

## 1. Fermentation

Le mot fermentation présente deux significations différentes pour les biochimistes et les microbiologistes industriels. En biochimie, les fermentations sont des voies cataboliques anaérobies au cours desquelles des composés organiques servent à la fois de donneurs et d'accepteurs d'électrons, la synthèse d'ATP étant réalisée par phosphorylation au niveau du substrat. En microbiologie industrielle, le terme de fermentation désigne l'opération unitaire qui permet de produire de la biomasse ou des produits de bioconversion par la culture de micro-organismes.

Les matières premières de base utilisées dans le processus de fermentation servent de source de carbone, de source d'azote, de sels et de cofacteurs pour les micro-organismes. Les polysaccharides sont des substrats couramment utilisés par les microbes dans les processus de fermentation, mais parfois les huiles et le glycérol sont également utilisés comme matières premières pour la fermentation. Pour produire un maximum de produits essentiels au cours du processus de fermentation, des facteurs tels que la température, le pH, l'oxygène dissous et l'état des nutriments doivent être régulés et contrôlés. Le facteur le plus important est de minimiser le risque de contamination nocive des microbes en procédant dans des environnements stérilisés.

La fermentation microbienne peut être classée selon de nombreux critères, notamment la production de biomasse microbienne ou de métabolites microbiens, d'enzymes et d'autres substances.

## 2. Technologie de fermentation

La technologie de fermentation est une discipline qui implique la manipulation contrôlée de micro-organismes tels que les bactéries, les levures ou les champignons pour produire des substances utiles à grande échelle. Voici quelques connaissances de base sur la technologie de fermentation :

### 1. Micro-organismes utilisés :

- Les micro-organismes les plus couramment utilisés en fermentation sont les bactéries, les levures et les champignons.
- Chaque micro-organisme a des exigences spécifiques en termes de nutriments, de pH, de température et d'oxygène pour une croissance optimale et une production maximale de produits.

### 2. Milieux de culture :

- Les milieux de culture utilisés en fermentation fournissent les nutriments nécessaires à la croissance des micro-organismes.

- Ces milieux peuvent contenir des sources de carbone, d'azote, de minéraux, de vitamines et d'autres nutriments essentiels.

### **3. Bioréacteurs :**

- Les bioréacteurs sont des équipements essentiels utilisés pour cultiver les micro-organismes en fermentation à grande échelle.
- Ils contrôlent des paramètres tels que la température, le pH, la concentration en oxygène, l'agitation et la vitesse de mélange pour maintenir des conditions de culture optimales.

### **4. Contrôle des paramètres de fermentation :**

- Le contrôle précis des paramètres de fermentation tels que la température, le pH et la concentration en oxygène est crucial pour garantir une croissance optimale des micro-organismes et une production maximale de produits.

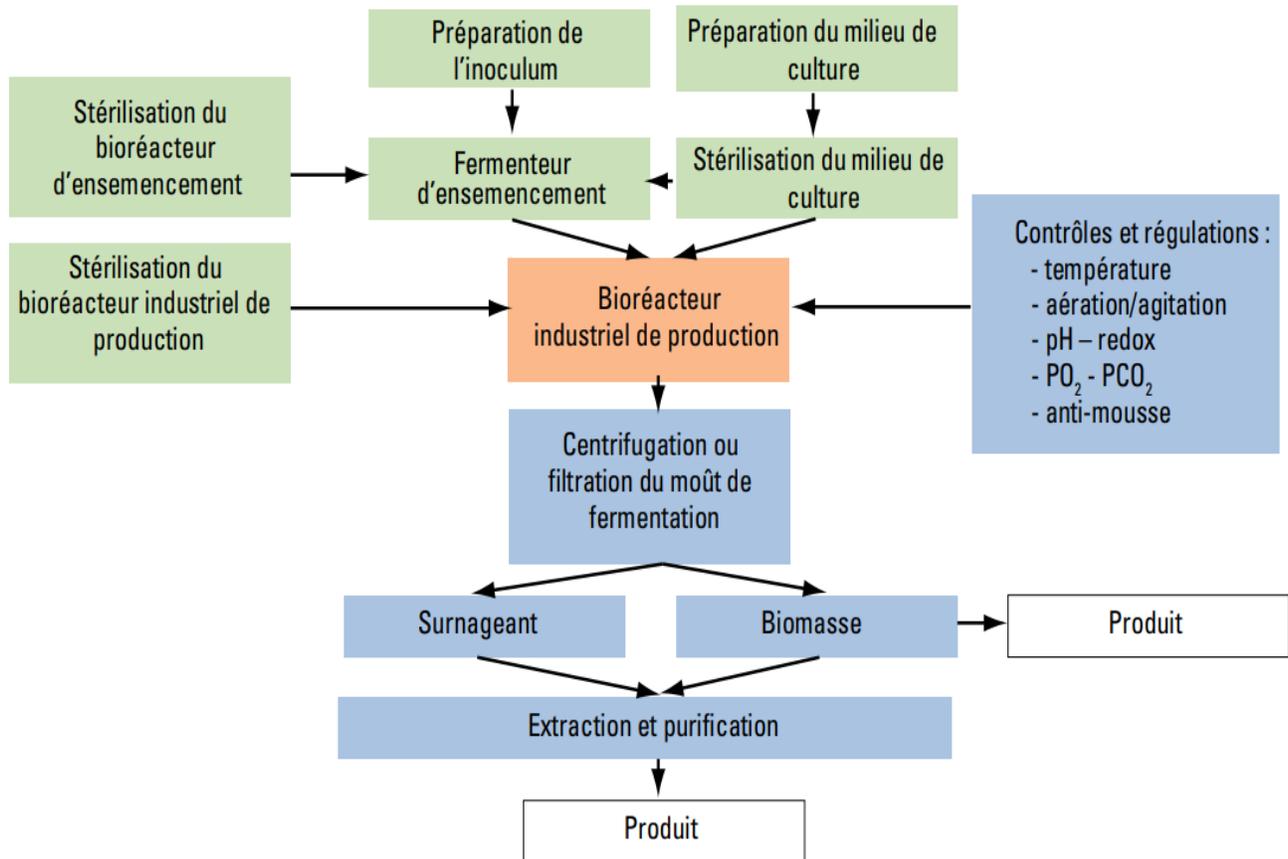
### **5. Optimisation des rendements :**

- L'optimisation des rendements en fermentation implique l'ajustement des conditions de culture pour maximiser la production de produits souhaités tout en minimisant les sous-produits indésirables.

### **6. Applications industrielles :**

- La technologie de fermentation est largement utilisée dans divers secteurs industriels tels que l'agroalimentaire, la pharmacie, la chimie, la biotechnologie et l'énergie pour la production d'aliments fermentés, d'enzymes, de médicaments, de biocarburants, etc.

La technologie de fermentation repose sur la compréhension des processus microbiologiques et biochimiques impliqués dans la croissance des micro-organismes et la production de substances d'intérêt. Une maîtrise des techniques de fermentation est essentielle pour optimiser les rendements et garantir la qualité des produits fabriqués à l'échelle industrielle.



### Les étapes du procédé de fermentation

## 3. Types de fermentation

### 3.1. Types de fermentation en fonction du substrat utilisé

#### 3.1.1. Fermentation en surface

La fermentation en surface se caractérise par le développement des micro-organismes principalement à la surface des matières premières solides ou liquides. Bien que facile à contrôler et à mettre en œuvre, ce type de fermentation présente des avantages tels que la facilité de séparation des produits et l'absence de besoin d'aération ou d'agitation des milieux de fermentation. Cependant, son utilisation industrielle est limitée en raison de sa complexité. Malgré des avantages comme des coûts de récupération de produits réduits, cette méthode présente des inconvénients tels que des coûts élevés d'investissement dans les infrastructures, des dépenses de main-d'œuvre élevées dans les régions où les salaires sont élevés, et une durée prolongée de fermentation.

### **3.1.2. La fermentation en milieu solide (FMS)**

La fermentation en milieu solide (FMS) est une technique où les métabolites microbiens sont produits sur des matières premières solides contenant suffisamment d'humidité pour favoriser la croissance des micro-organismes. Cette méthode se distingue par sa productivité élevée, une faible consommation d'énergie, une production réduite d'eaux usées et une humidité adéquate pour le développement microbien. La FMS trouve diverses applications, telles que la biorestauration, la production de métabolites secondaires microbiens, d'hormones de croissance végétale, d'acides organiques, de biocarburants et de composés aromatiques, notamment dans les pays industrialisés récents.

### **3.1.3. La fermentation submergée (SMF)**

La fermentation submergée (SMF) est un bioprocédé où des microbes décomposent des nutriments complexes en produits simples dans un milieu liquide, nécessitant un apport constant de nutriments ou un renouvellement du milieu pour maintenir la croissance microbienne. Les bactéries sont les principaux agents de fermentation en raison de leur adaptation à des conditions humides. Cette méthode peut être réalisée de manière discontinue ou continue, avec le choix du substrat et de l'agent de fermentation influençant fortement son efficacité. Les substrats courants incluent le sucre, la mélasse, les eaux usées, les légumes et les jus de fruits. Malgré son utilisation industrielle répandue pour son coût, son rendement et sa facilité de récupération des produits, la SMF présente des inconvénients tels que des coûts élevés, une faible productivité et une sensibilité aux variations des paramètres du processus, ainsi qu'une susceptibilité aux contaminations microbiennes.

## **3.2. Types de fermentation en fonction de la disponibilité de l'oxygène**

### **3.2.1. Fermentation aérobie**

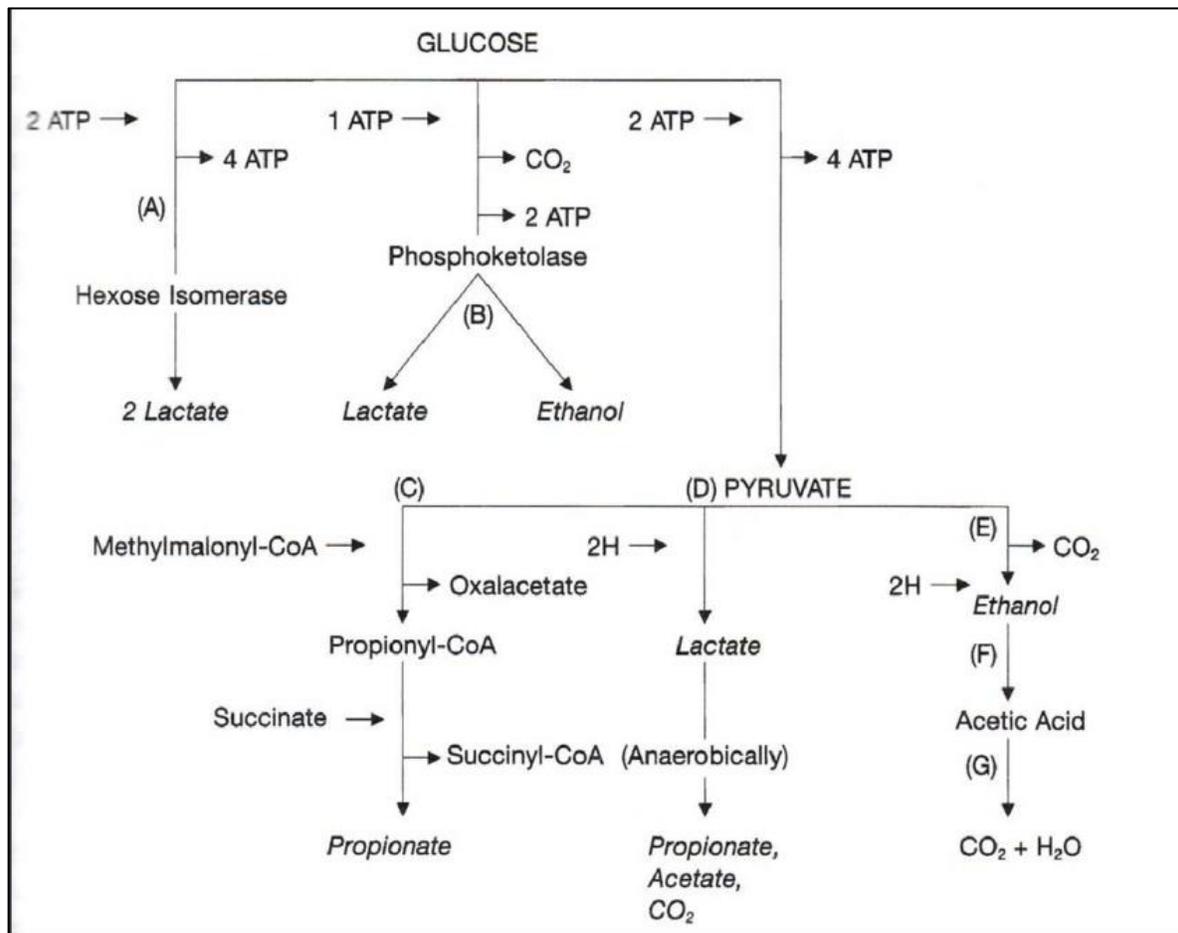
La fermentation aérobie se déroule en présence d'oxygène, impliquant la conversion du glucose en acide pyruvique, suivi de sa dégradation en dioxyde de carbone par le cycle de l'acide tricarboxylique. Ce processus est plus rapide et intense que la fermentation anaérobie. L'oxygène est fourni aux cellules microbiennes par aération ou agitation pour favoriser des rendements élevés en produits métaboliques. Les techniques telles que la culture en fiole agitée et l'utilisation de bioréacteurs avec agitation mécanique ou bioréacteur à airlift assurent un bon mélange des nutriments et de la biomasse pour des performances optimales.

### 3.2.2. Fermentation anaérobie

La fermentation anaérobie est un processus plus lent qui se produit en l'absence d'oxygène dans le bouillon de fermentation. L'acide pyruvique, produit de la glycolyse, peut être dirigé vers différentes voies selon le type de cellule. Par exemple, la levure peut produire de l'éthanol et du dioxyde de carbone par fermentation alcoolique, tandis que les bactéries lactiques produisent du lactate par fermentation lactique. Certains micro-organismes anaérobies comme *Clostridium* spp. peuvent produire de l'acide butyrique, utile dans diverses industries. La fermentation anaérobie est utilisée pour produire des acides organiques à partir de déchets organiques, ainsi que pour la production de biogaz et de biométhane à partir de diverses sources telles que la biomasse lignocellulosique et les déchets alimentaires.

### 3.3. Types de fermentation en fonction du produit

Le processus de fermentation dépend des voies métaboliques des micro-organismes impliqués dans la fermentation.



**Figure :** Les différentes voies de fermentation chez les microorganismes, A : Homolactique, B : Hétérolactique, C et D : Propionique, E : Alcoolique, F et G : Acétique

### 3.3.1. Fermentation alcoolique

- Réalisée principalement par des levures, notamment *Saccharomyces cerevisiae*, cette fermentation convertit les sucres (glucose, fructose) en éthanol et dioxyde de carbone.
- Utilisée dans la production de boissons alcoolisées (vin, bière) et dans la boulangerie pour faire lever la pâte grâce au CO<sub>2</sub> produit.

### 3.3.2. Fermentation lactique

- Impliquant des bactéries lactiques (comme *Lactobacillus* et *Streptococcus*), cette fermentation transforme les glucides en acide lactique.
  - Homolactique : Produit principalement de l'acide lactique.
  - Hétérolactique : Produit de l'acide lactique ainsi que d'autres composés comme l'éthanol et le CO<sub>2</sub>.
- Essentielle dans la fabrication de produits laitiers (yaourt, fromage), de saucissons et de choucroute.

### 3.3.3. Fermentation acétique

- Ce type de fermentation convertit l'éthanol en acide acétique grâce à des bactéries acétiques, comme celles du genre *Acetobacter*.
- Elle nécessite une présence d'oxygène, ce qui la rend aérobie.
- Utilisée dans la production de vinaigre.

### 3.3.4. Fermentation malolactique

- Réalisée par certaines bactéries (comme *Oenococcus oeni*), elle convertit l'acide malique en acide lactique et dioxyde de carbone.
- Couramment utilisée dans la vinification pour adoucir le goût du vin.

### 3.3.5. Fermentation propionique

- Ce type de fermentation produit de l'acide propionique, du dioxyde de carbone et de l'hydrogène à partir d'acides lactiques.
- Utilisée dans la fabrication de fromages à pâte cuite (comme le Gruyère), où le CO<sub>2</sub> produit contribue à la texture du fromage.

### 3.3.6. Fermentation butyrique

- Réalisée par certaines espèces de *Clostridium*, elle transforme les sucres en acide butyrique, dioxyde de carbone et hydrogène.
- Moins courante dans l'industrie alimentaire, elle est parfois associée à des odeurs désagréables dans certains aliments.

## 4. Sélection de la souche microbienne

Le choix de la souche microbienne appropriée pour une fermentation est crucial et nécessite une évaluation minutieuse de plusieurs facteurs pour garantir le succès du processus de fermentation et la production efficace du produit final. Voici un rappel des principaux critères et étapes impliqués dans cette sélection :

### 4.1. Origine de la souche

- Isolement : Les souches doivent être isolées de milieux pertinents, tels que des vins, des aliments fermentés ou des environnements spécifiques. Par exemple, pour la fermentation malolactique dans le vin, les souches comme *Oenococcus oeni* sont souvent isolées directement de raisins ou de moûts.

### 4.2. Caractéristiques métaboliques

- Tolérance aux conditions : Les souches doivent démontrer une résistance aux conditions physico-chimiques spécifiques, telles que l'acidité et la concentration en alcool. Cela garantit qu'elles peuvent survivre et fermenter efficacement dans l'environnement prévu.
- Production de métabolites souhaités : La capacité à produire des composés d'intérêt (comme l'éthanol, l'acide lactique, etc.) sans générer de sous-produits indésirables est essentielle. Les tests doivent inclure l'évaluation des métabolismes indésirables qui pourraient affecter la qualité du produit final.

### 4.3. Caractéristiques génétiques et phénotypiques

- Analyse génétique : Des techniques comme l'analyse VNTR (Variable Number of Tandem Repeat) permettent de caractériser les souches au niveau génétique, assurant une discrimination précise entre les différentes souches d'une même espèce.
- Caractéristiques phénotypiques : Les tests biochimiques et morphologiques aident à confirmer l'identité de la souche et ses propriétés fonctionnelles.

#### **4.4. Production et conservation**

- Capacité à se multiplier : La souche doit être capable de croître rapidement dans les conditions de culture prévues.
- Stabilité lors du stockage : Les souches doivent conserver leurs caractéristiques après plusieurs cycles de culture. Cela inclut la capacité à résister à des méthodes de conservation comme la lyophilisation ou la congélation.

#### **4.5. Essais pratiques**

- Tests en laboratoire : Avant une utilisation industrielle, des essais en laboratoire (microvinifications, par exemple) sont réalisés pour évaluer le comportement de la souche dans des conditions réelles.
- Évaluation des performances : Comparaison avec d'autres souches, y compris celles déjà commercialisées, pour déterminer les avantages compétitifs.

### **5. Notions sur la récolte et le conditionnement des cellules et métabolites après une fermentation**

La récolte et le conditionnement des cellules et des métabolites après une fermentation sont des étapes cruciales dans les processus biotechnologiques. Ces étapes déterminent la qualité, la pureté et l'efficacité des produits finaux. Voici un aperçu des principales considérations et méthodes impliquées.

#### **5.1. Récolte des cellules**

- Moment de la récolte : La récolte des cellules doit être effectuée au bon moment, généralement à la fin de la phase de croissance exponentielle ou au début de la phase stationnaire, lorsque la biomasse est maximale.
- Méthodes de récolte :
  - Centrifugation : Utilisée pour séparer les cellules du milieu de culture. Les cellules sont concentrées au fond du tube par force centrifuge.
  - Filtration : Permet de séparer les cellules en utilisant des filtres adaptés. Cette méthode est souvent utilisée pour les cultures en continu.
  - Décantation : Une méthode plus simple où les cellules sont laissées à se déposer sous l'effet de la gravité.

## **5.2. Extraction des métabolites**

- Méthodes d'extraction :
  - Extraction par solvant : Utilisation de solvants appropriés pour extraire les métabolites d'intérêt (comme les acides organiques, les alcools) du milieu de culture.
  - Précipitation : Certains métabolites peuvent être précipités hors du milieu en modifiant le pH ou en ajoutant des agents précipitants.
  - Purification : Après extraction, les métabolites peuvent nécessiter une purification supplémentaire pour éliminer les impuretés ou les sous-produits indésirables.

## **5.3. Conditionnement des cellules et métabolites**

- Conservation :
  - Les cellules peuvent être conservées par lyophilisation (séchage à froid) ou congélation, ce qui permet de prolonger leur durée de vie tout en maintenant leur viabilité.
  - Les métabolites extraits doivent être stockés dans des conditions appropriées (température, lumière) pour éviter leur dégradation.
  - Formulation : Pour certains produits (comme les probiotiques), il peut être nécessaire de formuler les cellules avec d'autres ingrédients pour améliorer leur stabilité et leur efficacité lors de l'utilisation finale.

## **5.4. Contrôle de qualité**

- Analyse microbiologique : Assurer que les produits sont exempts de contaminants indésirables avant leur commercialisation.
- Tests physico-chimiques : Évaluer la pureté, la concentration et l'activité biologique des métabolites extraits.