



2^{ème} année TC SNV
Semestre 4

Module de

Biotechnologies et applications

Dr HABBECHÉ A

Chapitre 2 : Utilisation des microorganismes dans les fermentations alimentaires



Introduction

- La transformation des aliments par les microorganismes n'a pas toujours pour conséquence de les dégrader.
- Elle peut au contraire contribuer à la fabrication de produits différents, **agréables au goût**, d'une bonne **valeur nutritive**, **plus digestes** et souvent **plus faciles à conserver** que les produits d'origine.
- La production **d'aliments fermentés** n'est pas un phénomène récent. Elle était déjà de pratique courante dans plusieurs pays.
- La biotechnologie moderne permet toutefois de raffiner les méthodes utilisées, d'augmenter la productivité et, surtout, de stabiliser la qualité des produits obtenus. Bien que l'on possède aujourd'hui d'autres moyens de conservation, les fermentations alimentaires ont toujours leur place dans la société par la variété qu'elles apportent à notre alimentation : **Le pain, le fromage, yaourt...etc**
- La biotechnologie permet également de tirer suite au **métabolisme des microorganismes** toutes sortes de composés particuliers qui servent d'additifs ou de compléments alimentaires (acides aminés, vitamines, acides organiques, enzymes, arômes...).

1. La fermentation alimentaire

La fermentation est un processus complexe au cours duquel un aliment est modifié (**dans sa texture, sa composition et sa digestibilité**) sous l'action d'un ferment.

La fermentation est une technologie très ancienne de transformation et de conservation des aliments.

- En 1789, Lavoisier écrit le premier article sur la fermentation. Il décrit **la fermentation vineuse** comme une division du sucre en deux portions (alcool et acide carbonique) suite à la réaction d'un ferment.

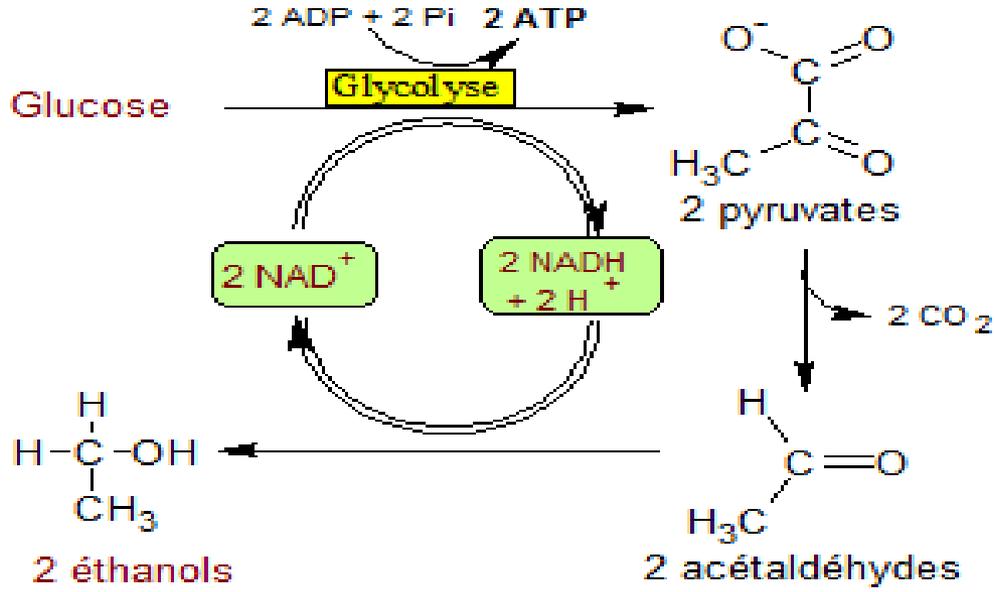
- C'est Pasteur, en 1857 qui établira que **la fermentation alcoolique** est due à l'activité métabolique de *Saccharomyces cerevisiae* (levure de bière). Il étudiera ensuite les fermentations **acétique, butyrique et lactique**, et démontrera que la fermentation est une réaction chimique et biologique, en cultivant les bactéries et levures mises en cause. C'est par ailleurs 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)** »

- En décembre 1986, la fermentation se définit par « **la dégradation des substrats glucidiques sans utilisation d'oxygène** »

2. Les différentes voies de fermentation

Les deux principales voies fermentaires contribuant à la production d'aliments sont, la **fermentation lactique** et la **fermentation alcoolique** (ou éthanolique). Les principales responsables de ces fermentations sont les bactéries lactiques et les levures fermentaires.

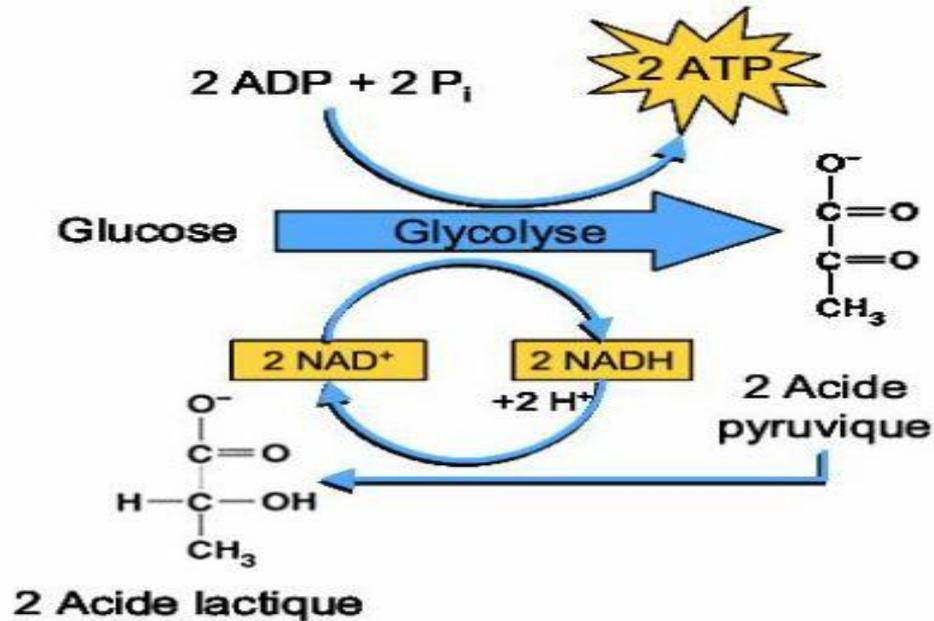
•**Fermentation alcoolique:** la particularité de la fermentation alcoolique est de produire, à partir des sucres, de grandes quantités de CO₂ et d'éthanol (alcool). Plusieurs espèces de levures, peuvent accomplir ce processus.



Certaines bactéries, par des voies différentes, sont également de bonnes productrices d'éthanol, mais elles sont peu utilisées à cette fin par l'industrie alimentaire.

• Fermentation lactique

On parle de fermentation lactique lorsque l'acide lactique est le principal produit de fermentation des sucres.



Les bactéries lactiques sont les espèces bactériennes responsables de ce type de fermentation. On distingue deux types de fermentation lactique :

Fermentation homolactique

La fermentation homolactique se caractérise par la production de **grandes quantités** d'acide lactique principalement à partir du glucose. Les homofermentaires sont les bactéries lactiques, qui sont responsables de ce type de fermentation (*Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Vagococcus* et certains *Lactobacillus*).

Ce processus domine au cours de la fabrication des produits laitiers fermentés (yaourt, fromage...). Il intervient également dans plusieurs autres productions alimentaires.

Fermentation hétérolactique

Dans la fermentation hétérolactique, il y a production d'acide acétique, d'éthanol et de CO₂ en plus de l'acide lactique. Les principales bactéries hétérofermentaires appartiennent au genre *Leuconostoc* et à certaines espèces de *Lactobacillus*.

Ces bactéries interviennent principalement dans la fabrication de fromages et de laits fermentés.

3.1. Production du pain

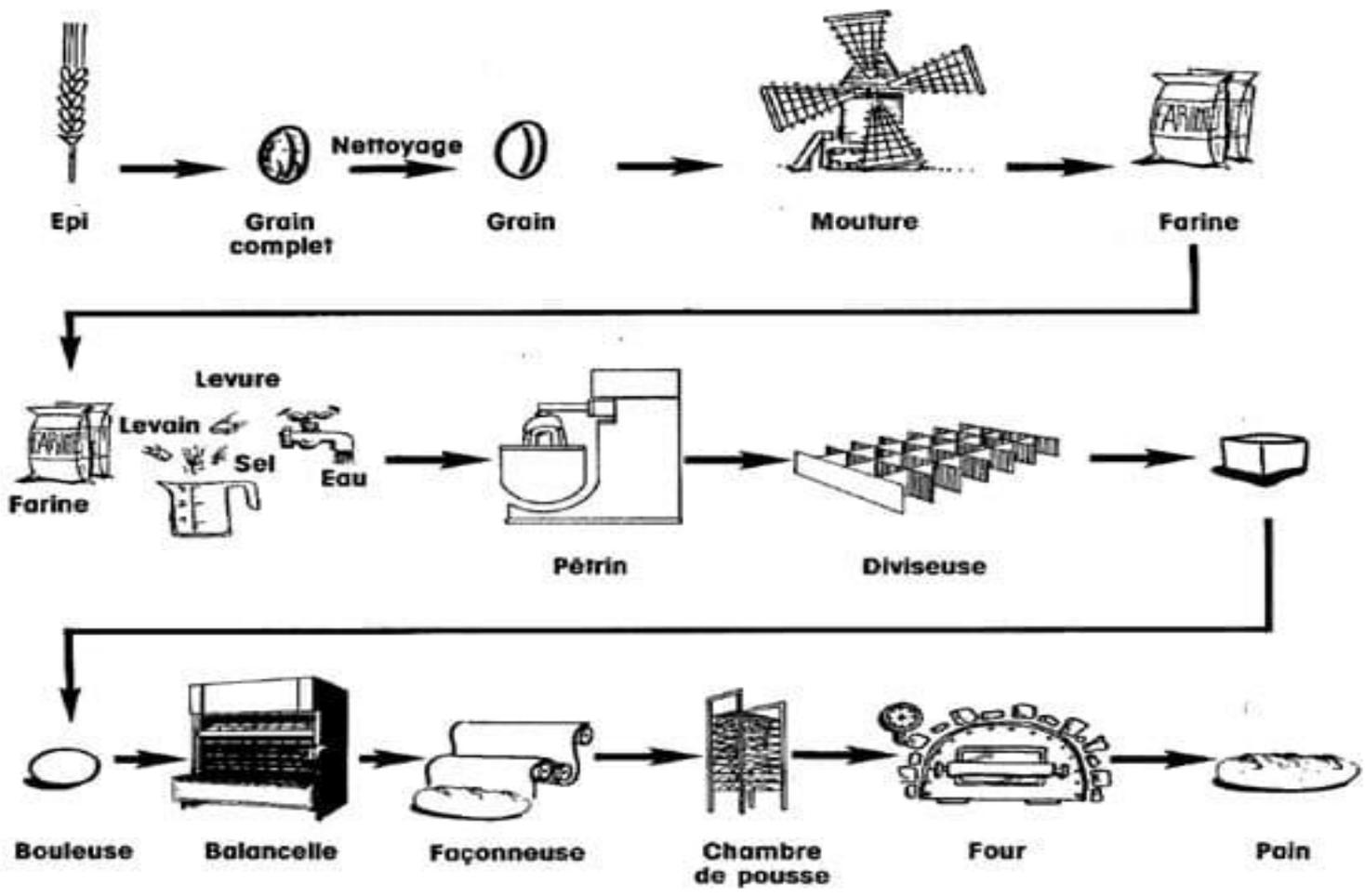
-La fabrication du pain ou panification est le procédé technique qui permet de transformer de la farine en pain. Elle demande la maîtrise de la fermentation et de la cuisson.

-Ce sont les microorganismes déjà présents dans la farine, plus précisément les levures, qui furent longtemps les seuls responsables de la fermentation de la pâte à pain. On appelle levain la flore microbienne naturelle de la farine dont la multiplication s'effectue généralement dans un mélange de farine et d'eau.

-Dans le levain, les levures sont les principales responsables de la levée de la pâte, mais les bactéries lactiques hétérofermentaires qu'on y trouve en abondance y concourent également (production de gaz carbonique dans la fermentation hétérolactique). Ces bactéries jouent également un rôle important dans la saveur particulière du pain au levain.

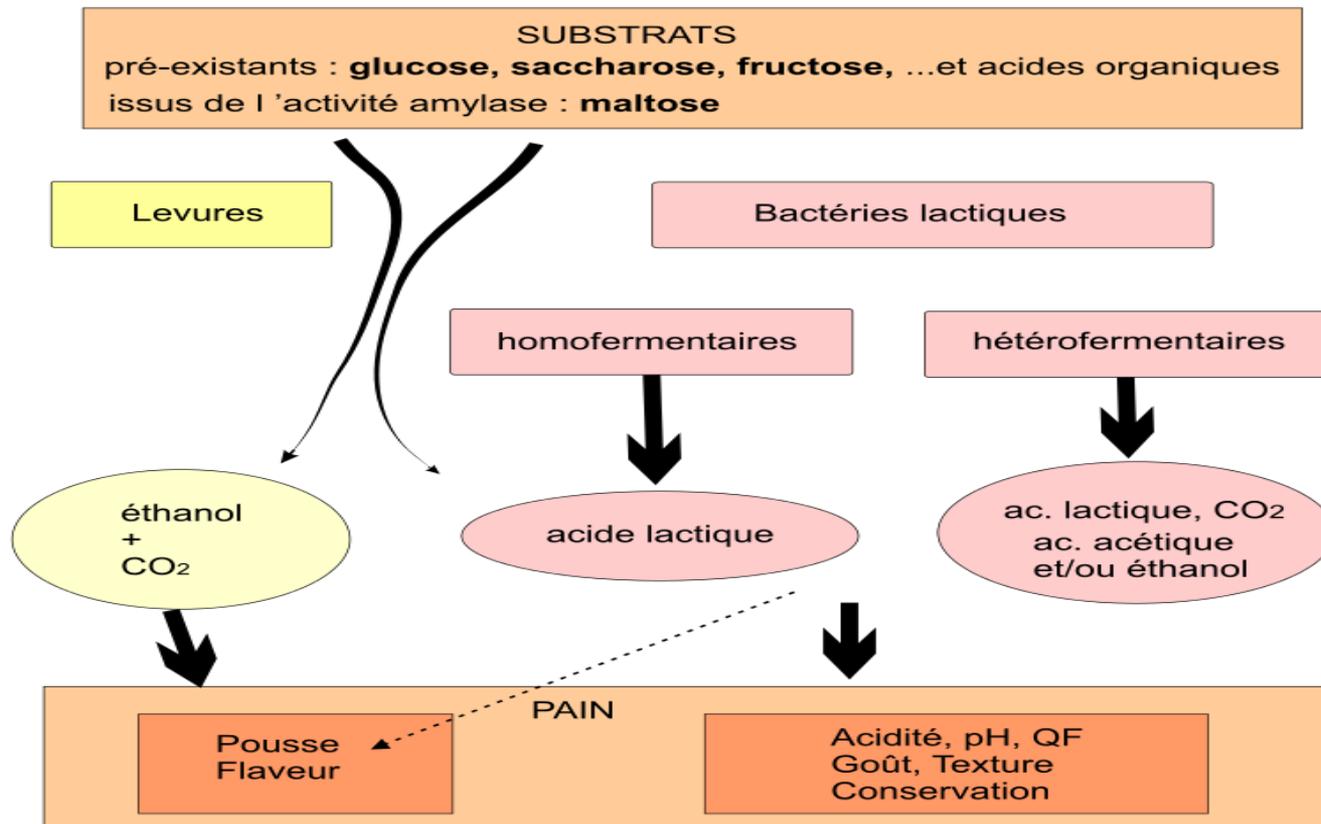
-Les boulangers constatèrent que l'ajout de levure de bière (*Saccharomyces cerevisiae*) à la pâte, en plus du levain, accélérerait beaucoup la fermentation et permettrait de former des pains plus légers.

- Aujourd'hui, des souches de *Saccharomyces cerevisiae* sont sélectionnées pour cet usage (levure du boulanger) ; elles sont plus performantes pour ce qui touche la production gazeuse. L'ensemencement massif de levures, qui est souvent pratiqué, accélère énormément la levée de la pâte, mais supprime toute possibilité pour la flore lactique naturelle de se manifester.



•Le pain industriel

Le raffinement des techniques de pétrissage (plus intense et de plus longue durée), l'ajout fréquent d'additifs propres à favoriser l'activité des levures (sels d'ammonium et de phosphates, sucre, amylases pour hydrolyser l'amidon), l'incubation à une température de 30 à 42°C et l'addition massive de levures, ont contribué à raccourcir considérablement la durée de fermentation du pain industriel (45 à 55 minutes).



•Les microorganismes du blé et de la farine

Bactéries lactiques de la farine			
Lactobacilles (<i>Lactobacillus</i>)		Coques (<i>coccus</i>)	
Homofermentaires	Hétérofermentaires	Homofermentaires	Hétérofermentaires
<i>Lactobacillus casei</i> <i>Lb. coryniformis</i> <i>Lb. curvatus</i> <i>Lb. plantarum</i> <i>Lb. salivarius</i>	<i>Lactobacillus brevis</i> <i>Lb. fermentum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>P. parvulus</i> <i>P. pentosaceus</i>	<i>Leuconostoc</i> <i>Weisella</i>
Levures de la farine			
<i>Candida, Cryptococcus, Pichia, Rhodotorula,</i> <i>Torulaspora, Trichosporon, Saccharomyces, Sporobolomyces</i>			

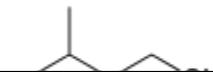
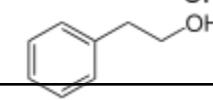
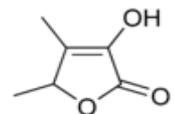
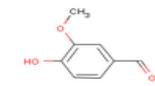
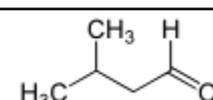
•Les microorganismes du levain

Une cinquantaine d'espèces de bactéries lactiques (principalement des *Lactobacillus*) et plus 25 espèces de levures différentes (principalement du genre *Candida* et *Saccharomyces*) ont été identifiées dans le microbiote des levains.

Bactéries lactiques du levain	
Type I	Type II
<i>Lactobacillus sanfranciscensis</i> , <i>Lb. alimentarius</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. fructivorans</i> , <i>Lb. paralimentarius</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. pontis</i> , <i>Lb. spicheri</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Weissella confusa</i>	<i>Lactobacillus pontis</i> , <i>Lb. panis</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. crispatus</i> , <i>Lb. delbrueckii</i> , <i>Lb. fermentum</i> , <i>Lb. Reuteri</i>
Levures du levain	
Type I	Type II
<i>Candida humilis</i> , <i>Saccharomyces exiguous</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Issatchenkia orientalis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Issatchenkia orientalis</i>

Composés aromatiques du levain et du pain au levain
d'après Onno *et al.* dans Drider *et al.*

Acides : acide lactique, acide acétique

Alcools	Esters	Composés carbonylés
2-phényléthanol 2 et 3-méthylbutanol ethanol	acétate d'éthyle lactate d'éthyle acétate de butyle	aldéhydes : acétaldéhyde, hexanal acétoïne (3-hydroxy-2-butanone), diacétyl (butane-2,3-dione) (E)-2-heptanal
Composé	Odeur	Structure
3-méthylbutanol	arôme de banana	
2-phényléthanol	odeur de rose	
(E)-2-nonéanal	odeur d'iris, de concombre	
(E,E)-2,4-décadiéanal	odeur de beurre, de poulet	
(E)-4,5-époxy-(E)-2-décéanal	arôme métallique	
3-hydroxy-4,5-diméthyl -2(5H)-furanone, sotolon	odeur de fenugrec quand concentré et de caramel à faible dose	
vanilline	odeur de vanilla	
3-méthylbutanal	odeur fruitée, d'amande, de toasté	

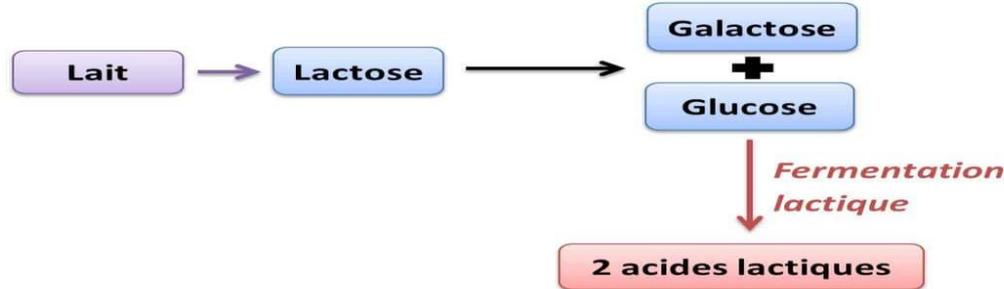
3.2. Fermentation des fromages

Le fromage est un aliment obtenu à partir de lait coagulé ou de produits laitiers, comme la crème, suivi d'un égouttage, de fermentation et éventuellement d'affinage (fromages affinés).

Le fromage est fabriqué à partir **de lait** de vache principalement, mais aussi d'autres mammifères.

Le lait est **acidifié**, généralement à l'aide d'une culture bactérienne. Une enzyme, **la présure** ou un substitut comme l'acide acétique ou le vinaigre, est ensuite adjointe afin de provoquer la coagulation et former **le lait caillé** et **le lactosérum**.

Le lactose est alors transformé partiellement en **acide lactique**. Certains fromages comportent de la moisissure, sur la croûte externe ou à l'intérieur.

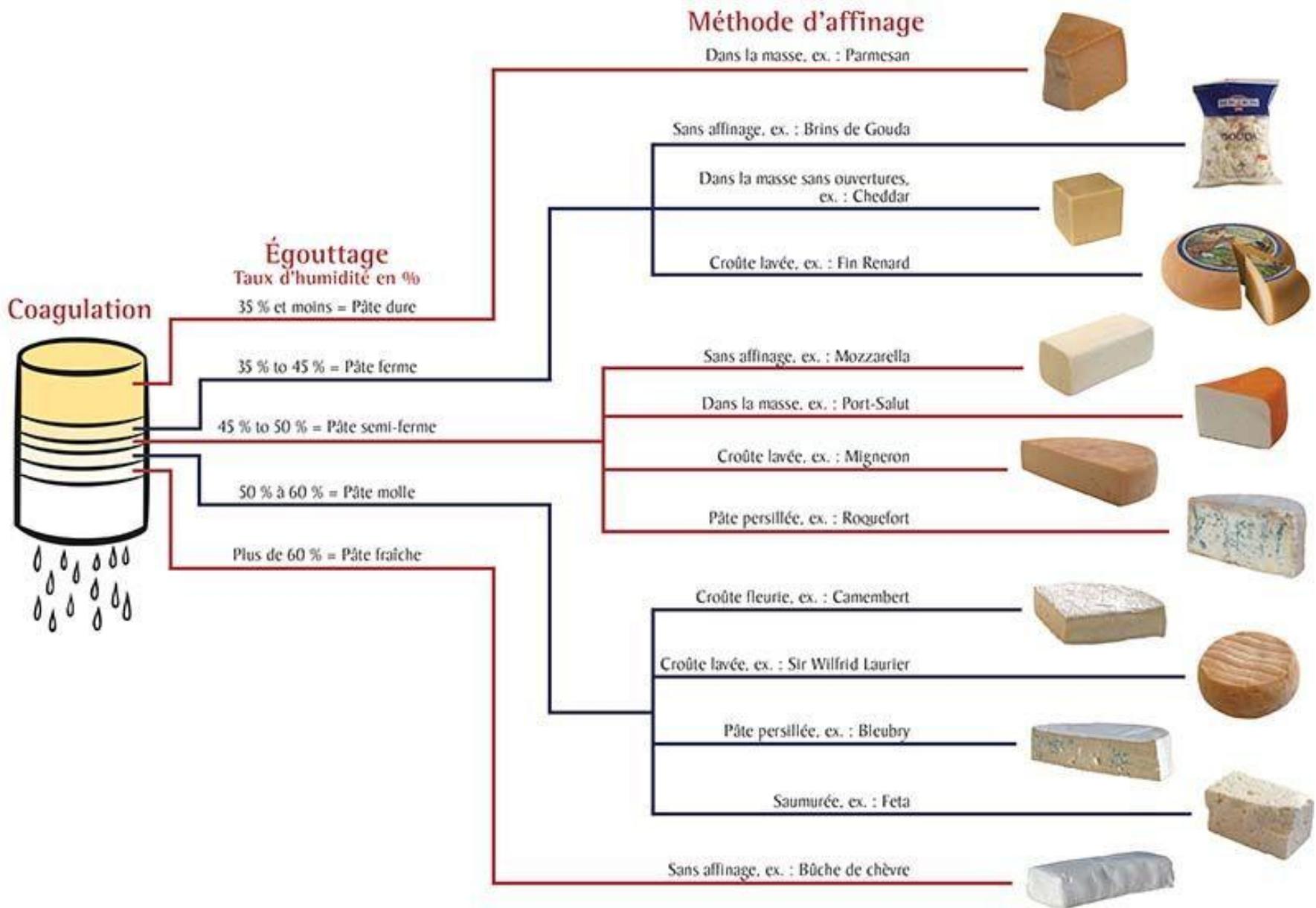


Types de fromages

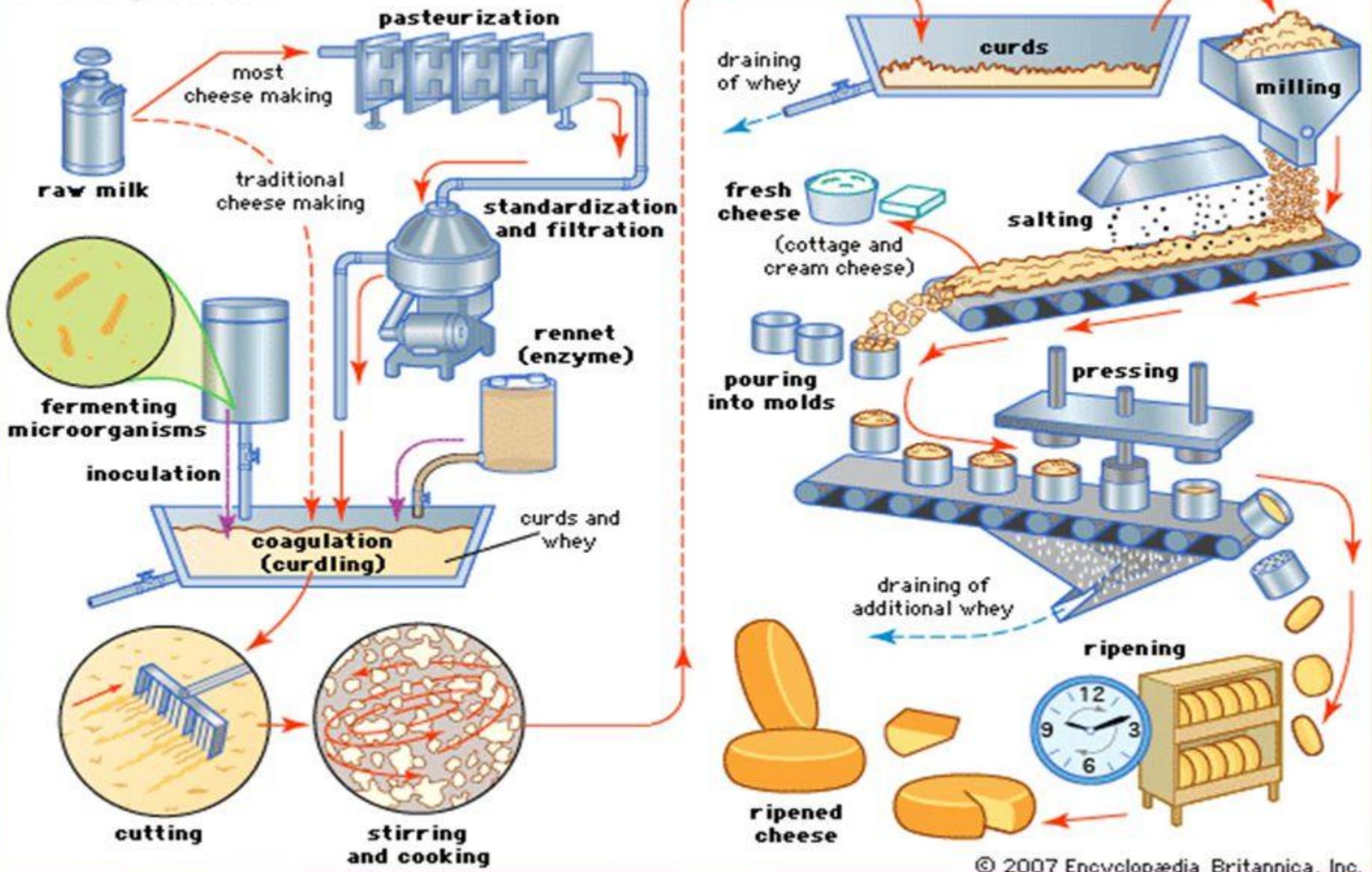
Des centaines de variétés de fromage sont produites dans le monde, mais qui dérivent d'une vingtaine de types seulement. Ceux-ci correspondent à des variantes d'une procédure générale commune. **Les caractéristiques du lait utilisé, les modalités techniques de préparation et les types de micro-organismes intervenant** dans l'affinage sont autant de facteurs déterminants qui modifient **la texture, la consistance, la saveur et l'arôme** d'un fromage.

Techniques de préparation

- Les bactéries lactiques jouent **un rôle fondamental** dans la fabrication des fromages.
- La coagulation du lait est assurée généralement par **l'activité protéolytique de la présure**.
La présure contient une enzyme, **la chymosine**, qui s'attaque spécifiquement à la caséine du lait.
- Après la coagulation du lait, une partie de la phase aqueuse, appelée lactosérum, est éliminée par un égouttage plus ou moins prononcé.
- Le découpage, le chauffage et le pressage sont divers moyens **d'accélérer cet égouttage**.
- Le lait coagulé concentré qui en résulte, appelé **caillé**, est relativement insipide, de texture granuleuse et friable. C'est au cours de la période de maturation, ou affinage, que le fromage acquiert son aspect et ses qualités organoleptiques particulières
- **Les caractéristiques du lait** ont une grande influence sur la saveur et l'arôme du fromage affiné.
- Le lait de vache a une composition qui varie selon **la race, la saison et le régime alimentaire** de l'animal. Ces caractéristiques influent sur la saveur et la qualité du fromage produit.
- La concentration en cellules microbiennes dans le fromage en cours de fabrication est extrêmement élevée (**jusqu'à deux milliards par gramme**). Leur action enzymatique sur le lactose, les protéines et les lipides du lait modifie la texture et la saveur du fromage.



Cheese production



© 2007 Encyclopædia Britannica, Inc.

La Fabrication du Fromage



•Les microorganismes utilisés dans la fermentation des fromages

Principaux micro-organisme intervenants dans la fabrication du fromage

<p>Bactéries lactiques</p>	<p>Elles forment la flore dominante et tirent leur origine principale de la culture ajoutée en début de fabrication. Les bactéries lactiques assurent deux fonctions essentielles :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Abaisser le pH par la production d'acide lactique aux dépens du lactose du lait • Contribuer au caractère organoleptique des fromages au cours de la maturation. <p>Les bactéries lactiques homofermentaires sont les plus importantes. Des streptocoques lactiques mésophiles (comme <i>Lactococcus lactis</i>) sont les premiers à se développer. Leur fonction principale est d'acidifier le lait, créant ainsi un milieu défavorable au développement des germes indésirables.</p> <p>Les lactobacilles sont relativement peu nombreux au début, mais se multiplient activement durant l'affinage ; ils participent au développement de l'arôme et à l'hydrolyse des protéines du caillé.</p>
<p>Bactéries propioniques</p>	<p>Des bactéries appartenant au genre <i>Propionibacterium</i> jouent un rôle important dans la maturation des fromages à pâte cuite de type Gruyère. Elles sont responsables de la fermentation propionique, c'est-à-dire de la transformation de l'acide lactique en acide propionique, acide acétique et CO₂. L'acide propionique et l'acide acétique sont responsables de la saveur particulière de ces fromages, tandis que le CO₂ dégagé provoque l'apparition d'ouvertures ou "trous" dans la pâte.</p>
<p>Levures</p>	<p>Plusieurs espèces de levures sont présentes dans le lait cru mais elles sont détruites au cours de la pasteurisation. Les genres le plus fréquemment rencontrés sont <i>Kluyveromyces</i>, <i>Debaryomyces</i>, <i>Pichia</i>, <i>Saccharomyces</i>, <i>Torulopsis</i>, <i>Candida</i> et <i>Rhodo-torula</i>.</p> <p>Leur principal effet correspond à la métabolisation de l'acide lactique contenu dans la croûte du fromage.</p>
<p>Bactéries aérobies halophiles acidosensibles</p>	<p>Des microcoques et des bactéries corynéformes (<i>Corynebacterium</i>, <i>Brevibacterium</i>, <i>Microbacterium</i>, <i>Arthrobacter</i>), provenant la plupart du temps de la saumure ou du sel employés en fromagerie, se développent en surface des fromages durant l'affinage.</p>
<p>Moisissures</p>	<p>Les moisissures jouent un rôle essentiel durant l'affinage de plusieurs fromages.</p>

3.3. Les produits laitiers fermentés

L'une des caractéristiques communes à toutes les transformations des produits laitiers, est **la coagulation du lait**. Celle-ci provient d'une déstabilisation de la caséine.

Cette coagulation donne lieu à la formation d'un gel qui peut être consommé directement (laits fermentés) ou préalablement égoutté afin d'éliminer une partie de l'eau (fromages).

Les laits fermentés

Le lactose du lait peut être fermenté par **différentes bactéries lactiques**, ce qui provoque d'abord son acidification, puis la coagulation de la caséine. Cette acidité, jointe **à l'effet inhibiteur** de la présence d'un grand nombre de bactéries lactiques vivantes, assure la stabilité et l'innocuité des produits.

La réfrigération est cependant nécessaire pour éviter l'altération par des organismes acidophiles contaminants comme des levures et des moisissures. Les agents de fermentation varient selon le type de lait fermenté :

- Bactéries lactiques thermophiles (yaourt) ;
- Bactéries lactiques mésophiles (babeurre, crème sure, lait acidifié) ;
- Diverses bactéries lactiques et levures fermentaires (laits fermentés alcoolisés comme le kéfir).

Bien que le lait frais contienne des bactéries lactiques, on préfère généralement détruire la plus grande partie de sa microflore d'origine **par pasteurisation**. Cette étape permet de détruire la plupart des germes contaminants et les virus bactériophages qui pourraient interférer avec la fermentation.

3.4. Autres aliments fermentés

Les micro-organismes jouent un rôle clé dans la fermentation, la conservation et le développement de plusieurs produits alimentaires :

- Production des vinaigres (fermentation acétique)
- La conservation des légumes par fermentation lactique (les cornichons, concombres..etc)
- Aliments fermentés
- Viandes fermentées
- Développement des arômes alimentaires (le café, le ferment cacao, le thé et la vanille)