

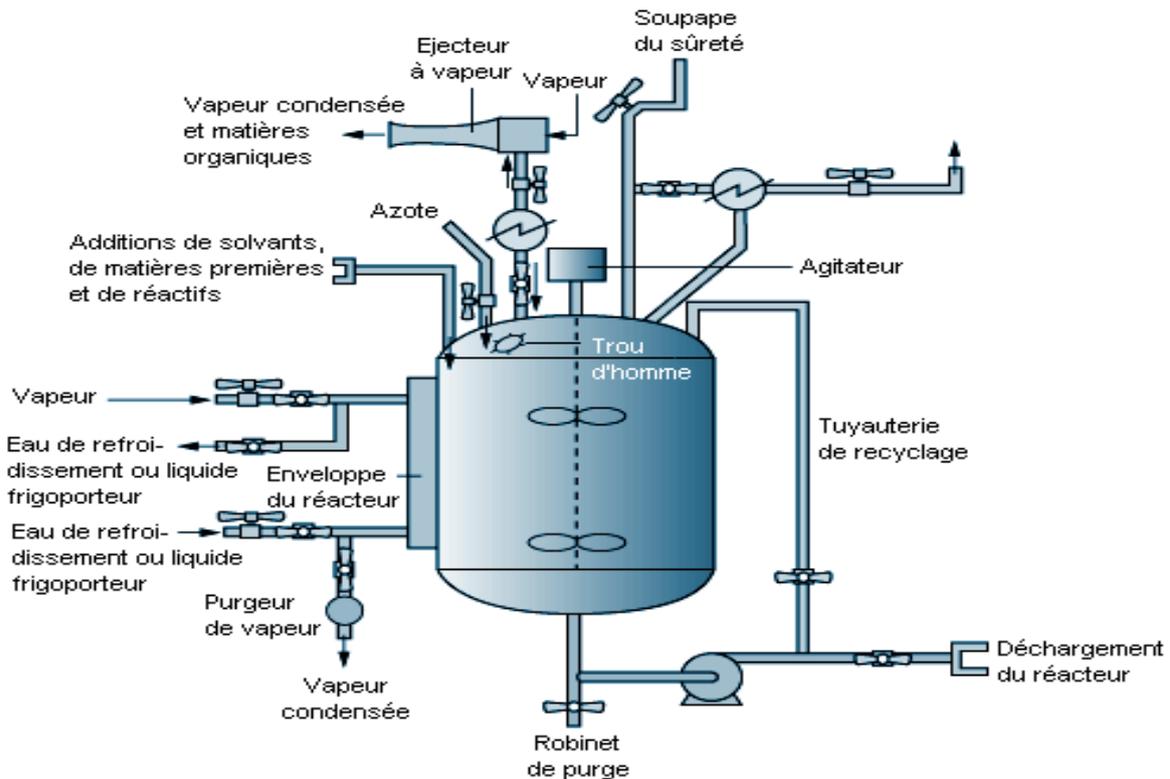
## **Chapitre: Aspects technologiques**

Toute fermentation industrielle a pour objectif de produire une substance d'intérêt en quantité la plus grande, dans le temps le plus court et au moindre coût possible. Pour ce faire, on doit cultiver un microorganisme dans des conditions physico-chimiques contrôlées au sein d'une enceinte de grand volume spécialement conçu à cet effet : le bioréacteur ou fermenteur. De ce fait, ce chapitre vise à étudier les différentes technologies de fermentation et les modèles (lois) cinétiques pour évaluer la performance de chaque bioprocédé.

### **2.1- Description du Bioréacteur (fermenteur)**

Le fermenteur est l'appareil dans lequel est réalisée la croissance des microorganismes, la production de biomasse, de métabolites ou bioconversion. Selon l'usage désiré, les fermenteurs sont de volumes très variables : de quelques litres jusqu'à 50 litres pour les fermenteurs de laboratoires, de 50 à 1.000 litres pour les installations pilotes et les fermenteurs d'inoculation, pouvant dépasser 100 m<sup>3</sup> pour les cuves industrielles.

Il est composé d'une cuve dont le rapport hauteur / Diamètre se situe entre 2 et 5. Les matériaux dont elle est constituée doivent avoir aucune action inhibitrice sur la croissance des microorganismes. Le verre est choisi pour les appareils de petites tailles et l'acier inoxydable pour les fermenteurs de plus de 20 litres ; dans ce dernier cas la tôle doit supporter la pression de vapeur de stérilisation. Une qualité essentielle de la cuve, des accessoires qu'elle contient et des tuyauteries, est la facilité de leur nettoyage. Les surfaces sont donc polies et accessibles et le nombre de joints réduit au maximum. La cuve est munie d'une série d'accessoires permettant d'assurer l'agitation, l'aération du milieu et différents contrôles (figure 14).



Source: Environmental Protection Agency (EPA), 1993.

**Figure14** Schéma général d'un fermenteur

## 2.2- Modes de conduite des Bioréacteurs

Lorsqu'on désire produire une substance d'intérêt, en bioréacteur, à l'aide d'une souche microbienne dont on connaît les exigences et la cinétique de croissance et de production, on doit choisir le mode le plus appropriés pour conduire la fermentation à l'échelle industrielle.

Il existe trois types de procédés de fermentation:

- le procédé **batch** ou fermentation discontinue ;
- le procédé **fed-batch** ou fermentation discontinue alimentée ;
- le procédé de culture continue.

### 2.2.1- Fermentation discontinu (*batch*)

Après avoir rempli le fermenteur de milieu de culture et l'avoir stérilisé, (ou bien après avoir stérilisé le fermenteur vide et l'avoir rempli de milieu de culture stérilisé à part), on introduit l'inoculum et on laisse se dérouler la fermentation. Durant tout le temps de la culture on n'introduit pas de milieu de culture (système clos). Tout au plus un réactif de neutralisation (enquantité faible), ou encore un produit antimousse. La concentration en biomasse augmente selon la courbe de croissance microbienne. Dans le même temps le substrat est consommé par

le microorganisme et le produit recherché apparaît, sa concentration (P) augmente. En fin de culture on vide le fermenteur et on extrait le produit désiré.

### **2.2.2- Fermentation discontinue alimentée (*fed-batch*)**

Dans ce cas, la fermentation commence dans un petit volume de milieu de culture (pied de cuve),ensemencé par l'inoculum. Si la concentration de l'inoculum introduit est importante la fermentation démarre plus vite et lorsque le microorganisme est en phase exponentielle de croissance, on introduit dans la cuve le milieu de culture stérile. Le débit d'alimentation est réglé de façon à ce que la concentration en substrat soit constante dans la cuve et corresponde à une étape de la phase logarithmique de croissance cellulaire. Lorsque la cuve est remplie, on coupe l'alimentation, la culture évolue alors conformément à la courbe de croissance discontinue.

### **2.2.3- La fermentation continue**

Dans ce procédé, un état d'équilibre dans la cuve est maintenu par l'alimentation de milieu et le soutirage de façon continue. Le microorganisme est resté dans un état physiologique constant ou il produit de façon maximale.

#### **➤ *Le mode continu sans recyclage de la biomasse***

La fermentation en mode continu débute en système fermé, comme une fermentation en mode discontinu, afin de permettre à la biomasse de croître jusqu'au point où elle produit de façon maximale, soit à la fin de la phase de croissance exponentielle alors que la biomasse est très élevée et que les taux de croissance et de production spécifiques sont maximaux. Lorsque ce point de la croissance est atteint, on démarre l'alimentation en milieu frais et l'on procède au soutirage du milieu usé à un débit permettant de maintenir les concentrations constantes dans le fermenteur. Une phase transitoire est observable, puis les concentrations en biomasse, en substrats et en produits se stabilisent dans la culture, dont le volume reste constant. Ainsi, les cellules microbiennes demeurent perpétuellement en phase de croissance exponentielle et l'on conserve une productivité maximale. La croissance et le produit qui se forment dans la culture ne s'y accumulent pas, car ils sont évacués vers la cuve de soutirage d'où ils pourront être récupérés.

#### **➤ *Le mode continu avec recyclage de la biomasse***

Dans une fermentation en mode continu, le taux de dilution de la culture est limité par le taux de croissance spécifique maximal ( $\mu_{\max}$ ) du microorganisme. De plus la concentration en biomasse ne peut pas être augmentée puisque les cellules sont soutirées du réacteur au même

rythme qu'elles sont formées. Pour contourner ces limites et optimiser le procédé, diverses techniques de recyclage de la biomasse sont appliquées pour récupérer la biomasse dans la culture soutirée, pour la retourner dans le réacteur. Ainsi, il n'y a pas de perte de microorganismes et la concentration en biomasse augmente dans le temps. Le moyen le plus efficace pour recycler la biomasse est la microfiltration membranaire. La culture soutirée du réacteur est filtrée sous pression sur une membrane de porosité absolue ne laissant pas passer les microorganismes. Le débit doit être égal au débit d'alimentation en milieu frais pour maintenir constant le volume de culture.

## **2.3- Modélisation des cultures en fermenteur**

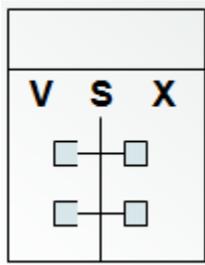
La modélisation consiste à créer une représentation simplifiée d'un problème : **le modèle**. Le modèle constitue une représentation possible du système pour un point de vue donné. Généralement, l'objectif de la modélisation est de répondre à trois besoins principaux: la compréhension des phénomènes, le contrôle et l'optimisation (illustrés précédemment). En effet, le choix du modèle nécessite la définition de ces objectifs. La modélisation oblige le scientifique à mieux comprendre le procédé, puisque, lors de l'établissement du modèle, il est nécessaire de considérer les paramètres les plus importants du procédé, leurs effets et les traduire sous forme d'équation mathématiques. Après la formulation du modèle, celui-ci est résolu et les valeurs prédites sont comparées avec les valeurs expérimentales. Des données expérimentales sont nécessaires pour établir, ou valider le modèle.

### **2.3.1- Modèle de la culture *batch***

A partir des données liées à la cinétique de croissance microbienne et la production de métabolites, il est possible de modéliser et d'optimiser les rendements et les productivités de culture qui attesteront de la performance du bioprocédé.

Considérons la culture « batch » d'une bactérie dans le but de produire de la biomasse (figure 15). Afin de faciliter l'étude, nous ferons les hypothèses suivantes:

- Le fermenteur est infiniment mélangé (culture homogène)
- Il n'y a pas de mortalité cellulaire
- Il n'y a pas de produit formé
- Le seul substrat limitant est la source carbonée (source énergétique)
- L'oxygène est apporté en excès.



**V** = volume de culture (ou volume utile) (m<sup>3</sup>)

**S** = concentration en substrat limitant au temps « t » (g/l)

**X** = concentration en biomasse (g/l) (avec une évolution de X<sub>0</sub> à X<sub>f</sub>)

L'indice « 0 » pour l'état initial et « f » pour l'état final.

**Figure 15** Illustration de la culture batch

Dans ces conditions, la courbe de croissance est comparable à celle décrite au paragraphe 1.5.2 (chapitre 1) et la courbe de Monod est applicable :

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_s}$$

La vitesse de croissance (g/l.h) est donnée par la relation suivante :

$$\frac{dX}{dt} = r_x = \mu \cdot X, \text{ donc}$$

$$r_x = \mu_{max} \frac{S}{S + K_s} X \text{ Où,}$$

X : concentration en cellules (g de cellules/litre) ;

S : concentration en substrat limitant (g/l) ;

$\mu_m$  : taux de croissance maximum (h<sup>-1</sup>) ;

K<sub>s</sub>: constante de saturation du substrat (g/l).

En ce qui concerne **la consommation du substrat**, l'équation est donnée par l'équation suivante:

$$\frac{ds}{dt} = -r_s = -\left(\frac{r_x}{Y_{x/s}} + m_s \cdot X\right)$$

$$\frac{ds}{dt} = \frac{r_x}{Y_{x/s}} + m_s \cdot X \text{ où,}$$

r<sub>s</sub> : vitesse de consommation du substrat carboné (g/l.h) ;

Y<sub>x/s</sub>:coefficient de conversion du substrat carboné en biomasse ou rendement ; de bioconversion (g de biomasse formée par g de substrat consommé);

m<sub>s</sub> : constante de maintenance (g de substrat / g de cellules. H).

➤ **Estimation de  $\mu_m$  et de K<sub>s</sub>**

L'équation de Monod est utilisée pour obtenir les valeurs maximales du taux de  $\mu_{max}$  et de K<sub>s</sub>.

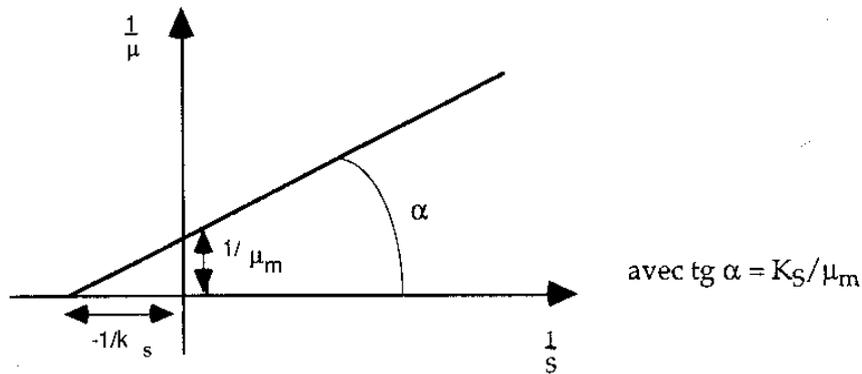
La linéarisation de cette équation donne la droite  $\frac{1}{\mu}$  en fonction du  $\frac{1}{S}$  (figure 16)

Selon Monod :

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{S + K_S}$$

L'inverse de l'équation de Monod donne :

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_{max}} \cdot \frac{S + K_S}{S}$$



**Figure 16** Estimation de  $\mu_m$  et de  $K_s$

De cette représentation, les valeurs de «  $K_s$  » et «  $\mu_m$  » peuvent être déduites

$\frac{K_S}{\mu_{max}}$  = pente de la droite du graphique

$\frac{1}{\mu_{max}}$  = ordonnée à l'origine

➤ *Estimation de  $Y_{x/s}$  et de  $m_s$*

La méthode d'estimation est similaire à celle décrite ci-dessus. La linéarisation de cette équation donne la droite  $\frac{r_S}{X}$  en fonction  $\frac{r_X}{X}$  (figure 17). En effet, à partir de l'expression de la vitesse de consommation en substrat:

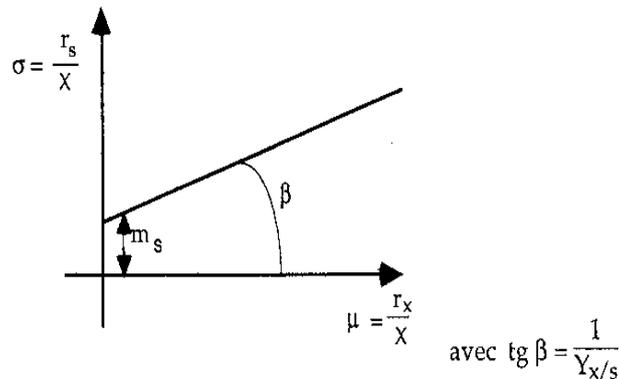
$$r_s = -\frac{ds}{dt} = \frac{r_x}{Y_{x/s}} + m_s \cdot X$$

La division de l'équation sur X donne :

$$\frac{r_s}{X} = \frac{1}{Y_{x/s}} \frac{r_X}{X} + m_s / r_x = \mu \cdot X$$

On peut écrire :

$$\frac{r_s}{X} = \frac{1}{Y_{x/s}} \mu + m_s$$



**Figure 17** Estimation de  $Y_{x/s}$  et de  $m_s$

### 2.3.1.1- Le rendement de la culture batch

Le rendement est une variable exprimant la transformation du substrat en biomasse (X) ou en produit (P). On le détermine en exprimant le rapport entre la quantité de biomasse ou de produits formés et la quantité de substrat consommé pendant une période donnée. Comme il s'agit d'un rapport sans unité, on l'exprime, par convention, en pourcentage. En mode discontinu, le rendement est calculé du début de la fermentation jusqu'à un moment choisi qui correspond généralement à l'arrêt de la fermentation.

### 2.3.1.2- Le rendement en biomasse

Le rendement en biomasse ( $Y_{x/s}$ ) est défini comme la masse sèche de cellule produite par unité de masse de substrat consommé (g/g) dans un volume donné de culture. Pour l'ensemble d'une fermentation en mode discontinu, le rendement en biomasse est donc donné par l'équation suivante :

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad \text{où,}$$

X = concentration finale en biomasse ;  
 $X_0$  = concentration initiale en biomasse ;  
 $S_0$  = concentration initiale en substrat.

### 2.3.1.3- Le rendement en produit

Le rendement en produit ( $Y_{p/s}$ ) est défini comme la masse de produit formé par unité de masse de substrat consommé (g/g) dans un volume donné de culture. Pour l'ensemble d'une fermentation en mode discontinu, le rendement en produit est donné par l'équation suivante :

$$Y_{p/s} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \text{ où,}$$

P: concentration finale en produit (g/L) ;  
 $P_0$ : concentration initiale en produit (g/L) ;  
 $S_0$ : concentration initiale en substrat (g/L) ;  
 S: concentration résiduelle en substrat (g/L).

Le substrat choisi pour calculer le rendement en produit est souvent la source de carbone et d'énergie, en particulier si le produit est dépendant de la croissance. Mais il peut être justifié de choisir un substrat différent pour certaines fermentations, en particulier dans le cas des bioconversions.

Pour certains produits dont les voies métaboliques de synthèse sont relativement simples (les métabolites primaires notamment), il est possible de prédire combien de produit sera formé à partir d'une quantité donnée de substrat, par stœchiométrie: c'est le **rendement théorique maximal** ( $Y_{p/s}$ ). Dans la pratique, ce rendement stœchiométrique est rarement atteint, car de nombreux facteurs sont susceptibles de réduire l'efficacité de la production ; mais il peut être intéressant de le calculer pour le comparer avec le rendement en produit réel obtenu ( $Y_{p/s}$ ). En effet, plus le rendement pratique se rapproche du rendement théorique maximal, plus le substrat est investi efficacement dans la synthèse du produit au cours de la fermentation.

Par exemple, dans la production d'éthanol sur sucre de maïs (glucose) par *S. cerevisiae*, le rendement théorique maximal de production peut être réduit de l'équation globale de la fermentation alcoolique :



L'équation montre que si la totalité du glucose consommé était converti en éthanol, alors la fermentation produirait 2 moles d'éthanol (2 moles.46g/mole =92g) pour chaque mole de glucose investi (1mole x 180g/mole=180g), pour un rendement théorique maximal de :

$$Y_{p/s\max} = \frac{\text{éthanol}}{\text{glucose}} = \left( \frac{92g}{180g} \right) = 0,511g/g = 51,1\%.$$

- **Le rendement en produit par rapport à la biomasse et le taux de production spécifique**

Dans le cas des produits dépendants de la croissance, les cinétiques de croissance et de production sont liées de telle sorte que la production reste toujours proportionnelle à la croissance. Ainsi, à tout moment de la fermentation, on peut évaluer indirectement la production en mesurant la croissance, à condition de connaître le rapport qui existe entre les deux. Ce rapport est le rendement en produit par rapport à la biomasse ( $Y_{P/X}$ ). Il est défini comme la masse de produit formé par unité de masse sèche de cellules produites (g/g) et peut être facilement évalué à partir des données utilisées pour calculer le  $Y_{P/X}$  et  $Y_{X/S}$  selon l'équation suivante :

$$Y_{P/X} = \frac{P - P_0}{X - X_0}$$

Ou, puisque  $Y_{P/X}$  et  $Y_{X/S}$  sont déterminés pour une consommation égale de substrat :

$$Y_{P/X} = \frac{(P - P_0)/(S_0 - S)}{(X - X_0)/(S_0 - S)} = \frac{Y_{P/S}}{Y_{X/S}}$$

Ce rendement fournit aussi une information précieuse dans l'analyse de la cinétique de production dans le cas d'un produit dépendant de la croissance. En effet, cette cinétique est analogue à la cinétique de croissance et la vitesse de synthèse d'un tel produit, à tout moment de la croissance, peut être donc modélisée mathématiquement par l'équation différentielle suivante

$$\frac{dP}{dt} = Q_p \cdot X \quad \text{Où,}$$

P : Concentration finale en produit (g/l) ;  
t : temps (h) ;  
 $Q_p$  : taux de production spécifique ( $h^{-1}$ ) ;  
X : concentration finale en biomasse (g/l).

En combinant cette équation à celle de la croissance ( $dX/dt = \mu X$ ) et à celle du rendement en produit par rapport à la biomasse, on peut démontrer mathématiquement (démonstration non présentée ici) une relation constante unissant le taux de croissance et le taux de production et s'exprimant par l'équation suivante :

$$Q_p = Y_{P/X} \cdot \mu$$

Ainsi, pour un produit dépendant de la croissance, le taux de production spécifique ( $Q_p$ ) est à tout moment proportionnel au taux de croissance spécifique ( $\mu$ ). Il a donc une valeur

maximale en phase de croissance maximale ( $Q_{p\ max}$ ) en phase exponentielle, une valeur qu'on peut aisément calculer à partir de l'équation si on connaît  $\mu_{\ max}$  et  $Y_{P/X}$ .

Pour les produits partiellement dépendant ou indépendant de la croissance, le rapport entre la croissance et la production n'étant pas constant durant la fermentation, le taux de production spécifique ( $Q_p$ ) n'est pas lié aux taux de croissance spécifique ( $\mu$ ) par une relation constante impliquant  $Y_{P/X}$ . **On détermine alors  $Q_p$  à partir de l'analyse expérimentale de la cinétique de production unique de la fermentation particulière en cause.**

#### **2.3.1.4- La productivité**

La productivité est une variable exprimant la croissance ou la production d'une culture dans le temps. On la détermine en établissant la biomasse sèche ou la quantité de produit formé dans un volume donné de culture pendant une certaine période de temps (g/L/h). En mode discontinu, la productivité fournit ainsi une mesure de la croissance ou de la production moyenne d'un litre de culture pendant une heure de fermentation, ce qui, en industrie, en fait un critère essentiel pour évaluer la capacité de production réelle d'un réacteur et, donc, l'éventuelle rentabilité d'un procédé de fermentation.

##### **➤ La productivité en biomasse**

La productivité en biomasse correspond au poids en grammes de biomasse produite par litre de culture par heure (g/l/h). On la calcule de la façon suivante :

$$P_x = \frac{X_t - X_0}{t - t_0} \quad \text{où,}$$

$P_x$  : Productivité en biomasse au temps  $t$  (g/l/h) ;

$X_t$  : Concentration en biomasse au temps  $t$  (g/l/h) ;

$X_0$  : Concentration en biomasse au temps  $t_0$  (g/l/h).

$t$  : temps (h).

De façon générale, la productivité en biomasse est calculée pour l'ensemble de la fermentation, et les temps  $t_0$  et  $t$  correspondent respectivement aux moments du départ et de l'arrêt de la fermentation. On calcule aussi une productivité totale ( $P_{x\ tot}$ ). Mais, dans certaines fermentations, la production se poursuit en idiophase, après la fin de la croissance, ce qui a pour effet de réduire la productivité totale en biomasse. Dans ces cas, il peut être pertinent de calculer la productivité maximale ( $P_{x\ max}$ ) en biomasse pour évaluer la performance de la croissance.

##### **➤ La productivité maximale en biomasse**

La productivité maximale ( $P_{x/\max}$ ) correspond à la quantité maximale de cellules qui peuvent être produites par litre de culture par heure de fermentation. La productivité maximale est calculée de la façon suivante :

$$P_{x/\max} = \frac{X_m - X_0}{t_m - t_0} \text{ où,}$$

$P_{x/\max}$  : productivité maximale en biomasse (g/l/h);  
 $X_m$  : concentration en biomasse au temps  $t_m$  (g/l/h);  
 $X_0$  : concentration initiale en biomasse (g/l);  
 $t_m$  : temps où la productivité en biomasse est maximale (h);  
 $t_0$  : temps au début de la fermentation (h).

➤ ***La productivité totale en biomasse***

La productivité totale en biomasse, quant à elle, représente tout simplement la quantité totale de cellules ont été produites à l'arrêt de la fermentation par litre de culture par heure. On la calcule de la façon suivante :

$$P_{x\text{tot}} = \frac{X_f - X_0}{t_f - t_0} \text{ où,}$$

$P_{x\text{tot}}$  : productivité totale en biomasse (g /L /h) ;  
 $X_f$  : concentration en biomasse à la fin de la fermentation (g /L) ;  
 $X_0$  : concentration initiale en biomasse (g /L) ;  
 $t_f$  : temps à la fin de la fermentation (h) ;  
 $t_0$  : temps au début de la fermentation (h).

➤ ***La productivité en produit***

Cette variable est l'une des plus importantes dans l'industrie des fermentations, car elle permet de connaître la capacité de production dans le temps d'un réacteur de volume donné en exploitation. On la calcule comme la productivité en biomasse – à laquelle elle est d'ailleurs équivalente lorsque le produit de la fermentation est la biomasse mais à partir de la concentration en produit

$$P_p = \frac{P_t - P_0}{t - t_0}$$

$P_p$  : productivité en produit au temps  $t$  (g /L /h) ;  
 $P_t$  : concentration en produit au temps  $t$  (g /L) ;  
 $P_0$  : concentration en produit au temps  $t_0$  (g /L) ;  
 $t$  : temps (h).

En mode discontinu, la productivité est calculée pour l'ensemble de la fermentation, et les temps  $t_0$  et  $t$  correspondent donc respectivement aux moments du départ et de l'arrêt de la fermentation. Pour le produit, la productivité totale ainsi calculée sera toujours équivalente à la productivité maximale puisqu'on choisira précieusement le dernier moment, au cours d'une fermentation, où la productivité est maximale pour arrêter le réacteur et récupérer le produit. En effet, il serait aberrant, sur le plan économique, de poursuivre une fermentation dont la productivité totale est en train de chuter puisque chaque heure de fermentation rapporterait alors moins de produit en moyenne.

Dans la réalité de l'industrie, l'importance de la productivité pour quantifier la productivité et évaluer la rentabilité d'un procédé de fermentation est telle qu'on voudra souvent tenir compte, dans son calcul, du temps d'inactivité du réacteur. En effet, diverses opérations essentielles empêchent l'utilisation continue du réacteur et génèrent, de ce fait, des périodes improductives qui nécessitent tout de même des investissements en termes de coûts et de main-d'œuvre. Les périodes sont: le temps de vidange ( $t_v$ ), le temps de nettoyage ( $t_n$ ), le temps de remplissage ( $t_r$ ), le temps de stérilisation ( $t_s$ ) et le temps de la récolte ( $t_{rf}$ ) Evidemment, lorsqu'on ajoute ces temps de traitement au temps de fermentation proprement dit, la productivité est significativement réduite, et on peut la calculer de la façon suivante :

Le temps total d'un cycle de production est donné par :

$$T_{\text{total}} = T_{\text{exp}} + t_0 = \frac{1}{\mu_m} \ln \frac{X_f}{X_0} + t_0$$

En effet,

$$\ln \frac{X_f}{X_0} = \mu_m \cdot T_{\text{exp}}$$

$T_{\text{exp}}$  : période de croissance exponentielle ;

$t_0$  : appelé temps de délai pour la culture avec :  $t_0 = t_v + t_n + t_r + t_s + t_{rf}$ .

On peut aussi calculer la quantité totale de biomasse produite :

$$X_f - X_0 = Y_{x/s} \cdot S_0 \text{ (g/l)}$$

La productivité totale pour une culture discontinue est :

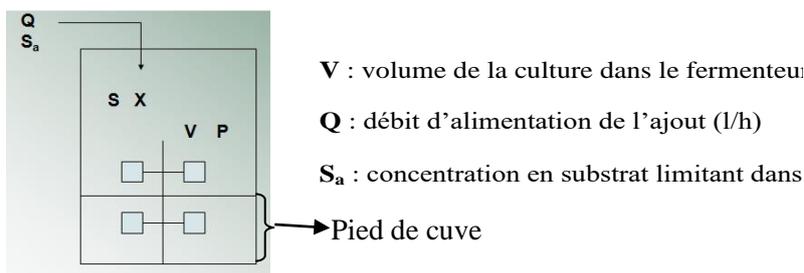
$$\text{Productivité} = \frac{X_f - X_0}{T_{\text{total}}} = \frac{Y_{x/s} S_0}{\frac{1}{\mu_m} \ln \frac{X_f}{X_0} + t_0},$$

La multiplication de cette équation par  $\mu_m$  donne :

$$\text{Productivité} = \frac{\mu_m \cdot Y_{x/s} \cdot S_0}{\ln \frac{X_f}{X_0} \cdot \mu_m \cdot t_0} \text{ (g/l.h)}$$

### 2.3.2- Modèle de la culture *fed-batch*

La culture en *fed-batch* présente deux périodes : la période de culture *batch* qui correspond à la constitution d'une population cellulaire (ou pied de cuve) et la période de culture *fed-batch* où on procède à l'ajout progressif du substrat « S » (figure 18).



**Figure 18** illustration de la culture *fed-batch*

Les hypothèses suivantes seront prises en considération :

- aucune mortalité cellulaire ;
- l'oxygène est apporté en excès ;
- la source carbonée est le substrat limitant ;
- les autres nutriments sont fournis en quantités suffisantes.

Les équations relatives à la première période sont comparables à la culture *batch*. Pour la période de production de métabolite (période *fed-batch*), quelques conditions sont choisies pour faciliter le modèle :

$S \approx 0$ : au cours du *fed-batch*, le substrat est complètement consommé au fur et à mesure de son apport ;

$V = V_0$  : volume du milieu de culture dans la cuve au début de la phase de production ;

$V < V_f$  : avec  $V_f$  est le volume final maximal (volume utile) du fermenteur ;

$X_p$  = concentration en cellules au début de la période de production.

- **Pour la biomasse** : la variation de la concentration en cellule dans le milieu de culture ne dépend que de l'effet de dilution par l'ajout  $(-\frac{dV}{dt} \cdot \frac{X}{V})$  :

$$\frac{dX}{dt} = - \frac{dV}{dt} \cdot \frac{X}{V}$$

➤ **Pour le substrat :**

La variation de la concentration en substrat dans le milieu de culture du fermenteur en fed-batch dépend de :

- la vitesse de consommation de celui-ci par la cellule ( $-r_s$ ) ;
- la dilution du milieu dans le fermenteur par l'ajout ( $-\frac{dV}{dt} \cdot \frac{S}{V}$ );
- l'apport de substrat par l'ajout ( $Q \cdot \frac{S_a}{V}$ ).

$$\frac{dS}{dt} = -r_s - \frac{dV}{dt} \cdot \frac{S}{V} + \frac{dV}{dt} \frac{S_a}{V}$$

Dans les conditions ci-dessous, on suppose que la concentration en substrat reste constante et voisine de zéro  $S=0$  donc :

$$\frac{dS}{dt} = -r_s + Q \cdot \frac{S_a}{V}$$

➤ **Pour le produit**

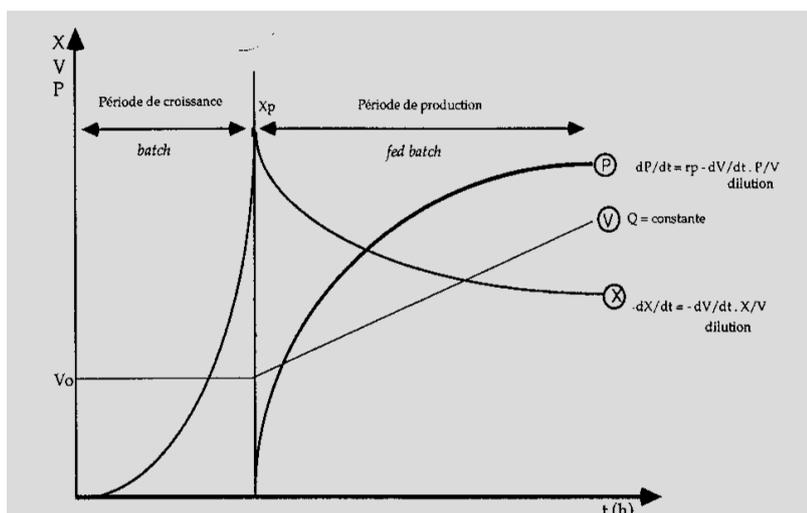
La variation de la concentration en produit du métabolisme dans le milieu de culture dépend de :

- la vitesse de production de celui-ci par les cellules  $+r_p$ ;
- la dilution du milieu de culture par l'ajout ( $-\frac{dV}{dt} \cdot \frac{P}{V}$ ) **donc :**

$$\frac{dP}{dt} = +r_p - \frac{dV}{dt} \cdot \frac{P}{V}$$

L'évolution des paramètres au cours des deux périodes de la culture est schématisée sur la figure 19. On observe au cours de la période de production :

- une augmentation linéaire du volume  $\frac{dV}{dt} = Q = C^{te}$  ;
- une diminution de la concentration cellulairesuite à la dilution  $\frac{dX}{dt} = \frac{dV}{dt} \frac{X}{V}$
- une augmentation de la concentration en produit  $\frac{dP}{dt} = r_p - \frac{dV}{dt} \cdot \frac{P}{V}$



**Figure 19** Evolution des variables X, V et P au cours des deux périodes d'une fermentation en « fed-batch »

➤ **La mortalité cellulaire**

Jusqu'à présent, l'hypothèse de travail négligeait toute mortalité cellulaire, or, pendant la phase de production, l'effet de la mortalité cellulaire peut être important. Dans ce cas, il faut donc adapter l'expression du bilan en biomasse :

$$\frac{dX}{dt} = r_x = -K_d \cdot X - Q \cdot \frac{X}{V} \text{ où,}$$

**$K_d$** : le taux de mortalité (1/h). La mortalité cellulaire a un effet sur la longueur de la phase de production mais ne modifie pas la concentration finale en produits. Dès lors, seule la productivité globale du processus est influencée.

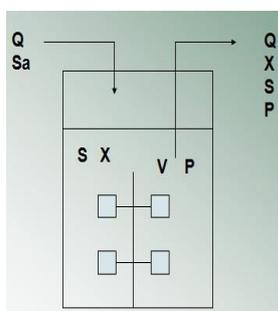
La **productivité** pour la culture fed-batch est calculée comme suit :

$$\text{Productivité (fed-batch)} = \frac{X_f - X_0}{T_{\text{total}}} \text{ avec : } T_{\text{total}} = t_{\text{fb}} + t_0 \text{ où,}$$

$t_{\text{fb}}$  = Période de la culture avec ajout et  $t_0$  = temps de délai ( $t_v + t_n + t_r + t_s$ ).

**2.3.3- Modèle de la culture continue**

La clé, pour établir une fermentation en continu, réside dans la détermination du débit d'écoulement du milieu dans le réacteur (alimentation en milieu frais et soutirage du milieu, ce qui permettra de maintenir les concentrations constantes dans la culture (figure 20).



V : volume de la culture dans le fermenteur (l)  
 Q : débit d'alimentation (l/h)  
 Sa : concentration en substrat limitant dans l'ajout (g/l)

**Figure 20** Illustration de la culture continue

Pour établir le débit d'écoulement exact permettant de maintenir la culture en croissance exponentielle dans des conditions constantes où la productivité est maximale, il faut d'abord comprendre qu'une culture en continu constitue un système en équilibre, à volume constant, perpétuellement dilué à taux fixe, ce taux de dilution est en relation avec le débit et le volume de culture selon :

$$D = \frac{\text{Débit d'alimentation}}{\text{Volume de la culture}} = \frac{Q}{V} \text{ (h}^{-1}\text{)}$$

Dont, l'évolution de la biomasse est :

$$\frac{dx}{dt} = rx - D \cdot X$$

Par définition  $rx = \mu X$  donc

$$\frac{dx}{dt} = \mu X - D \cdot X = \frac{dx}{dt} = X - (\mu - D)$$

avec:

+ $\mu \cdot X$ : composante positive de la croissance des cellules;

- $D \cdot X$  = composante négative résultant de la dilution par le milieu frais.

➤ **Pour le substrat**

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot S_a - r_s - D \cdot S \text{ avec :}$$

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_a - S) - r_s$$

+ $D \cdot S_a$  : composante positive résultant du substrat apporté par le milieu frais ;

- $r_s$  : composante négative résultant de la consommation par les cellules ;

- $D \cdot S$  : composante négative résultant de l'effet de la dilution.

➤ **Pour le(s) produit(s) :**

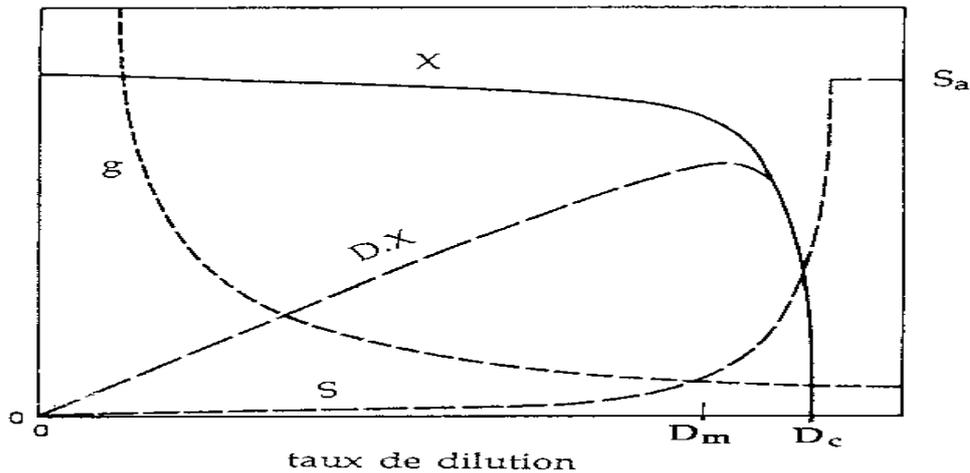
$$\frac{dP}{dt} = r_P - D \cdot P$$

$r_P$ : composante positive résultant de la synthèse par les cellules ;

$D \cdot P$ : composante négative résultant de l'effet de la dilution.

Par conséquent, lors de la constitution de la culture continue, l'évolution de la concentration en biomasse, en substrat et en produit est déterminé par le choix du taux de dilution "D". Ce

paramètre devra être bien choisi selon les objectifs de la culture continue. La figure 21, va nous permettre de discuter le choix d'un taux de dilution approprié.



**Figure 21** Effet du taux de dilution sur la concentration à l'équilibre en biomasse « X », en substrat « S », le temps de génération « g » et la productivité « D.X » (D<sub>m</sub> : est le taux de dilution correspondant à la production maximale et D<sub>c</sub> : est taux de dilution critique)

Trois cas peuvent se présenter :

$\mu < D \rightarrow$  lessivage

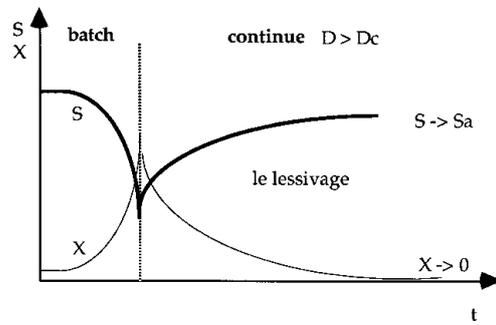
$\mu = D$  ou  $\mu_{\max} = D \rightarrow$  turbidostat

$\mu_m > D \rightarrow$  chemostat

En effet, si «  $D > D_c$  » alors «  $D > \mu_{\max}$  » et le taux de dilution reste toujours supérieur au taux de croissance. Selon l'expression, on a :

$$\frac{dX}{dt} = X \cdot (\mu - D) \text{ avec, } (\mu - D) < 0 \text{ et donc } \frac{dX}{dt} < 0$$

La concentration cellulaire chute dans le fermenteur jusqu'à atteindre la disparition complète des cellules et le remplacement par du milieu frais : c'est le **lessivage complet** de la culture (figure 22).



**Figure 22** Evolution des paramètres pour une culture continue avec lessivage (« X » tend vers 0 et « S » tend vers Sa).

En pratique, pour une fermentation continue, on choisira un taux de dilution « D » tel que :  $0 < D \leq D_c$  (ou  $0 < D \leq \mu_m$ ). Pour toutes ces valeurs du taux de dilution, les paramètres de culture continue évoluent vers un état stationnaire « apparent » défini par l'établissement d'un équilibre :

- **Pour la biomasse :**

$$X = X_{eq} = \text{Cte, donc, } r_x = D \cdot X \text{ (ou } \mu = D)$$

- **Pour le substrat:**

$$S = S_{eq} = \text{Cte, donc, } r_s = D(S_a - S)$$

- **Pour le produit**

$$P = P_{eq} = \text{Cte, donc } r_p = DP$$

Essayons de comprendre la raison de l'établissement de cet équilibre au cours de la culture continue (figure 23). Supposons une culture continue telle que le milieu frais à une concentration  $S_a$  soit ajouté en phase exponentielle de croissance (les conditions initiales sont :  $\mu = \mu_m$ ;  $S = S_0$  et  $X = X_0$ ).

Prenons la situation telle que le taux de dilution choisi soit strictement inférieur au taux de croissance initial ( $< \mu_m$ ) :  $D \ll \mu_m$  (avec  $D = \text{Cte}$ ), et  $S_0 \approx S_a$

**Au cours de la période de transition** (avant l'établissement de l'équilibre), la biomasse augmente tandis que la teneur en substrat diminue suite à la consommation par les cellules :

$$\frac{dX}{dt} = X \cdot (\mu_m - D) \text{ avec, } (\mu_m - D) \gg 0$$

Avec,  $\frac{dX}{dt} \gg 0$  et donc la concentration cellulaire augmente rapidement dans le bioréacteur

- **En ce qui concerne la concentration en substrat**

$$\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_a - S_0) - r_s: \text{ avec, } S_0 \approx S_a$$

Dès lors,  $r_s \gg D \cdot (S_a - S_0)$ , ainsi,  $\frac{dS}{dt} \lll 0$

Ce qui signifie que la teneur en substrat diminue suite à la consommation par les cellules.

Selon la relation de Monod, cette diminution de la concentration en substrat affecte le taux de croissance : Par conséquent, «  $\mu$  » diminue et devient inférieur à «  $\mu_m$  »

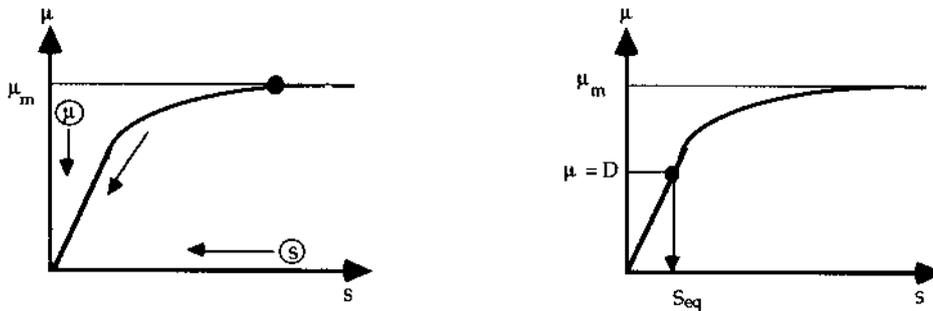
**Lors de l'établissement de l'équilibre** : le taux de croissance des cellules dans le fermenteur continue à chuter et tend progressivement vers la valeur du taux de dilution «  $D$  » choisi : dès lors ( $\mu - D$ ) diminue et tend vers 0 (figure 23).

$$\text{Selon } \frac{dX}{dt} = X \cdot (\mu - D)$$

$\frac{dX}{dt}$  tend vers 0 et par conséquent la biomasse «  $X$  » vers une constante ( $X_{eq}$ )

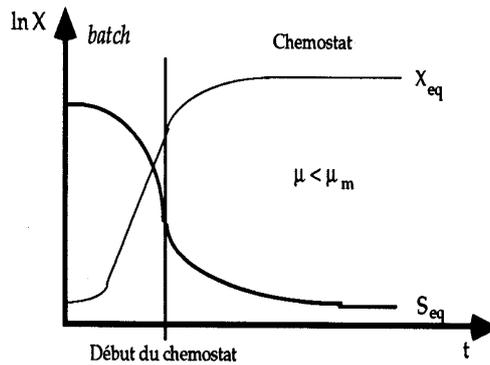
De plus, la concentration en substrat «  $S$  » diminue et ( $S_a - S$ ) augmente.

Selon  $\frac{dS}{dt} = D \cdot (S_a - S_0) - r_s$ ,  $\frac{dS}{dt}$  tend vers 0 et «  $S$  » vers une constante ( $S_{eq}$ )



**Figure 23** Etablissement de l'équilibre lors d'une fermentation continue en « chemostat »

Dans ce cas, le taux de croissance atteint à l'équilibre ( $\mu_{eq}$ ) est inférieur à  $\mu_m$  et résulte de l'établissement d'une concentration limitante en un substrat ( $S_{eq}$ ). Pour ces conditions de travail, c'est la concentration en ce substrat limitant à l'équilibre qui contrôle la culture continue. Ce type de fermentation continue est dénommé chemostat car l'état stationnaire résulte de l'action limitante de la concentration en un élément chimique du milieu de culture figure 24.



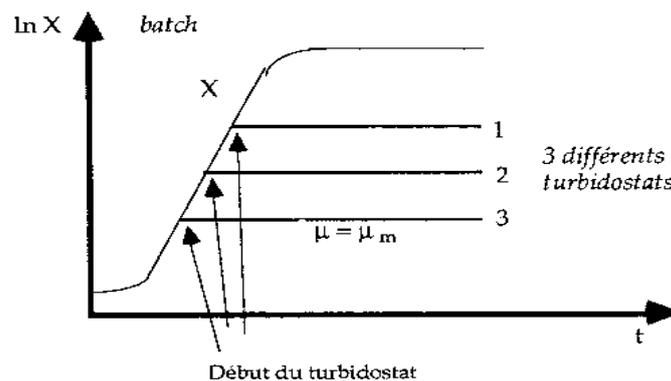
**Figure 24** Etablissement de l'équilibre lors d'une culture continue de type chemostat

Reste à décrire une dernière situation possible. En effet, le taux de dilution ( $D$ ) peut être choisi de telle manière que celui-ci soit égal au taux de croissance initiale ( $\mu_m$ ), c'est à dire lors de l'instauration de la fermentation continue.

Comme la culture est en phase de croissance exponentielle

$$\frac{dX}{dt} = X \cdot (\mu_m - D) = 0, \text{ Donc, } X=X_0=\text{constante}$$

La concentration en biomasse est donc maintenue constante et égale à la valeur du début de l'ajout. Dans ces conditions, aucun substrat n'est limitant. De plus, la concentration en cellules à l'équilibre peut être choisie arbitrairement et ce type de fermentation continue est dénommée turbidostat. La figure 25 présente la zone de travail du turbidostat.



**Figure 25** Zone de travail dans le cas d'un turbidostat

Pour les conditions de culture déterminées et constantes, on peut résumer les différents modes de fermentation continue comme suit (tableau 4)

**Tableau 4** Evolution des paramètres de la culture continue

Choix du taux de dilution	Type de culture continue	Evolution des paramètres
$D > \mu_m$	Lessivage	$X \rightarrow 0$ $S \rightarrow S_a$
$D < \mu_m$	Chemostat	$X \rightarrow X_{eq}$ et $S \rightarrow S_{eq}$ $\mu \rightarrow \mu_{eq} = D$
$D = \mu_m$	Turbidostat	$X = \text{constante}$ et $\mu = \mu_m$

➤ *Application du modèle de culture en chemostat*

Considérons le cas d'un modèle simple avec un seul substrat limitant (substrat carboné) où l'oxygène est apporté en excès et où la mortalité cellulaire est négligée. Dans ces conditions, on peut essayer de prévoir l'état stationnaire :

$X_{eq}$  : concentration en biomasse à l'équilibre ;  
 $S_{eq}$  : concentration en substrat limitant à l'équilibre.

À l'équilibre:

$$\frac{dX}{dt} = \mu \cdot X - D \cdot X = 0$$

Donc,

$$\mu \cdot X = D \cdot X$$

Et comme :

$$\mu = \mu_m \cdot \frac{S}{K_s + S} = \text{ou } \mu_{eq} = D \text{ (tableau 4) on peut écrire:}$$

$$D = \mu_m \cdot \frac{S_{eq}}{K_s + S_{eq}}$$

$$\text{L'évolution du substrat} = \frac{dS}{dt} = D \cdot (S_a - S) - r_s = 0$$

Donc à l'équilibre :

$$D \cdot (S_a - S_{eq}) = r_s \text{ avec : } r_s = \frac{r_x}{Y_{x/s}} + m_s X_{eq} \text{ on peut écrire :}$$

$$D \cdot (S_a - S_{eq}) = \frac{r_x}{Y_{x/s}} + m_s X_{eq} \text{ ou,}$$

$$D \cdot (S_a - S_{eq}) = D \frac{X_{eq}}{Y_{x/s}} + m_s \cdot X_{eq} = X_{eq} \left( \frac{D}{Y_{x/s}} + m_s \right)$$

Donc :

$$D \cdot (S_a - S_0) = X_{eq} \cdot \left( \frac{D}{Y_{x/s}} + m_s \right)$$

À partir de cette équation on peut retirer la concentration des cellules à l'équilibre comme suit :

$$X_{eq} = \frac{Y_{x/s} \cdot D}{D + m_s \cdot Y_{x/s}} \cdot (S_a - S_{eq})$$

Cette expression peut être simplifiée si on néglige l'énergie de maintenance

$$X_{eq} = Y_{x/s} (S_a - S_{eq})$$

La concentration cellulaire à l'équilibre ( $X_{eq}$ ) est fonction de la concentration en substrat limitant à l'équilibre ( $S_{eq}$ )

➤ **La productivité (chemostat)**

Dans le cas d'une culture continue (type chemostat), la productivité maximale est donnée par

$$P_{max} = D_m \cdot X_m \text{ avec,}$$

$$\ll X_{eq} = X_m \gg \text{ pour } \ll D = D_m \gg$$

**N.B :** La productivité (ou rendement horaire) est nettement supérieure aux cultures discontinues (batch et *fed-batch*) (moins de temps mort).

## TD3 : Exemples d'application de différents types de culture en industries

### Exemple 1

Le tableau ci-dessous fournit les mesures de biomasse, de glucose consommé et d'éthanol produit, au cours d'une fermentation alcoolique de 28 heures avec la levure *Saccharomyces cerevisiae* cultivée en bioréacteur dans un milieu à base de sucre de maïs. Ces données permettent de calculer plusieurs variables attestant de la performance du procédé.

Tableau : Suivi de la production d'éthanol par *Saccharomyces cerevisiae* en bioréacteur ( $T^\circ = 30^\circ\text{C}$ ,  $\text{pH} = 6,0$ , conditions d'anaérobies).

Temps de fermentation (h)	Biomasse (X en g/L)	ln X	Concentration en glucose (S en g/L)	Concentration en éthanol (P en g/L)
0	1.5	0.41	250	6.25
5	2.0	0.69	237	10.2
9	3.5	1.25	208	32.9
13	6.2	1.28	152	52.0
16	8.2	2.10	108	65.0
20	9.4	2.24	65.0	76.0
24	9.8	2.28	43.0	84.5
28	9.9	2.29	20.0	90.0

1- Le taux de croissance spécifique maximal de la levure ( $\mu_{\text{max}}$ ) correspond à la pente de la droite obtenue en phase exponentielle sur la courbe de croissance, soit entre 5 et 13 heures de fermentation. Calculer le ?

2- Le temps de génération (G) est calculé directement à partir de la valeur de  $\mu_{\text{max}}$

3- Calculer le rendement en biomasse pour l'ensemble de la fermentation ?

4- Calculer le rendement en éthanol ?

5- Calculer le rendement en éthanol par rapport à la biomasse ?

6- Calculer le taux de production spécifique ?

7- Calculer la productivité maximale en biomasse ?

8- Calculer la productivité totale en biomasse ?

9- Calculer la productivité en éthanol pour toute la fermentation ?

### Exemple 2

1. Les systèmes biologiques présentent l'ensemble des dispositifs et des appareils conçus pour le développement et la multiplication des microorganismes (matériel vivant):

- Quel est le système biologique le plus utilisé en Biotechnologie, définissez ce système et
- décrivez le, par un schéma explicatif.

2. On peut distinguer, sur la base de la technique d'alimentation en substrat, différents principes de culture, citez les.

3. Afin d'étudier les relations et les interactions existantes entre les différentes parties des systèmes biologiques, les chercheurs ont tenté d'établir des modèles pour cet objectif :

- Expliquez le modèle suivant et donnez sa courbe caractéristique.

$$\mu = \mu_{\max} \cdot S / (S + K_s)$$

-Quelle est la signification du  $K_s$

### Exemple 3

Afin de prédire le comportement de la culture continue à partir d'une culture batch, une étude de *Bacillus subtilis* a été réalisée en fermenteur de 300 litres infiniment mélangé et suffisamment aéré. Les substrats azotés et carbonés sont respectivement, la peptone et le glucose, ce dernier étant le substrat limitant. La température et le pH sont maintenus constants par un système de régulation pour des valeurs égales respectivement à 30°C et 7, les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau suivant.

$\mu_m$	$K_s$	$Y_{x/s}$	Sa	V
1.43 h <sup>-1</sup>	0.19 g/l	0.48 g/g	20 g/l glucose	300 litres utiles

1- Calculer les valeurs de «  $S_{eq}$  » et «  $X_{eq}$  » pour un taux de dilution  $D = 0,5 \text{ h}^{-1}$

On donne la formule suivante:  $S_{eq} = K_s \cdot \frac{D}{\mu_m - D}$

2- Calculer le débit d'alimentation Q?

3- Si la productivité  $P = 4,78 \text{ g/l/h}$ , trouver la production en kg MS / jour

**NB:** il faut démontrer la formule de  $X_{eq}$  lorsque le coefficient de maintenance est négligé.

## 2.4- Bilans des bioréacteurs

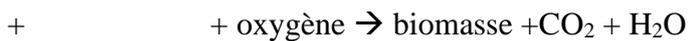
L'étude du bilan des procédés microbiologique en fermentation est basée sur le principe de conservation de la matière et de l'énergie.

### 2.4.1- Bilan chimique

Lorsqu'un microorganisme est introduit dans un milieu de culture lui convenant bien, il y développe une activité en relation avec sa condition et les conditions environnantes. Cette activité peut présenter trois aspects liés l'un à l'autre :

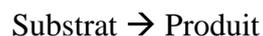
- **Les réactions de synthèse de biomasse (croissance)** : le substrat carboné est utilisé comme matériau de construction et généralement comme source d'énergie. Elles sont décrites par l'équation:

Substrats carbonés



substrats minéraux

- **Les réactions de bioconversion et de synthèse des produits** : dans de nombreux cas, les microorganismes sont mis en oeuvre pour produire un métabolite P ou transformer une molécule. Elles se ramènent à :

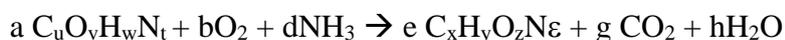


-**Les réactions dites de maintenance**: les réactions autres que celles conduisant à la formation de biomasse et de métabolites seront appelées réactions de maintenance. Il est généralement admis qu'elles conduisent à l'oxydation totale des substrats et peuvent s'écrire selon l'équation :



Ces réactions doivent donc altérer le rendement.

L'équation chimique suivante représente le bilan chimique de la croissance dans le cas d'une fermentation où la biomasse est le seul produit formé.



Le terme  $C_xH_yO_zN_\varepsilon$  correspond à la formule brute de la matière sèche cellulaire découlant d'une analyse alimentaire. Notons que les cendres qui représentent 10% de la matière sèche n'est pas reprise.

Différentes formules brutes de la biomasse ont été proposées (tableau 5) mais dans la plupart des cas, la teneur en carbone est voisine de 50 % et la teneur en azote de 9%.

**Tableau 5** Composition et formule de la biomasse

Organisme	Forme brute
Levure	$C_6H_{11}O_3N$
	$C_5H_7O_2N$
	$C_6H_{10,9}O_{3,06}N_{1,03}$

**- Calcul du besoin en oxygène d'une culture**

Soit la culture batch d'un microorganisme pour la production de biomasse, telle que la concentration en cellule passe de  $X_0$  à  $X_f$ . La culture est en phase de croissance exponentielle et les conditions de culture restent constantes. La consommation en oxygène est donnée par la relation suivante:

$$r_{O_2} = r_{X/Y_{X/O_2}} + m_{O_2} \cdot X \quad (g_{O_2} / l.h) \text{ avec, } r_x = \mu \cdot X$$

$$r_{O_2} = \mu \cdot X / Y_{X/O_2} + m_{O_2} \cdot X$$

On peut écrire cette relation de la façon suivante :

$$r_{O_2} = (\mu / Y_{X/O_2} + m_{O_2}) \cdot X$$

Au cours de la culture, la consommation en oxygène est une fonction exponentielle du temps, elle passe de :

$$r_{O_2} = (\mu_{max} / Y_{X/O_2} + m_{O_2}) \cdot X_0$$

Et

$$r_{O_2} = (\mu_{max} / Y_{X/O_2} + m_{O_2}) \cdot X_f$$

On donne la relation de  $m_{O_2}$  :

$$m_{O_2} = m_s \cdot (32 \cdot n_{O_2} / MM_s) \text{ où,}$$

$n_{O_2}$ : nombre de mole d'oxygène pour l'oxydation complète en CO<sub>2</sub> et H<sub>2</sub>O

La respiration spécifique est égale :

$$\sigma_{O_2} = \frac{r_{O_2}}{X} = \left( \frac{\mu_{max}}{Y_{X/O_2}} + m_{O_2} \right) = \text{Cte}$$

La respiration spécifique est une caractéristique de la phase exponentielle de croissance avec :

$$\mu = \mu_{max} = \text{Cte} ;$$

$Y_{X/O_2}$  et  $m_{O_2}$  ; sont renseignés dans des tables publiées ou sont estimés expérimentalement par la méthode de méthode de Mateles, dont sa formule est la suivante :

$$Q_{O_2} = 16 \cdot \left( \frac{2a + \frac{b}{2} - c}{Y_{X/O_2}} + \frac{O\%}{1600} - \frac{C\%}{1200} \cdot 2 - \frac{H\%}{100} \cdot \frac{1}{2} + \frac{N\%}{1400} \cdot \frac{3}{2} \right)$$

Le rendement associé à la croissance peut être calculé comme suit :

$$Y_{X/O_2} = \frac{1}{Q_{O_2}} \text{ (g biomasse/g O}_2\text{)}$$

## 2.4.2- Bilan énergétique

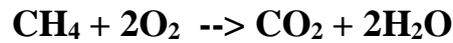
L'activité métabolique des microorganismes est un procédé énergétique résultant d'un ensemble complexe de réactions biochimiques. Le résultat de cette activité biochimique est le transfert d'énergie des molécules constituant le substrat énergétique vers d'autres molécules biosynthétisées qui entrent dans la composition de la biomasse et des produits formés.

### 2.4.2.1- Notions d'électrons disponibles

Les réactions de combustion des matières organiques s'accompagnent d'une libération d'énergie dont la quantité est fonction de la valeur énergétique de ces matières. Ces réactions se traduisent également par un échange d'électrons (oxydation) et on a pu montrer que le nombre d'électrons mis en jeu (ou nombre d'électrons disponibles = nombre d'ave<sup>-</sup>) ramené à l'unité d'atome de carbone du substrat, est proportionnel à la valeur énergétique de ce substrat. Cette relation a été étudiée par PAYNE qui, à la suite d'un grand nombre d'expériences de combustion et de mesure de la chaleur de combustion, a démontré que pour 1 ave<sup>-</sup> échangé, il y a libération de 26,5 Kcal.

### Exemples :

-combustion du méthane :



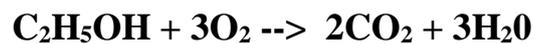
$2 \times 4 = 8$  ave<sup>-</sup> mis en jeu par molécule gramme  
chaleur de combustion =  $8 \times 26,5 = 212$  Kcal/môle

-combustion du glucose :



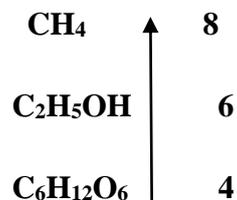
$6 \times 4 = 24$  ave<sup>-</sup> échangés par molécule gramme  
chaleur de combustion =  $24 \times 26,5 = 636$  Kcal/môle

-combustion de l'éthanol :



$3 \times 4 = 12$  ave<sup>-</sup> échangés par molécule gramme  
chaleur de combustion :  $12 \times 26,5 = 318$  Kcal/môle

**Si on représente sur une échelle le nombre d'électrons disponibles par atome de carbone, on obtient**

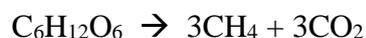


Cette échelle permet de classer les différentes matières organiques en fonction de leur valeur énergétique.

Ave<sup>-</sup> : est une mesure du degré de réduction d'un substrat et peut donc être obtenu en multipliant par 4 le nombre de môle d'O<sub>2</sub> nécessaire à une combustion complète du substrat.

#### **2.4.2.2- Application de cette notion d'ave<sup>-</sup> en fermentation**

**-Fermentation méthanique**



24 ave<sup>-</sup> (le glucose)

24 ave<sup>-</sup> (le méthane)

**N.B.** : aucune énergie de combustion n'est entraînée avec CO<sub>2</sub>

Il y a concentration de l'énergie sur une partie des atomes de carbone (concentration 2 fois car 6 atomes de C du glucose → 3 atomes de C de 3 CH<sub>4</sub>).

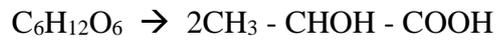
***-Fermentation alcoolique***



24 ave<sup>-</sup> (glucose)          (24 ave<sup>-</sup> ethanol)

Donc, Il y a concentration de l'énergie 1,5 fois.

***Fermentation lactique (voie homofermentaire)***



24 ave<sup>-</sup> (glucose)          24 ave<sup>-</sup> (A. lactique)

Donc, Il y a conservation de l'énergie et des atomes de C; il y a seulement transformation de molécules.