

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

Chapitre 5

Les produits de fermentations industrielles

**Niveau: Licence L3 Microbiologie
Dr. DJINNI I.
2023-2024**

1. Les métabolites primaires obtenus par fermentation microbienne

- Les métabolites primaires obtenus par fermentation microbienne **sont des composés organiques essentiels à la croissance, au développement et à la survie des microorganismes.**
- Ils sont généralement produits dans le cadre du métabolisme de base des cellules et sont nécessaires pour des fonctions biologiques fondamentales telles que **la synthèse des acides nucléiques, des protéines et des lipides.**
- Certains des métabolites primaires les plus courants comprennent **les acides aminés, les sucres, les acides gras et les nucléotides.**

- **Les acides aminés** sont les éléments constitutifs des protéines et sont essentiels pour la croissance cellulaire, la régulation des processus métaboliques et la signalisation cellulaire.
- **Les sucres**, tels que le glucose et le fructose, servent de sources d'énergie et de carbone pour la biosynthèse des composés cellulaires.
- **Les acides gras** sont des composants essentiels des membranes cellulaires et sont également utilisés comme sources d'énergie.
- **Les nucléotides** sont les monomères constitutifs de l'ADN et de l'ARN, et sont essentiels pour le stockage et la transmission de l'information génétique.

1. Les acides aminés

- Les acides aminés sont des composés organiques essentiels pour la croissance cellulaire, la synthèse des protéines et de nombreux autres processus biologiques.
- Les microorganismes, tels que les bactéries, les levures et les moisissures, sont capables de synthétiser une large gamme d'acides aminés par fermentation.

ACIDES AMINÉS

ESSENTIELS

NON ESSENTIELS



- Ces acides aminés sont principalement utilisés comme compléments alimentaires pour l'alimentation humaine ou animale.
- Plusieurs acides aminés sont utilisés comme ingrédients dans les produits pharmaceutiques et cosmétiques, et dans l'industrie chimique pour la fabrication de polymères, le cas par exemple de l'acide glutamique, lysine, et tryptophane



Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles

Chaque comprimé contient :

alpha-Lactalbumine hydrolysée (protéine
de lactosérum provenant de lait de
vache) 850 mg

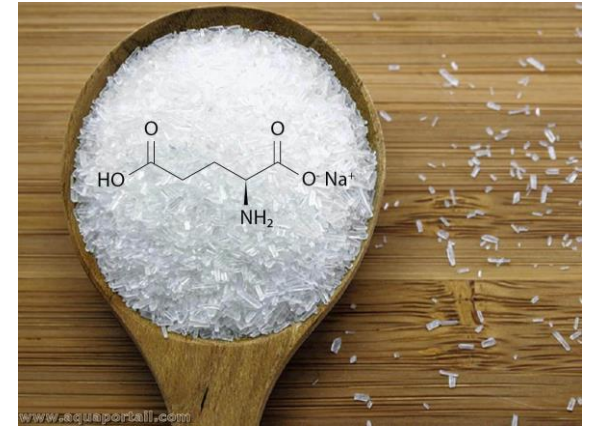
Fournissant:

Acide l-glutamique	107 mg
L-Leucine	78 mg
Acide l-aspartique	65 mg
L-Proline	62.5 mg
L-Lysine	54 mg
L-Threonine	42 mg
L-Isoleucine	39 mg
L-Valine	36.25 mg
L-Alanine	28 mg
L-Serine	27.5 mg
L-Phenylalanine	19 mg
L-Tyrosine	18 mg
L-Arginine	16 mg
L-Cystine	12.5 mg
L-Glycine	11.25 mg
L-Methionine	11.25 mg
L-Histidine	11 mg
L-Tryptophan	10 mg



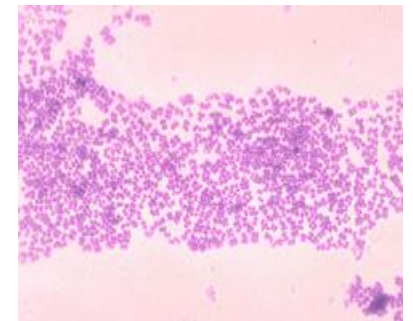
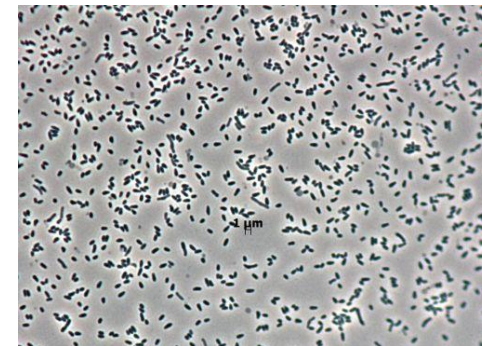
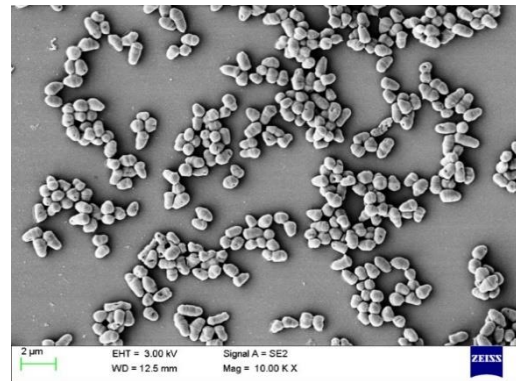
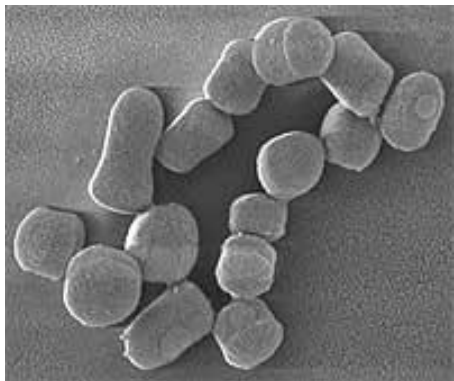
La fabrication industrielle de l'acide glutamique

- L'acide glutamique est un acide aminé non essentiel, produit industriellement sous forme de Glutamate monosodique (MSG, E621). Cette molécule est utilisée principalement comme additif alimentaire pour exhausser le goût de plusieurs produits alimentaires



Les principales souches microbiennes utilisées

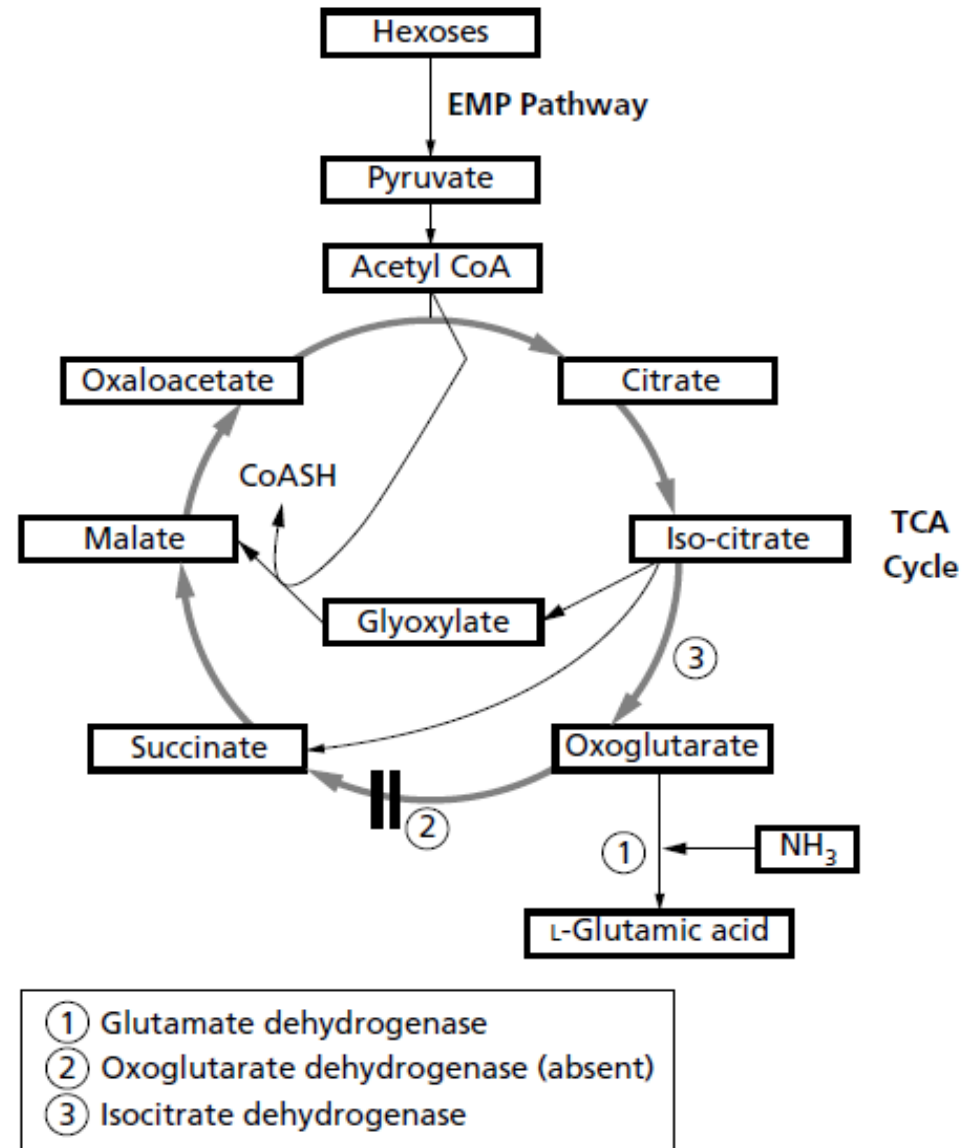
Les bactéries productrices de l'acide glutamique, regroupent des espèces qui appartiennent tous au phylum des **Actinobacteria**, dont, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Microbacterium* et *Micrococcus*. Ce sont des bactéries à Gram-positifs, immobiles, aérobies stricts, auxotrophes pour la biotine (Tatsumi, 2012)



- Les souches industrielles utilisées pour la production de l'acide glutamique, sont des mutants des espèces de, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium callunae*, *Brevibacterium flavum* et *Brevibacterium lactofermentum*.
- Afin de surmonter les contraintes rencontrées lors de la production industrielle de l'acide glutamique, plusieurs étapes sont suivies (Hermann et al, 2003 ; Ikeda, 2013) :
- Modification génétique des souches industrielles qui vise à bloquer les voies métaboliques qui amènent à la biosynthèse des sous-produits indésirables.
- Inhibition du mécanisme de régulation de la production de l'acide glutamique par rétroinhibition, en effet, chez les souches sauvages de *Corynebacterium glutamicum*, quand le produit final s'accumule et atteint une concentration finale désirable, la production cytoplasmique de l'acide glutamique est inhibée par le mécanisme de rétro-inhibition.

- Diminuer l'activité du complexe enzymatique, le complexe **oxoglutarate déshydrogénase (OGDC)**, qui sont des enzymes du cycle de Krebs, catalysant la réaction de conversion de l'oxoglutarate au succinyl-CoA.
- En effet, la production de l'acide glutamique est catalysée par l'enzyme **glutamate déshydrogénase**, qui utilise comme substrat, l'**oxoglutarate (α -cétoglutarate)**, qui est un intermédiaire de cycle de Krebs.
- Afin d'orienter le métabolisme des souches mutantes vers une surproduction de l'acide glutamique, l'activité de l'enzyme, oxoglutarate déshydrogénase (OGDC), décroît sous des conditions limitantes en biotine, ce qui permet une accumulation de l'oxoglutarate et conduit, par conséquent, à une amélioration du rendement de productions de l'acide glutamique.
- Il est important de noter que, la concentration optimale de biotine pour produire du glutamate se situe entre 2 et 5 $\mu\text{g/L}$.

Biosynthèse de l'acide l-glutamique chez les souches mutantes



Les principaux traitements utilisés pour favoriser la sécrétion de l'acide glutamique

- Comme la biosynthèse de l'acide glutamique est cytoplasmique, et les souches mutantes ne sécrètent pas le glutamate, une gamme de traitements est utilisée pour rendre les cellules plus perméables et faciliter la libération de l'acide aminé dans le milieu extérieur. Ces traitements comprennent :
- La limitation de la biotine pendant la fermentation glutamique est à l'origine de la diminution du taux de phospholipide membranaire, ce qui a pour effet d'augmenter le rapport d'acides gras saturés/ acides gras insaturés, qui est à l'origine de l'excrétion du glutamate (Gutmann, 1992).
- L'ajout de la pénicilline semble être utilisé lors de la production industrielle de l'acide glutamique. La pénicilline inhibe la biosynthèse du peptidoglycane chez les souches productrices, ce qui provoque une amélioration du rendement de production de glutamate (Kim et al, 2010).

Les conditions de culture

- La fermentation est réalisée dans des fermenteurs en acier inoxydable d'une capacité maximale de 450 m³.
- Les sources de carbone utilisés sont généralement **le glucose ou le saccharose**. La mélasse de la canne à sucre ou la betterave peuvent aussi être utilisée.
- La source d'azote (sels d'ammonium, urée ou ammoniacale) est alimentée lentement pour éviter l'inhibition de la production de L-glutamate (Hirasawa et al, 2016).
- La culture est maintenue en agitation dans des conditions aérobies, à la température de 30-37 ° C, selon le microorganisme utilisé.

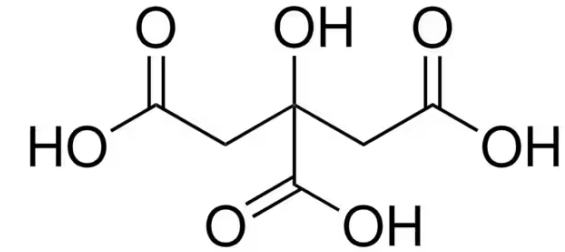
- Afin d'éviter la diminution du pH du milieu de culture, au fur et à mesure que le L-glutamate est excrété dans le milieu, le pH est maintenu entre 7 à 8.
- La durée de la fermentation, se situe entre 35 à 40 h et atteint des niveaux d'acide glutamique dans le bouillon de 80 g/L (Delaunay et al, 1999).
- La purification de l'acide glutamique, implique, une centrifugation pour éliminer la biomasse microbienne. Le pH du surnageant est abaissé doucement, par l'acide chlorhydrique, au point isoélectrique de l'acide L-glutamique (pH= 3,2). Les cristaux de l'acide L-glutamique, sont ensuite récupérés par centrifugation, puis lavés plusieurs fois.

2. Les acides organiques

- Les acides organiques sont des composés chimiques contenant un groupe carboxyle (COOH). Ils sont souvent produits par des microorganismes lors de processus de fermentation et sont couramment utilisés dans diverses industries.
- La plupart des acides organiques ont une application agroalimentaire, et servent surtout comme agents de conservation, aromatisant, acidulant et antioxydant. Parmi les principaux acides organiques utiles à l'homme : l'acide citrique, l'acide acétique, l'acide lactique et l'acide propionique.



Acide citrique



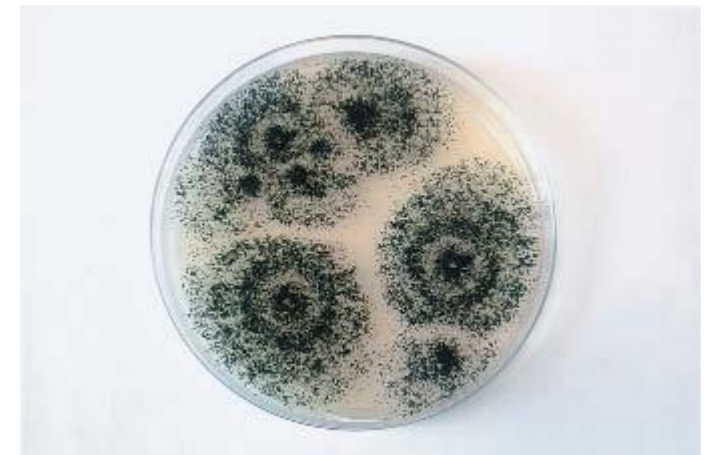
- L'acide citrique était obtenu autrefois par extraction de citrons.
- C'est en 1916 qu'une moisissure, *Aspergillus niger*, fut utilisée pour la première fois. Aujourd'hui, la plus grande partie de l'acide citrique est produite par des moisissures cultivées sur mélasse (plusieurs espèces d'*Aspergillus*, de *Penicillium*, de *Mucor*...).
- L'acide citrique peut également être produit par des levures du genre *Candida* cultivées sur méthanol.
- Dans l'industrie alimentaire, l'acide citrique est ajouté aux extraits de saveurs, aux boissons gazeuses et aux bonbons pour leur donner une saveur légèrement acidulée.
- Il aide à la conservation de nombreux aliments en abaissant le pH.
- Il sert d'antioxydant contre le rancissement des huiles et matières grasses, et contre le brunissement des fruits.
- Ajouté aux légumes et aux champignons avant la mise en conserve, il permet de réduire l'intensité du traitement à la chaleur.

1. Les microorganismes industriels producteurs de l'acide citrique.

De nombreux microorganismes, peuvent être utilisés pour produire l'acide citrique, notamment:

- Des bactéries : *Bacillus licheniformis* et *Bacillus subtilis* (Xu et al, 2005).
- Des moisissures : *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus foetidus*, et *Penicillium restrictum* (Show et al, 2015).
- Des levures : *Candida lipolytica*, *Candida intermedia*, et *Saccharomyces cerevisiae* (Yalcin et al, 2010).

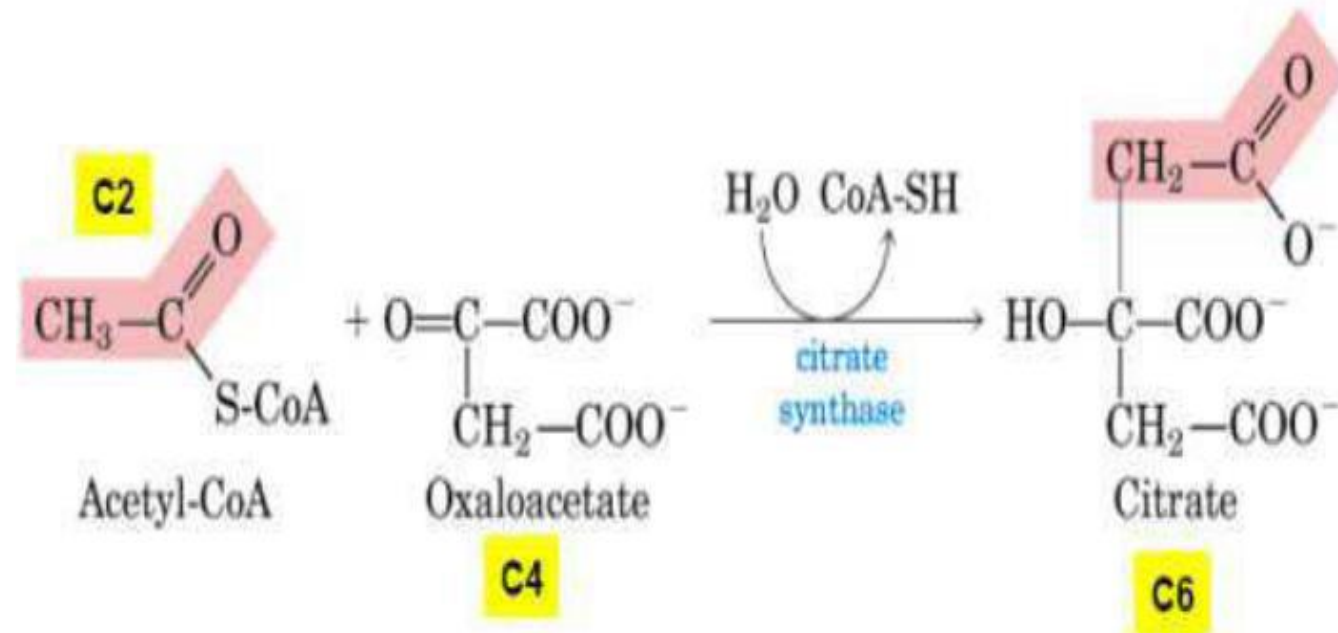
Cependant, la production industrielle mondiale est assurée par la moisissure *Aspergillus niger*, en raison de sa facilité de manipulation, et de sa capacité à fermenter une variété des substrats bon marché, ainsi qu'à leurs rendements élevés



La production mondiale dépasse 90.000 tonnes/an

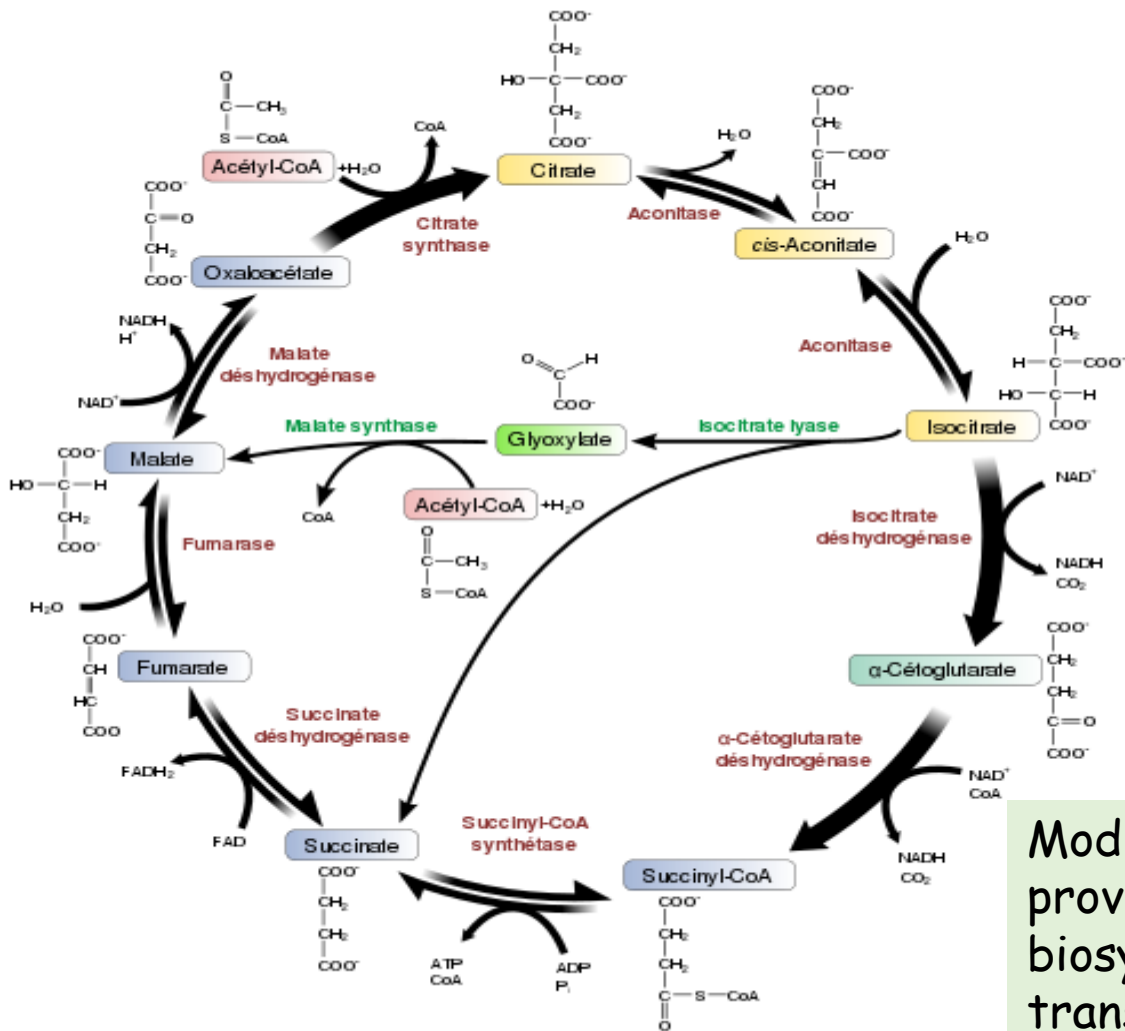
2. Biosynthèse naturelle de l'acide citrique

L'acide citrique est un intermédiaire métabolique de cycle de Krebs, issue de la condensation du résidu acétyle (2 carbones) de l'acétyl-CoA sur l'oxaloacétate (quatre carbones) pour former le citrate (six carbones), avec libération de CoA, la réaction est catalysée par l'enzyme citrate synthase.



Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles

L'acide citrique est un intermédiaire métabolite de cycle du Krebs, une fois formé il est immédiatement converti en cis-aconitate, par l'enzyme aconitase



- En industrie, afin d'accumuler le citrate, la réaction de conversion du citrate en cis-aconitate, doit être bloquée.
- Ceci est réalisé en inhibant l'aconitase, l'enzyme qui catalyse cette réaction. L'inhibition de cette enzyme peut se faire de plusieurs manières,

- L'élimination des ions (Fe^{+2}). En effet, l'enzyme aconitase utilise les ions de fer comme cofacteur, donc si on élimine le fer à partir du milieu de culture industriel, l'enzyme sera automatiquement bloquée. Les ions de fer sont éliminés par l'ajout de certains agents chélateur de fer comme : fluorocitrate.

Modification génétique des souches d'*Aspergillus niger*, par la provocation de mutations au niveau du gène responsable de la biosynthèse de l'enzyme aconitase, afin d'avoir des souches transgéniques dépourvus de cette enzyme.

3. Milieu de culture industriel utilisé pour la production de l'acide citrique

Le processus de fermentation industrielle de l'acide citrique, implique la culture de la moisissure, *A. niger*, en condition aérobie, dans un milieu de culture qui doit contenir :

Une source de carbone

La source de carbone pourrait être l'amidon, l'hydrolysat d'amidon, le jus de la canne à sucre, le glucose, le saccharose ou la mélasse.

En industrie, la source de carbone la plus utilisée c'est la mélasse. Afin d'avoir un bon rendement de production en acide citrique, la concentration de sucre dans le milieu de culture doit être d'au moins 140 g / L (14%) (Ikram et al, 2004).

Une source d'azote

Sont généralement des sels d'ammonium: le sulfate d'ammonium, le nitrate d'ammonium...etc, qui sont généralement fournis à des concentrations de 0,1 à 0,4 g / L (Papagianni et al, 2005)

Les sels minéraux

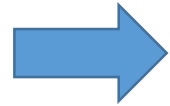
Le milieu de culture doit être débarrassé des sels minéraux tels que Fe^{+2} , car ce dernier exerce une inhibition de la formation d'acide citrique au-delà d'une concentration critique (Choudhary et al, 1966).

Le pH

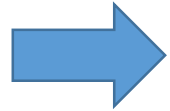
Afin d'initier la croissance d'*Aspergillus niger*, le pH initial du milieu de culture est généralement compris entre 5 et 7. Il doit être maintenu en dessous de 2, ceci à l'avantage de contrôler la contamination et d'inhiber la formation d'acide oxalique et d'acide gluconique (des produits indésirables) (Papagianni et al, 2005).

4. Les étapes de la production industrielle de l'acide citrique

4.1. Fermentation



fermentation en surface (solide)



fermentation immergée

Le procédé de la fermentation en surface

Cette méthode consiste à placer le milieu de culture stérile, qui est généralement de la mélasse, dans des plateaux peu profonds (5 à 20 cm de profondeur) en aluminium ou en acier inoxydable, placés dans une enceinte stérile.



Le procédé de fermentation immergée

- Plus de 80% de la production mondiale en acide citrique est produite par fermentation immergée dans des fermenteurs de 200 à 900 m³ de volume.
- Les fermenteurs sont résistants à la corrosion, généralement en acier inoxydable. (Darouneh et al, 2009).
- Contrairement à la fermentation en surface, le milieu de culture stérile estensemencé par des cellules végétatives, et non plus par des spores de la moisissure *A. niger*.
- La culture est maintenue en agitation à la température de 30 °C et un pH qui ne dépasse pas pH=3,5. La fermentation dure cinq à quatorze jours et atteint un rendement d'environ 18,0 kg/ m³ par jour (

Construction d'une ligne de production d'acide citrique avec une production annuelle de 10 000 tonnes de fermentation en bioréacteur



4.2. Précipitation, extraction et purification de l'acide citrique

La purification de l'acide citrique commence par la séparation du mycélium fongique, par filtration ou centrifugation, à partir du milieu de culture.



La solution obtenue, est chauffée puis mélangée avec la chaux (CaO) pour former un précipité de citrate de calcium ($\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$).



Séparation par filtration, puis traitement par l'acide sulfurique dilué pour générer de l'acide citrique plus un précipité de sulfate de calcium (gypse).



Ce dernier sera éliminé par filtration. La solution d'acide citrique obtenue sera décolorée par le charbon actif puis évaporée pour produire des cristaux d'acide citrique.



Ces cristaux sont récupérés par centrifugation, puis séchés et conditionnés (Vandenberghe et al, 1999).

Production de biogaz par le processus de méthanisation

- La méthanisation (ou la digestion anaérobie) est le processus naturel biologique de dégradation de la matière organique, en absence d'oxygène (condition d'anaérobiose), en biogaz.
- Ce dernier est composé principalement de méthane (CH_4) et de dioxyde de carbone (CO_2) (Lehtomäki et al, 2006).
- Le processus de méthanisation se déroule en plusieurs étapes par l'intervention de plusieurs communautés microbiennes, dans des digesteurs anaérobies ou des méthaniseurs.

Intérêt de la méthanisation

La méthanisation a principalement deux intérêts majeurs (Martin et al, 2013) :

économiques

environnementaux

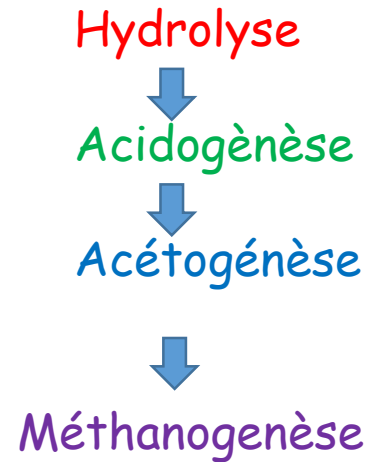
Intérêt économique

- Le méthane (biogaz) produit, peut-être utilisé comme source d'énergie renouvelable, ce qui peut remplacer les sources d'énergie fossile (gaz naturel surtout).
- Le méthane est utilisé, pour la cuisson ou transformé en énergie mécanique ou en électricité.

Intérêt environnemental

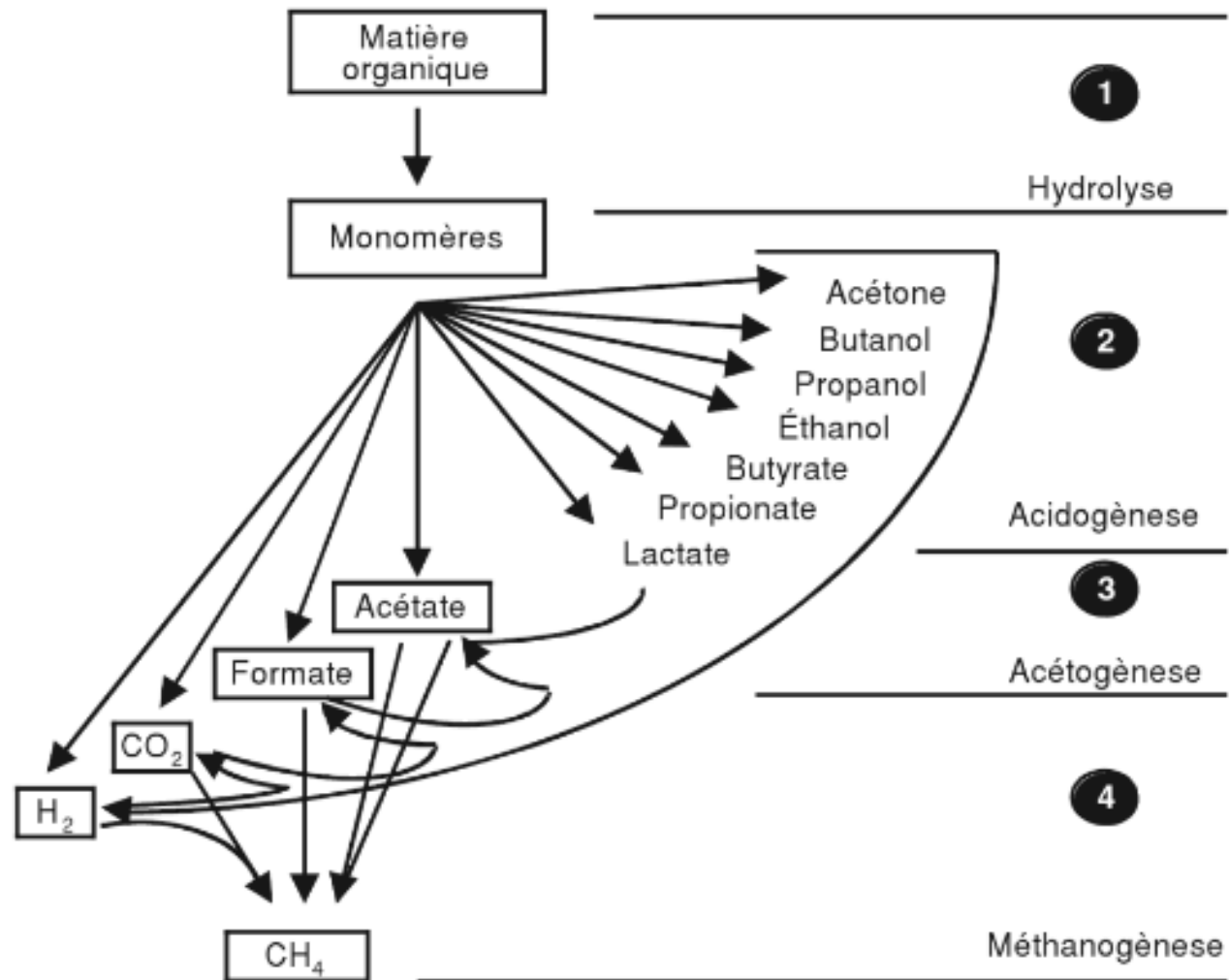
- La matière première utilisée au cours de la méthanisation correspond généralement aux différents déchets organiques : urbains, agricole ou industriel, ce qui contribue à la dépollution de l'environnement.

La digestion anaérobie (méthanisation), peut-être décrite en quatre phases de dégradation :



Chaque phase fait intervenir un groupe de microorganisme particulier (Tian et al, 2017).

Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles



Les 4 étapes de la méthanisation

1. Hydrolyse

- Au cours de cette étape, les molécules organiques de haut poids moléculaire comme les polysaccharides, les lipides, les protéines et les acides nucléiques sont hydrolysés en monomères (monosaccharides comme le glucose, les acides gras, les acides aminés et les bases azotées).
- Les bactéries impliquées dans cette étape ont un métabolisme du type anaérobie strict ou facultatif et forment un ensemble phylogénétique hétérogène regroupant de nombreux groupes bactériens : *Clostridium*, *Bacillus*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Ruminococcus*, *Pseudomonas*.....etc

2. Acidogénese

- Au cours de cette étape, les monomères issus de l'étape d'hydrolyse sont transformés par fermentation en acides organique (ex : acide acétique, acide propionique, acide butyrique, acide lactique), en alcool (ex: éthanol), et en hydrogène et dioxyde de carbone.
- Plusieurs genres bactériens interviennent lors de cette étape : *Bacteroides*, *Bacillus*, *Pelobacter*, *Acetobacterium*, *Enterobacteriaceae* (Elefsiniotis et al, 2004).

Les différentes réactions d'acidogènes

$C_6H_{12}O_6 + 2 H_2O$	$\rightarrow 2 \text{ éthanol} + 3 HCO_3^- + 2 H^+$
$C_6H_{12}O_6$	$\rightarrow 2 \text{ lactate}^- + 2 H^+$
$C_6H_{12}O_6 + 2 H_2O$	$\rightarrow \text{butyrate}^- + 2 HCO_3^- + 3 H^+ + 2 H_2$
$C_6H_{12}O_6$	$\rightarrow 3 \text{ acétate}^- + 3 H^+$
$C_6H_{12}O_6 + HCO_3^-$	$\rightarrow \text{succinate}^{2-} + \text{acétate}^- + \text{formiate}^- + 3 H^+ + H_2O$

3. Acétogénèse

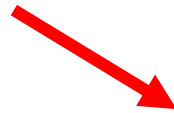
- Les intermédiaires métaboliques sont transformés en acétate, hydrogène et gaz carbonique.
- Ces trois derniers vont ensuite servir de substrat aux méthanogènes (l'étape suivante de la méthanisation).
- L'étape d'acétogénèse est catalysée principalement par les bactéries homo-acétogènes, ainsi que les acétogènes productrices obligatoires d'hydrogène (qui sont des bactéries syntrophiques) (Francioso et al, 2010).

Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles

Les bactéries homo-acétogènes non syntrophes



Produisant exclusivement de l'acétate.



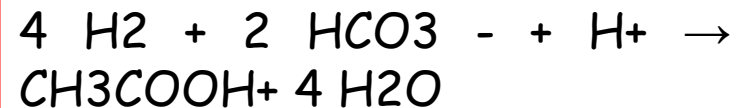
Groupe 1

Production de l'acétate à partir de la fermentation d'un substrat carboné tels le glucose, ou les produits issus de l'étape d'acidogènes, en acétate.

Butyribacterium spp. et
Peptococcus glycinophilus.

Groupe 2

Ces bactéries utilisent l'hydrogène et le dioxyde de carbone pour produire de l'acétate :



Acetoanaerobium noterae,
Eubacterium limosum
Sporomusa spp.
Thermoanaerobacter kivui

Les bactéries acétogènes syntrophes

ou les acétogènes productrices obligatoires d'H₂, sont des bactéries qui produisent du dihydrogène lors de la réaction de formation de l'acétate

Syntrophobacter, *Syntrophomonas*,
Syntrophus, *Syntrophococcus*

4. La méthanogénese

Les méthanogènes sont des archées, utilisant principalement comme substrats l'acétate, le dioxyde de carbone et l'hydrogène, pour générer le méthane.

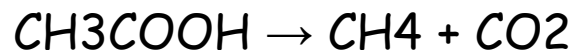
Il existe deux groupes de méthanogènes



Les méthanogènes acétoclastique

Sont des méthanogènes qui utilisent l'acétate (acétotrophes) pour produire le méthane.

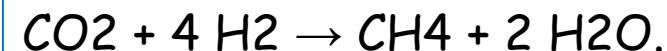
Deux genres d'archées utilisent cette voie : *Methanosarcina* et *Methanosaeta*.



Les méthanogènes hydrogénotrophes

Utilisent l'hydrogène et le dioxyde de carbone pour former le méthane.

Trois organismes peuvent utiliser le monoxyde de carbone pour générer du méthane : *Methanothermobacter thermoautotrophicus*, *Methanosarcina barkeri* et *Methanosarcina acetivorans*.



Purification du biogaz (méthane).

Pour son utilisation comme source d'énergie, le biogaz subit:

Élimination de particules solides et de la poussière,

Déshydratation

Élimination du CO_2

Élimination des composés soufrés

Les métabolites secondaires obtenus par fermentation microbienne



1. Les antibiotiques

- Les antibiotiques sont des molécules organiques issues du métabolisme secondaires des champignons filamenteux et des bactéries, en particulier les actinomycètes.
- Bien que plus de 4000 molécules actives ont été isolées à partir de divers microorganismes, seules une cinquantaine sont utilisées comme antibiotiques pour le traitement de différentes infections.
- Une molécule bioactive doit remplir plusieurs critères importants pour qu'elle soit considérée comme antibiotique : (i) elle doit être sélective,
(ii) ne doit pas être toxique pour l'homme ou les animaux,
(iii) coûts de production faible,
(iv) possède un spectre large d'activité,
(v) un mécanisme d'action bien déterminé,
(vi) une solubilité élevée,
(x) doit être stable vis-à-vis de différents facteurs physicochimiques



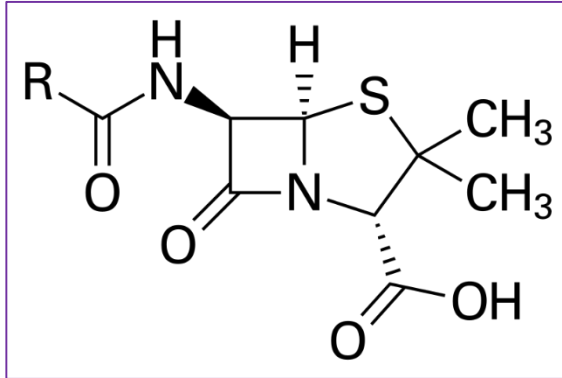
Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles

Les familles d'antibiotiques les plus utilisés en médecine

B-lactamines

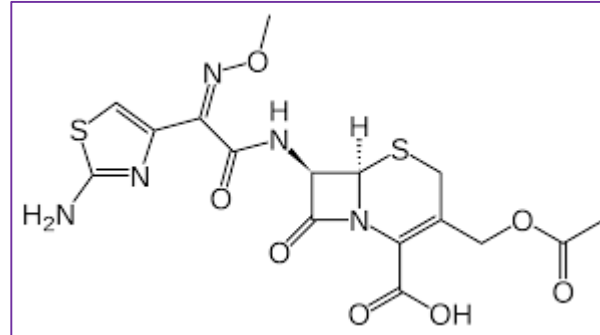
Pénicillines

Penicillium glaucum



les céphalosporines

Cephalosporium acremonium

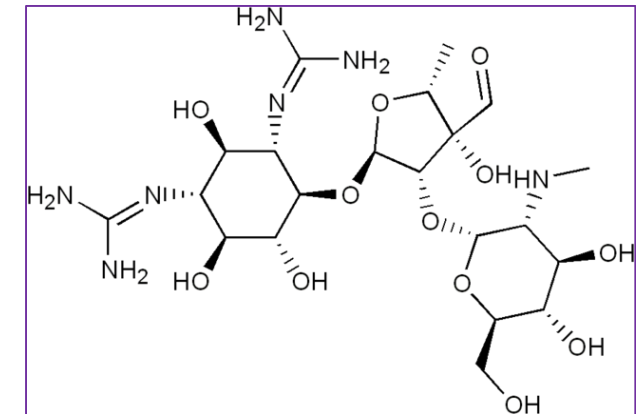


Céfotaxime

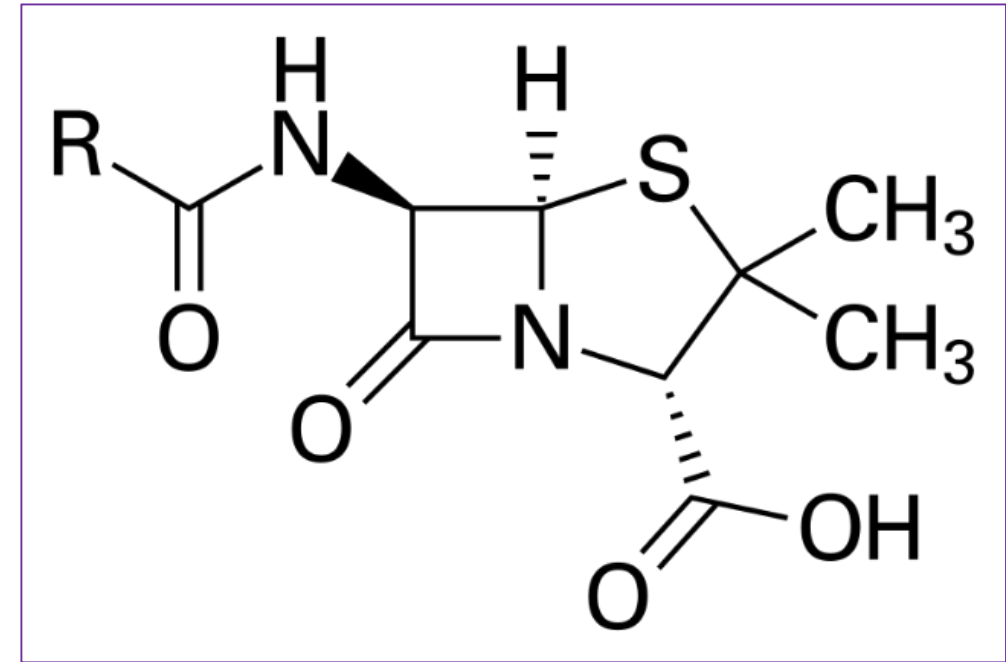
les aminosides

Streptomycine

Streptomyces griseus



- Les pénicillines agissent en empêchant la biosynthèse de la paroi bactérienne, suite à une inhibition de l'enzyme transpeptidase, qui est une enzyme clé dans la biosynthèse du péptidoglycane provoquant la mort cellulaire
- Les pénicillines semi-synthétiques, telles que la **méthicilline**, la **carbénicilline** et l'**ampicilline**, présentent diverses améliorations par rapport à la molécule originale, telles que
 - une résistance à l'acidité gastrique ce qui permet une administration orale,
 - une résistance vis-à-vis de la pénicillinase,
 - une activité contre certaines bactéries à Gram-négatif



La pénicilline

Production industrielle de la pénicilline

Le milieu de culture utilisé pour la production industrielle de la pénicilline contient:

Une source de carbone : le glucose, le lactose, le saccharose, l'éthanol et les huiles végétales.

Ces sources de carbone sont utilisés soit seules ou combinées, comme la combinaison glucose/lactose.

Une source d'azote : la source d'azote la plus utilisée c'est le Corn steep liquor.

Sels minéraux

- Fermentation de type Fed-Batch d'une capacité de (20-40) 10^3 litres.
- Le niveau d'oxygène doit être maintenu entre 25-60 mmol / L / h, et la culture doit être incubée entre 25-27 ° C avec un pH de 6,5-7,7

Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles

Après 6 à 8 jours d'incubation



Centrifugation



Extraction de la pénicilline par
solvant acétate de pentyle



Purification de l'extrait brut
avec du charbon actif



Filtration



Cristallisation de l'antibiotique
par addition d'acétate de sodium



Récupération des cristaux de
pénicilline par filtration



Lavage (éthanol anhydre)

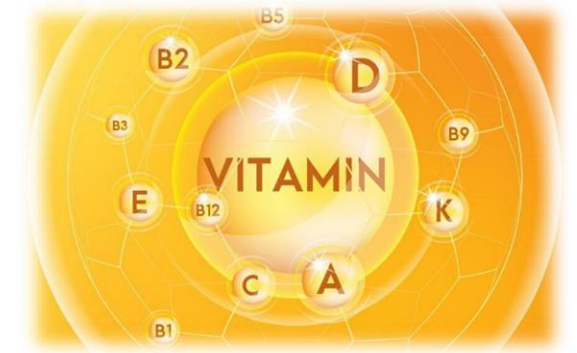


Séchage

Les étapes de la fabrication
industrielle de la pénicilline (Devi et
al, 2009).

Les vitamines

- Les vitamines sont des composés organiques essentiels que le corps humain nécessite en petites quantités pour fonctionner correctement.
- Elles jouent un rôle vital dans de nombreux processus biologiques, tels que le métabolisme des nutriments, la croissance cellulaire, la fonction immunitaire et la santé des os.
- Chaque vitamine a des fonctions spécifiques dans le corps et une carence en une seule vitamine peut entraîner des problèmes de santé graves.
- Par exemple, une carence en vitamine C peut causer le scorbut, une carence en vitamine D peut conduire à l'ostéoporose, et une carence en vitamine B12 peut provoquer l'anémie



Les vitamines sont classées en deux catégories principales :

Vitamines hydrosolubles
Vit C, Vit B

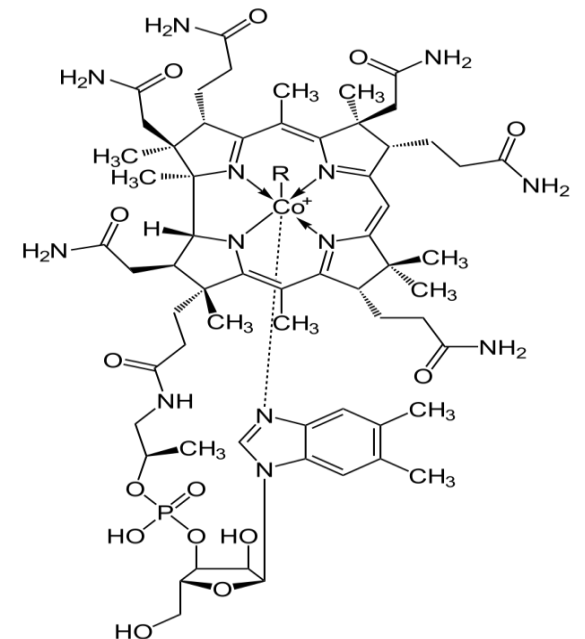
Vitamines liposolubles
Vit A, Vit D, Vit E..

Vitamines	Microorganismes producteurs
A	<i>Blakeslea trispora</i> ; <i>Rhodotorula gracilis</i> ; <i>Dunaliella sp.</i>
B₁	<i>Ashbya gossypii</i> ; <i>Torula utilis</i> ; <i>Saccharomyces cerevisiae</i>
B₂	<i>Clostridium acetobutylicum</i> ; <i>Ashbya gossypii</i> ; <i>Pichia miso</i>
B₁₂	<i>Bacillus megaterium</i> ; <i>Streptomyces olivaceus</i>
D	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ; <i>Aspergillus niger</i>
E	<i>Euglena gracilis</i>

Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles

- Parmi les vitamines hydrosolubles, la vitamine B12 (cobalamine), qui est utilisée comme complément alimentaire, puisqu'elle est indispensable au fonctionnement normal du cerveau et à la formation du sang.
- Cette molécule est utilisée pour le traitement de l'anémie pernicieuse,
- Elle est essentielle à la synthèse, la régulation de l'ADN, et au métabolisme des acides aminés et des acides gras.

À l'heure actuelle, plusieurs vitamines sont produites industriellement par voie microbienne,



Vitamine B12

Production industrielle de la vitamine B12.



Propionibacterium shermanii, *Propionibacterium freudenreichii* et *Pseudomonas denitrificans*

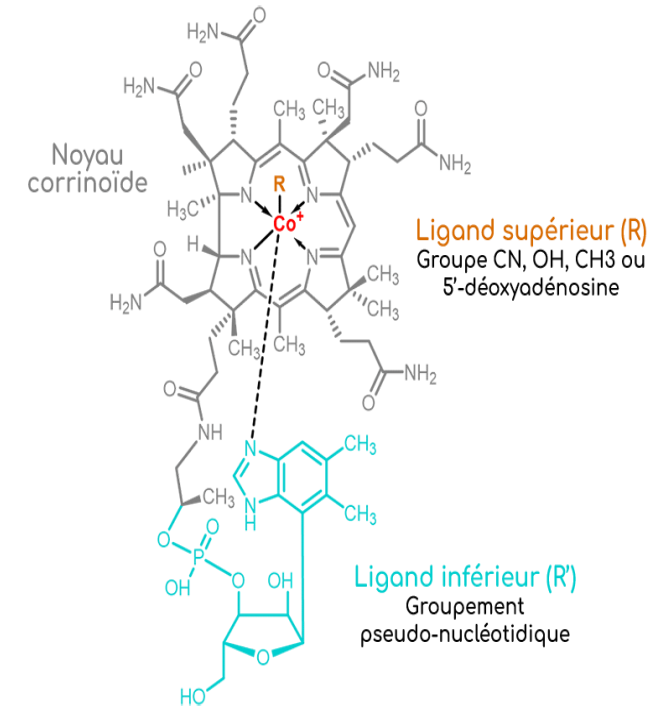
Sont les plus utilisées en industrie pour la production de la vitamine B12

Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles

Les deux espèces, *Propionibacterium shermanii*, *Propionibacterium freudenreichii*, sont des microaérophiles, et elles sont capables de produire la vitamine B12 uniquement avec de faibles pressions en oxygènes.

- Cependant, la biosynthèse du ligand inférieur (R') diméthylbenzimidazole (DMBI) est effectuée dans des conditions d'aérobiose. Par conséquent, deux étapes sont requises.
- Au cours des 3 premiers jours de la fermentation, les bactéries sont cultivées en conditions d'anaérobiose. Cela conduit à l'accumulation de l'intermédiaire, cobinamide, qui est le précurseur de la vitamine B12 dépourvu du fragment DMBI.
- Dans la deuxième phase, la culture est aérée légèrement, pendant 1 à 3 jours, ce qui permet à la bactérie d'entreprendre la synthèse oxygénée du DMBI, et de la lier au cobamide, pour former la vitamine B12 (Yongsmith et al, 1982).

- En parallèle de la production intracellulaire de la vitamine B12, les deux espèces du genre *Propionibacterium*, excrètent de l'acide propionique et l'acide acétique ce qui provoque une baisse de pH, donc **il est important de neutraliser les acides accumulés afin de maintenir la culture à pH 7**



À la fin de la fermentation, la culture est chauffée à 80-120 ° C pendant 10-30 min à pH 6,5-8,5 afin d'extraire la vitamine B12. E



traitement avec du cyanure ou du thiocyanate,



Obtention de la cyanocobalamine, qui est la forme commercialement la plus courante de la vitamine B12, car c'est la molécule la plus stable à l'air libre et la plus facile à cristalliser à purifier



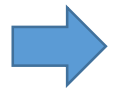
La vitamine B12 est précipitée par ajout de l'acide tannique, puis purifier avec des colonnes d'adsorption ou échangeuses d'ion

Les enzymes

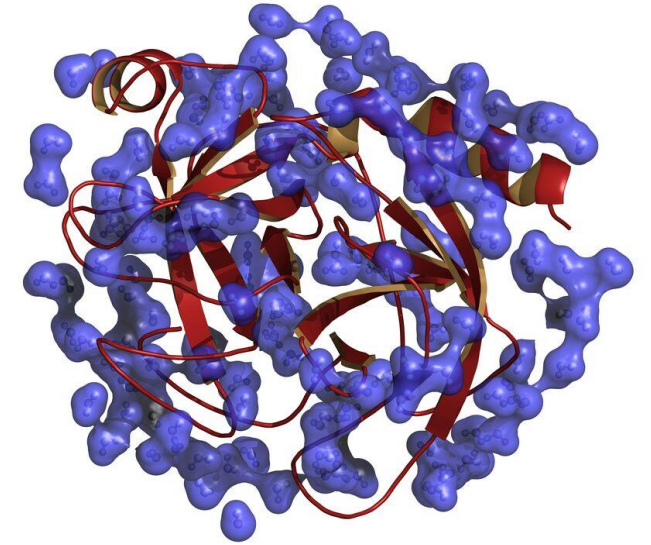
- Les enzymes sont des protéines spécialisées qui agissent comme des catalyseurs biologiques, accélérant les réactions chimiques dans les cellules vivantes.



les enzymes d'extraction (à partir d'organismes végétaux ou animaux)



les enzymes de fermentation (microorganismes).



Avantages des enzymes de fermentation par rapport aux enzymes d'extraction

- Production en grande quantité en fermenteur,
- Production indépendante des contraintes géographiques et saisonnières,
- Matière première bon marché,
- Manipulation génétique facile
- Purification plus facile en cas d'enzymes extracellulaires.

Milieux de culture pour la production des enzymes

Source de carbone et d'énergie

Farine de céréales, farine de soja, amidon de maïs, de pomme de terre, les sous- produits tels le lactosérum et les mélasses

Source d'azote (organique)

Farine de poisson, gélatine, caséine, farine de soja, coton, maïs et arachide
Extrait de levure, huiles végétales, farine de graines

Le procédé de la fermentation

- Les fermenteurs utilisés atteignent des volumes de 100 à 200 m³.
- Suivant les enzymes et les procédés, la fermentation dure de 30 à 150 heures.
- Elle se fait dans un milieu riche, où les paramètres physico chimiques sont régulés en continu: oxygène, pH, température, moussage (réduit par l'addition d'antimousse).
- La mesure de l'activité enzymatique est effectuée à intervalles réguliers

Microorganismes producteurs des enzymes

- Chaque microorganisme produit, généralement en petite quantité, un grand nombre d'enzymes impliquées dans des mécanismes cellulaires .Toutefois, quelques enzymes sont produites en plus grande quantité par certains micro-organismes pour, par exemple, dégrader des différentes molécules complexes comme la cellulose, l'amidon ou les protéines.

Chapitre 5 Les produits de fermentations industrielles

Ces enzymes jouent plusieurs rôles dans les productions alimentaires industrielles :

- Amélioration de la texture (exemple : la formation de gel dans certains jus de fruits concentrés sucrés est évitée en hydrolysant la pectine naturelle par des pectinases)
- Provoquer une insolubilisation de certaines molécules (exemple : l'utilisation de la présure bovine ou microbienne pour la coagulation de la caséine du lait dans la fabrication des fromages)
- Amélioration des qualités organoleptiques (exemple : l'ajout de lipases à certains fromages améliore leur saveur)

Préparation de l'inoculum et fermentation

L'objectif principal est généralement d'obtenir un niveau élevé de biomasse viable dans un état physiologique approprié pour l'utilisation comme inoculum. Une culture adéquate et un milieu de production sont essentiels pour fournir le bon environnement pour l'inoculum

Extraction et purification des enzymes

- La fermentation terminée, les enzymes doivent être séparées des cellules et des milieux et traitées de manière à obtenir une préparation commerciale répondant aux critères de pureté et de stabilité souhaités.
- Ces traitements sont des opérations unitaires simples telles que centrifugation, filtration, évaporation, précipitation, séchage...
- Les préparations enzymatiques peuvent être commercialisées sous différentes formes: liquide, concentré, granulée, immobilisée.
- Dans le cas des enzymes endocellulaires, la récupération nécessite une étape supplémentaire de broyage ou de lyse cellulaire.