

TABLE DES MATIERES

<i>Titre des Chapitres</i>	<i>Page</i>
<u>A/ - Première Partie : Notions et Raisons de la Biotechnologie Alimentaire</u>	
-Définitions et Filières de la biotechnologie	p. 02
-Biotechnologie en Agriculture	p. 04
-Du Génotype au Phénotype : applications biotechnologiques	p. 06
-Biotechnologie Alimentaire	p. 12
-Impact de la biotechnologie dans l'industrie alimentaire	p. 17
-Impact de la biotechnologie sur la qualité nutritionnelle	p 18
-Réglementation des produits de la biotechnologie dans les industries alimentaires	p. 21
-Amélioration de la transformation des aliments en utilisant la biotechnologie	p. 23
-Les Biosenseurs ou Sondes	p. 34
-La Séparation des microorganismes	p. 38
-Les Cultures stocks	p. 40
<u>B /- Deuxième Partie : Moyens d'utilisation (Les Fermentations)</u>	
-La Fermentation : un processus biotechnologique	p.41
-Les Bases et le Développement des procédés de fermentation industrielle	p. 44
-La Préparation de l'Inoculum	p.46
-Les Milieux de Fermentation	p.47
-Quelques Milieux de Fermentation	p.49
-Les Paramètres affectant la Culture de fermentation	p.51
-Les Fermentations Anaérobies et Aérobie	p.53
-La Fermentation Continue et Addition de nutriments	p.55
-La Fermentation Double ou Multiple	p.58
-Optimisation de la Fermentation	p.63
-Détection et Essais des produits de fermentation	p.65
-Economie de la Fermentation	p.67
<u>ANNEXES</u>	p.70

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...)

Représentation schématique de la structure de la molécule d'ADN



La molécule d'ADN aurait l'aspect d'une longue échelle dont les barreaux seraient constitués de couples de bases azotées : A toujours associée à T et G à C. Les montants, composés de phosphates et de désoxyriboses

EXEMPLES DE FONCTIONS DES GENES

- La couleur des fleurs ou des graines
- La résistance ou la sensibilité a 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 GÉNOTYPE AU PHÉNOTYPE
APPLICATIONS BIOTECHNOLOGIQUES
LES RELATIONS ENTRE ADN ET PROTÉINES

A-/ NOTIONS ET CONTENUS

1/- Des phénotypes a différents niveaux d'organisation du vivant

Le phénotype peut se définir à différentes échelles : macroscopiques, cellulaires et moléculaires. L'ensemble des caractères visibles d'un organisme : son phénotype, est en partie déterminé par l'information génétique, il existe donc une relation étroite qui relie l'ADN aux protéines donc au phénotype.

2/- la relation entre ADN et Protéines (Pr.)

Les gènes sont des segments de la molécule d'ADN codant pour les protéines. La séquence des nucléotides dans l'ADN gouverne la séquence des acides amines dans la protéine selon le système de correspondance : le code génétique. Les propriétés des protéines dépendent de leur séquence respective en acides amines (AA). Ces protéines en régissant la structure et les activités cellulaires contribuent à l'établissement du phénotype.

La modification du génotype d'un organisme par transgénèse qui permet de produire de nouvelles protéines, repose sur l'universalité du code génétique.

3/- Complexité des relations entre génotype et phénotype : applications

Un phénotype macroscopique donné résulte du processus biologique gouvernés par l'expression de plusieurs gènes. La mutation de l'un seulement de ces gènes peut altérer ce phénotype. Un même phénotype macroscopique peut donc correspondre a plusieurs les génotypes.

B/- 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 azotes 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 amines de la protéine gouvernée par ce gène.
- **Les allèles** d'un gène correspondent a 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...)

C/- 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 messenger (**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.

D/- 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 TRANSGENESE : 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 à l'intérieur d'une cellule procaryote (être unicellulaire dont l'ADN n'est pas enfermé dans une enveloppe (sans noyau vrai), à l'inverse un gène bactérien 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. Le fait que les organisations cellulaires des espèces du monde vivant soient différentes (procaryotes, eucaryotes, animaux, végétaux) alors qu'un gène d'une espèce puisse s'exprimer à l'intérieur des cellules de n'importe quelle autre espèce montre bien que les informations portées par une molécule d'ADN est la même pour toutes les espèces. C'est à l'échelle moléculaire, la confirmation d'une profonde unité du monde vivant.

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

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

Le maïs transgénique Bt produit par Novartis (grande multinationale pharmaceutique) a été rendu résistant à 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 efficaces 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 à 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

(Cf : *Tableau des Cultures approuvées pour usages 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.

Tableau des Cultures approuvées pour usages alimentaires

PRODUITS	NOMBRE D'APPROBATION	CARACTERISTIQUES
Betterave a sucre	01	Tolérance aux herbicides (01)
Ble	01	Tolérance aux herbicides (01)
Colza canola	11	Tolérance aux herbicides (06) Système d'hybridation (03) Teneur en acides gras (01) (acide oléique et linoléique) Teneur en acides gras (01) (Laurate et Myristate)
Courge	02	Resistance aux virus (02)
Graine de coton	05	Tolérance aux herbicides (02) Resistance aux insectes (02) Tolérance aux herbicides et résistance aux virus (01)
Lin	01	Tolérance aux herbicides (01)
Mais	16	Tolérance aux herbicides (08) Resistance aux insectes (04) Tolérance aux herbicides et résistance aux insectes (03) Système d'hybridation (01)
Pomme de terre	04	Resistance aux insectes (02) Résistance aux insectes et aux virus (02)
Soja	04	Tolérance aux herbicides (02) Teneur en acides gras (02) (oléique et linoléique)
Tomate	04	Maturation tardive (03) Resistance aux insectes (01)

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.

Lignes directrices pour l'étiquetage volontaire des aliments issus de la biotechnologie.

Les aliments qui, après évaluation, se révèlent équivalents a leurs penchants conventionnels et aussi surs, sont soumis aux mêmes règlements que ces derniers en ce qui a trait a l'étiquetage. Dans les cas ou le produit a été intentionnellement modifié, par exemple l'augmentation de la teneur en acide laurique de l'huile de colza canola, il est nécessaire de le designer d'un nom commun distinct pour le décrire.

Voici un sommaire des lignes directives de Sante Canada et de l'ACIA en matière d'étiquetage :

-Exiger l'étiquetage obligatoire s'il y a risque pour la sante ou la sécurité, a cause de la présence d'allergènes, d'un changement important dans la valeur nutritive ou, la composition

-S'assurer que le libellé de l'étiquette est compréhensible, véridique et non trompeur

-Permettre de déclarer volontairement sur l'étiquette que le produit est issu (déclaration positive) ou n'est pas issu (déclaration négative) du génie génétique, a la condition que l'allégation ne soit pas trompeuse, qu'elle ne prête pas a confusion et qu'elle soit factuelle.

L'on a eu recours a l'étiquetage volontaire lorsqu'on a introduit sur le marche la pomme de terre Nature Mark ; MD, dans les supermarchés des provinces de l'Atlantique, ainsi que la tomate Flavor Savor ;MD.

L'étiquetage obligatoire des aliments issus de modifications génétiques pourrait se révéler coûteux et difficile à réaliser, ainsi, les désavantages qu'il présente pourrait 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 à réduire la faim et la malnutrition dans le monde, à améliorer le rendement des cultures et à réduire l'usage de produits chimiques, elle comporte aussi son lot de défis en ce qui a trait à l'environnement, à la santé des humains et à 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 afférent correspond aux besoins de la population du Canada et du monde.

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 a introduire la recherche et la technologie dans la pratique générale de l'entreprise.

En règle générale, compte tenu de la rapidité de l'évolution de la biotechnologie, de la sante, des spécialistes dans le domaine et de la pluridisciplinarité de la biotechnologie, une entreprise alimentaire devrait combiner expertise biotechnologique interne et externe.

IMPACT DE LA BIOTECHNOLOGIE 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 flaveur et la qualité nutritionnelle.

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

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 amines 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 aboutie a l'obtention de produits ayant des caractéristiques prédéfinies.

Ses avantages sont :

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

Au vue des avantages et inconvénients de ces trois (3) méthodes d'amélioration de la qualité nutritionnelle des aliments, il apparait 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

REGLEMENTATION DES PRODUITS DE LA BIOTECHNOLOGIE DANS LES INDUSTRIES ALIMENTAIRES

I/- INTRODUCTION

La politique de réglementation des produits de la biotechnologie proposée par la Food and Drug Administration : FDA est non seulement significative aussi bien pour ce qui est dit, que pour ce qui est dit. Le premier clonage fut effectuée en 1973 et, cela s'est étendu sur les bactéries. Les applications des ingénieurs généticiens furent présentées au symposium.

Le génie génétique dans la production alimentaire, a l'occasion du symposium de l'institut de technologie alimentaire a posé beaucoup de questions relatives à la réglementation dans l'alimentation humaine. Le FDA, pour répondre à ces inquiétudes, a publié la politique de la réglementation de la biotechnologie qui se définit dans tous les domaines pour le développement des animaux, des plantes et des microorganismes dans des utilisations spécifiques.

Avant, ces techniques permettaient de localiser les mutants dans un groupe. Aussi à partir des gènes, le clonage a permis la modification des organismes. La découverte et la maîtrise de l'ADN permettent donc de contourner les maladies de mutations et autres, elles permettent également de produire des aliments de précision. Ceci n'a été possible que grâce à la technologie dont son application dans les produits alimentaires dépend de plusieurs facteurs :

- La nature d'utilisation du produit
- Le degré de changement du produit
- La réglementation avant tout changement

Ainsi, la réglementation peut être comprise par les éléments ci-dessous :

- | | |
|---|---|
| 1/- les aminoacides (cystéine) pour l'enrichissement des aliments | 2/- les enzymes (protéases) |
| 3/- les vitamines (vitamine C) comme antioxydant | 4/- les microorganismes |
| 5/- les ingrédients aromatiques | 6/- les caroténoïdes (pour développer la couleur) |

Les entreprises spécialisées, dans la production des ingrédients, ont permis de développer des plantes nouvelles de valeur nutritionnelle et aromatique. Cela a engendré quelques fois des produits de mauvaise qualité alors que les associations contre les produits non sécurisés se sont soulevés. Ainsi, l'opinion publique s'est finalement imposée et les idées glorieuses de la FDA et de la Meat Inspection Act ont été spécifiées. Ces amendements ont pris une considération importante cautionnées par les industries, les marchés et les juristes de la FDA.

a/- L'aliment sera donc défini comme tout ce qui se trouve dans la nourriture ou la boisson humaine ou animale. L'aliment est le plus souvent réglé par des ingrédients ; lorsqu'une substance devient un composant d'un autre aliment, il est donc considéré comme un ingrédient. Ainsi, dans l'aliment sont exclus les composants nuisibles pour la santé.

b/- Les additifs alimentaires doivent être jugés pour leur qualité sécuritaire (les acides gras). Ce dernier est administré aux personnes âgées parce qu'il a été promulgué au niveau de la sécurité comme des additifs alimentaires.

II /- PROPOSITION POUR LA REGLEMENTATION AMERICAINE

En 1984, le gouvernement américain, dans sa politique de réglementation de la biotechnologie, publiait un document de cinq pages sous les auspices de l'office de la politique scientifique et technologique (OSTP) qui est un organe du bureau exécutif présidentiel. Ce document constituait les évaluations de la politique des différents organismes envers la biotechnologie de façon générale, et en particulier envers certains produits provenant des procédures biotechnologiques.

Le document de l'OSTP est un guide qui devra réglementer la politique biotechnologique de nos jours et pour le futur. Il se présente en quatre sections dont un préliminaire sur la biotechnologie et des réglementations fédérales, un contexte régulateur et des lois relatives aux produits biotechnologiques, une série d'estimation de trois organismes fédéraux et un discours sur la biotechnologie. Même si le préliminaire présente quelques dangers de la biotechnologie, la partie dominante évoque quant à elle, des estimations optimales. Il s'agit du potentiel économique, social et des profits des outils biotechnologiques à l'humanité.

La commission scientifique de la biotechnologie

Selon OSTP, une nouvelle structure scientifique de consultation est nécessaire pour satisfaire les nombreuses exigences des évolutions scientifiques créées par les besoins de la biotechnologie moderne. Pour satisfaire les exigences, l'OSTP a proposé un mécanisme de consultation scientifique à double volets. Le volet le plus bas consisterait à un comité de cinq consultants qui procèdent des compétences reconnues dans les disciplines liées à la biotechnologie. La commission scientifique de biotechnologie à son tour, est le volet supérieur de la structure prévue par l'OSTP.

Tandis que les comités de consultation scientifique ont un rôle flexible, les commissions scientifiques ont pour fonction de :

- Recevoir et examiner les rapports des comités
- Évaluer leurs examens de procédure
- Diriger les analyses des résultats
- Développer les lignes directrices pour les candidatures et
- Fournir un forum pour le public concerné

Sans aucun doute, le FDA reconnaît que les produits issus des gènes clonés posent des problèmes de sécurité. Cependant, dans les dispositions statutaires, le FDA a la latitude de définir le produit sûr et acceptable.

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 a l'action des microorganismes (bactéries, moisissures ou levures) ou des enzymes pour produire des changements biochimiques souhaites. 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 fermentes.

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 a la dégradation des substrats lors de la fermentation.

En général, les aliments fermentes apportent une large contribution dans les régimes alimentaires a 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

Tableau de Production Microbienne des Ingrédients d'Aliments

INGREDIENTS	FONCTION DANS LES ALIMENTS	MICROORGANISMES
Acide acétique	<ul style="list-style-type: none"> • Acidulant 	<i>Acetobacter pasteurianus</i>
P- Arabitol	<ul style="list-style-type: none"> • Sucre 	<i>Candida diddensii</i>
Beta-Carotène	<ul style="list-style-type: none"> • Pigment 	<i>Blakeslea trispora</i>
Acide citrique	<ul style="list-style-type: none"> • Acidulant 	<i>Ceratoscystis sp.</i>
Diacetyl	<ul style="list-style-type: none"> • Faveur du beurre 	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Dextrine	<ul style="list-style-type: none"> • Epaississant 	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Acide glutamique	<ul style="list-style-type: none"> • Stimulant de flaveur 	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
Leucine	<ul style="list-style-type: none"> • Acide aminé 	<i>Brevibacterium / Lactofermentum</i>
Mannitol	<ul style="list-style-type: none"> • Sucre 	<i>Torulopsis mannitofaciens</i>
Methyl-Butanol	<ul style="list-style-type: none"> • Flaveur du malt 	<i>Lactobacillus lactis sp. Multigenes</i>
Monascine	<ul style="list-style-type: none"> • Pigment 	<i>Monascus purpurea</i>
Mono-Sodium Glutamate	<ul style="list-style-type: none"> • Stimulateur de flaveur 	<i>Carynebacterium glutamicum</i>
L- Phenylalanine	<ul style="list-style-type: none"> • Précurseur de l'Aspartame 	<i>Bacillus polymyxa</i>
Vitamine B12	<ul style="list-style-type: none"> • Vitamine 	<i>Propionobacterium</i>
Xylitol	<ul style="list-style-type: none"> • Edulcorant 	<i>Torulopsis candida</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • 	
	<ul style="list-style-type: none"> • 	

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 sont immobilisées et continuellement utilisées 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 faible teneur en calories.

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 l'arôme 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>
	t	

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/- LES SOUCHES TRADITIONNELLES

1/- Stratégies d'amélioration

En dépit de leurs multitudes d'utilisations dans les systèmes alimentaires ou pour la production des ingrédients, les microorganismes sont dans beaucoup de cas non disponibles. Occasionnellement, une souche peut être isolée et, fonctionner au maximum préalablement du à un événement spontané mutationnel dans une voie métabolique affectée. Les événements de mutations peuvent avoir un effet sur le métabolisme microbien. Cependant, avec la vitesse lente de génération spontanée de mutants (1 mutant pour 10⁵ – 10⁷ cellules / génération), il n'est pas pratique de faire un criblage effectif et, de sélectionner un tel événement rare car cela perd du temps.

Les programmes d'amélioration de souche, impliquant la génération possible de mutants qui exercent mieux certaines fonctions ou produisent des composés spécifiques, ont connu un grand succès.

2/- La mutagenèse

La mutagenèse peut être induite par : les rayons courts ultraviolet, la radiation ionisante (rayon X) et/ou par des agents chimiques (acide nitreux, hydroxylamine, agents alkyl...). Elle est suivie du criblage et, de la sélection pour identifier les souches améliorées. Des rendements au delà de 100 fois ont été obtenus avec de tels programmes d'amélioration de souche. Malheureusement, il y a des limitations significatives aux stratégies d'amélioration de souche. Les procédures de mutation et, de sélection demandent beaucoup de temps. Elles sont fatigantes, chères et n'offrent pas de garantie de performance améliorée.

Finalement, il n'y a pas d'opportunité pour étendre le potentiel génétique des microorganismes par addition de gènes spécifiques.

V /- 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 qu' *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*.

Exemple : les gènes résistants aux antibiotiques sont largement utilisés comme agents marqueurs de sélection sur des vecteurs pour faciliter l'identification des cellules transformées.

Les marqueurs résistants aux antibiotiques, particulièrement les gènes qui accordent la résistance à ces antibiotiques utilisés thérapeutiquement, seraient non acceptables dans les cultures de ferment à cause du transfert potentiel de l'ADN aux microorganismes indigènes ou naturels, déjà présents dans le tube digestif après la consommation de l'aliment fermenté. Le transfert des gènes résistants aux microorganismes potentiellement pathogènes rendrait ces souches résistantes à la thérapie antibiotique et, cela pourrait conduire à des situations de menace de vie.

Il est bien connu que les gènes résistants aux antibiotiques peuvent facilement être transférés entre les microorganismes de l'environnement naturel sous certaines conditions. Ainsi, un outil qui est facilement disponible aux généticiens travaillant sur *E. coli* ne peut pas être utilisé par les biotechnologues des aliments, d'où des stratégies alternatives de sélection méritent d'être développées.

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.

D'autres enzymes produites par des microorganismes génétiquement modifiés pour lesquelles une approbation a vu le jour inclut : les formes de rennin produit par d'autres organismes aussi bien que les enzymes utilisées dans la production de sirop à rendement élevé de fructose. Il est donc signalé que le génie génétique sera utilisé pour améliorer le comportement de beaucoup de microorganismes pour leur usage dans le système agroalimentaire.

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 développée 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

VI/- 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 saveur 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

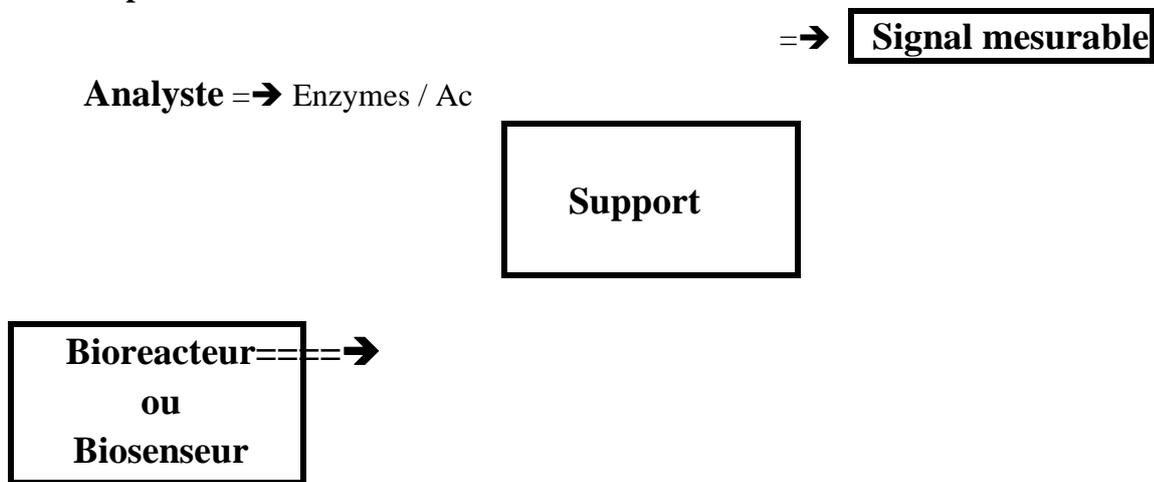
ENZYME	MODIFICATION
Alpha-amylase	Liquéfaction de l'amidon (tolérante a l'acide et thermostable)
Glucose-isomérase	Production de sirop (thermostabilité améliorée du maïs a forte teneur en fructose)

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.



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 biosenseurs. 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, polyclones 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 utilisées 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 épluchures, 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.

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 (CaCO_3) * Phosphate de sodium (NaPO_4)

*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 vélocité 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 CaCo3 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 + NH4NO3 + MgSO4 + KH2PO4
Conditions	* PH = 2-3 * Temperature : 28 a 30 degree C. * Système par immersion * Période : 7 a 10 jours
Extraction	* Addition de CaCo3 pour précipiter l'acide en citrate de Ca * Chauffage * Addition de H2SO4 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

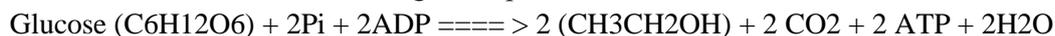
1/-la production, la récolte et le transport de la matière première jusqu'à l'usine

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.

DETECTION ET ESSAIS DES PRODUITS DE FERMENTATION

La séparation secondaire ou même quelquefois primaire exige l'utilisation de bonnes méthodes de détection et d'essais

I/- ESSAIS PHYSIQUES ET CHIMIQUES

Le choix d'un essai particulier à être utilisé dépend, de la sélectivité de la réaction chimique ou, des analyses chimiques impliquées puisque, les milieux de fermentation contiennent beaucoup de composés en addition à ceux qui doivent être déterminés.

Les essais importants sont les suivants: action sur le métabolisme, titration et analyses en gravimétrie, dosage des produits acides ou basiques, analyse de la turbidité, essais spectrophotométriques, chromatographiques...

1/- Action sur le métabolisme

2/- Titration et Analyses en gravimétrie

3/- Dosage des produits acides ou basiques en utilisant des indicateurs colorés

*Les précipités peuvent être lavés, séchés, et pesés pour déterminer la quantité

*Les composants volatils peuvent être distillés

*D'autres composés peuvent être séparés par dilution, adsorption

4/- Analyse de la Turbidité et, détermination de rendement cellulaire

L'insolubilité des cellules microbiennes peuvent donner une idée de la quantité par la méthode colorimétrique.

Les cellules peuvent également être centrifugées et, les volumes de sédiment mesurés

5/- Les Essais Spectro-photométriques

Plusieurs types de spectrophotomètres sont utilisés pour mesurer les montants d'absorption de la lumière visible, par des solutions colorées à des ondes spécifiques dans la marge du visible.

La lumière ultra-violette absorbée par un composé dans la marge d'onde ou, l'intensité de fluorescence émise quand un composé est exposé à cette lumière indique : la quantité du composé (la marge du spectre souvent utilisée est de 350 *mu*)

Pour des composés qui ne réagissent pas avec des réactifs pour former des produits colorés : la méthode de fluorescence est utilisée.

6/- Les Essais par la méthode de Chromatographie sur Papier et, Couche Mince (CCM)

*Papier rectangulaire

*Papier circulaire

7/- Les Essais par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) et/ou Liquide (CPL)

Ils permettent analyse qualitative et quantitative des composés volatils

8/- Les Essais par Spectroscopie Infrarouge, Spectroscopie de Masse ...

II/- ESSAIS BIOLOGIQUES

Les essais biologiques sont essentiellement des essais qui stimulent ou, dépriment la croissance de microorganismes utilisant des enzymes.

1/-Les Essais stimulant ou, déprimant la croissance de germe en utilisant des enzymes.

Comme inconvénients, ils sont difficiles, dotés de beaucoup d'erreurs et, moins répétitifs que les essais chimiques et, physiques.

Des Levures ont été utilisées pour des essais de vitamines et, d'antibiotiques. Plusieurs recommandations sont liées à la manipulation de ces essais

2/- Les Essais de Diffusion

La Diffusion est réalisée sur des milieux solides avec de l'agar, pour des tests de croissance.

Le composé à tester est permis de diffuser à travers le milieu d'une forme circulaire, autour d'un disque tel que la croissance du microorganisme à tester est déprimée ou, stimulée.

La zone est comparée à des zones standards, faites à partir de concentration de composés déjà connus.

3/- Essai de Turbidité et Croissance

L'effet du composé sous test dans un milieu liquide, est mesuré comme turbidité croissante ou décroissante associée au taux de croissance et, à la croissance totale.

La stimulation de la croissance par diffusion de composé à partir d'un disque imprégné similaire aux essais de turbidité permet de mesurer : l'effet du produit de fermentation sur le taux de croissance ou, la croissance totale du microorganisme à tester. On mesure son effet sur les réactions métaboliques que le germe à tester établit pendant sa croissance.

Exemple : Production d'acide, CO₂, évolution de l'absorption d'O₂ et, activité enzymatique
Les essais enzymatiques sont hautement spécifiques, quantitatifs et, permettent de différencier les formes biologiquement actives et, non actives d'un composé.

4/-Essai de Détermination du Point Limite

Pour les croissances microbiennes sous forme de pellicule à la surface ou au fond du milieu, qui ne peuvent pas être dispersées pour une détermination de turbidité, de temps et de température.

Chaque tube est examiné pour la présence ou l'absence de croissance microbienne. Ainsi, la concentration du produit est déterminée. Le montant de dilution auquel le produit de fermentation peut tenir dans le tube et, être capable d'inhiber la croissance du microorganisme.

Exemple : Si le dernier tube qui ne donne pas la présence de croissance dans la série de dilution est de 1/60 dilution du milieu de fermentation alors, on dira qu'il y a environ 60 unités de dilution/ml du composé dans le milieu de fermentation.

Ceci est la valeur lorsque le produit de fermentation vient d'être découvert et, qu'il n'y a pas de composé standard de référence

ECONOMIE DE LA FERMENTATION

I/- MARCHÉ POTENTIEL

Pour les produits obtenus, il faut qu'il y ait une demande ou, un marché pour être vendus

Deux (2) possibilités existent :

- le marché existe déjà, parce que le même ou un produit similaire est déjà vendu
- le marché doit être établi pour des produits nouvellement découverts, après approbation des services de contrôles et, d'inspection.

Des fois, des produits obtenus ne peuvent pas être placés sur le marché, parce qu'ils ont une utilité moindre et, il y a moins de demande donc : difficile pour obtenir des permis de vente.

La préoccupation industrielle pour un nouveau produit, c'est que **le produit doit être capable d'être vendu à bas prix**, c'est-à-dire : être capable de concurrencer sur le marché avec des produits similaires.

La période de demande est difficile à préciser : elle peut être courte parce qu'il y a un autre produit en compétition ou, elle peut être longue.

II/- COÛTS DE FERMENTATION ET COLLECTE DE PRODUITS

La position de l'économie d'un produit de fermentation est fortement liée aux coûts associés à sa production et distribution. Ces coûts sont placés en plusieurs catégories

1/- Constituants du milieu de fermentation (milieu inoculum)

Il est moins cher parce que très peu est nécessaire et, est utilisé seulement pour permettre la croissance rapide des cellules et non, pour convertir une grande quantité de substrat en cellules microbiennes ou, en produits de fermentation.

Toute tentative doit être menée pour trouver des constituants alternatifs à bas prix.

Chaque constituant du milieu peut être sujet à une fluctuation de prix et d'approvisionnement.

Dans ce cas, il faut avoir une source alternative sous la main.

Mais, il faut reconnaître que quelque fois, qu'en fonction l'utilisation de substitut l'on est obligé d'utiliser des souches différentes de microorganismes.

Ce n'est pas seulement les composants du milieu qui constituent la source de coût pour un milieu de fermentation. Certains milieux ont besoin de traitement (élimination de certains composés indésirables, addition d'acide ou base, nécessité d'anti-mousse pour les rendre acceptables aux microorganismes...) ce sont: l'amidon, la protéine, les autres matières biologiques.

En général, les constituants des milieux de fermentation doivent être choisis pour obtenir la plus élevée possible de collecte de produit de fermentation et non seulement obtenir un rendement élevé du produit dans le fermenteur.

2/- Coût de main d'œuvre

Manipulation des cultures, inoculum, production, collecte du produit, purification, maintenance de la pureté du produit, manutention, production de vapeur, maintenance des équipements et le nettoyage, l'administration...

Ce coût de la main d'œuvre varie de fermentation en fermentation et, peut être plus élevé pour les fermentations qui demandent une longue période d'incubation.

3/- Coût de la période d'incubation

-**Coût bas** : courte période d'incubation soit pour l'inoculum proprement dit

-**Coût élevé** : longue période d'incubation, courte période avec main d'œuvre continue, grande potentialité de contamination...

4/-Coût de contamination et stérilisation

Toute contamination aussi minime qu'elle soit, présente un coût additionnel à la fermentation parce que beaucoup de fermentation ne survivent pas à la contamination.

Certaines fermentations sont plus susceptibles à la contamination que d'autres, Certaines fermentations sont plus sensibles aux phages que d'autres. Certaines fermentations qui ne demandent pas la stérilisation, utilisent des méthodes alternatives telles que : le pH acide ou substrats pauvrement attaqués par les contaminants.

Traitement à la chaleur, addition dans le milieu de produits chimiques qui peuvent retarder la croissance des contaminants : tout ceci a un coût additionnel

5/-Coût pour l'augmentation de rendement et collecte des produits

L'habileté d'une fermentation de produits des rendements élevés et, permettent une bonne collecte du produit est d'une importance primordiale dans l'économie de la fermentation.

Ces deux étapes vont de pair car, un bon rendement avec une faible possibilité de collecte est peine perdue. Chercher des moyens pour maintenir la position compétitive du produit de fermentation sur le marché ou accroître aussi le rendement.

6/-Coût pour la pureté du produit

Les produits sont vendus sur le marché à différents niveaux de pureté soit : stérile ou, mélangé à des aliments de bétail.

La pureté a donc un effet de considération sur le coût du produit soit : solvant, produits chimiques solides...

7/-Coûts généraux

Locaux, taxes, assurances, lumière, chauffage, comptabilité, dépréciation, administration... ceux-ci n'affectent pas directement la fermentation.

Le coût de la recherche qui découvre et développe le procédé de fermentation

Le coût de la recherche qui maintient la position commerciale compétitive du procédé

Le coût de recherche de nouvelles souches ou procédé pouvant améliorer l'ancien système

Bien que cher, une industrie ne peut pas s'en passer si elle veut maintenir la position compétitive de son produit sur le marché

8/-Coût des déchets de fermentation

-Les déchets de fermentation vont subir un traitement et, ceci constitue donc un coût :

*soit ils sont acceptés par la commune sous traitement

*soit ils sont traités avant utilisation

*soit l'industrie assure elle-même le maintien des lieux de déchets

Les déchets livrés dans les rivières ou autres ne sont plus permis, à cause des réglementations gouvernementales.

La disposition des déchets inclus :

*le déchet

*le lavage

*les écoulements d'eau

* les détergents...

9/-Capital de démarrage

Un capital est nécessaire pour commencer un nouveau procédé de fermentation. Les dépenses primaires sont associées à l'achat des équipements et, la construction, achat ou location immobilière...L'installation d'un équipement nouveau peut aussi être coûteuse pour un ancien système

10/-Coût de brevets et permis

Que le coût soit cher ou moins coûteux, tout dépend du procédé

11/-Vue d'ensemble

En général, le potentiel économique d'un procédé de fermentation doit prendre en considération toutes ces évaluations pour les coûts immédiats et futurs du développement de son potentiel dans le procédé de fermentation qui peut être transposé à une production à grande échelle.

ANNEXES

**Tableau No 4 : 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 5 : 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 6 : 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>Tricoderma viride</i>

Tableau No 7 : 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>

Tableau No 8 : Effets Positifs du Génie Génétique sur les Activités des Enzymes

ENZYMES	MODIFICATION	NOUVELE PROPRIETE
Subtilisine	Methionine == 222 → Alanine Glycine == 166 → Acides. Aspartique, Glutamique	Plus forte stabilité au blanchiment Spécificité de substrat altéré
T4 Lysozyme	Isoleucine == 3 → Cystéine	Thermostabilité augmentée
Trypsine	Glycine == 226 → Alanine	Spécificité de substrat altéré
Tyrosyl-tARN Synthétase	Cystéine == 35 → Serine	Potassium (K) réduit pour l'ATP, Activité de l'enzyme augmentée
Amidase	Serine == → Phénylalanine et autres	Changement dans la gamme de substrat
Xanthine Déshydrogénase Purine Hydroxylase	⇒ Altération dans les positions relatives des sites catalytiques	Changement dans la gamme de substrat

Tableau No 9 : Suggestions pour l'Activite Enzymatique Améliorée par le Génie Génétique

ENZYME	APPLICATION	UTILISATION AMELIOREE
Alpha-Amylase	Liquéfaction de l'amidon	Tolérant en acide et thermostable
Amylo-Glucosidase	Production de sirop de maïs à forte teneur en fructose	Immobilisée avec une forte productivité
Estérases Lipases Proteases	Développement de saveur	Spécificité du substrat amélioré
Glucose-Isomérase	Production de sirop de maïs à forte teneur en fructose	Thermo-stabilité augmentée
Limoninase	Desamérisation des jus de fruit	Dégradation plus complète de la limonine
Protéase	Refroidissement de la bière	Spécificité du substrat amélioré
Pullulanase	Production de sirop de maïs à forte teneur en fructose	Thermo-stabilité augmentée

Tableau No 10 : Les BIOSENSEURS
Commercialement Disponibles pour l'Analyse des Aliments

COMPOSANT	BIOCOMPOSANT	APPLICATIONS
Glucose	<ul style="list-style-type: none"> • Cellules entières bactériennes • Glucose Oxydase 	Production de mélasses Production de bière ; Différentes fermentations Manufacture de jus de fruit Murissement de la banane
Lactose	<ul style="list-style-type: none"> • Beta-Galactosidase 	Lait frais
Sucrose	<ul style="list-style-type: none"> • Invertase 	Manufacture de Cacao instantané
Lactate	<ul style="list-style-type: none"> • Lactate Déshydrogénase 	Produits Laitiers : Yaourts, Lait caillé
Ethanol	<ul style="list-style-type: none"> • Alcool Déshydrogénase 	Fermentations des boissons alcoolisées
Peptides	<ul style="list-style-type: none"> • Amino-Peptidase 	Hydrolyse de la Caséine
Acide aminé	<ul style="list-style-type: none"> • Acide Aminé Déshydrogénase 	Beaucoup d'aliments
Glutamate	<ul style="list-style-type: none"> • L-Glutamate Oxydase 	Manufacture de sauce de Soja
Aspartame	<ul style="list-style-type: none"> • L-Aspartame ou Alcool Oxydase 	Taux d'édulcorant dans beaucoup d'aliments y compris les sucreries
Acide ascorbique	<ul style="list-style-type: none"> • Ascorbate Oxydase 	Jus de Fruits
Sulfite	<ul style="list-style-type: none"> • Sulfite -Oxydase 	Fruits séchés ; Vin ; Vinaigre ; Jus ; Frites de pomme de terre ; Flocons
Penicilline	<ul style="list-style-type: none"> • Couple Enzyme-Anticorps 	Lait
PHB Ester	<ul style="list-style-type: none"> • P-Hydroxy Benzoate Hydroxylase 	Jus de fruit et, Boissons
	<ul style="list-style-type: none"> • 	

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 degré 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 2 : 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>

Tableau No 3 : Production Microbienne des Ingrédients d'Aliments

INGREDIENTS	FONCTION DANS LES ALIMENTS	MICROORGANISMES
Acide acétique	<ul style="list-style-type: none"> • Acidulant 	<i>Acetobacter pasteurianus</i>
P- Arabitol	<ul style="list-style-type: none"> • Sucre 	<i>Candida diddensii</i>
Beta-Carotène	<ul style="list-style-type: none"> • Pigment 	<i>Blakeslea trispora</i>
Acide citrique	<ul style="list-style-type: none"> • Acidulant 	<i>Ceratascystis sp.</i>
Diacetyl	<ul style="list-style-type: none"> • Faveur du beurre 	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Dextrine	<ul style="list-style-type: none"> • Epaississant 	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
Acide glutamique	<ul style="list-style-type: none"> • Stimulant de flaveur 	<i>Corynebacterium glutamicum</i>
Leucine	<ul style="list-style-type: none"> • Acide aminé 	<i>Brevibacterium / Lactofermentum</i>
Mannitol	<ul style="list-style-type: none"> • Sucre 	<i>Torulopsis mannitofaciens</i>
Methyl-Butanol	<ul style="list-style-type: none"> • Flaveur du malt 	<i>Lactobacillus lactis sp. Multigenes</i>
Monascine	<ul style="list-style-type: none"> • Pigment 	<i>Monascus purpurea</i>
Mono-Sodium Glutamate	<ul style="list-style-type: none"> • Stimulateur de flaveur 	<i>Carynebacterium glutamicum</i>
L- Phenylalanine	<ul style="list-style-type: none"> • Précurseur de l'Aspartame 	<i>Bacillus polymyxa</i>
Vitamine B12	<ul style="list-style-type: none"> • Vitamine 	<i>Propionobacterium</i>
Xylitol	<ul style="list-style-type: none"> • Edulcorant 	<i>Torulopsis candida</i>
	<ul style="list-style-type: none"> • 	
	<ul style="list-style-type: none"> • 	

AVANT PROPOS

Ce manuscrit présente d'abord la notion des branches de la Biotechnologie avec, un accent particulier sur la Biotechnologie Alimentaire.

Un bref aperçu est donné dans le cadre des biosenseurs et, l'utilisation de la biotechnologie pour améliorer la transformation des aliments. Certains milieux de culture et, types de fermentations sont mentionnés.

Des informations sont aussi données sur quelques bases de la fermentation en général et, principalement des aliments.

Ce manuscrit est une propriété de l'auteur et, il met à la disposition des étudiants de **4^{ème} Année de Pharmacie** et, ceux en DESS d'Hygiène Alimentaire de l'FR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Cocody.

Egalement à la disposition des étudiants en Génie Industriel et, en Technologie Alimentaire de la Filière Professionnelle en Technologie Alimentaire (FPTA) du Laboratoire de Biochimie et Sciences des Aliments (LaBSA) de l'UFR BioSciences de l'Université de Cocody.

Cependant, les informations présentées peuvent être bien utilisées par d'autres scientifiques dans le domaine Biologique, de la Médecine et autres secteurs intéressés par le sujet.

Faire des manuscrits pour les étudiants est une tâche de tout enseignant, pour exprimer par écrit, ce que le temps n'a pas permis de donner oralement ou aussi, pour traduire par écrit ce que l'on veut transmettre aux étudiants. Ce manuscrit est l'œuvre de **feu le Professeur AGBO N'zi Georges et, du Dr KOUAME Désiré.**

Espérant ardemment que ce document soit d'un apport technique aux différents lecteurs et utilisateurs, ils invitent chacun à faire les critiques et, les suggestions nécessaires pour une éventuelle réédition plus complète, pertinente et utile de ce document.

Toute reproduction de ce document pour une activité commerciale, sans l'accord des auteurs de ce document fera l'objet d'une poursuite judiciaire.

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** \rightarrow **Glucose** \rightarrow **Glycolyse** \rightarrow $\text{CH}_3\text{-CO-COOH}$ (Pyruvate) \rightarrow **L.D.H / NADH₂** \rightarrow $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$ (**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

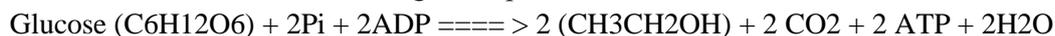
1/-la production, la récolte et le transport de la matière première jusqu'à l'usine

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...

AVANT PROPOS

Ce manuscrit présente d'abord la notion des **branches de la Biotechnologie** avec, un accent particulier sur la Biotechnologie Alimentaire.

Un bref aperçu est donné dans le cadre des **biosenseurs** et, l'utilisation de la biotechnologie pour améliorer la transformation des aliments. Certains **milieux de culture** et, **types de fermentations** sont mentionnés.

Des informations sont aussi données sur **quelques bases de la fermentation** en général et, principalement des aliments.

Ce manuscrit est une propriété de l'auteur et, il met a la disposition des étudiants de **4eme Année de Pharmacie** et, ceux en **DESS d'Hygiène Alimentaire** de l'FR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université de Cocody.

Egalement à la disposition des étudiants en **Génie Industriel et, en Technologie Alimentaire** de la Filière Professionnelle en Technologie Alimentaire (FPTA) du Laboratoire de Biochimie et Sciences des Aliments (LaBSA) de l'UFR BioSciences de l'Université de Cocody. Sans oublier les étudiants du **2eme cycle des grandes écoles** notamment les **Ingénieurs en Qualité dans les Industries Agro-Alimentaires et Bio-Industries** de l'Institut Voltaire de l'Enseignement Supérieur Technique et Professionnel (I.V.E.S.T.P.)

Cependant, les informations présentées peuvent être bien utilisées par d'autres scientifiques dans le domaine Biologique, Médical et autres secteurs intéressés par le sujet.

Faire des manuscrits pour les étudiants est une tâche de tout enseignant, pour exprimer par écrit, ce que le temps n'a pas permis de donner oralement ou aussi, pour traduire par écrit ce que l'on veut transmettre aux étudiants. Ce manuscrit est l'œuvre de **feu le Professeur AGBO N'zi Georges et, du Dr KOUAME Désiré.**

Espérant ardemment que ce document soit d'un apport technique aux différents lecteurs et utilisateurs, ils invitent chacun à faire les critiques et, les suggestions nécessaires pour une éventuelle réédition plus complète, pertinente et utile de ce document.

Toute reproduction de ce document pour une activité commerciale, sans l'accord des auteurs de ce document fera l'objet d'une poursuite judiciaire.