

Biotechnologie et applications (partie alimentaire)



Enseignant de la matière: Dr. AIT CHAUCHE FS

2019/2020

Table des matières



1. La signification économique des micro-organismes

1. Définition.....	3
2. Les processus technologiques.....	4
2.1. La fermentation.....	4
2.2. Le génie génétique.....	4
2.3. Le génie enzymatique.....	4
2.4. La culture « in vitro » de cellules animales ou végétales.....	4
3. Les avantages de l'application industrielle des biotechnologies.....	6
4. Les champs d'application industriels et les marchés en jeu.....	6
5. Les étapes de mise en œuvre des micro-organismes.....	7
6. Quelles sont les propriétés des micro-organismes qui permettent leur utilisation en biotechnologie?.....	8
7. L'intérêt économique d'utilisation des micro-organismes en agro-alimentaire.....	8
8. Inconvénients d'utilisation des micro-organismes.....	8

Objectifs spécifiques du chapitre 1



Au terme de ce premier chapitre, l'apprenant sera capable de:

- Définir le terme de biotechnologie;
- Identifier les principaux processus technologiques utilisés en biotechnologie;
- Analyser le marché mondiale des biotechnologies;
- Comprendre l'intérêt économique d'utilisation des micro-organismes en agro-alimentaire.

La signification économique des micro-organismes



1. 🔑 Définitions

- Sous le terme générique micro-organismes, sont regroupés des êtres vivants microscopiques et ubiquitaires qui représentent la biomasse la plus importante de la Terre. On considère qu'ils sont apparus il y a environ 3,8 milliards d'années et leur mise en évidence, qui a bénéficié des progrès de l'optique, remonte au XVII^e siècle. Les micro-organismes regroupent virus, bactéries, protistes, algues et champignons microscopiques et ils détiennent une place de premier rang dans l'ensemble des biotechnologies et des bio-industries.
- Le terme biotechnologie recouvre l'ensemble des techniques qui exploitent les capacités des micro-organismes, des cellules animales et végétales et de leurs constituants à des fins industrielles.
- Selon la définition retenue par la Fédération Européenne de biotechnologie, « les biotechnologies permettent grâce à l'application intégrée des connaissances et des techniques de la biochimie, de la microbiologie, de la génétique et du génie chimique, de tirer parti, sur le plan technologique, des propriétés et des capacités des micro-organismes et des cultures cellulaires ».
- Les biotechnologies offrent la possibilité de produire, à partir de ressources renouvelables et largement disponibles, une vaste gamme de produits ayant un intérêt alimentaire, médical ou chimique.
- Les biotechnologies transforment en « Technologie » les acquis de la biologie.
- Les industries agro-alimentaires (IAA): Secteur privilégié pour l'application et le développement des biotechnologies.

2. Les processus technologiques

Les biotechnologies mettent en œuvre quatre principaux processus technologiques complémentaires, dans lesquels les micro-organismes interviennent directement ou indirectement:

- La fermentation,
- Le génie génétique;
- Le génie enzymatique,
- La culture « in vitro » de cellules animales ou végétales.

2.1. La fermentation constitue le processus biotechnologique le plus ancien. Elle consiste à transformer une substance d'origine organique sous l'influence d'un ferment. En générale, dans les procédés de fermentation, on cultive des grandes quantité de micro-organismes dans un environnement vigoureusement contrôlé, et à partir des souches sélectionnées ou dont on a modifié les gènes par les techniques génétique. L'objectif est soit de recueillir les micro-organismes eux-mêmes (levure de boulangerie par exemple), soit un sous-produit de la réaction (alcool, antibiotiques...).

2.2. Le génie génétique est la science de la modification du patrimoine génétique du micro-organisme pour lui faire produire une substance ou un effet qu'il n'aurait pas produit à son état initial. Le génie génétique c'est un ensemble de méthodes permettant d'introduire dans un micro-organisme une séquence d'information génétique prélevée chez une toute autre espèce, qui confère à la cellule réceptrice la capacité de synthétiser une molécule totalement nouvelle pour elle ou d'accroître la productivité de cette synthèse.

2.3. Le génie enzymatique: les enzymes c'est des macromolécules biologiques possédant une activité catalytique. Ils sont produits industriellement par les micro-organismes en fermentation.

- ✓ Des Techniques d'immobilisation sur des supports insolubles ont été mises au point pour pallier aux problèmes du coût élevé et de l'instabilité des enzymes.
- ✓ Utilisés dans l'industrie fromagère, dans la brasserie et l'amidonnerie-glucoserie.

2.4. La culture « in vitro » de cellules animales ou végétales: L'utilisation de cellules animales joue un rôle important en biotechnologie: culture de virus pour la production de vaccins, synthèse d'anticorps monoclonaux, ...

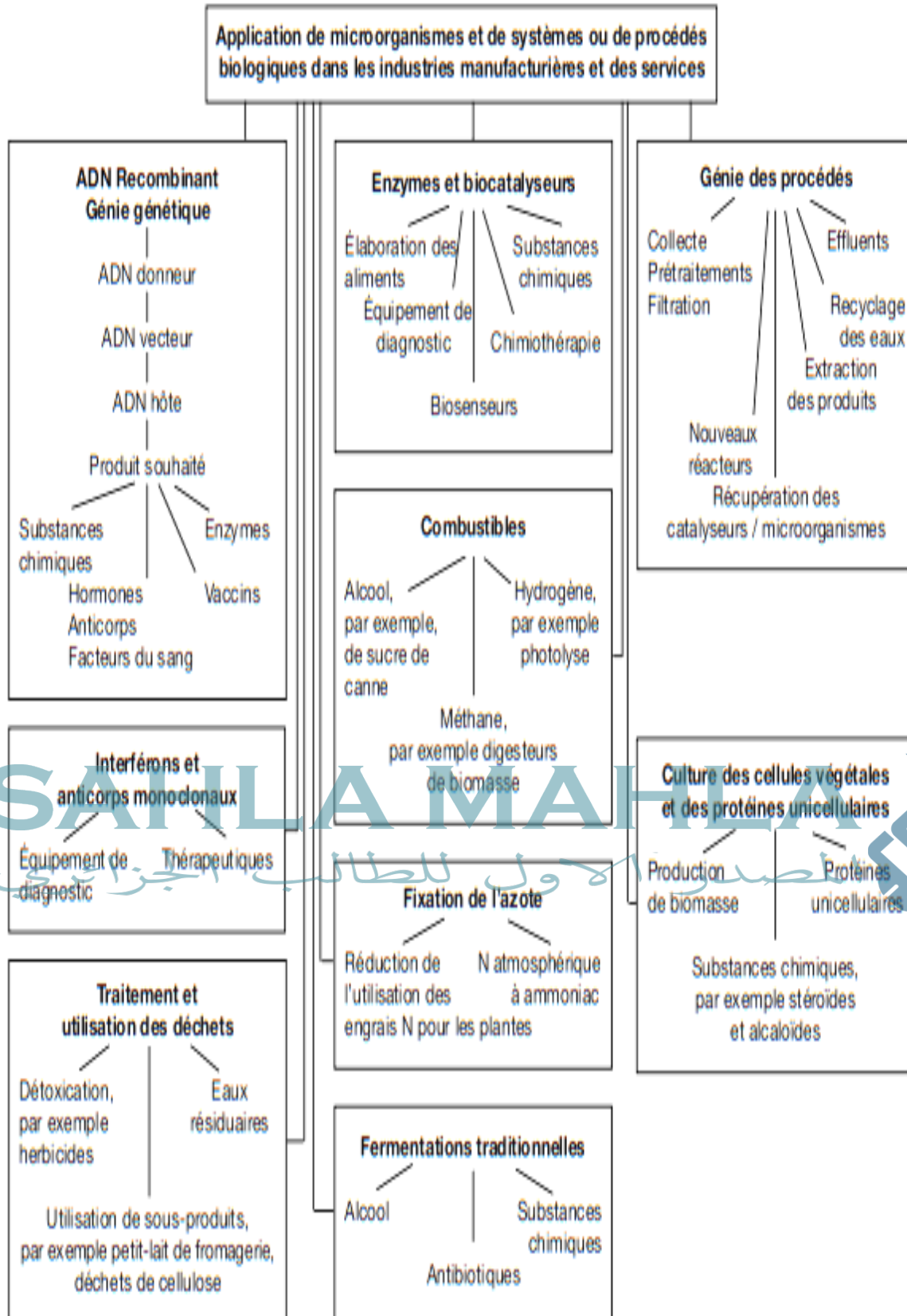


Figure 1: Domaines d'intérêt de la biotechnologie.

3. Les avantages de l'application industrielle des biotechnologies

- ✦ Ils permettent d'une part de produire virtuellement tous les produits chimiques et organiques à partir d'une gamme extrêmement large de matière premières.
- ✦ D'autres part, certaines caractéristiques les rendent économiquement intéressants pour les applications à l'échelle industrielle (Économie d'énergie et suppression des opérations de neutralisation et de recyclage des acides).
- ✦ La biotechnologie a permis aux secteurs industriels d'élaborer des produits nouveaux ou meilleurs, d'économiser du temps et de l'énergie en de nombreuses occasions et d'être plus respectueux de l'environnement.

4. Les champs d'application industriels et les marchés en jeu

- Cinq secteurs sont actuellement concernés par le développement industriel des procédés biologiques mettant en œuvre des micro-organismes: la santé, l'agro-alimentaire, l'agriculture, la chimie et l'énergie.

- La quantification des marchés concernés par les divers produits de ces secteurs fait l'objet d'estimations très variées, en fonction des produits considérés et du degré d'élaboration de ces produits.

المصدر الأول للطالب الجزائري

Tableau 1: Evolution des marchés biotechnologiques mondiaux.

SECTEUR	MONTANT	%
. <u>Agroalimentaire</u> (non compris fermentations traditionnelles)	8 500	39,7 %
dont - SHTV, sirop à haute teneur en fructose)	7 800	
- POU (protéines d'organismes unicellulaires)	400	
. <u>Santé</u>	8 700	40,6 %
dont - antibiotiques	4 500	
- vaccins, produits du sang et réactifs de diagnostic	2 607	
. <u>Chimie</u>	2 075	9,6 %
. <u>Agriculture</u> (semences)	475	2,2 %
. <u>Énergie</u> (bio carburant)	1 650	7,7 %
TOTAL	21 400	100 %

4.1. L'application des biotechnologies dans l'industrie agro-alimentaire

Les biotechnologies sont utilisées depuis des millénaires pour la fabrication du pain, des fromages, de la bière et du vin par fermentation. Cependant, les procédés de production utilisés restaient le plus souvent empiriques si bien qu'il est fréquent de ne pas inclure dans les biotechnologies « modernes » les fermentations traditionnelles qui ont pourtant un poids considérable puisque leur marché au niveau mondial est estimé à 30 milliards de dollars.

Parmi les produits issus de l'application des nouvelles biotechnologies au secteur alimentaire, nous citerons les deux principaux:

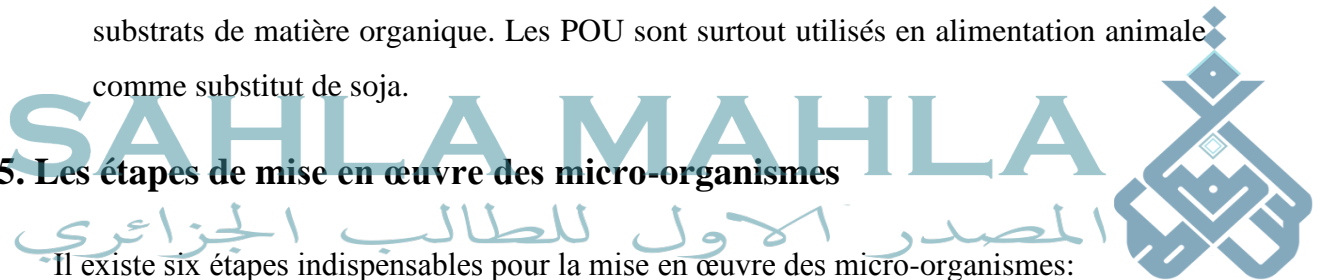
1. **Les sirops à haute teneur en fructose (SHTV)** qui constituent l'essentiel des produits de ce marché (environ 92%). Ils sont produits à partir de l'amidon de maïs et ont réussi à occuper 30% du marché américain du sucre.

2. **Les protéines d'organismes unicellulaires (POU)** constituent le deuxième type de produits occupant une place importante sur le marché des produits alimentaires issus des biotechnologies. Elles sont obtenues par culture des micro-organismes sur des substrats de matière organique. Les POU sont surtout utilisés en alimentation animale comme substitut de soja.

5. Les étapes de mise en œuvre des micro-organismes

Il existe six étapes indispensables pour la mise en œuvre des micro-organismes:

1. La sélection des souches;
2. Amélioration des souches;
3. La connaissance des souches;
4. Choix du procédé;
5. Détection des souches;
6. Contrôle des souches.



6. Quelles sont les propriétés des micro-organismes qui permettent leur utilisation en biotechnologie?

Les propriétés des microbes dans de nombreux domaines sont:

- ⊕ Leur petite taille (permet d'avoir un grand nombre de cellules dans un espace restreint);
 - ⊕ Développement rapide (permet d'avoir un grand nombre de cellules en peu de temps);
 - ⊕ Production de substances utiles (naturellement ou en insérant un gène d'intérêt).
- Dans le domaine alimentaire, les capacités métaboliques de certains microbes sont utilisées pour les procédés de fermentation (production d'alcool, transformation du lait en yogourt ou fromage) et la production de divers aliments.

7. L'intérêt économique d'utilisation des micro-organismes en agro-alimentaire

1. Croissance rapide;
2. Substrat organique bon marché;
3. Bon rendement de culture;
4. Rendement en métabolites élevé;
5. Transformation simple et spécifique;
6. Conservation des propriétés des souches dans le temps;
7. Elaboration de produits faciles à séparer.

8. Inconvénients d'utilisation des micro-organismes

1. Instabilité génétique des souches;
2. Connaissance des souches;
3. Pathogénicité des souches.



Biotechnologie et applications (partie alimentaire)



Enseignant de la matière: Dr. AIT CHAUCHE FS

2019/2020

Table des matières

II. Utilisation des micro-organismes dans les fermentations alimentaires

1. Pain.....	3
1.1. Levures (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>).....	4
1.1.1. Généralités.....	4
1.1.2. Production industrielle de la levure.....	6
1.1.3. Le rôle de la levure dans la fabrication du pain.....	7
1.2. Les levains.....	9
1.3. La fermentation panaire.....	10
2. Fromage.....	11
2.1. Généralités.....	11
2.2. Principaux micro-organismes intervenants dans la fabrication du fromage.....	12
2.2.1. Bactéries lactiques.....	12
2.2.2. Bactéries propioniques.....	13
2.2.3. Les bactéries de surface.....	14
2.2.4. Levures.....	14
2.2.5. Moisissures.....	14
3. Lait.....	15
3.1. Généralités.....	15
3.2. Définition.....	15
3.3. La fermentation lactique.....	16
3.4. Les principaux types du lait fermenté.....	17
3.4.1. Le yaourt.....	18
3.4.2. Le raïb.....	18
3.4.3. Le kéfir.....	18
3.4.4. Le koumis.....	19
3.4.5. Le l'ben.....	19

Objectifs spécifiques du chapitre 2



Au terme de ce deuxième chapitre, l'apprenant sera capable de:

- Définir le procédé de fermentation;
- Décrire les caractéristiques générales de la levure boulangère (*Saccharomyces cerevisiae*) et du levain;
- Maîtriser les différentes phases de la fermentation paninaire;
- Identifier les principaux micro-organismes intervenants dans la fabrication du fromage;
- Comprendre la fermentation lactique et son utilisation dans la fabrication du yaourt, Raïb, Kéfir, Koumis et l'ben.



Utilisation des micro-organismes dans les fermentations alimentaires



+ Généralités

Les fermentations alimentaires, processus utilisés depuis des milliers d'années, sont initialement employées comme système de conservation. Aujourd'hui, une grande part de notre alimentation se constitue d'aliments fermentés : yaourt, pain, fromage, vin...

La fermentation est la transformation de matière organique par des ferments, qui conduit à la modification d'un aliment (propriétés organoleptiques).

■ Les ferments utilisés sont de trois types:

- ✓ les bactéries,
- ✓ les moisissures,

- ✓ les levures.

Chacun de ces microorganismes possède des capacités fermentaires spécifiques menant à des fermentations différentes : alcoolique, lactique, acétique, citrique, propionique.

1. Pain

- La production de pain passe par l'utilisation d'une souche spécifique de levure, *Saccharomyces cerevisiae* aussi appelée levure de boulanger.
- Elle est utilisée pour la fabrication de presque toutes les espèces de pains et de gâteaux traditionnels à la pâte levée.

SAHLA MAHLA

المصدر الاول للطالب الجزائري

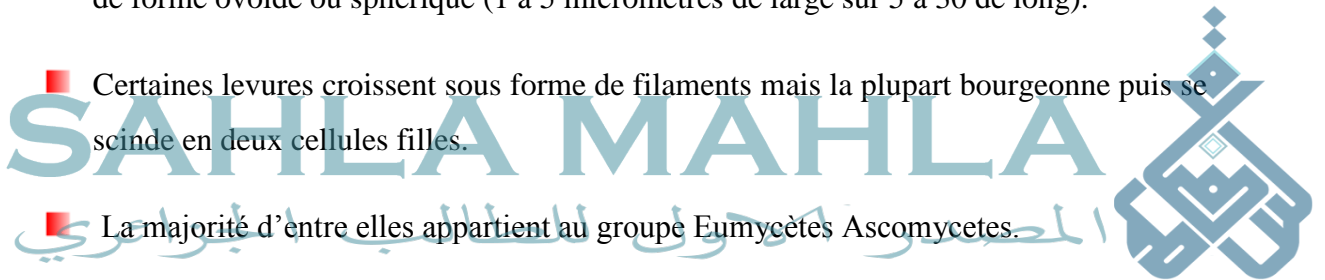


- Cette levure est utilisée pour faire lever la pâte par l'intermédiaire de la fermentation alcoolique qui dégage de fines bulles de dioxyde de carbone au sein de la pâte, ce qui la fait gonfler.
- L'éthanol produit est vaporisé dans le processus de cuisson, tandis que les levures meurent à cause de la haute température.

1.1. Levures (*Saccharomyces cerevisiae*)

1.1.1. Généralités

- L'utilisation des levures est très ancienne et date de l'Égypte antique où les Égyptiens, sans connaître la fermentation utilisaient la levure pour fabriquer leur pain.
- C'est grâce à Louis Pasteur en 1857 que l'on a réellement compris le rôle de la levure dans la fermentation alcoolique.
- Les levures sont des eucaryotes unicellulaires, souvent plus grandes que les bactéries, de forme ovoïde ou sphérique (1 à 5 micromètres de large sur 5 à 30 de long).
- Certaines levures croissent sous forme de filaments mais la plupart bourgeonne puis se scinde en deux cellules filles.
- La majorité d'entre elles appartient au groupe Eumycètes Ascomycètes.
- La levure étant eucaryote, son matériel génétique est composé de 16 chromosomes linéaires, situés dans le noyau.



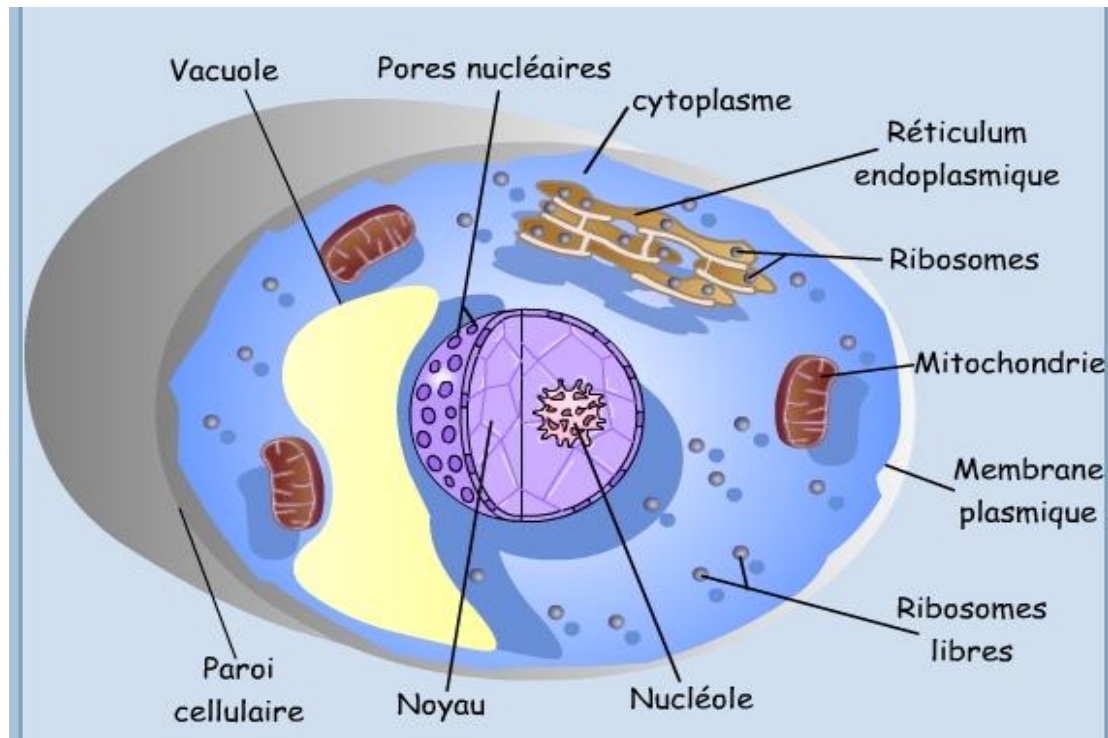


Figure 2: Structure d'une levure.



- La croissance des levures repose à la fois sur une reproduction sexuée et une reproduction asexuée (privilegiée). La reproduction asexuée a lieu grâce à un bourgeonnement des levures.
- Les levures ont aussi la capacité de se développer aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose.
 - ⊕ En aérobiose les cellules effectuent une glycolyse classique et ont une forte vitesse de croissance.
 - ⊕ En anaérobiose elles effectuent la fermentation alcoolique, qui est bien moins rentable énergiquement mais conduit à la formation d'un sous-produit intéressant pour l'Homme : l'éthanol.
- Dans le cadre d'une fermentation, la levure utilise le sucre du milieu extérieur comme substrat.

Complément

Saccharomyces cerevisiae constitue un modèle pour l'étude des levures. Ainsi ces champignons peuvent survivre dans des conditions de vie très diverses:

- ⊕ Température de développement : de 0° à 55°C.
- ⊕ Optimum de croissance : de 12° à 40°C.
- ⊕ pH : croissance possible de pH = 2.8 à pH = 8.
- ⊕ Tolérance presque complète vis-à-vis de la dessiccation (levures sèches).
- ⊕ Tolérance vis-à-vis de la pression osmotique : les levures peuvent pousser et fermenter jusqu'à des concentrations en sucre de l'ordre de 3M.
- ⊕ Tolérance alcoolique : jusqu'à 20% d'alcool.

1.1.2. Production industrielle de la levure

Les industriels produisent la levure en grande quantité et de qualité, afin d'obtenir une force fermentative efficace. Il faut cultiver les levures pendant 10 jours pour pouvoir les récolter en grande quantité. Aujourd'hui les différentes variables influençant le développement des levures sont contrôlées informatiquement, ce qui permet une production plus sûre et automatisée.

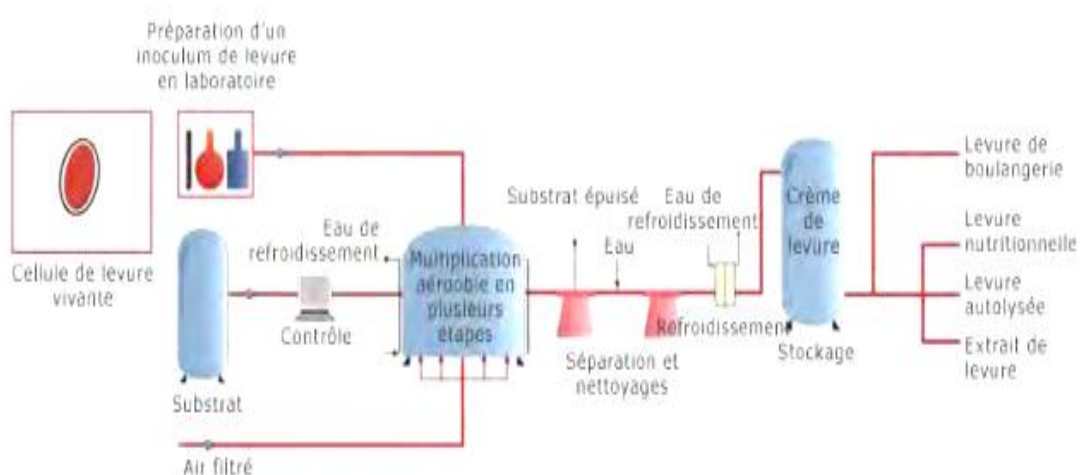


Figure 3: Schéma représentant la multiplication industrielle des levures.

En industries alimentaires la levure peut être utilisée sous différentes formes selon les usages que l'on veut en faire, elle peut être active ou inactive, déshydratée ou fraîche. Les levures inactives ne peuvent cependant pas être utilisées pour la panification. En France, la levure la plus utilisée se présente sous forme pressée, il s'agit de blocs compacts contenant un très grand nombre de cellules. Un cube de 1cm de côté contient 10 milliards de cellules vivantes. Selon les procédés et les pays, différents aspects se retrouvent, tels que la levure liquide, émiettée, sèche active, sèche instantanée et sèche à humidité intermédiaire surgelée.

1.1.3. Le rôle de la levure dans la fabrication du pain

La levure assure la production de dioxyde de carbone au sein de la pâte au cours d'un processus de fermentation. Ce gaz s'accumule dans des alvéoles qui s'épanouissent dans la mie au cours de la cuisson.

Fondamental

- En plus de ces composés majoritaires, éthanol et CO₂, des alcools supérieurs, des aldéhydes, des esters, des acides... sont formés en plus petites quantités et participent qualitativement de façon importante et complexe à la formation des saveurs et de la saveur du pain.

- Lors de la fermentation panariaire, on considère que le milieu est principalement anaérobie. Mais au cours du pétrissage, l'apport d'air et la présence d'oxygène dissous dans l'eau permettent à la levure de fonctionner en aérobiose (respiration).

- La multiplication cellulaire des levures augmente avec l'hydratation des pâtes.
- Le facteur de multiplication est lié à une concentration optimale en levures (=il est plus faible lorsque la concentration en levures augmente, en raison de phénomènes de concurrence dans l'utilisation de l'oxygène et des sucres fermentescibles).

Complément

Deux catégories de sucres sont disponibles dans la farine : les sucres directement fermentescibles contenus dans la farine et les sucres issus de l'hydrolyse de l'amidon (amylolyse).

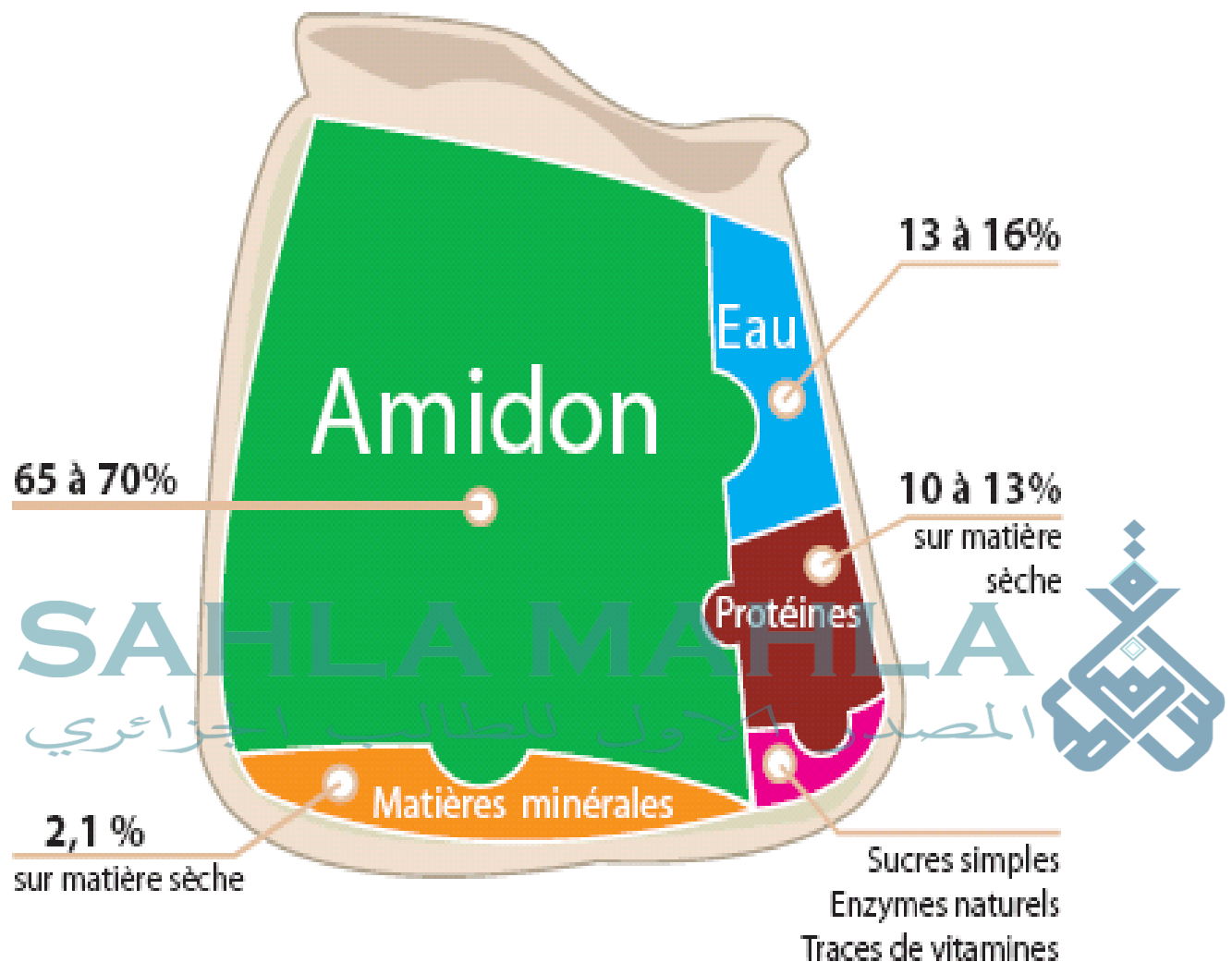


Figure 4: Composition de la farine.

En fermentation anaérobie 95% des sucres consommés par la levure sont transformés en CO_2 et éthanol, le reste est engagé dans des processus de fermentations secondaires précurseurs des principaux composés volatils aromatiques (glucose acide pyruvique éthanol, acides organiques comme l'acide lactique ou encore l'acide acétique, esters et composés carboxylés).

1.2. Les levains

Un levain est un agent fermentatif dont l'activité levurienne est significative pour assurer le développement du pain. C'est une pâte particulière préparée à partir de levures sauvages (non sélectionnées, comme *Saccharomyces candida*) et de bactéries présentes dans les matières premières utilisées et dans l'air ambiant.

Ces microorganismes favorisent une fermentation plutôt acide (prédominance des bactéries lactiques, comme *Lactobacillus*) et produisent des composés aromatiques.

Les levains sont préparés à partir d'une pré-fermentation qui a pour but de sélectionner et multiplier les levures sauvages et bactéries (lactiques essentiellement) présentes dans les ingrédients utilisés.



Complément

- Cette pré-fermentation peut être spontanée ou dirigée (utilisation de starters) ou encore mixte (levain spontané + starter ou levures sélectionnées).

- D'un point de vue législatif, un pain dit au levain ne doit pas contenir plus de 0,2% de levure boulangère sélectionnée (commerciale) ajoutée volontairement dans la pétrissée (soit 0,2% de la farine de la pétrissée à laquelle on ajoute le levain).

- Les levures sauvages ont le même fonctionnement que les levures sélectionnées. La conversion des sucres en acide lactique est la principale voie métabolique fournissant l'énergie aux bactéries lactiques. Cette conversion est également impliquée dans la production de différents composés participant aux propriétés organoleptiques des produits fermentés.

- Deux voies métaboliques ont été décrites pour la fermentation du glucose chez les bactéries lactiques: (1) la voie homofermentaire ou glycolyse qui conduit à la formation de deux molécules d'acide lactique par molécule de glucose; (2) la voie hétérofermentaire par la voie des pentoses phosphates donnant une molécule d'acide lactique, une d'acide acétique et une de CO₂ par molécule de glucose.



1.3. La fermentation panaire

La fermentation de la pâte commence dès le pétrissage et se poursuit jusqu'au début de la cuisson en trois phases distinctes :

- ✓ le pointage,
- ✓ la détente
- ✓ l'apprêt.

Pendant ces phases, la pâte évolue sous l'effet de ses composants (présence de sucres simples préexistants, d'amidon endommagés à la mouture, des enzymes, sel et sucre de la formulation) et de leur mélange, de la température (ambiante et dans la pâte 18° à 45°C) et le taux d'humidité de l'air ambiant.

■ Au moment de la cuisson, la fermentation est activée sous l'effet de la chaleur. Mais à 50°C (dans la mie), la levure est détruite et la fermentation s'arrête.

■ Selon la méthode de pétrissage et/ou de fermentation utilisée, les différentes phases de fermentation sont plus ou moins longues.

N.B. : Une élévation de la température de la pâte de 1°C augmente l'activité fermentative de 10% et plus les quantités de sel ou/et de sucre sont importantes, moins la fermentation est active.

Fondamental

L'objectif de la fermentation est d'optimiser le développement de la pâte en fonction des diagrammes de fabrication retenus et de la qualité de pain souhaitée.

Les durées et les conditions de fermentation doivent être rigoureusement définies et respectées. Un excès ou un manque de fermentation peuvent être dus par exemple à une

température de pâte trop élevée, ou trop basse, ou encore une durée d'apprêt trop longue ou trop courte.

Complément

- Dans les méthodes « indirectes » (utilisant par exemple un levain), le pointage est court car il est précédé d'une longue fermentation des levains. Par contre, l'apprêt est long du fait d'une activité plus lente des agents de fermentation et de leur plus faible population.
- Dans les méthodes « directes », c'est en principe le contraire (pointage long et apprêt court) mais le type de pétrissage a une influence importante. Ainsi, avec un pétrissage intensifié, le pointage peut être considérablement réduit, voire supprimé, et l'apprêt peut être prolongé de manière notable.

2. Fromage

2.1. Généralités

Le fromage est la forme de conservation du lait la plus ancienne. L'extraction d'une partie de l'eau contenue dans le lait au cours de la fabrication du fromage donne un produit plus concentré et plus facile à conserver que le lait fermenté. Il existe environ 4000 variétés de fromages dans le monde, toutes élaborées en quatre étapes selon un même procédé.

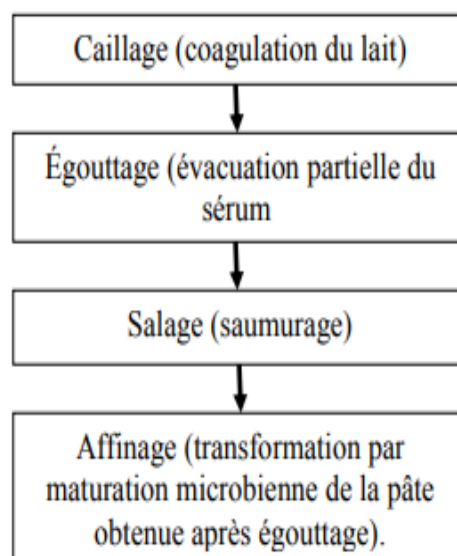


Figure 5: Etapes essentielles de transformation du lait en fromage.

Définition

« Le fromage est le produit affiné ou non affiné, de consistance molle ou semi-dure, dure ou extra-dure, qui peut être enrobé et dans lequel le rapport lactosérum/caséine ne dépasse pas celui du lait, et qui est obtenu : par coagulation complète ou partielle du lait grâce à l'action de présure tout en respectant le principe selon lequel la fabrication du fromage entraîne la concentration des protéines du lait ou par l'emploi de techniques de fabrication entraînant la coagulation des protéines du lait».

Complément

On peut distinguer au moins 4 grandes familles : pâtes dures, pâtes pressées, pâtes molles et pâtes fraîches. La texture va dépendre de la vitesse de progression de l'acidification et l'aromatisation va, quant à elle, dépendre du métabolisme des ferments utilisés.

2.2. Principaux micro-organismes intervenants dans la fabrication du fromage

Les bactéries lactiques ne sont pas les seuls micro-organismes jouant un rôle dans la fabrication du fromage. C'est aussi le cas des bactéries propioniques, des bactéries de surface, ainsi que des levures et autres moisissures.

2.2.1. Bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont ajoutés au lait pour démarrer le procédé de fermentation. Puisque la flore lactique originale du lait est soit inefficace, incontrôlable, imprévisible, ou bien détruite sous l'effet de traitements thermiques auxquels le lait est soumis, les ferments lactiques ajoutés au lait, suite à l'étape de pasteurisation, assurent une fermentation plus contrôlée et plus prévisible.

Les bactéries lactiques assurent deux fonctions essentielles :

- ⊕ Abaisser le pH par la production d'acide lactique aux dépens du lactose du lait
- ⊕ Contribuer au caractère organoleptique des fromages au cours de la maturation.



Complément

- Les bactéries lactiques homofermentaires sont les plus importantes.
- Des streptocoques lactiques mésophiles (comme *Lactococcus lactis*) sont les premiers à se développer. Leur fonction principale est d'acidifier le lait, créant ainsi un milieu défavorable au développement des germes indésirables.
- Les lactobacilles sont relativement peu nombreux au début, mais se multiplient activement durant l'affinage ; ils participent au développement de l'arôme et à l'hydrolyse des protéines du caillé.

2.2.2. Bactéries propioniques

Les bactéries propioniques du genre *Propionibacterium* sont des micro-organismes anaérobies, c'est-à-dire qui se développent en absence d'oxygène dans le milieu. Elles réalisent la fermentation propionique, qui consiste à transformer le lactose en acide propionique et acétique, qui sont à l'origine d'arômes, et produisent du dioxyde de carbone, qui permet l'ouverture des pâtes.

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري

- Si la flore propionique a été réduite par pasteurisation du lait, un réensemencement du lait peut s'avérer nécessaire pour l'ouverture des pâtes.
- Des bactéries appartenant au genre *Propionibacterium* jouent un rôle important dans la maturation des fromages à pâte cuite de type Gruyère.
- Elles sont responsables de la fermentation propionique, c'est-à-dire de la transformation de l'acide lactique en acide propionique, acide acétique et CO₂. L'acide propionique et l'acide acétique sont responsables de la saveur particulière de ces fromages, tandis que le CO₂ dégagé provoque l'apparition d'ouvertures ou "trous" dans la pâte.

2.2.3. Les bactéries de surface

Les bactéries de surface comprennent les microcoques et les bactéries corynéformes (*Corynebacterium*, *Brevibacterium*, *Microbacterium*, *Arthrobacter*). Ces bactéries se développent en aérobie et sont halophiles.



Complément

- La surface des fromages à croûte fleurie ou lavée contient ce type de bactéries, aux propriétés protéolytiques et lipolytiques. Parmi les bactéries corynéformes, on compte notamment *Brevibacterium linens*, responsable de la coloration orangée de certains fromages comme le livarot.

2.2.4. Levures

Les levures se trouvent essentiellement sur la surface des fromages, où elles peuvent participer à la désacidification par consommation des acides.

Les genres le plus fréquemment rencontrés sont *Kluyveromyces*, *Debaryomyces*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Candida* et *Rhodo-torula*.



Complément

- Leur principal effet correspond à la métabolisation de l'acide lactique contenu dans la croûte du fromage. La réduction de la teneur en acide lactique entraîne une remontée du pH, laquelle favorise le développement de bactéries en surface.
- Les levures participent également, grâce à leurs enzymes, à la dégradation des lipides et des protéines, ce qui contribue au développement des composants d'arômes.

2.2.5. Moisissures

Les moisissures jouent un rôle essentiel durant l'affinage de plusieurs fromages. Les moisissures utiles en fromagerie proviennent du genre *Penicillium*, avec :

- ⊕ *Penicillium roqueforti*, que l'on trouve à l'intérieur des pâtes persillées comme le roquefort ;

- ✦ *Penicillium camemberti*, qui est présente sur la croûte du camembert.



Complément

- Elles consomment l'acide lactique et diminuent l'acidité de la pâte de façon encore plus efficace que les levures. Elles produisent des quantités importantes d'enzymes protéolytiques et lipolytiques, et participent de façon déterminante à la saveur de ces fromages de même qu'à l'assouplissement de la pâte.

3. Lait

3.1. Généralités

Tous les laits fermentés résultent du développement des germes particuliers modifiant les composants normaux du lait. L'acide lactique produit à partir du lactose contenu dans le lait permet la coagulation du lait et confère une saveur acide aux produits.

Les caractéristiques propres des différents laits fermentés sont dues à la variation particulière de certains facteurs, tels que la composition du lait, la température d'incubation ou les ferments utilisés.

Ces produits fermentés sont fortement prisés en raison de leur facilité de conservation puisque leur pH acide inhibe une grande proportion des micro-organismes de dégradation ainsi que la plupart des pathogènes.

L'origine géographique du lait fermenté est l'Asie centrale mais on les retrouve dans toutes les zones d'élevages.

Quelques-uns des produits traditionnels (laits fermentés), sont passés au stade de la fabrication industrielle au début du XX siècle, pour la création de nouveaux laits fermentés, mettant en œuvre des micro-organismes différents de ceux qui existent dans les produits traditionnels.

3.2. Définition

La dénomination « lait fermenté » est réservée aux produits laitiers préparés à partir de différents types de laits (écrémé, concentré, en poudre), ayant subi un traitement thermique au

moins équivalent à la pasteurisation,ensemencés avec des micro-organismes appartenant à l'espèce ou aux espèces caractéristiques de chaque produit.

La coagulation des laits fermentés ne doit pas être réalisée par d'autre moyen que l'activité des micro-organismes qui sont utilisées.

3.3. La fermentation lactique

Elle correspond à la transformation du lactose du lait en acide lactique, sous l'action de micro-organismes spécifiques appelés bactéries lactiques. Elle s'accompagne de modifications biochimiques, physico-chimiques et organoleptiques du produit.



Fondamental

- L'objectif de la fermentation lactique est tout d'abord d'augmenter la stabilité du produit, par inhibition des altérations microbiennes et enzymatiques éventuelles et, par conséquent, d'allonger sa durée de conservation.
- Elle permet également d'obtenir des produits sains, c'est-à-dire exempts de micro-organismes pathogènes.
- Enfin, elle confère aux produits obtenus des propriétés nutritionnelles et organoleptiques particulières (texture, arômes, saveur).

SAHLA MAHLA

المصدر الأول للطالب الجزائري



Complément

- Pour que le métabolisme des bactéries dites lactiques puisse se mettre en route, le lait doit avoir la température adéquate. Après l'ensemencement, elles commencent par se multiplier en produisant de la lactase, une enzyme capable de digérer le lactose, c'est-à-dire de le dissocier en glucose et en galactose. Ces deux sucres sont ensuite partiellement transformés en acide lactique.
- Si on laissait le processus se dérouler de manière incontrôlée, l'activité des bactéries lactiques finirait par s'arrêter et une partie d'entre elles mourraient. C'est la raison pour laquelle une fois que le produit a atteint le pH souhaité, il est refroidi de manière à arrêter presque entièrement le processus de fermentation.

- L'acide lactique issu de cette réaction influence l'état des protéines, principalement celui de la caséine. Dans la caséine à l'état natif, les charges positives et négatives à la surface de la micelle s'équilibrent et la fraction protéique reste ainsi dispersée dans le lait en formant une solution colloïdale.
- A mesure que le milieu devient plus acide, le nombre des protons (à charge positive) augmente. Du phosphate de calcium se sépare et, avec la modification de l'équilibre électrique, les micelles de caséine s'agglutinent, phénomène appelé aussi coagulation.

La fermentation du lait entraîne les modifications suivantes:

Tableau 2: Modifications des propriétés du lait fermenté par rapport au lait cru.

Propriété	Modifications par rapport au lait cru
Valeur énergétique	à peu près égale
Teneur en matière grasse	inchangée
Protéines	plus digestes
Vitamines	Teneur légèrement plus faible en raison de la pasteurisation du lait; augmentation de la teneur en acide folique et en niacine, par exemple
Minéraux (Ca, Mn, Zn, P)	Biodisponibilité inchangée
Lactose	mieux toléré grâce à la présence de lactase
Teneur en acide lactique	plus élevée (quantités minimales dans le lait cru)
Bactéries du tractus digestif	certains germes sont capables de survivre dans le gros intestin, où ils peuvent former temporairement des colonies.

3.4. Les principaux types du lait fermenté

Il existe un grand nombre de laits fermentés qui diffèrent par leur matière première, leur flore microbienne, leur technologie, leur texture, leur goût et leur durée de conservation.

Certains sont voisins, mais présentés sous des noms variés. Parmi ces types de produits on trouve : le yaourt, le raïb, le kéfir, le koumis, l'ben.

3.4.1. Le yaourt

Le yaourt est un produit laitier coagulé, obtenu par la fermentation lactique grâce au développement des seules bactéries lactique thermophiles spécifiques dites *Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus* et *Streptococcus thermophilus* ensemencés simultanément.

Ces deux micro-organismes doivent se retrouver vivants et abondants dans le produit final, qui au moment de la vente au consommateur, ne doit pas contenir moins de 0,7g d'acide lactique pour 100g de lait.

3.4.2. Le raïb

Peut être produit du lait cru ou du lait en poudre. Les levains lactiques dégradent le lactose en acide lactique et confèrent par la suite, une acidité favorable à la conservation du produit et à la coagulation de la caséine qui forme un gel avec très peu d'exsudation du lactosérum.

a) Le raïb traditionnel

C'est un lait fermenté, obtenu par acidification naturelle d'un lait cru à une température ambiante. La coagulation est obtenue ou résulte de la flore microbienne originelle et de contamination, avec ou sans additions des acides organiques (citron, vinaigre), pendant une durée variée selon la saison entre 24 heures à 72 heures.

b) Le raïb industriel

C'est un lait entier ou écrémé, pasteurisé, fermenté, obtenu par la fermentation naturelle après ensemencement par des levains lactiques. La coagulation est obtenue par l'activité des ferments lactiques, avec ou sans addition de substances coagulantes (présure, pepsine) pendant une durée de 20 heures à 24 heures à 37°C.

3.4.3. Le kéfir

C'est un lait fermenté alcoolisé, avec un goût fortement acide et de légers arômes de levures et d'alcool. Il est le fruit d'une fermentation lactique par lactobacilles, streptocoques

et d'une levure qui transforme le lactose en alcool. On le retrouve en Asie du sud-ouest, en Europe de l'est.

3.4.4. Le koumis

C'est aussi un lait fermenté alcoolisé auquel on ajoute 2,5% de sucre et est souvent consommé sous forme de boisson. On utilise généralement comme ferment un mélange symbiotique de *Lactobacillus delbruekii ssp bulgaricus* et de levures du genre *Saccharomyces*.

3.4.5. Le l'ben

L'ben est un lait fermenté, résultant du développement de certains microorganismes qui dégradent le lactose en acide lactique ou dans certains cas en alcool éthylique ce qui fait de lui un lait acidifié.



Biotechnologie et applications (partie alimentaire)



Enseignant de la matière: Dr. AIT CHAUCHE FS

2019/2020

Table des matières



III. Métabolites microbiens d'importance économique

1. Enzyme.....	3
1.1. Généralités.....	3
1.2. Définitions.....	3
1.3. La spécificité des enzymes.....	4
1.4. Structure des enzymes.....	5
1.5. Théorie de l'activité enzymatique.....	6
1.6. Nomenclature et classification des enzymes.....	6
1.7. Avantages et inconvénients de l'utilisation des enzymes.....	8
1.7.1. Avantages.....	8
1.7.2. Inconvénients.....	8
2. Ethanol.....	9
2.1. Généralités.....	9
2.2. Procédé de production d'éthanol par <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	9
2.2.1. Le mode discontinu (Batch).....	10
2.2.2. Le mode discontinue alimenté (Fed-batch).....	10
2.2.3. Le mode continu.....	11
3. Acide citrique.....	11
3.1. Généralités.....	11
3.2. Procédés de production de l'acide citrique par <i>Aspergillus niger</i>	11

Objectifs spécifiques du chapitre 3



Au terme de ce troisième chapitre, l'apprenant sera capable de:

- Identifier les métabolites microbiens d'intérêt économique;
- Définir la notion de biocatalyseurs;
- Acquérir des notions de base du génie enzymatique;
- Comprendre le processus de production de l'éthanol par fermentation;
- Maîtriser les procédés industriels de production de l'acide citrique par fermentation.



Métabolites microbiens d'importances économiques



1. Enzyme

1.1. Généralités

Dans les organismes, les réactions biochimiques ne peuvent s'accomplir à des températures très élevées, et la plupart d'entre elles s'effectuent grâce à la présence de catalyseurs organiques, **les enzymes**, les quelles ont donc pour fonction, à l'échelle moléculaire, d'accélérer les réactions thermodynamiquement possibles en abaissant l'énergie d'activation des molécules participantes.

1.2. Définitions

■ **La catalyse** : Accélération d'une réaction provoquée par la présence d'une substance, le catalyseur, qui reste inchangé à la fin de la réaction. Dans une biocatalyse, le catalyseur est une enzyme.

■ **Le catalyseur** : Substance qui accélère des réactions chimiques mais qui n'est pas transformée après la réaction. Il existe des catalyseurs métalliques (zinc, platine...) et des biocatalyseurs, comme les enzymes, qui sont des macromolécules fabriquées par les êtres vivants.

■ **L'enzyme** : Molécule biologique pouvant accélérer la vitesse d'une réaction biochimique thermodynamiquement possible. Les enzymes sont des catalyseurs biologiques ou **biocatalyseurs** (molécules biologiques synthétisées par une cellule vivante) plus efficace que les catalyseurs chimiques.

1.3. La spécificité des enzymes

Les caractéristiques les plus importantes des enzymes sont:

- **Le pouvoir catalytique.**
 - **La spécificité.**
- Leur **pouvoir catalytique** est lié à :
- une fixation optimale du substrat.
 - une stabilisation de l'état de transition.
- La **spécificité** est la capacité d'une enzyme à catalyser une réaction particulière.



Fondamental

- Cela signifie que l'enzyme n'agit que sur une substance spécifique, son substrat, et le transforme invariablement en un produit spécifique.

■ Les enzymes sont hautement spécifiques ce qui s'exprime sur le substrat et sur la réaction catalysée.

■ Une classe d'enzyme ne reconnaît qu'un type de substrat.

- La réaction catalysée est unique. Le rendement de la réaction est souvent de 100% (pas de sous produits).



Complément

- Les enzymes sont énantiosélectives c'est à dire qu'elles reconnaissent un seul des énantiomère du substrat.
- Exemple :
 - ⊕ Les protéases sont spécifiques de l'hydrolyse des liaisons peptidiques impliquant un acide aminé de la série L.

- ✦ Une liaison peptidique impliquant un acide aminé de la série D ne sera pas hydrolysée.
- ✦ Un acide aminé de la série D sera un inhibiteur de la réaction d'hydrolyse.

1.4. Structure des enzymes

Comme toute protéine elles possèdent une forme tridimensionnelle caractéristique. L'enzyme possède une zone en creux, appelée site actif et capable de fixer le substrat et de catalyser la réaction.

Le site actif est constitué d'acides aminés plus au moins éloignés dans la structure primaire de la protéine. La molécule de substrat se fixe sur le site actif de l'enzyme et c'est là que se déroule la réaction. Il est constitué :

- **Un site de reconnaissance ou de fixation**, constitué de quelques acides aminés, qui intervient dans la formation du complexe enzyme-substrat.
- **Un site catalytique**, constitué de 2-3 acides aminés, qui intervient dans la réaction biochimique.

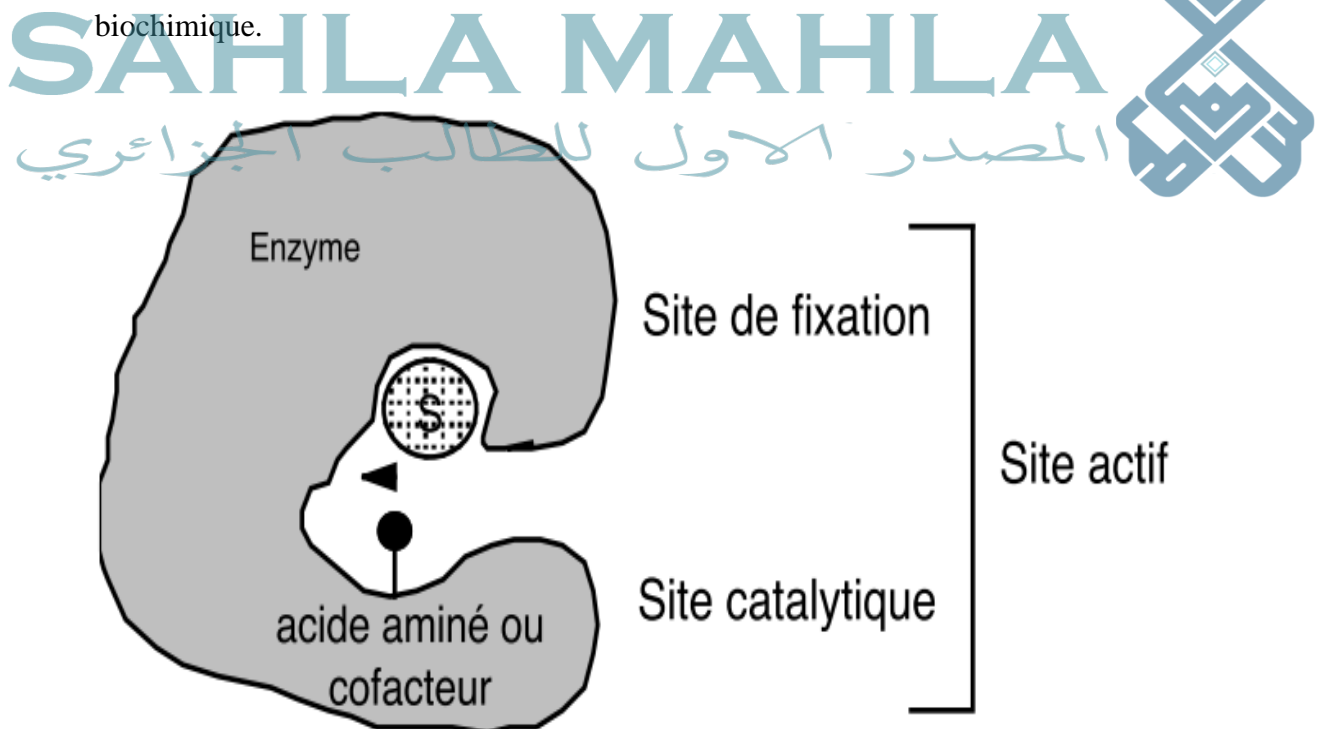


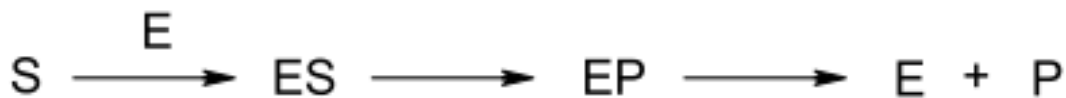
Figure 6: Représentation schématique d'une enzyme.

1.5. Théorie de l'activité enzymatique

- La fonction d'une enzyme **E** est de catalyser une réaction chimique conduisant d'un substrat **S** à un produit **P** :



- L'activité enzymatique se manifeste donc par une accélération des vitesses de réaction en présence de l'enzyme, par rapport à la réaction, non catalysée. Une décomposition des étapes réactionnelles, intégrant la formation du complexe enzyme-substrat peut être :



Complément

SAHLA MAHLA

- Pour agir les enzymes se lient de manière transitoire au substrat au niveau du site actif (= région de l'enzyme où s'effectue la catalyse).

- La formation du complexe enzyme-substrat est indispensable au démarrage de la réaction chimique, c'est au sein de ce complexe que se produit la formation d'un produit de réaction **P**.
- Le complexe **ES** est temporaire et se dissocie dès que la réaction est terminée, l'enzyme est alors libérée et pourra se fixer sur une autre molécule de substrat.
- L'activité de l'enzyme détermine la vitesse de la réaction. Lorsque le substrat est en excès par rapport à l'enzyme, l'apparition du produit (ou la disparition du substrat) est linéaire au cours du temps.

1.6. Nomenclature et classification des enzymes

Le nom de l'enzyme indique à la fois le substrat et la réaction catalysée.

- glucose-6 phosphatase : l'enzyme hydrolyse la liaison ester-phosphate en C-6 du glucose ;
- glucokinase : l'enzyme transfère un groupe phosphate de l'ATP au glucose.

La Commission des enzymes (*Enzyme Commission*) a établi une classification qui attribue à chaque enzyme un nombre à quatre chiffres (E.C. X.X.X.X) en fonction :

- ⊕ de la réaction chimique ;
- ⊕ de la classe de réaction ;
- ⊕ de la sous-classe ;
- ⊕ des caractéristiques de l'enzyme.

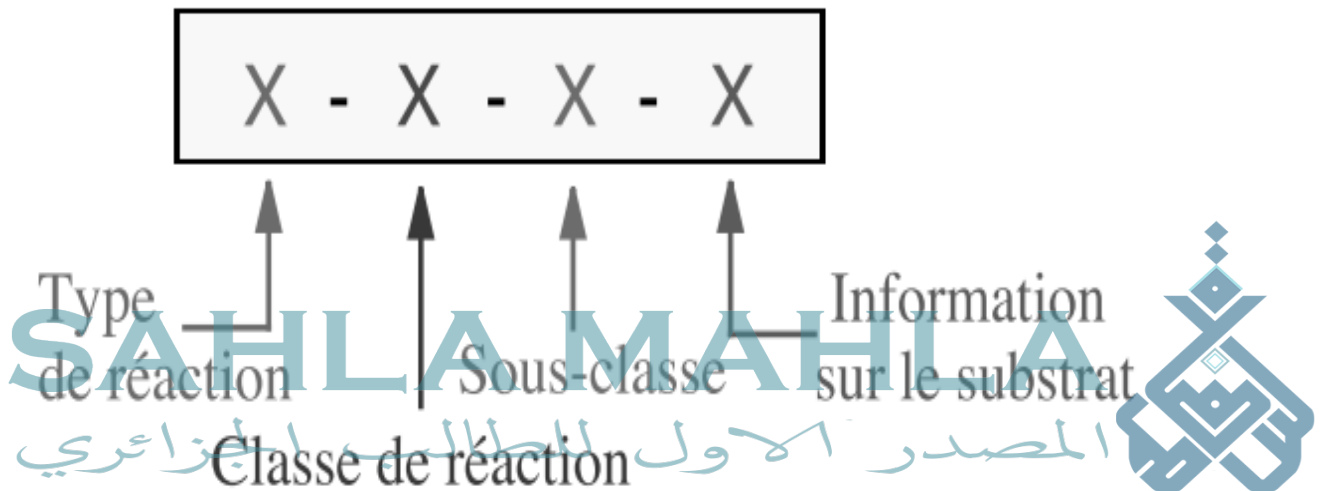


Figure 7: Nomenclature des enzymes.

Complément

On classe les enzymes en six groupes selon le type de réaction catalysée.

- **EC 1** : oxydoréductases (catalysent les réactions d'oxydoréduction).

Exemple: catalase EC 1.11.1.6.

- **EC 2** : transférases (transfèrent un groupement fonctionnel, un phosphate par exemple).

Exemple: pyruvate Kinase EC 2.7.1.40.

- **EC 3** : hydrolases (catalysent la coupure de liaisons avec consommation de H₂O).

Exemple: alpha amylase EC 3.2.1.1.

- **EC 4** : lyases (catalysent la coupure de liaisons sans consommation de H₂O).

Exemple: aspartate ammonia lyase EC 4.3.1.1.

- **EC 5** : isomérase (catalysent les réactions d'isomérisation dans une molécule).

Exemple: glucose isomérase ou épimérase.

- **EC 6** : ligases (catalysent la formation de liaisons covalentes entre deux molécules).

Exemple: pyruvate carboxyla

1.7. Avantages et inconvénients de l'utilisation des enzymes

1.7.1. Avantages

- Vitesse de réaction plus grande.
- Haute et double spécificité des enzymes (ils sont fortement régio, stéréo et énanti-sélectives).
- Diversité des substrats.
- Les biocatalyseurs permettent d'opérer dans des conditions plus douces que celles des réactions chimiques non catalysées, en terme de pH, température et milieu aqueux.
- L'action conjuguée de différentes enzymes.
- Procédé compatible avec l'environnement : peu de résidus et solvants aqueux.

1.7.2. Inconvénients

- Instabilité de l'enzyme.
- Inhibition par le produit de réaction.

- Coût élevé des enzymes.
- Dépendance aux cofacteurs.
- Solubilité (des substrats organiques dans l'eau).
- Spécificité trop forte.

2. Ethanol

2.1. Généralités

L'éthanol, molécule de formule développée C_2H_5OH comporte deux atomes de carbone liés (C), l'un portant trois atomes d'hydrogène (H), l'autre deux atomes d'hydrogène et une fonction hydroxyle (OH).

2.2. Procédé de production d'éthanol par *Saccharomyces cerevisiae*

Le bioéthanol peut être produit par fermentation alcoolique de substrats riches en sucres (canne à sucre, betterave sucrière, etc.) ou en amidon (maïs, orge, blé, pomme de terre, etc.). Ce procédé transforme des sucres fermentescibles par des levures en alcool et gaz carbonique avec dégagement de chaleur. Il existe un grand nombre de microorganismes utilisés pour la fermentation. Cependant peu sont réellement compétitifs en termes de rendement en éthanol par rapport au substrat consommé, de capacité fermentaire, de tolérance élevée à l'éthanol et d'adaptation aux conditions de fermentation. L'espèce la plus utilisée au niveau industriel est *Saccharomyces cerevisiae*. Elle transforme le glucose en éthanol. Actuellement, aucun autre micro-organisme n'atteint ses performances sur glucose en conditions non stériles, à savoir un rendement de l'ordre de 0,47 g d'éthanol par g de glucose, une productivité supérieure ou égale à 5 g/l.h, et des concentrations finales en éthanol voisines de 10% en volume.



Complément

Le bioéthanol est produit principalement par trois types de fermentation, discontinue (batch), discontinue alimentée (fed-batch) et continue.

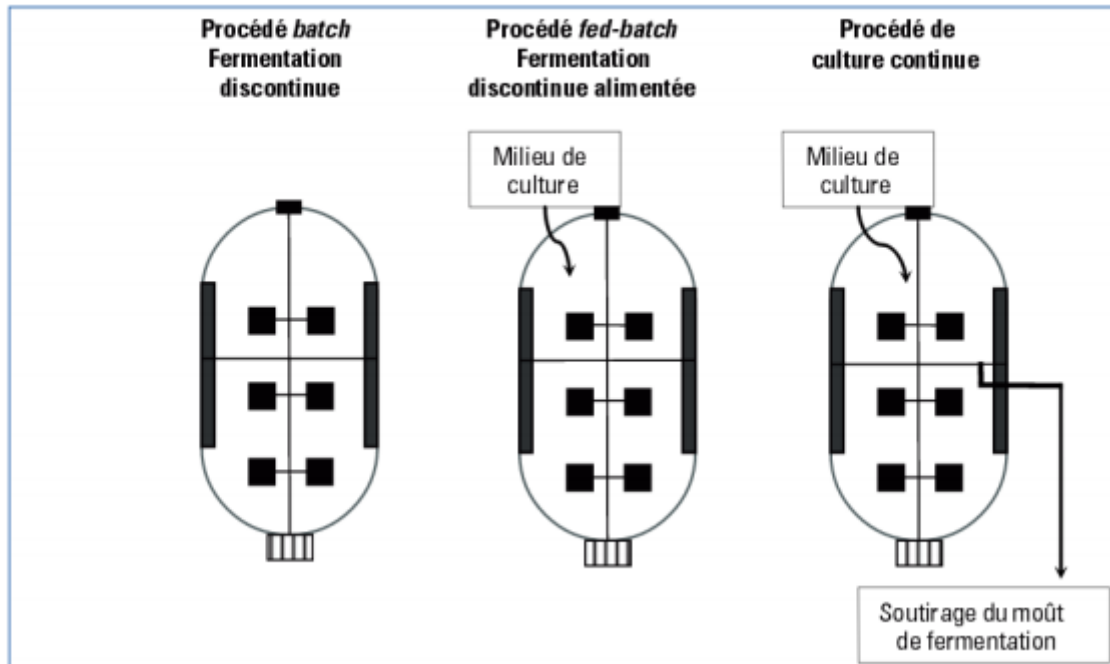


Figure7 : Représentations schématiques des différents types du procédé de fermentation .

2.2.1. Le mode discontinu (Batch)

Dans ce mode de fonctionnement la totalité des éléments nutritifs nécessaires à la croissance biologique est introduite lors du démarrage de la réaction. Aucun apport ni prélèvement (excepté bien sûr pour quelques mesures hors lignes éventuellement) n'est réalisé par la suite et la réaction se déroule à volume constant. Les seules actions possibles de l'opérateur ne concernent que les variables d'environnement (pH, température, vitesse d'agitation, aération,...). Peu de moyens sont ainsi nécessaires à sa mise en œuvre, ce qui en fait son attrait du point de vue industriel. Il souffre cependant d'un inconvénient majeur : l'apport initial d'une quantité élevée de substrat inhibe généralement la croissance des microorganismes qui le consomment, ce qui se traduit par des durées de traitement al longées, et limite la charge initiale admissible.

2.2.2. Le mode discontinue alimenté (Fed-batch)

Tout en nécessitant un dispositif de stockage des affluents, ce mode de fonctionnement se distingue du précédent par un apport des différents éléments nutritifs au fur et à mesure des besoins constatés des micro-organismes. La variation du volume du milieu réactionnel est donc une fonction directe de l'état d'avancement de la réaction. Ce mode permet essentiellement d'éviter les problèmes d'inhibition associés au mode précédent, et de fonctionner à des taux spécifiques de croissance proches de leur valeur maximale.

2.2.3. Le mode continu

Caractérisé par un volume réactionnel constant, il est soumis à un soutirage de milieu réactionnel égal au flux d'alimentation en matière nutritive (en employant une régulation de niveau). Les procédés continus fonctionnent en régime permanent, en maintenant, pour des conditions d'alimentation fixées, le système dans un état stationnaire, en évitant tout phénomène inhibiteur grâce à l'effet de dilution dû à l'alimentation. Ces modes de fonctionnement permettent en outre des productions importantes dans des réacteurs de taille réduite et ne nécessitent pas d'importants dispositifs de stockage en amont, contrairement aux modes précédents.

3. Acide citrique

3.1. Généralités

L'acide citrique (acide 2-hydroxy-1,2,3-propanetricarboxylique) est très diffus dans la nature. Les premiers équipements industriels remontent au début du siècle. Ils produisaient l'acide citrique par extraction à partir de citrons (qui en contiennent de 7 à 9 %) ; jusqu'à 1920, plus de 90 % de la production mondiale d'acide citrique était réalisée en Italie. À cette époque le procédé industriel par fermentation, en utilisant *Aspergillus niger* comme micro-organisme producteur et le sucre comme matière première commença à se développer en Europe et aux États-Unis. De nos jours, l'acide citrique est produit par des techniques de fermentation « en surface » et « submergée » et il est utilisé essentiellement dans l'agro-alimentaire.

3.2. Procédés de production de l'acide citrique par *Aspergillus niger*

Le procédé discontinu (batch) par la technique industrielle de fermentation submergée est pratiquement le seul utilisé actuellement pour les champignons. Dans ce mode de fermentation, un même volume de milieu sert à réaliser les phases de croissance, de production et d'accumulation de l'acide citrique. La fermentation est réalisée dans les conditions suivantes : maintien de la vie du milieu en aérobiose, brassage continu du milieu (pour que la culture soit homogène et que l'oxygène se dissolve bien) et maintien de la température constante grâce à un système efficace et bien contrôlé.