

REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE

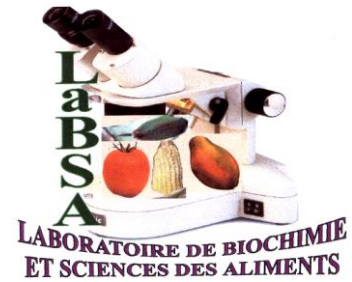
Union – Discipline - Travail

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

(2eme Partie)

Responsable Scientifique :

Dr KOUAME Désiré, Maitre- Assistant

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

TABLE DES MATIERES

Titre des Chapitres

A/ - Première Partie :

Notions et Raisons de la Biotechnologie Alimentaire

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

ANNEXES

LA FERMENTATION:
UN PROCESSUS BIOTECHNOLOGIQUE

I /- LE PRINCIPE

Les mécanismes biologiques d'extraction d'énergie à partir des matières organiques dans un environnement anaérobie ou vie sans oxygène sont appelés FERMENTATION.

La définition est de Louis PASTEUR. Cette définition biochimique partait du fait que la plupart des procédés microbiologiques étudiés à l'époque de ce grand chercheur tels, la fabrication du vin étaient en anaérobie.

De nos jours, le mot FERMENTATION recouvre au sens large, tous les procédés des microorganismes tant en anaérobie qu'en aérobie ; c'est-à-dire avec ou sans oxygène.

La présente vise à vulgariser le procédé de Fermentation, les produits qui en résultent et, leurs champs d'application.

Le procédé de la Fermentation pourrait se résumer suivant le schéma ci-après.

<u>ENTREES</u>	<u>BIOREACTEUR</u>			<u>SORTIES</u>
Conditions Chimiques (milieu de culture)		Corps Cellulaires	P r o d u i t s ou Sous P r o d u i t s	<u>Produits Primaires</u> -Acides aminés -Acides organiques -Solvants -Vitamines -Nucléotides puriques et pyrimidiques
Conditions physiques	Réacteur biologique			<u>Produits Secondaires</u> -Antibiotiques -Toxines -Polysaccharides extracellulaires -Hormones de croissance ...
Inoculum (Microorganisme)		Métabolites		

1/- Les conditions chimiques englobent : la source de carbone (sucres, déchets agro-alimentaires, résidus industriels, ect...). Les ingrédients (source d'azote, de phosphate et autres éléments en trace) et les facteurs de croissance.

2/-Les conditions physiques sont : la température, l'agitation, l'aération, la pression, le pH, la configuration géométrique...

3/-Les microorganismes sont : des êtres microscopiques, innombrables et peuplant notre environnement. Ce vaste monde microbien ou Protiste est divisé en deux groupes :

-les **Procaryotes** qui sont des êtres primitifs avec les bactéries et les algues bleues
-et les **Eucaryotes** qui sont des êtres plus évolués avec des champignons, des protozoaires et autres algues.

En fonction des conditions physico-chimiques établies et, des microbesensemencés dans le milieu de culture du bioréacteur, ces microorganismes vont consommer toutes les matières organiques. Il en résultera leur multiplication et, la synthèse de produits.

Les microbes constituent donc des agents dynamiques et, nécessitent une attention particulière. Au cours des Fermentations, ces microbes vont nous débarrasser de nos déchets et de leurs propres déchets qui peuvent nous être bénéfiques.

On notera que ces microorganismes laissés à eux même savent économiser leur énergie.

La bonne maîtrise et une programmation adéquate par la génétique des microorganismes devraient permettre à l'homme de disposer d'une main d'œuvre productrice de nombreuses substances telles que mentionnées dans le schéma.

II/- LES CHAMPS D'APPLICATION DES PRODUITS DE LA FERMENTATION

Les produits de la fermentation ont des champs d'application divers, en effet l'on s'en sert dans les industries alimentaires avec des applications médicales et pharmaceutiques, dans les industries du plastique, les industries minières et, dans les applications agricoles.

1/- Dans les industries alimentaires :

- * Les acides organiques servent dans la fabrication des yoghourts et des fromages
- * Les polysaccharides sont utilisés comme épaississeur ou stabilisateur des aliments
- *Les corps cellulaires peuvent être le produit final de la Fermentation et, constituer une source de protéines pour la nutrition animale. A titre d'exemple, on notera que les protéines de la bactérie *Methylophilus methylotrophus* sont manufacturées et, commercialisées sous le nom de **PRUTEEN** par la Société Britannique Imperial Chemical pour nourrir les animaux.

2/-Dans les applications médicales et pharmaceutiques :

- *Les antibiotiques qui sont utilisés dans le traitement des infections bactériennes
- *Les polysaccharides utilisés dans les transfusions sanguines, dans les diètes à faible calorie et, pour la fabrication des capsules des médicaments.

3/-Dans les industries du plastique :

- *Les polysaccharides microbiens peuvent donner des produits plastiques biodégradables dont les propriétés concurrencent celles du plastique à base de pétrole (pellicules, articles d'emballage pour les aliments, membranes, ect...). Les polysaccharides peuvent également aider à la récupération du pétrole dans certains puits forés.

4/-Dans les industries minières : l'or, le nickel, le cuivre, l'uranium... peuvent être récupérés par l'utilisation des microbes. Ce procédé appelé : **la biolixiviation** est déjà pratiqué aux Etats Unis et, au Mexique pour des minerais à faible teneur.

5/-Dans les applications agricoles : les engrais biologiques a base d'organismes fixateurs d'azote atmosphérique tel le : ***Rhizobium***, servent a l'enrichissement des sols.

Présentement, les connaissances de nouveaux produits de fabrication microbienne viennent élargir les domaines d'application existants et, en créer d'autres. Le potentiel extraordinaire que recèlent ces êtres a la dimension du micron n'a pas fini de nous étonner.

A tous les pays sans discrimination s'offre la Fermentation, la flore microbienne couvre en effet toute notre planète et, cela indépendamment du contexte socio-économique. La matière première est abondante, disponible dans les pays a vocation agro-alimentaire comme la Cote d'Ivoire. Les peaux de nos bananes plantains mures, les restes de nos oranges et mandarines et autres ...constituent des sources de carbone fermentescibles en éthanol combustible.

Et puis, ce monde microbien représente une masse ouvrière énorme quasi-infatigables, non syndiquée et, ignorant les grèves. Une condition cependant : bien le connaître et, en tirer les substances désirées souvent a haute valeur marchande...

Quoique nous fassions, les Microbes auront le dernier mot...

BASES ET DEVELOPPEMENT DES PROCÉDES DE FERMENTATION INDUSTRIELLE

Les Fermentations industrielles sont des chiffres d'affaires qui méritent des attentions car, la compétition est forte. Plus d'un industriel peuvent s'intéresser à la même fermentation et même utiliser le même microorganisme. Aussi, le produit de fermentation peut être en compétition sur le marché avec un produit similaire obtenu par une voie non-microbienne. Que devons nous donc faire pour être compétitif ?

Nous devons procéder à une fermentation industrielle qui doit donner des rendements élevés de produits à moindre coût et, une collecte de produit efficace sans trop de frais additionnels.

Mais comment est-ce que ces fermentations économiquement compétitives sont-elles arrivées à ces états actuels d'excellence ?

Ces fermentations n'ont pas apparues soudainement dans la forme présente, quelqu'un a découvert la possibilité d'une fermentation et, a développé une voie pour la rendre économiquement faisable sur une production à grande échelle. Ainsi, la recherche a été fondamentale pour découvrir d'abord les principes de la fermentation, pour adapter la fermentation aux différents types existants d'équipement de fermentation et, pour accroître le rendement des produits de fermentation.

Des études sont aussi obligatoires, pour trouver des moyens de recouvrement des produits de culture dans un état tel qu'ils puissent être vendus sur le marché.

Pendant que la production industrielle continue sur une période de temps, il est nécessaire de maintenir l'avantage compétitif du procédé par de futures recherches destinées à accroître les rendements et/ou à améliorer les procédures de recouvrement des produits.

Alors, que devons faire ?

La réponse est qu'un programme de recherche continue s'avère donc obligatoire pour :

- 1/- le développement de nouveau procédé de fermentation
- 2/- la production continue de produits qui utilisent les procédés existants

Quelles sont alors les approches de recherche et, de développement qui sont utilisées pour trouver un microorganisme d'une valeur économique et, aussi pour le développement de son potentiel dans le procédé de fermentation qui pourra être transposé à une production à grande échelle ?

L'approche la plus fructueuse dans la trouvaille d'un tel microorganisme, est d'utiliser des techniques qui permettent d'obtenir et, de tester un large nombre de microorganismes sans requérir à des études extensives sur chaque organisme individuellement.

Une telle technique est disponible et, est connue comme un **criblage ou screening**.

La technique de criblage est utilisée sous différentes formes, dépendant du type de germe désiré, du produit particulier d'intérêt et, la source par laquelle le microbe a été obtenu. Pour rendre effectif l'approche de criblage ou d'isolement, nous devons tout d'abord avoir accès à la source naturelle microbienne qui contient différents types de microorganismes car, la plupart des microorganismes sont ou, ne sont pas connus posséder des habilités de biosynthèse pour lesquelles nous sommes intéressés.

La meilleure source par laquelle nous pouvons obtenir une large espèce de microorganismes est : **le sol**. Une autre source qui n'a pas encore été largement explorée est : **l'eau de mer** et, la **boue marine**. D'autres sources sont : les composts, les résidus des ruminants, les déchets domestiques, les bouses d'animaux, les aliments pourris.

Pourquoi le sol est-il la source idéale par laquelle différents types de microorganismes sont obtenus ?

La réponse est évidente si nous considérons le fait que beaucoup de débris du monde, trouvent leur voie de dégradation sur ou, dans le sol et là, ils sont décomposés par un ou plusieurs microorganismes. Ainsi nous devons considérer le sol comme : un **grand vase de fermentation naturelle** par lequel les microorganismes sont impliqués pour la décomposition et la ré-synthèse des matières inorganiques. D'habitude, plus d'un type et souvent plusieurs types de microorganismes du sol sont capables de procéder aux individuelles transformations biochimiques et chimiques.

Bien qu'il soit connu qu'il y a différents types de microorganismes qui proviennent du sol, il n'est pas si évident de savoir la proportion de ces organismes qui ont été isolés à présent en culture pure au laboratoire. De nombreux scientifiques ont estimé que les procédures de comptage et d'isolement du nombre total et, du type de microorganismes ; bien qu'utilisant les meilleurs milieux et conditions d'incubation, ne permettent de faire pousser en laboratoire moins que **1%** des microorganismes du sol. Ainsi, nous pouvons constater qu'il y a **99%** ou, un peu plus de microorganismes non cultivés en laboratoire.

De ce fait, il est évident que celui qui est intéressé à isoler des microorganismes avec de nouvelles habilités de biosynthèse, a beaucoup de germes non encore définis à sa disposition avant, les applications des procédures de criblage et d'isolement.

Ainsi, les quantités des nutriments disponibles dans le sol sont d'habitude faibles et, la compétition pour ces nutriments d'importance. Alors, si un nutriment particulier est ajouté au sol mouillé et, que ce sol est incubé : une croissance plus nombreuse de microorganisme apparaît capable d'utiliser ce nutriment, simplifiant ainsi l'isolement de ces organismes particuliers. De ce fait, nous pouvons enrichir le sol pour isoler des microorganismes d'intérêt particulier. Un enrichissement naturel apparaît dans le sol, dans la zone des racines des plantes et, les microorganismes dans cette zone peuvent être différents de ceux adjacents au sol non pénétré par les racines. C'est ce que l'on appelle : **l'effet rhizosphère**.

C'est effet rhizosphère est causé par la sécrétion des racines et aussi, par des racines mortes et moisies qui servent de nutriments aux microbes.

Le choix d'approche pour isoler les microbes des sols dépend donc de plusieurs facteurs.

PREPARATION DE L'INOCULUM

I/- MILIEU INOCULUM

Les milieux d'inoculum sont formulés pour donner un rendement élevé de nombre de cellules microbiennes dans leurs propres états physiologiques et morphologiques, sans modifier la stabilité génétique des cellules.

Ils sont souvent moins nutritifs que le milieu de production et, différent en composition du milieu de production.

II /- PREPARATION

L'inoculum est préparé graduellement en employant des volumes croissants de culture.

Toutes les étapes exigent le transfert d'environ **0,5 % à 5%** en volume du milieu total de production.

Il est formulé pour une croissance rapide au lieu d'une production de composés. Le niveau d'inoculum introduit dans le bac de production est de **0,5 a 5%** volume / volume mais, cela peut atteindre **20 %** ou plus quelque fois.

Des mutants surviennent mais, il n'est pas conseillé de les avoir pour le milieu de production

III/- DIFFICULTES

-Lorsque le microorganisme de production est un mutant lui-même, l'on assiste à des difficultés de contamination qui sont à contrôler. Le contrôle rigoureux doit donc être maintenu pour limiter le nombre possible de mutant dans le milieu.

-Le transfert de microorganismes des cultures stock au milieu liquide et, l'initiation de la croissance dans le milieu liquide présentent des problèmes spécifiques.

-Les cellules sont inoculées dans un milieu stérile avant le transfert dans le milieu de fermentation.

-D'autres microorganismes exigent un chauffage avant la reproduction

-Pour certains organismes, des spores ne sont pas mouillés par l'eau et, ils ont tendance à former un film à la surface du milieu ou, flottent à la surface. Ce problème est corrigé par l'addition d'agents diluants non toxiques tel que : le lauryl sulfate de sodium

-Les contaminations sont des risques à éviter. L'inoculation pour les fermentations anaérobies doit être testée pour la contamination.

Une culture sous inoculation anaérobique et ensuite arabique permet de détecter les microorganismes facultatifs.

LES MILIEUX DE FERMENTATION

I/- COMPOSITION DES MILIEUX

La composition des milieux est aussi importante que l'isolement d'un microorganisme. Les milieux fournissent les **nutriments** pour la croissance, l'énergie, la constitution des cellules et la biosynthèse des produits de fermentation, en particulier les sources de carbone (C) et d'azote (N).

En addition : des sels inorganiques, de l'eau, des vitamines, et autres facteurs de croissance, précurseurs de produits de fermentation, tous considérés comme nutriments.

En plus, des inhibiteurs de croissance et de biosynthèse.

Un choix de milieu pauvre en nutriment peut:

- conduire à une croissance et production limitée
- altérer aussi le type et, le taux de produits parmi lesquels un microorganisme particulier a la capacité de biosynthèse.

La composition particulière d'un milieu de culture peut être simple ou complexe dépendant, du microorganisme particulier utilisé et, le type de fermentation.

II /- TYPES DE MILIEUX

1/- Les milieux synthétiques

C'est un milieu dans lequel, tous les constituants sont des composés bien connus et définis. Chaque constituant est relativement un produit et, la quantité exacte incorporée est connue

1. a/-Avantages

- La concentration et, la structure sont connus alors, on peut déterminer leur effet sur la croissance du microorganisme ou, sur la production
- Un composé limitant est facilement ajouté ou, éliminé
- Un anti-mousse n'est pas nécessaire parce qu'il n'y a pas de protéines ou de molécules à poids moléculaire élevé
- Une collecte et, une purification des produits de fermentation est simple.

1.b/-Inconvénients

- Les produits de composition du milieu sont chers

2/- Les milieux bruts

C'est un milieu qui donne plus de rendement de produits que le milieu synthétique. Il est estimé que les sources de carbone (C) et d'azote (N) brut dans ce milieu, sont dans une forme que le microorganisme peut utiliser.

Ce milieu contient des sources de nutriments bruts et, mal définis qui doivent satisfaire les recommandations suivantes, c'est-à-dire :

- Une capacité de tampon
- Une présence d'anti-mousse
- Un contrôle des potentiels d'oxydoréductions
- Une inhibition ou, une baisse de croissance des microorganismes contaminants
- Un potentiel de neutralisation acide ou basique des produits
- Une contribution ou, un maintien de la stabilité génétique du microorganisme
- Une potentialité de collecte de produits de fermentation sans difficulté
- Une résistance a la stérilisation sans interaction adverse des constituants nutritifs
- Une facilité de croissance du microorganisme dans son état morphologique propre
- La possibilité d'approvisionnement de précurseurs d'inhibiteurs spécifiques et, de substrats alternatifs.
- Une fermentation qui ne soit pas chère.

L'eau comprend 70 % à 80 % du milieu. Elle est la source de minéraux nécessaires à la fermentation. Les nutriments inorganiques présentent moins de problèmes dans les milieux naturels bruts. La raison est que les anions et cations communs, se trouvent en quantité suffisante dans les substrats.

QUELQUES MILIEUX DE FERMENTATION INDUSTRIELLE

I/ - LA MELASSE

-Les Mélasses de Betterave et de Canne contiennent : **52,19% de sucres totaux** dont, 30% de saccharose et 21,19% des autres sucres

-La Mélasse hydrolysée contient : 70 à 75% de sucres dont le D-Glucose et le D-Fructose

-La Mélasse de Betterave est limitée en biotine qui est nécessaire à la croissance des Levures
Elle est contient :

- Des acides organiques dont, l'acide aconitique, malique, citrique, lactique, formique, acétique, propionique...
- Des acides aminés : acide aspartique et glutamique
- Des vitamines : le myo-inositol, l'acide pantothénique, la riboflavine.
- Des sels à un haut niveau

II/- EXTRAIT DE MAIS

Le jus de trempage de maïs est obtenu pendant la production d'amidon ou, de gluten de maïs avec 50% de solide en concentration. La moitié de cela est l'acide lactique. Le reste contient des acides aminés, des sels, des vitamines et, des précurseurs.

III/- RESIDU LIQUIDE SULFITE

Il est composé du résidu liquide de l'industrie de papier et, obtenu après l'hydrolyse du bois en cellulose avec du bisulfite de calcium sous chaleur et, pression.

Il contient : 10 à 12% de solides dont 20,10% sont des sucres pour la production d'alcool.

Ces sucres sont : le maltose, le D-glucose, le D-galactose, le D-mannose et, comme pentoses : le D-Xylose et le L-arabinose.

IV/- FACTEURS DE CROISSANCE DANS LES MILIEUX BRUTS

1/- Les Précurseurs

Ce sont des substances qui sont ajoutées dans la fermentation sans causer, un changement dans la molécule du produit de fermentation. Ils servent généralement à accroître le rendement et, améliorer la qualité du produit. Ils sont indicateurs du produit à obtenir. Les milieux de fermentation contiennent des tampons pour retarder les changements en potentiel d'hydrogène (pH) pendant la fermentation. Ils peuvent être ajoutés pour leur capacité tampon ou, être des constituants naturels.

Exemples : * Carbonate de calcium (CaCO₃) * Phosphate de sodium (NaPO₄)

*Mono ou Dihydroxy-Phosphate de potassium.

2/- Les Anti-mousses

Ce sont des sources nutritives potentielles d'alcool et d'acides gras pour les milieux de fermentation

3/- Le Potentiel d'oxydoréduction

Certains composés de la fermentation maintiennent la fermentation dans une marge de potentiel d'oxydoréduction. Ces composés posent très peu de problèmes dans les fermentations anaérobiques mais, il faut faire attention dans les fermentations aérobiques.

4/- Niveau limitant des nutriments

Des milieux à croissance rapide et à rendement élevé de cellules, ne sont pas toujours ceux qui donnent les meilleurs produits de fermentation. En effet les milieux qui donnent peu de croissance fournissent, un rendement élevé.

5/- Stérilisation des milieux et contamination

Pour les fermentations industrielles, les milieux sont d'habitude stérilisés :

- par chauffage jusqu'à ébullition
- par vapeur sous pression (autoclave)
- par passage à travers une chambre contenant des jets de vapeurs

Les milieux synthétiques sont stérilisés pour un moindre temps que les milieux bruts.

Une plus longue période de stérilisation pour les milieux bruts est nécessaire parce que :

- la viscosité ralentit la pénétration de la chaleur
- la résistance de microorganismes
- un minimum de temps nécessaire sans cuire le milieu doit être déterminé
- la quantité et la durée de l'application de la chaleur sont des facteurs critiques pour le milieu brut. En effet beaucoup de composés du milieu se dégradent ou, causent des changements chimiques sous l'effet de la chaleur a pH faible ou élevé.
- les composés volatils s'évaporent pendant la stérilisation

Donc chaque milieu doit être évalué pour déterminer les exigences particulières pour une stérilisation.

PARAMETRES AFFECTANTS
LA CULTURE DE FERMENTATION

I/- L'EAU (H₂O)

L'eau est une des sources de vie de tous les organismes vivants sur terre. Alors, le volume d'eau à utiliser pour un substrat pour rendre les constituants disponibles aux microorganismes est un facteur important pour une fermentation. Cela est exprimé en pourcentage

II/- LA COMPOSITION DE MILIEU

Elle est influencée par les matières premières utilisées et, la méthode de brassage. Il est difficile d'ajuster les profils des différents constituants du milieu pour une meilleure fermentation

III/- LA TEMPERATURE

Une augmentation de la température entraîne, une vitesse rapide de fermentation

IV/- LE POTENTIEL D'HYDROGENE (pH)

Il contrôle la croissance ou, la production d'un composé et aussi la croissance des contaminants

V/- LA PRESSION

Elle permet en général, de compenser les effets néfastes, une augmentation exagérée de la température. Elle réduit la vitesse de fermentation.

VI/- LE TEMPS

Le temps d'incubation dépend de la souche utilisée et, des constituants du milieu

VII/- LA QUANTITE DE MICROORGANISMES AJOUTES

Le nombre de microorganismes pour initier la fermentation est très important. Peu de microorganismes de l'inoculum donne, une fermentation lente conduisant à une perte de temps. Soit donc qu'il faut une certaine concentration de microorganismes pour initier une bonne fermentation. Accroître cette concentration augmente la vitesse de fermentation et donc, une vitesse de formation du produit.

Toutefois un ensemencement trop élevé a tendance à développer un effet favorable de la fermentation alors qu'un ensemencement trop faible risque de favoriser le développement de microbes contaminants ou, d'entraîner la présence de fausse odeur ou de faux goût amer.

VIII/- L'AERATION

La quantité optimale d'oxygène (O₂) à ajouter au milieu pour avoir, une bonne fermentation varie selon la souche microbienne. Souvent **4-8 ppm** et, ceci varie selon l'état physiologique du microorganisme utilisé. L'oxygène (O₂) influence la croissance et, la viabilité des souches et, intervient également sur la teneur des différents constituants volatils.

Une forte aération a tendance à diminuer la quantité de certains produits et, croître la quantité d'autres. La vitesse à laquelle un microorganisme se multiplie ou, libère du produit peut être déterminée par la vitesse à laquelle l'oxygène est approvisionné. Alors, il faut savoir comment accroître la disponibilité d'O₂ pour une production rapide de produit.

IX/- L'AGITATION

La **Vélocité** dépend de l'agitation et, une agitation nécessite de l'énergie en fonction du type de milieu. Exemples : *milieu visqueux (glycérine, yaourt) / *milieu non visqueux (café, jus) Ainsi, la viscosité du milieu est d'importance pour une agitation. Sur le plan mécanique, les physiciens parlent du **nombre Reynolds** et, le nombre de force ou de puissance d'agitation.

$$\text{Nombre REYNOLDS (RE)} = \frac{\text{Force d'inertie}}{\text{Force visqueuse}} = \frac{D^2 V \rho}{\mu}$$

Force visqueuse

*D= diamètre de l'impulseur

*V=Vélocité de la lame de l'impulseur

*U (μ) =Viscosité du milieu

*L=Densité du liquide

En principe, l'on utilise la vitesse qui provient du bout de l'impulseur. Ce qui est N fois D
Où N est le nombre de révolution par seconde de l'impulseur, alors **RE=ND²L/U**

Que veut dire cette équation ?

Grand est le RE, plus facilement le milieu est mélangé ou, plus longtemps le milieu sera mélangé après qu'on ait retiré les lames de l'impulseur ou, arrêté l'impulseur.

RE= Tendance d'un liquide de rester en mouvement une fois cela établi

Tendance d'un liquide en mouvement de s'arrêter due aux forces de viscosité

X/- TRANSFERT DE MASSE

Le transport de molécules se fait par la diffusion ou, par la convection

1/- Diffusion : c'est le mouvement de molécules par un transport utilisant la notion de hasard

2/-Convection : c'est le transport ou le mouvement de molécules par une action de force

XI/- LES ADDITIFS ET NUTRIMENTS

Certains microorganismes exigent des nutriments appropriés pour leur croissance ou pour la production de composés. Alors, ces nutriments deviennent importants pour la fermentation.

XII/- LA VITESSE DE CROISSANCE

Elle est importante dans l'inoculation souvent, pour initier la grande fermentation.

XIII/- LES PRODUITS DE FERMENTATION

Ils peuvent affecter l'optimisation de la fermentation parce qu'à une certaine concentration, ils commencent à agir sur le métabolisme des microorganismes qui n'y survivent pas. Par contre les produits d'une 1^{ère} fermentation sont nécessaires pour initier la fermentation secondaire afin d'obtenir un produit d'intérêt économique.

XIV/- DIMENSION DU REACTEUR

La dimension d'un fermenteur influence le rendement du produit à cause des difficultés de maintien de la température, du pH, de l'aération et de l'agitation d'une façon uniforme dans le milieu. Plus grand est le fermenteur plus difficile est le contrôle pour un meilleur rendement.

FERMENTATIONS ANAÉROBIQUES ET AÉROBIQUES

I/- PRINCIPE DE CES FERMENTATIONS

Les fermentations anaérobiques sont des fermentations qui sont réalisées : en absence d'oxygène par, strictement des bactéries ou des levures anaérobies strictes ou facultatives.

Les **anaérobies strictes** manquent d'habitude d'activité catalase. Ce peu d'activité peroxydase qu'elles possèdent, ne peut enlever le peroxyde d'hydrogène (**H₂O₂** : qui est fortement toxique) aussi rapidement que possible, qu'il est produit lors de la croissance aérobie. Contrairement à ces organismes, **certains des organismes** (normalement considérés aérobie) sont capables de croissance anaérobie, s'ils **peuvent réduire le Nitrate et, le Sulfate** dans le milieu de culture pour obtenir des atomes d'Oxygène (**O₂**).

Dans le cas de fermentation utilisant des **organismes facultatifs**, il y a utilisation d'aération pendant la période d'inoculation, pour accroître le nombre de cellules avant, que les conditions de fermentation anaérobiques ne soient imposées. Dans ce cas, la vitesse et, la quantité de croissance cellulaires sont plus élevées dans les conditions aérobie que dans les conditions anaérobiques.

Les microorganismes se multipliant en anaérobie, utilisent moins d'énergie par unités de substrat de carbone que les aérobie. Aussi, il y a tendance pour une conversion partielle des substrats de carbone en de nombreux acides organiques, amines organiques etc....qui s'accumulent dans le milieu de croissance. Ces produits peuvent influencer sur le maintien du pH de la fermentation.

En général, il y a moins de fermentations développées pour les microorganismes anaérobies que pour les aérobie. Ceci parce qu'il y a plus d'espèces aérobie connues que les anaérobies.

Les fermentations anaérobiques commencent à intriquer sur le plan commercial par rapport aux fermentations aérobie, parce qu'elles exigent moins de dépenses pour le volume d'air stérile ou, de dépenses d'énergie dans la forme d'agitation.

De nombreux microorganismes anaérobies possèdent l'habilité de dégrader la Cellulose. L'une de meilleures fermentations anaérobiques est la panse de bœuf

II/- EX. DE FERMENTATION ANAEROBIQUE : Production d'Acétone-Butanol

1/- Les Produits

a/- L'Acétone : Diméthyle cétone, propane cétone, propanone

C'est un composé liquide incolore, d'une odeur fragrante de Minh. Son acuité toxique est de **9750 mg/kg**. Il est dangereux lorsqu'il est exposé à la flamme et, est utilisé dans la manufacture des explosifs.

b/- Le butanol ou n-Butanol : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{OH}$

C'est un liquide incolore, d'acuité toxique de **790 mg/kg**, dangereux lorsqu'il est exposé a la flamme. C'est alcool est utilisé dans la production d'huile de frein, dans le recouvrement des antibiotiques, dans les résines dures a formaldéhyde, les amines additifs de gazoline et, comme esters.

Le marche de production pour ces deux produits décroît, parce qu'ils peuvent être produits par la voie de synthèse chimique.

2/- Les Substrats

Ce sont essentiellement : l'amidon de maïs, de patate, et la mélasse.

3/-L'inoculum ou la souche : *Clostridium acetobulicum*

La souche de *Clostridium acetobulicum* est anaérobie et mobile

Il y a une variation considérable d'une souche à une autre en relation aux substrats utilisés et, le rapport des différents solvants produits. Certaines souches sont fortement protéolytiques et amyolytique et, peuvent fermenter le maïs sans addition de nutriments.

La fermentation de cette souche libère aussi d'autres produits que l'acétone et le butanol.

Ce sont : l'isopropanol, l'éthanol, l'acide formique, l'acide acétique, l'acide butyrique, l'acétyl-méthyle carbinol, le CO_2 et l'hydrogène (H_2).

De cet ensemble de produit : le butanol, l'acétone et l'éthanol sont les principaux produits que donne cette souche de microorganisme.

FERMENTATION CONTINUE ET ADDITION DE NUTRIMENTS

I/- DEFINITION

Les fermentations continues sont celles dans lesquelles, un **milieu de nutriment frais va être ajoutée continuellement** ou, d'une façon intermittente : au bassin de fermentation accompagné, d'un retrait continu ou intermittent d'une portion du milieu avec collecte de cellules ou de produits de fermentation.

Ceci est contraire au procédé de fermentation en Bac dans lequel, un grand volume du milieu de nutriments est inoculé permettant la croissance et la synthèse biochimique de se réaliser jusqu'à l'obtention du rendement maximum.

A ce point, la fermentation en Bac est arrêtée pour la collecte de produits. Le fermenteur est ensuite lavé et, stérilisé avant qu'une nouvelle fermentation ne soit en route.

A vue d'œil, la fermentation continue semble être le meilleur des deux (2) procédés, parce que les deux (2) équipements de fermentation sont en usage constants avec, très peu d'arrêt après l'inoculation initiale et, parce que la production d'un autre inoculum n'est pas nécessaire. Cependant, les problèmes inhérents associés aux procédés de fermentation continue, ne permet pas d'atteindre son but maximum c'est-à-dire : un rendement beaucoup supérieur.

II/- LES VOIES DE REALISATION DE LA FERMENTATION CONTINUE

1/- Fermentation continue unique

C'est la voie dans laquelle, un seul fermenteur est inoculé puis, gardé en opération continue tout en équilibrant respectivement les intrants de nutriments en culture et aussi, la collecte de produits.

2/- Fermentation continue recyclée

Dans cette voie, une portion de la culture ou du substrat non utilisée est associée à la culture, retirée, puis recyclée dans le bassin de fermentation.

Une portion dans la fermentation continue peut être recyclée lorsque, la teneur en nutriments dans le milieu devient faible. Ceci permet d'accroître la productivité.

3/- Fermentation continue a étapes multiples

Ceci implique deux (2) ou plusieurs étapes pendant l'opération de fermentation

La fermentation dans le cas présent est ainsi divisée en 2 étapes : la croissance et, la synthèse

- **1ere étape : la phase de croissance** qui est réalisée dans un premier fermenteur

- **2eme étape : la phase de synthèse** réalisée dans le second fermenteur ou, dans plusieurs fermenteurs successifs.

La fermentation continue à étapes multiples est principalement applicable aux fermentations dans lesquelles les activités de croissance et de synthèse ne sont pas liées à la croissance mais, elles surviennent après que la vitesse de multiplication générale se voit ralentie

Tableau des Produits Chimiques Représentatifs de Fermentations Continues

Produits associés a une croissance de microorganismes	Produits associés a une non croissance de microorganismes
Acide acétique	Acétone
Butanediol	Butanol
Ethanol	Glycogène
Acide Sulfureux	Subtiline
Acide lactique	Chloramphénicol, Pénicilline Streptomycine. Vitamine B 12

Tableau des Germes Représentatifs d'Organismes se Multipliant dans une Culture Continue

FAMILLES DE MICROORGANISMES	GERMES
ACTINOMYCES	Streptomyces
ALGUES	Chorella Euglena
BACTERIES	Aerobacter, Azobacter Bacillus Clostridium Salmonella
MOISSISURES	Penicillium Ophiostoma
PROTOZOAIRE	Tetrahymena
LEVURES	Saccharomyces Torula
CELLULES MAMOLIENNES	Embryon de rein de Lapin

De tous les procédés potentiels de fermentations continues, seules les productions de **bière**, de **vinaigre** et de **levure de boulangerie** (ap de la mélasse) ont trouvé une application commerciale

Tableau des Applications Expérimentales de Culture Continue

VARIABLE INDEPENDANT	VARIABLE DEPENDANT
Temps	Vitesse métabolique
Vitesse de croissance	Allure métabolique
Concentration de nutriments	Composition cellulaire
Concentration de produit	Morphologie cellulaire
Potentiel d'hydrogène (pH)	Induction enzymatique
Inhibiteurs	Vitesse de mutation
Agents mutagènes	Virulence
Aération-Agitation Température	

III/- LES MOYENS DE CONTROLE DE LA FERMENTATION CONTINUE

Il ya plusieurs moyens possibles par lesquels, une activité microbienne dans une fermentation continue peut être contrôlée bien que ce soit des approches qui aient gagnées une acceptation générale. Il s'agit : du Turbidostat et du Chimiostat

Dans le cas du <<**Turbidostat**>> : la population cellulaire totale est maintenue constante par l'utilisation d'un système qui mesure la turbidité de la culture de sorte a réguler : tant la vitesse d'approvisionnement de nutriments au fermenteur que, la vitesse de retrait de culture de fermentation

Si le nombre de microorganismes augmentent au dessus du niveau prédit, une large quantité de substrat frais (milieu frais) est ajoutée, de sorte a diluer la concentration cellulaire. Ainsi, il n'y a pas de limite imposée de nutriments dans le procédé de sorte que la vitesse de croissance cellulaire soit toujours maximale.

Quant au <<**Chimiostat**>> : il maintient les vitesses d'approvisionnement du nutriment, de retrait de culture ou de produits a des valeurs constantes mais, moins que celles qui permettent une vitesse maximale de croissance. Cette vitesse est contrôlée par l'approvisionnement de seulement une quantité limite du nutriment critique de croissance dans la solution de fermentation. Ainsi, la multiplication cellulaire ne peut pas se réaliser, a une grande vitesse que celle permise par la disponibilité du maintien critique.

Les facteurs de contrôle de croissance impliquent donc : le nutriment limitant mais aussi, le pH, la forte concentration de produit toxique a la fermentation et, la température.

Le concept de <<Chimiostat>> de la fermentation continue, **est plus souvent utilisé** que celui du Turbidostat : parce qu'il a moins de résidus de nutriment non utilisés lors de la collecte de produit ou de culture microbienne. Que ce soit l'une ou l'autre approche, il est nécessaire de maintenir la population cellulaire constante dans le ou les fermenteurs. Dans ce cas, l'approvisionnement de nutriments frais au fermenteur est critique car, il est lié au temps de génération des microorganismes.

Un très faible débit permet à la culture d'atteindre la phase stationnaire maximale de croissance de sorte que l'aspect continu de la fermentation puisse être maintenu.

Contrairement, un débit trop élevé en relation avec le temps de génération, peut diluer la population cellulaire dans un fermenteur, par le retrait de cellules plus rapidement qu'elles ne puissent être régénérées par croissance.

En général, beaucoup de procédés de fermentation ont été investigués au moins, sur le plan pilote pour leur conversion possible a un procédé de fermentation continu

FERMENTATION DOUBLE OU MULTIPLE

I/- DEFINITION

Les fermentations doubles ou multiples sont des fermentations dans lesquelles **il y a plus d'un microorganisme utilisé.**

Le microorganisme peut être inoculé simultanément dans le milieu de culture où, un microorganisme peut se multiplier d'abord dans un premier (1^{er}) milieu suivi, par l'inoculation et la croissance d'un second microorganisme.

Alternativement, après croissance dans le premier (1^{er}) milieu, deux (2) fermentations séparées peuvent être combinées pour une activité future de fermentation.

Le concept de base de la fermentation double ou multiple est que **deux ou plusieurs microorganismes doivent accomplir des actions qu'aucun ne peut réaliser tout seul.** Dans l'état présent de la technologie de fermentation, ce concept n'est plus un rêve mais, une réalité.

L'usage le plus fréquent dans la fermentation double ou multiple est d'utiliser, un microorganisme pour produire un composé qui est lui, converti ou changé par un second microorganisme en un produit différent et, possédant une plus grande valeur ajoutée.

Exemple : La production d'éthanol par la levure de boulangerie *Saccharomyces*

II/- CONVERSION DE L'ETHANOL EN ACIDE PAR L'ACETOBACTER

Une autre approche de l'utilisation de ce système de la fermentation double ou multiple est d'utiliser un microorganisme pour changer ou préparer le milieu de sorte à ce qu'il devienne apte pour la croissance d'un second microorganisme.

Exemple : le 1^{er} microorganisme peut produire une activité enzymatique (amylase) pour le second microorganisme qui ne possède pas cette activité.

III/- LES AUTRES USAGES DE LA FERMENTATION DOUBLE OU MULTIPLE

Les autres usages de la fermentation double ou multiple sont :

- 1/- un microorganisme qui dégrade les sous produits métaboliques toxiques d'un autre
- 2/- un microorganisme qui enlève l'oxygène (O₂) pour réduire le potentiel d'oxydoréduction pour germe anaérobie.
- 3/- un microorganisme maintient une marge critique de pH pour le second germe
- 4/- un microorganisme donne des facteurs de croissance, à un autre microorganisme
- 5/- en addition, un microorganisme peut produire un métabolite qui est bénéfique pour la croissance d'un second et, qui évolue en même temps au contrôle de la métabolisation.

Toutefois, il faut savoir que la croissance simultanée de deux (2) microorganismes de fermentation, dans un milieu unique présente un problème dans l'écologie microbienne. En effet, chaque microorganisme doit soutenir les activités physiologiques de croissance et, d'utilisation des nutriments des autres et, il arrive que leur vitesse de croissance diffère, tel qu'un des microorganismes gêne la croissance de l'autre.

Aussi des études exhaustives du milieu et des autres conditions de fermentation sont recommandées pour équilibrer la croissance des deux microorganismes.

Le problème devient alors plus simplifié ou magnifié si une symbiose existe entre les microorganismes tels qu'ils sont dépendants l'un de l'autre pour la croissance.

Les fermentations double ou multiple dans lesquelles le microorganisme pousse dans le milieu suivi par l'inoculation et, une croissance d'un autre microorganisme sont faciles à contrôler sur le plan de la fermentation. Cela est particulièrement vrai, s'il est fait pour tuer le premier microorganisme par la chaleur, ou une autre forme de stérilisation avant l'inoculation du second microorganisme.

La combinaison de fermentation séparée pour produire une future activité de fermentation a déjà trouvée une application industrielle. Dans cette approche de fermentation c'est-à-dire une première fermentation qui peut être enzymatique changée par un second produit de plus grande valeur suivie de la seconde fermentation donnant des microorganismes contenant des enzymes pertinentes pour apporter des changements enzymatiques dans le milieu.

En général, la plus grande compréhension de l'écologie microbienne, contribue fortement au potentiel industriel pour les différents types de fermentation.

**QUELQUES TECHNIQUES DE PRODUCTION
DE COMPOSES ORGANIQUES PAR VOIE FERMENTAIRE**

A.1/- Alcool Ethylique

Souche	* <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (diff. origines)
Substrats	*Mélasse *Manioc * Mais * Jus de fruits
Conditions	* PH = 4 a 5 * Temperature : 25 a 40 degree C. * Système anaérobies discontinu ou continu * Période : 4 a 5 jours
Extraction	*Distillation discontinu en laboratoire *Rectification
Analyses	*Méthode chromatographique en phase gazeuse (CPG)

A.2/- Acide Acétique

Souche	* <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (+) * Espèce d' <i>Acetobacter</i>
Substrats	*Mélasse *Amidon hydrolyse * Jus de fruits *Alcool etc. ...
Conditions	* PH = 2 – 4 * Temperature : 25 a 40 degree C. * Système anaérobie en phase 1et système aérobie en phase 2 * Période : 15 jours a 3 mois
Extraction	*Distillation discontinu en laboratoire *Rectification
Analyses	*Méthode chromatographique en phase gazeuse (CPG)

A. 3/- Acide Lactique

Souche	* <i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Substrats	*Mélasse *Amidon hydrolysé * Jus de fruits
Conditions	* PH = 5,5 a 6,5 * Temperature : 45 a 50 degree C. * Système anaérobie discontinu + agitation * Période : 6 jours
Extraction	*Addition de CaCo ₃ pour pH 10 * Chauffage * Filtration ou Extraction par l'isopropyle d'éther
Analyses	*Méthode chromatographique en phase gazeuse (CPG)

A.4/- Acide Citrique

Souche	* <i>Aspergillus niger</i>
Substrats	*Mélasse + NH ₄ NO ₃ + MgSO ₄ + KH ₂ PO ₄
Conditions	* PH = 2-3 * Temperature : 28 a 30 degree C. * Système par immersion * Période : 7 a 10 jours
Extraction	* Addition de CaCo ₃ pour précipiter l'acide en citrate de Ca * Chauffage * Addition de H ₂ SO ₄ pour déplacer le Ca
Analyses	*Méthode chromatographique en phase gazeuse (CPG)

LE LAIT ET LA FERMENTATION LACTIQUE

I/- DEFINITION

Le terme lait désigne surtout : le lait de vache cependant, il y a d'autres laits de mammifères qui sont exploités notamment le lait de brebis, de chèvre, de jument ... Le lait est le produit intégral de la traite totale d'une femelle laitière bien portante.

II/- COMPOSITION BIOCHIMIQUE DU LAIT

Le lait est un mélange hétérogène contenant une grande quantité d'eau, ce qui représente 900-910 g/l. Il contient l'extrait sec qui représente 13% soit 120-130 g/l.

A l'intérieur de l'extrait sec, l'on a :

- la matière grasse (35-45 g/l) avec essentiellement des triglycérides (98%)
- la matière azotée (35-36 g/l) avec principalement les caséines (80%)
- les matières minérales (7-7,5 g/l) -les vitamines
- et les glucides (47-52 g/l) avec principalement du lactose et, des oligosides

Au point de vue organoleptique, le lait est un liquide de couleur blanche, compact et plus visqueux dans l'eau. Sa saveur est légèrement sucrée. Sa densité est supérieure à celle de l'eau (1,032). Le pH du lait est de l'ordre de 6,7 mais, variable suivant les espèces animales.

III /- LFERMENTATION LACTIQUE (Laits Fermentés : Yaourts)

Dans le lait fermenté, l'effet recherché est l'épaississement et, la gélatinisation du lait.

La fermentation lactique est un processus anaérobie qui produit par hydrogénation de l'Acide Pyruvique. Le principe est le suivant : **Lactose** === > Glucose === **Glycolyse** === > CH₃-CO-COOH (Pyruvate) == **L.D.H / NADH₂** == == CH₃ – CHO – COOH (**Acide Lactique**)

L'on sollicite trois (3) espèces microbiennes.

1/- Les trois espèces microbiennes

-1ere espèce : Lactobacillus bulgaricus

Il s'agit de dégrader le Lactose en Acide lactique qui va diminuer le pH du milieu et, empêcher la prolifération des microorganismes.

-2eme espèce : Streptocoque thermophilus ; son rôle est de donner l'arome du yaourt

-3eme espèce Saccharomyces keffir ; c'est une levure qui va fermenter a son tour, le reste de Lactose et, produire du gaz carbonique (CO₂) et un peu d'alcool.

2/- Les caractéristiques du yaourt

-Il doit contenir un (1) million de bactéries vivantes par gramme de yaourt.

-Sa teneur en acide lactique doit être à 0,8%

-L'acidité doit être de **80 degré Dormic** (80 degré D), elle exprime la quantité d'acide lactique dans 100 gramme de yaourt.

3/- La technologie de la fabrication

Le processus repose sur la dégradation d'une partie du Lactose par les bactéries lactiques puis, sa transformation en acide lactique entraîne l'abaissement de pH jusqu'à **4,6** (qui correspond au pH de la caséine). Et celle -ci précipite en formant un germe ferme. Donc le principe est basé sur la coagulation des protéines par action de l'acidité. La coagulation s'effectue par une stabilisation du phospho - caseinate de Ca. du lait sous l'effet d'une protéolyse de la Présure.

FERMENTATION ALCOOLIQUE : PRODUCTION D'ALCOOL ÉTHYLIQUE PAR LA VOIE BIOTECHNOLOGIQUE

I/- INTRODUCTION

L'éthanol ou alcool éthylique est un mono alcool doté en fonction de sa spécificité de plusieurs usages industriels chimiques. La majeure partie de l'éthanol industriel est produit par voie chimique, grâce à une oxydation de l'éthylène. Cependant, ces dernières décennies la production par voie fermentaire connaît un regain d'intérêt lié d'une part aux crises du pétrole et du gaz naturel et d'autre part aux soucis de réduire les excès de matières premières agricoles riches en sucres.

La fermentation des fruits connue depuis l'antiquité donne des boissons alcoolisées qui peuvent être distillées pour produire des eaux de vies. Sous les tropiques, une partie importante n'est pas utilisée et la valorisation par voie biotechnologique pourrait constituer l'ouverture d'une nouvelle fenêtre de développement en Afrique.

II/- UTILISATIONS DE L'ETHANOL

L'alcool éthylique est combustible, c'est un liquide neutre : ni acide, ni basique et, il est doté de plusieurs usages: humains, industriel ou comme carburant.

1/- Usages humains

a/- Il est très utilisé en pharmacie et en cosmétologie en tant que **solvant**.

b/- Les **boissons alcoolisées** sont connues depuis les temps reculés. Actuellement, l'industrie de l'alcool de bouche se divise en deux parties ;

-les industries des liqueurs avec les apéritifs et les liqueurs de table

-les eaux de vie qui sont extraites par distillation des boissons fermentées. Nous pouvons citer : le whisky, le cognac, le rhum, la vodka

c/-La vinaigrerie : les bactéries acétiques de type *Acetobacter*, en aérobie transforment l'éthanol en acide acétique, le vin devient alors aigre : c'est le vinaigre. Les usages sont très nombreux : assaisonnement des mets, lavage des légumes, traitement des tissus, nettoyage d'ustensiles de vitres, d'argenterie et de dorure.

2/- Usage en industrie chimique

L'alcool sert soit pour des usages réactionnels soit, **de solvant** avec de nombreux dérivés possibles. C'est le cas de sa transformation en **éthylène** par déshydratation qui présente beaucoup d'intérêt avec la production de toute la chimie des dérivés de l'éthylène (polyéthylène, chlorure de vinyle...) actuellement tirés de la source pétrolière.

L'éthanol permet également de produire de **l'éther**, de **l'acide acétique** utilisé pour la fabrication de l'acétone, des matières colorantes (indigo) de produits pharmaceutiques (acétylsalicylique)...

3/- Usage comme carburant ou additif

De nos jours, l'éthanol est employé pour la carburation dans différents pays comme le Brésil afin, de réduire d'une part les importations de pétrole et d'autre part de lutter contre la pollution automobile. Ceci en ajoutant au carburant de l'éthanol, en remplacement du plomb tetra éthyle : incorporé à l'essence et considéré comme polluant de l'atmosphère.

III /- LA PRODUCTION D'ETHANOL PAR FERMENTATION

A/- Les Microorganismes Fermentaires

En plus de la fabrication de l'éthanol par synthèse chimique, il faut savoir que de nombreux microorganismes : levures, bactéries et moisissures sont capables de produire de l'éthanol par voie fermentaire à partir de sucre.

C'est ainsi que sur une production mondiale d'environ 100 millions d'hectolitres par an : 35,5 millions sont issus de la synthèse chimique contre 65 millions produit par voie fermentaire d'où l'importance de cette voie.

Ce sont surtout les **levures** qui sont les plus utilisées car elles produisent de l'éthanol avec peu de sous-produits ; de plus elles ont un taux de croissance et de conversion rapides.

Les Levures sont des champignons microscopiques dont ceux qui présentent un intérêt sur le plan biotechnologiques appartiennent aux deux classes des Ascomycètes et des Deutéromycètes. Les genres les plus intéressants dans la 1ere classe sont : *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Pichia*, *Kluyveromyces* ... Dans la seconde, c'est le genre *Candida*.

Les principaux facteurs influençant le développement des levures sont : l'acidité, la concentration en sucre et en alcool, l'aération, la température ...

B/- Le Substrat

Les différentes souches de microorganismes se distinguent surtout par leur aptitude à métaboliser les différents substrats glucidiques. Ceux-ci se classent en **monosaccharides** ou sucres simples, en **oligosaccharides** qui par hydrolyse donnent quelques molécules de monosaccharides et, en **polysaccharides** qui donnent de nombreuses molécules de monosaccharides.

Parmi les monosaccharides, de nombreuses souches sont capables de métaboliser des hexoses : glucose, fructose, galactose et ; des pentoses a savoir : le xylose, l'arabinose et le xylulose. Au niveau des oligosaccharides, il faut retenir le maltose, le saccharose et le raffinose. Au niveau des polysaccharides se sont l'amidon et l'inuline (polymère du fructose)

La cellulose et l'hémicellulose nécessitent un traitement enzymatique ou chimique préalable.

C/- La Fabrication du Bio Ethanol

La fabrication d'éthanol par fermentation comporte plusieurs étapes

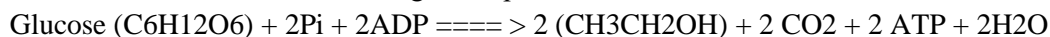
1/-la production, la récolte et le transport de la matière première jusqu'à l'usine

2/-le traitement préliminaire pour l'obtention d'un jus fermentescible

Il fait appel à des technologies différentes selon les matières premières mais, qui sont des combinaisons des techniques suivantes : lavage, découpage, simple dilution, épuration et traitement thermique, extraction par pressage ou diffusion, hydrolyse acide ou enzymatique

3/-la fermentation qui produit un jus avec de l'éthanol, du CO₂ et de la levure sèche

C'est la phase biologique du processus industriel, elle est assurée par des souches de levures pures en absence d'oxygène. Elles utilisent la voie d'Embden Meryerhof pour l'oxydation des hexoses. Les deux dernières étapes comportent la décarboxylation du pyruvate en acétaldéhyde et, la réduction de ce dernier en éthanol. La réaction globale peut s'écrire :



Parmi les procédés industriels, la principale distinction réside entre les procédés discontinus dotés d'un avantage important et, les procédés continus.

4/-l'extraction par distillation

L'extraction de l'alcool contenu dans le mout fermenté s'effectue exclusivement par distillation, rectification et déshydratation qui permet d'obtenir de l'alcool pur.

La distillation est la transformation d'un liquide a l'eau de vapeur combinée avec la condensation simultanée par refroidissement des vapeurs produites. Autrefois, elle était réalisée dans des alambics, de nos jours elle est effectuée dans des appareils à fonctionnement continu en colonne.

La valorisation biotechnologique des fruits riches en sucre dans les pays tropicaux doit démarrer...

OPTIMISATION DE LA FERMENTATION

I/- CONDITIONS D'EXPERIMENTATION

Les conditions expérimentales de fermentation déterminées au laboratoire dans les erlenmeyers ou, les petits fermenteurs, sont utilisées sur une grande échelle pour l'optimisation de la fermentation de plus large production. Cependant, de petites ou grandes différences adviennent entre les schémas et, les efficacités des petits fermenteurs par rapport aux grands équipements de fermentation. Ces différences sont souvent importantes de telle sorte qu'elles exigent au moins un petit changement, dans les procédures de fermentation avant que celles-ci ne puissent être utilisées avec succès sur une grande quantité avec, une chaîne de production.

Ainsi, la détermination des conditions adéquates d'incubation à être utilisées sur une plus grande échelle, basée sur les informations déjà acquises sur les petits fermenteurs est connue comme optimisation.

La meilleure façon de résoudre ce problème est de faire l'expérimentation directement sur de large <<Tank>> ou <<Bac>>. Mais malheureusement, cela n'est pas possible pour une nouvelle fermentation mais, pour des études sur une fermentation déjà en production.

Les Tanks de production sont en usage continue pour une production commerciale des produits de fermentation. L'utilisation d'un tank de production pour une détermination expérimentale, retire ce tank de la capacité normale de production

II/- VALIDITE DE LA FERMENTATION

De toutes les façons, les expérimentations valides ne peuvent pas se faire seulement sur un tank alors, un ou deux tanks sont nécessaires pour les contrôles.

A part cela, les différents coûts y compris les milieux associés à l'usage de grands tanks de production, sont assez élevés pour leur utilisation exhaustive dans les études expérimentales. Alors l'alternative communément acceptée, est d'obtenir : **le plus possible d'informations** pendant les études d'optimisation avec, l'espoir que cette information sera utilisée sur une grande échelle.

III/- LES RECIPIENTS DE FERMENTATION

Les erlenmeyers sont des ustensiles conventionnels pour les études de fermentation pendant le réglage secondaire ou, le développement de procédé.

Mais les erlenmeyers même secouées sur un agitateur va et vient ou rotatif donnent une faible estimation du potentiel de fermentation d'un microorganisme et son milieu, a cause des faibles caractéristiques relatives d'aération associées au récipient. D'autres types d'erlenmeyers avec des dispositifs spéciaux permettent d'avoir un peu plus d'aération.

Les récipients de fermentation de laboratoire de **1 a 12 litres** de volume sont d'une façon idéale pour ces études car, les conditions d'aération et agitation peuvent varier et, l'ensemble des conditions de fermentation est un peu proche de celui des grands <<**Tanks**>> .

Bien que ces récipients donnent des informations considérables, il est toujours nécessaire d'étudier une fermentation dans d'autres <<**Tanks**>> plus larges de **100 a 400 litres** et, quelques fois plus et cela dans **des <<unités pilotes>>**. Certains permettent des études de fermentation sur une échelle qui a un sens important en relation avec les conditions de production en temps, mais sans trop de dépenses pour les milieux, les manipulations, les intrants énergétiques, les mains d'œuvre et autres ...

Des fois, des Tanks intermédiaires sont utilisés, pour obtenir des informations sur une fermentation particulière avant de passer aux grandes optimisations de fermentation.

Beaucoup d'essais ont été effectués pour prédire mathématiquement, les conditions de fermentation pour une grande fermentation basée sur les informations obtenues au laboratoire ou, de l'unité pilote.

En général cette approche a échoué, et de ce fait, il est reconnu que l'expérience avec un équipement particulier de fermentation, précède le vide réel de transposition de l'information des fermentations pilotes, à la production à grande échelle.

ANNEXES

QUELQUES TECHNIQUES DE PRODUCTION
DE COMPOSES ORGANIQUES PAR VOIE FERMENTAIRE

A/- ESSAIS DE FERMENTATION

- Alcool Ethylique - Acide Acétique - Acide Lactique - Acide Citrique

B/- PRODUCTION D'ENZYMES

B.1/- Amylase

Source de Moisissure	* <i>Mucor ou Rhizopus</i> * <i>Aspergillus oryzae</i> * <i>Aspergillus niger</i>
Source Bactérienne	* <i>Bacillus subtilis</i> * <i>Bacillus diastaticus</i>
Substrats	*Glucide s/f solide + Protéine (large quantité)
Conditions	* PH = 7 = neuter * Temperature : 25 a 30 degre C. * Système de culture stationnaire aérobique * Période : 3 a 7 jours
Extraction	*Séchage a 50 degre ou, extraction a l'eau * Precipitation a l'ethanol * Sechage a 55 degree
Analyses	*Méthode chromatographique sur papier * Autoanalyseur pour acides amines

B.2/- Protéases

Source de Moisissures	* <i>Aspergillus oryzae</i> * <i>A. niger</i> * <i>A. flavus</i> * <i>Asp. wentii</i> * <i>Amylomyces rouxii</i> * <i>Penicillium roquefortii</i>
Source Bactérienne	* <i>Bacillus subtilis</i> * <i>Pseudomonas</i> * <i>Proteus</i> * <i>Clostridium</i> * <i>Serratia</i>
Substrats	*Mélasse * Amidon + Protéine
Conditions	* PH = 7 = neutre * Température : 37 degre C. * Système de culture stationnaire aérobique * Période : 3 a 5 jours
Extraction	* Extraction a l'eau * Precipitation a l'ethanol * Sechage a temperature inf, a 40 degre
Analyses	*Méthode chromatographique sur papier * Méthode d'autoanalyseur * Méthode Manométrique

B.3/- Pectinases

Souche	* <i>Espèces de Penicillium et d'Aspergillus</i>
--------	--

B.4/- Invertases

Souche	Produite par les Levures telles espèces de <i>Saccharomyces</i>
--------	---

B.5/- Penicillinases

Souche	* <i>Bacillus cereus</i> * <i>Bacillus subtilis</i>
--------	---

B.6/- Glucose-Oxydases

Souche	Produite en association avec une catalase par <i>Aspergillus niger</i>
--------	--

C/- PRODUCTION DE VITAMINES

C.1/- Riboflavine

Souche	* <i>Ashbya gossypu</i>
Substrats	*Glucose, huile végétale + Nutriments
Conditions	* PH = 6 – 6,5 * Temperature : 26 a 28 degre C. * Fermentation aerobique submergée discontinue * Période : 4 a 5 jours
Extraction	* Evaporation * Sechage
Analyses	*Méthode spectro-photométrique * Méthode photométrique

C.2/- Vitamine B 12

Souche	* <i>Streptomyces olivacens</i>
Substrats	*Glucose, mélasse, amidon hydrolysé (hydrolyse + Cobalt chloride)
Conditions	* PH = 4 – 5 * Température : 27 degré C. * Fermentation aerobique discontinue * Période : 3 a 4 jours
Extraction	* Filtration ou Centrifugation * Sechage *Addition de sulfite de sodium *Acidification * Chauffage * Traitement a l'ethanol
Analyses	*Méthode spectro-photométrique *Essai biologique * Méthode chromatographique

D/- PRODUCTION D'AUTRES COMPOSES ORGANIQUES

D.1.- Acides Aminés : Ex Acide Glutamique

Souche	* <i>Micrococcus glutamicus</i>
Substrats	*Glucose , Mélasse + Biotine
Conditions	* PH = 6 – 8 * Température : 30 degré C. * Fermentation aerobique discontinue * Période : 2 jours
Extraction	* Cristallisation * Purification
Analyses	*Méthode chromatographique sur papier * Auto analyseur pour acides aminés

D.2/- Antibiotique : Ex Streptomycine

Souche	* <i>Streptomyces griseus</i>
Substrats	*Glucose * Extrait de soja + sel
Conditions	* PH = 7,3 – 8 * Température : 25 - 30 degré C. * Fermentation aerobique discontinue * Période : 5-7 jours
Extraction	* Filtration * Absorption sur charbon actif * Elution avec acide dilué * Précipitation par solution organique * Filtration * Sechage * Purification * Sous – produit (vitamine B12)
Analyses	*Essai biologique

**Tableau No 1 : 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 No 2 : 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-Phenylalanine	• 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>
	t	

Tableau No 3 : Production des Composes Chimiques de Flaveur

COMPOSES	AROME / FLAVEUR	MICROORGANISMES
Anisaldehyde	• Anise	<i>Trametes sauvolens</i>
Benzaldehyde	• Amande	<i>Trametes sauvolens</i>
Benzyl-alcool	• Fruit	<i>Phellinus igniarius</i>
Methyl ester d'acide cinnamique	• Fruit / Jasmin	<i>Inocybe corydalina</i>
Citronnelle	• Rose	<i>Ceratocystis variospora</i>
Acetate citronnellyl	• Fruit / Rose	<i>Ceratocystis variospora</i>
Gamma-decalactone	• Pêche	
Diacetyl	• Beurre	<i>Lactococetccus lactis subsp. diacetlactis</i>
Ethyl benzoate	• Fruit	
Ethyl Butarate	• Fruit	<i>Lactobacillus, Pseudomonas fragi</i>
Ceranal	• Rose	<i>Ceratocistis variospora</i>
Linalool	• Fleur	<i>Ceratocistis variospora</i>
Méthyl benzoate	• Fruit	<i>Phellinus tremulus</i>
Méthyl-phenylacetate	• Miel	<i>Trametes odorata</i>
G Pentyl alpha pyrone	• Noix de Coco	<i>Trichoderma viride</i>

Tableau No 4 : Production Microbienne de Polymères

POLYMERES	USAGE / FONCTION	MICROORGANISMES
Alginate	• Agent encapsulant	<i>Azotobacter vinelaandiii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Cellulose	• Agent anti croûte	<i>Acetobacter sp.</i>
Curdlan	• Agent épaississant	<i>Agrobacterium sp.</i>
Cyclophorans	• Agent gélatinisant	<i>Rhizobium, Agrobacterium, Xanthomonas</i>
Dextran	• Agent épaississant	<i>Acetobacter sp</i>
D-Fructane	• Agent épaississant	<i>Zymomonas mobilis</i>
Gélose	• Agent gélatinisant	<i>Auromonas elodea</i>
Levane	• Agent épaississant	<i>Bacillus sp., Pseudomonas sp</i> <i>Leuconoscoc mesenteroides.</i>
Phosphomannane	• Agent gélatinisant	<i>Hensenula capsulata, Rhizobium</i>
Poly-beta-hydroxy-butyrate	• Film d'emballage	<i>Alcaligenes eutrophus</i> <i>Methylobacterium</i>
Xanthane	• Agent épaississant	<i>Xanthomonas compestris</i>