

## Métabolites microbiens d'importance économiques

### Définitions

Les métabolites sont des déchets organiques issus de la matière vivante, des résidus métaboliques.

Un *métabolite* désigne un composé chimique synthétisé lors d'une phase de métabolisme. Les biomolécules sont des producteurs de métabolites primaires et secondaires. Les métabolites sont les produits intermédiaires du métabolisme. Le terme métabolite est généralement, par définition, limité à de petites molécules.

Les métabolites ont diverses fonctions, y compris l'énergie, la structure, la signalisation, un stimulant et des effets inhibiteurs sur les enzymes, l'activité catalytique (généralement en tant que cofacteur à une enzyme), la défense et les interactions avec d'autres organismes, par exemple des pigments, des substances odorantes et les phéromones.

### I-Production d'enzyme microbien

Une enzyme est une protéine possédant de propriétés catalytiques. Pratiquement toutes les biomolécules capables de catalyser des réactions chimiques dans les cellules sont des enzymes.

#### I-1 Le choix d'un microorganisme producteur de l'enzyme

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques de nature protéique complexe. Seules les enzymes microbiennes produites par fermentation ont connu une expansion significative, et sont préparées industriellement, car les microorganismes présentent de nombreux avantages comme source d'enzymes: croissance exponentielle et la disponibilité. Dans les secteurs non alimentaires (chimie, diagnostic, analyses diverses...), le choix des souches n'est pas soumis aux mêmes contraintes. De façon générale, les micro-organismes sont sélectionnés selon les principaux critères suivants:

- Fournir une bonne production d'enzymes.
- En un minimum de temps
- Les enzymes extracellulaires (généralement des hydrolases) sont préférables aux endocellulaires (dont l'extraction est difficile à réaliser).
- La souche doit pouvoir se développer sur des substrats moins coûteux.

#### I-2 Milieux de la production des enzymes

Les milieux de productions ont soit des milieux synthétiques ou complexes. Les matières premières apportant les éléments nutritifs (énergie, carbone, azote, phosphore, soufre, vitamines...)

*Milieux synthétiques* : Milieux constitués de substances chimiques pures, leur composition qualitative et quantitative est connue.

**Milieux complexes** : Ce sont des milieux très riches en substances organiques permettant une croissance aisée de nombreux micro-organismes. Ces différents composants mal définis vont couvrir les besoins en maco-éléments, en micro-éléments et en oligoéléments ainsi que les besoins en énergie.

*Les milieux de culture utilisés dans une unité biotechnologique (fermenteur).*

### Conditions environnementaux des milieux de culture

Les nutriments constitutifs ou énergiques nécessaires à un microorganisme pour son développement doivent lui être apportés dans certaines conditions d'environnement. Un certain nombre de facteurs interviennent au cours de la nutrition. Ils peuvent l'empêcher, l'inhiber ou la favoriser.

#### ➤ Effet de l'oxygène

Selon l'exigence des microorganismes à l'oxygène: certains sont aérobies stricts, nécessitent l'O<sub>2</sub> pour leur développement; d'autres, anaérobies stricts, ne peuvent pas survivre en présence de l'oxygène; d'autre encore sont anaérobies facultatifs, capables de se multiplier avec ou sans oxygène; d'autres enfin, les microaérophiles, ne se reproduisent qu'en présence d'une faible concentration d'oxygène. (figure 1)

#### ➤ Effet de la température

Elle influence profondément la croissance aussi bien que le métabolisme (action sur la vitesse des réactions biochimiques). Selon la température optimale de développement, on distingue généralement 06 classes des micro-organismes (figure 2)

**Les psychrotrophes**: Peuvent se cultiver à 0°C. La température optimale de multiplication entre 20 à 25 °C.

**Les psychrophiles**: Température maximale 20°C et température optimale de croissance inférieure à 15 °C.

**Les cryophiles**: peuvent se développer à des températures négatives. Température optimale de croissance (- 5 °C).

**Les mésophiles**: croissance entre 25 et 40 °C. Optimum à 37°C.

**Les thermophiles**: température optimale entre 50 et 60 °C.

**Les hyperthermophiles**: Température optimale de croissance entre 70 °C et 110°C.

#### ➤ L'effet de pH (concentration en ion hydrogène [H<sup>+</sup>])

Les micro-organismes se développent dans une gamme de pH de 1 à 11 (**Fig. 11**). Il en existe trois classes, déterminées en fonction de leur pH optimum:

**Acidophiles**: 1 < pH optimum < 5.5.

**Neutrophiles**: 5.5 < pH optimum < 8.

**Alcalinophiles**: 8 < pH optimum < 11.

(figure 3)

### -3 Procédé de la fermentation

Les fermenteurs utilisés atteignent des volumes de 100 à 200 m<sup>3</sup>. Suivant les enzymes et les procédés, la fermentation dure de 30 à 150 heures. Elle se fait dans un milieu riche, où les paramètres physico chimiques sont régulés en continu: oxygène, pH, température, moussage (réduit par l'addition d'anti-mousse).

De plus, la mesure de l'activité enzymatique est effectuée à intervalles réguliers.

### I-4 Microorganismes producteurs des enzymes

Chaque microorganisme produit, généralement en petite quantité, un grand nombre d'enzymes impliquées dans des mécanismes cellulaires (Tab.1). Toutefois, quelques enzymes sont produites en beaucoup plus grande quantité par certains micro-organismes pour, par exemple, dégrader des différentes molécules complexes comme la cellulose, l'amidon ou les protéines.

Source	enzyme	Micro-organisme
Champignons	Amylase	<i>Aspergillus oryzae</i>
	Glucosidases	<i>Aspergillus flavus</i>
	Proteases	<i>Aspergillus niger</i>
	Pectinases	<i>Aspergillus niger</i>
	Glucose	<i>Penicillium notatum</i>
	Oxidase	<i>Aspergillus niger</i>
	Catalase	
Bactéries	Amylases	<i>Bacillus subtilis</i>
	Proteases	
	Penicillinase	
Levures	Invertase	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
	Lactase	<i>Saccharomyces fragilis</i>

### 1-5 Méthodes d'extraction et de purification des enzymes

L'enzyme souhaitée produite peut être excrétée dans le milieu de culture (enzymes extracellulaires) ou peut être présente dans les cellules (enzymes intracellulaires). Selon l'exigence, l'enzyme commerciale peut être brute ou très purifiée. En outre, il peut être sous forme solide ou liquide. Les étapes impliquées dans le traitement en aval, c'est-à-dire que les étapes de récupération et de purification utilisées dépendront de la nature de l'enzyme et du degré de pureté souhaité.

## II production de l'acide citrique

L'acide citrique est un intermédiaire du cycle de Krebs. Il est largement utilisé dans l'alimentation, comme additif alimentaire, mais aussi dans la composition des détergents et des cosmétiques (Krishna 2005). La production d'acide citrique par fermentation liquide à l'échelle industrielle date de la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle

## II-1 micro-organismes utilisés

Différents micro-organismes sont utilisés dans la production de l'acide citrique, mais *Aspergillus niger* (un champignon à l'aspect de moisissure noire sur les fruits et légumes) reste le meilleur champignon producteur d'acide citrique.

Selon la souche sauvage d'*Aspergillus niger* utilisée et les conditions de fermentation, la production d'acide citrique peut varier de **88 à 264 mg/g** de matière sèche (Roukas 1999; Vandenberghe et al. 2000). L'utilisation d'une souche d'*Aspergillus niger* mutée permet d'obtenir **616,5 mg/g** de matière totale.

## II- 2 paramètres influençant la production

- le type et la concentration de la source de carbone. Principalement est le saccharose,
- La source d'azote ne doit pas excéder 0,4 g/L. L'utilisation de sels d'ammonium, comme le sulfate d'ammonium, est préférée ( ces sels permettent une diminution de pH du milieu de fermentation qui est essentielle pour la production : 2)
- La température de fermentation est généralement de 28 à 30°C
- et le meilleur taux d'humidité initiale est de 70%
- Les métaux tels que le cuivre, le zinc, le manganèse et le fer doivent être présents en faible quantité.



## III production d'antibiotiques

Depuis plus de 50 ans, l'antibiothérapie est le moyen de défense majeur contre les infections microbiennes. Parmi les fermentations industrielles, la production d'antibiotiques est l'un des secteurs les plus importants. Le criblage de souches productrices d'antibiotiques naturels a conduit à la production des antibiotiques dits **de première génération**.

Soumise à un contrôle très strict, la production par des micro-organismes non génétiquement modifiés est toujours très faible. Très tôt, des programmes d'amélioration de la production par modification des souches ont été mis en œuvre

**L'extraction de l'antibiotique des produits de son métabolisme.**

La souche est constituée par un microorganisme, en général un champignon mais parfois une bactérie. C'est le plus souvent une variété adéquate au meilleur rendement, obtenue à partir des milieux les plus divers, convenablement purifiés et mutés, et conservés à l'abri de toute contamination.

### La production d'antibiotiques

Étapes par étapes :

identifier un organisme capable de synthétiser cet antibiotique.

le tester sur une grande variété d'espaces bactériennes.

expérimentation sur des animaux.

Si elle n'engendre aucun problème, la fabrication industrielle peut commencer.



**Penicillium Notatum vu au microscope**

### III autres métabolites microbiens

L'utilisation industrielles des micro-organismes, n'est pas seulement pour une production alimentaires mais aussi pour une autre non alimentaire qui peut servir à la fabrication des alcools industriel, biocarburants et biogaz, écoplastiques,

**Les écoplastique** sont des matières plastiques biodégradables produites par fermentation bactérienne de sucres (amidon de pomme de terre, lactosérum, glucose) par *Alcaligenes eutrophus*, cette bactérie est capable de synthétiser une matière plastique biodégradable appelé polyhydroxybutyrate (PHB). Ce polymère est très similaire à polyhydroxalkanoates (PHA), un polymère biodégradable déjà utilisé dans l'industrie.

**Les alcools et Biogaz** les microorganismes sont utilisés pour produire des alcools et des biogaz par exemple l'utilisation des *Saccharomyces* (levures) pour la fermentation du sucre (ou amidon hydrolysé) contenu dans les plantes sucrières pour la production du bioéthanol, la bactérie *Clostridium acetobutylicum* est utilisée pour produire du bio-butanol par fermentation acétobutylique grâce à son équipement enzymatique capable de transformer le sucre en butanol-1