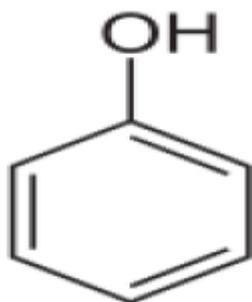


VI production des alcools

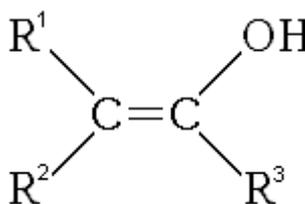
6.1. Nomenclature

On appelle alcool un composé dans lequel un groupe caractéristique hydroxyle -OH est lié à un atome de carbone saturé ($R-OH$)

Les énols, composés dans lesquels le groupe -OH est lié à un atome de carbone insaturé ou les phénols dans lesquels ce groupe est lié à un cycle aromatique, ne sont pas des alcools.



Phénol

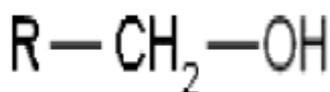


énol

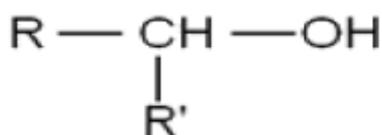
6.2. Classification

Selon la nature du radical lié le carbone portant le groupement **OH**, les alcools se divisent en trois catégories : primaire, secondaire et tertiaire.

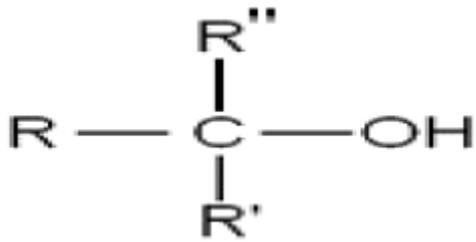
Un alcool est dit **primaire** si le carbone fonctionnel portant la fonction **-OH** est lié à un seul carbone ou porté par un carbone ayant deux atomes d'hydrogène.



• Un alcool est dit **secondaire** si le carbone fonctionnel portant la fonction **-OH** est lié à deux carbones ou est porté par un carbone ayant un atome d'hydrogène,



• Un alcool est dit **tertiaire** si le carbone fonctionnel portant la fonction **-OH** est lié à trois carbones ou est porté par un carbone n'ayant aucun atome d'hydrogène.



6.3. Utilisations des alcools (l'éthanol)

L'alcool éthylique est combustible, c'est un liquide neutre : ni acide, ni basique, peu toxique et, il est doté de plusieurs usages: humains, industriel ou comme carburant.

6.3.1. Usages humains

a)- Il est très utilisé en pharmacie et en cosmétologie en tant que solvant.

b) La vinaigrerie : les bactéries acétiques de type Acétobacter, en aérobie transforment l'éthanol en acide acétique. Les usages sont très nombreux : assaisonnement des mets, lavage des légumes, traitement des tissus, nettoyage d'ustensiles de vitres, d'argenterie et de dorure.

6.3.2.. Usage en industrie chimique

L'alcool sert soit pour des usages réactionnels soit, de solvant avec de nombreux dérivés possibles.

C'est le cas de sa transformation en éthylène par déshydratation qui présente beaucoup d'intérêt avec la production de toute la chimie des dérivés de l'éthylène (polyéthylène, chlorure de vinyle...) actuellement tirés de la source pétrolière.

L'éthanol permet également de produire de l'éther, de l'acide acétique utilisé pour la fabrication de l'acétone, des matières colorantes (indigo) de produits pharmaceutiques (acétylsalicyliques)...

6.3.3. Usage comme carburant ou additif

L'éthanol est employé pour la carburation dans différents pays comme le Brésil afin, de réduire d'une part les importations de pétrole et d'autre part de lutter contre la pollution automobile.

Ceci en ajoutant au carburant de l'éthanol, en remplacement du plomb tetra éthyle : incorporé à l'essence et considéré comme polluant de l'atmosphère.

Antigels: la basse température de solidification de certains alcools comme le méthanol et l'éthylène glycol en font de bons antigels.

6.4. Production d'éthanol par fermentation

6.4.1. Microorganismes Fermentaires

En plus de la fabrication de l'éthanol par synthèse chimique, de nombreux microorganismes : levures, bactéries et moisissures sont capables de produire de l'éthanol par voie fermentaire à partir de glucides (principalement le glucose).

C'est ainsi que sur une production mondiale d'environ 100 millions d'hectolitres par an : 35,5 millions sont issus de la synthèse chimique contre 65 millions produit par voie fermentaire d'où l'importance de cette voie.

6.4.1.1 Fermentation par les levures

Ce sont surtout les levures qui sont les plus utilisées car elles produisent de l'éthanol avec peu de sous-produits ; de plus elles ont un taux de croissance et de conversion rapides.

Les Levures sont des champignons microscopiques dont ceux qui présentent un intérêt sur le plan biotechnologiques appartiennent aux deux classes des **Ascomycètes** et des **Deutéromycètes**.

Les genres les plus intéressants dans la 1^{ère} classe sont : *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Pichia*, *Kluyveromyces*

Dans la seconde, c'est le genre *Candida*.

Les principaux facteurs influençant le développement des levures sont : l'acidité, la concentration en glucide et en alcool, l'aération, la température ...

6.4.1.2 Fermentation par les bactéries

La xylose est convertible en éthanol par plusieurs espèces de bactéries thermophiles comme *Thermoanaerobacter ethanolicus*, *Clostridium thermohydrosulfuricum* ou par des souches modifiées de *Bacillus stearothermophilus*. Des bactéries mésophiles comme *Escherichia coli* et *Klebsiella oxytoca* ou *K.planticolas* ont également capables de fermenter les pentoses.

6.4.2. Voie de biosynthèse de l'éthanol

La glycolyse a été la première voie connue. C'est celle qui est suivie aussi bien chez les Animaux (muscles) que chez les levures et chez un grand nombre de bactéries aérobies, Anaérobies strictes ou facultatives. Tous ces organismes cependant ne forment pas les mêmes produits finaux. Il y a une voie commune jusqu'au pyruvate dans lequel se trouvent les réactions caractéristiques de cette voie:

Destinée du pyruvate en anaérobiose

Selon le système enzymatique des espèces microbiennes, on obtiendra différents produits de fermentation à partir du pyruvate; il peut aussi être complètement oxydé. De nombreuses fermentations ont un intérêt industriel ou diagnostic.

La fermentation alcoolique (production d'alcool). Au cours de la fermentation alcoolique, le pyruvate est d'abord décarboxylé en acétaldéhyde et CO₂ par la pyruvate décarboxylase comme il est schématisé dans la figure ci-dessous.

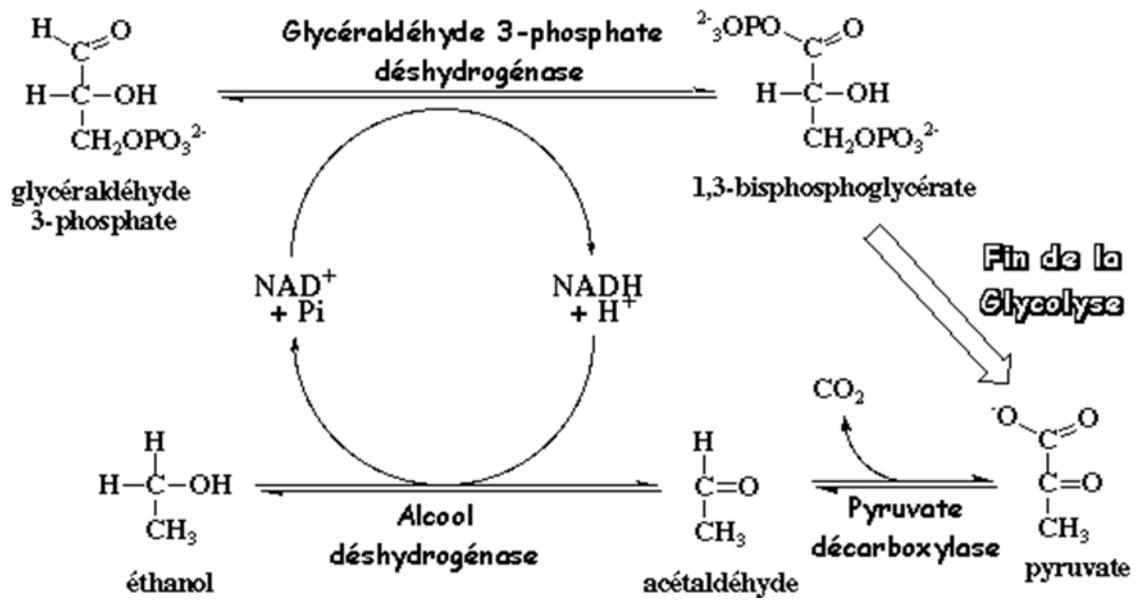


Figure. Fermentation alcoolique en aérobiose

VII production des toxines

7.1. Définition

Les toxines sont des molécules synthétisées par un organisme et capables de perturber le fonctionnement de certaines cellules, à distance du lieu d'infection. Les toxines sont également plus ou moins immunogènes : elles sont capables d'induire une réponse immunitaire.

7.2. Classification des toxines

Les toxines peuvent être divisées selon l'origine de leurs productions :

Mycotoxines sont celles produites par les champignons microscopiques tels que (*Aspergillus*, *penicillium*, etc.).

Bactériotoxines sont les toxines produites par les bactéries et sont subdivisées selon leur localisation en deux catégories **endotoxines** de nature lipopolysaccharide et **exotoxines** de nature protéique.

7.2.1. Endotoxines

Elles se trouvent sur la face externe de la membrane externe (**Fig.1**) des bactéries Gram (-). Elles sont libérées suite à la lyse des bactéries. Ceci peut intervenir lors d'une septicémie à bacille G(-) traitée massivement par des antibiotiques.

Elles sont peu sensibles à la chaleur. On ne peut donc pas les inactiver par chauffage.

Elles sont peu immunogènes : Il n'y a quasiment pas d'anticorps produits contre les endotoxines. On ne peut donc pas concevoir de vaccins contre elles.

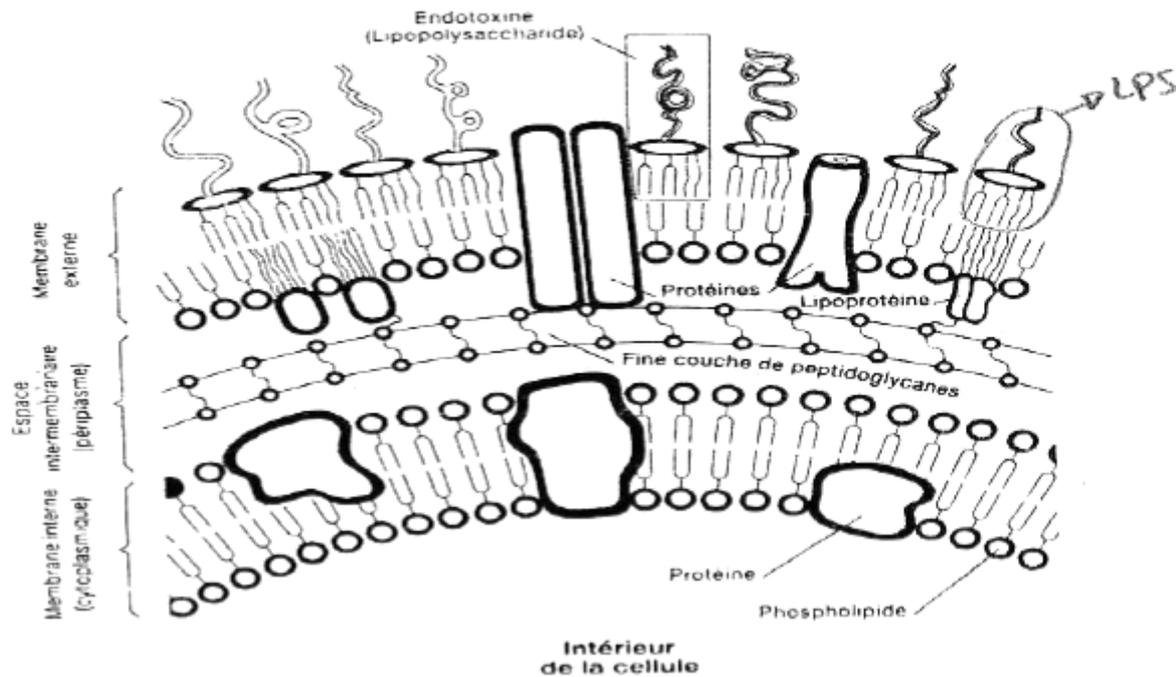


Figure1. Localisation des endotoxines des bactéries G(-)

Mécanismes d'action - Niveau de toxicité

Les endotoxines provoquent un choc toxique, (ou choc endotoxinique ou choc septique) responsable de la mort du patient dans 50% des cas.

Les principaux symptômes observés sont:

- une forte fièvre. Les endotoxines sont très pyrétiques.
- des atteintes vasculaires, avec vasodilatation et augmentation de la perméabilité des vaisseaux, d'où la formation d'œdèmes et une chute générale de la pression artérielle.
- des atteintes de l'hémostase : la dégranulation des plaquettes est activée de façon anarchique dans les vaisseaux, provoquant une « coagulation intravasculaire disséminée ».

Tous ces symptômes sont la conséquence de l'hyperactivation des macrophages : une fois libérée dans le sang, l'endotoxine se lie à une protéine appelée LBP (pour Lipopolysaccharide Binding Protein) et ce complexe se fixerait sur une molécule réceptrice située à la surface des macrophages (CD14). Ceci aurait pour conséquence la libération de nombreux médiateurs de l'inflammation (tels que : interleukine-1 ,6 et 8 ; prostglandine E2 ; facteur activant les plaquettes.....

Elles ont une activité toxique qui ne s'exprime qu'à forte dose : il faut une libération massive d'endotoxines pour observer un choc toxique. A faible dose, elles ont globalement un effet bénéfique (fièvre modérée, stimulation générale du système immunitaire et la destruction des agents infectieux.

7.2.2. Exotoxines

7.2.2.1. Localisation

On distingue 3 types de localisation:

- exotoxines sécrétées hors de la bactérie: exotoxines vraies (toxines diphtériques, staphylococciques, d'*E. Coli*...).
- présentes dans le cytoplasme et libérées uniquement lors de la lyse cellulaire: exotoxines cytoplasmiques (représentent 25 % de ce type de toxines, c'est le cas de la toxine cholérique).
- présentes dans le cytoplasme et sécrétées hors de la bactérie: exotoxines mixtes (toxines des *Clostridium*).

7.2.2.2. Nature chimique et conséquences

Les exotoxines sont de nature protéique, ceci a plusieurs conséquences sur leur fonctionnement.

Elles sont codées par des gènes et donc transmissibles si les gènes sont portés par des plasmides ou des phages (tableau 1).

Tableau 1 . Localisation des gènes codants pour des exotoxines de certains microorganismes

Toxine	Microorganismes	Support génétique
Toxine tétanique	<i>Clostridium tetani</i>	Plasmide
Toxine botulique	<i>Clostridium botulium</i>	Phage
Toxine diphtérique	<i>Carynbacterium diphtheriae</i>	Phage
Toxine de Shiga ^c	<i>Shigella dysenteriae</i>	Chromosome
Véro toxine	<i>Shigella Spp</i> + <i>E. coli</i> (EHEC) ^a	Phage
Toxine cholérique ^c	<i>Vibrio cholerae</i>	Chromosome

Elles sont très immunogènes: leur présence dans l'organisme provoque la synthèse d'anticorps anti-toxines, capables de neutraliser leur activité toxique.

Ces deux propriétés sont exploitées en vaccination: il est possible de produire des toxines inactives (anatoxines) par traitement thermique (40°C, pendant 2 semaines) ou chimique (formol ou glutaraldéhyde).

Les anatoxines ne présentent plus de pouvoir toxique, mais elles restent immunogènes et sont donc capables d'induire une réponse immunitaire protectrice (production d'antitoxines).

Niveau de toxicité

Elles ont une activité toxique bien supérieure à tous les poisons chimiques et végétaux connus.

Exemple:

Arsenic : valeur de l'indice de toxicité = 0,03

T diphtérique = 2 000

T tétanique / botulinique = 700 000

Pour évaluer l'activité d'une toxine, on définit 2 paramètres:

- la DMM (Dose Minimale Mortelle) est la plus petite quantité entraînant la mort d'un cobaye.
- la DL50 (Dose Létale 50) est la dose pour laquelle 50 % du lot de cobayes est tué

7.2.2.3. Comparaison endotoxine et exotoxine

Les deux types de toxine apparaissent très différents (**tableau 2**). Sur le plan physiologique, l'effet toxique de l'endotoxine nécessite une multiplication importante de la bactérie, alors que l'exotoxine, active à très faible dose, agit même si cette multiplication n'a pas eu lieu.

Tableau 2. Comparaison entre les toxines : endotoxines et exotoxines

	Endotoxine	Exotoxine
Bactéries responsables	Uniquement Gram négatif	Gram positif et négatif
Localisation	Membrane externe de la bactérie	Extracellulaire (plutôt Gram positif) Intracellulaire (plutôt Gram négatif)
Nature biochimique	Lipidique et polysaccharidique	Peptidique ou protéique
Dose pour être active	Forte	Faible
Effets toxiques	Non spécifiques, choc toxique	Spécifiques, très variés selon les germes
Propriétés immunologiques	Faiblement immunogène, réaction non spécifique et spécifique	Fortement immunogène, réaction spécifique
Utilisation comme vaccin	Très peu	Depuis longtemps nombreuses applications
Traitement par sérothérapie	Non, peut-être dans l'avenir	Oui
Multiplication cellulaire nécessaire	Oui	Non
Instabilité (thermique, sensibilité aux solvants...)	Non	Oui

7.2.2.4. Mécanismes d'action des exotoxines

Les exotoxines peuvent être classées en fonction de différents critères:

a)-Selon le tissu ou la cellule qu'elles altèrent:

- * les neurotoxines (toxine botulinique ou tétanique) agissent sur le tissu nerveux,
- * les entérotoxines (toxine cholérique, staphylococcique ...) agissent sur les entérocytes

b)-Selon leur effet biologique :

- * les toxines dermonécrotiques,
- * les toxines oedématogènes (cas d'une toxine de Bacillus anthracis)
- * les cytolysines ou hémolysines (quand elles lysent les globules rouges en détruisant leur membrane)

c)-Selon leur mécanisme d'action au niveau moléculaire :

- * les toxines désorganisant les membranes,
- * les toxines à activité ADP-ribosyltransférase,
- * les métallo-protéases
- * les superantigènes.

7.2.2.4.1. Spécificité d'action

Les exotoxines n'agissent pas sur toutes les cellules. Car elles doivent se fixer pour agir et seules les cellules possédant des récepteurs y sont sensibles.

Ces récepteurs ont des natures chimiques variées:

- phospholipides pour une streptolysine,
- glycolipides tel que le ganglioside GM de la toxine cholérique,
- acide N-acétyl neuraminique pour la toxine botulique B
- protéines pour la toxine diphtérique.

7.2.2.4.2. Exotoxines à action membranaire

On les appelle le plus souvent cytolysines ou hémolysines. On en compte plus de 90 différentes, provenant de germes très variés comme Clostridium, Staphylococcus, Streptococcus, Acinetobacter...

Le mode d'action de ce type de toxine est de modifier la structure de la membrane plasmique des cellules hôtes.

Différents mécanismes sont possibles: phospholipase, action détergente (tensio-actif), séquestration du cholestérol, création de pores trans-membranaires.

7.2.2.4.3. Exotoxines à action intracellulaire

a)-Internalisation de la toxine

Le mécanisme est bien connu pour les toxines en 2 parties, dites toxines A-B, pour lesquelles le composant B est impliqué dans la pénétration du composant A qui est le seul à entrer dans la cellule et à exercer son activité.

Fixation de la Toxine complète sur le récepteur

Phénomène de migration au niveau de la clathrine sous membranaire

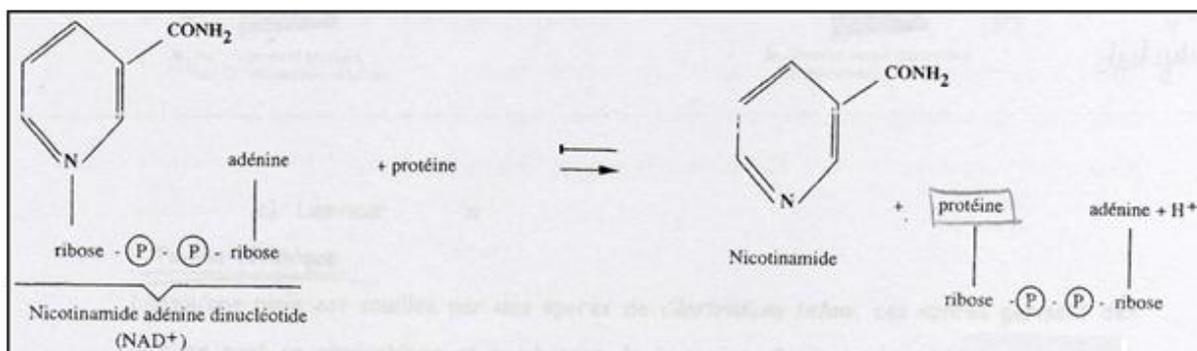
Création d'une vésicule (internalisation par l'endosome)

Dissociation de la toxine de son récepteur, dissociation de la toxine en 2 parties A + B suite à l'acidification de la vésicule

Diminution du pH car acidification = B est donc inséré dans la membrane de la vésicule pour faire passer au travers de la membrane A, afin que A soit dans le cytoplasme

b)-Exotoxines ADP-ribosylantes

De nombreuses toxines comportent une activité enzymatique qui conduit au transfert de la partie ADP-ribose du NAD (nicotinamide adénine dinucléotide) sur des protéines.



La toxicité de ce type d'exotoxine dépend de 2 facteurs : les cellules sensibles et la protéine ADP-ribosylée par la toxine.

Toxine diphtérique:

Les cellules cibles sont très nombreuses

Agent = *Corynebacterium diphtheriae*, petit bacille G(+), en forme de massue, qui s'associe en forme de palissade.

c)-Neurotoxines :

Toxine cholérique:

Toxine tétanique

Lorsqu'une plaie est souillée par des spores de *Clostridium tetani*, ces spores germent dès qu'elles sont en anaérobiose et produisent de la toxine. Cette toxine diffuse le long des neurones en sens inverse du potentiel d'action et bloque la libération de certains neurotransmetteurs au niveau de fibres inhibitrices de la moelle épinière, produisant une paralysie spastique (crispée).

Toxine botulinique

Lorsqu'une boîte de conserve contaminée par des spores de *Clostridium botulinum* est mal-stérilisée, ces spores germent et produisent la toxine dans la boîte. Lors de l'ingestion de l'aliment contaminé, la toxine passe dans le sang et bloque la libération d'acétylcholine au niveau des synapses, ce qui provoque une paralysie flasque.

Bien que les effets cliniques soient différents, les modes d'action sont proches: ces 2 toxines sont des métallo-protéases (ce sont des protéases Zn^{2+} dépendantes) qui empêchent la libération des neurotransmetteurs en hydrolysant une protéine qui assure le lien entre les vésicules synaptiques et la membrane présynaptique.

d)-Superantigènes

Certaines toxines chez *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* ... sont capables de stimuler jusqu'à un lymphocyte T sur 5 (contre 1/10 000 pour un antigène classique) car ils se lient aux parties variables des récepteurs. Cette liaison entraîne une forte libération de médiateurs comme l'interleukine 2 (IL2), l'interféron ou le facteur nécrosant des tumeurs (TNF). Les signes cliniques sont dur proches du choc toxique provoqué par les endotoxines: fièvres, atteintes vasculaires, oedèmes, complications rénales ...

7.4. La production industrielle des toxines

Certaines bactéries et moisissures excrètent des toxines. Dans certains cas, la production industrielle de ces toxines présente un grand intérêt car elles sont utilisées pour la fabrication de vaccins et antitoxines utilisés en médecine.

2.3. Domaines d'utilisation des alcools

Les alcools sont utilisés dans l'industrie chimique comme :

Solvant: l'éthanol, peu toxique, est utilisé dans les parfums et médicaments.

Réactifs: les esters peuvent être synthétisés à partir des alcools.

Antigels: la basse température de solidification de certains alcools comme le méthanol et l'éthylène glycol en font de bons antigels.

2.4. Les voies métaboliques de la synthèse des alcools

La fermentation alcoolique est un processus biochimique par lequel des sucres (glucides, principalement le glucose) sont transformés en alcool (éthanol) et CO₂, en absence d'oxygène. Alors que, chez les eucaryotes, la totalité du glucose est métabolisé par la voie de glycolyse, les micro-organismes possèdent une variété d'autres voies qui fonctionnent souvent en parallèle (**Fig. 4**).

Glucose + 2ADP + 2Pi → 2 CO₂ + 2 Ethanol + 2 ATP

2.5. Microorganismes producteurs des alcools

Fermentation par les levures

Saccharomyces cerevisiae, une souche utilisée industriellement pour la fermentation alcoolique, elle utilise le glucose comme une source de carbone, d'autres espèces de levures peuvent convertir la xylose en éthanol (*Pichia stipitis*, *Candida*..).

Fermentation par les bactéries

Le xylose est convertible en éthanol par plusieurs espèces de bactéries thermophiles comme *Thermoanaerobacter ethanolicus*, *Clostridium thermohydrosulfuricum* ou par des souches modifiées de *Bacillus stearothermophilus*. Des bactéries mésophiles comme *Escherichia coli* et *Klebsiella oxytoca* ou *K. planticola* sont également capables de fermenter les pentoses.

III /- LA PRODUCTION D'ETHANOL PAR FERMENTATION

A/- Les Microorganismes Fermentaires

En plus de la fabrication de l'éthanol par synthèse chimique, il faut savoir que de nombreux microorganismes : levures, bactéries et moisissures sont capables de produire de l'éthanol par voie fermentaire à partir de sucre.

C'est ainsi que sur une production mondiale d'environ 100 millions d'hectolitres par an : 35,5 millions sont issus de la synthèse chimique contre 65 millions produit par voie fermentaire d'où l'importance de cette voie.

Ce sont surtout les levures qui sont les plus utilisées car elles produisent de l'éthanol avec peu de sous-produits ; de plus elles ont un taux de croissance et de conversion rapides.

Les Levures sont des champignons microscopiques dont ceux qui présentent un intérêt sur le plan biotechnologiques appartiennent aux deux classes des Ascomycètes et des Deutéromycètes. Les genres

les plus intéressants dans la 1ere classe sont : *Saccharomyces*, *Torulopsis*, *Pichia*, *Kluyveromyces*

...Dans la seconde, c'est le genre *Candida*.

Les principaux facteurs influençant le développement des levures sont : l'acidité, la concentration en sucre et en alcool, l'aération, la température ...

II/- UTILISATIONS DE L'ETHANOL

L'alcool éthylique est combustible, c'est un liquide neutre : ni acide, ni basique et, il est doté de plusieurs usages: humains, industriel ou comme carburant.

1/- Usages humains

a/- Il est très utilisé en pharmacie et en cosmétologie en tant que solvant.

b/- Les boissons alcoolisées sont connues depuis les temps reculés. Actuellement, l'industrie de l'alcool de bouche se divise en deux parties ;

-les industries des liqueurs avec les apéritifs et les liqueurs de table

-les eaux de vie qui sont extraites par distillation des boissons fermentées. Nous pouvons citer : le whisky, le cognac, le rhum, la vodka

c/-La vinaigrierie : les bactéries acétiques de type Acetobacter, en aérobie transforment l'éthanol en acide acétique, le vin devient alors aigre : c'est le vinaigre. Les usages sont très nombreux : assaisonnement des mets, lavage des légumes, traitement des tissus, nettoyage d'ustensiles de vitres, d'argenterie et de dorure.

2/- Usage en industrie chimique

L'alcool sert soit pour des usages réactionnels soit, de solvant avec de nombreux dérivés possibles.

C'est le cas de sa transformation en éthylène par déshydratation qui présente beaucoup d'intérêt avec la production de toute la chimie des dérivés de l'éthylène (polyéthylène, chlorure de vinyle...) actuellement tirés de la source pétrolière.

L'éthanol permet également de produire de l'éther, de l'acide acétique utilisé pour la fabrication de l'acétone, des matières colorantes (indigo) de produits pharmaceutiques (acétylsalicylique)...

3/- Usage comme carburant ou additif

De nos jours, l'éthanol est employé pour la carburation dans différents pays comme le Brésil afin, de réduire d'une part les importations de pétrole et d'autre part de lutter contre la pollution automobile.

Ceci en ajoutant au carburant de l'éthanol, en remplacement du plomb tetra éthyle : incorporé a l'essence et considéré comme polluant de l'atmosphère.

