

## I. Biotechnologie microbienne

### I.1. Introduction

Les microbes (les bactéries, les champignons, les protozoaires, les microalgues et les virus) vivent dans des milieux familiers tels que le sol, l'eau, les aliments et les intestins d'animaux, ainsi que dans des milieux plus extrêmes tels que les rochers, les glaciers, les sources chaudes et les cheminées sous-marines. Donc, ce sont des organismes ubiquitaires qui représentent la biomasse la plus importante de la Terre. La grande variété d'habitats microbiens reflète une énorme diversité de caractéristiques biochimiques et métaboliques qui sont apparues par variation génétique et sélection naturelle dans les populations microbiennes.

La biotechnologie microbienne, rendue possible par l'étude du génome, conduira à des percées telles que l'amélioration des vaccins et des outils de diagnostic des maladies, l'amélioration des agents microbiens pour la lutte biologique contre les parasites des plantes et des animaux, la modification des agents pathogènes des plantes et des animaux pour en réduire la virulence, le développement de nouveaux catalyseurs industriels et d'organismes de fermentation, et le développement de nouveaux agents microbiens pour la biorestauration des sols et des eaux contaminés par les eaux de ruissellement agricoles.

Les micro-organismes sont souvent utilisés en biotechnologie. Leur coût plus faible, la facilité à les produire en grande quantité, leur rapidité de croissance, leur sécurité accrue ainsi que la facilité à les manipuler génétiquement pour qu'ils produisent les molécules désirées en sont les principales raisons.

Les utilisations des micro-organismes pour une production de biens grâce à des procédés de biotechnologie sont nombreuses : production de biomasse, production de substances natives ou recombinées (métabolites primaires ou secondaires, produits pharmacologiquement actifs, vaccins, molécules régulatrices et autres), etc.

### I.2. Le métabolisme bactérien

Pour assurer sa croissance, sa survie ou son fonctionnement, une bactérie doit trouver dans son environnement de quoi satisfaire ses besoins nutritifs : sources d'énergie, de carbone, d'azote, des ions minéraux etc... Ces éléments doivent être apportés dans un milieu avec des conditions physicochimiques favorables (température, pH, pression osmotique, besoin en oxygène etc..).

Le métabolisme est l'ensemble des réactions biochimiques mises en jeu par un organisme pour permettre sa croissance (figure). Il comprend d'une part, des réactions de dégradation de substrats (catabolisme) et d'autre part, des réactions de biosynthèse de substrats (anabolisme). Ces deux types de réactions nécessitent toujours l'intervention de catalyseurs qui sont des enzymes.

Le métabolisme microbien se caractérise par certaines particularités :

- Tous les processus métaboliques se déroulent dans un organisme unicellulaire
- Il est non compartimenté
- Le métabolisme microbien est flexible (les bactéries s'adaptent rapidement aux conditions du milieu)
- Il se caractérise par l'intensité des processus métaboliques

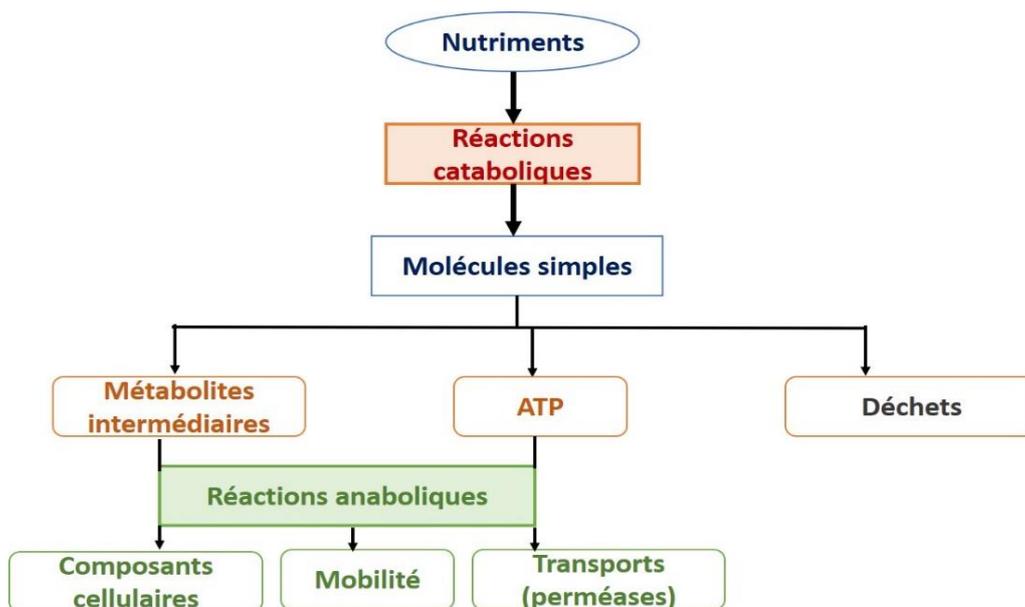
Les produits libérés par le métabolisme au cours d'une phase de croissance (trophopase) sont appelés « métabolites primaires » quelle que soit leur origine, catabolisme ou anabolisme : il s'agit des produits non spécifiques et essentiels pour les fonctions métaboliques primaires ou pour la physiologie (acides aminés, nucléotides, vitamines, acides organiques, éthanol). « Les métabolites secondaires » sont des molécules généralement produites par des organismes après la phase active de croissance, lors de la phase appelée idiophase. Ils ne sont pas directement impliqués dans le développement ou la reproduction cellulaire (antibiotiques, polysaccharides, toxines, ect.). Leur absence n'entraîne pas une mort immédiate mais peut limiter la survie.

La connaissance du métabolisme a un double intérêt, industriel et taxonomique. L'intérêt industriel se résume en :

- la connaissance des molécules produites par le microorganisme et utiles à l'homme (antibiotiques, acides, éthanol ...).
- la fabrication d'aliments (fromages, vin, bière, pain...) et la conservation de certaines denrées alimentaires.

D'autre part l'intérêt taxonomique se résume en :

- la connaissance de la capacité à réaliser certaines réactions biochimiques précises qui sont des critères essentiels dans l'identification et la classification (ou Taxonomie) bactérienne.



**Figure :** schéma simplifié montrant la relation entre l'anabolisme et le catabolisme.

La bactérie produit de l'énergie au cours du catabolisme par le biais de réactions exergoniques. Pour éviter toute perte sous forme de chaleur, ces réactions exergoniques (productrices d'énergie) sont couplées à des réactions dites endergoniques (absorbent l'énergie). L'énergie est ainsi emmagasinée dans des molécules d'ATP ou immédiatement consommée dans une réaction qui nécessite de l'ATP.

L'énergie constitue la plaque tournante du métabolisme cellulaire. Le monde microbien présente une grande diversité dans les sources d'énergies utilisables. Certains micro-organismes aérobies ressemblent aux cellules animales et synthétisent leur ATP à partir de sucres dégradés via la

glycolyse et le cycle de Krebs par une chaîne respiratoire membranaire très semblable à celle des mitochondries. D'autres, anaérobies, tirent leur énergie de la fermentation des sucres ou d'une chaîne de transport d'électrons qui utilise un composé autre que l'O<sub>2</sub> comme accepteur final d'électrons.

### I.2.1. Le métabolisme énergétique

Pour pouvoir transformer des aliments et fabriquer leur matière vivante, les microorganismes doivent se procurer de l'énergie. Il s'agit bien entendu d'une énergie chimique qui est stockée dans les cellules essentiellement sous forme d'ATP. L'énergie peut provenir de deux modes de transformation : On définit alors deux types trophiques :

- Transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique (phototrophes ou photosynthétiques).
- Ou d'énergie chimique (chimiotrophes) soit par : respiration ou fermentation.

#### I.2.1.1. Les types trophiques

Sur la base de la source d'énergie, on distingue les bactéries chimiotrophes et les bactéries phototrophes. Les bactéries chimiotrophes puisent leurs énergies des réactions chimiques d'oxydoréduction. Si les composés (donneurs d'électrons) sont inorganiques comme H<sub>2</sub>S, H<sub>2</sub>, Fe<sup>2+</sup> ou NH<sub>3</sub> ..., les bactéries sont dites chimiolithotrophes. Si le donneur d'électron est organique, elles sont dites chimioorganotrophes. La réaction type peut se résumer comme suit :

D = donneur électrons ; A = accepteur d'électron



Les bactéries phototrophes puisent leur énergie de la lumière. Si la source d'électrons est minérale, les bactéries sont dites photolithotrophes, si la source d'électrons est organique, les bactéries sont dites photoorganotrophes.

Sur la base de la source de carbone, Si la source est le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) les bactéries sont dites autotrophes, c'est le cas des bactéries phototrophes et la plupart des bactéries chimiolithotrophes. Si la source de carbone assimilable est un substrat organique, ces bactéries sont qualifiées d'hétérotrophes. Les bactéries hétérotrophes peuvent dégrader de nombreuses substances hydrocarbonées : alcools, acides organiques, sucres ou polyholosides. La liste des substrats carbonés utilisables par une souche bactérienne comme unique source de carbone et d'énergie constitue l'auxanogramme de la souche. Les photoautotrophes sont photosynthétiques. On peut citer les cyanobactéries, les bactéries vertes, les bactéries pourpres non sulfureuses.

La photosynthèse bactérienne est différente de celle des végétaux supérieurs. Les pigments et les donneurs d'électrons sont également différents (hydrogène, soufre, jamais l'eau comme chez les plantes). Les photohétérotrophes sont photosynthétiques et puisent le carbone de composés organiques. Les chimioautotrophes, n'ont besoin ni de matière organique, ni de lumière du soleil. Ils puisent leur énergie de substance inorganique et transforment le CO<sub>2</sub> en matière organique. On peut citer les bactéries méthanogènes (Archeae) qui synthétisent le méthane (CH<sub>4</sub>) à partir de CO<sub>2</sub>. Les chimiohétérotrophes puisent leur énergie et leur carbone des substances organiques. C'est le cas de la plupart des bactéries d'intérêt médical (pathogènes).

**Tableau** : Les différents types trophiques.

| <i>Type du besoin</i>         | <i>Nature du besoin</i>                                 | <i>Type trophique</i> |
|-------------------------------|---|-----------------------|
| <i>Source d'énergie</i>       | <i>Rayonnement lumineux</i>                             | <i>Phototrophe</i>    |
|                               | <i>Oxydation de composés organiques ou inorganiques</i> | <i>Chimiotrophe</i>   |
| <i>Donneur d'électrons</i>    | <i>Minéral</i>  | <i>Lithotrophe</i>    |
|                               | <i>Organique</i>  | <i>Organotrophe</i>   |
| <i>Source de carbone</i>      | <i>Composé minéral</i>                                  | <i>Autotrophe</i>     |
|                               | <i>Composé organique</i>                                | <i>Hétérotrophe</i>   |
| <i>Facteurs de croissance</i> | <i>Aucun besoin</i>                                     | <i>Prototrophe</i>    |
|                               | <i>Nécessaires</i>                                      | <i>Auxotrophe</i>     |

### I.2.1.2. La Respiration

La respiration est l'ensemble des voies métaboliques au cours desquelles l'oxygène moléculaire ou des composés oxygénés inorganiques ou ioniques jouent le rôle d'accepteur d'électrons et d' $H_2$  dans les réactions redox. Ces voies sont liées à la membrane cytoplasmique de la bactérie. L'énergie est produite par phosphorylation dite oxydative et libérée par paliers via une chaîne de transfert d'électrons ; Le bilan énergétique est élevé.

➤ La respiration se fait en 2 étapes :

- 1) Le cycle tricarboxylique de Krebs, avec libération de  $CO_2$  par oxydation couplée à la réduction de 3  $NAD^+$  et de 1  $FAD^+$  par tour de cycle.
- 2) La chaîne respiratoire avec coenzymes de déshydrogénases, Quinones et Cytochromes.

Selon l'accepteur final d'électrons et d' $H_2$ , on peut distinguer :

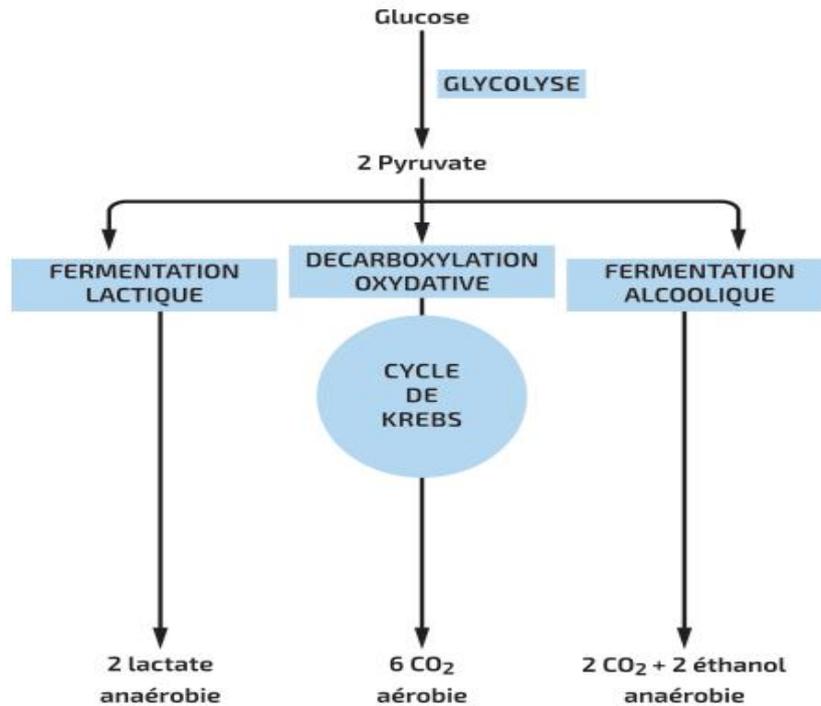
- 1) Dans la respiration aérobie, l'accepteur final est l' $O_2$ .
- 2) Dans la respiration anaérobie, l'accepteur final est un composé inorganique ou ionique ( $NO_3^-$ , fumarate).

### I.2.1.3. La fermentation

La fermentation est une oxydation biologique au cours de laquelle l'accepteur final d' $H_2$  et d' $e^-$  est un composé organique. Les voies fermentaires se déroulent au sein du cytoplasme bactérien. L'énergie est produite par phosphorylation au niveau du substrat. Le bilan énergétique est réduit.

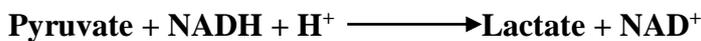
- La première étape comporte les différentes voies du métabolisme intermédiaire qui aboutissent au pyruvate.

- Puis viennent les réactions de réduction du pyruvate qui différentient les bactéries fermentaires car elles conduisent à des produits finals divers, soit uniques, soit plus souvent mélangées.



#### a) Fermentation lactique (ou « homolactique »)

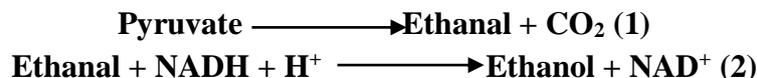
C'est le cas le plus simple : le pyruvate sert d'accepteur d'électrons et d'hydrogène pour la réoxydation du NADH :



Il s'agit de la principale fermentation permettant la transformation du lait en yaourt ou en fromage frais. Elle est présente chez de nombreuses espèces de bactéries lactiques tels que les streptocoques et les *Lactobacillus*.

#### b) Fermentation éthanolique (ou « alcoolique »)

Le pyruvate est décarboxylé en éthanal (1), qui est ensuite réduit en éthanol (2) :



Cette fermentation, pratiquée par de nombreuses levures (dont *Saccharomyces cerevisiae*), permet la fabrication du pain et de boissons alcoolisées telles que le vin ou la bière.

#### c) Fermentation acétique

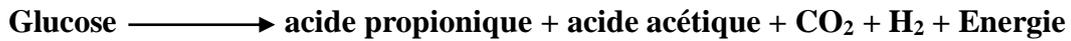
Il se forme de l'acide acétique (acide éthanoïque) à partir de l'éthanol en présence d'oxygène.



La bactérie responsable de l'acétification est du genre *Acetobacter*. Les bactéries acétiques forment une couche à la surface appelée la mère du vinaigre (biofilm composé d'amas cellulaire).

#### d) Fermentation propionique

De l'acide propionique (acide propanoïque), de l'acide éthanoïque ainsi que du CO<sub>2</sub> et du dihydrogène se forment. Les substrats peuvent être : des sucres, du glycérol, de l'acide lactique, de l'acide malique.



L'acide propionique et l'acide éthanoïque sont responsables de la flaveur des fromages à pâte cuite et le gaz carbonique responsable de l'ouverture de ces fromages (Comté, Gruyère et Emmental). Les bactéries responsables ce type de fermentation sont les bactéries propioniques (genre *Propionibacterium*).

#### e) Fermentation butyrique

Il se forme de l'acide butanoïque (butyrique), du CO<sub>2</sub> et du dihydrogène à partir de l'acide lactique déjà formé par fermentation lactique :



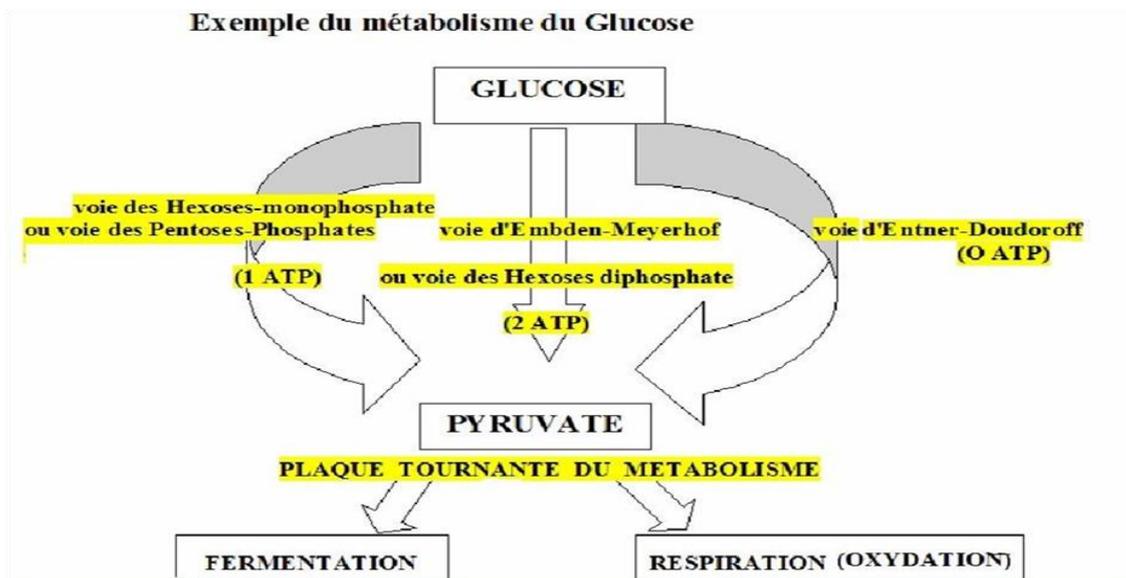
L'acide butyrique est responsable de l'odeur putride et du goût piquant de certains fromages à pâte cuite. Cette fermentation a lieu sous l'effet des bactéries *Clostridium butyricum*.

### I.2.2. Métabolisme glucidique

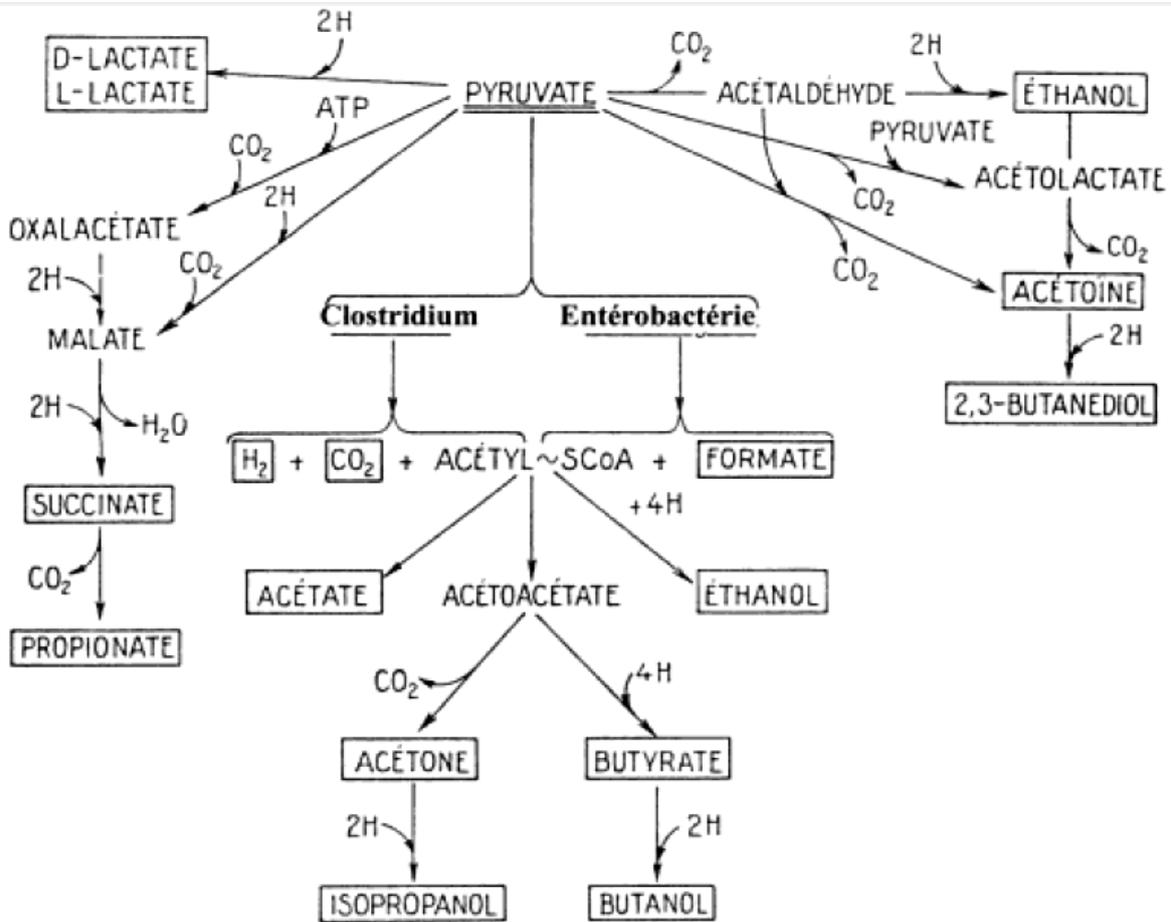
#### 2.1. Catabolisme des glucides

Le glucose est le point de départ des principales voies du catabolisme cellulaire. Bien que tous les glucides soient susceptibles d'être catabolisés, la première étape consiste à déterminer la voie d'utilisation du glucose : voie oxydative chez les aérobies strictes, voie fermentative chez les aéroanaérobies facultatives et les anaérobies stricts, car les autres sucres seront utilisés selon la même voie.

On distingue 3 principales voies enzymatiques, à localisation cytoplasmique, qui oxydent le glucose en acide pyruvique, véritable plaque tournante du métabolisme et situé au carrefour du métabolisme intermédiaire :



Le pyruvate est le point d'aboutissement obligé de toutes les voies de dégradation du glucose et des voies d'oxydation de nombreux acides aminés. Il est transformé en Acetyl-CoA par décarboxylation oxydative.



Principales voies fermentaires à partir de pyruvate.

## 2.2. Anabolisme des glucides

Les micro-organismes synthétisent plusieurs types de polysaccharides d'importance industrielle, certains se trouvent dans le cytoplasme, généralement utilisés comme source d'énergie. D'autres polysaccharides entrent dans la composition cellulaire tels que les peptidoglycanes de la paroi. Aussi les micro-organismes ont la capacité d'excréter des polysaccharides à l'extérieur de la cellule (ex : dextrans, levanes, xanthanes, ...etc.).

### ➤ Synthèse du glycogène

Les bactéries peuvent accumuler le glycogène à condition de posséder le système enzymatique qui permet la polymérisation du glucose en glycogène. Ce dernier s'accumule sous forme de granulations intracytoplasmiques.

### ➤ Synthèse des lévanes et de dextrans

Les lévanes (poly-β (2-6) fructose) et dextrans (poly-α (1-6) glucose avec ramification α (1-3) ou α (1-4)) sont synthétisés à partir du saccharose. Ces composés sont responsables de l'aspect mucilagineux des cultures sur milieu saccharosé. Certaines capsules sont de nature polyosidique. L'utilité biologique de ces composés est considérable.

### **I.2.3. Métabolisme protéique**

#### **3.1. Catabolisme des protéines**

La croissance des micro-organismes repose sur leur système protéolytique. Ces systèmes comportent des protéases extra et intracellulaires, des systèmes de transport spécifiques pour les peptides et une multitude de peptidases intracellulaires.

Les protéines, avant d'être assimilées, sont dégradées en polypeptides qui sont également dégradés en acides aminés. La dégradation des protéines par des enzymes qui sont les protéinases et les peptidases précède leur assimilation.

Le catabolisme des acides aminés est une voie majeure de formation de molécules aromatiques (alcool, aldéhydes, acides organiques, ...), comme il peut être une source d'énergie pour certaines bactéries en cas de limitation en nutriments.

#### **3.2. Anabolisme ou synthèse des protéines**

La biosynthèse des protéines est l'ensemble des processus biochimiques permettant aux cellules de produire leurs protéines à partir de leurs gènes afin de compenser les pertes en protéines par sécrétion ou par dégradation. Elle recouvre les étapes de transcription de l'ADN en ARN messager, d'aminocyclation des ARN de transfert, de traduction de l'ARN messager en chaînes polypeptidiques, de modifications post-traductionnelles de ces dernières, et enfin de repliement des protéines ainsi produites. Elle est étroitement régulée à de multiples niveaux, principalement lors de la transcription et lors de la traduction.

### **I.2.4. Métabolisme des lipides**

Les lipides sont d'importants constituants de la membrane cytoplasmique et de la paroi. Ils servent aussi comme réserves énergétiques. Les lipides ne sont assimilables qu'après clivage et leur hydrolyse est assurée par des enzymes qu'on désigne improprement sous le nom de lipase. Trois groupes d'enzymes sont concernés : les estérases qui hydrolysent de façon préférentielle les esters formés avec les acides gras à chaîne courte (C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>) et les lipases qui sont actives sur des substrats émulsifiés contenant des acides gras à chaîne longue (>C<sub>8</sub>), ces enzymes sont impliquées dans l'hydrolyse de mono, di, et triglycérides. La lécithinase hydrolyse la lécithine en libérant le diglycéride et le phosphatidyl-choline. D'autre part, les lipides sont synthétisés à partir de glycérol et d'acides gras (les AG sont synthétisés à partir d'acétyl-CoA).

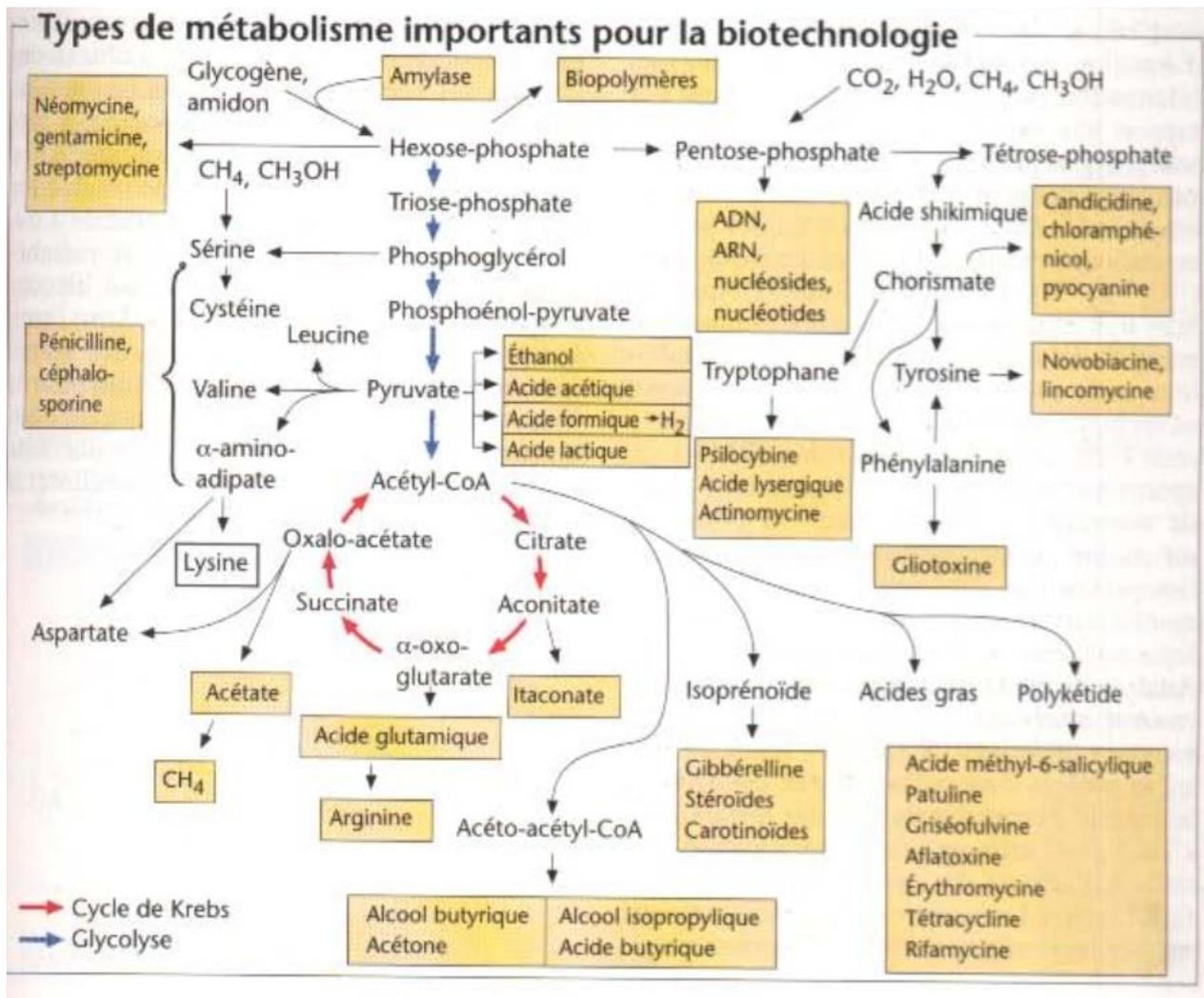
## II. Application du métabolisme et métabolites

### II.1. Principales applications industrielles des fermentations

Bien avant que Pasteur ait démontré que la fermentation était provoquée par des cellules vivantes, les micro-organismes étaient déjà exploités par l'homme. Ainsi 4000 ans avant Jésus-Christ, les Sumériens utilisaient-ils la plus ancienne fermentation connue, la conversion du sucre en alcool, pour fabriquer de la bière. 4 000 ans avant Jésus-Christ, les Égyptiens employaient la levure pour faire lever la pâte à pain.

Les premières applications industrielles ont été naturellement extrapolées de ces procédés et se sont généralisées au secteur de l'alimentation : pain et produits assimilés, production d'alcool (bière, vin, cidre), production de vinaigre, industrie laitière et fromagère. Progressivement les procédés de fermentation se sont étendus à d'autres secteurs économiques : chimie, pharmacie, agriculture et environnement.

Dans les domaines de la chimie et de la pharmacie, les procédés de fermentation sont en concurrence avec les synthèses chimiques ; ils constituent cependant la technologie de choix pour les molécules organiques complexes ou chirales (antibiotiques, vitamines, acides organiques et aminés, polysaccharides, protéines à usage thérapeutique entre autres).



### II.1.1. Présentation générale

Les domaines d'application des fermentations dans l'industrie sont nombreux et variés. Outre le secteur de l'alimentation, la chimie, la pharmacie, l'agriculture et l'environnement font appel à de tels procédés.

Les principaux produits industriels obtenus par fermentation et leurs domaines d'application sont représentés sous forme de tableaux.

Leur regroupement par types est un peu arbitraire car très difficile, de nombreuses familles de composés chimiques étant utilisées dans plusieurs secteurs industriels.

**NB :** La codification employée dans les divers tableaux concernant les principales voies d'accès pour l'obtention de ces composés est rappelée en encadré.

|           |   |
|-----------|---|
| <b>F</b>  | Fermentation                                      |
| <b>C</b>  | Synthèse chimique                                 |
| <b>Ex</b> | Extraction à partir de tissus animaux ou végétaux |
| <b>En</b> | Procédé enzymatique                               |

### II.1.2. Industries alimentaire et diverses

#### II.1.2.1. Acides organiques (tableau 1)

Les acides organiques sont principalement utilisés dans l'industrie alimentaire comme additif alimentaire et dans l'industrie chimique (détergents, traitement des tissus, fabrication de plastique et des cosmétiques). Les plus courants sont les acides carboxyliques : acide citrique, acide acétique, acide lactique, etc...

| Produit          | Voies d'accès | Micro-organismes utilisés  |
|------------------|---------------|--|
| Acide acétique   | F ou C        | <i>Acetobacter sp.</i>   |
| Acide citrique   | F             | <i>Aspergillus niger</i>   |
| Acide gluconique | F             | <i>Aspergillus niger</i> , <i>Gluconobacter suboxydans</i>   |
| Acide itaconique | F             | <i>Aspergillus terreus</i>   |
| Acide lactique   | F ou C        | Les bactéries lactiques : <i>Lactococcus lactis</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> ,<br><i>Rhizopus oryzae</i> |

#### II.1.2.2. Acides aminés (tableau 2)

Les procédés de fermentation produisent les acides aminés naturels de la série L alors que les procédés chimiques produisent un mélange racémique. Les acides aminés sont utilisés dans l'industrie alimentaire, mais ils servent également de matière première pour l'industrie chimique.

L'acide aminé le plus produit est la lysine qui est utilisée comme complément dans l'alimentation animale. L'acide glutamique est connu sous forme de glutamate de sodium (GMS : glutamate monosodique) ; il est très utilisé dans l'industrie alimentaire asiatique et aussi dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques. La glycine et l'alanine sont ajoutés à certains produits alimentaires pour améliorer leur saveur. L'aspartam (aspartate + phénylalanine) est utilisé comme agents édulcorant (pouvoir "de goût sucré") en nutrition humaine.

| Produit            | Voies d'accès | Micro-organismes utilisés  |
|--------------------|---------------|--|
| L-Arginine         | F             | Les souches productrices utilisées appartiennent en général aux genres <i>Corynebacterium</i> , <i>Brevibacterium</i> et <i>Arthrobacter</i> |
| L-Citruline        | F             |  |
| Acide L-glutamique | F             |  |
| L-Histidine        | F             |  |
| L-Glutamine        | F             |  |
| L-Isoleucine       | F ou Ex       | Les espèces <i>Corynebacterium glutamicum</i> et <i>Brevibacterium flavum</i> sont le plus fréquemment utilisées                             |
| L-Leucine          | F ou Ex       |  |
| L-Lysine           | F             |  |
| L-Ornithine        | F             |  |
| L-Phénylalanine    | F ou C        |  |
| L-Proline          | F             |  |
| L-Sérine           | F ou C        |  |
| L-Thréonine        | F             |  |
| L-Tryptophane      | F ou C        |  |
| L-Valine           | F             |  |
|                    |               | Certaines productions (thréonine) se font à partir d'organismes génétiquement modifiés (OGM) : <i>Escherichia coli</i>                       |

### II.1.2.3. Biopolymères (tableau 3)

Les biopolymères sont utilisés dans l'industrie alimentaire (xanthane, alginates) dans l'industrie des cosmétiques et la pharmacie (acide hyaluronique) ou dans la fabrication des plastiques (polyhydroxybutyrate).

| Produit             | Voies d'accès | Micro-organismes utilisés          |
|---------------------|---------------|------------------------------------|
| Alginate            | F             | <i>Azotobacter vinelandii</i>      |
| Levane              | F             | <i>Zymomonas mobilis</i>           |
| Phosphomannane      | F             | <i>Hansenula holstii</i>           |
| Polyhydroxybutyrate | F             | <i>Alcaligenes eutrophus</i>       |
| Pullulane           | F             | <i>Aurebasidium pullulans</i>      |
| Sclérogucane        | F             | <i>Sclerotium rolfsii</i>          |
| Xanthane            | F             | <i>Xantomonas campestris</i>       |
| Acide hyaluronique  | F             | <i>Streptococcus zooepidemicus</i> |

#### II.1.2.4. Vitamines (tableau 4)

Les vitamines sont des substances organiques actives, vitales, indispensables en faible quantité au métabolisme d'un organisme vivant, qui ne peut être synthétisé en quantité suffisante par cet organisme. Les vitamines sont utilisées dans l'industrie alimentaire et dans l'industrie pharmaceutique. La vitamine la plus connue est la vitamine C, elle est souvent utilisée dans les formulations d'aspirine effervescente et dans des produits cuisinés. La vitamine B12 est une molécule complexe qui n'est synthétisée que par des microorganismes procaryotes. Nécessaire à l'être humain, elle est apportée par l'alimentation ou produite par la flore intestinale.

**Tableau 4 – Principales vitamines produites par fermentation**

| Produit                        | Voies d'accès | Micro-organismes utilisés  |
|--------------------------------|---------------|--|
| Vitamine B2 (riboflavine)      | F             | <i>Ashbya gossypii</i> , <i>Candida famata</i> ,<br><i>Pichia miso</i>                                 |
| Vitamine B12 (cyanocobalamine) | F             | <i>Bacillus megaterium</i> ,<br><i>Propionibacterium shermanii</i><br><i>Pseudomonas denitrificans</i> |
| Vitamine C (acide ascorbique)  | F + C         | <i>Acetobacter suboxydans</i>  |
| Vitamine D (calciférol)        | F + C         | <i>Saccharomyces sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i>  |

#### II.1.2.5. Ferments pour l'industrie laitière et fromagère (tableau 5)

La fermentation du lait par des bactéries lactiques provoque son acidification et sa gélification et conduit à l'obtention de yaourts et de laits fermentés. La fabrication du fromage nécessite une phase de caillage du lait suivie des nombreuses phases d'affinages. Historiquement, ces étapes étaient réalisées par des micro-organismes (ferments) présents dans l'environnement immédiat de la zone de production (ensemencement naturel). Progressivement ces micro-organismes ont été isolés et produits par des sociétés spécialisées permettant de fiabiliser la production des diverses variétés de produits laitiers fermentés par un ensemencement contrôlé.

Tableau 5 – Principaux ferments pour l'industrie laitière et fromagère

| Ferments  | Applications  |
|---|---|
| <i>Lactobacillus bulgaricus</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Bifidobacterium sp.</i>  | Yaourts   |
| <i>Lactobacillus acidophilus</i>  | Laits fermentés   |
| <i>Lactobacillus caucasius</i>  | Kéfir (boisson fermentée d'origine caucasienne obtenue à partir de lait de vache ou de chèvre)                                      |
| <i>Lactococcus cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i><br><i>Lactococcus diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc cremoris</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> | Premières étapes (caillage) de la plupart des fromages<br>Fromages non affinés à pâte fraîche<br>Beurre                             |
| <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Propionibacterium shermanii</i><br><i>Propionibacterium freudenreichii</i>     | Gruyère (les deux souches du genre <i>Propionibacterium</i> sont responsables de la formation des trous lors du procédé d'affinage) |
| <i>Lactococcus cremoris</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Penicillium roqueforti</i>   | Bleu, roquefort ( <i>P. roqueforti</i> est responsable de la couleur bleue)   |
| <i>Lactococcus cremoris</i> , <i>Lactobacillus lactis</i> , <i>Penicillium camemberti</i>   | Camembert   |

### II.1.2.6. Levures (tableau 6)

La levure la plus ancienne et la plus utilisée est le genre *Saccharomyces cerevisiae*. Il s'agit de la levure de boulangerie utilisée pour lever la pâte à pain mais aussi de la levure qui est utilisée pour la fermentation alcoolique, pour la production de bière ou de vin. Les sociétés spécialisées dans la production des levures et ferments alimentaires produisent des souches spécifiques pour chacune des applications : boulangerie, bière, différents types de vins.

| Tableau 6 – Principales levures et leurs applications dans le secteur de l'alimentation  |  |
|--|--|
| Espèces de levures   | Produits obtenus et applications   |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i>  | Pain (la levure de boulangerie joue un rôle clé dans l'hydrolyse des polysaccharides et des protéines contenus dans la farine ; la production de CO <sub>2</sub> permet de faire « lever » la pâte à pain) |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i><br><i>Saccharomyces curls bergensis</i>  | Bière  |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i><br><i>Saccharomyces ellipsoideus</i><br>Genres : <i>Kloeckera</i> , <i>Hansenula</i> ,<br><i>Hanseniospora</i> | Vin (les premières étapes du processus de vinification : production d'alcool à partir du moût de raisin, sont principalement réalisées par <i>S. cerevisiae</i> )  |
| <i>Saccharomyces sake</i>  | Saké   |
| <i>Saccharomyces rouxii</i>  | Miso (aliment fermenté à base de soja)   |
| <i>Kluyveromyces fragilis</i><br><i>Kluyveromyces lactis</i>   | Fromages   |
| <i>Candida utilis</i>  | Levure alimentaire   |

### II.1.3. Industries chimique et pharmaceutique

#### II.1.3.1. Exemple de produits chimiques de base issus de fermentation

La production, déjà ancienne, d'éthanol à partir de biomasse (plantes sucrières, céréales, etc.). L'acétone, le butanol, le 2,3-butanediol ont été produits par fermentation par le passé, et des recherches sont toujours en cours dans cette voie. L'exploitation industrielle des procédés les plus performants dépend essentiellement de l'évolution du prix des matières fossiles.

On peut ajouter, à ces produits, les acides aminés répertoriés au tableau 2 et les acides organiques du tableau 1.

#### II.1.3.2. Antibiotiques (tableau 7)

La majorité des antibiotiques sont produits par fermentation. Les souches productrices sont des champignons (*Penicillium*, *Cephalosporium*) ou des bactéries filamenteuses

(genre *Streptomyces* principalement). La culture est très généralement aérobie et l'antibiotique, métabolite secondaire d'utilité peu évidente pour le microorganisme, produit en fin de croissance.

Le fait majeur des années 1980 à 2000 réside dans le développement de  $\beta$ -lactamines et de macrolides obtenus par hémisynthèse.

| <b>Tableau 7 – Principaux antibiotiques produits par fermentation</b> |                      |                                       |
|---|----------------------|---------------------------------------|
| <b>Produit</b>  | <b>Voies d'accès</b> | <b>Micro-organismes utilisés</b>      |
| <b>Macrolides</b>   |                      |                                       |
| Érythromycine   | F                    | <i>Streptomyces erythreus</i>         |
| Josamycine  | F                    | <i>Streptomyces sarbonensis</i>       |
| Spiramycine   | F                    | <i>Streptomyces ambofaciens</i>       |
| Clarithromycine   | F + C                |                                       |
| Azithromycine   | F + C                |                                       |
| <b><math>\beta</math>-Lactamines</b>                                  |                      |                                       |
| Pénicilline G   | F                    | <i>Penicillium chrysogenum</i>        |
| Amoxicilline  | F + En + C           |                                       |
| Céphalosporine C  | F                    | <i>Cephalosporium acremonium</i>      |
| Céphalexine   | F + En + C           |                                       |
| Thiénamycine  | F                    | <i>Streptomyces cattleya</i>          |
| <b>Aminoglycosides</b>  |                      |                                       |
| Streptomycine   | F                    | <i>Streptomyces griseus</i>           |
| Néomycine   | F                    | <i>Streptomyces fradiae</i>           |
| <b>Autres antibiotiques</b>   |                      |                                       |
| Tétracyclines   | F                    | <i>Streptomyces aureofaciens</i>      |
| Rifamycines   | F, F + C             | <i>Nocardia mediterranei</i>          |
| Glycopeptides   | F                    | <i>Streptomyces orientalis</i>        |
| Streptogramines   | F, F + C             | <i>Streptomyces pristinaespiralis</i> |

### II.1.3.3. Protéines d'intérêt pharmaceutique (tableau 8)

La fermentation de micro-organismes recombinants s'est en premier lieu substituée à l'extraction à partir de tissus humains ou animaux pour la production des protéines thérapeutiques telles que l'insuline, l'hormone de croissance ou les facteurs de coagulation. Dans ces exemples, la production par fermentation s'est imposée car elle a permis de fiabiliser la production et de s'affranchir des problèmes de contamination virale.

Dans un 2<sup>e</sup> temps, les techniques de l'ADN recombinant ont permis l'accès à de nouvelles protéines thérapeutiques telles que l'érythropoïétine ou le GCSF, qui ont également permis de modifier les propriétés pharmacocinétiques de certaines protéines existantes telles que les insulines.

**Tableau 8 – Principales protéines d'intérêt pharmaceutique produites par des micro-organismes à ADN recombiné**

| Produit                                  | Voies d'accès | Micro-organismes utilisés                |
|--|---------------|--|
| Insuline (diabète)                       | F + En        | <i>Saccharomyces cerevisiae, E. coli</i> |
| Hormone de croissance humaine (nanisme)  | F             | <i>Escherichia coli</i>                  |
| G-CSF (traitement des neutropénies)      | F             | <i>Escherichia coli</i>                  |
| Érythropoïétine (traitement des anémies) | F (1)         | <i>CHO</i> (cellules animales)           |
| TPA (traitement des thromboses)          | F (1)         | <i>CHO</i> (cellules animales)           |
| Facteur VIII (hémophilie)                | F (1)         | <i>CHO</i> (cellules animales)           |
| Interféron (hépatite C)                  | F             | <i>Escherichia coli</i>                  |
| Anticorps monoclonaux (cancer)           | F (1)         | <i>Hybridomes</i> (cellules animales)    |

(1) La culture de cellules animales est ici assimilée aux procédés de fermentation.

#### II.1.3.4. Autres produits pharmaceutiques (tableau 9)

Ce tableau présente la diversité des applications thérapeutiques où l'on peut trouver des produits issus de fermentation. Ces produits ont une masse molaire souvent supérieure à 500 g/mol et possèdent plus de 5 carbones asymétriques, ce qui impose l'utilisation de procédés de fermentation. À ces produits, on peut ajouter les biopolymères du tableau 3 et les vitamines du tableau 4.

**Tableau 9 – Quelques produits pharmaceutiques nécessitant une étape de fermentation**

| Produit                                    | Voies d'accès | Micro-organismes utilisés                    |
|--|---------------|--|
| Alcaloïdes (antidouleurs...)               | Ex + F + C    | <i>Claviceps paspali, Claviceps purpurea</i> |
| Stéroïdes (anti- inflammatoires, hormones) | Ex + F + C    | <i>Mycobacterium</i>                         |
| Cyclosporine (immunosuppresseur)           | F             | <i>Tolypocladium inflatum</i>                |
| Avermectine (antiparasitaire)              | F             | <i>Streptomyces avermitilis</i>              |
| Daunorubicine (anticancéreux)              | F             | <i>Streptomyces coeruleorubidus</i>          |
| Lovastatine (cardiovasculaire)             | F             | <i>Aspergillus terreus</i>                   |

#### II.1.4. Autres industries

##### II.1.4.1. Industrie des pesticides (tableau 10)

Les principaux biopesticides produits par fermentation sont présentés dans le tableau 10. Parmi ceux-ci, il faut remarquer que *Bacillus thuringensis* représente environ 75 % des ventes de biopesticides.

Tableau 10 – Principaux biopesticides produits par fermentation

| Préparation microbienne         | Cibles  |
|---------------------------------|---|
| <i>Endothia parasitica</i>      | Chancre du châtaignier  |
| <i>Arthrobotrys irregularis</i> | Nématodes ( <i>méloidogyne</i> ) attaquant les cultures maraîchères et florales         |
| <i>Alternaria cassiae</i>       | Adventice ( <i>Cassia obtusifolia</i> ) du soja, de l'arachide et du coton              |
| <i>Bacillus sphaericus</i>      | Moustiques  |
| <i>Bacillus thuringiensis</i>   | Larves de lépidoptères, teigne des ruches, larves de diptères, larves de coléoptères... |
| <i>Baculovirus</i>              | Insectes  |

#### II.1.4.2. Enzymes (tableau 11)

Les enzymes sont privilégiées en industrie car elles permettent de contourner les inconvénients des produits chimiques et améliorent les relations coûts-efficacité des procédés. Parmi les enzymes industrielles, les protéases occupent la part majeure des ventes des enzymes, soit environ 60%. La biologie moléculaire a permis le clonage et l'expression des gènes codant pour la plupart des enzymes dans un nombre réduit de micro-organismes. Ainsi, les souches genre *Bacillus* et *Aspergillus* sont utilisées majoritairement pour la production d'enzymes, les genres *Streptomyces* et *Kluyveromyces* sont également utilisés. Le tableau 11 en donne quelques applications.

Tableau 11 – Quelques applications des enzymes produites par fermentation

| Secteur                 | Enzymes  | Applications  |
|-------------------------|--|---|
| Détergents              | Protéases, amylases, lipases, cellulases   | Amélioration des performances, diminution de la température et du temps de lavage   |
| Amidonneries            | $\alpha$ -Amylases, amyloglucosidases, glucose isomérases, xylanases, cyclomaltodextrine, gluconotransférase, inulinases | Liquéfaction de l'amidon, production de sirops de glucose, hydrolyse des xylanes et inulines, production de cyclodextrines... |
| Industrie alimentaire   | Amylases, glucose oxydases, lipases, protéases, cellulases   | Dégradation des amidons et du gluten en boulangerie   |
|                         | $\alpha$ -Acétolactate décarboxylase, $\beta$ -glucanases  | Préparation des matières premières pour la brasserie  |
|                         | $\alpha$ -Acétolactate décarboxylase, $\beta$ -galactosidase, pectinases...  | Préparation des jus de fruits (pectinases)...   |
| Synthèse de médicaments | Pénicilline acylase, glutarylacylase, lipases, protéases, oxydoréductases, hydantoïnases, aminoacylases...               | Production d'antibiotiques (pénicillines, céphalosporines), dédoublement d'isomères optiques, chimie chirale                  |