

## Chapitre 5 : Les Produits de la fermentation industrielle

### 2. Les métabolites primaires obtenus par fermentation microbienne

#### 2.1. Les acides aminés.

De nombreux micro-organismes peuvent synthétiser des acides aminés à partir de composés azotés inorganiques, via des procédés de la fermentation industrielle. Ces acides aminés sont principalement utilisés comme compléments alimentaires pour l'alimentation humaine ou animale. Cependant, plusieurs acides aminés sont utilisés comme ingrédients dans les produits pharmaceutiques et cosmétiques, et dans l'industrie chimique pour la fabrication de polymères, le cas par exemple de l'acide glutamique, lysine, et tryptophane .

Dans la suite du cours, on discutera l'exemple de la production industrielle de l'acide glutamique

##### 2.1.1 Exemple de la fabrication industrielle de l'acide glutamique.

L'acide glutamique est un acide aminé non essentiel, produit industriellement sous forme de Glutamate monosodique (MSG, E621). Cette molécule est utilisée principalement comme additif alimentaire pour exhausser le goût de plusieurs produits alimentaires, car il est responsable du goût.

##### 2.1.2 Les principales souches microbiennes utilisées.

Les souches industrielles utilisées pour la production de l'acide glutamique, sont des mutants des espèces de, *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium callunae*, *Brevibacterium flavum* et *Brevibacterium lactofermentum*.

##### 2.1.3. Les conditions de culture.

La fermentation est réalisée dans des fermenteurs en acier inoxydable d'une capacité maximale de 450 m. Les sources de carbone utilisés sont généralement le glucose ou le saccharose. La mélasse de la canne à sucre ou la betterave peuvent aussi être utilisées. La source d'azote (sels d'ammonium, urée ou ammoniac) est alimentée lentement pour éviter l'inhibition de la production de L-glutamate.

La culture est maintenue en agitation dans des conditions aérobies, à la température de 30–37 ° C, selon le microorganisme utilisé. Afin d'éviter la diminution du pH du milieu de culture, au fur et à mesure que le L-glutamate est excrété dans le milieu, le pH est maintenu entre 7 à 8. La durée de la fermentation, est normalement entre 35 à 40 h.

La purification de l'acide glutamique, implique, une centrifugation pour éliminer la biomasse microbienne. Le pH du surnageant est abaissé doucement, par l'acide chlorhydrique, au point isoélectrique de l'acide L-glutamique (pH= 3,2). Les cristaux de l'acide L-glutamique, sont ensuite récupérés par centrifugation, puis lavés plusieurs fois.

## 2.2. Les acides organiques

Les acides organiques sont des molécules organiques ayant des groupements acides (COOH) dans leur squelette carboné. La plupart des acides organiques ont une application agroalimentaire, et servent surtout comme agents de conservation, aromatisant, acidulant et antioxydant. Parmi les principaux acides organiques utiles à l'homme on trouve : l'acide citrique, l'acide acétique l'acide lactique et l'acide propionique.

Dans la suite du cours, on discutera l'exemple de la production industrielle de l'acide citrique.

### 2.2.1 Définition et utilisation de l'acide citrique.

L'acide citrique, ou le citrate, est un acide organique, présent en abondance dans le citron, d'où son nom. Il est largement utilisé dans l'industrie alimentaire, sous forme d'un additif alimentaire (numéro E330), en tant qu'agent acidulant et aromatisant dans les boissons, les confiseries, les bonbons acidulés et autres aliments. L'acide citrique peut avoir d'autres applications non alimentaires, surtout médicales et pharmaceutiques.

### 2.2.2. Les microorganismes industriels producteurs de l'acide citrique.

De nombreux microorganismes, peuvent être utilisés pour produire l'acide citrique, notamment:

- Des bactéries : *Bacillus licheniformis* et *Bacillus subtilis* (Xu et al, 2005).
- Des moisissures : *Aspergillus niger*, *Aspergillus awamori*, *Aspergillus foetidus*, et *Penicillium restrictum* (Show et al, 2015).
- Des levures : *Candida lipolytica*, *Candida intermedia*, et *Saccharomyces cerevisiae*

Cependant, la production industrielle mondiale est assurée par la moisissure *Aspergillus niger*, en raison de sa facilité de manipulation, et de sa capacité à fermenter une variété des substrats bon marché, ainsi qu'à leurs rendements élevés de production de l'acide citrique.

### 2.2.3. Le milieu de culture industriel utilisé pour la production de l'acide citrique.

Le processus de la fermentation industrielle de l'acide citrique, implique la culture de la moisissure, *A. niger*, en condition aérobie, dans un milieu de culture qui doit contenir :

✓ **Une source de carbone.**

La source de carbone pourrait être l'amidon, l'hydrolysate d'amidon, le jus de la canne à sucre, le glucose, le saccharose ou la mélasse. En industrie, la source de carbone la plus utilisée c'est la mélasse. Afin d'avoir un bon rendement de production en acide citrique, la concentration de sucre dans le milieu de culture doit être d'au moins 140 g/l (14%)

✓ **Une source d'azote.**

Sont généralement des sels d'ammonium, surtout, le sulfate d'ammonium, le nitrate d'ammonium...etc, qui sont généralement fournis à des concentrations de 0,1 à 0,4 g/l

✓ **Les sels minéraux.**

Les sels minéraux, surtout  $Fe^{+2}$ , doivent être débarrassés du milieu de culture, car ce dernier exerce une inhibition de la formation d'acide citrique au-delà d'une concentration critique. L'élimination des sels minéraux est réalisée par la chromatographie échangeuse d'ions

✓ **Le pH.**

Afin d'initier la croissance d'*Aspergillus niger*, le pH initial de milieu de culture est généralement compris entre 5 et 7. Ensuite, il doit être maintenu en dessous de 2, ceci à l'avantage de contrôler la contamination et d'inhiber la formation d'acide oxalique et d'acide gluconique (des produits indésirables) .

### 2.2.4. Les étapes de la production industrielle de l'acide citrique.

#### 2.2.4.1. Fermentation.

La fabrication industrielle de l'acide citrique peut se faire soit par une fermentation en surface soit par une fermentation immergée:

▪ **Le procédé de la fermentation en surface :**

Cette méthode consiste à placer le milieu de culture stérile, qui est généralement de la mélasse, dans des plateaux peu profonds (5 à 20 cm de profondeur) en aluminium ou en acier inoxydable, placé dans une enceinte stérile .

Les plateaux sont inoculés par pulvérisation de spores d'*Aspergillus niger*. Le champignon se développe alors à la surface du milieu. Les conditions aérobies sont maintenues par l'air stérile qui est soufflé dans la chambre de la fermentation. La température est réglée à 30 °C. Le pH descend progressivement en dessous de 2, moment auquel la production d'acide

citrique commence. La fermentation dure environ 8 à 12 jours et atteint un rendement d'environ 1,0 kg / m<sup>3</sup> par jour.

▪ **Le procédé de la fermentation immergée**

Plus de 80% de la production mondiale en acide citrique est produite par fermentation immergée dans des fermenteurs de 200 à 900 m<sup>3</sup> de volume. Les fermenteurs sont résistants à la corrosion, généralement en acier inoxydable. Contrairement à la fermentation en surface, le milieu de culture stérile estensemencé par des cellules végétatives, et non plus par des spores de la moisissure *A. niger*. La culture est maintenue en agitation à la température de 30 °C et un pH qui ne dépasse pas pH=3,5. La fermentation dure cinq à quatorze jours et atteint un rendement d'environ 18,0 kg/ m<sup>3</sup> par jour .

**2.2.4.2 Précipitation, extraction et purification de l'acide citrique.**

Après la fin de la fermentation, la purification de l'acide citrique commence par la séparation du mycélium fongique, par filtration ou centrifugation, à partir du milieu de culture. La solution obtenue, est chauffée puis mélangée avec la chaux (CaO) pour former un précipité de citrate de calcium (Ca<sub>3</sub>(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>)<sub>2</sub>). Ceci est séparé par filtration, puis traité par l'acide sulfurique dilué pour générer de l'acide citrique plus un précipité de sulfate de calcium (gypse). Ce dernier sera éliminé par filtration. La solution d'acide citrique obtenue sera décolorée par le charbon actif puis évaporée pour produire des cristaux d'acide citrique. Ces cristaux sont récupérés par centrifugation, puis séchés et conditionnés.

**2.3. Production du biogaz par le processus de méthanisation.**

**2.3.1. Définition**

La méthanisation (ou la digestion anaérobie) est le processus naturel biologique de dégradation de la matière organique, en absence d'oxygène (condition d'anaérobiose), en biogaz. Ce dernier est composé principalement de méthane (CH<sub>4</sub>) et de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>).

Le processus de la méthanisation se déroule en plusieurs étapes par l'intervention de plusieurs communautés microbiennes, dans des digesteurs anaérobies ou des méthaniseurs.

**2.3.2. L'intérêt de la méthanisation**

- L'intérêt économique: le méthane (biogaz) produit, peut-être utilisé comme source d'énergie renouvelable, ce qui peut remplacer les sources d'énergie fossile (gaz naturel surtout), ce qui va réduire le coût d'achat du pétrole et du gaz naturel. Le

méthane est utilisé, pour la cuisson ou transformé en énergie mécanique ou en électricité.

- L'intérêt environnemental : la matière première utilisée au cours de la méthanisation correspond généralement aux différents déchets organiques : urbains, agricole ou industrielle, ce qui contribue à la dépollution de l'environnement .

### 2.3.3 Aspect biochimique microbiologique de la méthanisation.

La méthanisation est le fruit d'un extraordinaire travail collectif et successif de nombreuses populations de microorganismes. En effet, c'est une succession de réactions chimiques catalysées par des enzymes produits par différents organismes vivants. La digestion anaérobie (méthanisation), peut-être décrite en quatre phases de dégradation (**F** : l'hydrolyse, l'acidogène, l'acétogénèse et la méthanogénèse. Chaque phase fait intervenir un groupe de microorganisme particulier.

- ✓ **L'hydrolyse** : hydrolyse et solubilisation de la matière organique par une population bactérienne mixte
- ✓ **Acidogénèse et Acétogénèse** : Les molécules solubles obtenues après l'hydrolyse sont métabolisés par des bactéries acidogènes (*Clostridium* par exemple) en un mélange complexe riche en acides gras volatils, des alcools, cétones, du dioxyde de carbone et de l'hydrogène, et formation de l'acide acétique par les bactéries acétogènes .
- ✓ **Méthanogénèse** : Au cours de cette phase, sous l'action de microorganismes spécifiques (Methanosarcina, Methanobacterium) l'acide acétique sera transformé en biogaz.