendements cellulaires supérieurs aux milieux définis.
- Pour des raisons économiques, les milieux complexes sont largement utilisés dans les fermentations industrielles

4.4. Autres milieux de culture

4.4.1. Milieux de sélectifs

Les milieux sélectifs sont utilisés aux laboratoires pour **isoler** un groupe de microorganismes d'intérêt industriel où pour le **contrôle microbiologique** des matières brutes ou des **produits finis** lors de la **fermentation industrielle**

- Ils permettent uniquement la croissance de certains genres de micro-organismes.
- Ils contiennent des éléments inhibant la croissance des micro-organismes indésirables.
- Ces éléments peuvent être une source nutritive déterminée (**azote, carbone**), des agents chimiques (**pH, le cristal violet, bleu de méthylène, etc**), des sels minéraux (**NaCl, Na SO4**), des antibiotiques (à spectre étroit ou large), antifongiques (actidione, etc).
- Le choix de ces éléments dépend des caractéristiques du micro-organisme recherché.

Exemples

- Chitine -vitamine B = isolement d'actinobactéries
- Milieu de Sabouraud ou PDA = des champignons
- Milieu de Chapman = les staphylocoques
- Milieu EMB =: entérobactéries
- Gélose Mac Conkey (MCK) ou gélose Drigalski : = des bacilles à GRAM négatif.
- Gélose (S.S.) *Salmonella* et des *Shigella*.
- Gélose M17 et bouillon M.R.S: = lactocoques, des streptocoques, et des *Lactobacillus*, respectivement.

2.4.2. Milieux non sélectifs

Les milieux non sélectifs permettent la croissance des bactéries non exigeantes des sucres nutritives particulières

La composition de ces milieux est simple et sans effet de sélection.

Gélose nutritive, PCA, ISP2, Bennett

