

## Chapitre 2 : Utilisation des mycètes dans les fermentations alimentaires

### I-La fermentation

**I-1-Définition :** C'est un phénomène naturel, se produisant lors de la décomposition de la matière organique. C'est une réaction biochimique qui consiste à libérer de l'énergie à partir d'un substrat organique sous l'action d'enzymes microbiennes et à rejeter des produits. Cette réaction ne fait pas intervenir d'oxygène (O<sub>2</sub>), elle se déroule donc en absence d'air (anaérobiose). Elle se distingue de la respiration qui nécessite de l'oxygène et se réalise en présence d'air (aérobiose) notamment par son faible rendement énergétique et la diversité des produits synthétisés. Le terme fermentation dérive du latin « *fervere* » qui signifie bouillir : un liquide en cours de fermentation, alcoolique par exemple, présente un important dégagement gazeux et montre l'aspect d'un liquide en ébullition. La fermentation est une oxydation biologique au cours de laquelle l'accepteur final d'hydrogène est un composé organique. Cet accepteur final peut être un produit de dégradation du substrat oxydable ou une autre substance organique présente dans le milieu. Le substrat oxydable peut aussi jouer ce double rôle, à la fois source de carbone et accepteur d'électrons libérés.

La fermentation transforme le substrat en modifiant dans un sens favorable ses propriétés. La valeur alimentaire peut être améliorée par destruction de substances toxiques ou indigestes, par apparition de facteurs de croissance (vitamines, acides aminés) ou de manière plus générale par une modification favorable de la composition chimique. Les qualités organoleptiques peuvent être modifiées par transformation ou apparition de goûts et d'odeur dans un sens favorable. Enfin, l'aptitude à la conservation peut être meilleure grâce à la stabilisation du produit par élimination de substances aptes au développement de contaminants indésirables (par effet de masse de la flore technologique sur l'implantation de contaminants), ou par production de substances à effet stabilisants ou antimicrobiens (acides, alcools).

### I-2- Les ferments

Les microorganismes sont souvent considérés comme des agents pathogènes. Dans l'alimentation, ils sont souvent responsables d'altération des produits (ex : des moisissures sur des fruits). Cependant, ces microorganismes (bactéries, levures et moisissures) sont utiles et nécessaires pour la fabrication de certains aliments et sont classés en deux types de flores:

- **La flore utile** : c'est la flore positive, que l'on va chercher à favoriser. Elle va permettre les différents processus de fermentation. Elle peut se trouver naturellement dans l'aliment, ou être ajoutée lors des procédés de fabrication.

- **La flore indésirable** : c'est la flore négative, que l'on cherche à inhiber. Elle aussi se divise en deux catégories :

**La flore d'altération** : ces microorganismes peuvent se développer et entraîner des changements physiques et chimiques dans l'aliment. Cela conduit à des odeurs et saveurs désagréables, formation de mucosités, accumulation de gaz, libération de liquide. Il y a alors dégradation de la qualité gustative et/ou esthétique.

**La flore pathogène** : ces microorganismes peuvent être dangereux pour la consommation humaine, même à faible concentration. En cas d'ingestion, l'aliment peut être source d'intoxication alimentaire.

Traditionnellement, le terme « ferment » se définit comme les « agents microbiens produisant la fermentation d'une substance ». Ils font donc partis de la flore utile.

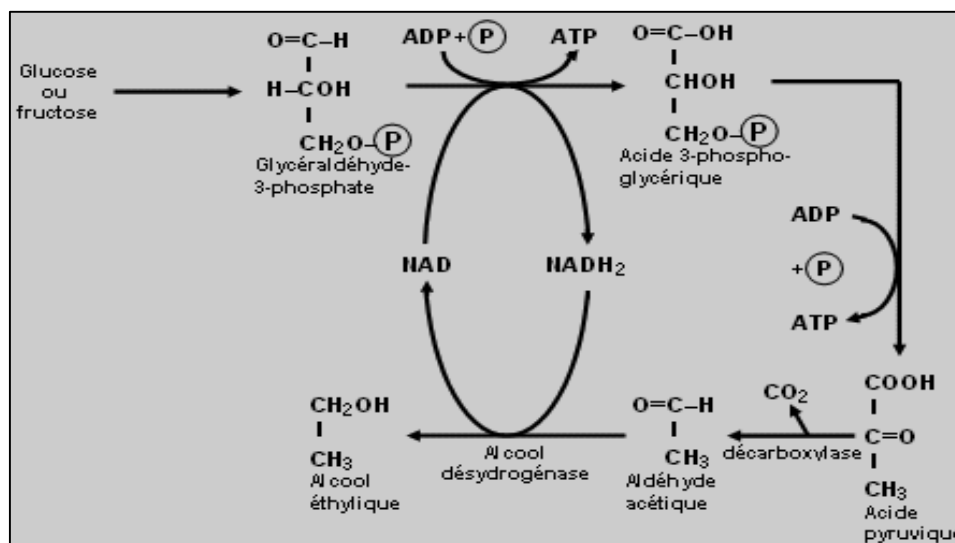
L'enjeu en agroalimentaire est donc de sélectionner la flore utile et d'éliminer la flore indésirable. Par ailleurs, les microorganismes peuvent être déjà présents dans les aliments, ou bien, être ajoutés. Dans ce cas, les microorganismes utilisables en industrie alimentaire doivent avoir comme caractéristiques communes :

- de ne pas présenter de risque pour la santé humaine et animale ;
- de ne pas présenter de risque pour l'environnement ;
- d'avoir un développement rapide ;
- d'être facilement utilisables et maîtrisables.

## **II-Les principales fermentations alimentaires**

**II-1-La fermentation alcoolique** : Le catabolisme des sucres simples en anaérobiose avec production finale d'éthanol et de dioxyde de carbone constitue la fermentation alcoolique (figure 1). La fermentation alcoolique est très répandue chez les levures, *Saccharomyces*, *Kluveromyces*, *Brettanomyces*. Peu de bactéries (*Zymomonas mobilis*) réalisent cette fermentation. Les souches de levures assurant la fermentation alcoolique tolèrent des

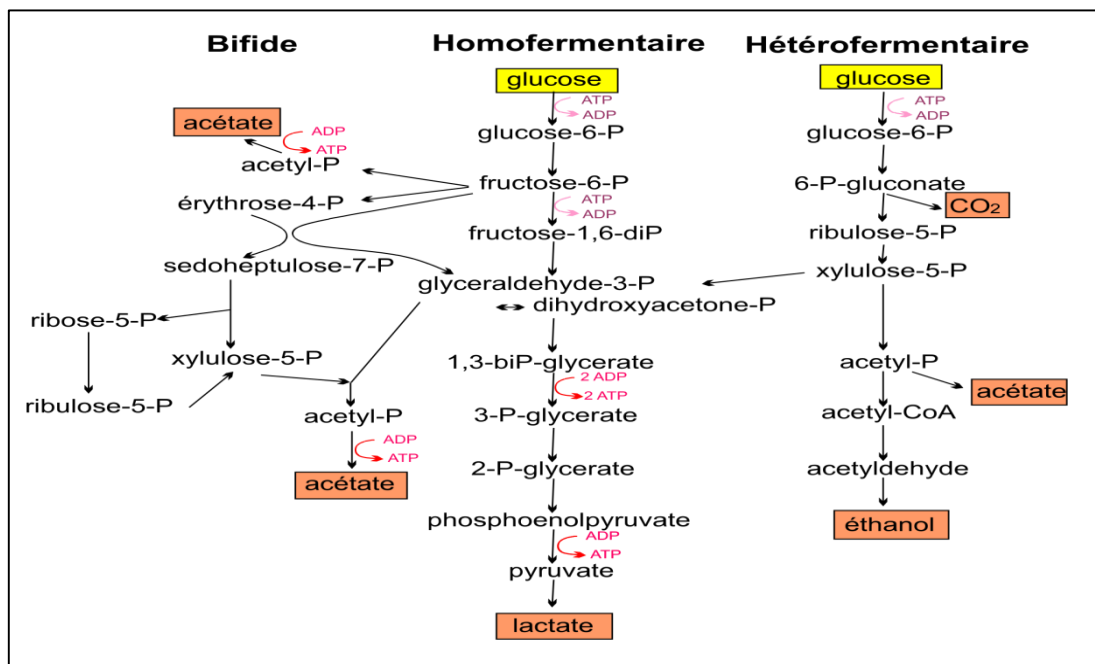
concentrations élevées d'éthanol, plus de 15% (v/v), que supportent peu de micro-organismes. Toutefois, cette tolérance varie d'une souche à l'autre. La fermentation alcoolique est utilisée pour la fabrication du vin, de la bière, du cidre et de diverses boissons fermentées. Son but est essentiellement la production d'éthanol, mais de nombreux produits intervenant dans les qualités organoleptiques sont aussi formés. Il y a la formation d'alcool à partir d'acides issus de la désamination d'acides aminés contenus dans le milieu, il y a aussi formation d'acides gras, d'esters, d'aldéhydes et de cétones. De nombreux sucres sont fermentescibles en éthanol par la levure, ce qui est utilisé pour la production de carburants à partir de déchets ou de production agricoles.



**Figure1** La fermentation alcoolique.

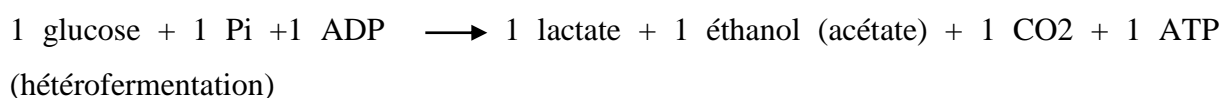
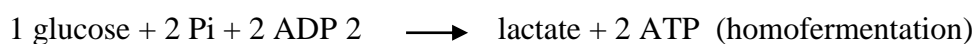
**II-2-La fermentation lactique :** Elle est provoquée par de nombreuses bactéries (rarement par des moisissures). La fermentation lactique est une étape essentielle dans la fabrication des fromages et yaourts, mais aussi de nombreux produits végétaux fermentés (ensilages, choucroute, olives, cornichons...) et la charcuterie (saucisson, jambon). Les fermentations lactiques, outre leur rôle organoleptique (acidification, sous-produits aromatiques) jouent un grand rôle de stabilisation (par la baisse du pH et des phénomènes d'antibiose) et surtout un grand rôle sur la qualité alimentaire, les ferments lactiques sont source de facteurs de croissance. L'acide lactique est préparé industriellement pour être utilisé comme additif alimentaire. Selon le cas, on utilise des bactéries homo (*Streptococcus*, *Lactococcus*, certains *Lactobacillus*, etc), ou hétérolactiques (*Leuconostoc*, autres *Lactobacillus*) ou un mélange, beaucoup plus rarement des moisissures (figure 2). En fromagerie, le développement des ferments lactiques provoque une acidification participant (avec la présure lorsqu'elle est utilisée) à la coagulation. Par

production de CO<sub>2</sub>, les bactéries lactiques hétérofermentaires provoquent la formation de cavités (ouvertures) qui sont très importantes pour certains types de fromage. Dans les fromages à pâte persillée, c'est dans les cavités que se développera le *Penicillium roquefortii*. D'autres microorganismes jouent un grand rôle en fromagerie : levure, microcoques, bactéries protéolytiques et surtout moisissures. Ils réalisent des transformations postérieures à la fermentation lactique au cours de l'affinage. Parmi les transformations, citons la maturation du caillé par protéolyse et lipolyse, l'ouverture des fromages type Emmental par production de CO<sub>2</sub> au cours d'une fermentation propionique par *Propionibacterium shermanii*.



**Figure 2** La fermentation lactique (voies homofermentaire, hétérofermentaire et bifide de la dégradation du glucose).

Rappelons brièvement que les bactéries lactiques constituent un ensemble de micro-organismes capables de transformer des sucres simples comme le lactose ou le glucose en acide lactique. Cette transformation génère de 1 ou 2 molécules d'ATP, en fonction de la voie métabolique homo ou hétérolactique. Ces molécules peuvent être mobilisées pour la production de l'énergie nécessaire aux biosynthèses et à la multiplication cellulaire :



**II-3-La fermentation acétique :** Elle intervient dans la fabrication du vinaigre et est due aux *Acétobacter*. Cette fermentation nécessite une très forte aération. L'alcool est respiré en acide acétique. Les bactéries acétiques n'interviennent que si la teneur en éthanol est faible. Leur action peut être favorisée par l'intervention de levures qui oxydent l'éthanol et font donc baisser sa concentration. Le vinaigre est un produit stabilisé par son pH ; il est utilisé comme conservateur. La réaction de fermentation acétique simplifiée est :



**II-4-Autres fermentations :** Divers autres types de fermentations sont rencontrés dans de nombreux produits, en particulier de type exotique : cacao, shoy, miso, tempeh koji. Dans le cas du cacao, la fermentation des fèves est due à des levures, puis à des bactéries acétiques. Les premières détruisent le mucilage et fabriquent l'éthanol qui va servir aux secondes. L'acide acétique formé est un élément essentiel de la transformation du contenu de la fève du cacaoyer. Les fermentations orientales mettent souvent en œuvre une première étape due à l'action amylolytique ou protéolytique de moisissures.

### III-Champignons microscopiques et aliments fermentés

**III-1-Levures :** Les levures sont utilisées depuis plus de 4000 ans pour la conception de la bière, du vin, mais aussi celle du pain grâce au levain. Le levain est une levure naturelle découverte depuis 4000 ans en Egypte, il s'agit d'une culture symbiotique de levure et de bactérie dans un mélange de farine complète et d'eau.

Aujourd'hui, les levures sont les microorganismes les plus utilisés par l'homme dans de nombreux domaines comme les industries alimentaires, la santé, l'agronomie...

**Industrie alimentaire :** *Saccharomyces cerevisiae* est l'espèce la plus répandue, son métabolisme est de type fermentation alcoolique, ses produits terminaux sont : l'alcool éthylique (éthanol), le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) et des métabolites secondaires divers. L'intervention de bactéries pour la production de boissons alcoolisées ou d'éthanol est marginale (*Zymomonas*). La fermentation alcoolique est aussi utilisée en boulangerie : la panification a pour base une fermentation alcoolique qui permet de faire lever la pâte grâce à la formation de bulles de dioxyde de carbone. Après mélange des ingrédients (farine, eau, sel et levure) et pétrissage, la pâte lève sous l'action de la levure boulangère, les sucres sont fermentés ce qui engendre d'une part un peu d'alcool qui s'évapore pendant la cuisson et d'autre part du

dioxyde de carbone qui, prisonnier de la pâte, forme des bulles au sein de celle-ci et la fait gonfler.

Les levures participent dans l'affinage des fromages, par désacidification de la pâte en réduisant l'acide lactique, ce qui permet de mettre en place une flore de bactéries et autres qui participent à la formation du goût. Elles hydrolysent certains peptides au goût amer en augmentant ainsi la saveur du fromage. Les levures peuvent aussi cataboliser les lipides et les protéines, libérant alors des composés aromatiques participant à la saveur du produit.

Les levures que l'on retrouve le plus à la surface des fromages sont du genre *Saccharomyces*, *Candida* et *Debaryomyces*.

**Boissons alcoolisées :** dans pratiquement toutes les cultures, on a vu se développer des boissons alcoolisées, dans ce cas, le produit recherché n'est évidemment pas le dioxyde de carbone, mais l'éthanol. En occident, ce sont la bière, le vin, jus de fruits fermentés. En Asie, la boisson alcoolisée la plus importante est le *saké* (vin obtenu par fermentation du riz), en Asie centrale, le *kumys* à base de lait fermenté, au Proche-Orient le *Kwass* à base de céréales, et le *pulque* à base de jus d'agaves en Amérique Centrale et Amérique du Sud.

**Le vin** provient de la fermentation du raisin ou du jus de raisin par les levures, qui constituent la flore la plus importante : *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces oviformis*, *Hanseniospora uvarum*, *Torulopsis stellata*, *Schizosaccharomyces sp*, *Candida sp*.

**Le cidre** c'est une boisson obtenue par fermentation d'un mout sucré fabriqué à partir des pommes. La fermentation par les levures transforme les sucres du jus en alcool. On trouve les levures : *Hanseniospora* et *Saccharomyces cerevisiae*. Il y a des fermentations secondaires génératrices d'arômes produites par des lactobacilles hétérofermentaires.

**La bière** est obtenue par la fermentation alcoolique d'un mout fabriqué par macération de malt d'orge. La fermentation du mout peut être obtenue spontanément (bière belge du type Gueuze) ou le plus souvent par ensemencement massif par des levures. Les levures utilisées pour la fabrication de la bière ne sont pas toutes identiques. On distingue en brasserie : - des levures « hautes », actives à température assez élevée (environ 20°C) grâce auxquelles on obtient des bières assez fortes ; l'abondant dégagement de gaz fait remonter les ferments en surface, d'où leur nom ; - des levures « basses » agissant à température moins élevée (12 à 15°C), qui fournissent une bière plus légère et tendent à se déposer au fond des cuves.

**III-2-Moisissures :** Les moisissures peuvent se rencontrer dans tous les milieux de l'industrie agroalimentaire, où elles sont considérées comme agents de pollution indésirables et donc éliminées le mieux possible. Mais, il existe des espèces utiles qui sontensemencées en industrie laitière, en salaison et dans les produits fermentés de soja.

### III-2-1-Moisissures des produits laitiers et carnés :

*A/ Ferments fongiques :* Il s'agit principalement d'espèces du genre *Penicillium* et l'espèce *Geotrichum candidum*

*A-1-Penicillium camembertii :* Ces moisissures blanches ou légèrement grises sont responsables du feutrage de surface des fromages à pâte molle et à croûte fleurie (camembert, brie, carré de l'est et de quelques fromages de chèvre). Ce champignon a une vitesse de croissance faible. Il peut se développer entre 4°C et 30°C, avec un optimum à 22°C. Le pH optimum de croissance se situe entre 4 et 5. Ainsi, *Penicillium camembertii* est pulvérisé sur les camemberts préformés et se développe à leur surface en une croûte veloutée blanche. Durant la maturation du fromage, la moisissure produit aussi des composés aromatiques caractéristiques et des protéases qui hydrolysent les caséines du caillé et donnent au fromage son goût et son aspect crémeux et coulant.

*A-2-Penicillium roquefortii :* Ce champignon gris bleu à gris vert, est utilisé pour la fabrication des fromages à pâte persillée du type roquefort, fourme d'Ambert, bleu d'Auvergne, stilton, bleu danois... Cette espèce a une vitesse de croissance rapide et supporte des températures de 4°C à 32°C, avec un optimum vers 25°C. Elle supporte de très grandes variations de pH (3 à 9) avec un optimum vers 4.5 à 6. Dans la fabrication du roquefort, *Penicillium roquefortii* est intégré à la masse du fromage où il se développe en un mycélium vert-bleu caractéristique visible à partir du 8<sup>ème</sup> ou 10<sup>ème</sup> jour de fabrication, à l'intérieur des ouvertures du caillé, il joue aussi un rôle majeur dans le goût spécifique du fromage et dans sa texture, par la production des enzymes protéolytiques et lipolytiques qui ont un rôle prépondérant dans l'affinage du produit.

*A-3-Penicillium nalgiovense :* Cette moisissure se rencontre sur certains fromages d'Europe Centrale et sur des salamis (un type de saucisson originaire d'Italie). Les souches utilisées comme ferments fongiques sont blanches alors que la forme sauvage est gris vert. Ce sont des souches à croissance rapide, supportant une très large gamme de pH avec un optimum vers 7. La croissance est possible de 4°C à 30°C, avec un optimum vers 25°C. Le champignon supporte des taux de sels de 0 à 25%. Utilisée actuellement en salaisons, cette moisissure assure une

couverture blanche sur les saucissons visible dès la sortie de l'étuvage, elle permet une lutte efficace contre les moisissures polluantes.

**A-4-*Geotrichum candidum*** : La principale moisissure utilisée comme ferment fongique qui n'appartient pas au genre *Penicillium*. Ce champignon se rencontre en fromagerie, indésirable sur certains fromages à pâte molle, recherchée comme flore dominante et indispensable sur des fromages à pâte pressée. Trois types différents selon leurs aspects et leurs caractéristiques peuvent être distingués : levuriforme, mycéloïde et intermédiaire. Son développement sur le fromage se fait dès les 24 premières heures et contribue à l'aromatization du produit. Son rôle est important sur l'affinage grâce à la production d'enzymes protéolytiques et lipolytiques.

**Remarque** : D'autres espèces de moisissures peuvent être utilisées comme ferments fongiques mais leur importance étant encore très réduite : *Sporotrichum aureum*, *Sporendonema casei* et *Penicillium cyclopium* rencontrées en surface sur des fromages e type Tomme. *Cylindrocarpon heteronema* rencontré en association avec *Geotrichum candidum* sur le Saint-Nectaire (fromage à pâte pressée).

**B-Produits laitiers** : Le lait par sa composition est un aliment de choix : il contient des graisses, du lactose, des protéines, des sels minéraux, des vitamines et 87% d'eau. Son pH est de 6.7). C'est un substrat très favorable pour le développement des microorganismes. Il peut être transformé, par des actions enzymatiques ou microbiennes, en produits ayant acquis de nouvelles qualités alimentaires et organoleptiques et présentant une conservation accrue. On appelle lait fermenté, un lait pasteurisé, transformé seulement par l'action des microorganismes, et ne subissant pas d'égouttage : yaourt, kéfyr, lait acidifié. On appelle fromage, un produit obtenu par égouttage, après coagulation du lait par la présure (enzyme d'origine animale, extraite de la caillette (partie stomacale) du veau non sevré) ou une protéase apparenté : un fromage peut être fermenté ou non.

**B-1-Fabrication du fromage** : la fabrication des fromages est plus ou moins complexe (figure 3). Ils subissent des opérations diverses en fonction du type de fromage souhaité :

\*Une acidification et une coagulation du lait qui est due aux bactéries lactiques et à la présure. Les moisissures n'interviennent pas dans cette phase. Après le caillage, l'égouttage peut être spontané ou amélioré par pressage, par découpage, brassage, filtration, centrifugation...

\*Une neutralisation par consommation de l'acide lactique assurée par des levures, *Geotrichum candidum* et *Penicillium*.

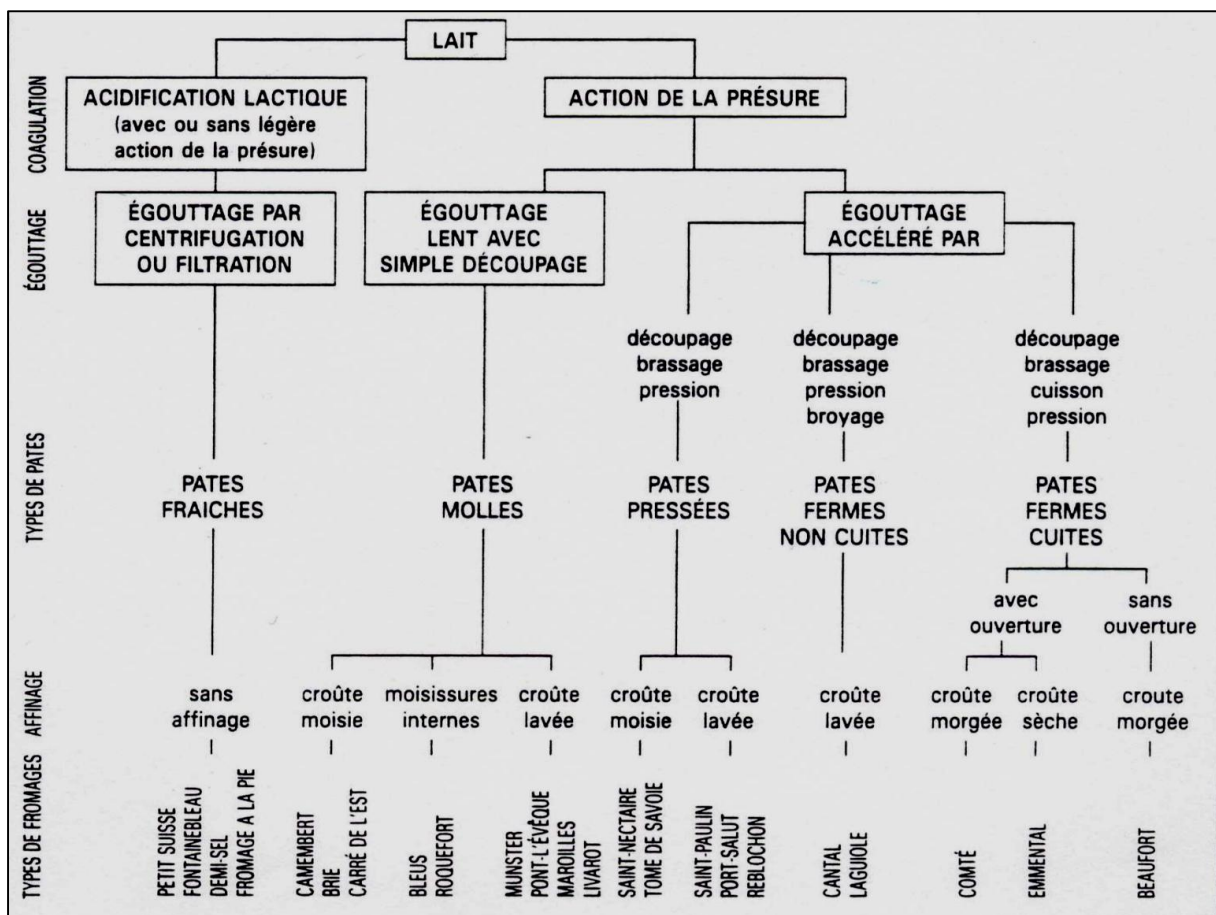


\*Affinage : entraîne de nombreuses transformations biochimiques et correspond à une digestion partielle des constituants du caillé par des enzymes d'origine microbienne, il y a dégradation plus ou moins poussée de la caséine mais aussi des matières grasses :

\*Une protéolyse du caillé, qui conduit à la texture finale du produit et joue un rôle important dans l'aromatisation. Les ferments fongiques ont ici une grande importance.

\*Une lipolyse de la matière grasse qui fournit des acides gras libres, composés importants du goût et précurseurs de différents produits aromatiques. Ici aussi, les ferments fongiques ont un rôle primordial.

\*Enfin, la synthèse d'arômes à partir de molécules issues de ces dégradations, telles que les acides gras qui sont transformés en méthylcétones, arômes caractéristiques des fromages et ceci grâce au potentiel enzymatique des ferments fongiques.



**Figure 3** Etapes de la fabrication du fromage.

***B-2-Types de fromage*** : On distingue plusieurs types de fromage (figure 3) :

Fromage à pâte fraîche Ce sont des fromages à égouttage obtenu par centrifugation ou filtration. Ils subissent essentiellement une fermentation lactique et ne sont pas affinés.

Fromages à pâte molle Ce sont des fromages obtenus par action de la présure qui subissent un affinage après la fermentation lactique, mais dont la pâte n'est ni cuite ni pressée : l'égouttage est lent et réalisé par un simple découpage (brassage). On distingue :

- Les fromages à pâte molle, à croûte moisie (Camembert, Brie, Carré de l'Est...)
- Les fromages à pâte molle et à croûte lavée (Munster, Livarot, Pont-l'Évêque...)
- Les fromages à pâte molle persillées (à moisissures internes (Roquefort et autres « bleus »...).

Fromages à pâte pressée Ce sont des fromages obtenus par action de la présure, qui subissent un affinage après la fermentation lactique, et qui sont obtenus par égouttage avec découpage du caillé, brassage et pression. On distingue :

- Les fromages à pâte ferme non cuite (pâte pressée et broyée) (Cantal...)
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte lavée (St Paulin, Reblochon)
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte moisie (St Nectaire, Tomme de Savoie...)
- Les fromages à pâte pressée non cuite et à croûte artificielle (Edam...)
- Les fromages à pâte pressée cuite avec ouverture (Emmental, Comté...)
- Les fromages à pâte pressée cuite sans ouverture (Beaufort...)
- Les fromages à pâte pressée très dure (très brassés) (Cheddar...)

***B/Rôle des ferments fongiques*** : Un ferment fongique a trois rôles principaux :

1-Intérêt des ferments fongiques sur l'aspect du produit L'aspect d'un fromage obtenu par l'ensemencement d'une souche est fonction de nombreux autres paramètres : taux

d'ensemencement, du milieu et surtout le rapport protides/glucides, humidité du produit ( $a_w$ ) et la température.

2-Intérêt des ferments fongiques dans l'affinage (goût et texture) Les fromages sont des aliments fermentés qui subissent de nombreux processus biochimiques de transformation grâce aux enzymes produites par les microorganismes. Les moisissures utilisées comme ferments fongiques ont un rôle primordial dans ces processus. Les trois espèces considérées : *Penicillium camembertii*, *Penicillium roquefortii* et *Geotrichum candidum* assimilent très bien l'acide lactique, le plus souvent sous forme de lactate, la désacidification est d'abord due aux levures et au *Geotrichum candidum* lorsque celui-ci est présent, puis au *Penicillium* qui ont une croissance plus lente. Les mécanismes de protéolyse, de lipolyse et de production d'arômes (acides aminés et acides gras) sont eux assurés en très grande partie par les espèces fongiques utilisées comme ferments.

3-Intérêt des ferments fongiques dans la lutte contre les polluants En fromagerie, on peut trouver de nombreuses espèces de microorganismes responsables de pollution et d'accidents de fabrication. Le fait d'ensemencer massivement avec des ferments fongiques contribue à lutter contre cette pollution par une occupation la plus rapide et importante possible du milieu. Le risque de production de mycotoxines est n'est pas négligeable. Ces pollutions peuvent avoir des causes diverses, mais le plus souvent elles viennent de l'air ambiant, ces espèces produisent des spores sèches ou xérospores facilement véhiculables par l'air. En plus des mesures de désinfection, un ensemencement massif avec la souche sélectionnée de ferment fongique contribue à les éliminer. En générale, le développement des polluants est défavorisé par : des pH acides, une action combinée entre une bonne acidification et l'utilisation de ferments fongiques suffit le plus souvent à les éliminer.

**C-Produits carnés :** Le saucisson sec est un produit cru et fermenté. Il est composé d'un boyau animal dans lequel est introduit un mélange de viande hachée, de sel, de sucre (glucose, lactose...), d'épices et de ferments. Le produit formé subit ensuite une phase d'étuvage de 72 heures à une température comprise entre 20 et 25°C puis une phase de séchage entre 13 et 14°C d'une durée variable, entre 15 et 75 jours. Ces deux phases ayant pour même objectif la dessiccation du produit et le développement de la flore. Les deux ferments ajoutés à la préparation sont :

- **Des Lactobacilles**, bactéries à Gram positif anaérobies. Ils dégradent le lactose et le glucose en acide lactique par voie fermentaire, ce qui entraîne une acidification du milieu.

- **Des Micrococcaceae** dont *Staphylococcus* est le genre le plus adapté au milieu du saucisson. Ils réduisent les nitrates en nitrites et jouent alors un rôle dans la coloration du produit. Ils réalisent également une lipolyse permettant la synthèse de molécules aromatiques (cétones).

Ces deux ferments, en plus d'élaborer le goût, la texture et la couleur du saucisson entraînent une inhibition de la croissance des microorganismes pouvant altérer le goût du saucisson ou être pathogènes. Cette inhibition est permise par l'acidification du milieu et le développement de la flore positive, cela s'ajoute à l'abaissement de l'activité de l'eau entraîné par le salage.

D'autres ferments, **des levures et des moisissures**, sont également déposés à la surface des saucissons. Leur développement permet de contribuer au séchage des saucissons, à leur maturation, au développement des arômes et à l'aspect général du produit. Par sa présence physique à la surface des saucissons, cette flore constitue elle aussi un frein au développement des microorganismes indésirables.

### III-2-2-Moisissures des produits fermentés à base de soja :

L'utilisation des moisissures dans la fermentation du soja existe, depuis des millénaires en Extrême-Orient. Son but est d'améliorer :

\*La digestibilité du produit grâce à la synthèse d'enzymes amylolytiques, cellulolytiques, lipolytiques et protéolytiques ;

\*Les caractéristiques nutritionnelles (synthèse de vitamines) et organoleptiques par la production de composés aromatiques.

Les principales moisissures utilisées pour la fermentation du soja sont les suivantes (tableaux 1 et 2) : Deuteromycètes : *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus sojae*

Mucorales : *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor silvaticus*...

**Tableau 1** Moisissures intervenant dans la préparation de la sauce de soja dans différents pays asiatiques.

Moisissures	Nom de la sauce de soja	Lieu de préparation
<i>A. Oryzae</i>	Shoyu : Koikuchi, Usukuchi	Japan
<i>A. sojae</i>	Tamari	
<i>A. oryzae</i>		
<i>A. oryzae, A. sojae</i>		Taiwan
<i>A. niger, A. flavus</i>		
<i>Rhizopus, Penicillium</i>		
<i>A. oryzae</i>	Kicap	Malaisie
<i>Rhizopus</i>		
<i>Mucor, Penicillium</i>	Kecap	Indonésie
<i>Rhizopus, Aspergillus</i>		
<i>Scopulariopsis</i>		
<i>A. oryzae, A. sojae</i>	Kanjang	Corée
	Chiang-Yiu	Chine

Les moisissures suivantes interviennent dans la préparation du miso (pâte de soja fermentée) et de ses analogues utilisés pour l'assaisonnement (tableau 2).

**Tableau 2** Moisissures intervenant dans la préparation du miso et de ses analogues.

Produit	Micro-organisme	Substrat	Application	Origine
<i>Miso</i>	<i>Aspergillus oryzae</i> ou <i>A. sojae</i>	Soja	Soupe, condiment	Chine, Japon
<i>Shoyu</i>	<i>Aspergillus oryzae</i> ou <i>A. sojae</i>	Soja	Soupe, condiment	Extrême-Orient
<i>Tome Koji</i>	<i>Neurospora sitophila</i>	Riz ou soja	Décoration alimentaire	Japon
<i>Tempeh</i>	<i>Rhizopus oryzae</i>	Soja	Friture	Indonésie
<i>Saké</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>	Riz	Boisson	Japon
<i>Ontjom</i>	<i>Neurospora sitophila</i>	Arachide	Friture	Indonésie
<i>Tofu</i>	<i>Actinomucor elegans</i>	Soja	Fromage	Chine

**a/Sauce de soja et Miso** : La préparation de ces deux aliments possède une étape commune qui est la fabrication du koji. Le terme du koji peut désigner selon les cas, soit la moisissure responsable de la fermentation (*A. oryzae* dont 700 souches différentes existent), soit une culture ou une poudre de spores de cette moisissure utilisée comme starter (*Tane-Koji*) soit le plat de riz fermenté consommé. La fabrication du koji consiste à inoculer une ou plusieurs moisissures sur un substrat riche en glucides tel que soja, riz, blé ou orge. Les propriétés du koji obtenu dépendent non seulement de la moisissure utilisée, mais aussi du substrat.

La préparation du koji pour la sauce de soja, se fait sur un mélange de 50% de blé et de 50% de soja, qui permet d'obtenir une activité protéasique maximale. Au cours de la fermentation le contrôle du taux d'humidité, de la température et de l'aération constitue des facteurs importants. Le bon contrôle permet d'améliorer la production des enzymes protéolytiques et amylolytiques en évitant le développement de contaminants (moisissures du genre *Mucor* ou des bactéries). L'utilisation du blé abaisse le taux du soja cuit, ce qui limite la contamination bactérienne, permet un meilleur développement de la moisissure ainsi qu'une plus forte production d'enzymes. Afin d'arrêter la croissance de la moisissure, le koji est ensuite mélangé avec du sel

(17 à 19% dans la pâte). Le mélange est ensuite inoculé avec des levures et des bactéries lactiques pour produire le miso et la sauce de soja.

Remarque Le développement récent de la technologie enzymatique permet l'utilisation d'enzymes commercialisées afin d'accélérer la fabrication en supprimant la préparation du koji. Mais, l'utilisation de ces préparations n'a pas donné des produits d'aussi bonne qualité comparés à ceux obtenus par la méthode traditionnelle.

**\*Modifications biochimiques :** L'hydrolyse des protéines libèrent progressivement des acides aminés puis de l'ammoniaque qui aboutit à l'augmentation du pH au cours du développement de la moisissure. Parmi les acides aminés libérés, la production d'acide glutamique est importante car ce composé participe directement au goût caractéristique du miso en lui conférant un goût de viande.

L'hydrolyse de l'amidon par des amylases fournit des dextrines, du maltose et du glucose.

Les lipides sont hydrolysés par les lipases en glycérol et acides gras libres. L'estérification de ces acides gras est à l'origine de la formation de composés de l'arôme du miso.

La moisissure *Aspergillus oryzae* produit aussi des vitamines (riboflavine, vitamine B6 et des composés de la flaveur (alcool, ester, cétones, aldéhydes, acides, phénols...).

**b/ Tempeh :** Le *tempeh* est fabriqué à partir de graines de soja jaune immatures dépelliculées. Elles sont cuites écrasées puisensemencées avec un champignon du genre *Rhizopus oligosporus*. La fermentation se produit en 24 heures à 30°C, des moisissures se forment (des filaments blancs comme sur les fromages) qui transforme la préparation en une sorte de gâteau compact. Le *tempeh* a la texture d'un pain à l'odeur et un goût très doux qui évoque les arômes de champignon, de noix et de levure. Il est riche en protéines d'origine végétale et en calcium, pauvre en lipides. Il est utilisé dans la composition des sauces.

La température d'incubation est de 35°C à 38°C, avec un optimum à 37°C. Le choix d'une température assez élevée permet à la moisissure de se développer rapidement et d'inhiber la croissance des polluants fongiques mésophiles. L'apport d'oxygène doit être limité (c'est la raison pour laquelle les graines après inoculation sont enveloppées dans des feuilles de bananiers, ce qui provoque la sporulation sans noircissement du produit). L'humidité doit être de 75% à 85%. Un taux d'humidité trop élevé entraînerait un risque de contamination bactérienne.

La moisissure possède une forte activité lipolytique et les acides gras libérés sont responsable du goût du tempeh. Les protéines sont transformées en acides aminés (dont la teneur augmente en début de fermentation)

Au cours de la fermentation, de nombreuses vitamines sont synthétisées, un antioxydant est également produit par cette moisissure. Un composé antibactérien de nature glycopeptidique est très actif contre les bactéries GRAM positif. Les moisissures intervenant dans la fabrication du tempeh ne produisent pas d'aflatoxines. Au contraire, cette moisissure hydrolyse ses toxines.

**c/ Sufu :** Le *sufu* est un aliment traditionnel chinois de type fromage préparé à partir d'un lait caillé de soja. Le *sufu* est obtenu par développement de moisissures des genres *Mucor*, *Actinomucor*, *Rhizopus*. Il se présente sous forme de petits cubes blancs. La fermentation est réalisée pendant 3 à 7 jours selon la moisissure utilisée. Un mycélium très dense se développe à la surface dès les premiers jours d'incubation. La température atteint 10 ou 20°C selon la moisissure. L'humidité est de 80%. Les enzymes suivantes sont produites au cours de la fermentation : invertase, protéase, oxydase et catalase. Ces enzymes sont liées à la surface du mycélium et peuvent être éluées avec du chlorure de sodium.

Les protéases hydrolysent les protéines et libèrent l'acide aspartique, l'acide glutamique, la sérine, l'alanine, la leucine et l'isoleucine.

Les acides gras libérés forment des esters caractéristiques de l'arôme du *sufu*.

Le saccharose est hydrolysé en glucose et fructose.

Le salage permet d'élué les enzymes du mycélium.

Le *sufu* se conserve mal, mais aucune toxine n'a été décelée.