

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur  
et de la Recherche Scientifique

Université de Jijel



Faculté des Sciences  
Département du Biologie Moléculaire et Cellulaire

## Mémoire

De Fin d'Etudes en Vue de l'Obtention du Diplôme d'Etudes Supérieures  
(D.E.S)

Option : Microbiologie

### Thème

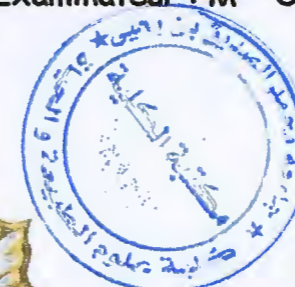
*Utilisation d'Aspergillus  
niger pour la synthèse des  
acides organiques*

Membre du jury :

- ❖ Encadreur : M<sup>lle</sup> AKROUM S.
- ❖ Examineur : M<sup>me</sup> OULED HADDAR H.

Présenté par :

- ❖ AGUIS Ahmed
- ❖ IDOUI Nabil
- ❖ MECHOUCHE Djamel



Promotion juin : 2008



### **REMERCIEMENTS :**

*Nous remercions Allah tout puissant et miséricordieux qui nous à donne la volante et le courage de réaliser ce travail.*

*Nous tenons à remercier vivement tous ceux qui ont contribué de prés ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer notre plus grand remerciement à notre encadreur en la personne de Mademoiselle AKROUM Souad qui a suivi et dirigé notre travail avec patience et beaucoup d'intérêt.*

*Nous tenons aussi à remercier tous les enseignements de l'Institut de la Biologie de l'Université de JIJEL.*

*En fin, nous remercions les membres de jury d'avoir accepté et jugé notre travail.*

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>CHAPITRE I : Représentation de l'espèce et des produits synthétisés par <i>Aspergillus niger</i></b>	
I.1- Introduction.....	3
I.2- Structure cellulaire, croissance et reproduction des moisissures...	3
I.3- Classification de la moisissure <i>Aspergillus niger</i> .....	4
I.4- Structure et caractéristiques morphologiques d' <i>Aspergillus niger</i> .....	4
I.5- Habitat.....	6
I.6- Pouvoir pathogène.....	7
I.7- Les composés synthétisés par <i>Aspergillus niger</i> .....	7
<b>CHAPITRE II: Définition, métabolisme et utilisation de quelques acides organiques synthétisés par <i>Aspergillus niger</i></b>	
II.1- Introduction.....	10
II.2- Acide citrique.....	11
II.3- Acides oxalique.....	13
II.4- Acide gluconique.....	14
II.5- Acide ascorbique.....	16
<b>CHAPITRE III : Milieux de culture et les conditions physico- chimiques de la production des acides organiques</b>	
III.1- Conditions de production des acides organiques.....	23
III.2- Voies de production.....	24
III.2.1-Production en surface.....	24
III.2.2-La fermentation submergée.....	25
III.2.3-Le processus de Koji ou la fermentation de solide.....	25
<b>DISCUSSION.....</b>	<b>28</b>
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>32</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b>	

## Liste des Figures:

<b>Figure 1:</b>	Observation microscopique d' <i>Aspergillus niger</i> .....	5
<b>Figure 2:</b>	<i>Aspergillus niger</i> sur milieu Malt-Agar MA (pH 6.5 et 26°C).....	6
<b>Figure 3:</b>	<i>Aspergillus niger</i> sur milieu Czapek (pH 6.5 et 26°C).....	6
<b>Figure 4:</b>	Formule semi développée de l'acide citrique.....	11
<b>Figure 5:</b>	Réaction de synthèse de l'acide citrique.....	12
<b>Figure 6:</b>	Formule chimique de l'acide oxalique.....	13
<b>Figure 7:</b>	Réaction de synthèse de l'acide oxalique.....	14
<b>Figure 8:</b>	Conversion de glucose en acide gluconique.....	15
<b>Figure 9:</b>	Transformation du glucose en acide gluconique.....	16
<b>Figure 10:</b>	Formule chimique de l'acide ascorbique.....	17
<b>Figure 11:</b>	Réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'ascorbate oxydase.....	18
<b>Figure 12:</b>	Réaction de biosynthèse de l'acide ascorbique à partir des sucres naturel chez les courgettes vertes... ..	19
<b>Figure 13:</b>	Réaction de biosynthèse de l'acide L- ascorbique à partir de L-sorbose chez <i>Acetobacter suboxydans</i> .....	20

## Liste des tableaux :

<b>Tableau 1 :</b>	Composés synthétisés par <i>Aspergillus niger</i> .....	8
<b>Tableau 2 :</b>	Les composés organiques synthétisés par <i>Aspergillus niger</i> .....	30

## **Introduction :**

Les microorganismes sont très diversifiés (bactéries, champignons, Algues...), et sont présents partout. Ils affectent la société humaine dans des domaines innombrables. Ainsi, la microbiologie moderne est une discipline très large avec de nombreuses spécialités, elle a un grand impact sur la médecine, l'agriculture, les sciences alimentaires, l'écologie, la génétique, la biochimie et bien d'autres domaines (PRESCOTT, 1995).

La microbiologie industrielle, devenue une partie importante de la microbiologie, concerne l'utilisation de microorganismes producteurs de substances organiques, d'antibiotiques, d'autres composés pharmaceutiques et d'additifs alimentaires (PRESCOTT, 1995).

Les moisissures ou des champignons filamenteux, sont des facteurs importants du monde microbien, ils sont impliqués dans une multitude de processus biologiques.

Par ailleurs, l'intérêt économique des moisissures repose sur leur capacité à produire une grande diversité de molécules : enzymes, acides organiques, antibiotiques, alcaloïdes, etc. (BOIRON, 1996). Aujourd'hui, la connaissance de la biologie des moisissures est encore fragmentaire, cependant la compréhension des métabolismes primaires et secondaires et de la génétique et ces micro-organismes permet de maîtriser de mieux en mieux leurs capacités de biosynthèse pour les mettre à profit de l'homme (LEVEAU et BOUIX, 1993). Les microorganismes, et particulièrement les moisissures, présentent une grande importance économique. En effet, ces dernières contribuent largement à l'accomplissement des grands cycles biologiques naturels (LEVEAU et BOUIX, 1993), elles sont utilisées depuis fort longtemps par l'homme pour la préparation des aliments, intervenant notamment comme agents de fermentation dans la fabrication de fromages et de nourritures extrême-orientales à base de soja, tels que la sauce de soja (shoyu) et le miso (BOTTON et *al.*, 1990 ; LEVEAU et BOUIX, 1993).

Les moisissures sont aussi très utilisées pour la synthèse des enzymes, des vitamines et des acides organiques (LEVEAU et BOUIX, 1993). Dans notre travail, nous nous intéressons particulièrement à la synthèse de ces derniers par une espèce mycélienne très importante : *Aspergillus niger*.

**CHAPITRE I**  
**REPRESENTATION DE L'ESPECE ET**  
**DES PRODUITS SYNTHETISES PAR**  
*ASPERGILLUS NIGER*

### **I.1- Introduction:**

Les champignons, dont font partie les moisissures, sont des organismes Eucaryotes aérobies. Ni plantes ni animaux, ils constituent un règne à part (Eumycota) dans le monde vivant. Dépourvus de chlorophylle, ils ne peuvent pas, comme les plantes, synthétiser leurs matières organiques à partir du CO<sub>2</sub> atmosphérique. Ils doivent donc puiser dans le milieu ambiant ; l'eau, les substances organiques et minéraux nécessaires à leurs propres synthèses. Ils sont hétérotrophes. Pour cela ils dégradent la matière organique complexe grâce à l'excrétion d'enzymes et d'acides puis ils en absorbent les composants digérés, tout ceci s'effectuant à travers la paroi perméable de leur appareil végétatif. Ils peuvent être saprophytes s'ils se développent sur de la matière organique inerte (c'est le cas des moisissures) ou parasites s'ils se développent sur du vivant. Certains sont symbiotiques car ils vivent en association à bénéfice réciproque avec d'autres organismes. L'exemple classique est celui des lichens qui sont une association algues champignons (CAILLAUD, 2006).

### **I.2-Structure cellulaire, croissance et reproduction des moisissures :**

Les moisissures ou mycètes sont des champignons filamenteux, donc non photosynthétiques et ayant un métabolite hétérotrophe (NICKLIN, 2000). Les moisissures utilisent comme source de carbone et d'énergie des molécules carbonées organiques qu'elles trouvent dans leurs environnements (BOTTON et *al.*, 1990). L'organisation cellulaire de base des moisissures est le thalle qui constitue l'appareil végétatif. Le thalle est composé d'un ensemble de filaments ou hyphes (BOIRON, 1996). L'hyphe est une cellule tubulaire emprisonnée dans une paroi rigide de chitine, contenant un noyau, des mitochondries, des ribosomes, un appareil de golgi et des vésicules entourées de membranes noyée dans un cytoplasme entouré d'une membrane plasmique (NICKLIN, 2000).

Les moisissures croient grâce à un mécanisme d'extension apicale de l'hyphe (élongation) et de ramification à partir de cette zone apicale, aboutissant à la formation d'une colonie circulaire ou sphérique (LEVEAU et BOUX, 1993).

Toutes les mycètes présentent une période de croissance végétative (GUIRAUD, 1998), pendant la quelle leur mycélium exploite un substrat dont la conséquence est une augmentation de la biomasse. Cette période est suivie par la reproduction sexuée, qui diffère d'une classe à une autre. La reproduction est assurée par la formation de spores, structures fructifères et reproductrices qui servent à la multiplication et à la dissémination de l'espèce : ces structures peuvent être végétatives ou sexuelles (GUIRAUD, 1998 ; NICKLIN, 2000).

### I.3- Classification de la moisissure *Aspergillus niger* :

La taxonomie traditionnelle des moisissures est fondée sur les caractères morphologiques (structure du mycélium), sur les modes de formation des spores sexuées, l'existence et les modalités de la reproduction sexuée.

Tandis que la taxonomie numérique nécessite l'emploi des systèmes d'analyse informatique, reposant sur l'étude d'un maximum de caractères phénotypiques (morphologiques, physiologiques, biochimiques) ou génotypiques (protéines, séquences nucléidiques) (SCRIBAN, 1993 ; BOIRON, 1996).

*Aspergillus niger* est une espèce fongique pluricellulaire sous forme filamenteuse :

- ❖ Règne : Eumycota (ou *fungi*)
- ❖ Classe : Deuteromycètes (ou *fungi imperfecti*).
- ❖ Ordre : Moniliales
- ❖ Famille : Moniliaceae
- ❖ Genre : *Aspergillus*
- ❖ Espèce : *Aspergillus niger*

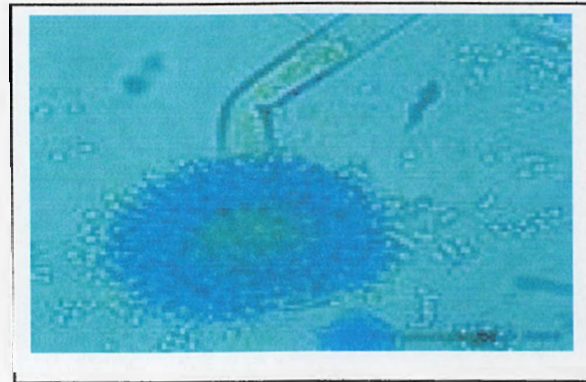
### I.4- Structure et caractéristiques morphologiques d'*Aspergillus niger* :

*Aspergillus niger* a une croissance rapide (CAHAGNIER, 1998). Elle a un mycélium septé (Figure 1) à l'aspect poudreux ou duveteux de couleur variable suivant les milieux de culture. Sur le milieu Malt Agar (MA) (pH 6,5) mycélium à croissance rapide d'aspect de velours ou de feutre, blanc cotonneux au départ, devenant poudreux avec l'apparition de spores noires. Le revers est blanchâtre (figure 2). Sur le milieu Czapek (pH 5,5)

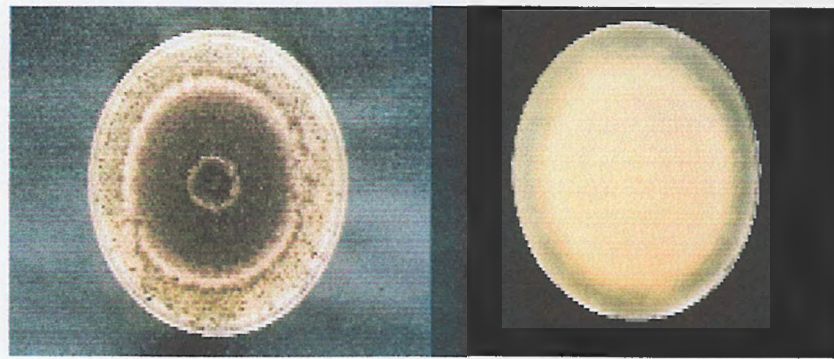


mycélium blanches et translucides devenant noires en sporulant. Il pousse en hauteur. Revers blanchâtre (figure 3) (BOTTON et *al.*, 1990).

Les espèces possèdent des fructifications asexuelles de grande taille. Les têtes conidiennes sont très grandes de 15 à 310  $\mu\text{m}$  de diamètre, globuleuses à radiales, en plusieurs tonalités de noir : noir-verdâtre, noir-marron, noir-pourpre ou noir-charbon, qui portent des phialides de 7-10 x 3,5-5  $\mu\text{m}$  (BOTTON et *al.*, 1990 ; PITT et HOCKING, 1997). Les conidiophores très abondants et très fragiles sont longs à parois lisses (quelques espèces ont des parois légèrement granuleuses), hyalines ou de couleur marron (Figure1) (BOTTON et *al.*, 1990 ; CAHAGNIER, 1998).



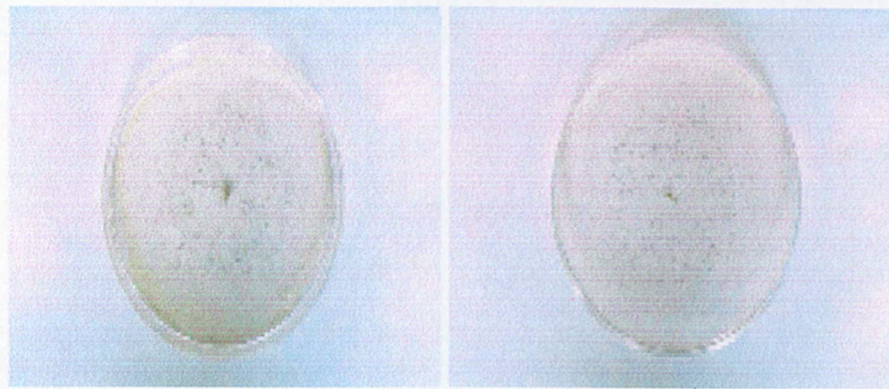
**Figure 1 : Observation microscopique**  
**D'*A. niger* (grossissement 40) (CAHAGNIER B. 1998).**



**Recto**

**verso**

**Figure 2:** *Aspergillus niger* sur Malt-Agar MA (pH 6.5 et 26°C)  
(CAHAGNIER B. 1998).



**Recto**

**verso**

**Figure 3:** *Aspergillus niger* sur milieu Czapek (pH 5.5 et 26°C)  
(CAHAGNIER B. 1998).

#### **I.5- Habitat:**

*Aspergillus niger* est cosmopolite (BOTTON et *al.*, 1990), bien que signalée dans le monde entier, elle est un peu plus fréquente dans les zones tièdes et les sites exposés au sud. Elle est fréquemment retrouvée dans les céréales, les fruits et les légumes moisissus, le fourrage, les produits laitiers, les arachides.

On peut la trouver aussi bien sur les sols glacés, dans les environnements marins que dans les steppes, pâturages, forêts et dunes. *A. niger* se développe aussi bien sous de faibles

lumières (à l'intérieur) que sous la forte lumière de l'extérieur.

Cette espèce a été isolée de substrats et habitats divers : bois, caoutchouc, cire, composants électroniques (automobiles, aéronefs), cosmétiques (émulsions), cuir, eau (douce, polluée, lits de rivière), matériaux synthétiques (plastiques, plastifiants), métaux, papier, parchemin, peinture, poussière atmosphérique, produits alimentaires (légumes, fruits frais et secs, noix et noisettes, noix de coco), sol, textile (coton, jute, laine) (BOTTON et *al.*, 1990).

#### **I.6- Pouvoir pathogène :**

Les spores d'*Aspergillus* étant présentes dans l'air, leur inhalation est quasi obligatoire (pénétration respiratoire). C'est donc l'appareil broncho-pulmonaire qui est le plus souvent concerné par la maladie Aspergillaire. *A. niger* est responsable de plus de 80% de ces infections (AHEARN et *al.*, 1997).

Dans certaines circonstances (manipulation de grains ou de foin moisi) l'inhalation étant massive, le champignon est retrouvé dans l'expectoration plusieurs jours après, que le sujet soit malade ou non.

Une contamination directe (voie cutanée) est aussi possible et peut être responsable d'otomycoses, de surinfection chez les brûlés.

*Aspergillus niger* est une espèce toxique et saprophyte, elle provoque des otomycoses (mycoses pulmonaires) chez l'homme et les oiseaux. Elle peut provoquer l'aspergillose du conduit auditif externe chez les sujets présentant une lésion préalable ou une malformation anatomique du conduit auditif. Elle se caractérise par un bouchon mycélien provoquant prurit, surdité, bourdonnement d'oreilles, douleurs localisées et écoulement. Des blépharites, des sinusites Aspergillaires, des aspergilloses pulmonaires et des onyxis ont également été décrites mais restent très rares.

Ce pendant, elle possède des toxines à propriété insecticide, actives sur les moustiques responsable de la fièvre jaune (BOTTON et *al.*, 1990).

### I.7- Les composés synthétisés :

*Aspergillus niger* est une espèce fortement cellulolytique et non kératinophile, elle est capable de synthétiser plusieurs composés organiques dont nous citons (LEVEAU et BOUIX, 1993):

**Tableau 1:** Composés synthétisés par *Aspergillus niger* (LEVEAU et BOUIX, 1993)

Acides organiques	Enzymes	Antibiotiques
Acide citrique	Amylase	Aspergilline
Acide gluconique	Amyloglucosidase	Antibiotique jawahéréne
Acide oxalique	Catalase	Asperrubiol
Acide l-ascorbique	Glucose oxydase	Asperyellone
Acide l-xyloascorbique	Lipase	Auraspérone A
	B-glucosidase	Flavospérone

# CHAPITRE II

## DEFINITION, METABOLISME ET UTILISATION DE QUELQUES ACIDES ORGANIQUES



## II.1- Introduction :

Les microorganismes sont capables d'effectuer une grande diversité de réactions biochimiques qui se traduisent par la production de biomasse, c'est-à-dire de corps cellulaires, et par la dégradation, la transformation ou la production des substances organiques ou minérales (SCRIBAN, 1999), ils secrètent, dans tous les milieux, de nombreux métabolites : secondaires non indispensables à la croissance, et des métabolites primaires (KACEM-CHAOUCHE, 2005).

Les métabolites primaires sont des composés essentiels pour que la croissance se produise. Parmi eux, il y a les protéines, les hydrates de carbone, les acides nucléiques et les lipides. En effet, les précurseurs de ces produits de base doivent être synthétisés s'ils ne peuvent être obtenus à partir du milieu de croissance. Ces métabolites primaires ont des rôles essentiels et évidents à jouer dans la croissance du mycète.

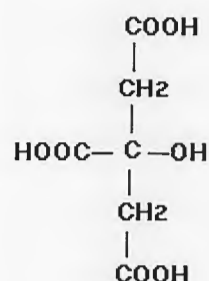
Les métabolites primaires sont associés à la phase initiale de la croissance (phase exponentielle) ; le maximum de production se produit à la fin de cette phase. Une fois que le mycète entre dans la phase stationnaire, la production se ralentit mais elle peut aussi se produire en faible quantité.

Les métabolites primaires produits en abondance sont les enzymes, les graisses, les alcools et les acides organiques. Économiquement parlant, des métabolites primaires sont facilement exploités par les microorganismes. Les voies biochimiques impliquées dans leur production sont répandues dans tout le royaume fongique. Ceci tient compte du criblage des mycètes les plus producteurs et des voies biochimiques les plus rentables (KEVIN, 2005).

Pour la production de ces métabolites, *Aspergillus niger* est une espèce très importante car elle est très utilisée dans les différentes productions industrielles. En effet, elle est capable de synthétiser différents composés organiques dont principalement les acides organiques (l'acide citrique, l'acide gluconique, l'acide ascorbique et l'acide oxalique) (LUQUET, 1985). La production de ces derniers par fermentation des sucres en présence d'*Aspergillus niger* est universellement connue (KARAFFA et al., 2001).

**II.2- L'acide citrique :** L'acide citrique ( $C_6H_8O_7$ ) ou le 3 carboxy -3 hydroxy pentanoïque (nom UIPAC) est un additif alimentaire (E330), de poids moléculaire 192g / mole. Sa température de fusion est de 153°C et sa température de vaporisation est 175°C, une  $pK_{a1} = 3,14$  et  $pK_{a2} = 4,77$  à température de 25°C (KARAFFA *et al.*, 2001).

La formule chimique de ce composé est représentée dans la figure 4 (JEAN-CLAUDE, 1996). On le trouve naturellement dans le citron en grande quantité (il intervient pour plus de 95% dans l'acidité de ce fruit). Il est biodégradable et n'est pas toxique pour l'homme ni pour l'environnement (GREWAL et KALRA, 1995).



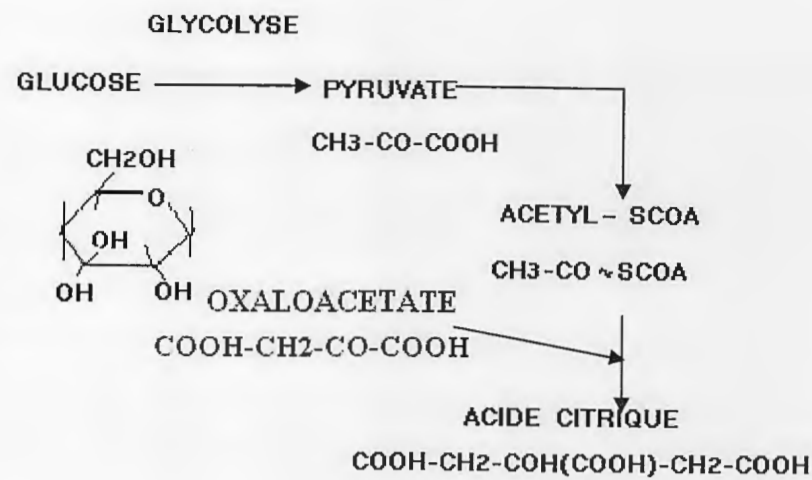
**Figure 4 :** Formule semi développée de l'acide citrique (JEAN-CLAUDE, 1996).

L'acide citrique représente le marché le plus important, sa production par *Aspergillus niger* est estimée à environ 350 000 tonnes /ans (SCRIBAN, 1999).

L'acide citrique est un intermédiaire du métabolisme primaire d'*A. niger*. Il est synthétisé lors de la phase exponentielle (idiophase) (KEVIN, 2005; ALVAREZ-VASQUER *et al.*, 2000) par le cycle de Krebs où il représente le composé principal. Certains l'utilisent même comme deuxième nom de cette voie métabolique (cycle de Krebs ou cycle de l'acide citrique). Ce métabolisme, universellement répandu, a d'abord été découvert dans les tissus des animaux par KREBS et EGGLESTON.

L'acide citrique est formé par condensation de l'acétyl-CoA et de l'oxaloacétate, par la citrate synthétase (Figure 5). Le pyruvate produit par la glycolyse ou par ses voies

alternatives subit une décarboxylation oxydative qui a pour produit l'acétyl coenzymeA (Acetyl - coA). Ce dernier constitue le substrat du cycle de KREBS. Sa condensation avec l'oxaloacétate est catalysée par la citrate synthétase pour donner l'acide citrique (LEVEAU et BOUIX, 1993 ; SCRIBAN, 1999).



**Figure 5:** Réaction de synthèse de l'acide citrique (SCRIBAN, 1999)

### II.2.1- Utilisation de l'acide citrique : Cet acide a plusieurs utilisations:

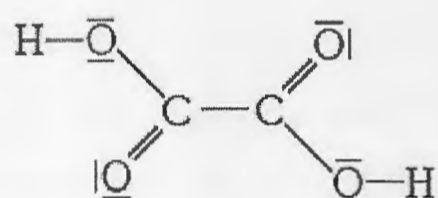
- ❖ Avec ses sels de sodium (E331), de potassium (E331), ou de calcium (E333) qui ont un effet tampon (CHENE, 2002), l'acide citrique (E330) a un effet inhibiteur vis à vis des bactéries (*Salmonelles*, *Clostridium botulinum* par exemple). Cette activité antimicrobienne est attribuée à la chélation d'ions métalliques nécessaires à la croissance microbienne. L'acide citrique permet de diminuer très rapidement le pH à des valeurs empêchant un développement microbien (pH <2,9). Lorsque l'on souhaite stabiliser ce pH à une valeur précise on utilise l'acide citrique en combinaison (CHENE, 2002).
- ❖ L'acide citrique (sous différentes formes chimiques) est l'un des additifs les plus largement utilisés pour équilibrer l'acidité des produits à base de fruits.
- ❖ il est irritant et peut provoquer des brûlures s'il entre en contact avec des muqueuses : il doit donc être utilisé avec quelques précautions (port de gants notamment).
- ❖ Pour la pharmacie (citrate de fer ou de calcium), cette molécule est utilisée comme agent conservateur.



- ❖ 30% de la production est employée par la métallurgie (obtention de métaux purs grâce au pouvoir chélatant de l'acide citrique) (KARAFFA *et al.*, 2001).
- ❖ Dans l'industrie chimique (détergent, traitement des tissus, fabrication de plastique...) (BOTTON, 1990; DELMUNDO DACERA et BABEL, 2008).

**II.3- L'acide oxalique :** L'acide oxalique ( $C_2H_2O_4$ ) a été découvert en 1776 par le chimiste suédois CARL WILHELMY-SCHEELE dans l'oxydation du sucre.

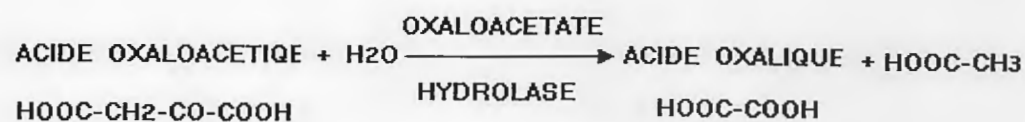
L'acide oxalique ou d'après la nomenclature l'acide éthanedioïque ou sel d'oseille est un acide carboxylique. Sa formule chimique est représentée dans la figure 6 (SCRIBAN, 1993). Grâce à la liaison entre les deux groupes carboxyles, il représente l'un des acides organiques les plus forts ( $pK_{a1} = 1,23$  et  $pK_{a2} = 4,2$  à température de  $25^\circ C$ ), l'acide oxalique est incolore ou blanc de masse moléculaire  $90,3 \text{ g / mole}$ , sa température de fusion est de  $189,5^\circ C$  et sa température de vaporisation est de  $157^\circ C$ . Les anions de l'acide oxalique ainsi que les sels et esters sont connus sous le nom d'oxalates (JINNINGS et ADAME, 1996).



**Figure 6 :** Formule chimique de l'acide oxalique (SCRIBAN, 1993).

L'acide oxalique, sous produit de la fermentation citrique, est fabriqué par divers souches fongiques, particulièrement *Aspergillus niger* (SCRIBAN, 1993). Mais, cette moisissure est persuadée de produire l'acide citrique au dépend de l'acide oxalique par limitation et remplacement des éléments métalliques essentiels (fer, cuivre, manganèse, et phosphate) (BUTLIN, 1967).

L'acide oxalique élaboré par *Aspergillus niger* résulte de la décomposition de l'acide oxaloacétique par l'oxaloacétate hydrolase (Figure 7) (SCRIBAN, 1993).

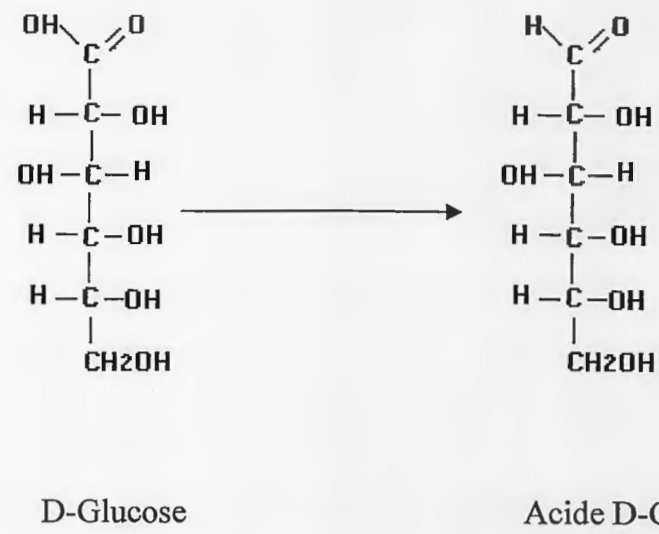


**Figure 7:** Réaction de synthèse de l'acide oxalique (SCRIBAN, 1993)

### II.3.1- Utilisation: Parmi les utilisations de cet acide:

- ❖ Polissage et « dérouillage » des marbres et pierres tendres.
- ❖ Blanchiment et impression textiles.
- ❖ Blanchiment et tannage du cuir.
- ❖ Blanchiment du liège, de la paille et du papier.
- ❖ Traitement des métaux : polissage, élimination de la rouille.
- ❖ Produit détartrant.
- ❖ Fabrication des encres, teintures et colorants.
- ❖ Extraction de certaines terres rares.
- ❖ L'acide oxalique et ses sels hydrosolubles peuvent être nocifs, non seulement en interférant avec l'utilisation du calcium car l'effet nuisible des oxalates dépend du rapport entre l'acide oxalique et le calcium, mais aussi ; directement, par leur action toxique qui provoque des intoxications qui risquent d'être aiguës (GONTZEA, 1968).

**II.4-Acide gluconique :** L'acide gluconique (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>7</sub>) est un dérivé oxydé du glucose (figure 8) (BOTTON *et al.*, 1990; RAMACHANDRAN *et al.*, 2008), de poids moléculaire 126,07g/mole, une température de fusion 101,5°C et un point d'ébullition de 150°C. Il est très répandu aussi bien chez les animaux que dans les plantes. Il est le plus souvent intégré dans une molécule plus grande comme c'est le cas dans diverses gommes, il est obtenu principalement à partir de la gomme d'acacia, à partir de laquelle on l'isole sous la forme de cristaux en aiguilles fondant à 165°C. Et peut être aussi synthétisé par des moisissures. L'acide gluconique est soluble dans l'eau et l'alcool.



**Figure 8 :** Conversion de glucose en acide gluconique (BOTTON et al., 1990).

Une grande variété de micro-organismes aérobies strictes, comprenant notamment les moisissures (*Aspergillus*, *Penicillium*...), les *Pseudomonas* et les *Acetobacter*, oxydent le glucose en gluconate, sans phosphorylation préalable de l'hexose comme c'est le cas chez les lactobacilles hétérolactiques ou les microorganismes utilisant la voie d'Entner-Doudoroff. Le glucose est transformé en gluconolactone grâce à une oxydation directe par l'oxygène. Cette réaction est catalysée par l'enzyme glucose oxydase qui est une enzyme à cofacteur flavinique (Figure 9). Le gluconolactone est ensuite hydratée en acide gluconique. Le produit de la fermentation est en fait constitué par un mélange d'acide gluconique et de  $\delta$ - et  $\gamma$ -Gluconolactones (JACQUES et ANDRE, 2004). L'acide gluconique peut être recueilli par précipitation sous forme de gluconate de calcium. Cette fermentation nécessite une aération importante (SCRIBAN, 1999).

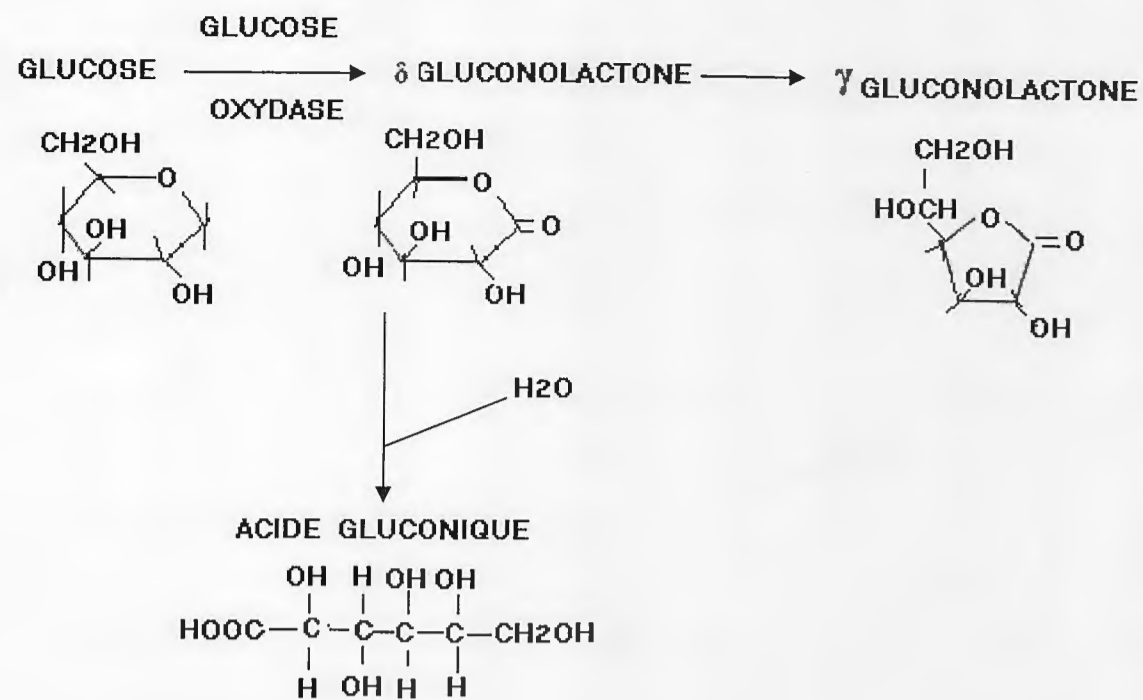


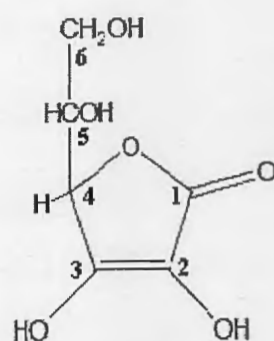
Figure 9 : Transformation du glucose en acide gluconique (BOTTON et *al.*, 1990).

#### II.4.1- Utilisation : L'acide gluconique ayant plusieurs utilisations :

- ❖ Pharmaceutique : gluconate de calcium, de magnésium ou de fer.
- ❖ Chimique : suppression des impuretés comme le calcium dans le verre.
- ❖ Alimentaires : acidulant faible en pâtisserie et dans les saucissons (BRETON, 1990; SINGH et KUMAR, 2007).

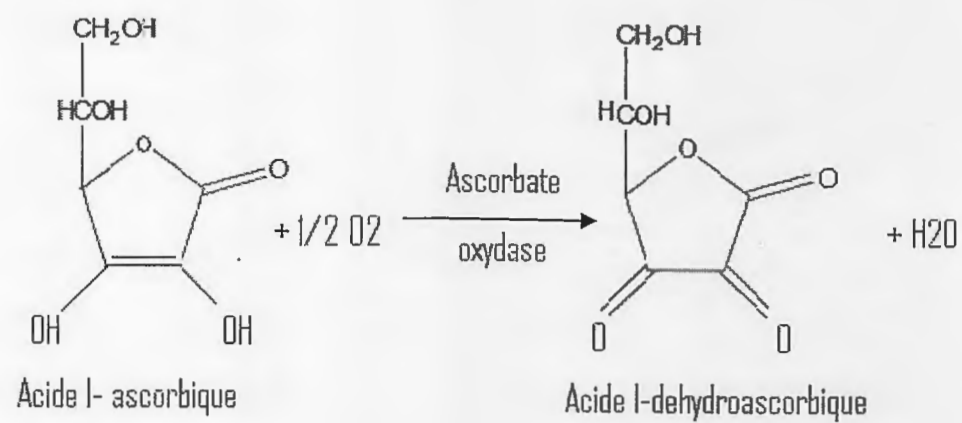
**II.5- Acide L-ascorbique :** L'acide ascorbique ( $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ ) est un acide organique ayant des propriétés antioxydantes. Il se présente sous la forme d'une poudre cristalline blanche ou incolore, se colorant par exposition à l'air et à l'humidité (JEHL et MADET, 2004). Il est facilement soluble dans l'eau et dans l'alcool. La poudre sèche est stable à l'air. Sa formule chimique est représentée dans la figure 10. Il a une masse moléculaire de 176,13 g/mole et une température de fusion variant entre 190-192°C, une  $\text{pK}_{a1} = 4,10$  et une  $\text{pK}_{a2} = 11,79$  à température de 25°C (LEMERINI, 2006).

Cet acide est trouvé dans les citrons, les jus de fruits et les légumes frais. Il existe deux acides ascorbiques ayant la même formule chimique mais une disposition spatiale différente. Le composé lévogyre (c'est-à-dire le composé qui dévie le plan de la lumière polarisée vers le droit) est naturel et appelé vitamine C, ou acide oxo-3 L-gulofuranolactone. L'autre composé est qualifié de dextrogyre (c'est-à-dire le composé qui dévie le plan de la lumière vers la gauche).



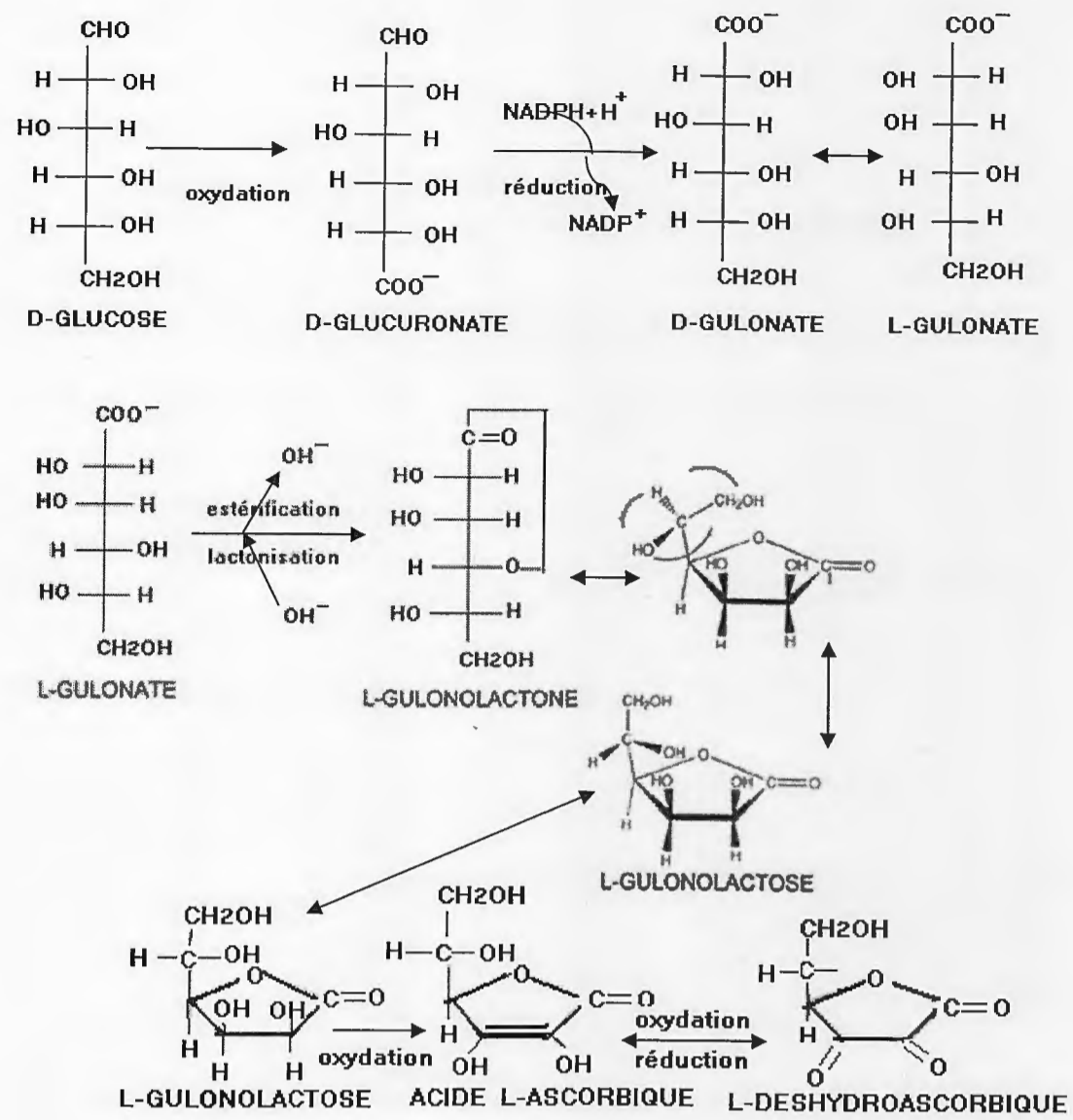
**Figure 10 :** Formule chimique de l'acide ascorbique (LEMERINI, 2006).

L'acide l- ascorbique est un dérivé des oses, il présente sur ses carbones 2 et 3 une fonction ène-diol qui peut être oxydée en dicétone. Ceci permet la formation de l'acide déhydroascorbique (figure 11) (LEMERINI, 2006).

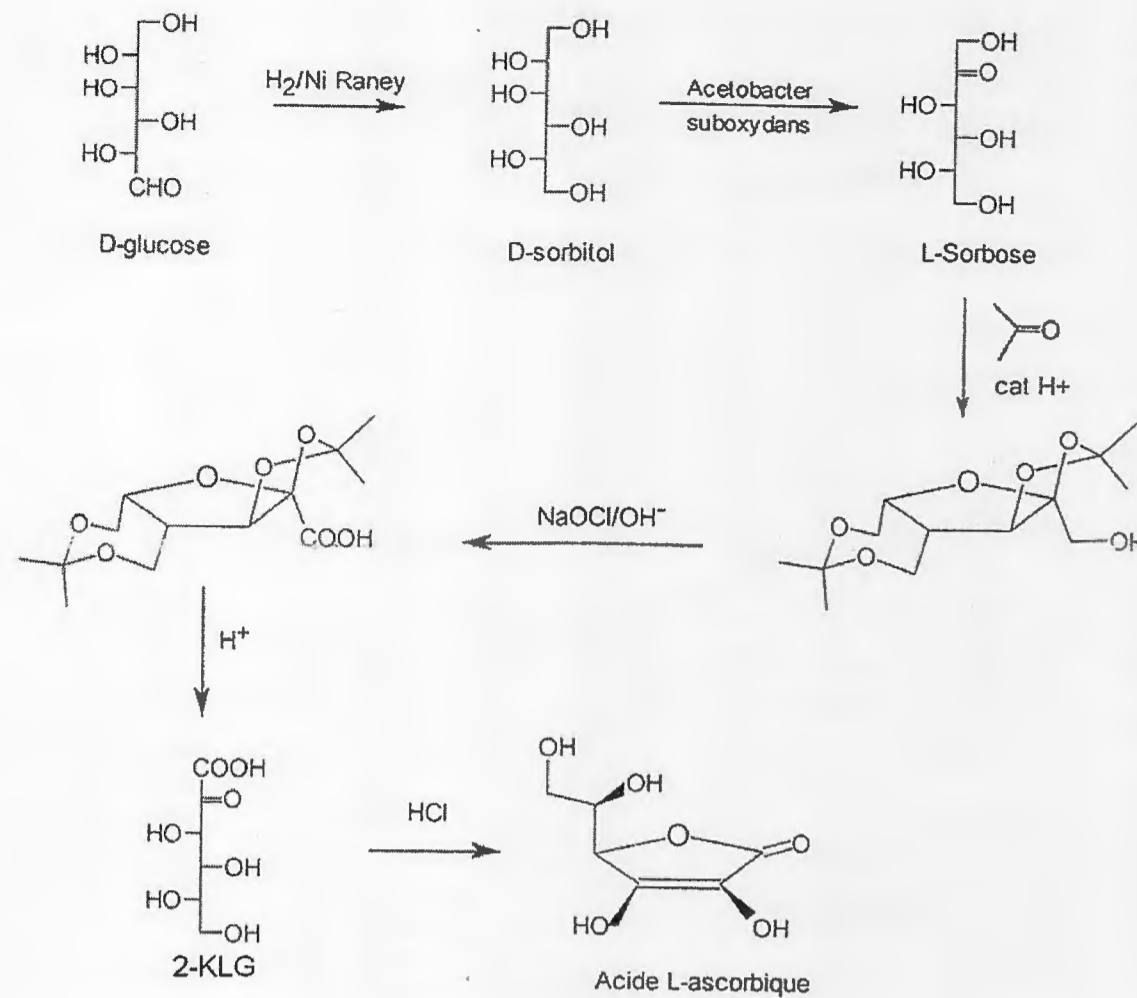


**Figure 11 :** Réaction d'oxydation de l'acide ascorbique par l'ascorbate oxydase (LEMERINI, 2006).

Plusieurs méthodes de biosynthèse ont été mises au point. D'une part pour établir une filiation entre la configuration des carbones asymétriques de l'acide L-ascorbique et la structure des produits de départ. D'autre part pour disposer de quantités importantes d'un produit commercialisable. Toutes les synthèses partent de sucres naturels qui possèdent les atomes de carbone asymétriques précurseurs de ceux de l'acide L-ascorbique (Figure 12). La méthode la plus utilisée industriellement exploite le L-sorbose (Figure13). Après protection de quatre groupes hydroxyles à l'aide de la diméthylacétone, l'oxydation contrôlée de l'hydroxyle primaire conduit à l'acide correspondant. Cette oxydation contrôlée peut être réalisée en faisant appel à divers réactifs ou procédés : le permanganate en milieu alcalin. L'hypochlorite de sodium ou une oxydation électrolytique.



**Figure 12:** Réaction de biosynthèse de l'acide ascorbique à partir des sucres naturels chez les courgettes vertes (LEMERINI, 2006).



**Figure 13:** Réaction de biosynthèse de l'acide L- ascorbique à partir de L-sorbose chez *Acetobacter suboxydans* (LEMERINI, 2006).

#### II.5.1- Utilisation :

La vitamine C (acide ascorbique) joue un rôle important dans le métabolisme des êtres vivants. C'est une substance qui présente aussi un intérêt important pour la chimie alimentaire, nutritionnelle et clinique. La détermination de l'acide ascorbique dans les aliments, médicaments et les fluides physiologique, naturels et préparés, est indispensable.

La vitamine C possède de nombreuses actions bénéfiques :



- ❖ Sur le tonus général de l'organisme, notamment par son action sur l'absorption du fer et dans la lutte contre le stress et la fatigue.
- ❖ Sur la stimulation des défenses naturelles.
- ❖ Sur le vieillissement prématuré des cellules par ses propriétés antioxydantes.
- ❖ Sur la fabrication de collagène, le constituant principal de la peau et des os (LEMERINI, 2006).
- ❖ Sur la fabrication de nombreux produits alimentaires : jus de fruits, pâtes, foie gras, confitures, pain, poissons transformés, conserves, charcuteries, bières ... (JEHL, 2004).

# **CHAPITRE III**

## **MILIEUX DE CULTURE ET CONDITIONS PHYSICOCHEMIQUES DE PRODUCTION**

### III.1- Conditions de production des acides organiques :

Les microorganismes exigent, pour leur croissance comme pour leurs diverses productions, des composés organiques comme source d'énergie et de carbone. Les molécules simples (monosaccharides, acides aminés ou acides organiques), traversent facilement la barrière membranaire. Les molécules complexes ou polymères doivent auparavant être dégradées en monomères par des enzymes excrétées ou liées à la paroi. Presque tous les champignons peuvent utiliser le glucose, le maltose, le saccharose et l'amidon pour métaboliser les acides gras et les acides organiques (BOTTON et *al.*, 1990). Une variété de matières premières comme les mélasses et les hydrocarbures est employée comme substrat de production des acides organiques. L'acide citrique est le principal acide organique synthétisé par *Aspergillus niger* (PAPAGIANNI et MATTEY, 2006), la production commerciale de ce composé, comme des autres acides produits par cette espèce fongique, a été réalisée par des processus de fermentation en surface, fermentation submergée et fermentation de solide (GREWAL et KALRA, 1995). L'utilisation du saccharose, de la canne à sucre ou du sirop de glucose purifié à partir du maïs, diffère selon la disponibilité et le coût. La mélasse représente la matière première la moins chère et qui contient de 44 à 50% du sucre sous forme de saccharose, glucose et fructose. Il y a une variation considérable dans les conditions de culture pour la production d'acide citrique par *Aspergillus niger*. Pour assurer la haute productivité, il est essentiel que le milieu de culture contienne des substances nutritives majeures comme le carbone, l'azote et le phosphore et aussi des éléments en traces (KEVIN, 2005). Le processus de fermentation est sous l'influence de la température, l'aération et le pH (VANDENBERGHE et *al.*, 2004 ; LOTFY et *al.*, 2007). On a montré l'utilisation de différentes sources carboniques pour avoir un effet marqué sur les rendements de production d'acide citrique par *Aspergillus niger*. *A. niger* peut rapidement utiliser des sucres simples comme le glucose et le fructose, le saccharose reste néanmoins le sucre de choix. A l'échelle industrielle, *Aspergillus niger* possédant l'invertase, peut dans les conditions acides de fermentation d'acide citrique, hydrolyser le saccharose à ses monomères. On considère une concentration de sucre de 14-22% comme étant le niveau optimal pour des rendements de production maximaux. A basse concentration de sucre, il

y a diminution de rendement de production d'acide citrique et accumulation d'acide oxalique (KEVIN, 2005).

Les sources de nitrogène pour la production des acides par *Aspergillus niger* sont les sulfates d'ammonium, les nitrates d'ammonium, les nitrates de sodium, les nitrates de potassium et l'urée. La présence du phosphore dans le milieu de fermentation a un effet profond sur la production d'acide citrique. Aussi, une haute concentration du phosphore augmente la croissance et diminue la production des acides. Le phosphore dihydrogène de potassium (0.1%) représente la source de phosphore la plus appropriée. La maintenance d'un pH bas est essentielle pour la production à grande échelle des acides. Un pH au dessous de 2 est exigé pour une fermentation optimale.

La fermentation des acides organiques est un processus aérobie et des taux d'aération accrus aboutissent à une augmentation du rendement et une diminution du temps de fermentation. Les éléments traces jouent aussi un rôle important dans les rendements obtenus (KEVIN, 2005).

### **III.2- Voies de production:**

La production se fait par différents processus de fermentation :

**III.2.1- Production en surface :** C'est le premier processus employé pour la production à grande échelle des acides microbiens. Malgré que d'autres méthodes de fermentation plus sophistiquées ont été développées (comme la culture submergée), la culture en surface reste la plus utilisée du fait que ses techniques sont simples à établir et à faire fonctionner. Un autre avantage de cette méthode de culture est que l'énergie de la fermentation en surface est inférieure à celle de la fermentation submergée. Le mycélium est cultivé comme une natte superficielle dans 50 à 100 plateaux peu profonds en acier inoxydable ou en aluminium. Les plateaux sont empilés dans des supports stables dans une chambre de fermentation presque aseptique. Les sources des hydrates de carbone (habituellement la mélasse) ajoutées au milieu de fermentation sont diluées au 15%, le pH est ajusté entre 5 et 7. Après l'addition des substances nutritives, le milieu est stérilisé, refroidis et pompé dans les plateaux. L'inoculation est exécutée en présence des spores,

soit par l'addition d'une suspension des spores ou en transportant les spores de la surface des plateaux avec l'air. Les spores germent par la suite et forment une natte mycélienne. La température est située entre 28-30°C, et l'humidité relative entre 40-60%. Pendant la fermentation, la température est considérable, ce qui nécessite des taux élevés d'aération. L'air fournit l'oxygène pour l'organisme et aussi contrôle la température de fermentation et l'humidité relative. Quand la fermentation progresse, le pH diminue en dessous de 2.0 (KEVIN, 2005). Si la valeur du pH de fermentation est supérieure à 3.0, l'acide oxalique et l'acide gluconique peuvent être produits en quantité considérable (RUIJTER et *al.*, 1999). La fermentation est réalisée pendant 8-12 jours. Après ce temps, le liquide est récupéré du fermenteur et séparé du mycélium par d'autres processus (KEVIN, 2005).

**III.2.2- La fermentation submergée :** Aujourd'hui, ce processus est très utilisé pour la production commerciale des acides (SCHRICKX et *al.*, 1995). Il exige moins d'espace et une intensité de production très élevée. On utilise pour la fermentation submergée un réservoir de fermentation remué ou une tour fermenteur. Vu le faible pH qui se produit pendant la fermentation et le fait que certains acides sont des corrosifs (notamment l'acide citrique), l'utilisation d'un bioréacteur résistant aux acides est désirable. La disposition d'un système d'aération a une grande considération dans le bioréacteur conçu pour la production des acides. Ce système peut maintenir un haut niveau d'oxygène dissous. La préparation du milieu lors des fermentations submergées implique la dilution appropriée de la source carbonique. L'inoculation est exécutée par le complément d'une suspension de spores ou d'un mycélium pré-cultivé. Quand les spores sont utilisées, elles doivent être dispersées dans le milieu, donc le complément d'un surfactant est souvent nécessaire. Avec un mycélium pré-cultivé, la taille de l'inoculum est d'habitude aux environs de 10 % du milieu frais. L'air est aspergé dans le milieu à un taux de 0.5-1.5 vvm.

Dans des conditions optimales, la fermentation se termine après 5 à 10 jours. La fermentation submergée peut être réalisée par des cultures en batch ou continues (alimentées). Mais généralement elle est effectuée en batch (KEVIN, 2005).

**III.2.3- Le processus de Koji ou la fermentation de solide :** Le processus de Koji, développé au Japon, est le processus le plus simple pour la production d'acide citrique

(ROUKAS, 2000). Ce processus est l'équivalent de la fermentation en surface sur milieu solide. Les matières premières utilisées sont la patate douce des résidus fibreux, le riz ou le son de blé et des déchets de fruit. La source de glucide est humidifiée avec l'eau jusqu'aux environs de 70%. Le glucide mouillé est alors cuit à la vapeur pour la stérilisation, puis placé dans des plateaux et inoculé avec l'utilisation des spores (conidies) d'*Aspergillus niger*. Le pH au début de fermentation doit être de 5.5. L'amidon est hydrolysé par l'amylase produite par le champignon et puis convertie en acide citrique. La fermentation est complète après 4 à 5 jours. Le problème principal avec ce processus est la présence d'éléments traces qui ne peuvent être enlevés par des méthodes standard (KEVIN, 2005). La synthèse des autres acides organiques (oxalique, gluconique et ascorbique) par l'*Aspergillus niger* se fait par les mêmes processus (RAMACHANDRAN et al., 2008 ; SHARMA et al., 2008 ) ; la différence étant les conditions du milieu changées d'un acide à un autre. Exemple, pour une fermentation optimale de l'acide gluconique, il faut : Une concentration élevée en glucose (150 à 200g/l). Une concentration faible en azote (20mM de N). Une concentration faible en phosphate. Des quantités suffisantes d'oligoéléments surtout le manganèse. Un pH maintenu entre 5 et 6.5 (le glucose oxydase est en effet totalement inactif à pH 3). Un taux élevé d'aération avec une pression élevée (BOTTON et al., 1990).

**DISCUSSION  
ET  
CONCLUSION**

Les microorganismes sont très utilisés en bio-industrie pour de nombreux avantages. En effet, de part leur structure, organisation cellulaire, et vitesse de croissance, ils sont capables de synthétiser des quantités importantes de produits et ceci en peu de temps.

Aussi la spécificité des réactions biochimiques catalysées par les microorganismes rend leur utilisation capitale et de premier choix. De plus s'ajoute le coût des mises en œuvres relativement très bas.

Pour toutes ces raisons, la microbiologie est qualifiée aujourd'hui de participant majeur de l'industrie globale, spécialement des industries pharmaceutiques, agroalimentaires, et chimiques. Dans ce contexte, les moisissures disposent de possibilités d'applications biotechnologiques très étendues par leur capacité à conquérir les substrats naturels grâce à une dissémination efficace, une croissance rapide et un arsenal enzymatique très développé (PRESCOTT, 1995).

Les moisissures ont de ce fait une importance industrielle et commerciale non négligeable dans divers domaines :

En agroalimentaire, on distingue trois volets : La culture industrielle des champignons comestibles (*Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*, *Flammulina velutipes*) ; La production industrielle de biomasse fongique (pour l'alimentation animale, on cite le procédé Finlandais Pekilo : *Paecilomyces variotii* développé sur liqueurs sulfurique de papeterie, et PEFF : protein enriched fermented feed, par utilisation d'*Aspergillus niger* sur substrat amylacé) ; L'industrie agroalimentaire ( fabrication de sauce de soja et pâte de soja fermentées par les *Aspergillus* : *A. oryzae*, *A. flavus*, la fabrication des fromages affinés : *Penicillium camembertii*, *P. candidum*, *P. roquefortii*, *Geotrichum condidum*, et en salisant de viande : *Penicillium nalgiovens*).

Les moisissures sont très souvent utilisées dans les domaines médicaux, pharmaceutiques, et biochimiques, principalement dans :

-La fabrication des antibiotiques (par *Penicillium* : pénicilline G et céphalosporine C, ces antibiotiques représentent aujourd'hui environ 60% du marché mondial des antibiotiques, et par *Aspergillus*).



-La fabrication des vitamines (*Eremothecium ashbya* et *Ashbya gossypii*) sont utilisées successivement pour la production industrielle de riboflavine.

-La fabrication des hormones : l'impact commercial des moisissures est très important dans le domaine des hormones stéroïdiennes (*Rhizopus arrhizus*, *R. nigricans*, *Aspergillus ochareus*).

-Des substances diverses pharmacologiquement actives : mycotoxines de l'ergot (produite par de nombreuses espèces de *Claviceps*), La mycotoxines de zéaralénone ( produite par *Gibberella zeae*, *Fusarium graminearum*), d'autres substances agissant comme inhibiteurs d'enzymes ( hypocholestérolémiant comme citrimine de *Penicillium citrinum*, monacoline K, ou mévinoline de *Monaxus ruber* et *Aspergillus terreus*), et aussi dans la production des gibbérellines (*Gibberella fujikuroi*, *Fusarium monoliforme*), hormone de croissance végétale, et les myco-insecticides (LEVEAU et BOUIX, 1993).

Les moisissures sont aussi aptes à synthétiser divers composés organiques, à savoir des acides organiques (SCHRICKX et al., 1995; RUIJTER et al., 1999; ROUKAS, 2000), des enzymes, des polysaccharides, des acides gras... (tableau-2-) (LEVEAU et BOUIX, 1993; KEVIN, 2005):

**Tableau 2:** Les composés organiques synthétisés par *Aspergillus niger* (LEVEAU et BOUIX, 1993).

Produits	Exemples	Espèces productrices
Enzymes	Amylase	<i>Aspergillus niger</i> <i>Rhizopus oryzae</i>
	Cellulase	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>
	Protéase	<i>Aspergillus oryzae</i> <i>Rhizopus oligosporus</i>
Acides organiques	Acide citrique	<i>Aspergillus niger</i>
	Acide itaconique	<i>Candida /Rhodoturula</i>
	Acide malique	<i>Candida</i>
	Acide fumarique	<i>Candida</i>
Acide gras	Stéarique	<i>Cryptococcus</i>
	Dicarboxylique	<i>Candida</i>

Une autre utilisation des moisissures se fait pour la production d'arômes (*Penicillium roquefortii*), la biolixiviation (principalement extraction de l'uranium par *Aspergillus ochareus* et *Penicillium funiculosum*, du titane par *Penicillium simplicissimum*, du cuivre

par *Aspergillus niger*) et le compostage des résidus agricoles et urbains (LEVEAU et BOUIX, 1993).

Parmi les principales utilisations industrielles d'*Aspergillus niger*, nous avons la production des acides organiques (KARAFFA et al., 2001; KEVIN, 2005). En effet cette moisissure reste l'une des principales espèces utilisées dans ce domaine. Nous avons vu dans ce travail qu'elle est capable de produire différents types de ces composés et ceci avec des conditions culturales et physico-chimiques assez proches (KEVIN, 2005).

**Conclusion :**

Les moisissures peuvent être utilisées en vue de produire des quantités importantes et divers produits industriellement intéressants (pharmaceutiques, agroalimentaires, thérapeutiques ...). *Aspergillus niger* représente un intérêt particulier de fait qu'elle est capable de synthétiser plusieurs acides organiques d'importance capitale telle que : acide citrique, acide gluconique, acide oxalique, acide ascorbique et d'autres substances.

Cette espèce reste le meilleur producteur d'acides organiques.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AHEARN D., CROW S., SIMMONS R., PRICE D., MISHRA S. et PIERSON D. (1997).** Fungal colonization of air filters and insulation in a multi-story office building: production of volatile organics. *Curr Microbiol.* **35**:305–308.
- ALVAREZ-VASQUER F., GONZALEZ-ALCON C. et TORRES N. (2000).** Metabolism of citric acid production by *Aspergillus niger*: model definition, steady-state analysis and constrained optimization of citric acid production rate. *Biotechnol. Bioeng.* **5** ; 70 (1) : 82-108.
- BOIRON P. (1996).** Organisation et biologie des champignons. *Edition Nathan, Paris.* Pages : 14, 35 et 69.
- BOTTON B., BRETON A., FEVRA M., GAUTHIER S., GUY PH., LARPENT J.P., REYMOND P., SANGLIER J.J., VAYSSIERY Y. et VEAU P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. *Edition Masson, Paris.* Pages : 11, 108,215-220.
- BUTLIN K.R. (1967).** Aspects of microbiology; in: *Biochemical and Biological Engineering Sciences. Edition Academic. Press, London.* Pages : 8 -10.
- CAHAGNIER B. (1998).** Moisissures des aliments peu hydrates. *Technique & Documentation. Edition Lavoisier, Paris.* Page : 55, 58.
- CAILLAUD D. (2006) :** contaminations fongiques en milieux intérieurs, Diagnostic, effets sur la santé respiratoire conduites a tenir. *Conseil supérieur d'hygiène publique de France.* Page : 7.
- CHENE C. (2002).** Les acides organiques. *Edition ADRIANOR.* Page: 7.
- DEL MONDO DACERA D. et BABEL S. (2008).** Removal of heavy metals from contaminated sewage sludge using *Aspergillus niger* fermented raw liquid from pineapple wastes. *Bioresour Technol.* **99**(6): 1682-9.

- GONTZEA I. FERRANDO R. et SUTZESCO P. (1968).** Substances antinutritives naturelles des aliments. *Edition Vigot fress, Ed, Paris*. Pages: 93 – 96.
- GREWAL H. et KALRA K. (1995).** Fungal production of citric acid. *Biotechnol. Adv.* **13** (2): 209-34.
- GUIREAU J.P. (1998).** Microbiologie Alimentaire .*Edition Dunod*. Pages:18, 101.
- JACQUES B. et ANDRE R. (2004).** Biochimie métabolique. *Ellipses Edition Marketing*. Pages: 164-165.
- JEAN-CLAUD D. (1996).** Biochimie métabolique. *Technique et documentation. Edition Médicales Internationales*. Page: 188.
- JEHL B. et MADET N. (2004).** L'acide ascorbique et son utilisation en tant qu'additif dans les industries alimentaires. Mémoire pour l'obtention de la licence IUP SIAL, Université Paris XII VAL de MARNE.
- JENNINGS M. et ADAME M. (1996).** Characterization of oxalate transport by the human erythrocyte band 3 protein. *J Gen Physiol.***107** (1): 145-59.
- KACEM- CHAOUCHE N. (2005).** Production de catalase extracellulaire par un mutant *Aspergillus phoenicis* sur un milieu à base de farine de datte déclassée. Thèse de doctorat. Université Mentouri Mahmoud- Constantine.
- KARAFFA L., SANDOR E., FEKETE E. et SZENTIRMAIti. (2001).** The biochemistry of citric acid accumulation by *Aspergillus niger*. *Acta. Microbiol. Immunol. Hung.* **84** (3-4):429-40.
- KEVIN K. (2005).** Fungi biology and application. *Edition John Wiley & Sons, Ltd*. Pages: 128,143.
- LEMERINI W. (2006).** Contribution à l'étude des paramètres cinétiques de l'ascorbate oxydase de courgette verte (*Cucurbita pepo medullosa*). Ebauche d'un capteur optique pour le dosage de l'acide ascorbique. Thèse de magistère. Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen.

**LEVEAU J.Y et BOUIX M. (1993).** Les microorganismes d'intérêt industriel collection science et techniques agroalimentaires. *Technique & Documentation. Edition Lavoisier, Paris.* Pages: 112,128, 163.

**LOTFEY W., GHANEM K. et EL-HELOW E. (2007).** Citric acid production by a novel *Aspergillus niger* isolate: II. Optimization of process parameters through statistical experimental designs. *Bioresour. Technol.* **98(18):**3470-7.

**LUQUET F. et YEUTT B.L. (1985) :** Lait et produits laitiers. *Edition Lavoisier, Paris.* Pages : 358 – 359.

**NICKLIN J., GRAEM E – COOK K., PAGUETT T. et KILLINGTO N.R. (2000).** L'essentiel en microbiologie. *Port royal livre, Paris.* Pages : 209, 217, 230- 235.

**PAPAGIANNI M. et MATTEY M. (2006).** Morphological development of *Aspergillus niger* in submerged citric acid fermentation as a function of the spore inoculum level. Application of neural network and cluster analysis for characterization of mycelial morphology. *Microb. Cell. Fact.* **25;** 5:3.

**PITT J.I. et HOCHING D. (1997).** Fungi food spoilage, second edition, *Black Academic and Professional, London.* Pages: 56, 78.

**PRESCOTT M., HARLEY P. et KLEIN A. (1995) :** Microbiologie, 2eme édition française. Traduction de la 5eme édition américaine par Claire-Michelle, Bacq-Calberg et Jean Dusart. *Edition De Boeck & Lacier s.a. Bruxelles.* Pages: 17, 888.

**RAMACHANDRAN S., FONTANILLE P., PANDEY A. et LARROCHE C. (2008).** Fed-batch Production of Gluconic Acid by Terpene-treated *Aspergillus niger* Spores. *Appl Biochem Biotechnol.* **99(1):** 9559-4565.

**ROUKAS T. (2000).** Citric and gluconic acid production from fig by *Aspergillus niger* using solid-state fermentation. *J. Ind. Microbial. Biotechnol.* **25 (6):**298-304.

**RUIJTER G., VAN DE VONDERVOORT P. et VISSER J. (1999).** Oxalic acid production by *Aspergillus niger*: an oxalate-non-producing mutant produces citric acid at pH 5 and in the presence of manganese. *Microbiology.* **145(Pt9):**2569-76.

- SCHRICKX J., RAEDTS M., STOUTHAMER A. et VAN VERSEVEL H. (1995).** Organic acid production by *Aspergillus niger* in recycling culture analyzed by capillary electrophoresis. *Anal. Biochem.* **231** (1):175-81.
- SCRIBAN R. (1999).** Biotechnologie 5eme édition. *Techniques & documentation. Edition Lavoisier, Paris.* Pages : 45, 75, 86 et 157.
- SCRIBAN R. (1993).** Biotechnologie 2eme édition. *Techniques & documentation. Edition Lavoisier, Paris.* Pages : 90, 387-388.
- SHARMA A., VIVEKANAND V. et SINGH R. (2008).** Solide-state fermentation for gluconic acid production from sugarcane molasses by *Aspergillus niger* ARNU-4 employing tea waste as the novel solid support. *Bioresour. Technol.* **99** (9):3444-50.
- SINGH O. et KUMAR R. (2007).** Biotechnological production of gluconic acid: future implications. *Appl. Microbial. biotechnol.* **75** (4):713-22.
- VANDENBERGHE L., SOCCOL C., PRADO F. et PANDEY A. (2004).** Comparison of citric acid production by solid state fermentation in flask, column, tray, and drum bioreactors. *Appl. Biochem. Biotechnol.* **118** (1-3):293-303.



### Résumé :

*Aspergillus niger* est une moisissure appartenant aux Deutéromycètes. Elle est capable de synthétiser différents acides organiques, dont principalement : l'acide citrique, l'acide gluconique, l'acide oxalique et l'acide ascorbique.

L'*Aspergillus niger* est considéré comme étant le meilleur producteur de ces composés organiques. Ces derniers ont une grande importance industrielle et sont utilisés dans différents domaines : pharmaceutiques, cosmétologiques, thérapeutiques, agroalimentaires .... Leur production est liée aux conditions de production physicochimiques : pH bas (au dessous de 2 pour l'acide citrique et 3 pour l'acide oxalique et gluconique), température (entre 28 – 30°C), agitation, éléments additifs (exemple: glucose : 150 à 200g/l, azote : 20mM de N ...). Les méthodes de production appliquées sont la culture en surface et fermentation submergée. Mais la fermentation de Koji demeure la plus utilisée du fait de son très grand rendement.

**Mots clés:** *Aspergillus niger*, acides organiques, voies de biosynthèse, conditions de production, intérêt.

---

### Summary:

*Aspergillus niger* is a mould belonging to Deutéromycètes. It is able to synthesize various organic acids, of which mainly: citric acid, gluconic acid, oxalic acid and ascorbic acid. *Aspergillus niger* is regarded as being the best producer of these organic compounds. The latter have a great industrial importance and are used in various fields: pharmaceutical, cosmetologic, therapeutic, agroalimentary... Their production is related to the physico-chemical conditions of production: low pH (approximately 2 for the citric acid and 3 for the oxalic and gluconic acids), temperature (between 28 - 30°C), agitation, nutritive elements (example: glucose: 150 with 200g/l, nitrogenic: 20mm of N...). The applied methods of production are the culture on surface and submerged fermentation. But the fermentation of Koji remains the most used because of its very great yield.

**Key words:** *Aspergillus niger*, organic acids, biosynthesis pathway, conditions of production, interest.

---

## ملخص:

*Aspergillus niger* عفن ينتمي إلى عائلة Deuteromycetes قادر على تخليق عدة أحماض عضوية: حمض السيتريك، حمض الجليكونيك، حمض الاوكزاليك و حمض الاسكوريك. يعتبر *Aspergillus niger* من أهم منتجي هذه المركبات العضوية حيث لهذه الأخيرة أهمية صناعية كبيرة نظرا لاستعمالها في عدة مجالات مختلفة: صيدلانية، تجميلية، علاجية، غذائية...

إنتاجها يرتبط بشروط فيزيوكيميائية: pH حامضي (أقل من 2 لحمض السيتريك، و3 بالنسبة لحمض الاوكزاليك وحمض الجليكونيك)، الحرارة (28-30 °م)، تحريك. عناصر إضافية (مثل الجليكوز 150-200 غ/ل، أزوت 20 ميلي مول...). الطرق التخليقية المطبقة هي: الزراعة على السطح، الزراعة بالغمر، في حين تعتبر الزراعة بطريقة Koji الأكثر استعمالا نظرا لمردها الجيد.

## الكلمات المفتاح:

*Aspergillus niger*، أحماض عضوية، طرق التخليق، شروط الإنتاج، الأهمية.