

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE

DEPARTEMENT DE SCIENCES AGRONOMIQUES



Polycopié pédagogique de cours pour MASTER₁

Domaine : SNV **Filière :** Science Alimentaire

Spécialité : Technologie Agro-Alimentaire et Contrôle de Qualité

Présenté par:

Mazri Chafiaa

LES FERMENTATIONS

Année Universitaire : 2023-/2024

Avant propos

Ce Polycopier se compose d'un cours, «les fermentations». Il s'adresse principalement aux étudiants de Master 1(Technologie agro-alimentaire et contrôle de qualité de sciences alimentaires). Bien entendu, il est également accessible à tous ceux qui souhaitent acquérir des notions de base sur les fermentations et les bioréacteurs. Ce polycopier est le fruit de longues années de travail effectuées au niveau du Département de Sciences Agronomiques à l'Université Akli Mohand Oulhadj de Bouira. Son objectif principal est de susciter l'intérêt aux produits de fermentation, résidus de différents ferments dans l'industrie agro-alimentaire et la conservation des aliments. À travers les différents chapitres, l'étudiant découvrira le développement de la biotechnologie à travers les cellules microbiennes. Il se familiarisera aussi avec les grandes découvertes de la biologie moléculaire qui aujourd'hui, ouvre de nouvelles possibilités de production des métabolites d'intérêt alimentaire et industriel. Nous entamons notre écrit par les micro-organismes des fermentations alimentaires: levures, bactéries lactiques, moisissures; puis nous abordons les aliments fermentés: aliments d'origine végétale, aliments d'origine animale (yaourts et fromages); ensuite nous expliquons la croissance des micro-organismes dans les différents types de bioréacteurs, l'immobilisation des cellules, le comportement des cellules microbiennes.

Table de matières

sommaire	
Chapitre 1 :Généralités	06
1. Introduction	07
2. Les ferments	09
2.1. Les bactéries	09
2.2. Les moisissures	10
2.3. Les levures	10
Chapitre 2 : Quelques types de fermentations dans l'alimentation	12
1. La fermentation alcoolique	13
1.1. Saccharomyces cerevisiae	14
1.1.1. En aérobiose	14
1.1.2. En anaérobiose	16
1.2.Application de la fermentation alcoolique dans l'industrie agro-alimentaire	18
1.2.1. Les boissons alcoolisées :	18
a) La bière	18
b) Le vin	19
2. La fermentation malolactique	20
3. La fermentation acétique	21
3.1. Application de la fermentation acétique dans l'industrie agro-alimentaire	24
3.1.1.Fabrication de vinaigre	24
4. La fermentation lactique	25
4.1. Les Bifidobactéries	28
4.1.1. Les types de la fermentation lactique	30
4.2. Application de la fermentation lactique dans l'industrie agro-alimentaire	31
a) Fabrication du yaourt	31
5. La fermentation propionique	32
6. La fermentation butyrique	33
a)Action de fermentation butyrique pendant la transformation du lait cru en fromage	33
7. La fermentation mixte	34
8. La fermentation mannitique	34
Chapitre 3 : Caractéristiques des souches produites industriellement	35
1. Cultures industrielles en agroalimentaire	36
2. Obtention de molécules utiles à la fabrication d'aliments: quelques exemples	39
Chapitre 4 :La biotechnologie moléculaire et les bioréacteurs dans l'industrie agroalimentaire	41
1. Description du bioréacteur (fermenteur)	43
2. Fonctionnement d'un bioréacteur	46
3. Modes de conduite des bioréacteurs	47
3.1.Fermentation discontinu (batch)	49

3.2.Fermentation discontinue alimentée (Fed-batch)	51
3.2.1. Types de fermentation Fed-batch :	53
3.2.2. Avantages et inconvénients de la fermentation Fed-batch :	53
3.3.Fermentation continue	53
3.3.1.Le mode continu sans recyclage de la biomasse	54
3.3.2. Le mode continu avec recyclage de la matière vivante	54
4.Les types de bioréacteurs	55
4.1.Photobioréacteur (moustique)	55
4.2. Photo bioréacteur : abrégé en PBR	55
4.3. Bioréacteur à algues	56
4.4.Réacteur batch séquentiel	57
4.5. Réacteur à lit fixe	57
4.6. Réacteur à lit fluidisé	58
4.7. Réacteur bioélectrochimique	58
4.8. Réacteur chimique	58
4.9. Réacteurs Enzymatiques	59
4.9.1. Réacteurs Enzymatiques	59
4.9.1.1. Fonctionnement discontinu	62
4.9.1.2. Fonctionnement continu	63
4.10. Réacteurs à limitation diffusionnelle	63
Conclusion	67
Références bibliographiques	69

Listes de figures et tableaux

Figure 1 : Aspect biochimique de la fermentation alcoolique

Figure 2 : Utilisation du glucose par *Saccharomyces* sous conditions aérobies

Figure 3 : Utilisation du glucose par *Saccharomyces* sous conditions **anaérobies**

Figure 4 : Utilisation du glucose par les levures pour la production de la bière

Figure 5 : Processus de vinification

Figure 6 : Réaction de la fermentation malolactique

Figure 7 : Etapes de la fermentation acétique

Figure 8 : Processus d'acétification

Figure 9 : Schéma de biosynthèse de l'acide acétique

Figure 10 : Méthodes de production de vinaigre à partir de vin de table

Figure 11 : Processus de la fermentation lactique

Figure 12 : Fermentation lactique chez les *Bifidobactéries*

Figure 13 : Schéma simplifié des réactions du métabolisme fermentaire chez les bactéries lactiques de yaourt

Figure 14 : Les procédés biotechnologiques de la fermentation

Figure 15 : Schéma général d'un fermenteur

Figure 16 : Représentations schématiques des différents modes d'alimentations en milieu nutritif de bioréacteurs (Branger, 2004).

Figure 17 : Bioreacteur fed batch (Oughideni, 2017).

Figure 18 : Graphe de principe d'une culture Fed batch (Supriya, 2021).


Figure 19 : Profil de croissance en culture discontinue

Figure 20 : Bioreacteur à algues

Tableau 1 : Bactéries lactiques responsables de la fermentation lactique appliquées dans l'agro-alimentaire

Chapitre 1

Généralités



Dans ce chapitre

- 1- Introduction
- 2- Les ferments

1. Introduction

Les fermentations alimentaires sont indispensables à l'organisme. Ce processus ancestrale nourrit et protège notre intestin, le bien être de notre organisme et booste notre immunité. La fermentation est un phénomène naturel, résultant de l'action d'enzymes microbiennes sur la matière organique. Ces réactions biologiques qui dégradent la matière sont des réactions d'oxydo-réduction se produisant en anaérobiose et dégagent peu d'énergie (Burillard *et al.*, 2016). En latin, le terme fermentation provient de sens bouillir c'est-à-dire « fervere ».

La fermentation a été utilisée initialement de manière empirique par l'homme, pour la conservation des aliments et la transformation d'autres pour améliorer leurs qualités nutritionnelles ou organoleptiques ; exemple du pain, des boissons alcoolisées... Les Sumériens maîtrisaient la fermentation alcoolique (le pain et la bière) 8000 ans avant J.C. Il a été signalé que 3000 ans avant J.C : le chou fermenté dans le vin aurait servi comme nourriture de base aux bâtisseurs de la grande Muraille de Chine. La découverte des microorganismes mise en cause est survenue le XVIII^{ème} siècle (Mc Govern *et al.*, 2004). En 1789, Lavoisier écrit le premier article sur la nature des fermentations. Il explique la réaction d'un « ferment » qui divise le sucre en alcool et acide carbonique et la décrit comme « fermentation vineuse ». Ce dernier inspire de nombreux scientifiques pour se lancer dans des recherches sur les causes et déclencheurs de la fermentation en émettant différentes hypothèses, Gay-Lussac en 1810, définit l'équation chimique globale de la réaction. D'autres scientifiques découvrent, en 1836, le mode de reproduction de la levure comme organisme vivant, par bourgeonnement. Comme Louis Pasteur, de plus en plus de personnes sont convaincues de l'existence d'un lien étroit entre santé et alimentation « naturelle ». A partir de 1857, il isole et cultive les bactéries ou les levures responsables de ces phénomènes pour démontrer qu'il s'agit d'un processus non seulement chimique mais biologique. C'est lui qui donnera la première théorie générale des fermentations : « toute fermentation d'une solution de sucre ou de matière organique résulte de l'activité métabolique d'un micro-organisme spécifique, et s'accompagne de la formation de produits caractéristiques (alcools, acides, cétones et gaz carboniques) » (Dubos, 1951).

Afin de satisfaire les besoins accrus en acétone pour la fabrication de munitions au cours de la première guerre mondiale, il a été indispensable et nécessaire de lancer le développement

des industries de fermentation. Cette acétone est utilisée pour la confection de la rayonne pendant entre les deux guerres. De nouvelles synthèses : vitamine B₂, glycérol, sorbose, acide citrique ont vu le jour avec le procédé de fermentation. Actuellement les recherches s'intéressent à l'amélioration des techniques de fermentation, au potentiel industriel de souches microbiennes préalablement sélectionnées, l'exploitation de nouvelles voies biochimiques découvertes, développement de l'industrie de produits générés par les microorganismes par fermentation qui ont pris une grande importance commerciale, tel que ; la production des acides organiques ; citrique et lactique, les acides aminés, l'acétone, le butanol, l'éthanol, les vitamines, les stérols, les agents aromatiques, les enzymes et les boissons ou aliments fermentés. La découverte des antibiotiques comme arme efficace contre les maladies sont à l'origine de la plupart de ces changements.

La fermentation doit avoir lieu à l'abri de l'air, donc dans des cuves bien étanches, la température du substrat doit être voisine de 35°C, le substrat doit être légèrement alcalin : le pH optimum est de 7,5. Pour éviter des fermentations parasites, il faut brasser le produit afin d'homogénéiser la température et l'ensemencement, la durée de fermentation est d'environ cinq à six semaines.

La fermentation, en absence de dioxygène produit 2 moles d'ATP, contre 36 moles produites par la respiration à partir d'une mole de glucose, soit environ 18 fois plus en mobilisant un appareil enzymatique plus complexe, le Cycle de Krebs. Les conditions de vie avant l'apparition de l'oxygène dans l'atmosphère, en termes évolutifs, sont favorables à la fermentation d'autant plus en présence de grandes quantités de sucre comme aliment de base pour les ferments. Par contre, la respiration ainsi que les organismes spécialisés capables de la mettre en œuvre prend place dès que l'oxygène devient abondant et/ou le sucre se raréfie, comme cela a commencé il y a environ deux milliards d'années et s'est achevé il y environ 250 millions d'années (Marie –Claire, 2014). Il est à signaler que l'origine des mitochondries, lieu de la respiration cellulaire, sont des α -protéobactéries (Wiemerslage et Leeb, 2016).

Le sens du mot fermentation est différent 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. Ainsi, contrairement au sens biochimique, le terme de fermentation industrielle ne se réfère pas au

métabolisme du micro-organisme. Ce terme en industrie, s'applique pour des métabolismes aérobie et anaérobie.

2. Les ferments

La fermentation est une réaction biochimique qui se produit dans des milieux dépourvus d'oxygène et qui transforme une substance organique sous l'effet d'enzymes, aussi appelées ferments. Ces enzymes sont produites par des micro-organismes invisibles à l'œil nu comme les levures, les bactéries, les champignons et les moisissures.

Les ferments sont des agents microbiens produisant la fermentation d'une substance, en se nourrissant de sucre et d'eau, le micro-organisme fait le plein d'énergie pour se multiplier et produit des résidus exploitables et qui sont considérés intéressants pour l'Homme. L'enjeu en agroalimentaire est donc de sélectionner la flore utile et d'éliminer la flore indésirable. Il faut décider des critères de choix du microorganisme selon différents paramètres tel que : les conditions de croissance, la production ou caractères particuliers, les caractères non recherchés, la sensibilité et le fabricant. Les microorganismes utilisables en industrie alimentaire doivent avoir comme caractéristiques communes :

- ✓ Sans risque pour la santé humaine et animale ;
- ✓ Facilement utilisables et maîtrisables.

2.1. Les bactéries

Une bactérie est une cellule procaryote, un «micro-organisme ubiquiste, unicellulaire et sans noyau dont le génome est constitué d'ADN. Ce dernier se compose d'un seul chromosome, avec la présence de petit morceau d'ADN circulaire appelés les plasmides. Les bactéries se reproduisent par scissiparité. Selon leur paroi cellulaire, on distingue deux grandes classes de bactéries : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif (Burillard, 2016).

Pour se développer, les bactéries ont des optimums physico-chimiques, avec une dose minimale et une dose létale pour chaque paramètre (température, pH, concentration en O₂, activité de l'eau). Les bactéries utilisées dans l'industrie alimentaire sont principalement selon Burillard (2016) :

- *Les bactéries lactiques. On les retrouve dans les fromages, la charcuterie et la choucroute.
- * Les bactéries acétiques qui ont une utilité dans l'élaboration des produits vinifiés.

* Les bactéries propioniques qui servent dans la fabrication de fromages à pâte pressée.

2.2. Les moisissures

Les moisissures sont pluricellulaires, caractérisées par leur appartenance aux micromycètes filamenteux. Les filaments sont plus ou moins ramifiés pour former des hyphes. L'ensemble des hyphes constitue le mycélium. Les moisissures sont essentiellement concentrées dans le sol, et la reproduction peut être haploïde (asexuée) ou diploïde (sexuée). La reproduction asexuée est utilisée pour la dissémination de l'espèce. La moisissure forme des conidies (spores) qui se disséminent dans l'environnement. La reproduction sexuée, par brassage génétique, va permettre la survie de l'espèce en cas de conditions difficiles (Burillard, 2016).

Les moisissures sont des organismes qui requièrent des conditions de culture peu exigeantes pour se développer, elles sont capables de produire une large gamme d'enzymes hydrolytiques de types lipases et protéases, qui sont exploitées en industries alimentaires, notamment dans les procédés d'affinage des fromages et de transformation de boissons alcoolisées.

2.3. Les levures

L'utilisation des levures est très ancienne et date de l'Égypte antique où les Égyptiens, utilisaient la levure pour fabriquer leur pain sans connaître la fermentation. Le rôle de la levure dans la fermentation alcoolique est compris grâce à Louis Pasteur en 1857 qui a décrit les levures comme des eucaryotes unicellulaires de 1 à 5 micromètres de large sur 5 à 30 de long, souvent plus grandes que les bactéries, de forme ovoïde ou sphérique, leur matériel génétique est composé de 16 chromosomes linéaires, situés dans le noyau (Deoanon, 2019). Le mode de croissance de certaines levures est sous forme de filaments, mais pour la plupart, elles bourgeonnent puis se scindent en deux cellules filles. La majorité d'entre elles appartiennent au groupe Eumycètes Ascomycètes.

Les levures sont capables de se développer aussi bien en aérobiose qu'en anaérobiose ; en aérobiose les cellules réalisent une glycolyse classique avec une forte vitesse de croissance, tandis qu'en anaérobiose c'est la fermentation alcoolique qui est utilisée, elle est moins rentable énergiquement mais le sous-produit formé : l'éthanol est intéressant pour l'Homme. La levure dans une fermentation, utilise le sucre du milieu extérieur, ce qui laisse leur culture peut se faire sur n'importe quel milieu glucosé. *Saccharomyces cerevisiae* est la plus exploitée, étant utilisée dans la vinification et la panification, la fabrication de bière et de levure de

boulangier. D'autres levures comme : *Saccharomyces carlsbergensis* et *Saccharomyces bayanus*, *Kluyveromyces lactés*, sont utilisées dans les industries de lait et produits laitiers et production vinicole.

Quelques types de fermentations dans l'alimentation

Dans ce chapitre

1. La fermentation alcoolique
2. La fermentation malolactique
3. La fermentation acétique
4. La fermentation lactique
5. La fermentation propionique
6. La fermentation butyrique
7. La fermentation mixte

La matière organique des aliments est aussi source de nourriture des micro-organismes qui la fermentent par un processus spontané appelé la fermentation, malgré que ce dernier modifie les qualités gustatives des aliments mais il est utilisé à des fins de conservation. Il existe différents types de fermentations ; caractérisés par la matière première et la sorte de micro-organismes en présence (Branger, 2004).

1. La fermentation alcoolique

La première fermentation qui a intéressé les scientifiques est la fermentation alcoolique, se sont les sumériens en Mésopotamie qui furent les premiers à en faire de la bière il y a 8000 ans par la même occasion ils inventèrent l'alcool qui était sacré plus tard pour les égyptiens, ce qui fait que la fermentation alcoolique est la plus ancienne utilisée depuis la civilisation égyptienne. Elle correspond à la transformation des sucres en alcool éthylique et anhydride carbonique. Elle est utilisée pour la fabrication de toutes les boissons alcooliques et intervient dans la levée de la pâte en boulangerie et en pâtisserie par le gaz carbonique dégagé. L'équilibre de la réaction chimique de la glycolyse fait que, les quantités de carbone, d'hydrogène et d'oxygène de l'alcool et du gaz égalent celles de ces éléments dans le sucre consommé. Gay-Lussac, en 1810, définit l'équation chimique de la réaction globale comme suite :



Le processus catabolique caractérise la *fermentation alcoolique*, il débute par la glycolyse pour donner de l'alcool éthylique servant à ré-oxyder le NADH. La fermentation alcoolique est un processus biologique qui se déroule en absence totale d'oxygène, par l'activité de certains microorganismes, lesquels produisent des hydrates de carbone, généralement des sucres comme du glucose, du fructose, du saccharose, qui est une substance ayant la forme empirique de glucose, à savoir une hexose, pour obtenir comme produits finaux un alcool, comme l'éthanol, le dioxyde de carbone en tant que gaz et des molécules d'adénosine triphosphate (**ATP**) que consomment les micro-organismes dans leur propre métabolisme (figure 1).

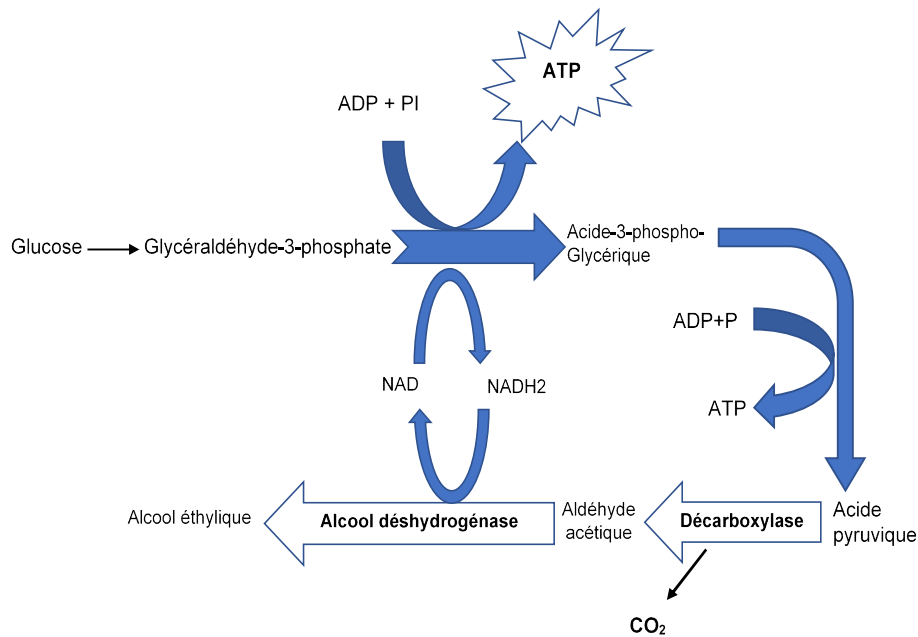


Figure 1 : Aspect biochimique de la fermentation alcoolique

1.1. *Saccharomyces cerevisiae*

Selon Larpent et Gourgoud (1985), *Saccharomyces cerevisiae* vient du mot saccharose qui signifie « sucre », myces « champignon ». Tandis que *cerevisiae*, terme utilisé pour désigner les ferments, fait référence à « cervoise », est un terme scientifique, qui est le nom qu'on donnait autrefois à la bière. Ainsi, elle est littéralement connue comme levure du sucre. Les levures sont des eucaryotes faisant partie du groupe des champignons dont on les distingue par leurs caractères unicellulaires. Elles sont microscopiques et immobiles.

La classification taxonomique de cette levure est :

- ❖ Règne : champignons ;
- ❖ Embranchement : fungi ;
- ❖ Sous embranchement : Eumycètes ;
- ❖ Classe : Ascomycètes ;
- ❖ Sous Classe : Hémi-ascomycètes ;
- ❖ Ordre : Endomycétales ;
- ❖ Famille : saccharomycetaceae ;
- ❖ Sous famille : saccharomycetoideae ;
- ❖ Genre : *Saccharomyces* ;
- ❖ Espèce : *Saccharomyces cerevisiae*.

L'espèce "*S. cerevisiae*" a les caractéristiques biochimiques suivantes :

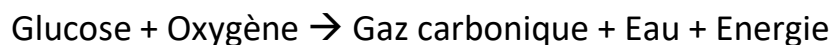
- Température de croissance optimale : 30°C ;
- pH de croissance optimal : 4,5 ;
- Mode respiratoire : aérobie anaérobie facultatif ;
- Mode de reproduction : sexué et asexué ;
- Elle fermente le glucose, galactose, maltose, saccharose ;
- Elle a une fermentation variable pour le tréhalose et le raffinose ;
- Elle ne fermente pas le lactose ;
- Elle assimile le glucose, le galactose, le maltose, le saccharose et le Raffinose ;
- Elle a une assimilation variable pour le tréhalose ;
- Elle n'assimile pas le lactose.

La levure comme tout être vivant a besoin d'oxygène pour vivre, lorsque elle vie en présence d'air on dit qu'elle est aérobie. Mais elle a aussi la remarquable faculté de s'adapter à un milieu sans oxygène, ce qui les qualifie d'anaérobie.

S. cerevisiae utilise différents substrats carbonés, principalement les sucres pour assurer ses dépenses énergétiques. Le glucose constitue son aliment carboné préférentiel. En se référant au catabolisme du pyruvate formé à partir du glucose, on peut distinguer deux types de métabolismes.

1.1.1. En aérobie

Le processus métabolique de la respiration chez la levure, se fait en présence d'air (figure 2), elle transforme le sucre et l'oxygène, qui constituent ses éléments de base pour se maintenir en vie et entrer en croissance pour sa multiplication, en gaz carbonique, de l'eau et de l'énergie. L'oxydation du glucose dans ces conditions est complète et la réaction biochimique se déroule comme suite :



La quantité d'énergie (2 ATP) qui se forme par le processus de métabolisme anaérobie est 18 fois moins que le rendement énergétique beaucoup plus efficace en présence d'oxygène (36 ATP). La levure libère toute l'énergie biochimique potentielle contenue dans le glucose pour synthétiser de la matière organique. La respiration fait intervenir de nombreuses enzymes mitochondriales qui transforment le pyruvate en présence d'oxygène en acétyl coenzyme A qui permettra l'entrée dans un cycle de dégradation des acides tricarboxyliques (Cycle de Krebs).

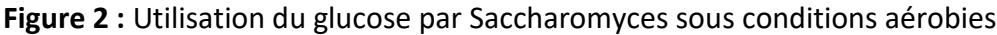
1.1.2. En anaérobiose

Lorsque la levure ne dispose pas d'oxygène (figure 3), elle fait recours à la décomposition des sucres qui lui sert de carburant pour produire l'énergie nécessaire à son maintien en vie, du gaz carbonique et de l'alcool. Ce processus métabolique a été défini comme étant celui de la fermentation par Pasteur. Cette transformation du glucose durant la fermentation est représentée chimiquement par la réaction suivante :



L'énergie biochimique présente dans le glucose en plus de celle contenue dans l'alcool formé de la fermentation assure un minimum vital à la levure, avec un rythme de multiplication très lent.

L'utilisation métabolique du glucose par *Saccharomyces* sous des conditions anaérobies (figure 3) s'appelle biochimiquement la glycolyse. Ce processus fait intervenir 30 à 65 % d'enzymes pour dégrader les glucides en pyruvate. Une fois dans la cellule le glucose, un sucre à 6 atomes de carbone, subit des phosphorylations consommatrices d'énergie avant d'être scindé en 2 molécules à 3 atomes de carbone, le pyruvate, après une série de réactions, ce dernier en l'absence d'oxygène est transformé en acétaldéhyde puis en éthanol et sera ensuite excrété par la cellule.



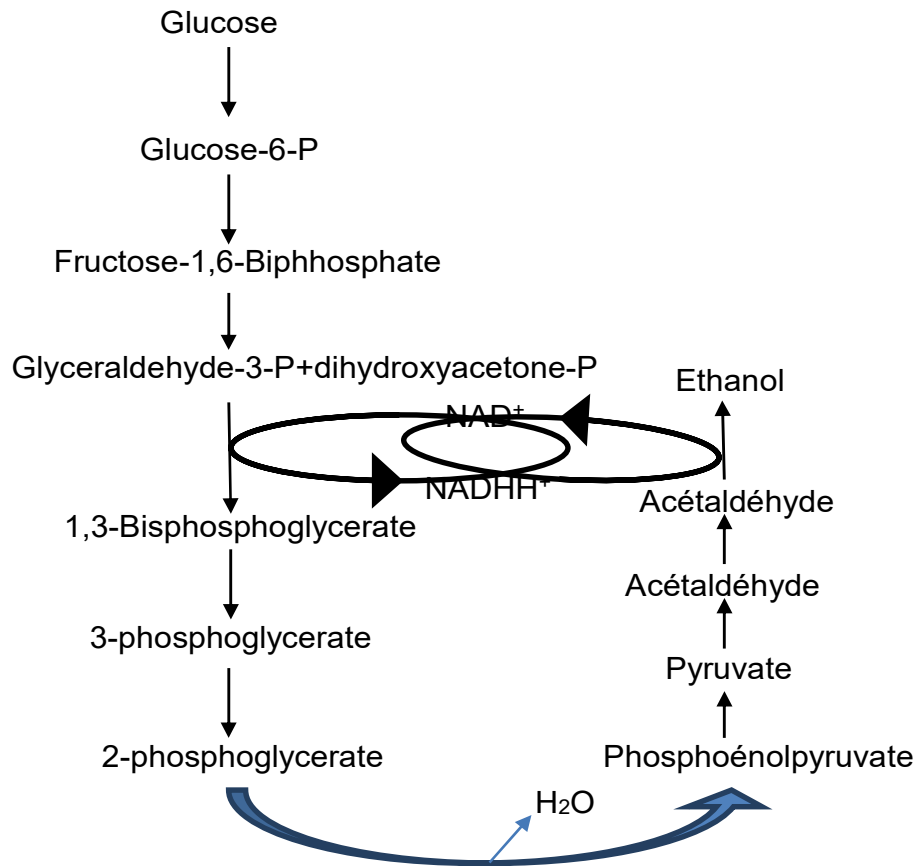


Figure 3 : Utilisation du glucose par *Saccharomyces* sous conditions anaérobies

1.2. Application de la fermentation alcoolique dans l'industrie agro-alimentaire

1.2.1. Les boissons alcoolisées

a) La bière

Pour fabriquer de la bière (figure 4), les brasseurs font travailler des levures, avant de produire de l'alcool les levures commencent par se multiplier pour cela il leur faut de l'énergie, ou la trouvent-elles ?

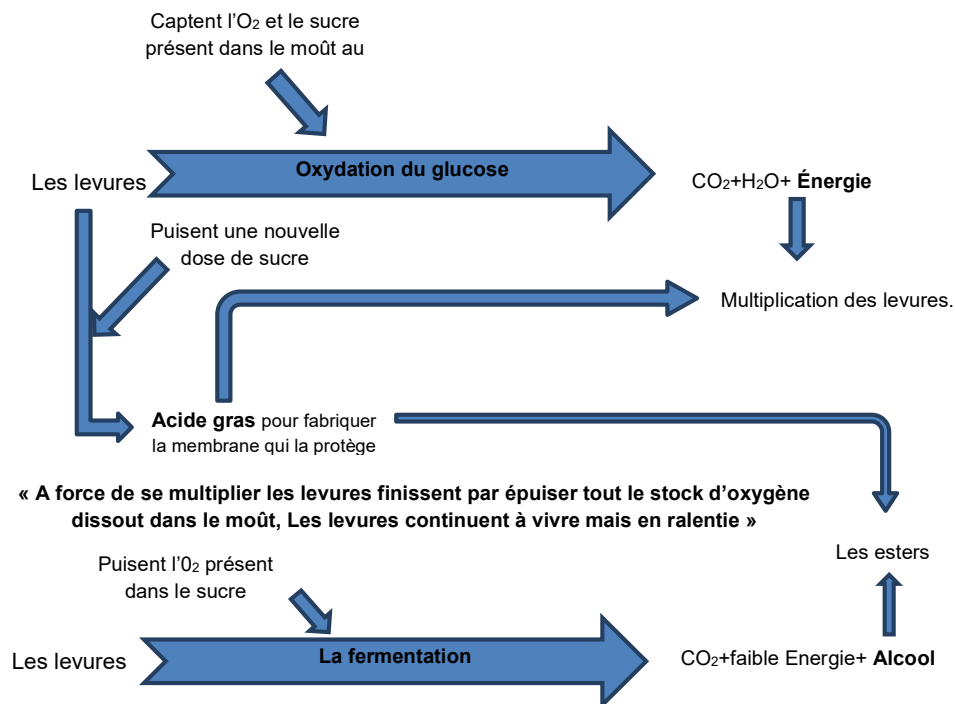


Figure 4 : Utilisation du glucose par les levures pour la production de la bière

b) Le vin

La vinification désigne la transformation du raisin récolté lors de la vendange en vin. Selon le type de vin que l'on souhaite obtenir : le blanc, le rosé ou plutôt le rouge (figure 5), on trouve plusieurs sortes de vinification qui dépendent du coix des variétés de raisins (le raisin dont l'écorce est de couleur noir et la chair blanche ou le raisin rouge tout simplement).



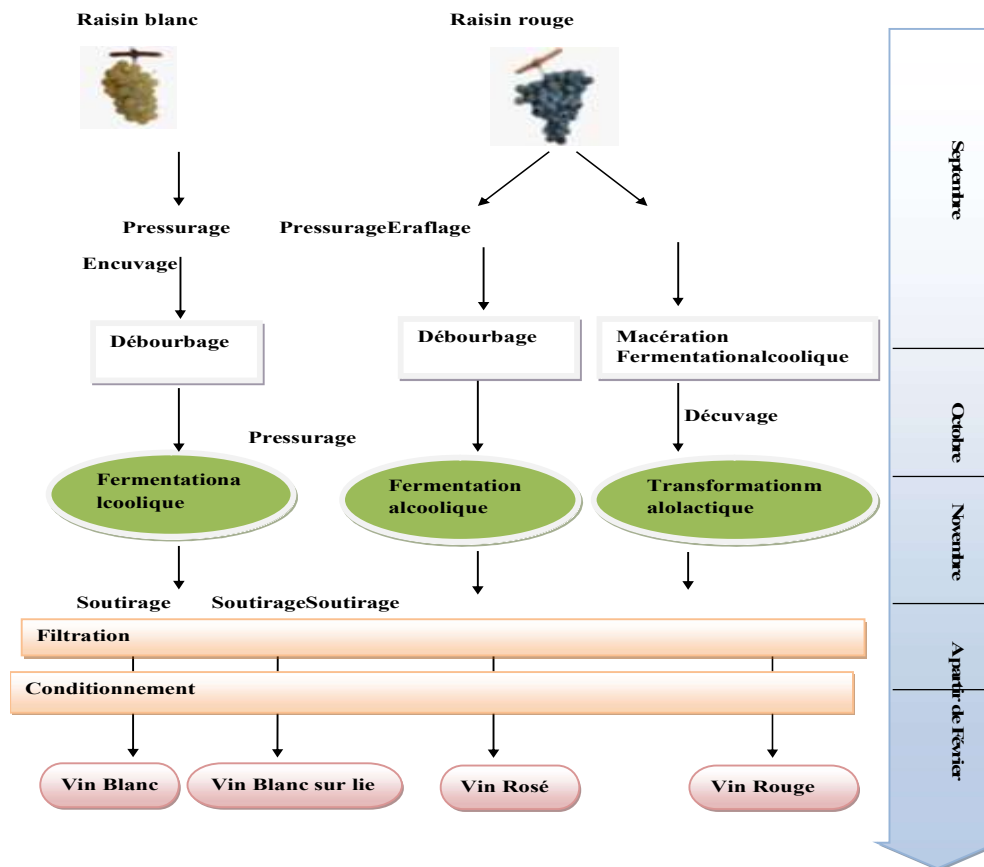


Figure 5 : Processus de vinification

2. La fermentation malolactique

Cette fermentation suit immédiatement la fermentation alcoolique, elle est particulièrement nécessaire pour réduire l'acidité le vin rouge. Une fois la fermentation alcoolique achevée, le vin procède à une seconde fermentation : la fermentation malolactique; qui est la transformation (décarboxylation) de l'acide malique en acide lactique (figure 6) au goût de yaourt à 20°C par les bactéries lactiques hétérofermentaires. Cette réaction qui leur permet de récupérer de l'énergie est très intéressante dans la production de boissons alcoolisées comme le vin ou le cidre et le rend plus facilement consommable. En effet, l'acide malique perd une de ses deux fonctions acides au cours de sa transformation en acide lactique. Les genres les plus souvent rencontrés sont : *Leuconostoc*, *Pediococcus* et *Lactobacillus*, *Leuconostocoenococcus*

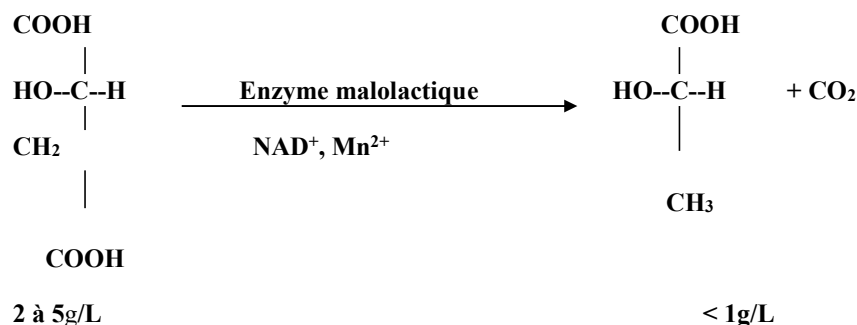


Figure 6: Réaction de la fermentation malolactique

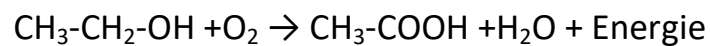
3. La fermentation acétique

La fermentation acétique est un processus biochimique (figure 8) où les bactéries acétiques dans des conditions aérobiques, avec une forte aération, oxydent l'éthanol en acide acétique, un métabolite microbien très répandu. Ces dernières interviennent quand la teneur en alcool est faible, leur action est stimulée par la présence de levures qui font baisser la concentration de l'éthanol en l'oxydant (Akin, 2008). L'acide acétique utilisé par l'industrie est obtenue par voie chimique au lieu par voie microbiologique. Quoique, la production d'acide acétique par diverses espèces d'acétobacter par oxydation de l'éthanol, reste très importante pour la préparation du vinaigre. L'intérêt alimentaire du vinaigre, connu depuis l'antiquité, a fait l'objet de perfectionnement de sa fabrication et de développement de la microbiologie industrielle (Guiraud, 1998).

Les bactéries acétiques sont de la famille des Acetobacteraceae, gram négatif, strictement aérobies et leur métabolisme strictement respiratoire fait que l'oxygène est l'accepteur final d'électron. Les conditions de leur croissance se situent à une température optimale d'environ 30°C et un pH optimum entre 5,4 et 6,3.

La production d'acide acétique est possible en anaérobiose (figure 7), c'est la méthode qui permet de réduire les coûts énergétiques par l'utilisation des matières premières bon marché afin d'avoir des taux de croissance plus élevés. Les bactéries anaérobies hydrolysent les déchets cellulotiques en glucose par des cellulases. Ce dernier peut ensuite être transformé en acide acétique par le *Clostridium thermoaceticum* qui produit 35 g/l en fed-batch (Alain, 2002).

Pour déterminer la nature du ferment utilisé, Louis Pasteur s'est appuyé sur les effets de la fermentation et les expériences des vinaigriers de son temps, il a découvert que pour fabriquer un nouveau vinaigre, il suffisait de mélanger du vinaigre à du vin. Dans son mémoire, il a montré que le ferment ou fleur de vinaigre est un être vivant qu'il avait appelé *Mycodermaaceti* « on croirait avoir sous les yeux un amas de petits grains ou de petits globules. Il n'en est rien ». Il constata qu'en déposant quelques tâches de *Mycodermaaceti* sur une surface alcoolique, elle est recouverte d'un voile formé par le mycoderme. Il observa la multiplication de ces mycodermes dans toutes les directions et effectua par la suite de nombreuses expériences pour montrer que *Mycodermaaceti* était le seul ferment dans la production du vinaigre. La réaction de fermentation acétique simplifiée est :



La conversion spontanée du vin en vinaigre dans l'air sous l'action de bactéries se trouvant sur les fruits était le premier procédé mis au point par les hommes. L'acétification est un processus de fabrication du vinaigre, du point de vue technologique, il existe deux.

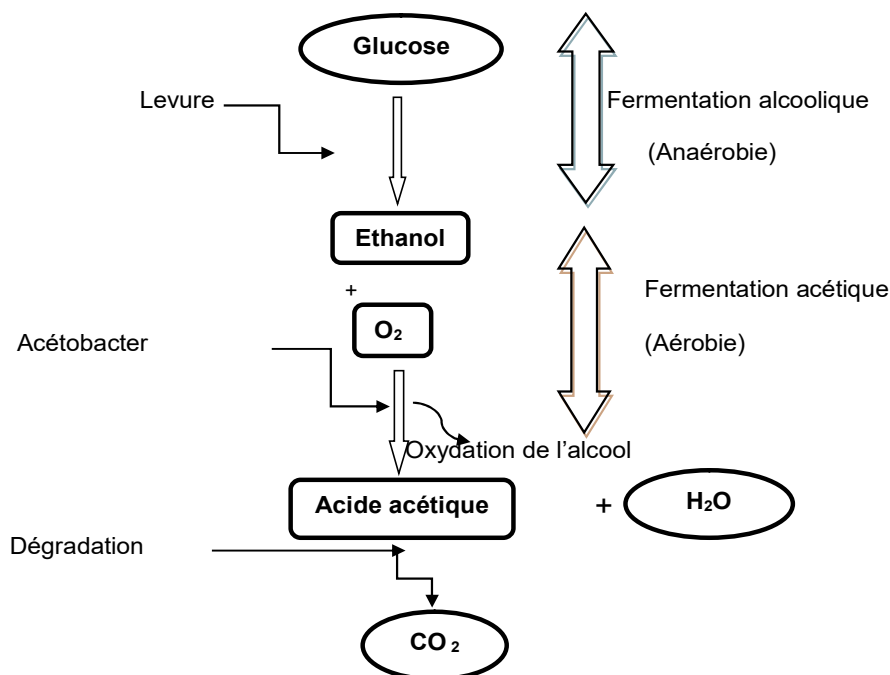


Figure 7 : Etapes de la fermentation acétique

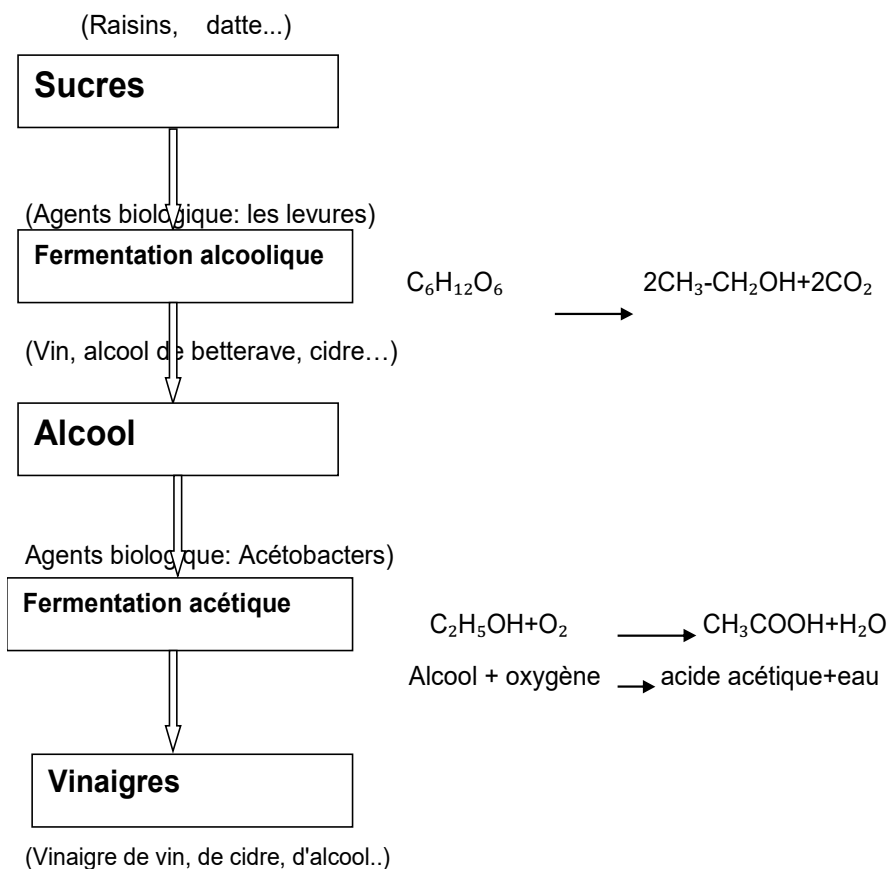


Figure 8 : Processus d'acétification

Pour former l'acide acétique (figure 9), Pasteur établit en 1864 le processus de fabrication du vinaigre. Il y a plusieurs réactions qui se succèdent : en premier lieu il y a formation de l'acétaldéhyde, 2 protons et 2 électrons à partir de l'éthanol catalysé par l'alcool déshydrogénase ; suivi de l'hydratation de l'acétaldéhyde et la formation de l'acide acétique catalysé par l'aldéhyde déshydrogénase avec formation de 2 protons et 2 électrons. Les électrons sont transférés dans la membrane comparable à celui de mitochondries où se trouve un système de transporteur d'électrons pour réduire le dioxygène en H_2O (El Idrissi, 1985).

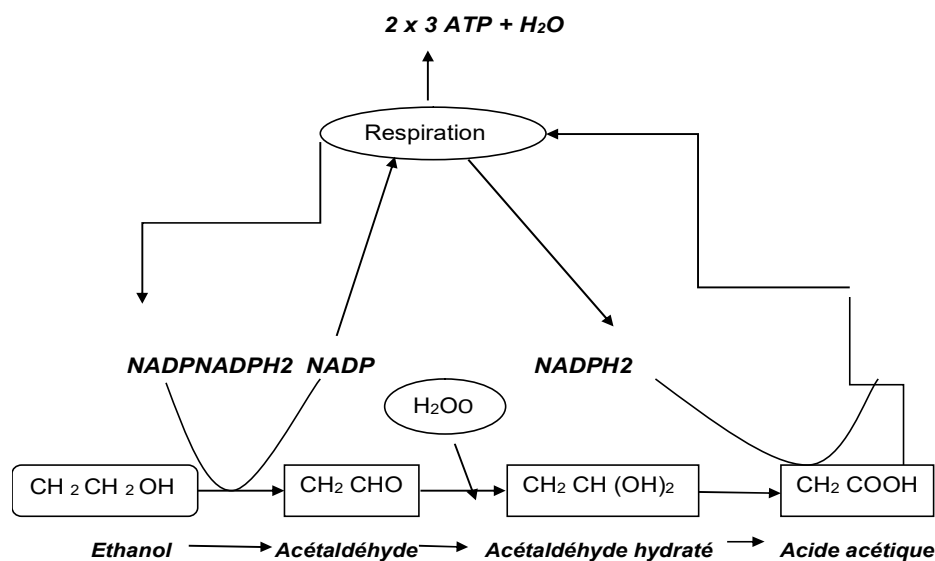


Figure 9 : Schéma de biosynthèse de l'acide acétique

3.1. Application de la fermentation acétique dans l'industrie agro-alimentaire

3.1.1. Fabrication de vinaigre

Il existe plusieurs types de vinaigre selon la matière première utilisée et le processus de fabrication, les critères de différenciation entre les types de vinaigre sont les taux en extrait sans sucre, en sorbitol, en acétoïne, en acide tartrique ou en lactose (Hui *et al.*, 2004).

- Le vinaigre de vin contient l'acide L-tartrique
- Le vinaigre de pomme contient l'acide L-maltique
- Le vinaigre de petit lait (lactosérum) contient l'acide D- et L-lactique
- Le vinaigre de citron contient l'acide citrique

De nos jours, les variétés traditionnelles du vinaigre renommés pour leurs bienfaits pour la santé et les utilisations multiples, sont commercialisés sur le marché mondial en tant que produits nouveaux et novateurs. Les différences entre ces variétés de vinaigres sont surtout liées à la matière première de départ (Ben Berry 2011) :

Vinaigre d'alcool ou blanc : Il est produit en utilisant comme matière première l'alcool pur dilué subissant préalablement une dénaturation par le vinaigre d'alcool. Ce vinaigre est notamment utilisé dans l'industrie condimentaire.

Vinaigre de vin : Dans les pays producteurs de vin (France, Espagne, Portugal, Italie, etc.), c'est généralement les vins de table (figure 10) avec un degré faible et un début de piqures acétiques qui servent comme la matière première.

Le vinaigre de bière ou de malt : Produit dans les pays anglo-saxons.

Vinaigre des jus de fruits : sont généralement fabriqués dans chaque pays producteur de son fruit d'origine, on peut citer :

- Le vinaigre de citron
- Le vinaigre de cidre
- Le vinaigre de cactus
- Le vinaigre de dattes, etc.

Vinaigre des produits amylacés : l'amidon comme matière de base de l'étape de saccharification est indispensable avant la fermentation alcoolique. On cite parmi eux :

- Le vinaigre d'orge
- Le vinaigre de blé
- Le vinaigre de riz

La couleur et l'arôme de tout vinaigre dépendent considérablement du substrat initial.

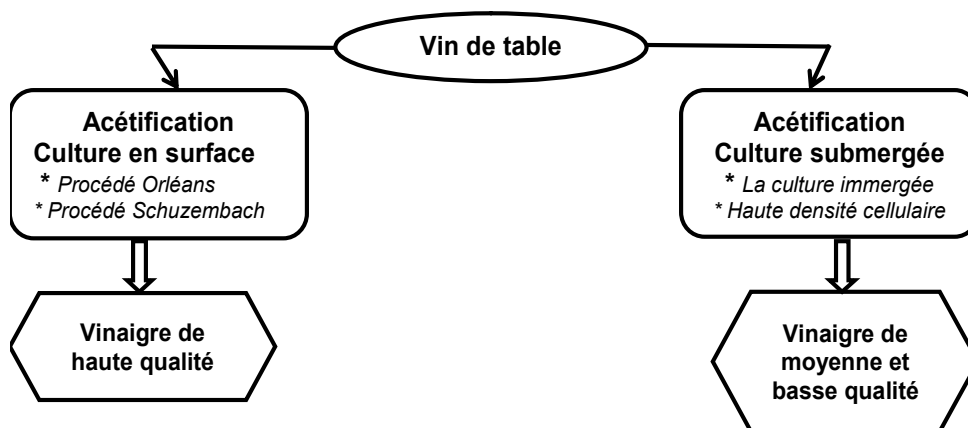


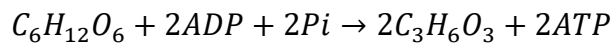
Figure 10 : Méthodes de production de vinaigre à partir de vin de table (Boukiar, 2009)

4. La fermentation lactique

La lacto-fermentation, est un mode de fermentation dont les ferments lactiques qui sont des bactéries spécifiques dégradent les glucides source d'énergie en absence d'oxygène pour induire la formation d'acide lactique.

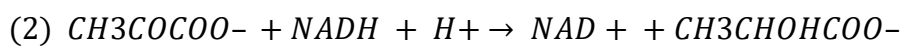
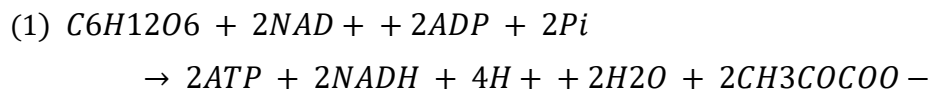
L'acide lactique produit, provoque une acidification du milieu, permet l'élimination des bactéries pathogènes. Cela fait que la fermentation lactique soit utilisée dans la conservation des aliments destinés à la consommation humaine et/ou animale.

L'acide lactique produit par des bactéries lors de la fermentation lactique dans les aliments, est à distinguer de celui produit anaérobiquement par le muscle au cours d'un effort intense. Sa réaction biochimique générale est caractérisée par une glycolyse pour obtenir l'acide lactique comme produit fini, d'un côté les ferments utilisent le glucose, l'adénosine di-phosphate (ADP) et le phosphate inorganique (Pi), de l'autre côté ils produisent de l'acide lactique et de l'adénosine triphosphate (ATP)



La fermentation lactique réalisée par certaines bactéries et certaines cellules animales constitue une voie métabolique, qui convertit des glucides tels que le glucose, d'autres hexoses et des diholosides formés d'hexoses en lactate $CH_3CHOHCOO^-$ avec production d'une faible quantité d'énergie métabolique sous forme d'ATP (figure 11).

Le pyruvate CH_3COCOO^- issu de la glycolyse (réaction 1) est réduit en lactate par le lactate déshydrogénase avec oxydation d'une molécule de NADH en NAD^+ selon la réaction 2 ci-dessous,



Pour la transformation du lait liquide en un gel, la coagulation est assurée par la fermentation lactique. Les deux bactéries lactiques responsables de cette transformation et employées industriellement sont : *Streptococcus thermophilus* et *Lactobacillus delbrueckii* sub-espèce *Bulgaricus* : *Lb. bulgaricus* fréquemment trouvées dans les laits fermentés traditionnels du Moyen-Orient, et qui interagissent en synergie.

Les *thermophilus* se développent rapidement en début de fermentation. Ils dégradent le lactose et le transforment en acide lactique $L(+)$, ce qui provoque une acidification par la baisse du pH. Ils ont la particularité d'amorcer le développement de la population de *Lb. bulgaricus* en produisant l'acide formique et le gaz carbonique qui sont des composants capables de stimuler leur croissance.

Le ferment *Lb. bulgaricus* à son tour hydrolyse la caséine grâce à une protéinase fixée sur ses parois, pour produire après d'autres réactions enzymatiques des acides aminés, en particulier la valine, composés indispensables à la croissance des bactéries mais qui ne sont pas en quantités suffisantes dans le lait en début de fermentation. Ce qui fait que la présence

du lactobacille est bénéfique pour les *S. thermophilus* qui ont une activité protéinase plus faible.

Cette synergie est une action conjointe pour les deux espèces afin de métaboliser le lactose pour leur croissance rapide, cette fermentation dure entre 3 à 4 heures et permet la production d'acide lactique comme résidu, hors que si les deux bactéries agissent séparément, chacune aurait passé 12 à 16 heures pour obtenir la même acidité.

Ces deux bactéries suivant les souches sont responsables de la synthèse des quantités variables d'exopolysaccharides, des polymères de galactose, glucose et rhamnose, qui sont excrétés et ont une fonction technologique dans la transformation de produits laitiers très recherchée et appréciée par les consommateurs, car ils augmentent la viscosité du yaourt et lui donnent une sensation d'onctuosité. Le choix de souches bactériennes sélectionnées pour produire les exopolysaccharides dans la production du yaourt est indispensable pour se dispenser des, épaississants et gélifiants, additifs chimiques.

Dans la technologie laitière il existe deux types de fermentations lactiques, le métabolisme du type homo-fermentaire, production exclusif de l'acide lactique, qui est une des principales fonctions des bactéries lactiques pour concentrer et conserver la matière sèche du lait, en intervenant comme coagulant et antimicrobien (Van HylckamaVlieg et Hugenholtz, 2007).

Le lactose intervient dans la formation de composés volatiles et aromatiques suite à une fermentation de type hétérofermentaire. Parmi ceux-ci, l'acide lactique confère le gout acidule. La thréonine produite principalement par le lactobacille à partir de l'acétaldéhyde, joue un rôle dans les caractéristiques organoleptiques, dont la concentration est augmentée lorsque le lactobacille est en association avec le streptocoque qui en élabore de faibles quantités. Elle est environ de l'ordre de 10 ppm.

L'acétaldéhyde peut provenir :

- du pyruvate, par le pyruvate formate lyase appelée aussi pyruvate décarboxylase ou par le pyruvate déshydrogénase ;
- de la Thréonine par l'action de la Thréonine aldolase.

Le diacétyl contribue à donner un gout délicat qui est du à la transformation de l'acide citrique et, secondairement, du lactose par certaines souches de streptocoques. D'autres composés (acétone, acétoïne, etc.) ont un rôle important dans la finesse de la saveur. Ceci résulte d'un choix vis-à-vis des souches, de leur capacité à produire dans un juste rapport les composés aromatiques et du maintien de ce rapport.

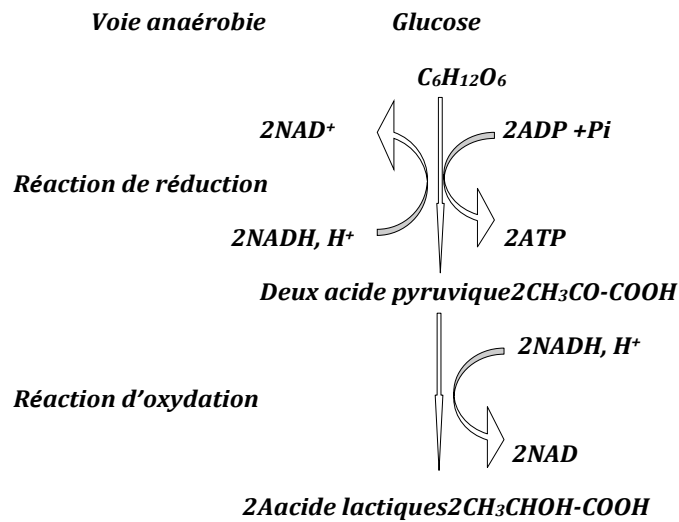


Figure 11 : Processus de la fermentation lactique

4.1. Les bifidobactéries

Bifidobacterium est anaérobie stricte et nitrate réductase, pour sa bonne croissance il lui faut une teneur assez forte en CO_2 . Toutefois quelques espèces tolèrent l' O_2 mais uniquement en présence de CO_2 . D'autres espèces peuvent se développer en milieu aérobie.

Les bifidobactéries fabriquent de l'acide lactique associé à de l'acétate, sans dégagement gazeux, elles sont le siège d'une fermentation hétérolactique. Pour caractériser les bifidobactéries on met en évidence la 6-phosphocétolase, une enzyme qui transforme directement le glucose en fructose-6-phosphate, pour substituer la glucose-6-phosphate déshydrogénase. Ces bactéries transforment ensuite le glucose en lactate et en acétate en utilisant la voie des pentoses phosphates (figure 12).

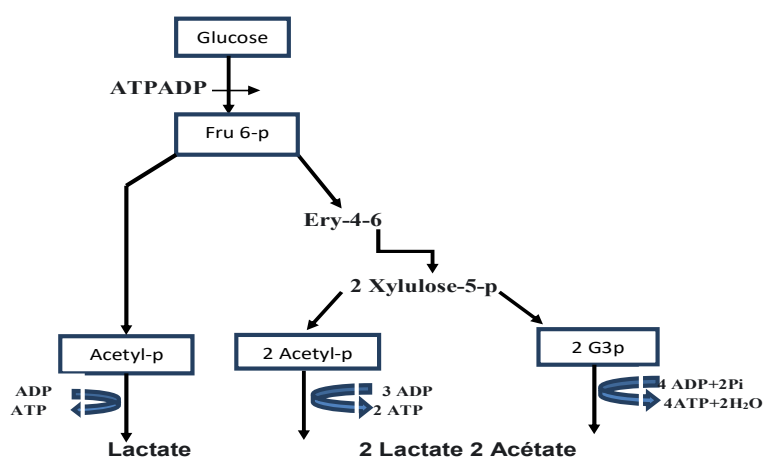


Figure 12 : Fermentation lactique chez les Bifidobactéries

Tableau 1 : Bactéries lactiques responsables de la fermentation lactique appliquées dans l'agro-alimentaire

Espèce	Utilisation industrielle	Images des bactéries lactiques
<i>Lactococcus lactis</i> <i>Lactococcus cremoris</i>	La plupart des fromages, crème, beurre	
<i>Lactococcus diacetylactis</i>	Fromages (gouda ; bleu ; camembert), crème, beurre ...	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Yaourt, fromage (gruyère), crème	
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	Yaourt, lait fermenté	
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Fromages	
<i>Lactobacillus casei</i>	Fromage	
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Lait fermenté	
<i>Leuconostoc lactis</i> <i>Leuconostoc cremoris</i>	Fromages, crème	

4.1.1. Les types de la fermentation lactique:

a) Fermentation homolactique

Le produit formé dans ce type de fermentation est essentiellement de l'acide lactique à 90%, contre 25 et 90% formé dans la fermentation hétérolactique. Cependant, il y a parfois formation d'une petite quantité de glycérol et plus souvent d'acétoïne et de diacétyl (par exemple par l'intermédiaire de l'acétolactate). Par ailleurs, dans des conditions de pH basique, il y a formation de quantités croissantes de formate, d'acétate et d'éthanol (Arnaud et Guiraud, 1999).

La fermentation lactique du lactose commence par la transformation du lactose en glucose par une enzyme lactase, ensuite la dégradation du glucose s'effectue par une voie connue sous le nom de glycolyse ou voie d'Embden-Meyerhof-Parnas. Dans ce processus, une molécule de glucose va donner, via plusieurs intermédiaires, deux molécules du produit final qui est l'acide pyruvique (Pernoud *et al.*, 2005).

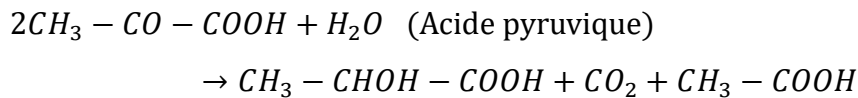
L'acide lactique provient de la réduction de l'acide pyruvique catalysée par la lacticodéshydrogénase (Figure 11). Il peut être de forme D (*Bacillus coagulans*, *Bacillus laevolacticus*...), L (*Lactobacillus delbrueckii*...) ou DL (*Bacillus racemilacticus*). Cette production dépend de la stéréospécificité de la lacticodéshydrogénase et de la présence ou de l'absence de racémase. Le micro-organisme peut ne posséder qu'une L-lacticodéshydrogénase, D-lacticodéshydrogénase ou les deux. Certaines souches de lactobacilles produisent de l'acide racémique, bien qu'elles possèdent une lacticodéshydrogénase stéréospécifique; la racémisation s'effectue après la formation de l'acide lactique optiquement actif, avec intervention d'une racémase. Les genres bactériens *Streptococcus*, *Pediococcus* et *Microbacterium*, beaucoup de *Lactobacillus*, certains *Bacillus* et certaines moisissures effectuent la fermentation homolactique (Arnaud et Guiraud, 1999).

b) Fermentation hétérolactique

Rhizopusoryzae fait parti de la classe des moisissures, cultivé en anaérobiose, constitue un cas particulier, il produit de l'acide lactique, de l'acide acétique et du CO₂. Quant il est cultivé en anaérobiose, il produit un mélange: d'acide lactique, d'éthanol et de CO₂ qui sont similaires à ceux obtenus par des *Leuconostoc* lors de la fermentation hétérolactique mais le mécanisme de formation est différent.

La dégradation du glucose s'effectue par la voie de glycolyse:

En aérobiose, le pyruvate est transformé en acide lactique D, et une petite partie est oxydée (Arnaud et Guiraud, 1999).



Acide lactique

Acide acétique

En anaérobiose, il est transformé en éthanol et en CO₂, une partie de pyruvate est transformée en acide lactique de forme D.

c) Fermentation amylolytique

Les bactéries lactiques amylolytiques peuvent convertir directement l'amidon en acide lactique en une seule étape, ceci éliminerait le processus de deux étapes comportant l'hydrolyse enzymatique suivi de la fermentation microbienne pour aboutir à un résultat plus économique (Reddy *et al.*, 2008).

4.2. Application de la fermentation lactique dans l'industrie agro-alimentaire

a) Fabrication du yaourt

Le yaourt est un produit laitier transformé, obtenu par la fermentation lactique grâce à deux bactéries :

- *Lactobacillus bulgaricus*
- *Sterptococcus thermophilus*

Qui après leur ensemencement ensemble, doivent remplir la condition de rester vivantes dans le produit fini. La premier responsable de l'acidification de milieu par la production de diacétyl. La deuxième, sert à développer la saveur et l'arôme qui, confère au yaourt une flaveur et structure crémeuse, en utilisant la thréonine pour développer la qualité organoleptique et probiotique selon les réactions du métabolisme fermentaire (figure 13).

Milieu intracellulaire

milieu extracellulaire

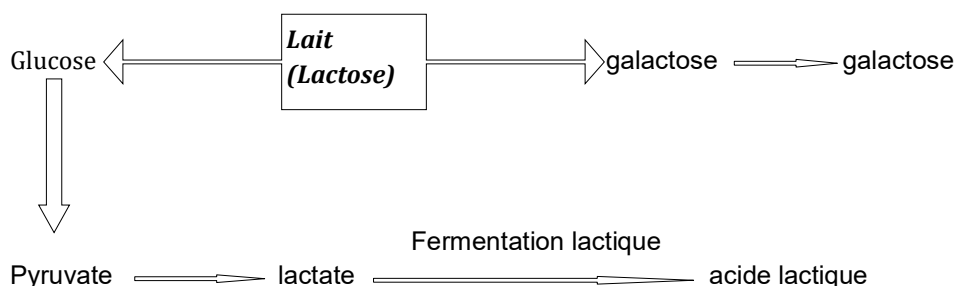


Figure 13 : Schéma simplifié des réactions du métabolisme fermentaire chez les bactéries lactiques de yaourt

5. La fermentation propionique

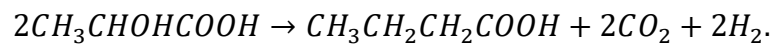
Cette fermentation est caractérisée par la diversité de substrats utilisés : les sucres, le glycérol, l'acide lactique, l'acide malique. En fromagerie, la fermentation propionique réalisée par les bactéries lactiques du genre *Propionibacterium* joue un rôle majeur en utilisant l'acide lactique comme substrat pour produire l'acide propionique.

Les bactéries du genre *Propionibacterium* ont la capacité de survivre dans différents milieux de vie, allant du fromage au lait fermenté : elles résistent à des variations de température assez importantes (de 4°C durant la conservation de fromages affinés au froid jusqu'à 44°C durant la fabrication de laits fermentés). Elles se divisent en deux catégories : les cutanées et les lactiques, ces dernières produisent dans la fermentation en anaérobie en fromagerie, pour la fabrication de fromages à pâte pressée cuite du type emmental, la propionate, l'acétate et de CO₂ qui est à l'origine de la formation de trous dans le fromage, à partir de glucose ou de lactate. Elles nécessitent un apport impératif en minéraux, en vitamine B5 (biotine) et en acide pantothénique. Les produits de cette fermentation participent à l'enrichissement de la saveur de ces fromages durant leur affinage à des températures allant de 12°C à 24°C permettant le développement de la flore propionique.

En fin d'affinage, les proportions élevées en acide propionique, de l'ordre plus ou moins de 200mg/100g de fromage, sont caractéristiques des fromages à pâte pressée cuite. Un gruyère contient en moyenne 222mg d'acide propionique pour 100g de fromage (Borges *et al.*, 2016).

6. La fermentation butyrique

Certaines bactéries du genre *Clostridium* anaérobies transforment le glucose au cours de fermentation butyrique en : acide éthanoïque ou acétique, acide butanoïque ou butyrique, dioxyde de carbone et hydrogène. L'acide butanoïque est responsable de l'odeur putride et du goût piquant de certains fromages à pâte cuite et ont une odeur forte d'acide butyrique, ce sont les spores de *Clostridium butyricum* qui sont responsables de ce défaut, il est présent dans le beurre et la sueur. Il peut se former aussi à partir de l'acide lactique déjà formé par fermentation lactique en plus du CO₂ et du dihydrogène :



La fermentation butyrique se manifeste généralement après 6 à 8 semaines. Elle est redoutée en brasserie et en fromagerie. On trouve l'acide butyrique dans le beurre rance et dans le parmesan (fromage italien) (Larpen, 1997).

6-1. Action de fermentation butyrique pendant la transformation du lait cru en fromage :

Dans le lait cru, il existe un nombre élevé des Clostridies butyriques ; qui sont des germes non pathogènes pour l'homme, ne sont pas dénombrées lors de contrôle de lait de vache mais peuvent être néanmoins responsables de graves défauts dans divers types de fromages et entraînent des pertes économiques très importantes à l'industrie fromagère. Ces pertes sont observées chez les fromages à pâte pressée cuite et certains fromages à pâte non cuite à cause de la croissance du *Clostridium butyrique* lors de leur maturation à partir des spores butyriques qui entrent en activité au cours de l'affinage (Zamora, 2009).

D'autres espèces comme *C. butyricum*, sans danger pour l'homme, présentes dans les aliments d'animaux (ensilage), peuvent être séparé en trois principaux groupes :

1/ Les clostridies protéolytiques : Ces espèces fermentent à un pH supérieur à 5 des acides aminés dans des réactions de désamination, décarboxylations, oxydo-réduction pour produire l'azote ammoniacal, un mélange des acides organiques, l'amine et le gaz carbonique.

2/ Clostridies saccharolytiques: Ces espèces fermentent les hydrates de carbone avec la production de l'acide acétique et butyrique, elles travaillent à un pH légèrement plus bas que celui des clostridies protéolytiques.

3/ Les clostridies saccharolytiques d'espèce *C. trybutyricum*: Cette espèce ne fermente qu'un nombre limité du sucre, elle a un impact sur la fabrication des certains fromages en

transformant l'acide lactique en acide butyrique, hydrogène et gaz carbonique ce qui engendre une augmentation de pH (Zamora, 2009).

7. La fermentation mixte

Ce sont des voies métaboliques empruntées par les *Enterobacteriaceae* qui accompagnent les flores principales des produits. Leur action est souvent très peu souhaitable (gonflements, mauvais goûts, risque de pathogénicité), mais la diversité de leurs produits peut apporter un complément aromatique à faible concentration. Les genres bactériens principalement responsables sont : *Escherichia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Hafnia*...et appartiennent pour la plupart au groupe des coliformes.

8. La fermentation mannitique

C'est le fait de bactéries lactiques des genres *Lactobacillus* et *Luconostoc* qui fermentent les sucres résiduels comme le fructose pour les transformer en acide lactique, acide acétique et mannitol quand la fermentation alcoolique s'arrête lorsque la température d'une cuve de fermentation s'élève au-dessus de 35°C.

Caractéristiques des souches produites industriellement

Dans ce chapitre

1. Cultures industrielles en agroalimentaire
2. Obtention de molécules utiles à la fabrication d'aliments: quelques exemples

Les souches produites doivent répondre avec innocuité et être non pathogènes avec: une bonne productivité, stabilité génétique et améliorabilité, pour garantir un fort rendement avec une capacité à synthétiser des quantités appréciables de produit attendu ou de biomasse et ne pas perdre ses caractéristiques après de nombreuses multiplications en bioréacteurs et lors de sa conservation, et doit pouvoir être capable d'évoluer sous la pression de l'industriel, dans le but d'améliorer ou d'adapter la production de la souche.

1. Cultures industrielles en agroalimentaire

1/ Le levain utilisé dans la fabrication d'aliments:

Saccharomyces cerevisiae pour la panification et l'oenologie

Saccharomyces cerevisiae et *Carlberensis* pour la fabrication de la bière

Lactobacillus utilisé pour les produits laitiers type yaourts..., de charcuteries comme les saucissons ou d'origine végétale exemple de choucroute....

Bacillusnatto pour le natto

Penicillium roquefortii, *Penicillium camembertii*... pour la fromagerie

Asperillus flavus pour certains produits asiatiques (saké)

Cas du vin: levure oenologiques

Des espèces présentes sur la peau des raisins selon l'environnement et les cépages

D'autres souches de genre *Saccharomyces* telles que: *S. ellipsoideus*, *S.oviformis* et *S. cerevisiae* peuvent être ajoutées au moût.

Torulosporaapiculata

S. ellipsoideus et *S.oviformis* sont les espèces les plus alcoolisées au cours de la vinification. La réaction principale de fermentation de 100 à 250 g/L de fructose et glucose produit de l'éthanol de l'ordre de 60 à 170 g/L, l'équivalent de 6 à 17%, et le CO₂. La réaction additionnelle de la fermentation de sucre, acides organiques dont l'acide malique donnent des produits qui sont des composants essentiels du "bouquet" du vin comme; glycérol, acides organiques (lactique, succinique), autres alcools, aldéhydes et combinaison de ces produits esters.

1. Cas du cidre

Jus de pomme → cidre (mêmes types de réactions que pour le vin, degré d'alcool plus faible: 2 à 5%)

Principaux micro-organismes:

- Fermentation alcoolique: on retrouve divers espèces de *Kloeckera*, *Saccharomyces uvarum* et *S. ellipsoideus*
- Fermentation malolactique: *Lactobacillus* de diverses espèces

2. Cas de la bière

Grain d'orge germés → bière

Aromatisation par le houblon

Deux différences avec le vin et le cidre:

- Le sucre fermenté est complexe, c'est l'amidon au lieu de sucres simples comme matière première
- 2 étapes: hydrolyse enzymatique de l'amidon pour produire le jus sucré ensuite le brassage, suivi de la fermentation alcoolique de ce produit qui nécessite l'ajout des micro-organismes; *Saccharomyces cerevisiae*: levure de bière et *Saccharomyces carlsbergensis*.

Production très importante de CO₂: mousse abondante

Le même processus est applicable pour l'obtention de l'alcool de riz ou le saké.

3. Cas du pain

Dans la fabrication du pain on utilise la fermentation alcoolique, dans le levain ajouté à la pâte pendant le pétrissage on retrouve:

- *Saccharomyces cerevisiae*
- D'autres levures ou des bactéries peuvent être ajoutées (pains spéciaux)

La réaction de fermentation utilise l'amidon qui est dégradé en sucres simples pour les transformer en alcool et en CO₂, grâce à ce dernier la levée de la pâte est assurée. La richesse en amidon provoque également la modification du gluten et ainsi de la texture de la pâte.

Durant la cuisson:

- L'alcool s'évapore
- Les bulles de CO₂ persistent

4. Cas du yaourt

Les réactions chimiques: elle sont caractérisée par la fermentation homolactique, le sucre de base est la lactose du lait après sa dégradation en fructose et en glucose, ce dernier est transformé en acide lactique.

Aliment "sucré" → aliment acide

De plus il y a modification des protéines type caséines par les mêmes microorganismes

Aliment liquide → aliment solide

5. Cas des fromages

Transformations complexes du lait de vache, de chèvre, de brebis par les microorganismes.

Exemple de microorganismes participant à la formation des fromages:

1/ Des bactéries

Bactéries lactiques: groupe prédominant: *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Propionibacterium* responsables des gruyères avec beaucoup de gaz.

2/ Des levures

Saccharomyces lactis

3/ Des moisissures

Penicillium: brie, camembert, roquefort bleu...

Geotrichum: camembert

6. Cas des produits végétaux

a) Fabrication de choucroute

- On ajoute le NaCl₂ à 3 % pour freiner le développement des Gram⁻
- flore naturelle du chou: représentée par le *Leuconostoc* et *Lactobacillus* est la responsable de la fermentation lactique du chou jusqu'à un pH inférieur à 2 pour sa conservation.

b) Fabrication d'olives, pickles (concombres, cornichons)

- Augmentation progressive du salage jusqu'à 16% (saumure)
- La fermentation lactique se fait principalement par *Lactobaccillus plantarum*

c) Fabrication de sauce soja

On utilise le ferment *Asperillus oryzae* pour la fermentation d'un mélange salé de graines de soja et de blé

d) Fabrication de vinaigre

Le vinaigre est obtenu par la fermentation acétique du vin obtenu par la fermentation alcoolique de jus de raisin selon les produits obtenus de chaque fermentation comme le montre l'équation suivante:

Sucres → ethanol → acide acétique

Les bactéries responsables sont: *Acetobacter*, *Gluconobacter*

e) Fabrication d'autres végétaux fermentés

Thé noir (feuilles fermentées), café (graines), cacao (fèves), manioc, igname, maïs, soja

2. Obtention de molécules utiles à la fabrication d'aliments: quelques exemples

2.1. Production d'acides organiques

- Acide acétique (conservateur)
- Acide lactique (conservateur) abondamment utilisé en industrie de transformation des aliments, notamment l'industrie laitière qui le produit à partir de plusieurs dizaines de milliers de tonnes de lactosérum par *Lactobacillus delbrueckii*.
- Acide glutamique (exhausteur de goût)

2.2. Production d'enzymes: certains enzymes comme la chymosine (présure), amylase, invertase, pectinases sont produits par des moisissures ou des bactéries

D'autres produits comme le dextrane, le xanthane ou l'alginate qui sont utilisés comme gélifiants alimentaires sont produits à partir de *Leuconostoc*, *Xanthomonas*, ces micro-organismes sont cultivés sur amidon.

2.3. Culture industrielles utiles pour un domaine autre qu'agroalimentaire

Production:

De bioéthanol, utilisé dans l'industrie chimique ou comme carburant pour les voitures, par des levures (*Saccharomyces* et/ou des bactéries) cultivés sur des mélasses de canne ou de betterave à sucre ou sur du lactosérum;

De lipides utiles dans le domaine de la cosmétologie;

De protéines d'importance médicale (hormones, anticorps, molécules antitumorales, enzymes...)

D'antibiotique

- Soit par des moisissures (pénicilline par *Penicillium*, céphalosporines par *Cephalosporium*)

- Soit par des bactéries (streptomycine par *Streptomyces*...)

De molécules immunosuppressives, les molécules produites pouvant être: des métabolites primaires, secondaires et celles issues d'une bioconservation.

Des métabolites primaires: sont des molécules indispensables pour la croissance cellulaire et que le microorganisme synthétise pour ses besoins nutritifs. Le moment de recueil se situe

durant la phase de croissance. La production peut être: enzymes, acides aminés, alcools, acides organiques...

Des métabolites secondaires: sont des molécules fabriquées suite à un stress microbien lors de la phase stationnaire qui suit la phase de multiplication active. Le moment de recueil se situe à la fin de la croissance, lors de la phase exponentielle et de déclin. L'exemple de la production: antibiotiques, protéines...

Chapitre 4

La biotechnologie moléculaire et les bioréacteurs dans l'industrie agroalimentaire

Dans ce chapitre

- 1- Description du bioréacteur (fermenteur)
- 2- Fonctionnement d'un bioréacteur
- 3- Modes de conduite des bioréacteurs
- 4- Les types de bioréacteurs

Les biotechnologies modernes, basées sur la manipulation de DNA et sous-tendues par: les techniques de génie génétique, les techniques de clonage des gènes et leur identification, les nanotechnologies en générale, la génomique (déchiffraege des génomes), la protéomique (tecnologie des protéines).

1/ Biotechnologie de première génération: elle est basée sur la maîtrise des techniques métaboliques de transformation des substrats par la billet de la fermentation.

2/ Biotechnologie de deuxième génération: elle est basée sur l'étude des caracteres qui se transmettent entre espèces du même genre.

3/ Biotechnologie de dernière génération: elle est basée sur la notion de gène voltigeur dans le ciel de la biologie fondée sur le transfert du gène en dehors de l'espèce après sa manipulation: cette technique presente un danger pour la biosécurité.

L'utilisation des biotechnologies modernes dans l'environnement sert pour: la dépollution par des techniques innovantes (cellulases, enzymes ou cellules transéniques fixées, bioréacteurs industriels), la bio remédiation des sols par biodéradation des composés récalcitrants (bio pesticides, ydrocarbures), la préservation de la biodiversité par usage des plantes transgéniques en lieu et place des biopesticides (cas du coton Bt). En géni microbienne, le terme de bioréacteur peut désigner un système permettant la culture de biomasse microbienne. La fabrication de nombreux produits: bière, yaourts, additifs alimentaires, vaccins, antibiotiques, anticorps, vitamines, acides organiques.... est assurée par les bioréacteurs (Gillet et Landerer, 2018).

Les procédés biotechnologiques (figure 14) sont faits dans des bioréacteurs ou fermenteurs, où les souches de bactéries de levures et de cellules sont cultivées pour synthétiser des molécules. Les résidues de cette cultura sont récupérés comme produits utiles dans de nombreux domaines comme; la fermentation de produits laitiers et de la bière. En plus de leurs applications dans l'industrie alimentaire et des boissons, il sont également utilisés dans le domaine de la recherche et thérapeutique pour la production de médicaments.

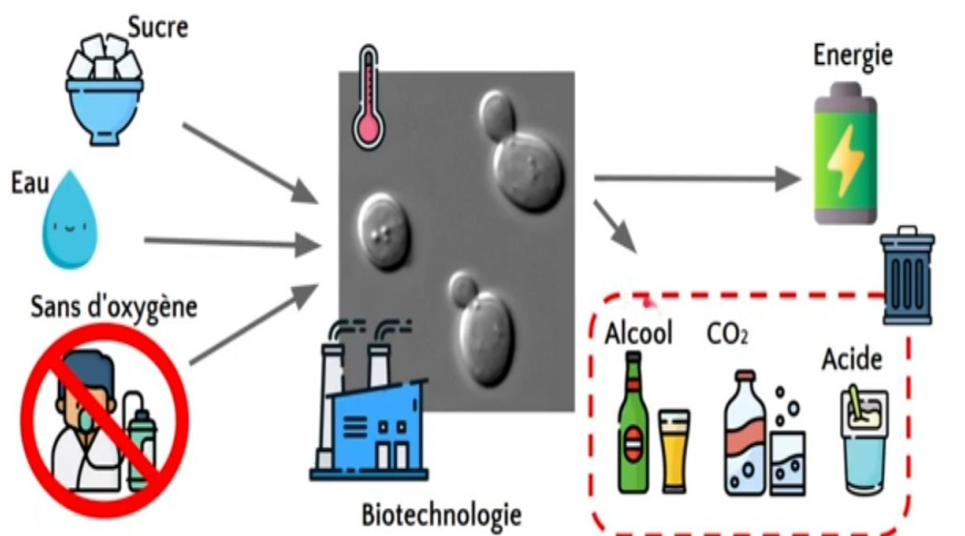


Figure 14 : Les procédés biotechnologiques dans les fermentations (Jonatan Ferroz, 2020)

1. Description du bioréacteur (fermenteur)

Un bioréacteur ou propagateur, est un appareil destiné à la culture de micro-organisme et cellules tout en arantissant un contact très étroit entre la phase biotique et abiotique du système. La forme du bioréacteur doit être conçu de manière à optimiser les transferts de matière et de chaleur (Gunther et Dion 2022).

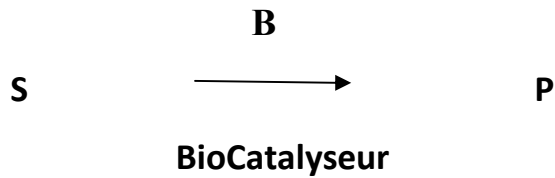
Un fermenteur, encore appelé "bioréacteur" ou propagateur est une enceinte généralement en verre ou en inox dans laquelle on procède à la culture de micro-organismes ou de cellules. Le but de ces cultures peut être:

- de produire la biomasse en quantité suffisante en micro-organismes ou souche cellulaire, on cite l'exemple de production de levures.
- de produire et récupérer en quantité un métabolite que ces micro-organismes ou ces cellules contiennent ou rejettent dans le milieu, par exemple production d'acides organiques, d'hormones (à partir de micro-organismes modifiés génétiquement) etc.

C'est un récipient qui regroupe les fermenteurs et les cytoculteurs, à l'intérieur duquel les réactions biochimiques se déroulent comme suite :

$$\text{Substrat} + \text{Biomasse} = (\text{Biomasse})_n + \text{Métabolites} + \text{résidus de substrat}.$$

Il existe deux types de Bioréacteurs : à enzymes ou fermenteurs (terme ancien) et à cellules ou cytoculteur (terme plus récent).



Dégradation du Substrat

Multiplication des cellules → formation de la **Biomasse**

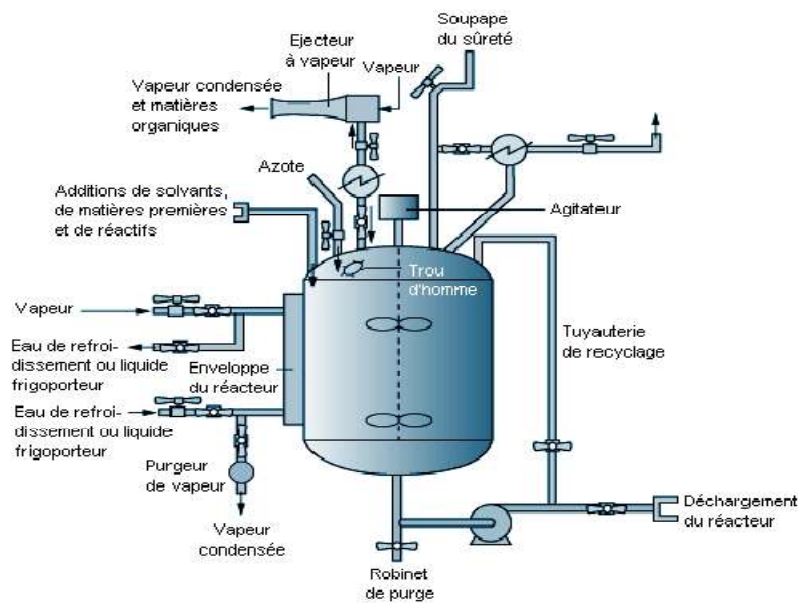
Production de **Produits** métabolites

La fonction principale d'un bioréacteur est d'optimiser la croissance et la production des microorganismes ou des cellules en quantités importantes dans un environnement contrôlé.

Le fermenteur, est un appareil composé d'une cuve dont le rapport hauteur / Diamètre se situe entre 2 et 5, dans lequel la croissance des microorganismes, la production de biomasse, de métabolites ou bioconversion sont réalisées. Ils possèdent une capacité et des volumes très variables selon l'usage recherché, ça va :

- de quelques litres jusqu'à 50 litres pour les fermenteurs de laboratoires ;
- de 50 à 1.000 litres pour les installations pilotes et les fermenteurs d'inoculation ;
- pouvant dépasser 100 m³ pour les cuves industrielles.

La qualité des matériaux de la cuve des fermenteurs, des accessoires qu'elle contient est essentielle, ils ne doivent pas avoir une action inhibitrice sur la croissance des microorganismes avec la facilité de nettoyage des tuyauteries qui la composent. Pour les fermenteurs de petites tailles il est conseillé de choisir le verre, l'acier inoxydable est recommandé pour ceux de plus de 20 litres ; dans ce dernier cas la tôle doit supporter la pression de vapeur de stérilisation, ces surfaces sont donc polies et accessibles et le nombre de joints réduit au maximum. La cuve est munie d'une série d'accessoires permettant d'assurer l'agitation, l'aération du milieu et différents contrôles (figure 15).



Source: Environmental Protection Agency (EPA), 1993.

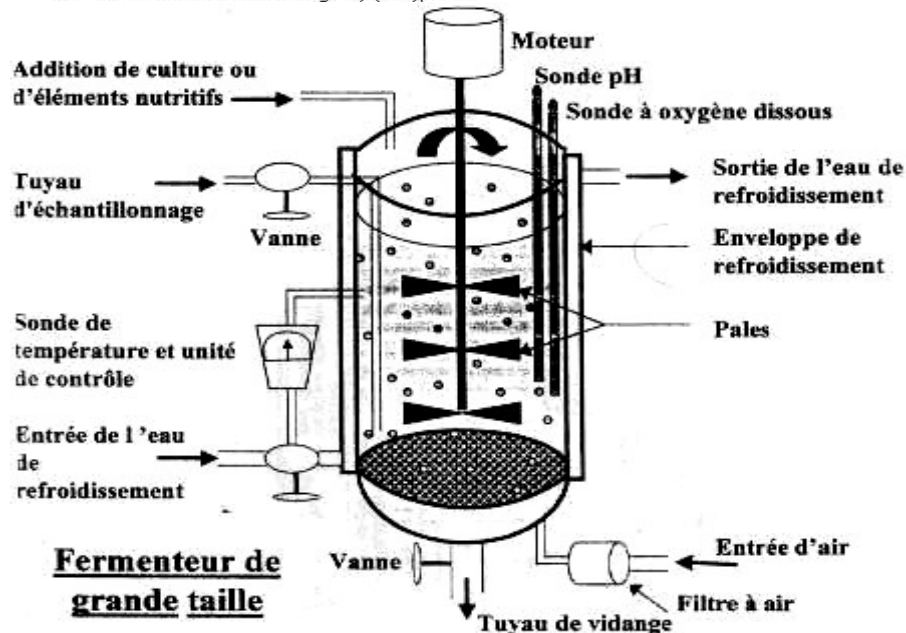


Figure 15: Schéma général d'un fermenteur (Benhadj, 2020)

Le fermenteur comprend en général (Figure 15):

_ Un réacteur ou lenceinte de culture, appelée cuve. Son volume peut aller de quelques litres (fermenteurs de laboratoire pour recherches, enseignement, petites cultures...) jusqu'à plusieurs mètres cubes dans le cas d'unités industrielles. Des appareils de tailles intermédiaires appelés pilotes permettent de valider les résultats du laboratoire à une échelle préindustrielle. La cuve est dotée d'un système d'agitation pour agiter et aérer le milieu de culture (moteur externe, arbre et turbines intérieurs à la cuve).

_ Un système de contrôle-commande permettant d'enregistrer et piloter tous les paramètres de procédé de marche.

Il est indispensable de maintenir dans le réacteur des conditions de culture optimales, spécifiques pour les cellules ou les micro-organismes considérés.

Un fermenteur est donc équipé d'un certain nombre de capteurs physico-chimiques pour mesurer par exemple:

- la température (du milieu de culture)
- la vitesse d'agitation
- Le pH
- Le taux d'oxygène dissous
- Le potentiel d'oxydo-réduction
- les débits et la nature de gaz à l'entrée et/ou en sortie de réacteur, etc....

Le pH est régulé par un système PID (proportionnel, intégral, dérivé) couplé à une sonde à pH stérilisable pendant toute la culture par ajout d'une solution basique ou acide à l'aide d'une pompe péristaltique. L'étalonnage de la sonde est effectué avant stérilisation, alors que la calibration de l'oxygène est réalisée avant l'ensemencement.

La régulation de la température est obtenue par une circulation d'eau dans un circuit propre (double enveloppe) et par chauffage de la sonde de température en contact avec le volume réactionnel. Lorsque la température s'éloigne de valeur de consigne, l'eau de refroidissement ou de chauffage arrête de circuler.

L'agitation est assurée par des turbines réglables en hauteur montées sur un axe unique qui est entraîné par un moteur. La variation d'agitation et le débit d'air sont relatifs au taux d'oxygène dissous.

2. Fonctionnement d'un bioréacteur

Le bon déroulement du procédé est lié aux phénomènes de transfert entre les cellules et le milieu de culture, pour que ce transfert puisse s'effectuer correctement, l'homogénéité de la répartition des cellules dans le milieu de culture est indispensable pour avoir une croissance microbienne rapide ainsi qu'une formation de produits efficaces (yaourt, bière, vaccin, antibiotique, anticorps, vitamine, acide organique) et l'inverse pour l'hétérogénéité, c'est-à-dire pas de croissance microbienne et de formation de produits. L'oxygène dans le bioréacteur doit être dissous pour son utilisation par les cellules.

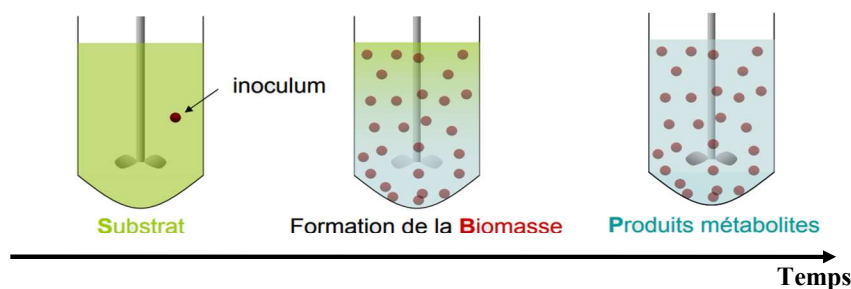
Le bioréacteur doit faciliter les transferts de chaleur du milieu vers les cellules car la croissance microbienne est exothermique et la répartition homogène des cellules évite tout phénomène de surchauffage. La capacité d'évacuation de chaleur du bioréacteur est fixée par le rapport entre le dégagement de la chaleur et la consommation d'oxygène et qui est de l'ordre de 3,44 kcal/g.

Quand le dégagement gazeux s'arrête c'est la fin de la fermentation, ce qui permet de récupérer les cellules en fonction du type du microbe et de l'âge de la culture soit dans le bas de la cuve par fermentation basse soit en flottation par fermentations haute.

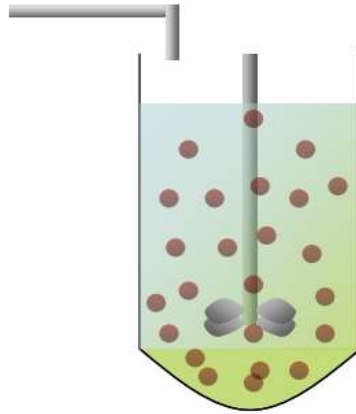
3. Modes de conduite des bioréacteurs

Pour conduire la fermentation en bioréacteur à l'échelle industrielle on doit choisir le mode le plus approprié pour produire une substance d'intérêt à l'aide d'une souche microbienne dont les exigences en cinétique de croissance et de production sont connus. La fermentation est l'un des plus anciens procédés de conservation des aliments, les procédés de fermentation sont très utilisés en industries chimiques, alimentaires et Pharmaceutiques. Trois modes d'opérations sont utilisés dans les processus de fermentation industrielle :

- Le fermentation discontinue ou le traitement par lot procédé, en anglais "*batch*"; le substrat solide ou liquide est introduit au début de la réaction et les ferments ne sont pas alimentés en continu.



- Le procédé *fed-batch* fermentation discontinue alimentée ; sont partiellement alimentés : le substrat est introduit tout au long de la réaction mais sans qu'il y ait soutirage du milieu. Le volume augmente, permet d'augmenter le volume au fur et à mesure de la croissance de la biomasse jusqu'à une certaine valeur qui provoque l'arrêt de l'alimentation



- Le procédé de culture continue; alimenté en continu en substrat: le substrat (en solution) est introduit tout au long de la réaction. La transformation des substrats peut se poursuivre indéfiniment et l'appareillage est utilisé à plein temps (intérêt économique). En pratique, l'alimentation en substrat et un soutirage du milieu à un même débit (pour que le volume reste constant), il est utilisé durant des périodes plus ou moins longues : un fonctionnement sur des temps longs peut engendrer la modification du matériel biologique (mutation de microorganismes, dénaturation donc inactivation des protéines, ...)

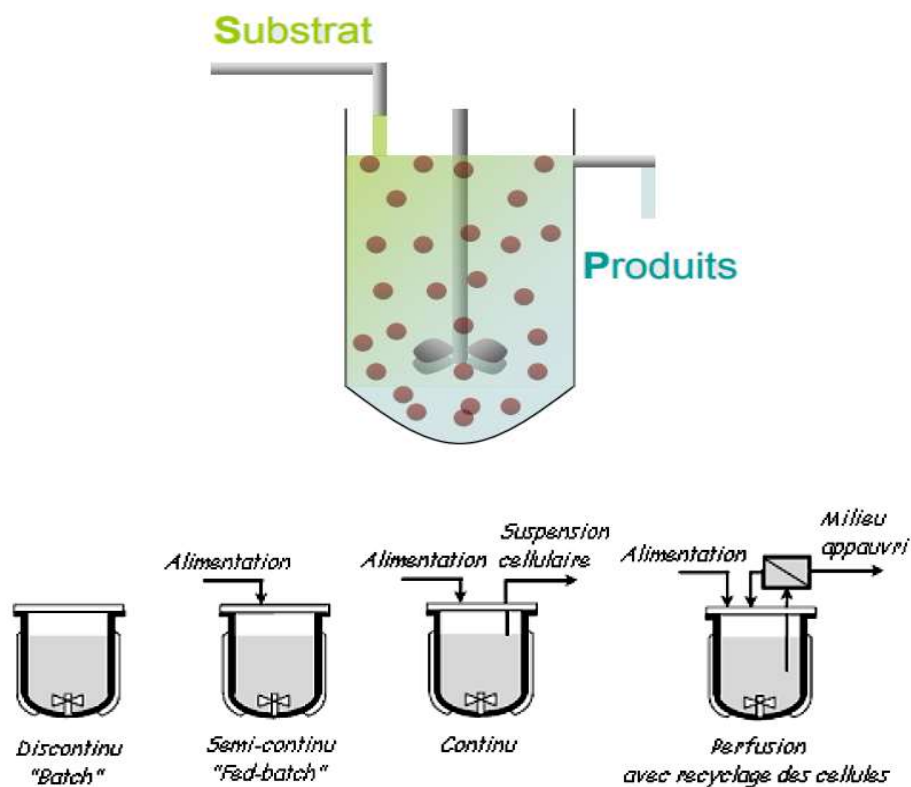


Figure 16: Schématisation des différents modes d'alimentations en milieu nutritif de bioréacteurs selon Branger (2004).

3.1. Fermentation discontinu (batch)

La fermentation discontinue, autrement nommée : «fermentation par lots» est un moyen efficace pour la production de plusieurs types de molécules en industrie, comme les antibiotiques.

Elle se fait d'une manière discontinue dans un grand fermenteur, c'est-à-dire qu'à la fin de chaque lot, il y a la récupération du produit désiré, en plus la fermentation discontinue nécessite la stérilisation du fermenteur et le milieu de culture avant l'introduction des microorganismes, comme elle nécessite également d'offrir des conditions favorables pour la croissance des microorganisme qui se déroule principalement en 3 phases: phase de latence, phase logarithmique et une phase stationnaire.

Ce mode consiste à effectuer une fermentation discontinue, utilisé le plus souvent lorsque les volumes sont faibles. Après la stérilisation de fermenteur vide et l'avoir rempli du milieu stérile (on peut remplir le fermenteur vide avec le milieu de culture ensuite les stériliser), on ensemence le milieu et on laisse se déroulera la fermentation. Durant tout le temps de la fermentation, on n'effectuera ni des ajouts (milieu de culture: substrat, biomasse) ni des soutirages, sauf des antimousses ou des neutralisants de pH.

La concentration en biomasse présente, augmentera selon la courbe de croissance microbienne propre à l'espèce, de même pour la consommation du substrat et la production du produit. On peut dire que le volume de la suspension restera constant, à condition d'une bonne homogénéisation et sans mousse.

Ce type d'installation permet le contrôle fin des différents paramètres de la culture à l'aide des ondes mesurant la température, le pH et le potentiel redox.

Les cultures sont effectuées à 35°C avec une agitation de 300 rpm. Le pH est maintenu au-dessus de la valeur fixée par ajout automatique d'ammoniac 14% v/v. Après autoclave, le milieu est dégazé pendant 30min à l'azote puis maintenu légèrement en surpression afin d'éviter toute entrée d'oxygène. La sortie de gaz du réacteur est protégée vis-à-vis de l'oxygène par un flacon

contenant du pyrogallol.

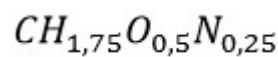
$$CM_{Glucose\ consommé} - CM_{Acétate} - CM_{Ethanol} - CM_{Butyrate} - CM_{Acétone} - CM_{Isopropanol} - CM_{Butanol} - CM_{CO_2} - CM_{Biomasse} \quad \text{Une fiole de garde est}$$

$$\text{où } M_{CO_2} = M_{Pyruvate} + M_{Acétone} + M_{Isopropanol}$$

$$\text{et } M_{Pyruvate} = M_{Acétate} + M_{Ethanol} + 2M_{Acétone} + 2M_{Isopropanol} + 2M_{Butyrate} + 2M_{Butanol}$$

placée entre celui-ci et la sortie du réacteur. Les prélèvements pour le suivi de la DO et des produits de fermentation sont réalisés à l'aide d'un système dédié permettant la prise d'échantillon sans risques de contamination du fermenteur. Ce système de prélèvement ne permettant néanmoins pas de maintenir des conditions d'anaérobiose, les prélèvements pour la réalisation d'activité enzymatique sont faits à la seringue stérile et l'échantillon récolté est directement injecté dans une bouteille dégazée et sertie. Les fermentations dans ce type de réacteur sont réalisées en milieu CGM identique à celui utilisé pour les cultures en fioles à l'exception de l'absence de résazurine et de cystéine. Le bilan est calculé en équivalent C-mole à partir de la formule suivant:

a. La formule élémentaire massique de la biomasse utilisée est:



b. Avantages et

inconvénients de la fermentation batch:

– Les avantages

- Coûts d'installation relativement faible
- Risque de contamination peu élevée car peu de manipulation
- Validation facilitée
- Pas de perte de micro-organismes durant la culture
- Recueil des produits synthétisés à tout moment, y compris durant la phase de déclin
- Peu de chance de mutation car la fermentation est de faible durée
- Evite la perte de l'ensemble de la production en cas de problème (car généralement plusieurs réacteur sont utilisés)

– Les inconvénients

- Risque de répressions de la croissance ou de la production par le substrat
- Faible densité maximale (pas le temps de pousser)
- Difficulté de stériliser de grands volumes de milieu
- Existence d'une phase de latence impropre à la production
- Accumulation de produits toxiques
- Coût de personnel important
- Rendement limité : la phase exponentielle est limitée, donc la biomasse et les produits d'intérêt sont recueillis en quantité faible.

3.2. Fermentation discontinue alimentée (*Fed-batch*)

Dans les procédés biotechnologiques, la culture Fed-batch ou alimenter en anglais est le mode de culture le plus utilisé industriellement, elle est définie comme une technique opérationnelle, où un ou plusieurs nutriments (substrats) alimentent le bioréacteur. C'est une fermentation discontinue avec un peu de changement, elle nécessite l'ajout du milieu de culture stérile en phase exponentielle, il y a l'augmentation du volume à travers le temps et une amélioration de la productivité. La fermentation est démarrée en discontinu puis la source de carbone et d'autres nutriments sont ajoutés de manière intermittente ou continue sans soutirer de milieu conduisant à une augmentation du volume dans la cuve au cours du temps (figure 17). Quand la fermentation commence par un ensemencement de l'inoculum à une concentration importante dans un volume de milieu de culture petit au pied de cuve, elle démarre plus vite, alors on introduit dans la cuve le milieu de culture stérile lorsque le microorganisme est en phase exponentielle de croissance (figure 19). Le débit d'alimentation dans la cuve correspond à une étape de la phase logarithmique de croissance cellulaire et il est réglé de façon à ce que la concentration en substrat soit constante. On coupe l'alimentation lorsque la cuve est remplie, et on observe alors que la culture évolue conformément à la courbe de croissance discontinue (figure 18 et 19).

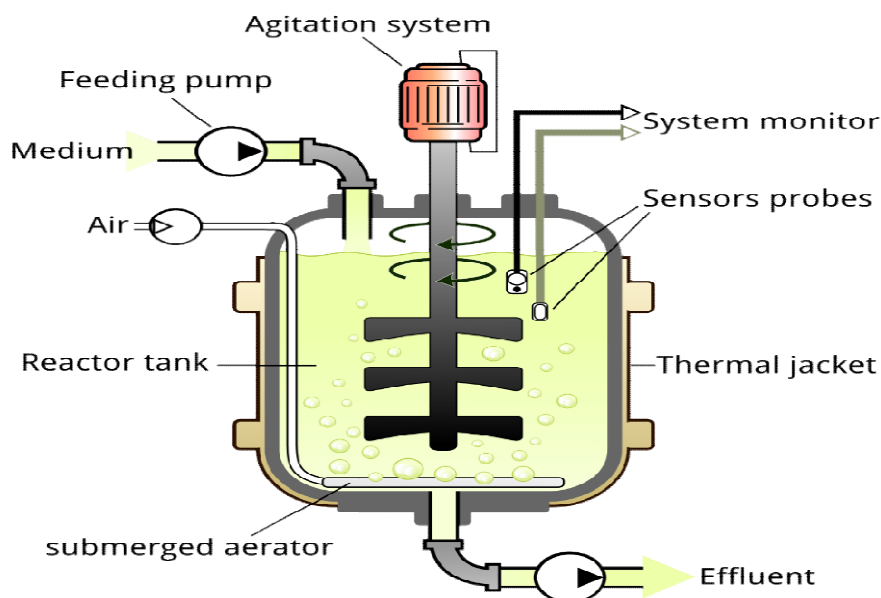


Figure 17: Bioreacteur fed batch (Oughideni, 2017).

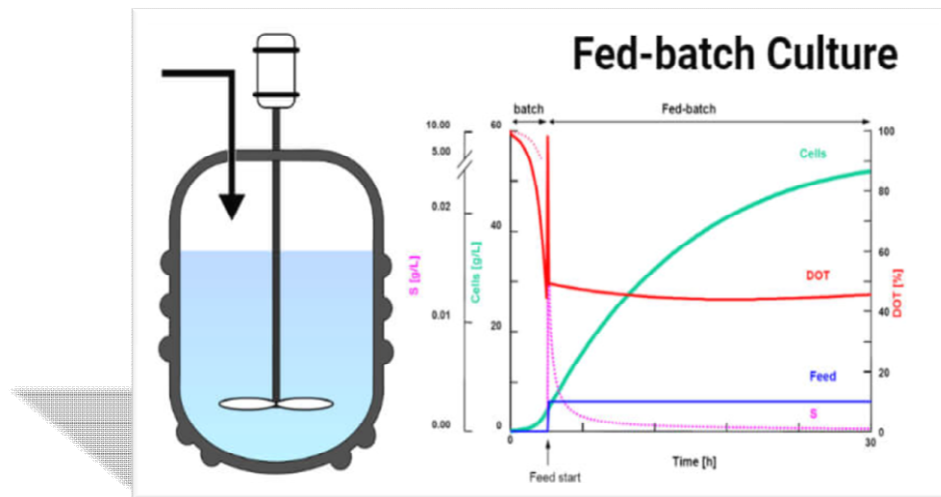


Figure 18: Graphe de principe d'une culture Fed batch (Supriya, 2021).

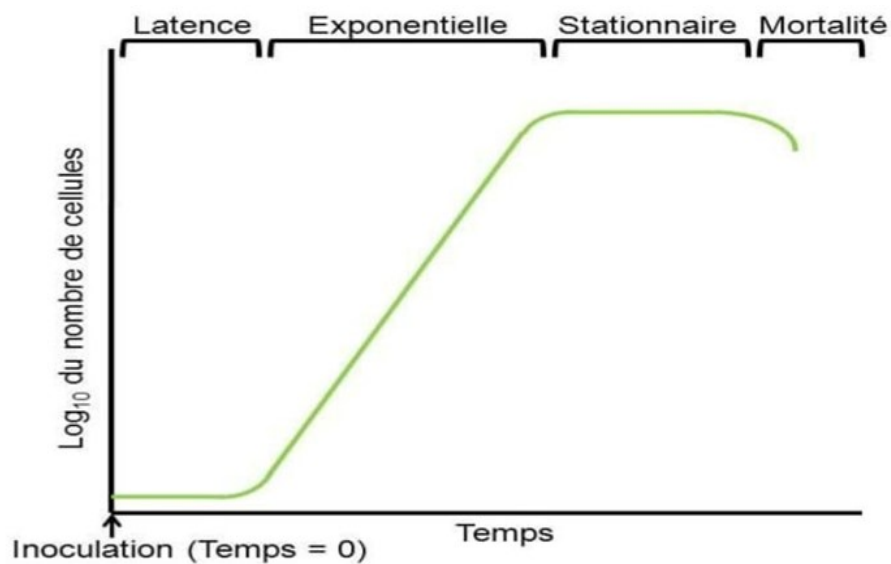


Figure 19: Profil de croissance en culture discontinue

La culture Fed batch est très utilisée dans l'industrie lorsque l'on veut optimiser l'apport d'un nutriment susceptible d'avoir un effet d'optimisation sur la croissance.

$$Dx/dt = (\mu - D) V$$

X=Concentration de la biomasse, exprimée en [g/l] ;

μ= Facteur d'accroissement cellulaire, exprimé en [h⁻¹]

D=Taux de dilution, exprimé en [h⁻¹] ;

3.2.1. Types de fermentation Fed-batch

1. Culture Fed-Batch à volume fixe
2. Culture Fed-Batch à volume variable
3. Culture discontinue répétée ou cyclique
4. Processus unique alimenté par lots

3.2.2. Avantages et inconvénients de la fermentation Fed-batch

Les avantages

- Gagner le temps et améliorer la productivité
- Taux de croissance et de productivité très élevés
- Possibilité d'orienter le métabolisme bactérien
- Possibilité de contrôler la concentration en substrat qui permet éviter son accumulation et la gestion efficace d'un effet d'inhibition par le substrat.

–Les inconvénients

- Coûts d'installation supérieurs à ce d'un batch
- La composition du milieu d'alimentation peut être modifiée durant l'opération
- Permet l'accumulation d'agents inhibiteurs et de toxines

3.3. La fermentation continue

Dans cette fermentation, maintenir un état d'équilibre dans la cuve par l'alimentation de milieu de façon continue est indispensable. Le microorganisme produit de façon maximale car il reste dans un état physiologique constant.

Un modèle de réacteur à réservoir agité continu, un exemple de chimiostat de bioréacteur continu. Les organismes qui se développent à l'intérieur des bioréacteurs peuvent également être suspendus ou congelés. L'un des moyens simples de congeler les cellules est la méthode du plateau de petri avec du gel d'agar. Les bioréacteurs à grande échelle utilisés pour congeler les cellules comprennent: milieu mobile, également connu sous le nom de réacteur à colonne mobile dynamique, colonne remplie, colonne fibreuse, membrane.

L'une des caractéristiques les plus importantes du chimiostat est que les micro-organismes peuvent se développer dans des conditions environnementales constantes avec un état physiologiquement stable. Dans cet état d'équilibre, la croissance se produit à un taux de croissance spécifique fixe et tous les paramètres de culture en volume de culture, concentration en oxygène dissous, concentrations en nutriments et en produits, pH, densité

cellulaire, etc. restent constants. De plus, les conditions environnementales peuvent être contrôlées par le chercheur. Les micro-organismes qui se développent dans les chymostats atteignent généralement un état d'équilibre dû au fait que le taux de croissance n'est pas affecté avec l'augmentation de la consommation de nutriments: Si le nombre de cellules est faible dans le bioréacteur, les cellules peuvent croître à des taux de croissance plus élevés que le taux de dilution car elles consomment peu de nutriments, de sorte que la croissance est moins limitée par l'ajout de nutriments réducteurs avec le milieu frais qui coule.

3.3.1. Le mode continu sans recyclage de la matière vivante

Lorsque le taux de croissance de la biomasse atteint le niveau très élevé à la fin de la phase de croissance exponentielle dans la fermentation en mode continu comme en mode discontinu où elle produit de façon maximale on démarre l'alimentation en milieu frais. Les cellules microbiennes demeurent perpétuellement en phase de croissance exponentielle pour conserver une productivité maximale. On procède au soutirage du milieu usé dans le fermenteur vers la cuve de soutirage où ils pourront être récupérés à un débit permettant de maintenir les concentrations constantes pour que la croissance et le produit qui se forment dans la culture ne s'y accumulent pas, car ils sont évacués. Les concentrations en biomasse, en substrats et on produits se stabilisent dans la culture, dont le volume reste constant.

3.3.2. Le mode continu avec recyclage de la matière vivante

La concentration en biomasse ne peut pas être augmentée dans une fermentation en mode continu, puisque les cellules sont soutirées du réacteur au même rythme qu'elles sont formées, le taux de dilution de la culture est limité par le taux de croissance spécifique maximal (μ_{max}) du microorganisme (Atma, 2022). Pour optimiser le procédé et contourner ces limites, diverses techniques de recyclage de la biomasse sont appliquées pour récupérer la matière vivante dans la culture soutirée, pour la retourner dans le réacteur. Ainsi, il n'y a pas de perte de microorganismes et la concentration en biomasse augmente dans le temps. La microfiltration membranaire est le moyen le plus efficace pour recycler la biomasse tout en maintenant constant le volume de cultura, de façon que le débit la culture soutirée du réacteur est filtrée sous pression sur une membrane de porosité absolue ne laissant pas passer les microorganismes soit égale au débit d'alimentation en milieu frais pour.

4. Les types de bioréacteurs

4.1. Photobioréacteur (moustique)

Un bioréacteur à mousse est un photobioréacteur utilisé pour la culture et la propagation de la mousse, et les bioréacteurs à mousse sont généralement utilisés en culture moléculaire pour la production de protéines recombinantes à l'aide de mousses transgéniques. Les mousses sont des organismes photosynthétiques très peu coûteux qui sont conservés en laboratoire à des fins de recherche depuis le début du XXe siècle.

Les premiers bioréacteurs à lichens modèles vivants, *Viscometella Patient*, ont été développés dans les années 1990 pour respecter les normes de sécurité relatives à la manipulation d'organismes génétiquement modifiés et également pour obtenir une biomasse suffisante à des fins expérimentales.

4.2. Photo bioréacteur : abrégé en PBR

Un bioréacteur qui incorpore un certain type de source lumineuse pour fournir un apport d'énergie lumineuse au réacteur. De plus, un bassin ouvert peut être considéré comme un photobioréacteur, mais le plus souvent le terme photobioréacteur est utilisé uniquement pour les systèmes fermés qui n'ont pas d'échange direct de gaz et de polluants avec l'environnement. Désormais, certains organismes ectophiles (organismes pouvant se développer dans des conditions difficiles) poussent dans des bassins ouverts. Cependant, de nombreuses autres micro-algues annoncent une évolution positive pour la production d'une énorme variété de composés. Les monocultures doivent être maintenues et des photobioréacteurs fermés utilisés pour cultiver également ces algues et leurs produits. Les photobioréacteurs fermés peuvent être décrits, et les cuves de culture éclairées sont conçues pour produire une biomasse contrôlée à partir de cultures en suspension. Les photobioréacteurs cellulaires liquides photovoltaïques, malgré leurs coûts, présentent plusieurs avantages majeurs par rapport aux systèmes ouverts :

- Prévenir ou réduire la pollution, puis permettre la culture d'algues aquatiques en monocultures (culture constituée d'un seul type de microalgues) ;
- Fournit le meilleur contrôle sur les conditions végétatives vitales (pH, intensité lumineuse, dioxyde de carbone, température) ;
- Empêche l'évaporation de l'eau ;
- Réduit les pertes de dioxyde de carbone dues aux émissions de gaz ;

- Permettre des concentrations cellulaires plus élevées ;
- Permettre la production de produits biopharmaceutiques complexes, tels que ceux que l'on trouve dans les algues génétiquement désactivées, dans le cadre de bonnes pratiques de fabrication, une biotechnologie connue sous le nom d'agriculture moléculaire.

D'autre part, les photobioréacteurs contiennent de nombreux facteurs limitants, notamment : le refroidissement, le mélange et le contrôle de l'accumulation d'oxygène et de bioénergie. En conséquence, la construction et l'exploitation de ces systèmes sont plus coûteuses que les étangs. Des systèmes de nouvelle génération moins chers sont actuellement en cours de développement et les ingénieurs travaillent à exploiter les sous-produits pour produire des microalgues commercialement attrayantes.

4.3. Bioréacteur à algues

Un bioréacteur utilisé pour la culture d'algues (figure 20) pour fixer le dioxyde de carbone ou produire de la biomasse est appelé bioréacteur ou photobioréacteur d'algues. Notons que ce bioréacteur a été construit principalement sur la base de la théorie de la réaction photo-structurale réalisée par des algues contenant de la chlorophylle, elle-même utilisant du dioxyde de carbone en décomposition et l'énergie du soleil. Le dioxyde de carbone est dispersé dans le fluide du réacteur pour le rendre disponible aux algues. Ensuite, ce bioréacteur doit être réalisé dans un matériau transparent. Les algues sont des photoautotrophes capables de réaliser une photosynthèse productrice d'oxygène.

L'équation de la photosynthèse peut être formulée comme suit :

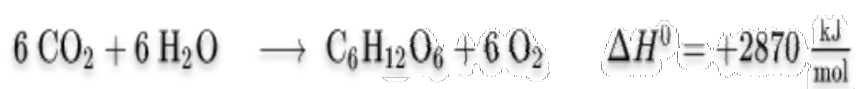


Figure 20 : Bioreacteur à algues

(Source: Oilgae, <http://www.makebiofuel.co.uk/biofuel-from-algae/>)

4.4. Réacteur batch séquentiel

Le réacteur discontinu séquentiel ou réacteur discontinu est une cuve de transfert utilisée dans le traitement industriel et des eaux usées. L'oxygène est passé à travers le liquide dans des bulles, pour réduire la demande chimique et biochimique en oxygène, rendant le produit drainable vers les eaux de surface et pour son utilisation dans le sol.

4.5. Réacteur à lit fixe

Le réacteur à lit fixe est de forme tubulaire et est rempli d'un catalyseur solide ou granulaire uniforme pour effectuer des réactions chimiques catalytiques d'une manière qui maximise le rendement résultant du catalyseur.

Un autre moyen d'augmenter la concentration bactérienne ou d'améliorer l'activité de l'enzyme consiste à les fixer sur des supports. Le support d'immobilisation, est composé de particules ou billes sur lesquelles sont immobilisés des cellules ou des enzymes. Il est compacté dans une colonne au travers de laquelle le milieu peut être expulsé. Le réacteur possède deux extrémités sellées par des grilles ou des plaques perforées et permettant la percolation d'une phase liquide et empêche le mouvement de la phase solide dispersée. L'alimentation peut se faire verticalement dans les deux sens selon le type de construction. Le réacteur à lit fixe permet à la fois d'avoir une importante productivité et un produit final exempt d'enzymes étant donné que celles-ci sont confinées dans le réacteur, évitant ainsi une étape finale de séparation du biocatalyseur et du produit. Le réacteur à lit fixe constitue la configuration classique utilisée dans la conduite de réactions catalytiques hétérogènes à grande échelle. Ce réacteur conduit à une forte perte de charge ainsi qu'au risque de colmatage du lit et d'importantes limitations diffusionnelles ce qui réduit ses performances. La fraction de réacteur occupée par la phase solide est de l'ordre de 0,6 et celle occupée par la phase liquide est de 0,4 quand les particules sont de forme sphérique, la relation d'Ergun permet d'estimer la perte de charge subie par le liquide à la traversée d'un lit de particules sphériques, elle est estimée par cette équation :

$$\frac{\Delta P}{H} = \frac{150 \mu_l U_l}{d_p^2} \frac{(1 - \epsilon_l)^2}{\epsilon_l^3} + \frac{1,75 \rho_l U_l^2}{d_p} \frac{(1 - \epsilon_l)}{\epsilon_l^3}$$

ΔP : perte de charge (Pa)

H : hauteur du lit (m)

d_p : diamètre des particules (m)

U_l : vitesse superficielle du liquide (m/s)

ε_l : fraction de lit occupée par la phase liquide égale à 0,4 max

μ_l : viscosité du liquide (Pa.s)

4.6. Réacteur à lit fluidisé

Le réacteur à lit fluidisé permet de réaliser de nombreuses réactions chimiques multiphasiques. Un fluide est passé à travers un solide granulaire généralement un catalyseur à des vitesses suffisantes pour suspendre le solide, l'amenant à se comporter comme un fluide, d'où le terme fluidisé.

Les particules support avec leurs cellules fixées (ou enzymes) sont en mouvement, fluidisées par un flux d'écoulement, ce support est constitué d'un tube circulaire rempli de particules solides actives, mais forcément placé verticalement et dont seule une extrémité est fermée par une grille ou une plaque perforée. L'activité est assurée par des bactéries ou des enzymes qui sont fixées sur un support, de particules granulaires fines et poreuses comme le sable ou le charbon actif, mobile. La phase liquide traverse le réacteur verticalement avec un mouvement ascendant rapide et régulier de l'effluent qui assure leur mélange, et comme les particules solides ne sont pas confinées, elles se déplacent librement à l'intérieur de la suspension liquide-solide, le lit s'expande est fluidisé dès que la vitesse superficielle du liquide dépasse la vitesse minimale de fluidisation. Ce système minimise les phénomènes de colmatage des colonnes et d'emprisonnement des gaz produits. Il assure un meilleur transfert de matière et de chaleur (Riba, 2012).

4.7. Réacteurs bioélectrochimiques

Les réacteurs bioélectrochimiques sont un type de bioréacteur dans lequel des processus bioélectrochimiques peuvent avoir lieu. Ils sont utilisés dans la synthèse ou l'assemblage bioélectrochimique et dans les traitements environnementaux et la conversion d'énergie électrochimique. Des exemples de réacteurs bioélectrochimiques comprennent des cellules d'électrolyse microbienne, des piles à combustible microbiennes, des biopiles enzymatiques et des cellules d'électrolyse.

4.8. Réacteur chimique

Un réacteur de régulation chimique est un bioréacteur auquel un milieu renouvelable est constamment ajouté, tandis que le fluide de culture est constamment retiré pour maintenir le

volume de culture constant. En modifiant le débit du milieu ajouté au réacteur, le taux de croissance des micro-organismes peut être contrôlé.

4.9. Réacteurs enzymatiques

Construits en général sur les mêmes modèles que les réacteurs chimiques; muni d'un système d'aération, pour les modèles de laboratoire on utilise des enceintes en verre ou en acier inoxydable, on retrouve des réactions enzymatiques, des réactions à cellules (fermenteurs ou cytotculteurs) et des réacteurs biologiques (bioréacteurs). Le bioréacteur en plus de récolter des informations de plus grande fiabilité, il permet de contrôler les paramètres de; température, pH, aération, etc. Qui sont indispensables pour la culture industrielle pour la fabrication de nombreux produits: bière, yaourts, vaccins, antibiotiques, anticorps, vitamines, acides organiques... Le terme de fermenteur permet de différencier le type de culture selon le tpe de la matière vivante: bactérie, levure pour fermenteur et cellules animales pour bioréacteur. Les bioréacteurs sont conçus tel qu'ils doivent assurer 4 grandes fonctions:

- transferts de matière
- transfert de chaleur
- maintien de la stérilité
- suivi des paramètres et conduite de régulations

4.9.1. Réactions enzymatiques

La plupart des réactions biologiques sont catalysées par des enzymes. Ce sont des catalyseurs biologiques appartenant à la classe des protéines qui sont des polymères polypeptidiques. Ces macromolécules résultent de la polycondensation d'acide α -aminés du type: $\text{NH}_2\text{-CHR-COOH}$. Dans les réactions enzymatiques le substrat (S) est le réactif à catalyser.

Le choix du design et la configuration des réacteurs enzmatiques pour conduire les réactions enzymatiques est fait en considérant plusieurs paramètres tels que le type de la réaction mise en œuvre, la nature de la molécule d'intérêt, la quantité à produire, la forme de l'enzyme utilisée (libre ou immobilisée) et son coût. Il existe des réacteurs industriels pour la catalyse homogène avec des enzymes libres et pour la catalyse hétérogène avec des enzymes immobilisées, très coûteux mais permet la récupération et la réutilisation du catalyseur.

1- Mode de mise en œuvre

Lewis a généralisé la notion d'acide et de base par la définition suivante:

- Un acide: une substance pouvant accepter une paire d'électron (électrophile)
- Une base: une substance pouvant céder une paire d'électron (nucléophile)

La molécule de substrat à transformer reconnaît le site actif et vient s'y fixer par des liaisons plus ou moins fortes. Les sites actifs sont à la base de beaucoup de réactions chimiques et biochimiques, ils sont des groupements fonctionnels OH, N=C, etc., des donneurs-accepteurs dans une substance (Atma, 2022).

La spécificité de la catalyse enzymatique est due à la forme convenable que le substrat doit avoir pour venir occuper une place bien déterminée dans le site actif de la protéine, car l'enzyme engage le substrat dans un complexe avant de catalyser toute réaction.

2- Utilisation des enzymes

Les deux modes d'utilisation des enzymes sont: soit sous forme d'enzyme soluble, le milieu est homogène, soit sous la forme d'enzyme immobilisée, insoluble sur un support solide, le milieu réactionnel devient hétérogène. De là on peut étudier deux mécanismes cinétiques:

- La cinétique enzymatique homogène; régit par les lois de la catalyse homogène
- La cinétique enzymatique hétérogène; régit par les lois de la catalyse hétérogènes

a) Réaction homogène et hétérogène

Cinétique enzymatique homogène: Cette activité augmente avec la température, selon la loi d'Arrhénius et dépend du pH optimal. La structure de la protéine est dénaturée au-dessus d'une température limite, et l'activité catalytique diminue. A partir d'une certaine concentration en substrat, tous les sites sont occupés et la vitesse de réaction devient indépendante de la concentration en substrat car une solution enzymatique possède un nombre fixe de sites catalytiques actifs auxquels le substrat peut se lier (Riba, 199).

Pour modéliser la cinétique des réactions enzymatiques, Michaelis et Menten ont proposé la loi de vitesse qui est une des premières et des plus simples relations proposées:

$$r = r_{\max}[S]/K_m + [S]$$

Avec:

- r ($\text{mole m}^{-3} \text{s}^{-1}$) vitesse de la réaction,
- r_{\max} ($\text{mole m}^{-3} \text{s}^{-1}$) vitesse maximale de la réaction,
- K_m (mol/m^3) constante de Michaelis et Menten,
- $[S]$ (mol/m^3) concentration en substrat.

La vitesse maximale de la réaction r_{\max} est proportionnelle à la concentration enzymatique initiale de la solution (S_0). Cette forme de relation peut être expliquée par un mécanisme en deux étapes:

- La première étape est la formation rapide et équilibrée d'un complexe activé enzyme-substrat (ES^*)
- La seconde étape est la décomposition de ce complexe activé régénéré entre le produit (P) et l'enzyme (E).

La relation de la constante de Michaelis et Menten; K_m et l'affinité de l'enzyme pour le substrat est inverse, plus grande est l'affinité, plus faible est la valeur de la constante. Mais, elle ne peut pas traduire le comportement cinétique de toutes les réactions catalysées par des enzymes. Des relations plus complexes ont été développées pour rendre compte des phénomènes d'inhibition observés lorsque des molécules, autres que le substrat, peuvent se lier réversiblement sur les sites actifs des enzymes.

b) Cinétique enzymatique hétérogène

Les enzymes sont immobilisées après réaction des enzymes des milieux liquides, en les fixant soit à la surface de particules non poreuses, soit à l'intérieur de particules poreuses pour les séparer. L'immobilisation les rend plus stables grâce à leurs liaisons avec le support en présence de paramètres température, pH...favorables. Le mécanisme de fixation de l'enzyme au support décrit les méthodes d'immobilisation enzymatique classiques. On distingue 3 principales méthodes d'immobilisation:

- L'immobilisation par adsorption
- L'immobilisation par liaison covalente
- L'immobilisation par inclusion

Les *lois de vitesse* sont de la même forme que celles non immobilisés, mais les vitesses r et r_{\max} s'expriment, lors d'une *fixation en surface*, en $\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ de surface de contact liquide-solide ou encore en $\text{mol.kg}^{-1}.\text{s}^{-1}$ de masse de support. Si l'enzyme est incluse dans des *particules poreuses*, les vitesses r et r_{\max} s'expriment en $\text{mol.m}^{-3}.\text{s}^{-1}$ de phase solide ou en $\text{mol.kg}^{-1}.\text{s}^{-1}$ de support.

Toutefois, lorsque les particules sont de forme sphérique ou cylindrique, leur taille et leur masse volumique permettent le passage d'une unité à l'autre.

Dans les équations cinétiques, on prend en considération les concentrations en substrat et produit: dans le cas d'une immobilisation en surface, c'est les concentrations à l'interface

liquide-solide, ou les concentrations dans la phase liquide car elles imbibent les pores des particules solides dans le cas d'une inclusion. Dans les deux cas d'immobilisation, on doit tenir compte du phénomène de diffusion à l'interface liquide-solide ou gaz-solide. La phase liquide ou gaz contient le substrat. La phase solide immobilise l'enzyme sous forme de blocs, de membrane, de film ou de billes. Les différentes substances présente dans la phase liquide doivent être transportées (transférés) jusqu'à l'enzyme immobilisé. Ce transport de matière représente l'étape limitante de la cinétique: le transport n'est limitant que s'il franchie l'interface solide-liquide. C'est le phénomène de diffusion qui est décrit par la loi de Fick.

c) Diffusion de la matière

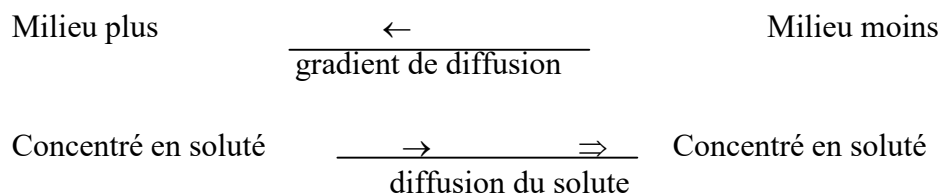
La quantité de matière ou mole défini le flux de matière J qui traverse une section de surface (cm^2) pendant l'unité de temps (s).

La première loi de Fick dit que:

$$J = - D \text{ grad } [S]$$

D: la diffusivité moléculaire du soluté dans le solvant ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$). Grad [S] : gradient de concentration à l'endroit ou est déterminé le flux. **grad[S] = $d[S]/dx$**

x : direction de la diffusion



Si l'enzyme est fixé à l'intérieur de la membrane, la diffusivité du substrat à l'intérieur du support peut être différente de la diffusivité de la molécule en solution, du fait d'interactions avec le support, on appelle D_{eff} cette diffusivité effective:

$$J = - D_{\text{eff}} d [S]/dx$$

4.9.1.1. Fonctionnement discontinus

Dans les procédés bioioiques, les réactions se déroulent dans des réacteurs fermés où le catalyseur sous forme libre ou immobilisé est mis en contact avec les substrats pendant un temps donné, dans une cuve fermée en agitation par centrifugation, durant lequel le pH et la température sont contrôlés. Après précipitation, la filtration est utiliosée pour la récupération des produits qui suit chaque cycle de biotransformation. Malgré sa simplicité, ce type de

réacteurs fermés comporte plusieurs inconvénients tels que la variabilité de la qualité des produits, le coût de main d'œuvre qui contrôlent les démarrages et les arrêts, l'utilisation de grands volumes, la perte des enzymes souvent actives en fin de cycle pour les enzymes solubles et la nécessité d'une étape supplémentaire de séparation des enzymes du milieu réactionnel pour les enzymes immobilisés.

4.9.1.2. Fonctionnement continu

Il existe, par ailleurs, plusieurs types de réacteurs enzymatiques qui fonctionnent en continu; on distingue:

- Les réacteurs continus en agitation
- Les réacteurs à lit fixe
- Les réacteurs à lit fluidisé
- Les réacteurs membranaires (REM)

Les trois derniers types sont considérés comme des réacteurs en fonctionnement piston.

4.10. Réacteurs à limitation diffusionnelle

Transfert de matière liquide-solide dans le cas d'un film non poreux

C'est le cas d'une enzyme immobilisée à la surface d'un support. Il se produit un équilibre appelé couplage, entre la réaction biochimique et le transfert de matière liquide-solide entre la vitesse de la réaction de l'enzyme et la réaction biochimique. Ce couplage est observé lorsqu'un substrat réagit avec l'enzyme immobilisée ou les micro-organismes. Le substrat est consommé par bioréaction en se déplaçant de la phase liquide à l'interface liquide-solide. La concentration en substrat $[S_i]$ s'établit à une valeur telle que la vitesse de transfert de matière soit égale à la vitesse de la bioréaction, alors un régime quasi stationnaire est rapidement atteint. Pour illustrer ce couplage, selon la loi cinétique de Michaelis et Menten, une réaction enzymatique obéissant à l'égalité des vitesses selon Riba, (2022) est comme suite:

$$K_l a' ([S]-[S_i]) = r_{\max} [S_i] / (k_m + [S_i])$$

Avec

k_l (m/s) coefficient de transfert de matière liquide-solide,

a' (m²/kg) aire spécifique massique du solide (enzyme),

r_{\max} (mol.s⁻¹ . kg⁻¹) vitesse spécifique maximale de bioréaction par unité de masse de support solide,

[S] (mol/m³) concentration en substrat au cœur du liquide,

[S_i] (mol/m³) concentration en substrat à l'interface liquide-solide,

K_m (mol/m³) constante de Michaelis et Menten

Après quelques transformations, la relation ci-dessus peut être mise sous forme adimensionnelle suivante:

$$\left(\frac{K_m}{[S]} + \frac{[S_i]}{[S]} \right) \left(1 - \frac{[S_i]}{[S]} \right) = Da + \frac{[S_i]}{[S]}$$

Avec $Da = r_{\max} / k_l a' [S]$ appelé: nombre de *Damkohler*

Le *nombre de Damkohler* représente le rapport entre la vitesse maximale de réaction et la vitesse maximale de transfert de matière. La réaction en série et le transfert de matière, si leurs vitesses sont très différentes c'est le phénomène le plus lent qui sera l'étape limitante du processus.

- Quand la vitesse de réaction est élevée devant la vitesse de transfert, c'est un phénomène limitant, Donc le nombre de Damkohler est très grand devant 1 (**Da >>>1**). La relation précédente montre alors que [S_i] est très petit devant [S] et la vitesse du processus est donc égale à $k_l a' S$

- Quand la vitesse du processus est égale à $r_{\max} [S] / [K]_m + S$ c'est la réaction biochimique qui est le phénomène limitant, Donc le nombre de Damkohler très petit devant 1 (**Da << 1**). [S_i] est très voisine de [S]

Quand le nombre de Damkohler n'est *ni très grand, ni très petit devant 1*, la relation cidessus, du second degré par rapport à [S_i] permet le calcul de [S_i] / [S]

$$\frac{[S_i]}{[S]} = \frac{1}{2} \left(Da + \frac{K_m}{[S]} - 1 \right) \pm \sqrt{1 + \frac{4 \frac{K_m}{[S]}}{\left(Da + \frac{K_m}{[S]} - 1 \right)^2} - 1}$$

Le signe à choisir devant la racine carrée est de manière à ce que le rapport soit positif. La concentration à l'interface en substrat [S_i] permet alors le calcul du facteur d'efficacité η , défini classiquement comme le rapport entre la vitesse observée du processus en présence de la limitation différentielle et la vitesse maximale de réaction en absence de la limitation différentielle.

Ce facteur vaut ici:

$$\eta_e = \frac{\left(\frac{[S_i]}{[S]}\right)\left(1 + \frac{K_m}{[S]}\right)}{\left(\frac{[S_i]}{[S]}\right) + \left(\frac{K_m}{[S]}\right)}$$

On a bien sûr toujours intérêt à travailler avec un facteur d'efficacité proche de 1, en choisissant un nombre de Damkohler très inférieur à 1 qui renseigne sur la faible vitesse de la bioréaction devant la vitesse de transfert de matière qui est grande, se sont des conditions hydrodynamiques.

Transfert de matière liquide-solide dans le cas d'un support solide poreux

Ce cas est observé lorsque des enzymes ou des micro-organismes sont inclus à l'intérieur de particules poreuses ou de gel; on le rencontre aussi lors du développement de films microbiens (biofilm). Les phénomènes de transfert de matière intra particulaire et de consommation de substrat par réaction sont ici simultanés et non successifs comme précédemment. Il en résulte, à l'intérieur de la particule, la vitesse de consommation de gradient de concentration en substrat. En régime quasi-stationnaire, un bilan de matière différentiel sur le substrat conduit aux équations différentielles suivantes:

- en configuration sphérique (de rayon z)

$$D_{\text{eff}} \left(\frac{d^2[S]}{dz^2} + \frac{2}{z} \frac{d[S]}{dz} \right) = r$$

- En configuration film plan:

$$D_{\text{eff}} \left(\frac{d^2[S]}{dx^2} \right) = r$$

Avec les conditions aux limites suivantes:

- $[S] = [S_i]$ pour $x = L$ ou $z = R$; suite de la concentration en substrat à l'interface liquide-solide;
- $d[S] / dz = 0$ ou $d[S] / dx = 0$ pour $z = 0$ ou $x = 0$; arrêt de la diffusion au centre de la particule ou à l'extrémité du film. Dans ces relations, L (m) représente l'épaisseur du film, R (m) le rayon de la particule, z et x les coordonnées courantes, $[S]$ (kg/m³) la concentration dans la phase liquide en substrat qui imbibe le milieu solide poreux, $[S_i]$ (kg/m³) la concentration en substrat dans la phase liquide à la surface de la particule, r (mol.s⁻¹ .m³) la vitesse spécifique par unité de volume de support solide de bioréaction et D_{eff} (m²/s) le

coefficient de diffusion effectif dans le milieu poreux du substrat. La diffusivité du substrat ainsi que la tortuosité et la porosité du solide sont des facteurs limitants de coefficient D_{eff} .

A partir de $r = r_m([S])$, le facteur d'efficacité η obtenu à partir de la résolution des équations ci-dessus en l'absence de gradient de concentration intra particulaire en substrat, défini comme le rapport entre la vitesse observée et la vitesse $r_m([S])$ qu'aurait la réaction biochimique.

Dans le cas d'une bioréaction selon la loi cinétique de Michaelis et Menten: Le *facteur d'efficacité* η_e est alors fonction du rapport $K_m/[S]$ et d'un *module de Thiele* Θ défini :

— en configuration sphérique, par:

$$\Theta = \frac{R}{3} \sqrt{\frac{r_m}{D_{eff} K_m}}$$

— en configuration plane, par:

$$\Theta = L \sqrt{\frac{r_m}{D_{eff} K_m}}$$

Les paramètres intrinsèques r_m et K_m de la bioréaction sont difficiles à déduire d'expériences de laboratoire, car le couple de diffusion et de réaction ne peuvent jamais être séparés; une analyse numérique est nécessaire afin de les calculer sur la base de données des variations de la vitesse observée en fonction de la concentration en substrat $[S]$.

Conclusions

La fermentation joue des rôles très divers aussi bien dans l'agriculture qu'au niveau industriel et biotechnologique sans oublier les êtres vivants, de l'homme aux bactéries.

La fermentation est une technique pratique de conservation des aliments peu coûteuse, utilisée depuis des milliers d'années quand d'autres méthodes de conservation sont encore inexistantes. Le procédé est bien intégré dans la vie des villageois qui peuplent les zones rurales de nombreux pays en développement parceque il n'exige pas beaucoup d'infrastructures et d'énergie. Depuis très longtemps, l'élaboration d'aliments fermentés dépend de la combinaison de ferments comme les bactéries type *Lactobacillus*, *Lactococcus* ou *Streptococcus*, avec les levures et les moisissures, exemple des produits laitiers, des boissons alcoolisées, des sauces, des produits végétal.

La fermentation industrielle a développé la production d'autres produits tels que les acides, citrique et lactique, l'acétone, le butanol et l'éthanol. D'autres produits générés par les microorganismes, incluant des vitamines, des stérols, des acides organiques, des acides aminés, des agents aromatiques, des enzymes et des boissons ou aliments fermentés ont pris une grande importance commerciale. Actuellement, des recherches se réalisent en vue de contrôler le procédé de fermentation industriel, et ce en sélectionnant la flore utile sur la base des propriétés physico-chimiques des microorganismes utilisés. La fermentation s'entame toujours par un catabolisme de glucide par la glycolyse quel que soit le type de la fermentation (lactique, acétique ou bien alcoolique...). La source du carburant de commencement des principales voies du catabolisme cellulaires est le glucose. Pour produire de l'énergie à partir de glucose il y a deux voix, soit la respiration ou bien la fermentation, tout dépend de types de respiration de la cellule.

Les fermentations alimentaires résultent de la transformation de la matière organique par des ferments afin de la rendre plus digeste en plus de produire des substances d'intérêt. Ces derniers se divisent en trois groupes : les bactéries, les moisissures et les levures. Par définition, les ferments s'alimentent et réalisent leur métabolisme à partir d'un substrat présent dans le produit. Les résidus de ce métabolisme, sont des produits qui présentent un intérêt pour améliorer les propriétés organoleptiques de l'aliment élaboré par transformation biologique.

Quatre principales fermentations se retrouvent dans le domaine alimentaire selon le produit obtenu et le type de ferments ; la fermentation : lactique, alcoolique et propionique. Les sucres servent d'aliment des micro-organismes pour former de l'acide lactique, de l'éthanol du propionate et du dioxyde de carbone. Quand l'éthanol est oxydé dans les ferments acétiques, le produit de la fermentation est l'acide acétique.

Les bioréacteurs ou fermenteurs utilisent des procédés biotechnologiques, dont les souches de bactéries de levures et de cellules synthétisent des molécules utiles dans de nombreux domaines comme par exemple: la fermentation du yaourt et de la bière. Outre les applications dans le domaine des aliments et des boissons, ils sont également exploités par la recherche au service du domaine thérapeutique pour la production de médicaments.

Les bioréacteurs permettent et facilitent en plus de la collecte de produits, le transfert d'oxygène et de la chaleur entre le milieu de culture et les cellules, puis de ses dernières vers l'extérieur. Les bioréacteurs, sont utilisés dans la production d'aliments et de boissons ou la synthèse de molécules d'intérêt médical ou industriel par la fermentation, que ce soit pour la production des vitamines, des colorants, des arômes, des alcools, des antioxydants, des acides organiques, des antibiotiques...

Références bibliographiques

- Akin, H. (2008) Evolution du pH pendant la fermentation alcoolique modélisation et interprétation métabolique. Thèse doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, option: Génie des Procédés et Environnement: 121.
- Alain, B. (2002) Jus de fruits dans Technologie de transformation des fruits. ; Albagnac G., Varoquaux P. et Montigaud J.-C., Eds.; Lavoisier, Technique & Documentation: Londres-
- Aour, L. (2016) La technologie des fermentations. Cours destiné aux étudiants de 1^{ière} année Master Microbiologie Appliquée. Université Larbi Ben M'hidi, Oum el Bouaghi Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences de la Nature et de la Vie. <https://docplayer.fr/73155882-La-technologie-des-fermentations.html>
- Arnaud, A., Guiraud, J.P., (1999) «Le métabolisme microbien», In: Scriban R., «Biotechnologie», 5^{ème} édition, Edition Technique & Documentation, Paris, pp.45-189.
- Assidjo, N.E., Gbongue, M.A., Bohoussou, K., Cardot, P. (2005) Caractérisation physicochimique d'une bière traditionnelle ouest africaine, le Tchapalo. Agriculture Afrivaine, 17, 143-152.
- Atma, W (2022) Polcopié de cours: Bioréacteurs, génie Pharmaceutique, génie des procédés de l'environnement, Université Mustapha Stambouli de Mascara, Faculté des Sciences et technologie, 101p. <http://dspace.univ-mascara.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/724/1/polycopi%C3%A9%20bioreacteur%20atma%20wafa.pdf>.
- Ben Berry, (2011) Le marché mondiale du vinaigre Possibilités pour les exportateurs canadiens de vinaigr. Ariculture et Aroalimentaire Canada, 17p. https://www.agrireseau.net/Marketing-groalimentaire/documents/marche_vinaigre_.pdf
- BENHADJ M. (2020) Support de cours Microbiologie Industrielle Niveau 3^{ème} Année Licence Microbiolog

- ie, Université Tebessa. e-learning.univ-tebessa.dz.
- Bicbl H. (1991) Glycerol fermentation101.3-propano diol By *Clostridium butyricum*. Measurement of product inhibition by use of pH-stat. Appl Microbiol Biotechnol, 35,701-705.
- Boreges, F., Burillard, L., Daumas, V., Glaz, M., Kouyoumdjian, L., Lobrot, S., Logier, D., Mallot, N., Marchand, C. (2016) Les fermentations alimentaires, synthèse bibliographique, 29p. <https://www.fichier-pdf.fr/2019/01/04/cours-les-fermentations-alimentaires/>
- Boukhar, A. (2009) Analyse du processus traditionnel d'obtention du vinaigre de dattes tel qu'appliqué au sud algérien: essai d'optimisation, Thèse de Master, 101p. Faculté des Sciences de l'Ingénieur, Université M'hamed Bougara-Boumerdes. <http://docplayer.fr/71719181-Analyse-du-processus-traditionnel-d-obtention-du-vinaigre-de-dattes-tel-qu-applique-au-sud-algerien-essai-d-optimisation.html>
- Burillard, L., Daumas, V., Glaz, M., Kouyoumdjian, L., Lobrot, S. Logier, D. Mallot, N., Marchand, C. (2016) Les fermentations alimentaires. Synthèse bibliographique. <https://www.fichier-pdf.fr/2019/01/04/cours-les-fermentations-alimentaires/>
- Branger, A. (2004) Fabrication de produits alimentaires par fermentation: les ferments. Techniques de l'ingénieur, F3500, 1-15.
- Breidt, F. P., Fleming, H. (1997) Using Lactic Acid Bacteria to Improve the Safety of Minimally Processed Fruits and Vegetables. Food Technology, 51: 9, 44-51
- Burillard, L., Daumas, V., GLAZ, M., Kouyoumdjian, L., Lobrot, S., Logier, D., Mallot, N., Marchand, C. (2016) Les fermentations alimentaires, Synthèse bibliographique. <https://www.fichier-pdf.fr/2019/01/04/cours-les-fermentations-alimentaires/>
- Caplice, E., Fitzgerald, G.F. (1999) Food fermentations, role of microorganisms in food production and preservation. International Journal Food Microbiology 50, 131–149.
- Chen, J.-S., and Hiu, S.F. (1986) Acetone-butanol-isopropanol production by *Clostridium beijerinckii* (synonym, *Clostridium butylicum*). Biotechnol. Lett. 8, 371–376.

- Chisti Y., Jauregui-Haza U.J., (2002) Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors, *Biochemical Engineering Journal*, 10,143–153.
- Demeyer A., Jacob F., Jay M., Menguy G., Perrier J., (1982) La conversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies», Edition Technique & Documentation, Paris, pp.187-212
- Deoanon (2019) Fabrication de beignets (yovo doko), pp. 5.
<https://www.ladissertation.com/Divers/Divers/Fabrication-de-beignets-yovo-doko-389472.html>
- Dje, M.K., N'Guessan, K.F., Djeni, T.N., Dadie, T.A. (2008) Biochemical Changes during alcoholic fermentation in the production of 'tchapalo', a traditional sorghum beer. *International Journal Food Engineering*, 4, 44-50.
- Dubos, J. (1951) "Louis Pasteur: Free Lance of Science, Gollancz. Cité dans Manchester KL (1995) Louis Pasteur (1822–1895) chance et l'esprit préparé". *Tendances en biotechnologie*, 13 (12): 511–515.
- El Idrissi, K. (1985) Vinaigre de cidre de pomme: effet thérapeutique. Thèse doctorale en pharmacie, 75 p. Université Mohammed V-Souissi, Faculté de médecine et de pharmacie-Rabat.
<https://123dok.net/article/fermentation-ac%C3%A9tique-proc%C3%A9d%C3%A9s-production-vinaigre.q06l9p9q>.
- Gillet, C., et Landerer G. (2018) Création d'un bioréacteur. <https://wiki.fablab.sorbonne-universite.fr/wiki/doku.php?id=wiki%3aprojets%3abioreacteur>
- Glaz, S., Kouyoumdjian, M., Lobrot, L., Logier, S., Mallot, D., (2016) Les fermentation alimentaires. [En ligne]. Université de Lorraine, 63 p.
Disponiblesur:file:///C:/Users/azertysoft/Downloads/rapport_final_fermentation2.
- Govern, Mc, Zhang,PE., Tang, J., Zhang, J., Hall, Z., Moreau, GR., Nunez, RA., Butrym, A., Richards, ED., Wang, C.S., Cheng, G., Zhao, Z., Wang, C. (2004) "Boissonsfermentées de la Chine pré-et proto-historique". *Actes de l'Académie nationale des sciences* 101 (51): 17593-17598.

- Guiraud, J.P. (1998) Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris : 615
- Gunther, K. et Dion, O. (2022) La biotechnologie en bioréacteurs ou fermenteurs: une technologie aux nombreuses applications. <https://www.bronkhorst.com/fr-fr/blog/la-biotechnologie-en-bioreacteurs-ou-fermenteurs-une-technologie-aux-nombreuses-applications>
- Hui, YH., Meunier-Goddik, L., Josephsen, J., Nip WK, Stanfield, PS (2004) Manuel de technologie de fermentation des aliments et des boissons. CRC Press. pp. 27.
- Jonatan Ferroz, 2020 La fermentation, l'être humain et les micro-organismes. Template goole, slide sur SlidesCarnival.
- Kristiansen, B. (1987) Basic Biotechnology. Academic Press. Londres, 561 p.
- Larpent, J.P. (1997) MicrobiologieAlimentaire: techniques de laboratoire, Edition Technique et Documentation : 1073.
- Luo H.P., Al-Dahhan M.H., (2007) Macro-mixing in a draft-tube airlift bioreactor, Chemical Engineering Science, 63, pp.1572-1585.
- Mailleret L., (2004) Stabilisation globale de systèmes dynamiques positifs mal connus applications en biologie, Thèse de Doctorat, Université de Nice-Sophia Antipolis, Nice, France.
- Marie-Claire F., (2014) Ni cru ni cuit. Histoire et civilisation de l'aliment fermenté, Alma Éditeur, p. 17.
- Onken U., Weiland P., (1980) Hydrodynamics and mass transfer in an Airlift loop fermentor, Applied Microbiology and Biotechnology, 10, 31-40.
- Pasteur, L., (1864) Mémoiresur la fermentation alcoolique. Annales scientifiques de l'E.N.S. 1ère série, tome 1, 113 -158.
- Pernoud, S., Schneid-Citrain, N., Agnetti, V., Breton, S., Faurie, J.M., Marchal, L., Obis, D., Oudot, E., Paquet, D., Robinson, T. (2005) «Application des bactéries lactiques dans les

- produits laitiers frais et effets probiotiques», In: Luquet F.M., Corrieu G., «Bactéries lactiques et probiotiques», Edition Technique & Documentation, Paris, pp.1-100,
- Pauss, A. Tyagi.R.D., Vembu.K. et Guiot, S.R. (1990) Immobilized cell systems in anaerobic digestion processes. Dans Wastewater treatment by immobilized cells, CRC press. Floride, pp. 153-190.
 - Queinnec I., (2000) Contribution à la commande de procédés biotechnologiques: application au traitement biologique de la pollution», Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, France
 - Reddy, G., Altaf, Md., Naveena, B.J., Venkateshwar, M., Vijay Kumar, E. (2008) «Amylolytic bacterial lactic acid fermentation — A review», *Biotechnology Advances*, 26, 22–34.
 - Riba J.P. (1998) Réacteurs enzymatiques et fermenteurs, *Technique de l'Ingénieur*, F3 600, 1-20
 - Riba, J.P. (2012) Réacteurs enzymatiques et fermenteurs. <https://www.studocu.com/row/document/universite-mohamed-khider-de-biskra/biologie/reacteur-enzymatique-et-fermenteurs/22576892>
 - Rico, J.L. et Fdz-Polanco, F. (1991) Anaerobic treatment of cheese whey in a two-phase UASB reactor. *Environmental Technology*, 12, 355-362.
 - Van der AaKUhle, A., Jespersen, L., Glover, R.L.K., Diawara, B., Jakobsen, M. (2001) Identification and characterization of *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from West African sorghum beer. *Yeast*, 18, 1069-1079.
 - Van HylckamaVlieg, J.E.T., and Hugenholtz, J. (2007) Mining natural diversity of lactic acid bacteria for flavour and health benefits. *International Dairy Journal*. 17, 1290–1297.
 - Wiemerslage, L. et Leeb, D. (2016) « Quantification of mitochondrial morphology in neurites of dopaminergic neurons using multiple parameters », *Journal of Neuroscience Methods*, vol. 262, p. 56-65.

- Wouters, J.T.M., Ayad, E.H.E., Hugenholtz, J., and Smit, G. (2002) Microbes from raw milk for fermented dairy products. *International Dairy Journal*, 12, 91–109.
- YAO, A.A., EGOUNLETY, M., KOUAME, L.P., THONART, P. (2009) Les bactéries lactiques dans les aliments ou boissons amylacés et fermentés de l'Afrique de l'Ouest : leur utilisation actuelle. *Annales de Médecine Vétérinaire*, 153, 54-65.
- Zamora, F. (2009) Biochemistry of Alcoholic Fermentation (chapter 1) *Journal of Wine Chemistry and Biochemistry*: 26.

<https://www.aquaportail.com/definition-9917-fermentation-heterolactique.html>

<https://www.aquaportail.com/definition-9916-fermentation-homolactique.html>

<https://planet-vie.ens.fr/thematiques/cellules-et-molecules/la-fermentation-lactique-et-son-utilisation-dans-la-fabrication>

<https://docplayer.fr/32216173-Bioreacteurs-ou-reacteurs-enzymatiques.html>

<https://slideplayer.fr/slide/16530314>

<http://croissbact.free.fr/levure.php>

<https://xdocs.club/documents/croissance-industrielle-des-microorganismes-5c020ada139c2>