

Le VitalCâlin

Les Aliments Massawippi

par

Suzanne Dionne

Technologue des Aliments

Présidente de : Les Aliments Massawippi Inc.

Mai 2012

Table des matières

1.0	LE VITALCÂLIN	2
2.0	POURQUOI LE VITALCÂLIN.....	2
3.0	CARENCE EN ENZYMES.....	3
4.0	MODE D'ACTION	3
5.0	PROCÉDÉ DE FABRICATION	4
6.0	BIBLIOGRAPHIE.....	8
	GRAPHIQUE 1 : ACTIVITÉ DE L'ALPHA-AMYLASE	5
	TABLEAU 1 : SOMMAIRE :53 ENZYMES CONTENUES DANS LE VITALCÂLIN	6
	ANNEXE 1 : FICHE TECHNIQUE DU VITALCÂLIN	
	ANNEXE 2 : <u>Pudding de céréales vivant et Vitella (genre Nutella santé)</u>	
	ANNEXE 3 : POUR EN SAVOIR PLUS SUR ASPERGILLUS ORYZAE	

1.0 Le VitalCâlin

Le VitalCâlin est un aliment certifié biologique, sans OGM, produit de manière artisanale, à partir d'un riz Arborio et d'une culture d'Aspergillus oryzae. Le VitalCâlin, de couleur crème, au goût légèrement acidulé et sucré naturellement, présente un grand intérêt puisqu'il est de nature probiotique. Il contient une grande diversité d'enzymes. Les scientifiques y ont répertorié pas moins d'une soixantaine d'enzymes et, encore aujourd'hui, on découvre de nouvelles enzymes spécifiques aux propriétés thérapeutiques aussi diverses que : détoxifiant, inhibiteur de toxines, atténuateur des troubles digestifs (flatulence, acidité...). Par exemple, en 1894, Jokichi Takamine a développé la taka-diastase, un mélange d'enzymes fait à partir d'Aspergillus oryzae pour traiter les troubles digestifs. En 1988, on a même produit et extrait une lipase à partir d'Aspergillus oryzae pour ajouter aux savons. La lactase fait aussi parti des nombreux enzymes présents. En 2012, on a découvert l'aminopeptidase glycine D-alanine (Marui J. et al. 2012). Le tableau 1 donne un aperçu sommaire de ces enzymes.

2.0 Pourquoi le VitalCâlin ?

Sans les enzymes, la vie n'existerait pas. Tous les processus vitaux du corps, que ce soit la respiration ou la digestion, exigent des enzymes bien spécifiques pour se réaliser. Imaginons, par exemple, un arbre qui représenterait la molécule d'amidon : celle-ci est constituée que segments de glucose fixés de différentes manières : ce sont les branches. Si l'on veut couper une branche ou une partie de celle-ci, on devra utiliser une enzyme spécifique; de même, si l'on veut couper une petite branche orientée différemment, cela exigera une enzyme différente de la précédente. Voilà pourquoi l'on doit consommer une multitude d'enzyme : chaque enzyme agit de façon spécifique, d'où la nécessité d'avoir un grande variété d'enzymes à sa disposition. C'est donc pour préserver l'intégrité de l'ensemble des enzymes que nous avons conçu un aliment unique : le VitalCâlin.

La souche utilisée, Aspergillus oryzae, est connue pour produire une grande variété d'enzymes. Par exemple, elle peut produire jusqu'à 50 gramme d'alpha -amylase pour un kilo de riz fermenté.

Dans plusieurs pays on produit des mélanges d'enzymes à partir d'Aspergillus oryzae, que l'on extrait pour en faire des concentrés. Chaque type d'enzyme agit dans des conditions spécifiques et sa stabilité est fonction de diverses conditions (température, pH, nature du substrat, etc.)

Les modes d'extraction utilisés exigent de modifier le milieu : par exemple, changer le pH, utiliser des produits chimiques tels que des tampons, des stabilisants, des flocculants, des adjuvants, des agents de conservation, etc., ce qui fait que certaines enzymes sont littéralement détruites au profit d'autres. Chaque étape de transformation contribue à diminuer la stabilité de l'enzyme.

Aussi, il importe de garder à l'esprit que les enzymes industrielles sont généralement produites à partir de résidus d'industries, souvent à base d'OGM.

3.0 Carence en enzymes

On sait que l'on sécrète de moins en moins d'enzymes au fur et à mesure qu'on avance en âge. Le Docteur Meyer, du Mickael Reese Hospital, a démontré que la salive du jeune adulte est 30 fois plus concentrée en enzymes que chez les personnes de 69 ans et plus. Aussi, ce n'est qu'à partir de l'âge de 1 an que l'enfant développera l'amylase nécessaire à la digestion de l'amidon contenu dans les céréales. De plus, il peut survenir un dysfonctionnement du système digestif provoqué par une multitude de raisons (maladie, antibiotique, colique, acidité, stress...), ce qui aura comme principale conséquence d'inhiber l'absorption des nutriments.

Les protéases sont utilisées pour traiter la dyspepsie. Les lipases d'A. oryzae permettent de compenser une déficience pancréatique.

Un apport de l'extérieur permettra d'optimiser la transformation de l'aliment et d'en assurer une bonne assimilation. Le VitalCâlin contribue à diminuer les intolérances de type alimentaire.

4.0 Mode d'action

Les enzymes sont essentielles au processus de digestion. Certaines d'entre-elles sont produites naturellement par le corps. Elles sont présentes en grande quantité dans les aliments crus, principalement les fruits et les légumes.

L'expérience de Tanaka, citée dans Reed (1977) démontre la complémentarité des enzymes provenant des aliments et de celles produites par le corps pendant le processus de digestion.

Le pH du jus gastrique est de 1,5 à 2,2 avant le repas, entre 4 à 5, 30 minutes après le repas; entre 2 à 4,5, 60 minutes après le repas et entre 1,5 à 2 après complète digestion.

*On sait que l'activité de chaque enzyme est fonction du pH du milieu. Selon Tanaka, il apparaît que l'activité de l'enzyme pectique prédomine à très bas pH. Cependant, à pH 2,2 et plus, plus de la moitié de l'activité protéolytique est due aux protéases d'*A. oryzae*. L'activité de la pepsine diminue drastiquement au-delà de pH 3,5. Ce sont alors les amylases provenant des glandes salivaires qui agissent. Autour de pH 4,5, l'amylase salivaire devient presque inactive tandis que l'amylase provenant d'*A. oryzae* est très active. On peut donc conclure que les enzymes du VitalCâlin interviennent à tous les stades de la digestion, en complémentarité des enzymes endogènes.*

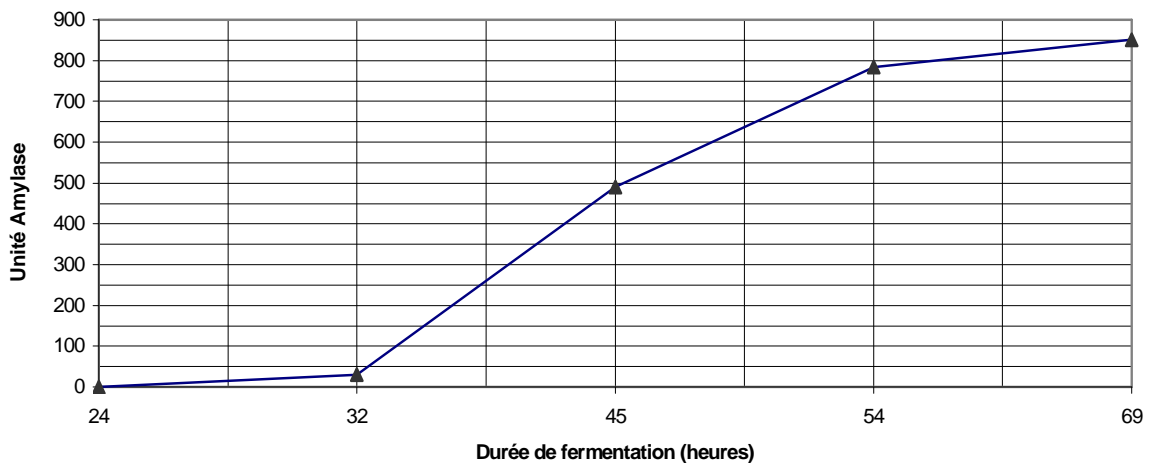
5.0 Procédé de fabrication du VitalCâlin

Le VitalCâlin est produit de façon artisanale selon des pratiques traditionnelles japonaises millénaires.

*Tout d'abord, le substrat de riz est inoculé d'une souche d'*Aspergillus oryzae* et placé dans une chambre d'incubation où les conditions de culture sont parfaitement contrôlées. Au début de la fermentation, c'est d'abord le mycélium d'*Aspergillus* qui se développe. Ce n'est qu'après 24 heures que les enzymes commencent à se développer.*

On constate qu'à partir de 32 heures, l'accroissement de l'activité de l' α -amylase connaît une forte accélération. Après 54 heures, la courbe fléchit, indiquant un ralentissement du développement de l'enzyme. En accord avec la littérature (Acker (1963), Miller (1949) et Chou (1995)), la production optimale d'amylases se situe entre 60 et 68 heures. Après ce délai, l'activité de l' α -amylase reste stable même si, pour sa part, la fermentation se poursuit. Le graphique 1 présente l'activité de l' α -amylase en fonction de la durée de la fermentation.

Graphique 1. Activité de l'enzyme Alpha-Amylase en fonction du temps de fermentation



Les protéases acides, quant à elles, commencent à se développer à partir de 36 heures d'incubation et l'activité atteint son plateau entre 84 et 96 heures.

Les méthodes expérimentales de dosage des amylases ont été adaptées et mises au point à partir de méthodologies présentées dans Naharaha (1982), Dawson (1982), McAllister (1970) Sandstedt (1939) et FTWG method (1997). Toutes ces méthodologies sont basées sur la dextrinisation, c'est-à-dire l'hydrolyse de la liaison glycosidique de α 1,4 de l'amidon et exprimée ici en milligrammes d'amidon dextrinisés par gramme de matière sèche.

La méthode d'extraction et de dosage de l'activité de la protéase acide est inspirée de celles de Haussner (1996), Anson (1938), McIlvaine (1921) et Folin (1927). Elle mesure la tyrosine, un acide aminé obtenu de l'hydrolyse enzymatique de la caséine. Elle est exprimée en microgramme de tyrosine par milligramme de matière sèche.

Après fermentation, le produit est séché à très basse température (moins de 30°C) et moulu finement à moins de 10°C afin de préserver ses enzymes.

Tableau 1: Sommaire : 53 enzymes contenues dans le VitalCâlin

<i>Acylase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Wood, 1977</i>
<i>Alpha-galactosidase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Shankar Sk, 2007</i> • <i>Patil AG, 2009</i>
<i>Aminopeptidase Glycine D-Alanine</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Marui J, 2012</i>
<i>Aminopeptidases Leucines I, II, III ...VII et Arylamidase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Nakadai, 1971</i> • <i>Fukushima D, 1982</i>
<i>Amylases (alpha-1,4, alpha-1,6 et Bêta-amylase)</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ankadai, 1971</i> • <i>C.C.F.R.A., 1997</i> • <i>Dawson, 1982</i> • <i>Silva EM, 1998</i> • <i>Narabara, 1982</i>
<i>Carboxypeptidases I, II, III , IV</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fukushima D, 1982</i> • <i>Nakadai, 1971</i>
<i>Cellulases (4 variétés)</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Nakadai, 1971</i> • <i>Fukushima D, 1982</i> • <i>Yamane Y et al., 2002</i>
<i>Cutinase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>DNA Reaserch</i>
<i>D-Glucose oxydoréductase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Gervais P</i>

<i>Frutosyltransférase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Sangeetha Pt, 2004</i>
<i>Glucoamylases I, II et III</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>William M,</i> • <i>Mishra A, 2002</i> • <i>Yo ji H., 1998</i>
<i>Glutaminase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fukushima D, 1982</i>
<i>Hémicellulase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ito, 1982-1983</i>
<i>Estérases</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ito, 1983</i> • <i>Takahashi T., 2005</i>
<i>Lactase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Plainer H et al, 1982</i> • <i>Friend BA, 1982</i>
<i>Lipases</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>DNA research, 1988</i> • <i>Wood, 1977</i>
<i>Ligninase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Reid, 1983</i>
<i>Pectine polygalacturonase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Dartora AB, 2002</i>
<i>Pectine transesterase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Nakadai, 1971</i>
<i>Phytase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ito, 1983</i>
<i>Phospholipases</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ito, 1983</i>
<i>deaminase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Forgathy dans Wood, 1977</i>
<i>Métalloprotéinases I et II</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Nakadai, 1973</i>
<i>Phosphatases</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Ito, 1982</i>
<i>Protéases acides I, II, III (3 variétés)</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Nakadai, 1971</i> • <i>Fukushima D, 1982</i> • <i>Hausser F, 1996</i> • <i>Vishwanatha KS, 2010</i> • <i>Y okotsuko, 1985</i> • <i>Narahara, 1982</i>
<i>Protéinases alcalines et semi - alcalines.</i> <i>Protéinase sérine</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fukushima D, 1982</i> • <i>Murakami K, 1991</i> • <i>Nasuro, 1972</i>
<i>Protéinases neutres I et II</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Fukushima D, 1982</i>
<i>Tannase</i>	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Takino, 1976</i> • <i>Rodrigues TH, 2007</i> •

6.0 Bibliographie

ACKER, L., Enzyme activity at low water contents, *Recent advances in food science*, vol. 3, 1963, pp. 239-247.

ANSON, M. L., The estimation of pepsine, trypsin... *Journal of General Physiology*, vol. 22, no 1, 1938, pp. 79-90.

C.C.F.R.A., Determination of α -amylase activity. Flour testing group method, FTWG method, no 0001, 1997, 7 pages.

CHOU, C.-C. et J.-H. Rwan. Mycelial propagation and enzyme production in koji prepared with *Aspergillus oryzae* on various rice extrudates and steamed rice. *Journal of fermentation and bioengineering*, vol. 79, no 5, 1995, pp. 509-512.

DARTORA AB AND AL., Evaluation of filamentous fungi and inducers for the production of endo-polygalacturonase by solid stat fermentation. *Abstract of PubMed*. 2002.

DAWSON, H.-G. et W.-G. Allen. The use of a simple experimental design and modeling techniques to aid in characterizing a commercial fungal alpha-amylase, dans *Utilisation des enzymes en technologie alimentaire*, P. Dupuy, 1982, pp. 41-48.

FOLIN, O. and CIOCALTEAU, V., On tyrosine and tryptophane determinations in proteins. *Journal of biological chemistry*, vol. 73, no 2, 1927, pp. 627-651.

FRIEND BA, SHAHANI KM, Characterisation and evaluation of *Aspergillus Oryzae* lactase coupled to a regenerable support. *Biotechnol. Bioeng.*, Féb. 24(2), 1982, 329-45.

FUKUSHIMA D, Koji as a important source of enzymes in the orient and unique composite systems of proteinases and peptidases. Dans *Use of enzymes in food technology*, edited by P. Dupuy. 1982, pp 381-388.

HAUSSNER, K. et al. New international F.I.P. method for the determination of the activity of *Aspergillus oryzae* proteases. *Pharmazie*, 51, no. 12, 1996, pp. 946-950.

LARRETTA GARDE, V. Hydratation et stabilité des enzymes. *Les cahiers de l'Ens. Bana*, no. 7, 1990, pp. 205-219.

MARUI j. et al., Enzymatic properties of the glycine D-alanine aminopeptidase of *Aspergillus Oryzae* and its activity profiles in liquid-cultured mycelia and solid-state rice culture (rice Koji). *Applied Microbiology Biotechnology*, Jan., 93 (2) 2012, pp. 655-69.

MASAYUKI MACHIDA and All., Genomic of *Aspergillus Oryzae*: Learning from the history of Koji and Exploration of its future. DNA Research, august 15(4), 2008, pp. 173-183.

Mc ALLISTER, R. A., Enzymes and the determination of enzyme activity, Butterworth & Co. Ltd, 1970, 78 pages

Mc ILVAINES, T. C., A buffer sol. For colorimetric comp., The J. of biolog. Chem., vol XLIX, 1921

MILLER, B. S., Differential inactivation of alpha-amylase and proteinase. Cereal chemistry, vol. 26, 1949, pp. 359-371.

NAKADAI T ET AL., Qualitative estimation of activities of peptidases in koji. Seasoning Science. Vol. 18, 1971, pp.41-47.

NARAHARA, H. and al. Growth and enzyme production in solid-state culture of *A. oryzae*. Journal of fermentation technology, vol. 60, no 4, 1982, pp. 311-319.

PLAINER H. et al. L'Hydrolyse du lactose par des enzymes immobilisées. Utilisation des enzymes en technologie alimentaire, P. Dupuy, 1982, pp. 189-245.

SANDSTEDT, R. M., KNEEN, E. and BLISH, M. J., A standardized Wohlgemuth procedure for alpha-amylase activity. Cereal chemistry, vol. 16, 1939, pp. 712-723.

TANAKA ET AL., cité dans Reed G., Enzymes in food processing. Academic Press, New York, 1977, 409 p.

YAMANE Y. ET AL., Properties of cellulose-degrading enzymes from aspergillus *Oryzae* and their contribution to material utilisation and alcohol yield in sake mash fermentation. J. Biosci. Bioeng. 93(5), 2002, pp. 479-84.

YAMANE Y ET AL., Production of cellulose and Xylan-degrading enzymes by a Koji Mold, *Aspergillus Oryzae*. Journal of Bioscience and Bioengineering, vol.93, 2002, pp. 9-14. Yokosuka, 1983



Les Aliments Massawippi inc.

Annexe 1

Fiche de produit : VitalCâlin

Dénomination du produit :	VitalCâlin
Aspect :	<i>Poudre alimentaire finement moulue</i>
Couleur :	<i>Blanc crème</i>
Composition :	<i>Riz arborio semi-complet bio, Riz arborio blanc bio, inoculum fait d'Aspergillus</i>
Durée de fermentation :	<i>oryzae</i>
Certification :	<i>1 semaine</i> <i>Écocert Canada (sans OGM) # TC 064</i>
<u>Enzymes utiles :</u>	<u>Analyse nutritionnelle (5 g)</u>
<i>Une soixantaine d'enzymes utiles, parmi lesquelles :</i>	<i>Energie : (cal/100 g): 17</i>
<i>α et β amylase, glucoamylase, protéases, pectinase, phosphatase, lipase, lactase, CM-cellulase, acylase, phytase, ligninase, etc.</i>	<i>Protéines (g/100 g) : 0,4</i>
	<i>Matières grasses (g/100 g) : 0,1</i>
	<i>Polyinsaturés (g/100 g) : 0</i>
	<i>Monoinsaturés (g/100 g) : 0</i>
	<i>Saturés : (g/100 g) : 0</i>
	<i>Cholestérol : (g/100 g) : 0</i>
	<i>Glucides (g) 4,0</i>
<u>Emballage :</u> <i>sachet plastique grade alimentaire dans une petite boîte</i>	<u>Conservation</u>
<u>Codes à barres :</u> <i>1 boîte de 160 g : 8 3789400090 4</i> <i>6 boîtes de 160 g : 8 3789400093 5</i>	<i>Réfrigéré : 2 ans</i> <i>Non réfrigéré : 14 mois</i> <i>Emballage : sachet plastique grade alimentaire</i>

Notre mission : Concevoir, développer et fabriquer des aliments vivants dont la fonction est de maintenir, d'améliorer la santé et de réduire l'incidence des problèmes liés aux intolérances et aux allergies alimentaires

C.P. 2718 • NORTH HATLEY (QUÉBEC) • J0B 2C0 • CANADA
TÉLÉPHONE : (819) 842-2264 • TÉLÉCOPIE : (819)-842-2264 COURRIEL : alimas@sympatico.ca

INFORMATIONS SUR LES ASPECTS RELATIFS À LA SANTÉ

Enzymes utiles:

Enzymes : Un soixantaine d'enzymes utiles, parmi lesquelles : α et β amylase, glucoamylase, protéases, pectinase, phosphatase, lipase, lactase, CM-cellulase, acylase, phytase, ligninase, etc.

Principales propriétés thérapeutiques (affirmations basées sur la littérature scientifique) :

- Les enzymes facilitent la digestion en y participant et réduisent les problèmes du système digestif (constipation, flatulence, irritation du colon, acidité, ulcère, maladie de Crohn, etc.);
- Le VitalCâlin est un aliment à résidus alcalins.
- La consommation de VitalCâlin constitue une protection contre les organismes pathogènes (*E. Coli*, *Shigella*, *Staphylocoque doré*, etc.).
- Le VitalCâlin est un aliment hypoallergénique; certaines des enzymes qu'il contient permettent de surmonter diverses allergies et intolérances alimentaires : allergies aux protéines du riz et du soya, intolérance au lactose, etc.
- Grâce aux acides organiques développés par la fermentation, le VitalCâlin favorise l'élimination des toxines (radiations, métaux lourds, radicaux libres, tabac, etc.).

Charte des principales allergies alimentaires reliées aux végétaux

	OUI	NON
Riz et ses dérivés	x	
Céréales et produits de céréales contenant du gluten (blé, seigle, avoine, orge et autres)		x
Soya et produits dérivés		
Maïs et produits dérivés		x
Arachide et ses dérivés		x
Noix		x
Graines (sésame, tournesol, etc.)		x
Sulfites		x

Annexe 2 : Pudding de céréales vivant et Vitella (genre Nutella santé)

Cuire une tasse de riz (orge, kamut, quinoa, etc.) dans 2 tasses d'eau; laisser tiédir. Dans une casserole ou un grand plat avec couvercle, ajouter 1/3 tasse de VitalCâlin par tasse de riz cuit et bien mélanger.

Mettre au four et y allumer la lumière (32°C) ou dans une yaourtière (T° entre 30 et 40°C); laisser fermenter 8 à 12 heures; mélanger aux 4 heures. Se conserve au réfrigérateur environ 1 mois.

Notes :

- Il est préférable que le riz soit collant après cuisson, c'est-à-dire bien gorgé d'eau.
- Au fur et à mesure que la fermentation avance, et grâce aux enzymes, la texture du pudding devient de plus en plus onctueuse, de telle façon qu'à la fin, il ne reste que quelques petits grains de la céréale originale.
- Si on ajoute plus de VitalCâlin et que l'on augmente la durée de fermentation, le pudding est plus fort au goût et plus sucré.
- Pour aromatiser, ajouter du sirop d'érable, de la vanille, du chocolat, des fruits en purée, râpés ou séchés, de la compote de pomme, une tartinade, des céréales, du thé vert Matcha, etc.
- Pour un pudding plus onctueux, passer au mélangeur.
- Ajouter tel quel à vos céréales, au yogourt, à toute préparation, etc. Éviter de le cuire puisque les enzymes sont sensibles à la chaleur.
- Ce pudding est excellent pour tout le monde, tout spécialement pour les bébés en bas âge qui ne produisent pas les enzymes nécessaires à la digestion des céréales avant l'âge de un an ainsi que pour les personnes âgées qui produisent de moins en moins d'enzymes.
- On peut faire un lait végétal en ajoutant 2 à 3 tasses d'eau par tasse de pudding, après fermentation.

Vitella : Tartinade de noisette et VitalCâlin, une espèce de Nutella vivant!

1 1/2 tasse de pudding de céréales vivant
3/4 tasse de chocolat fondu au bain-marie
1 pot de 500 g de beurre de noisettes

Mettre le pudding dans un mélangeur ; ajouter le chocolat fondu. Démarrer le mélangeur et ajouter le beurre de noisette graduellement, jusqu'à obtention d'un mélange homogène. Absolument délicieux. Rien à envier au Nutella et nettement meilleur pour la santé!

Annexe 3

Aspergillus oryzae

Aspergillus oryzae



kōji-kin (*Aspergillus oryzae*)

Classification

<u>Règne</u>	<u>Fungi</u>
<u>Division</u>	<u>Ascomycota</u>
<u>Classe</u>	<u>Ascomycetes</u>
<u>Sous-classe</u>	<u>Eurotiomycetidae</u>
<u>Ordre</u>	<u>Eurotiales</u>
<u>Famille</u>	<u>Trichocomaceae</u>
<u>Genre</u>	<u>Aspergillus</u>

Nom binominal

Aspergillus flavus var. *oryzae*
(Ahlb.) E. Cohn 1884

Aspergillus oryzae (syn. *A. flavus* var. *oryzae*) est un champignon microscopique, de la classe des ascomycètes, appartenant aux moisissures « nobles », proche de Penicillium, et donc des moisissures des fromages à pâte persillée.

Il peut être aisément cultivé sur divers milieux naturels (carotte, céréale...) ou synthétiques (liquide de Raulin, etc.). Dès la plus haute antiquité, il a été cultivé en Chine¹, avec d'autres micro-organismes pour former un ferment nommé *qū* 麴, servant à produire du vin de céréale (*huangjiu*). À la période médiévale, les Japonais apprirent des Chinois à fabriquer le *qu*, dénommé chez eux *koji*.

Les progrès en génie génétique ont conduit à l'utilisation d' *Aspergillus oryzae* dans la production d'enzymes industrielles par les nouvelles biotechnologies.

Sommaire

- 1 Utilisations
 - 1.1 Alimentation
 - 1.2 Biotechnologie
- 2 Histoire

- [3 Morphologie et physiologie](#)
- [4 Toxicologie](#)
- [5 Mode d'action](#)
- [6 Voir aussi](#)
- [7 Lien externe](#)
- [8 Notes](#)
- [9 Références](#)

Utilisations

Le ferment ou « levure de riz » fabriqué avec *Aspergillus oryzae*^{N1} est très largement utilisée dans l'[industrie agro-alimentaire](#) et biotechnologique en [Asie](#) pour la [saccharification](#), la production d'[enzymes](#) et d'[acides organiques](#).

Alimentation

Au [Japon](#), la préparation du ferment nommé [koji](#) (麹, *kōji*)^{N2} se fait en ensemençant un substrat riche en amidon avec une culture pure d' *Aspergillus* notamment d'*Aspergillus oryzae* pour :

- la préparation du [saké](#) ([vin de riz](#)) et du [shōchū](#), eau de vie de céréale [japonaise](#)
- la transformation des grains de [soja](#) pour la production de [miso](#), de [shōyu](#) (sauce de soja) ou de [tamari](#).

La matière première du [saké](#) est du riz finement usiné à faible teneur en amylose, à basse température de gélatinisation et à cœur blanc. Ces caractéristiques facilitent le gonflement, la cuisson et la pénétration par le [mycélium](#) de *A. oryzae*. Ce riz, cuit à la vapeur, est alors mélangé avec le *kōji* pour être hydrolysé en deux à trois jours.

En [Chine](#), les ferments *qu* traditionnels sont des cultures complexes de moisissures (*Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp., *Mucor* etc.), de levures (*Saccharomyces cerevisiae*, etc.) et de bactéries (*Bacillus subtilis* etc.). La moisissure *Aspergillus oryzae* apparaît dans le ferment de blé (麦曲 *màiqū*) ou le grand ferment (大曲 *dàqū*) utilisés pour :

- provoquer la fermentation de céréale et donner divers vins de céréale ([huangjiu](#) 黄酒) qui distillés donnent l'eau de vie [baijiu](#)
- provoquer la fermentation de graines de [soja](#) pour préparer la [sauce soja](#) (*jiangyou* 油), le [miso](#) (*weiceng* 味噌) et le [tianmiantang](#) 甜面□.

La fabrication du fameux [vin de riz de Shaoxing](#) combine l'emploi de deux ferments (ou starters) : le *koji* (pour 17 %) fait de blé étuvé ensemençant d'*A. oryzae* pur et le ferment *qu* de blé (83 %), obtenu par inoculation naturelle de blé².

Biotechnologie

Aspergillus oryzae est aussi utilisé dans les processus biotechnologiques pour la production de certaines enzymes commerciales^{3,4} comme l'[alpha-amylase](#)⁵, la [glucoamylase](#)⁶, des [protéases](#)⁷, les xylanases⁸, glutaminases⁹, la lactase¹⁰, la cutinase¹¹, la [lipase](#)^{10,12}.

Confrontés au problème de l'émission de [gaz à effet de serre](#) par les [énergies fossiles](#), de nombreux centres de recherche se sont orientés vers le développement de [biocarburants](#) à partir de la biomasse, par des procédés biotechnologiques inspirés de la fabrication industrielle du saké à partir de l'amidon de riz, développée par [Jokichi Takamine](#) à la fin du XIX^e siècle¹³. Une partie du [bioéthanol](#) de première génération est obtenu à partir de l'amidon du blé ou du maïs, par hydrolyse enzymatique de l'amidon puis fermentation. La farine de céréale, mélangée à de l'eau et à de l'[alpha-amylase](#), passe à travers des cuiseurs où l'amidon du grain est liquéfié. Ensuite l'addition de [glucoamylase](#) provoque la conversion de l'amidon liquéfié en sucres fermentescibles. L'ajout de levure suffit à lancer la fermentation alcoolique produisant l'éthanol. La production d'éthanol-carburant à partir de matières amyliées nécessite des amylases commerciales qui sont actuellement assez onéreuses. Des études¹⁴ visent à produire des glucoamylases d'*Aspergillus oryzae* par [fermentation en milieu solide](#) sur des résidus agricoles bon marché, comme le son de blé, de riz, la bagasse de canne à sucre etc.

Actuellement, plusieurs programmes de recherche dans le monde visent à valoriser la partie lignocellulosique de la [biomasse](#) à faible valeur (résidus d'exploitations agricoles et forestières) plutôt que les produits à haute valeur. Dans la nature, la biodégradation de la cellulose est essentiellement réalisée par des bactéries (*Ruminococcus*, *Clostridium*, etc.) et des champignons (*Aspergillus*, *Schizophyllum*, *Penicillium*, *Trichoderma*...). Pour la mise en œuvre industrielle de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose, l'intérêt s'est surtout porté sur [Trichoderma reesei](#) qui est capable de sécréter des concentrations importantes de [cellulases](#) (enzymes dégradant la cellulose). Et pour remédier à certaines lacunes des cellulases de *T. reesei*, on pourrait recourir aux β -glucosidases d'*Aspergillus*¹⁵. D'autres procédés envisagent de cloner le gène de glucoamylase d'*A. oryzae* ou *A. niger* dans la levure¹⁶.

Aspergillus oryzae est aussi la source prépondérante de [protéases](#) neutres (NPI & NPII) qui montrent une grande affinité pour les acides aminés hydrophobes et est donc capable d'enlever l'amertume des aliments¹⁷. Plusieurs industries agro-alimentaires utilisent les protéases, comme l'industrie laitière¹⁸ (pour l'affinage des fromages) ou la boulangerie pour modifier le gluten de blé par une protéolyse limitée. L'industrie pharmaceutique utilise aussi des protéases d'*A. oryzae* comme aide à la digestion.

L'[aminopeptidase](#) est une enzyme catalysant le clivage d'acide aminé de la terminaison amine des protéines¹⁹. L'aminopeptidase de *A. oryzae* a attiré l'attention parce que la libération enzymatique d'acides aminés et de peptides est un moyen d'accroître la saveur des aliments fermentés. C'est aussi un agent hypotensif.

A. oryzae est capable de produire la glutaminase une enzyme de conversion de la [glutamine](#) en [acide glutamique](#) (ou glutamate), un des composants principaux de la saveur de la [sauce soja](#).

Certaines personnes tolérant mal le sucre du lait (ou [lactose](#)), des programmes de fabrication de lait à faible teneur en lactose ont été développés. L'enzyme hydrolysant le lactose (ou [lactase](#)) peut être préparée à partir de *A. oryzae* qui est considérée comme une moisissure sans danger.

La première production industrielle d'enzyme¹¹ par *A. oryzae* fut la [lipase](#) pour les détergents à lessives en 1988. En fromagerie, la lipase en hydrolysant les matières grasses, contribue à rehausser la saveur des crèmes et des fromages.

Quelques exemples d'enzymes produites par <i>A. oryzae</i> par fermentation (d'après BRENDA ⁴ , Pariza et al. ³ , Belmessikh ¹⁷)			
Enzymes	Classe	Applications industrielles	Références
α-amylases	Carbohydase	Panification, sirops de glucose	Kavanagh ⁵ , 2005
Glucoamylases	Carbohydase	Panification, saké, shoyu, bioéthanol	Oda ⁶ , 2006
Protéases	Protéase	Sauce soja, fromagerie, panification, tannerie	Sumantha et al. ⁷ , 2005
Aminopeptidase	Protéase	Agent de sapidité	Marui ¹⁹
Xylanases	Hydrolase	Bioblanchiment, panification	Ward et al. ⁸ , 2006
Glutaminases		Sauce soja, traitement de la leucémie	Thammarongtham et al. ⁹ , 2001
Lactases	Carbohydase	Hydrolyse du lactosérum acide	Neelakantan et al. ¹⁰ , 1999
Cutinases	Hydrolase	Recyclage des plastiques biodégradables	Machida et al. ¹¹ , 2008
Lipases	Lipase	Fromagerie, détergents à lessives	Neelakantan et al. ¹⁰ , 1999

Histoire

À la fin du XIX^e siècle, le professeur allemand Herman Ahlburg, qui avait été invité à enseigner à l'École de médecine de Tokyo, analysa le ferment koji utilisé pour la fabrication du [saké](#). Il identifia dans le koji une moisissure qu'il nomma *Eurotium oryzae* Ahlburg (en 1876) et qui fut ensuite renommée en 1883 par le microbiologiste allemand Ferdinand Julius Cohn *Aspergillus oryzae* (Ahlburg) Cohn. Une description morphologique complète ne fut donnée qu'en 1895 par Wehmer.

Morphologie et physiologie

Comme tous les *Aspergillus*, *A. oryzae* est formé d'un réseau de filaments hyalins (le [mycélium](#)), de diamètre fin et régulier, septés (cloisonnés) et ramifiés²⁰. Sur ces filaments prennent naissance des filaments dressés, qui eux ne sont pas cloisonnés, et qui se terminent par une vésicule sur laquelle sont disposées des cellules conidiogènes (formant des [spores](#) ou [conidies](#)). Ces spores, produits par division [mitotique](#), assure une [reproduction asexuée](#) du champignon.

A. oryzae se développe rapidement sur des milieux classiques (géloses au malt et Sabouraud) à 22-25 °C. Il forme alors des colonies duveteuses à poudreuses, d'abord de couleur blanche, puis jaune et enfin vert jaunâtre.

Le séquençage du [génom](#)e d'*Aspergillus oryzae*, tenu un moment secret, a finalement été publié en 2005 par une équipe de biologistes Japonais de Tsukuba²¹. Il contient 12 074 gènes soit 7 à 9 million de bases d'ADN de plus que *A. fumigatus* et *A. nidulans*. Ces gènes supplémentaires seraient impliqués dans la synthèse et le transport de nombreux métabolites secondaires, non directement engagés dans la croissance et la reproduction normale²². La comparaison de plusieurs génomes d'*Aspergillus* a révélé que *A. oryzae* (et *A. fumigatus*) contenait des gènes de type sexuels.

Toxicologie

A. oryzae produit un certains nombres de métabolites secondaires connus pour être toxiques pour l'homme²³. La table ci-dessous répertorie cinq d'entre-eux avec leur dose létale médiane (DL₅₀ dose causant la mort de 50 % d'une population animale).

L'acide cyclopiazonique peut être extrait de culture de *A. oryzae* sur milieu solide ou liquide. Cet acide abolit la fonction du reticulum sarcoplasmique. La dose journalière acceptable pour l'homme est de 700 µg/jour.

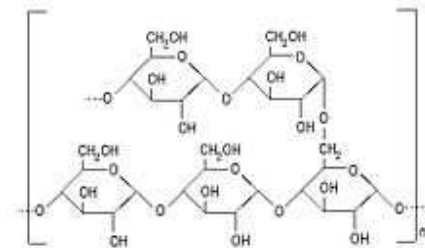
L'acide kojique est produit par de nombreuses souches d' *Aspergillus* et *Penicellium*. Il n'est pas dangereux aux doses présentes dans les aliments. L'aspergillomarasmine a été isolé dans *A. oryzae* en tant que phytotoxine. Il a été montré qu'il avait des effets inhibiteurs sur l'enzyme de conversion de l'angiotensine ECA. L'acide 3-nitropropionique produit par *A. oryzae* est une neurotoxine, conduisant à un dysfonctionnement des mitochondries.

La production d'aflatoxine par *A. oryzae* a été l'objet de controverses. Les aflatoxines sont de redoutables cancérogènes naturels, qui peuvent contaminer les graines d'arachides, de maïs, de blé etc. Il est établi maintenant que *A. oryzae* ne produit pas d'aflatoxines et que les fausses identifications viendraient d'une mauvaise identification de *A. oryzae*, avec des souches très proches sur le plan taxonomique du groupe *A. flavus*.

Si *A. flavus* et *A. parasiticus* sont les principaux producteurs d'aflatoxines, *A. oryzae* ne produisant pas d'aflatoxine, **il est considéré comme sans danger** ou GRAS (Generally recognized as safe) par la FDA¹¹.

Métabolites secondaires produits par <i>A. oryzae</i> et DL ₅₀ d'après C. Blumenthal ²³ , 2003 ; IP intrapéritonéale, IV intraveineuse, O orale		
Métabolite	DL ₅₀ (mg/kg)	Voie
Acide cyclopiazonique	2 (rat) 64 (souris)	IP O
Acide kojique	250 (souris)	IP
Aspergillomarasmine	160 (souris)	IV
Acide 3-nitropropionique	67 (rat)	IP
Violacetine	45 (souris)	IP

Mode d'action



Structure de l'amylopectine, avec des liaisons $\alpha(1\rightarrow4)$ sur la chaîne principale reliée par des liaisons $\alpha(1\rightarrow6)$ aux ramifications

- La saccharification

L'aspergillus amorce la dégradation de l'[amidon](#) contenu dans la céréale en produisant les sucres qui permettront, à leur tour, la fermentation avec l'aide de levures ou de bactéries. Cette [saccharification](#) est due à la [sécrétion](#) d'une [amylase](#) particulière, l'[α-amylase](#) ou [takadiastase](#), qui [hydrolyse](#) en deux ou trois jours l'[amidon](#) de la céréale cuite. Ensuite commence la fermentation alcoolique proprement dite, sous l'influence des levures apportées par l'air.

- α-amylase, glucoamylase

L'[amidon](#) est formé de résidus glucose (D-Anhydroglucopyranose) reliés entre eux, soit par des liaisons α(1→4), soit par des liaisons α(1→6) qui sont à l'origine de ramifications dans la structure de la molécule^{N3}. Il est constitué de deux [polysaccharides](#), l'[amylose](#) et l'[amylopectine](#). L'amylose est un polymère de résidus glucose reliés par des liaisons osidiques α(1→4) alors que l'amylopectine est une molécule ramifiée avec de longues branches toutes les 24 à 30 unités glucoses, liées par l'intermédiaire des liaisons α(1→6).

Zhang et als² ont identifié 71 protéines secrétées par la souche SU16 d' *A. oryzae*, utilisée pour fabriquer le vin de Shaoxing. Beaucoup sont des enzymes impliquées dans la dégradation hydrolytique de l'amidon (des α-amylases, des glucoamylases B et leurs produits protéolytiques), des protéines, des parois cellulaires etc. Parmi les enzymes protéolytiques, les plus abondantes sont l'[oryzine](#), la [pepsine](#), la protéase neutre II, et alanyl dipeptidyl peptidase. Le profil des protéines secrétées varie en fonction du milieu de culture.

L' [α-amylase](#) est une glycosidase qui coupe les liaisons α-1,4-glucosidique du substrat, au hasard au milieu des chaînes. Cette *hydrolyse libère essentiellement du [maltose](#), de l'[isomaltose](#), des monomères de [glucose](#) et des [dextrines](#) résiduelles*. Les dextrines sont non fermentescibles. Alors que le maltose et l'isomaltose (formés de deux unités de glucose) et le glucose lui-même, sont fermentescibles. L'α-amylase est une enzyme dite « protéolytique alcaline » car elle agit en milieu [alcalin](#) comme une enzyme naturelle en favorisant le travail de la digestion. On prétend d'ailleurs que la fabrication archaïque du saké était tributaire de la salive (amylase [salivaire](#)) de jeunes [vierges](#), qui étaient chargées de mâchonner le riz pour l'imprégner de salive!

La [glucoamylase](#) (ou γ-amylase) libère les unités de glucose une à une, à partir de extrémité non réductrice du polymère attaqué. Elle hydrolyse l'amylopectine et l'amylose complètement en D-glucose. Elle est aussi bien capable d'hydrolyser les liaisons α(1→6) que les liaisons α(1→4) ou α(1→3). Les glucoamylases sont produites par *A. oryzae* lors de fermentation sur substrat solide comme à la surface de son de blé, de son de riz ou de farine de graines de coton etc. Elles sont principalement utilisées dans la production industrielle de syrop de glucose, de syrop de maïs riche en fructose et d'alcool¹⁶.

Voir aussi

- [101 toxic food ingredients review](#)
- [miso](#)
- [saké](#)
- [shōchū](#)

- [shōyu](#)
- [tamari](#)
- [makgeolli](#)
- [cheongju](#)

Lien externe

- (en) [Sur le processus de saccharification](#)

Notes

1. ↑ moisissure connue sous le nom japonais *kōji-kin* (麹菌[?]), chinois de *miqujun* 米□菌 et coréen de *nuruk* ou *nurukgyun* □□□
2. ↑ On confond souvent le *kōji* (ou koji selon la graphie courante en France) avec le champignon qui le produit, avec l'enzyme (l'amylase) qu'il sécrète, ou même avec le « riz à *kōji* » (ce qui reviendrait à confondre, en boulangerie, la levure et la farine de blé avec le levain!)
3. ↑ une liaison notée $\alpha(1\rightarrow4)$ lie un atome de carbone numéroté 1 d'une unité glucose à un carbone 4 d'une autre unité glucose

Références

1. ↑ H. T. Huang, *Science and Civilisation in China: Volume 6, Biology and Biological Technology, Part 5, Fermentations and Food Science*, Cambridge University Press, 2000-11-30 (ISBN 0521652707)
2. ↑ ^a et ^b Bo Zhang, Zheng-Bing Guan, Yu Cao, Guang-Fa Xie et Jian Lu, « Secretome of *Aspergillus oryzae* in Shaoxing rice wine koji », *International Journal of Food Microbiology*, vol. 155, n° 3, 2012-04-16, p. 113-119 (ISSN 0168-1605, DOI 10.1016/j.ijfoodmicro.2012.01.014, lire en ligne [archive])
3. ↑ ^a et ^b M W Pariza et E A Johnson, « Evaluating the safety of microbial enzyme preparations used in food processing: update for a new century », *Regulatory toxicology and pharmacology: RTP*, vol. 33, n° 2, 2001-04, p. 173-186 (ISSN 0273-2300, DOI 10.1006/rtp.2001.1466)
4. ↑ ^a et ^b [BRENDA](#) [archive]
5. ↑ ^a et ^b (en) K. Kavanagh, *Fungal fermentation systems and products dans Kavanagh K., Fungi : Biology and applications*, John Wiley & Sons Ltd, 2005
6. ↑ ^a et ^b Ken Oda, Dararat Kakizono, Osamu Yamada, Haruyuki Iefuji, Osamu Akita et Kazuhiro Iwashita, « Proteomic analysis of extracellular proteins from *Aspergillus oryzae* grown under submerged and solid-state culture conditions », *Applied and environmental microbiology*, vol. 72, n° 5, 2006-05, p. 3448-3457 (ISSN 0099-2240, DOI 10.1128/AEM.72.5.3448-3457.2006)
7. ↑ ^a et ^b Alagarsamy Sumantha, Chandran Sandhya, George Szakacs, Carlos R. Soccol and Ashok Pandey, « Production and Partial Purification of a Neutral Metalloprotease by Fungal Mixed Substrate Fermentation », *Food Technol. Biotechnol.*, vol. 43, n° 4, 2005, p. 313-319 (lire en ligne [archive])
8. ↑ ^a et ^b O.P. Ward, W.M. Qin, J. Dhanjoon, J. Ye et A. Singh, « Physiology and Biotechnology of *Aspergillus* », dans Joan W. Bennett Allen I. Laskin (ed.), *Advances in Applied Microbiology*, vol. Volume 58, Academic Press, 2005 (ISBN 0065-2164, lire en ligne [archive]), p. 1-75

9. ↑ ^{a et b} C Thammarongtham, G Turner, A J Moir, M Tanticharoen et S Cheevadhanarak, « A new class of glutaminase from *Aspergillus oryzae* », *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, vol. 3, n° 4, 2001-10, p. 611-617 ([ISSN 1464-1801](#))
 10. ↑ ^{a, b, c et d} S. Neelakantan, A. K. Mohanty and Jai K. Kaushik, « Production and use of microbial enzymes for dairy processing », *Curr. Sci.*, vol. 77, 1999, p. 143-148
 11. ↑ ^{a, b, c et d} Masayuki Machida, Osamu Yamada et Katsuya Gomi, « Genomics of *Aspergillus oryzae*: Learning from the History of Koji Mold and Exploration of Its Future », *DNA Research*, vol. 15, n° 4, 2008-01-08, p. 173-183 ([ISSN 1340-2838](#), [1756-1663](#), [DOI 10.1093/dnares/dsn020](#), [lire en ligne](#) [\[archive\]](#))
 12. ↑ Botton, *Moisissures utiles et nuisibles: Importance industrielle*, Dunod, 1990, 2^e éd. ([ISBN 2225819874](#))
 13. ↑ [HISTORY OF KOJI](#) [\[archive\]](#)
 14. ↑ Vasudeo Zambare, « Solid State Fermentation of *Aspergillus oryzae* for Glucoamylase Production on Agro residues », *International Journal of Life Sciences*, vol. 4, n° 0, 2010-03-10 ([ISSN 2091-0525](#), [DOI 10.3126/ijls.v4i0.2892](#), [lire en ligne](#) [\[archive\]](#))
 15. ↑ Daniel Ballerini, *Biocarburants*, Technip, 2011-08-02 ([ISBN 2710809699](#))
 16. ↑ ^{a et b} Jennylynd A. James et Byong H. Lee, « Glucoamylases: Microbial Sources, Industrial Applications and Molecular Biology — a Review », *Journal of Food Biochemistry*, vol. 21, n° 6, 1997, p. 1–52 ([ISSN 1745-4514](#), [DOI 10.1111/j.1745-4514.1997.tb00223.x](#), [lire en ligne](#) [\[archive\]](#))
 17. ↑ ^{a et b} BELMESSIKH Aicha, *Optimisation de la production de la protéase neutre par *Aspergillus oryzae* sur milieu à base de déchets de tomates. Comparaison entre milieu solide et milieu liquide*, Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine, 2011
 18. ↑ Cristobal Noe Aguilar, Gerardo Gutierrez-, PLilia A. rado-Barra, Raul Rodriguez-, Jose L. Martinez-H et Juan C. Contreras-, « Perspectives of Solid State Fermentation for Production of Food Enzymes », *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, vol. 4, n° 4, 2008-04-01, p. 354-366 ([ISSN 15533468](#), [DOI 10.3844/ajbbsp.2008.354.366](#), [lire en ligne](#) [\[archive\]](#))
 19. ↑ ^{a et b} Junichiro Marui, Mayumi Matsushita-Morita, Sawaki Tada, Ryota Hattori, Satoshi Suzuki, Hitoshi Amano, Hiroki Ishida, Youhei Yamagata, Michio Takeuchi et Ken-Ichi Kusumoto, « Enzymatic properties of the glycine D-alanine [corrected] aminopeptidase of *Aspergillus oryzae* and its activity profiles in liquid-cultured mycelia and solid-state rice culture (rice koji) », *Applied microbiology and biotechnology*, vol. 93, n° 2, 2012-01, p. 655-669 ([ISSN 1432-0614](#), [DOI 10.1007/s00253-011-3610-y](#))
 20. ↑ Cristina TABUC, *FLORE FONGIQUE DE DIFFERENTS SUBSTRATS ET CONDITIONS OPTIMALES DE PRODUCTION DES MYCOTOXINES*, (thèse) INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE TOULOUSE ET DE L'UNIVERSITE DE BUCAREST, 2007
 21. ↑ Masayuki Machida *et al.*, « Genome sequencing and analysis of *Aspergillus oryzae* », *Nature*, vol. 438, n° 7071, 2005-12-22, p. 1157-1161 ([ISSN 1476-4687](#), [DOI 10.1038/nature04300](#))
 22. ↑ André Goffeau, « Genomics: Multiple moulds », *Nature*, vol. 438, n° 7071, 2005-12-21, p. 1092-1093 ([ISSN 0028-0836](#), [DOI 10.1038/4381092b](#), [lire en ligne](#) [\[archive\]](#))
 23. ↑ ^{a et b} Cynthia Z Blumenthal, « Production of toxic metabolites in *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, and *Trichoderma reesei*: justification of mycotoxin testing in food grade enzyme preparations derived from the three fungi », *Regulatory toxicology and pharmacology: RTP*, vol. 39, n° 2, 2004-04, p. 214-228 ([ISSN 0273-2300](#), [DOI 10.1016/j.yrtph.2003.09.002](#))
- Référence [NCBI](#) : [Aspergillus oryzae](#) (en)