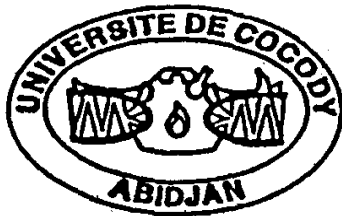


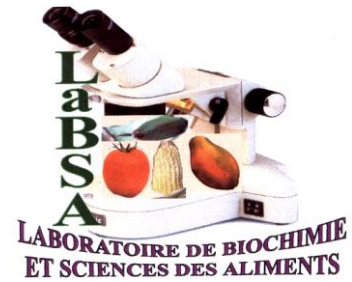
REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

Union – Discipline - Travail

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNI F.H.B / UFR BIOSCIENCES



22 B.P 582 Abidjan 22 Tel
(225) 22 44 03 07 / 22 44 37 24

BIOTECHNOLOGIE

ALIMENTAIRE

(1ere Partie)

Responsable Scientifique :

Dr KOUAME Désiré, Maitre- Assistant

*UNIVERSITE Félix HOUPHOUËT BOIGNY DE COCODY / UFR BIOSCIENCES
Laboratoire de Biochimie et Sciences des Aliments (LaBSA)*

TITRES DES CHAPITRES

A/ - Première Partie : Notions et Raisons de la Biotechnologie Alimentaire

- Définitions et Filières de la biotechnologie
- Biotechnologie en Agriculture
- Du Génotype au Phénotype : applications biotechnologiques
- Biotechnologie Alimentaire
- Impact de la biotechnologie dans l'industrie alimentaire et sur la qualité nutritionnelle
- Amélioration de la transformation des aliments en utilisant la biotechnologie
- Les Biosenseurs ou Sondes
- La Séparation des microorganismes
- Les Cultures stocks

B /- Deuxième Partie : Moyens d'utilisation (Les Fermentations)

- La Fermentation : un processus biotechnologique
- Les Bases et le Développement des procédés de fermentation industrielle
- La Préparation de l'Inoculum
- Les Milieux de Fermentation
- Quelques Milieux de Fermentation
- Les Paramètres affectant la Culture de fermentation
- Les Fermentations Anaérobies et Aérobie
- La Fermentation Continue et Addition de nutriments
- La Fermentation Double ou Multiple
- Optimisation de la Fermentation
- Détection et Essais des produits de fermentation
- Economie de la Fermentation

C/ - Troisième Partie ; TRAVAUX DIRIGES

DEFINITIONS

1/- Biotechnologie

Bio: vie ou systèmes vivants

Technologie : méthodes scientifiques pour accomplir un but pratique

2/- Biotechnologie générale

La biotechnologie générale n'est pas une science en elle-même, ni une chose mais, un puissant ensemble d'outils qui est actuellement utilisé pour développer et manufacturer beaucoup de produits mis à la disposition de tout un chacun soit pour la consommation, soit pour un usage industriel.

En général, la biotechnologie se réfère à l'application d'organismes vivants et leurs composants cellulaires, subcellulaires et moléculaires pour la création de produits et de procédés. Ces techniques sont utilisées pour introduire des caractéristiques souhaitées dans des espèces biologiques plus rapidement avec précision et ainsi avec plus de sécurité qu'il a été par des pratiques conventionnelles. Elle comporte le génie génétique, la biologie moléculaire pure, la fermentation, l'énergie, l'agriculture. Les aliments, la santé, l'environnement ...

Selon la loi canadienne, la biotechnologie est l'application de la science du génie à l'utilisation directe ou indirecte des organismes vivants, des parties ou des produits d'organismes vivants, sous leur forme naturelle ou modifiée.

3/- Biotechnologie alimentaire

La biotechnologie alimentaire est l'application des technologies traditionnelles et modernes qui utilisent des systèmes d'origine microbienne, végétale ou animale pour améliorer la production, le procédé et la distribution d'aliments sains, nutritifs à bon goût et moins onéreux.

4/- Génie génétique

C'est la technologie utilisée pour altérer le matériel génétique des cellules vivantes de sorte à les rendre capables de produire de nouvelles substances ou, à réaliser de nouvelles fonctions performantes. C'est une discipline qui a recours à des techniques de recombinaison des acides nucléiques consistant à introduire un ou plusieurs gènes d'une espèce dans une autre espèce non parente. Ceci fait partie de la modification génétique.

5/- Modification génétique (selon la santé du Canada)

C'est la transformation de toute caractéristique héréditaire d'un organisme au moyen d'une manipulation intentionnelle.

6/- Aliment génétiquement modifié ou transgénique

C'est un aliment qui a fait l'objet de techniques de recombinaison d'ADN afin de recevoir des gènes provenant d'une autre espèce non parente.

7/- Secteurs de développement de la biotechnologie

- L'agriculture et l'alimentation
- La santé
- La fermentation
- L'environnement
- L'Énergie
- L'extraction des métaux
- Le secteur militaire
- La nutrition
- La culture des tissus
- Les biomatériaux
- La marine et l'aquaculture
- Le contrôle de la corrosion
- Les productions chimiques spécifiques
- Etc.....

LES FILIÈRES DE LA BIOTECHNOLOGIE

1/- LA GENOMIQUE

La détermination des séquences d'ADN des organismes

2/- LA BIOINFORMATIQUE

L'étude de la structure inhérente de l'information biologique. Cela lie les avantages de la biologie avec ceux des ordinateurs, de l'informatique et des réseaux.

3/- LA PROTEOMIQUE

L'identification et caractérisation des produits obtenus des gènes qui sont exprimés dans un organisme.

4/- LE CLONAGE MOLECULAIRE

Le clonage moléculaire se réfère à l'identification et l'évaluation des traits désirables dans des programmes de clonage par l'utilisation de marqueurs sélectifs suivis dans les plantes, les animaux et les poissons.

5/- LA TRANSFORMATION

C'est la modification contrôlée du matériel génétique par des moyens artificiels. Ceci est basé sur la capacité d'isoler des fragments spécifiques de l'ADN à des sites précis. Les fragments d'ADN sélectionnés peuvent être transférés dans un autre organisme.

6/- LES DIAGNOSTICS MOLECULAIRES

C'est l'utilisation de la caractérisation informatique moléculaire pour réaliser des diagnostics précis et rapides de la présence des pathogènes et autres organismes.

7/- L'IMMUNOLOGIE MOLECULAIRE

Partie de la médecine ou de la biologie qui étudie l'immunité, sa pathologie et les moyens artificiels (vaccination, sérothérapie, etc...) de provoquer ou renforcer des réactions immunitaires.

LA BIOTECHNOLOGIE EN AGRICULTURE : BASES SCIENTIFIQUES ET APPLICATIONS

LA BIOTECHNOLOGIE

La biotechnologie est l'utilisation d'un système biologique pour générer un produit.
Le système biologique peut être : une plante, un animal, un microorganisme (bactérie, champignon, virus...)

LES ORGANISMES

Un organisme est toute chose vivante : virus, microbes, plantes, insectes, oiseaux, mammifères, hommes...

LES CELLULES

Les cellules sont des briques de l'organisme et, le type de briques détermine ce à quoi va ressembler l'édifice. Les cellules contiennent une information qui est un code porté par une longue molécule appelée Acide Désoxyribose Nucléique (ADN)

LES GENES

Le code sur l'ADN est divisé en unités appelées gènes. Chaque gène code pour une protéine
Chaque protéine a une fonction : une action, une structure à bâtir...

LES GENES CONTIENNENT : L'ADN, LE CODE POUR LA VIE

Le code de l'ADN comprend quatre (4) blocs représentés par les lettres : **A, C, T, G**
Que nous soyons un ver, un criquet, un plant de cotonnier ou un homme, notre ADN a les mêmes unités de construction ; seul l'ordre, l'arrangement nous distingue

Les gènes font de nous ce que nous sommes et, nous héritons nos gènes de nos parents.
Ceci est valable pour tous les organismes (microorganismes, plantes, animaux, hommes...)

EXEMPLES DE FONCTIONS DES GENES

- La couleur des fleurs ou des graines
- La résistance ou la sensibilité à une maladie
- Les gènes du VIH sont à l'origine du SIDA

POURQUOI LA BIOTECHNOLOGIE ?

- Amélioration de la durabilité des systèmes de production
- Amélioration de la qualité des aliments
- Résistance aux ennemis des cultures, augmentation des rendements et la réduction des pesticides chimiques
- De nouvelles méthodes plus rapides et plus fiables.

LES DOMAINES D'APPLICATION DU GENIE GENETIQUE (Transgénèse)

1/- Agronomie

- La résistance à des insectes - La résistance à des maladies -La résistance à des herbicides
- La culture de tissus (régénération de plants)

2/- L'Alimentation

- Les qualités nutritionnelles -La maturation des fruits -La transformation agro-alimentaire

3/- la Sante

- Les produits sanguins -Les vaccins -Les protéines humaines

4/- L'industrie

- Les pates à papier --Les huiles industrielles -Les colorants...

LES ORGANISMES GENETIQUEMENT MODIFIES (OGM)

Ils constituent un des multiples produits de la biotechnologie moderne agricole, ce sont des organismes vivants dont le patrimoine génétique a été modifié par l'insertion d'un gène étranger. C'est une méthode conventionnelle d'amélioration génétique.

De nos jours, l'on peut extraire, isoler, séquencer, couper, coller, transférer, recombiner l'ADN et, l'une des méthodes de transformation du génome est appelée : la transgénèse. Ex. d'OGM : * Manioc et Sorgho résistants aux herbicides * **Bt** dans le cotonnier

L'on obtient également de nouvelles protéines insecticides avec comme avantages un contrôle à large spectre de lépidoptères ravageurs durant toute la saison et ainsi, une réduction du nombre de traitements insecticides.

Exemple d'un produit génétiquement modifié couramment utilisé : **l'Insuline**

Elle est employée dans le traitement du diabète. Avant elle était extraite du pancréas de porc. Aujourd'hui l'on assiste au clonage du gène humain de l'Insuline dans des bactéries. La multiplication des bactéries permet une production importante d'insuline qui, est ensuite purifiée pour son utilisation.

DU GENOTYPE AU PHENOTYPE *APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES :* *RELATIONS ENTRE ADN ET PROTEINES*

A/- LES ACQUIS ET LES DEFINITIONS

- Chez tous les êtres vivants, l'ADN est le support universel de l'information génétique.
- Une **molécule d'ADN** est une **double hélice** constituée de deux (2) chaînes ou deux séquences de nucléotides. Chaque chaîne comporte une succession de **nucléotides** de quatre (4) types de bases azotées désignées par les lettres : **A** = Adénine, **T** = Thymine, **G** = Guanine et **C** = Cytosine. Les chaînes sont unies entre elles par des liaisons uniquement entre **A** et **T** d'une part puis, entre **C** et **G** d'autre part. Les deux (2) brins sont dits complémentaires. Le nombre de nucléotides et surtout leur ordre sont différents d'une molécule à une autre.

- **Un gène** est un fragment de la molécule d'ADN, la séquence des nucléotides d'un gène constitue un message codé : c'est l'information qui indique l'ordre d'assemblage des acides aminés de la protéine gouvernée par ce gène.
- **Les allèles** d'un gène correspondent à des séquences de nucléotides légèrement différents l'une de l'autre.
- **Le phénotype** : c'est l'ensemble des caractères visibles d'un organisme, ensemble des caractères qui participent directement à la construction et au fonctionnement de chaque organisme.
- **Les protéines** : elles sont constituées par un enchaînement de plusieurs **acides aminés** (20) différents dans un ordre précis. L'ordre des acides aminés détermine la forme de la protéine : ce sont les protéines de structure, les protéines fonctionnelles (Ex : enzymes, anticorps, protéines de transport...)

B/- DE L'ADN AUX PROTÉINES

Dans une cellule, le message génétique est décodé pour permettre l'assemblage des acides aminés de chaque protéine dans un ordre bien déterminé. Cependant alors que l'ADN est constitué de nucléotides, les protéines sont des segments d'acides aminés : quelle correspondance existe-t-il entre le langage de l'ADN et celui des protéines ?

1/- L'ADN ET LES PROTÉINES : DEUX MOLECULES ORDONNEES

L'ADN : support de l'information génétique et, les protéines sont des molécules ordonnées

- **Un gène** est un fragment d'ADN, il est défini par sa séquence en nucléotides
- **Un allèle** est une version d'un même gène qui diffère par des détails de la séquence des nucléotides.
- **Une protéine** est définie par sa séquence d'acides aminés. La synthèse d'une protéine impose que les pièces détachées (acides aminés) soient dans un ordre. Or nous savons que c'est le gène qui détient ce plan d'assemblage. La séquence de nucléotides d'un gène représente donc, sous forme codée, la séquence d'acides aminés de la protéine correspondante, cela signifie que les acides aminés successifs doivent être représentés par les zones successives du gène.

2/- LE CODE GENETIQUE : Système de correspondance entre gène et protéine

Il est impossible de désigner chaque acide aminé par un seul nucléotide (cela fournit seulement quatre (4) possibilités ; ou même par une association de deux (2) nucléotides (seize possibilités). En revanche on peut constituer soixante quatre (64) associations différentes formées de trois (3) nucléotides. Des expériences ont permis de vérifier que c'est ce système de codage, le plus simple possible, qui est utilisé par les cellules vivantes.

Le **code génétique** est donc un tableau de correspondance entre soixante quatre (64) triplets possibles de nucléotides appelés **codons** et les vingt (20) acides aminés.

Les vingt (20) acides aminés sont les suivants : * Glycine (**Gly**), * Alanine (**Ala**), * Valine (**Val**), * Leucine (**Leu**), * Isoleucine (**Ile**), * Cystéine (**Cys**), * Méthionine (**Met**) * Serine (**Ser**), * Thréonine (**The**), * Phénylalanine (**Phe**), * Tyrosine (**Tyr**), * Tryptophane (**Trp**), * Proline (**Pro**), * Acide Aspartique (**Asp**), Asparagine (**Asn**), * Acide Glutamique (**Glu**), Glutamine (**Gln**), * Lysine (**Lys**), * Arginine (**Arg**) * Histidine (**His**)

Le code génétique est non ambigu : a un triplet de nucléotides correspond un acide aminé et un seul, toujours le même. Cela est vrai dans l'ensemble du monde vivant, il est donc universel : c'est ce qui permet a une bactérie d'utiliser correctement un message codé humain suite par exemple a une transgénèse.

Le code génétique est cependant **redondant** : cela signifie que plusieurs codons désignent le même acide aminé car les 64 codons, sont plus nombreux que les vingt (20) types d'acides aminés. Trois (3) codons sure les 64 ne correspondent a aucun acide aminé : ce sont les **codons stop**

3/- LA SYNTHÈSE D'UNE PROTEINE

Cet assemblage se réalise toujours dans le cytoplasme cellulaire. Ce sont des organites spécialisés : **les ribosomes** qui constituent les ateliers d'assemblage. Ces ateliers disposent : de pièces détachées, qui sont en fait des acides aminés et, d'un plan de montage sous forme d'une copie du gène. Cette copie nommée ARN messager (**ARNm**) est une séquence de nucléotides c'est à dire une succession de codons désignant les acides aminés qu'il faut assembler. La correspondance est établie directement entre les triplets de nucléotides de l'ADN et les acides aminés de la protéine.

La fonction du ribosome est donc d'assembler les acides aminés dans l'ordre imposé par les codons successifs de l'ADN (ou de l'ARNm). L'élongation de la chaîne de protéine s'arrête quand le ribosome rencontre un codon-stop. La synthèse est alors terminée : la protéine est soit transportée dans la région de la cellule où elle doit être utilisée, soit elle est exportée. Dans tous les cas elle va participer à la réalisation du phénotype.

4/- MUTATION DES GENES ET MODIFICATION DU PHENOTYPE

La mutation est une modification accidentelle de la séquence des nucléotides de l'ADN. Il peut s'agir d'une simple mutation ponctuelle (remplacement d'un nucléotide par un autre, ajout ou perte) ou parfois d'un accident plus étendu (disparition d'une partie de la séquence ou inversion d'un fragment de gène ...). Le sens du message génétique est le plus souvent modifié et la protéine correspondante subit une altération de sa forme et donc de sa fonction. Cela peut retentir sur le phénotype de façon considérable, exemple : la **Drépanocytose** qui est liée à la substitution d'un seul nucléotide sur la séquence d'ADN du gène de l'hémoglobine.

C/- APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES

Les connaissances fondamentales en génétique et la maîtrise de technologies très fines ont ouvert de nouveaux horizons. Il est aujourd'hui possible de modifier l'information génétique d'un organisme mais, sur quelles connaissances repose la transgénèse ? et quelles interrogations suscitent les organismes génétiquement modifiés : OGM ?

1/- LA TRANSGÈNESE : une application de l'universalité du code génétique

La transgénèse consiste à introduire un fragment d'ADN, un gène (ou un transgène) qui provient d'une cellule d'une espèce dans le noyau d'une autre cellule. La cellule et l'être vivant qui résulte de son développement sont dits transgéniques.

Dans l'organisme transgénique, l'on constate l'expression des propriétés de l'espèce qui a fournie l'ADN. La transgénèse est possible entre des êtres appartenant à des groupes différents, même très éloignés.

- **Exemple 1** : à partir des plants de tabac transgénique, l'on est capable de faire la synthèse de l'hémoglobine humaine.

- **Exemple 2** : a partir des bactéries transgéniques, l'on est capable de produire au niveau industriel des molécules normalement synthétisées dans l'organisme humain comme l'insuline des diabétiques.

Un gène humain peut donc s'exprimer a l'intérieur d'une cellule procaryote (être unicellulaire dont l'ADN n'est pas enfermé dans une enveloppe (sans noyau vrai), a l'inverse un gène bactérien ne peut s'exprimer au sein des cellules eucaryotes (être vivant dont l'ADN de chaque cellule est enfermé dans un noyau vrai), ils sont uni ou pluricellulaires.

2/- LES OGM : un problème de société très actuel

- **a/- La fabrication d'un OGM : le maïs transgenique Bt**

Le maïs transgénique Bt produit par Novartis (grande multinationale pharmaceutique) a été rendu résistant a la pyrale : un papillon qui pond des œufs dans les tiges que les larves rendent ensuite cassantes. Pour ce faire, le gène codant pour une toxine provenant d'une bactérie : *Bacillus thuringiensis* (Bt) a été introduit dans le génome. Cette toxine est strictement spécifique des lépidoptères (papillons) et *Bacillus th.* a été utilisé pendant longtemps comme instrument de lutte biologique contre ces insectes.

La France produit plus de 80% du maïs européen et, cent mille (100.000) hectares cultivés sont traités contre les lépidoptères avec des agents chimiques précisément, des produits insecticides reconnus assez peu efficace et souvent toxiques.

- **b/- Avantages et inconvénients**

- Production de médicaments: * Insuline humaine par des bactéries * Hormone de croissance par les mammifères (Ex: la vache) * Sécrétion de protéines humaines dans le lait (enzymes, hormones...) d'intérêt thérapeutique.

- Réalisation de greffe d'organes animaux (cœur, reins) chez l'homme= Xénogreffes

- Amélioration d'aliments: * Inhibition des gènes allergènes du riz * Inactivation des enzymes responsables de la dégradation des fruits murs.

- En Agriculture : *Résistance a des insectes (maïs) * Résistance aux champignons (colza) * Résistance aux herbicides (coton, soja) *Suppression du facteur allergène (riz) *Amélioration de la conservation (tomate)

Tous ces éléments doivent être contrôlés, il est primordial d'envisager toutes les conséquences aussi bien sur le plan de la santé que celui de l'environnement. La connaissance des bases scientifiques doit permettre de comprendre les différents arguments et de participer aux prises de décision.

LA BIOTECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

1/- BIOTECHNOLOGIE ET ALIMENT GENETIQUEMENT MODIFIE

Selon la loi canadienne sur la protection de l'environnement, la biotechnologie se définit comme étant l'application de la science du génie à l'utilisation directe ou indirecte des organismes vivants, des parties ou de produits d'organismes vivants, sous forme naturelle ou modifiée. Selon Santé Canada, la modification génétique consiste en la transformation de toute caractéristique héréditaire d'un organisme au moyen d'une manipulation intentionnelle.

Le génie génétique est compris dans cette définition puisque cette discipline a recours à des techniques de recombinaison des acides nucléiques qui consistent à introduire un ou plusieurs gènes d'une espèce dans une autre espèce non parente. Ainsi, un aliment génétiquement modifié ou transgénique est celui qui a fait l'objet de techniques de recombinaison d'ADN afin de recevoir des gènes provenant d'une autre espèce non parente.

2/- L'ASSURANCE DE L'INOCUITE DES ALIMENTS ISSUS DE LA BIOTECHNOLOGIE

À l'échelle internationale, le processus d'évaluation de l'innocuité des aliments transgéniques est fondé sur des principes élaborés à la suite de consultations techniques parmi les parties concernées et les experts de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) et, de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE). Le Canada est membre de la commission du Codex Alimentarius : organisme international qui établit des normes, et préside son comité d'étiquetage, qui participe à l'élaboration des lignes directrices sur la biotechnologie alimentaire.

Au Canada, Santé Canada et l'agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) sont conjointement responsables de la réglementation relative à l'innocuité des aliments nouveaux issus de la biotechnologie alimentaire.

En vertu de la loi sur les aliments et drogues, Santé Canada est chargée :

- a/-** d'approuver les aliments nouveaux y compris ceux issus de modification génétique
- b/-** d'élaborer des politiques en matière d'étiquetage en ce qui concerne la santé et l'innocuité des aliments notamment la valeur nutritive, les allergènes et les toxines.

En vertu de cinq lois concernant la biotechnologie, l'ACIA est chargée d'établir des politiques en matière d'étiquetage des aliments pour ce qui est des questions extra-sanitaires et d'innocuité et d'effectuer des évaluations de l'innocuité des éléments suivants : engrais, semences, végétaux, animaux, vaccins et diagnostics pour animaux et aliments d'animaux.

Avant d'approuver la commercialisation d'un produit, Santé Canada et l'ACIA doivent avoir établi son innocuité et déterminé les risques que celui-ci peut présenter pour la santé des humains, des végétaux, des animaux et de l'environnement.

L'organisme qui demande l'approbation est tenu d'amasser toutes les données nécessaires qu'analysera l'équipe d'experts scientifiques du gouvernement. Tous les produits sont évalués au cas par cas, et seuls les produits nouveaux qui sont jugés aussi sûrs que leurs comparables conventionnels sont approuvés. Le but de ces démarches est de maximiser les bénéfices tout en réduisant les risques au minimum. En avril 2001, on avait approuvé l'usage de quarante (40) cultures à des fins alimentaires

La médecine a recours au génie génétique depuis quelque temps déjà. Depuis près de vingt (20) ans, l'insuline humaine utilisée pour traiter le diabète est produite par l'incubation de bactéries qui, grâce à des modifications génétiques incluent le gène de l'insuline humaine.

3/- LES AVANTAGES DE LA BIOTECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

Les avantages que procure la biotechnologie alimentaire incluent :

- Un meilleur rendement des récoltes grâce à l'amélioration de la tolérance aux herbicides et de la résistance aux ravageurs et aux maladies. Exemples : des végétaux qui tolèrent les herbicides qui sont pulvérisés pour enrayer les mauvaises herbes.
- Des végétaux qui agissent comme des pesticides, telle la **pomme de terre Nature Mark (MD)** qui repousse le doryphore de la pomme de terre et, qui est sans danger pour les animaux et les humains
- Une amélioration du goût des aliments, comme dans le cas de la **tomate Flavor Savor (MD)** qui présente une saveur améliorée et, une plus longue durée de conservation.
- Des additifs technologiques tels que la rénine, utilisée dans la fabrication du fromage en remplacement de la présure, extraite de la caillette des jeunes ruminants, les avantages que présente la rénine sont la pureté, la constance de l'approvisionnement et des coûts réduits.

- La tolérance au froid, des végétaux sont créés de façon à résister aux basses températures et au gel imprévu qui pourraient détruire les semences, la tolérance à la sécheresse et à la salinité : on cultive maintenant dans les régions arides.
- L'amélioration de la teneur en nutriments, le riz est une denrée de première nécessité dans les pays en développement, mais ce n'est pas un aliment complet, le **riz doré** (aliment transgénique) a teneur élevée en beta-carotène (vitamine A)
- La restauration par les végétaux : des végétaux, tels que le peuplier, sont cultivés non pas en tant que cultures mais, pour réduire la concentration de métaux lourds dans le sol

On peut envisager d'autres avantages : des aliments exempts d'allergènes, une amélioration de la teneur en nutriments des fruits et des légumes, de leur durée de conservation et de leur goût ; exemple : du riz enrichi en fer pour prévenir l'anémie, et des aliments utilisés comme vaccins... En général la biotechnologie a pour objectif d'améliorer la qualité et, la quantité de l'approvisionnement en aliments.

4/- LES ENJEUX DE LA BIOTECHNOLOGIE ALIMENTAIRE

L'on peut répartir les enjeux en trois catégories principales : les enjeux environnementaux, les enjeux au niveau de la sante et, les enjeux économiques

4.1./ - Les défis environnementaux

- Les dommages non intentionnels causes à d'autres organismes. En effet il existe un risque de nuire a des organismes non cibles, comme dans le cas d'une culture résistante aux ravageurs qui produit des toxines qui nuisent tant aux insectes nuisibles qu'aux insectes utiles aux récoltes.

- L'efficacité réduite des pesticides à mesure que s'accroît la résistance des ravageurs aux cultures modifiées.

- Le transfert de gènes à des espèces non ciblées dans le cas par exemple, de plantes présentant une tolérance aux herbicides qui se croisent avec des mauvaises herbes, ce qui pourraient créer de mauvaises herbes résistantes aux herbicides.

4.2./- Les risques pour la santé des humains : l'allergenicite

4,3./- Les préoccupations économiques

- D'importantes ressources sont consacrées à la création de cultures modifiées, et des entreprises obtiennent des brevets pour ces nouvelles plantes. Certains s'inquiètent qu'un tel brevetage occasionnerai une hausse des prix des semences, limitant ainsi l'accès qu'en auront les petites fermes et les pays en développement.

L'étiquetage obligatoire des aliments issus de modifications génétiques pourrait se révéler couteux et difficile à réaliser, ainsi, les désavantages qu'il présente pourraient dépasser les avantages pour le consommateur. La question n'est pas tellement d'étiqueter ou non les aliments issus de modifications génétiques mais, d'établir de façon rentable qui offrira aux consommateurs de l'information utile.

S'il est vrai que la biotechnologie alimentaire peut contribuer a réduire la faim et la malnutrition dans le monde, a améliorer le rendement des cultures et a réduire l'usage de produits chimiques, elle comporte aussi son lot de défis en ce qui a trait a l'environnement, a la sante des humains et a l'économie. La biotechnologie continue d'évoluer, et les gouvernements et les parties concernées continuent de jouer un rôle actif sur la scène internationale pour s'assurer que la réglementation s'y affèrent correspond aux besoins de la population du Canada et du monde.

IMPACT DANS L'INDUSTRIE ALIMENTAIRE ET SUR LA QUALITE NUTRITIONNELLE DES PLANTES

A/- IMPACT DE LA BIOTECHNOLOGIE DANS L'INDUSTRIE ALIMENTAIRE

Depuis des millénaires, la quête de l'humanité a été d'améliorer les biens produits par la nature afin de procurer une large variété d'aliments nourrissants, Cette quête passe de nos jours par les connaissances et des techniques offerts par la biotechnologie. Mais quels sont les avantages de la biotechnologie dans l'industrie alimentaire ?

La biotechnologie renferme un grand potentiel pour procurer des avantages significatifs à l'industrie alimentaire entre autre sur le plan agronomique que non agronomique.

1/- Avantages sur le plan agronomique

L'amélioration des rendements, le développement d'hybrides, de variétés de plantes résistantes par l'application des outils de la génétique cellulaire et moléculaire.

2/- Avantages sur le plan non agronomique

Une facilitation et une amélioration des procédés de transformation des produits des plantes améliorées.

L'industrie alimentaire évolue dans un environnement dynamique. L'application des procédés biotechnologiques, favorisant le développement de nouvelles plantes, permet ainsi l'amélioration des opérations unitaires et la baisse des prix des produits manufactures. Ce qui est au profit de la compétition des produits. Pour cela la direction de l'entreprise alimentaire doit être informée de toutes les innovations biotechnologiques de sorte à introduire la recherche et la technologie dans la pratique générale de l'entreprise.

B/- IMPACT SUR LA QUALITE NUTRITIONNELLE DES PLANTES

La qualité nutritionnelle des plantes dépend de la qualité des nutriments dans l'aliment consomme autant que la qualité des facteurs anti-nutritionnels.

Les **facteurs anti-nutritionnels** sont définis comme des substances qui augmentent la demande en détruisant certains nutriments essentiels, en les rendant inaccessibles, ou en interférant avec leur disponibilité et leur digestion. Ces éléments sont des composants des tissus animaux ou végétaux ; d'autres surviennent au cours des procédés de transformation par la détérioration des aliments ou par l'environnement (eau, air, sol).

Méthodes traditionnelles pour améliorer la qualité nutritionnelle des aliments

Il existe de nombreuses voies pour l'amélioration de la qualité nutritionnelle des aliments. On effectue soit un enrichissement, soit une supplémentation, soit par des méthodes traditionnelles de transformation, soit par la biotechnologie.

1/- Enrichissement et/ou supplémentation

L'enrichissement est utilisé pour restituer les nutriments perdus, sa transformation ou pour augmenter le taux de nutriments déficients.

La supplémentation est utilisée pour empêcher les effets des facteurs antinutritionnels comme l'ajout de sel de fer dans les régimes en gossypol pour réduire leur toxicité.

2/- Méthodes traditionnelles de transformation

Elles peuvent améliorer la qualité nutritionnelle en améliorant le goût et, la digestibilité de nutriments en détruisant, les substances toxiques ou minimisant leurs effets.

On peut diviser les méthodes traditionnelles en trois (3) catégories :

-La séparation (Ex : extraction)

-Le traitement physique (Ex : traitement thermique) -Le traitement chimique (Ex : salaison)

3/- Biotechnologie

La biotechnologie consiste en une base de divers procédés classiques de transformation. Malgré ses effets sur la qualité nutritionnelle, les procédés biologiques n'étaient pas considérés, jusque -là comme des opérations unitaires. L'application des procédés biotechnologiques se présentent sous différents aspects : traitement enzymatique, fermentation et ses influences, germination, culture de tissus de plantes...

3.1.- Le traitement enzymatique

Ce procédé est utilisé dans la production de jus de fruits et légumes. Il permet une augmentation du rendement et des carotènes tout en diminuant la teneur en composés antinutritionnels.

3.2.- La fermentation et ses influences

En plus de son pouvoir conservateur, la fermentation influence aussi la texture, la saveur et la qualité nutritionnelle.

a/- Influence de la fermentation sur la teneur en protéines et acides aminés

Les effets diffèrent selon la nature des microorganismes utilisés mais, il faut retenir que la fermentation n'entraîne pas une modification de sa teneur en protéines. Mais on assiste à une augmentation de la teneur en acides aminés libres.

b/- Influence de la fermentation sur la teneur en lipides

Bien que l'emploi des microorganismes lors de la fermentation n'entraîne pas de modification de la teneur totale en lipides, nous remarquons une augmentation de la teneur en acides gras libres

c/- Influence de la fermentation sur la teneur en vitamines

Selon les microorganismes utilisés, les effets différents :

-généralement la teneur en vitamine B1 diminue

- la teneur en vitamine B2 et en niacine augmente dans les céréales

-la teneur en vitamines B6 et B12 augmente dans les huiles de céréales

d/- Influence de la fermentation sur les composés antinutritionnels

La fermentation permet la réduction de la teneur en composés antinutritionnels tels que le phytate, le gossypol, les substances goitrigènes, carcinogènes et mutagènes.

3.3.- La Germination

Elle permet l'obtention de produits végétaux ayant une teneur en protéine, lysine et vitamines qui augmentent. En outre, elle permet la réduction ou l'élimination des substances antinutritionnelles.

3.4.- La Culture de tissus de plantes

Cette technique dans l'objectif est l'amélioration de la qualité des matières premières, combinée aux méthodes traditionnelles et biologiques, améliore encore la qualité des aliments. Basée sur la sélection des souches, elle aboutit à l'obtention de produits ayant des caractéristiques prédéfinies.

Ses avantages sont :

- L'amélioration des rendements et des qualités nutritionnelles
- L'obtention de spécimens résistants aux maladies et pesticides
- La tolérance aux facteurs physiques (température, sécheresse...)

Au vu des avantages et inconvénients de ces trois méthodes d'amélioration de la qualité nutritionnelle des aliments, il apparaît que les recherches futures dans ce domaine devraient être orientées vers la combinaison de ces dernières pour la maximisation de la qualité nutritionnelle des aliments

AMELIORATION DE LA TRANSFORMATION DES ALIMENTS EN UTILISANT LA BIOTECHNOLOGIE

I /-USAGES TRADITIONNELS DES MICROORGANISMES DANS LES ALIMENTS

1/- La Fermentation des aliments

Les aliments fermentés sont définis comme : des aliments qui ont été sujet à l'action des microorganismes (bactéries, moisissures ou levures) ou des enzymes pour produire des changements biochimiques souhaités. Les microorganismes peuvent être la microflore intrinsèque présente sur les matières d'origine végétale ou animale qui servent de substrats pour la fermentation ou, qui peuvent être ajoutés comme ferments.

Le génie génétique peut être utilisé pour stimuler le processus, la valeur nutritive, la sécurité microbiologique et la date de péremption des aliments fermentés.

Le métabolisme microbien est responsable pour la production d'agents de conservation tel que les acides, le dioxyde de carbone (CO₂) et les alcools aussi bien que les changements physiques et chimiques qui altèrent la saveur, la texture, la période de péremption, la sécurité, la digestibilité et la qualité nutritionnelle des aliments fermentés.

Les microorganismes impliqués sont multi-fonctionnels et sont une part intégrale du produit fini. La fermentation est un procédé de conservation des aliments relativement simple, naturel, efficace, moins onéreux avec une faible énergie qui réduit la nécessité de réfrigération.

Les produits finis de fermentation influencent le caractère du produit et dépendent des microorganismes particuliers impliqués dans la fermentation. Les bactéries lactiques appartenant au genre *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Lactococcus* et *Leuconostoc* sont utilisées pour la production de produits laitiers, carnés et d'origine végétale et également, pour produire de l'acide lactique comme premier produit fini de la fermentation.

Les levures fermentescibles du genre *Saccharomyces* utilisées pour la production de vin, de la bière et du pain, produisent de l'alcool et du dioxyde de carbone (CO₂) comme produit fini primaire de métabolisme.

Les moisissures filamenteuses tels que : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* et *Rhizopus* sont équipées d'un puissant arsenal d'enzymes qui contribuent à la dégradation des substrats lors de la fermentation.

En général, les aliments fermentés apportent une large contribution dans les régimes alimentaires à travers le monde entier. Les classes de produits fermentés apportés dans les différentes régions du monde reflètent le régime dans chaque région.

Tableau d'Exemples d'Aliments Fermentés

CLASSE	Produits alimentaires	Microorganismes
Boissons	<ul style="list-style-type: none"> • Vin, Bière • Cacao, Café 	<p><i>Saccharomyces cereviceae</i></p> <p><i>Erwinia, Bacillus, Streptococcus, Saccharomyces, Lactobacillus, Espèces de Leuconostocs</i></p>
Produits céréaliers Blé	<ul style="list-style-type: none"> • Pain, Crakers • Pain plein 	<p><i>Saccharomyces cereviceae</i></p> <p><i>Saccharomyces cereviceae</i></p> <p><i>Lactobacillus, Streptococcus</i></p>
Produits laitiers	<ul style="list-style-type: none"> • Fromage • Yaourt • Lait aciphilus sucré 	<p><i>Lactobacillus cremoris / L. lactis</i></p> <p><i>Streptococcus, Lactobacillus</i></p> <p><i>Lactobacillus</i></p>
Produits halieutiques	<ul style="list-style-type: none"> • Rokerrel, Tamara, • Momoni 	<p><i>Micrococcus, Staphylococcus</i></p> <p><i>Bacillus, Pediococcus</i></p>
Produits fruitiers	<ul style="list-style-type: none"> • Citron • Vanille 	<p><i>Microorganismes indigenes</i></p> <p><i>Leuconostocs, lactobacillus, Streptococcus</i></p>
Produits végétaux	<ul style="list-style-type: none"> • Olives, Kinchi 	<p><i>Leuconostocs, Streptococcus</i></p> <p><i>Pediococcus. Lactobacillus</i></p>
Produits de légumineuses	<ul style="list-style-type: none"> • Tempeh • Soy-sauce • Natto 	<p><i>Rhizopus oligosporus</i></p> <p><i>Bactéries, Levures ...</i></p> <p><i>Moisissures</i></p> <p><i>Bacillus subtilis var, natto</i></p>
Produits carnés	<ul style="list-style-type: none"> • Salami, Pepperoni 	<p><i>Aspergillus oryzae</i></p>
Produits amidonnés	<ul style="list-style-type: none"> • Manioc • Taro 	<p><i>Pediococcus, Lactobacillus</i></p> <p><i>Lactobacillus, Streptococcus</i></p>

2/- Les Protéines unicellulaires

Les **protéines unicellulaires** sont des cellules séchées d'organismes tels que des algues, certaines bactéries, des levures et des moisissures qui sont produits dans des systèmes de culture à grande échelle pour une utilisation comme protéine dans les régimes alimentaires de l'homme ou des animaux. Ces produits contiennent d'autres nutriments comme les glucides, les lipides, les vitamines et les minéraux.

La **Spiruline** est un des exemples consommés par les anciens aztèques du Mexique. Les levures furent aussi utilisées pendant les deux guerres mondiales.

Récemment, les nouvelles connaissances scientifiques en physiologie, en nutrition et génétique des microorganismes ont conduit à des améliorations significatives dans la production de protéines unicellulaires à partir d'une large gamme de microorganismes et de matières premières.

Dans le futur, la production de protéines unicellulaires deviendra importante comme un moyen moins onéreux pour augmenter la protéine de bonne qualité dans l'alimentation.

II/- UTILISATIONS PROBIOTIQUES DES ALIMENTS

Les microorganismes ont été reconnus capables de jouer un rôle important dans le maintien de la santé des hommes et des animaux par le contrôle des microorganismes de la flore intestinale capables de produire des effets néfastes chez l'hôte.

À titre d'exemple, nous avons les ***Lactobacillus*** qui sont dotés de plusieurs rôles :

- assistent dans la digestion du lactose
- apportent d'importantes enzymes digestives
- fixent les composés chimiques induisant le cancer
- désactivent les toxines
- régulent la flore intestinale
- réajustent les acides biliaires
- Réduisent l'absorption du cholestérol à travers le tube digestif
- Fourni des vitamines B

Les **effets pro-biotiques** ont été étudiés largement sur les animaux et, il n'est pas rare d'ajouter un certain microorganisme à un aliment de bétail pour améliorer la digestibilité de l'aliment et, de protéger le tube gastro-intestinal contre une invasion microbienne. Les effets pro-biotiques des microorganismes chez l'homme ont à peine commencé à être étudiés

III /- PRODUCTION MICROBIENNE DES INGREDIENTS DES ALIMENTS

Les microorganismes produisent une série de métabolites secondaires par la fermentation et ceux-ci peuvent être purifiés pour être utilisés comme ingrédients d'aliment.

Les microorganismes sont divers et petits de taille (micron) , faciles à se multiplier en grande quantité sur divers substrats, faisant d'eux des candidats idéaux pour la production de métabolites secondaires.

Les types de composés produits par la fermentation microbienne incluant : les acidulants, les acides aminés, les vitamines, les saveurs et les stimulants de saveurs, les surfactants (émulsifiants), les édulcorants, les antioxydants et les agents antimicrobiens

1/- Aides aux traitements des aliments

Les Enzymes sont : des catalystes protéines qui réalisent toutes les réactions de synthèse et, de dégradation des organismes vivants. Elles sont utilisées fortement dans l'industrie alimentaire pour contrôler la texture, l'apparence, la valeur nutritive et pour générer les saveurs et les arômes désirables. Bien que les enzymes soient produits par les plantes et les animaux, aussi bien que par les microorganismes, les enzymes provenant des sources microbiennes sont généralement plus souhaitables pour des applications commerciales. Les produits de sources microbiennes peuvent être obtenus en grande quantité sans les limitations qui peuvent être imposées par les saisons ou les localisations géographiques, comme cela peut être le cas des enzymes provenant d'une plante. En plus, les microorganismes se multiplient rapidement et les coûts de production sont relativement faibles.

En vue de la diversité métabolique des microorganismes, la nature a fourni un large réservoir d'enzymes qui agissent sur toutes les molécules biologiques majeures. Les enzymes sont fréquemment utilisées dans des systèmes de bac de transformation d'aliments. Cependant, quand cela est applicable, les enzymes peuvent être immobilisées et, utilisées dans des systèmes continus de transformation.

En exemples :

- les enzymes utilisées pour convertir l'amidon de maïs en forte teneur de sirop de fructose sont immobilisées.
- l'enzyme **rennin** utilisée dans la manufacture du fromage est immobilisée et continuellement utilisée pendant des semaines et, quelquefois des mois ou années sans perte substantielle d'activité.

2/- Les acides aminés et les vitamines

Les acides aminés constituent : le squelette des protéines animales et végétales.

Alternativement, certains microorganismes sont capables de synthétiser et, excréter des acides aminés libres qui peuvent être purifiés d'un milieu de fermentation et, utilisés comme additifs alimentaires, antioxydants, saveurs et précurseurs de saveur, aussi bien que dans la manufacture de l'**Aspartame** : dipeptide sucré, utilisé dans des aliments à calorie réduite.

3/- Les saveurs et les pigments

Certaines bactéries lactiques, utilisées pour la production de produits laitiers fermentés sont capables de produire de l'acide lactique et, des composés volatils comme le **diacétyl** et l'**acétaldéhyde**. Ces composés sont produits pendant la fermentation comme un résultat de métabolisme microbien et sont responsables de la caractéristique de la saveur et arôme de beurre de certains produits laitiers fermentés.

Le **diacétyl** donne au fromage (cottage) et, au lait écrémé leur arôme de beurre.

L'**acétaldéhyde** est l'important composé chimique volatil de l'arôme du yaourt.

A cause de leur taille, leur diversité métabolique et relativement leur recommandation pour leur croissance : les bactéries, les levures et les moisissures ont été utilisées commercialement pour la production d'une large série de saveurs et d'arômes.

**Tableau des Applications des Enzymes Sélectionnées
dans le Traitement des Aliments**

ENZYMES	MICRO-ORGANISMES	SUBSTRAT	FONCTION
Alpha-Amylase	<i>Bacillus amyloliquifaciens</i>	Amidon	Liquéfaction en dextrine Production de bière et, Pâtisserie
Cellulase	<i>Trichoderma reesci</i>	Cellulose	Clarification de jus
D-Glucose Isomérase	<i>Bacillus</i>	Glucose	Sirop de forte teneur en fructose
Glucose -Oxydase	<i>Coagulans</i>	Glucose	Conservation de flaveur et de couleur dans les œufs et les jus
Lactase	<i>Aspergillus niger</i>	Lactose	Améliore la digestibilité du lait
Lipase	<i>Aspergillus niger</i>	Lipide	Murissement du fromage
Pectinase	<i>Candida cylindracac</i>	Pectine	Clarification du vin et des jus
Protéinase	<i>Aspergillus niger</i> <i>Mucor miehei</i>	Protéine	Attendrissement de la viande : murissement de saucisson, conditionnement de pate ; clarification de la bière
Pullulanase	<i>Aerobacter aerogenes</i>	Amylopectine	Production de bière Améliore la libération de glucose et de maltose

Tableau de Production d'Acides Aminés par la Fermentation Microbienne

ACIDES AMINES	USAGE FONCTIONNEL	MICROORGANISMES
D, L Alanine	• Flaveur	<i>Brevibacterium flavum</i>
L- Arginine	• Supplément alimentaire	<i>Brevibacterium flavum</i>
L. Ac. Glutamique	• Précurseur de flaveur	<i>Brevibacterium flavum</i>
L-Histidine	• Supplément alimentaire	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
L-Isoleucine	• Supplément alimentaire	<i>Brevibacterium flavum</i>
L.Leucine	• Supplément alimentaire	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>
L-Lysine	• Supplément alimentaire	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
L-Methionine	• Supplément alimentaire	<i>Brevibacterium flavum</i>
L-Phénylalanine	• Manufacture d'Aspartame	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>
L-Proline	• Supplément alimentaire	<i>Carynebacterium glutamicum</i>
L-Serine	• Supplément alimentaire	<i>Carynebacterium hydrocarboclastus</i>
L-Threonine	• Supplément alimentaire	<i>Carynebacterium glutamicum</i>
L- Tyrosine	• Supplément alimentaire	<i>Carynebacterium glutamicum</i>
L - Valine	• Supplément alimentaire	<i>Brevibacterium lactofermentum</i>

La synthèse chimique n'est pas possible pour beaucoup de ces composés alors que les cellules microbiennes possèdent des voies métaboliques essentielles relativement complexes pour leur biosynthèse. Les microorganismes sont aussi capables de produire des pigments qui peuvent être utilisés comme des alternatives de colorants chimiques. Cela inclut les polycétides produits par les moisissures *Monascus purpureus* et l'astaxanthine produit par la levure *Phaffia rhodozyma*, puis les caroténoïdes produits par l'algue *Dunaleilla bardarwil*.

4/- Les polymères

Les microorganismes synthétisent un nombre de polymères extracellulaires non protéiques préliminairement des **polysaccharides** : composés de chaînes de sucres simples tels que le glucose ou le fructose. Beaucoup de ces composés trouvent leurs applications dans l'industrie alimentaire comme substances qui donnent une certaine texture aux produits alimentaires. Ils sont aussi utilisés comme des matrices insolubles pour l'immobilisation des enzymes et, la mise en capsule des saveurs.

Un polymère d'intérêt particulier à l'industrie alimentaire est : le **poly- bêta-hydroxy-butyrate** qui est synthétisé à partir simplement de quatre (4) carbones de l'acide gras : bêta – hydroxy- butyrate. Ce composé peut être polymérisé en un film qui est biodégradable et, qui peut être utilisé pour la manufacture de matériaux d'emballage des aliments.

IV /- GENIE GENETIQUE DES MICROORGANISMES DANS L'EVALUATION

Le génie génétique offre une alternative à la mutation classique et, à la sélection pour l'amélioration des cultures de ferments microbiens.

La découverte dans les années 1970 des endonucléases de restriction et des enzymes microbiennes qui hydrolysent l'ADN en des places spécifiques, annonça une nouvelle ère dans la biologie avec une concentration centrale sur la base moléculaire des systèmes vivants. L'ADN, le code universel de la vie, est structurellement identique dans tous les organismes vivants, ce qui fait qu'il peut être transféré parmi les organismes vivants ayant des relations ou non en utilisant des techniques de clonage.

Les éléments essentiels pour un clonage réussi comprennent : un hôte transformable, un vecteur qui est capable de se reproduire dans l'hôte et d'avoir une fréquence élevée de systèmes de transfert de gène pour introduire l'ADN dans les hôtes et, une compréhension de la structure, la fonction, le règlement, l'expression et la comptabilité métabolique de la nouvelle information génétique.

Le génie génétique a le potentiel d'être plus prédictible, contrôlable et, plus précis que l'hybridation et la sélection classique. En plus les améliorations génétiques pouvant se poursuivre à une allure plus rapide et, une capacité de croiser les barrières des espèces ont étendu le pool de gènes disponibles.

Tout le travail primaire en génie génétique commença avec les bactéries Gram négatif telles que *Escherichia coli*. Il y a assez de connaissance sur la génétique et la biochimie de cet organisme : les voies métaboliques sont bien connues et, de nombreuses mutations ont été tracées sur les chromosomes, les sélecteurs sophistiqués ont été construits et, la fréquence élevée des systèmes de transfert de gène sont facilement disponibles.

Malheureusement, pas assez de cette information n'est connue pour les levures, les moisissures et les organismes Gram positif, plus fréquemment utilisés dans les fermentations alimentaires. Les techniques développées pour *E. coli* ne sont pas facilement transférables à ces microorganismes nécessitant ainsi, le développement de systèmes parallèles d'évaluation des aliments.

1/- Amélioration génétique des cultures de ferment

La plupart des travaux en génie génétique sur *E. coli* ont été faits dans le but d'utiliser la souche modifiée comme une usine pour fabriquer des protéines unicellulaires de valeur qui sont purifiées des milieux de fermentation. Les cellules modifiées sont contenues dans des bassins de fermentation et, détruits lors des étapes de traitement et, de purification des produits d'intérêts obtenus. D'autre part, le génie génétique des cultures de ferment est réalisé pour améliorer les propriétés de la fermentation et, les organismes vivants restent comme une partie de l'aliment qui sera consommé par l'homme. Bien que des produits d'un seul gène puissent être de valeur, fréquemment ils transfèrent des voies métaboliques entières et, plusieurs enzymes dans une voie peuvent être nécessaires pour améliorer les paramètres de la fermentation.

Dans beaucoup de cas, la biochimie et la génétique de base ne sont pas comprises.

Le fait que des organismes vivants peuvent être libérés dans l'aliment et consommés par l'homme impose des contraintes qui ne sont pas applicables dans les expérimentations de génie génétique sur *E. coli*.

Des stratégies de génie génétique à ce jour ont impliquées le transfert de l'information génétique d'un organisme comestible à un autre. Les produits de ces gènes sont déjà dans l'aliment et, ont été consommés avec sécurité par l'homme depuis des centaines d'années. L'introduction de gènes qui codent les protéines ou les métabolites non préliminairement consommés dans le régime alimentaire de l'homme mérite d'être évalué pour la digestibilité et/ou les effets négatifs potentiels sur l'homme.

La production d'un aliment fermenté est d'habitude un art qu'une science ; cependant les cultures de ferment ont été utilisées depuis des siècles alors que leurs génétiques et biochimie viennent à peine de commencer à être investiguées.

2/- Enzymes et ingrédients provenant d'OGM

L'utilisation d'organismes génétiquement modifiés pour la production d'enzymes et d'ingrédients alimentaires est analogue au clonage de *E. coli* puisque les produits de la fermentation doivent être purifiés et que, le microorganisme producteur ne doit pas rester dans le produit.

Le recombinant **chymosine** ou **rennin** est une enzyme prototype utilisée pour accélérer la formation du lait caillé lors de la production de fromage. Traditionnellement, le **rennin** est obtenu de l'extrait du suc d'estomac du veau. Dans sa modification, la structure du gène du **rennin** est synthétisée et introduite dans le vecteur *E. coli* codé de résistance antibiotique, le gène obtenu fut produit par fermentation.

L'approbation de cette enzyme en mars 1990, fut une première parce qu'elle établit une décision régulatrice critique et, elle sert de modèle pour d'autres enzymes et ingrédients de dérivés biotechnologiques.

Les stratégies d'amélioration des souches ont mis l'accent sur la mutation traditionnelle et les techniques de sélection pour améliorer les propriétés métaboliques du *Lactobacillus* des produits laitiers. Des récentes recherches mettent l'accent sur la construction de vecteurs de clonage pour l'évaluation des aliments (plasmides multifonctionnelles ou des vecteurs intégratifs isolés uniquement de l'ADN d'organismes améliorés d'aliments) ; le développement de systèmes de transfert de gène à haute fréquence particulièrement : l'électroporation, l'identification ainsi que la caractérisation des propriétés structurales et fonctionnelles de traits souhaités.

Avant leur utilisation dans les aliments, les cultures de ferments génétiquement modifiés doivent être approuvées par une agence des aliments et médicaments.

Le premier (1er) microorganisme génétiquement modifié est : la levure de boulangerie *Saccharomyces cerevisiae* 352 Ng qui fut développé en Grande Bretagne et, qui produit un niveau élevé de dioxyde de carbone (CO₂) dû à la production de deux enzymes impliquées dans l'hydrolyse de l'amidon, il s'agit de la **maltose perméase** et, de la **maltase**.

Cette souche constitue donc le prototype pour le développement et la commercialisation d'autres organismes génétiquement modifiés

V/- GENIE DE PROTEINES ET ENZYMES

1/- Modification chimique des enzymes

L'industrie agro-alimentaire est la seule plus grande industrie des enzymes et, elles comptent plus de 50% des enzymes vendues sur le marché. Les Protéases, les Lipases, les Pectinases, les Cellulases, les Amylases et les Isomérases sont utilisées en grande quantité pour contrôler la texture, l'apparence, la flaveur et la valeur nutritionnelle des aliments transformés.

Cependant, ces enzymes ne fonctionnent pas fréquemment à leur optimum sous les conditions de température et de potentiel d'hydrogène (pH) utilisées dans le traitement des aliments.

Les modifications chimiques des enzymes isolées peuvent avoir un impact sur l'activité enzymatique, la spécificité et la stabilité. Cette modification chimique a donné des dérivés utiles mais, le manque général de spécificité dans les réactifs et la recommandation pour la purification et, la caractérisation difficile et fatigante pour assurer l'homogénéité : limite la qualité de la méthode lorsqu'elle est rigoureusement appliquée.

2/- Mutagenèse de site ordonné

Le génie génétique a été utilisé pour introduire des changements mineurs dans la structure des enzymes qui ont des effets néfastes sur la spécificité, le pH et, la résistance de l'enzyme dans la dégradation protéolytique.

En utilisant les techniques de mutagenèse de site ordonné, les substitutions de base dans la structure primaire de l'ADN peuvent conduire à des substitutions d'acides aminés à des positions ou sites spécifiques dans les molécules de la protéine.

Exemple : Cette technologie a été utilisée pour substituer chaque acide aminé à des positions clef spécifiques dans le site actif de l'enzyme substituée. Les propriétés de l'enzyme peuvent être fortement altérées, soit positivement soit négativement.

ENZYME	MODIFICATION
Subtilisine	Méthionine, Alanine donne une forte stabilité au blanchiment
Glycine	Acide aspartique ou , Acide glutamine

La mutagenèse de site ordonné peut améliorer la versatilité des enzymes dans des systèmes alimentaires et, baisser le coût de production des aliments.

Cette technique peut aussi être utilisée pour modifier d'autres protéines d'intérêt économiques dans l'industrie alimentaire avec, la possibilité d'altérer les propriétés fonctionnelles ou, la valeur nutritionnelle.

Exemples de modification d'enzymes

ENZYME	MODIFICATION
Alpha-amylase	Liquéfaction de l'amidon (tolérante a l'acide et thermostable)
Glucose-isomérase	Production de sirop (thermostabilité améliorée du maïs a forte teneur en fructose)

LES BIOSENSEURS OU LES SONDÉS *(Les technologies des biosenseurs pour la détection des pathogènes)*

I/- DEFINITION

Un **biosenseur** est: un outil d'analyse qui combine des systèmes bio-spécifiques de reconnaissance par des signaux physiques ou électrochimiques. Il concerne une macro-combinaison électronique avec l'information de la technologie et la biologie.

A ce niveau, la **technologie de l'information** contribue a l'offre de **micro-circuits** et, le **traitement des capacités des résultats** alors que la **biologie** offre : les **enzymes** et les **anticorps** comme éléments de sensibilité.

=> **Signal mesurable**

Analyste => Enzymes / Ac

Support

Bioreacteur ==>>>
ou
Biosenseur

La combinaison se fait avec la technologie électrique ou de l'information et, la biologie. La technologie de l'information contribue aux capacités de microcircuits ou aux traitements de l'information. La biologie offre des enzymes ou des anticorps comme des éléments sensibles aux réactions.

L'objectif des bio senseurs est de produire des signaux électriques digitaux discrets ou continus qui sont proportionnels à un seul analyte ou, un groupement lié à cet analyte

II /- PRINCIPE DES BIOSENSEURS

Les composants d'un biosenseur sont :

- L'interaction bio spécifique
- Le signal
- La plate forme (transformateur) dotée de senseurs électrochimiques, électriques, piézoélectriques ou, optiques

Les actions spécifiques de certaines molécules biologiques sont potentiellement exploitables pour le développement de bio-senseurs qui peuvent mesurer la concentration de composés spécifiques dans un mélange complexe.

Les enzymes, les anticorps ou les cellules microbiennes peuvent être immobilisées sur une surface solide et, les réactions spécifiques pour lesquelles ils servent de médiateurs, peuvent être détectées électro-chimiquement, thermo-métriquement, mécaniquement ou photo-métriquement.

Les techniques de stabilisation des enzymes, des anticorps et des cellules, au niveau de leur interface, sont essentielles pour maintenir leur activité biologique. Des membranes sont utilisées pour séparer les éléments senseurs et, les protéger contre l'environnement externe. Le développement des membranes préfabriquées, capables de séparer les solutés et basées sur la taille moléculaire, la charge ou la solubilité, a contribué fortement à la construction de bio-senseurs. Les nouvelles découvertes, dans l'industrie des semi-conducteurs ont rendu possible la combinaison de composés chimiques et des circuits intégrés dans un seul système miniaturisé.

Les biosenseurs peuvent avoir une large application dans l'industrie alimentaire pour le contrôle continu des procédés de fermentation ou des concentrations de nutriments lors d'une transformation d'aliments. Evidemment, il est possible d'insérer les biosenseurs directement dans la chaîne de production des aliments pour obtenir sur la ligne, des mesures de paramètres importants dans la production des aliments.

Les biosenseurs peuvent même être incorporés dans les emballages d'aliments pour contrôler l'abus de température, la contamination microbienne ou, la perte de la période de péremption et, pour donner un indicateur visuel de l'état du produit au moment de l'achat par le consommateur.

La culture d'échantillons est toujours nécessaire parce qu'il n'y a pas de sondes disponibles pour tous les pathogènes. En plus, les sondes détectent les microorganismes vivants et morts. Ainsi, un agent infectieux peut être indiqué même s'il n'y a pas de cellules vivantes présentes. Les sondes ne détectent pas les toxines produites alors, lorsque les cellules productrices de toxine ne sont plus présentes, une méthode de détection de la toxine doit être utilisée.

III/- SECURITE ALIMENTAIRE

Les populations les plus facilement affectées par les pathogènes sont les enfants, les jeunes, les femmes enceintes, les personnes âgées chroniquement malades et des individus compromis sur le plan immunitaire.

Les industries laitières et carnées ont été identifiées comme source de microorganismes pathogéniques comme *Listeria monocytogenes* qui est capable de causer un avortement spontané chez les femmes enceintes et causer aussi la méningite chez les enfants, les personnes âgées et les personnes compromises sur le plan immunitaire.

La détection des pathogènes naturels dans les aliments est compliquée parce que, les aliments peuvent être contaminés avec un faible taux d'organisme pathogène entre une flore microbienne non pathogène complexe et variable, présente dans le même aliment.

En plus, les aliments varient largement dans leur composition chimique et physique et, le temps est un facteur important pendant l'analyse des aliments fortement périssables, avant la livraison sur le marché. Il y a donc un besoin pour le développement de tests rapides qui peuvent être accomplis dans un temps court et utilisés pour évaluer la qualité des matières premières et des ingrédients avant et pendant la transformation.

Des méthodes rapides, sensibles et fortement spécifiques, basées sur les sondes d'ADN et des anticorps mono clonés sont parmi les premières applications de la biotechnologie dans l'industrie alimentaire et, elles deviendront des outils progressivement importants pour assurer la sécurité de l'approvisionnement alimentaire.

1/- Systèmes de détection basés sur les sondes d'ADN pour les aliments

La sensibilité est une des préoccupations importantes chez les microbiologistes des aliments parce que la présence d'un seul microorganisme peut être significative dans certaines situations. Les systèmes d'essais basés sur des sondes d'ADN sont capables de détecter dans la marge de 100 à 100.000 microorganismes dans un échantillon d'aliment alors que, l'enrichissement d'organismes à des niveaux détectables est fréquemment nécessaires. Les systèmes de sonde ne donnent pas certaines informations comme dans le cas des méthodes de cultures telles que : l'identification de souche ou, le biotype ou, le serotype.

2/- Systèmes de détection basés sur les anticorps monoclonés, polyclonés

Lorsqu'un animal est exposé à des antigènes étrangers, le corps construit une réponse immunitaire et stimule certaines cellules à produire des anticorps spécifiques contre ces antigènes.

Les essais immunitaires, utilisant soit des anticorps monoclonés soit, polyclonés ont été développés pour un certain nombre de molécules d'intérêts dans l'industrie alimentaire. L'un des premiers avantages des systèmes basés sur les essais immunitaires est qu'ils sont capables de détecter tant les antigènes protéiniques que, non-protéiniques.

En plus de la détection des organismes de pourrissement et, des pathogènes naturels des aliments ; les essais immunitaires peuvent être utilisés pour détecter les toxines microbiennes, les aflatoxines, les virus, les produits chimiques agricoles (pesticides, herbicides, fongicides et engrais) et aussi les métaux lourds, les résidus antibiotiques, les hormones, les résidus de médicaments d'animaux et les enzymes rendant, dans beaucoup de cas, ces systèmes d'essais beaucoup plus souples que les sondes d'ADN.

Dans le futur, il sera possible d'obtenir des anticorps pour des composés très toxiques qui normalement, tuent l'animal avant qu'une réponse immunitaire ne puisse être formée. Beaucoup de systèmes ont été développés mais le plus populaire est la méthode **ELISA** (Enzyme Linked Immuno-Sorbant Assay)

IV/- GESTION DES RESIDUS

Les stratégies futures de la production alimentaire doivent se pencher sur la gestion et la conservation des résidus. Les soucis environnementaux et les issus économiques nécessitent un meilleur usage des matières premières et, une réduction future des résidus issus de la transformation des aliments.

Des méthodes innovatrices méritent d'être développées pour une utilisation efficace du matériel cellulosique tel que les épiluchures, les feuilles, les tiges, les sons, les épis et les pépins provenant de la transformation des fruits, des légumes, des tubercules et des racines. Il y a aussi la matière grasse, le sang, le collagène et les os provenant de la transformation de la viande. A ce jour, les résolutions à ces problèmes impliquent des traitements physiques et chimiques. Avec la biotechnologie, des approches biologiques utilisent des microorganismes ou des systèmes d'enzymes obtenues des cellules.

1/- Fermentation de cellule entière

Les résidus de transformation des aliments sont fréquemment riches en glucides, lipides et/ou protéines qui servent comme bonne source de nutriments pour une fermentation microbienne. Il ya un intérêt dans l'application de la biotechnologie pour l'utilisation non alimentaire ces matières dans la production de gaz (biogaz) et d'hydrocarbures, de matériels biologiques tels que les fibres, les polymères, les plastiques et les céramiques. Mais aussi, des composés de spécialité tels que les surfactants, graisses et huiles, les flocculants et les protéines.

Le poly-hydroxy-butyrates est un composé produit par certains microorganismes et, qui peut être extrait et polymérisé en un film biodégradable.

Dans le futur, les résidus de transformation des aliments seront utilisés pour la production de vaccins, de médicaments thérapeutiques et, d'autres produits pharmaceutiques de valeur.

2/- Systèmes d'enzymes libérés des cellules

Ces systèmes offrent des procédés efficaces, contrôlés et sélectifs pour la gestion des résidus dans l'industrie alimentaire.

Exemples

ENZYME	Utilisation	Produits obtenus
Amylase	utilisée sur les résidus amidonnés	Sirop de glucose
Protéase	utilisée sur les résidus de poisson	Aliment de bétail
Lactase	utilisée sur les résidus de lait	Glucose + Galactose

LA SEPARATION DES MICROORGANISMES

I/- SEPARATION PRIMAIRE

Elle est définie comme l'usage de procédures hautement sélectives pour permettre la détection et l'isolement des microorganismes seulement d'importance, parmi une large population microbienne. Pour être efficace, la séparation doit, dans une ou deux étapes permettre l'élimination de beaucoup de microorganismes sans valeur. Le concept de séparation sera utilisée en citant des exemples spécifiques de procédures qui sont ou, qui ont été communément employées dans des programmes de recherches.

Exemple d'une procédure de séparation

1/- Faire des dilutions d'échantillons tel qu'après ensemencement sur les boîtes de Pétri, les colonies poussées ne se touchent pas

2/- Incorporer des indicateurs de potentiel d'hydrogène (pH) dans le milieu

Détecter des microorganismes produisant des acides organiques ou des amines (le changement de couleur indiquant la viabilité de la colonie à une couleur représentant une réaction acide ou basique)

On utilise aussi, le carbonate de calcium (CaCO_3) dans le milieu tel que, la production d'acide organique soit indiquée par une zone claire de CaCO_3 dissous autour de la colonie. Cette méthode n'est pas définitive car, d'autres composées inorganiques peuvent créer des zones semblables. A cause de cela, d'autres procédures comme : la chromatographie sur papier est utilisée pour déterminer si le produit obtenu est acide ou basique.

3/- Une fois le microorganisme de valeur est détecté, il doit être sain et remis sur un milieu d'agar particulier, de sorte à être mis en **culture stock** pour son utilisation future.

La contamination n'est pas souhaitée.

4/- Pour les antibiotiques, la procédure de séparation est la procédure d'ensemble. Cette technique est utilisée lorsque nous sommes intéressés, à trouver des microorganismes qui produisent de l'antibiotique. Cela en utilisant les types de microorganismes qui peuvent être sensibles à l'antibiotique intéressé. Le compte microbien est de l'ordre de 300 à 400 et plus de colonies par boîte de Pétri

Les colonies produisant des activités antibiotiques sont indiquées par une zone du milieu autour de la colonie qui est libre de la croissance des autres colonies. Cette technique a été améliorée par l'incorporation dans la procédure, d'organismes tests qui sont utilisés comme indicateur de présence d'une activité spécifique d'antibiotique.

Exemple ;

A partir d'une plaque ensemencée de colonies du sol et sur les quelles on verse une suspension de *Escherichia coli*. Une incubation additionnelle de zone de colonie inhibant la croissance d'*E. coli* indique un microorganisme produisant de l'antibiotique.

Des procédures similaires peuvent être trouvées pour isoler des microorganismes capables de synthétiser des vitamines, des acides aminés et, autres composés extracellulaires.

Dans le cas où nous voulons isoler des microorganismes capables d'utiliser spécifiquement : du carbone ou de l'azote comme nutriments pour une croissance ou, une biosynthèse ; la culture est de telle sorte qu'elle ne contienne particulièrement que du carbone ou, de l'azote comme source de nutriment.

II/- SEPARATION SECONDAIRE

La séparation primaire permet la détection et, l'isolement de microorganismes qui possèdent de ponctuelles applications industrielles intéressantes. La séparation secondaire permet des **tests additionnels pour vérifier les capacités recherchées chez les organismes**. Cela est fait sur des boîtes de Pétri, dans les erlenmeyers ou, les petits fermenteurs contenant un milieu liquide ou, une combinaison de ces approches.

Mais quels sont les avantages et les inconvénients de ces deux séparations ?

* Avantages avec l'utilisation de l'agar dans les boîtes de Pétri :

- plus d'information peut être obtenus
- cela prend moins de place
- et l'on réalise moins de manipulation que dans les milieux liquides

* Inconvénients : moins d'information avec les milieux solides (agar) sur les capacités du produit potentiel obtenu que dans les milieux liquides.

Pour ce fait, le milieu liquide est souhaité parce qu'il donne plus d'informations sur les réponses nutritionnelles, physiques et de productions d'un microorganisme pendant les conditions d'expérimentation d'une fermentation. En effet, cette séparation secondaire doit nous dire, si les microorganismes produisent de nouveaux composés chimiques non encore décrits. Dans le cas d'un nouveau produit, il faut le comparer avec des produits existants déjà sur le marché.

La séparation secondaire doit donner des informations sur les exigences du microorganisme, en ce qui concerne : le potentiel d'hydrogène (pH), l'aération, les nutriments et autres facteurs associés à un germe particulier.

Cette séparation doit être en mesure de détecter en gros et, indiquer l'instabilité génétique du microorganisme dans le milieu. Cette étape doit répondre à beaucoup de questions concernant : la toxicité de certains nutriments manquant dans le milieu pour la croissance des germes, ou les capacités d'accumuler les produits de fermentation.

Elle doit aussi :

- indiquer la stabilité du produit et, la solubilité du produit dans les solvants organiques.
- puis donner toute autre spécification sur les propriétés physiques, chimiques des produits.

LES CULTURES – STOCKS

Les microorganismes qui sont utilisés dans les fermentations nouvelles ou, qui produisent de hauts rendements pour les fermentations existantes sont de valeur seulement s'ils peuvent être conservés pour une utilisation future de telle sorte que, leurs capacités de croissance et de production restent non altérées. Ainsi, les cultures stocks jouent un rôle très important dans la recherche et la production de fermentation industrielle.

Il existe deux (2) types de cultures stocks : les stocks de travail et, les stocks primaires

I/- LES CULTURES STOCKS DE TRAVAIL

Les cultures stocks de travail sont utilisées régulièrement et, doivent être maintenues vigoureuses et non contaminées :

- Sous réfrigération
- Sur agar en pente ou, en boîte de Pétri
- Sous préparation de spore
- En milieu de culture

Elles doivent être vérifiées constamment pour des changements possibles dont : les caractéristiques de croissance, la nutrition, la capacité de production et, la concentration.

II /- LES CLUTURES STOCKS PRIMAIRES

Elles sont mises en réserve pour des pratiques ponctuelles et/ou pour des fermentations nouvelles, pour des propos de comparaison, des essais biologiques ou des programmes de séparation et d'isolement futurs.

Ces cultures ne sont pas maintenues dans un état de haute activité physiologique et, sont utilisées rarement. Le transfert de ces cultures est fait seulement quand : une culture stock de travail est nécessaire ou, quand la culture stock primaire doit être remise en culture pour éviter la mort des cellules.

Alors, la culture stock primaire doit être conservée, de telle sorte qu'il y ait le moins possible de fois de transfert pendant une longue période de temps.

La mort d'un grand nombre de cellules dans une culture stock primaire n'est pas dangereuse si, celles qui sont vivantes peuvent se multiplier sur un milieu fraîchement préparé.

Pour les conserver à la température ordinaire, il faut les maintenir dans du sol stérile ou, dans de l'agar ou, un milieu avec une couche stérile d'huile minérale. Ces derniers peuvent aussi se conserver au réfrigérateur, cela est moins souhaité.

Les cultures dans du lait ou de l'agar sont maintenues congelées à basse température : lyophilisées conservées à basse température

Souvent, plus d'une de ces procédures sont utilisées pour éviter les pertes de culture et, les changements dans les cellules.