

A3 RM1 Introduction MI 2020

Durant une longue période, l'existence des organismes invisibles à l'œil nu n'était qu'à peine supposée ensuite l'histoire de la microbiologie s'est clairement développée en trois phases

1 - phase 1 17^{ème} / 18^{ème} siècle premières observations microscopiques

2 - phase 2. 19^{ème} siècle, a permis de poser définitivement la base à cette science. Particulièrement Pasteur (1822-1895) et Koch (1843-1910).

3 - 20^{ème} siècle : la microbiologie se spécialise dans trois domaines principaux : la physiologie, la biochimie et la génétique. (penicilline - Fleming ¹⁸⁷¹⁻¹⁹⁵⁵ 1928 Antibiose)

Mais dans ^{un} passé lointain les microbes avaient leur place sans que l'homme ne sache ~~so~~ et touche le près le rôle que jouait ces petits êtres vivants.

- I - la ~~lente~~ levure autre fois
- II - le passage de la cuisine au labo à l'industrie (fromage, pain)

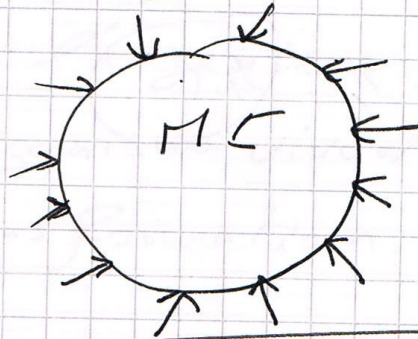
Proto-biotechnologie

Mais qui est derrière ce passage

- 1. - Louis Pasteur (Période - Intermédiaire)
- * Démontre que la fermentation alcoolique et d'autres types de fermentations sont le résultat d'une activité microbienne
- * Développe le procédé de pasteurisation

↳ utilisation purement empirique (← initialement magique)

Domaine en Relation avec la
Microbiologie Industrielle.



Definition

La Biotechnologie consiste en l'exploitation industrielle des potentialités des microorganismes, des cellules animales et végétales ainsi que des fractions subcellulaires qui en dérivent.

Elle est par nature pluridisciplinaire (apport de la biologie mais également du génie chimique et des sciences de l'ingénieur)

* Disciplines de la biotechnologie

a) Génie microbiologique:

Art de l'ingénieur appliqué à l'utilisation d'un organisme vivant comme agent de transformation.

b) Génie biochimique ou enzymatique:

Art de l'ingénieur chimiste appliqué à la préparation, la purification ou la caractérisation de molécules biochimiques isolées, à des fins catalytiques de transformation de matière.

c) Génie génétique: technique de recombinaison artificielle de matériaux génétiques provenant d'organismes vivants.

d) Génie biomoléculaire:

Ensemble du génie biochimique et génétique.

Débat Cours Jura 2023

On parle de Réacteur lorsqu'il s'agit d'industrie chimique (Réaction chimique) que dans le cadre de la biochimie (Réactions enzymatiques).

Lorsque la réaction est initiée par un organisme vivant, on utilisera plus spécifiquement le terme de Bioreacteur appelé aussi fermentateur, propagateur ou terme plus récent Autoculteur.

M4 B1111

On peut Définir la Biotechnologie
ou la Microbio Industrielle

Comme suit-

||

Biotechnologie - Bioprocédé

⇓

Ensemble des Méthodes et des Techniques
qui utilisent des systèmes biologiques
en vue de la production de biens et de
Services

↓

L'utilisation des organismes vivants et
de leurs métabolites par l'Industrie

↓

L'art de faire travailler les
organismes en Industrie

1

Cours N° 3 du 22/02/2020

Étapes d'un bioprocédé (petite ou grande échelle)

- 1- Développement d'un inoculum hautement producteur. (expliquer)
- 2- Formation d'un milieu de culture approprié. (par les étudiants)
- 3- Stérilisation du milieu de culture, du bioréacteur et de ses composants.
*
4- la croissance optimale et contrôle de la souche dans le bioréacteur
- 5- Séparation et purification du produit final.
6. Élimination des effluents et résidus du procédé

* Bioréacteur = fermenter = Cytoculteur

Resistant → suppression, corrosion... (2)

Bioréacteur en verre (Vol 10L)

" en inox (Vol 2L → 100 000 L)...

- Choix du Bioreacteur dépend de :
- 1- Les Caractéristiques du micro-organisme sélectionné
 - 2- du milieu de culture utilisé
 - 3- du produit que l'on veut obtenir

Paramètres à contrôler obligatoirement de manière rigoureuse :

- 1- Température
- 2- pH
- 3- aération
- 4- agitation du milieu
- 5- Concentration en substrat
6. Formation de la mousse

Aeration Agitation

M₁ B₁ M₂

* L'Agitation représente à l'échelle industrielle un facteur limitant important, puisqu'elle influence la quantité finale du produit de la fermentation. ainsi que le Débit d'air. lorsqu'il est sup à la valeur critique, on observe une diminution de la production avec la diminution de l'agitation.

* L'air arrive au niveau des cellules via par phénomène de diffusion à travers les minces membranes. Donc l'air contenu dans les bulles de gaz doit traverser un certain nombre d'obstacles, pour que l'air puisse être utilisé par le microbe.

① L'enveloppe gazeuse au niveau du périmètre de la bulle de gaz. cette dernière a un effet important sur la liquéfaction des gaz (O_2 , N_2). ①

② Développement des liquides au niveau de l'espace entaeriel. Sol - liquide

③ Développement des liquides au niveau de l'espace entaeriel. liquide - vapeur (la transition est en dépendance de la température de milieu)

→ une régulation à trois fonctions

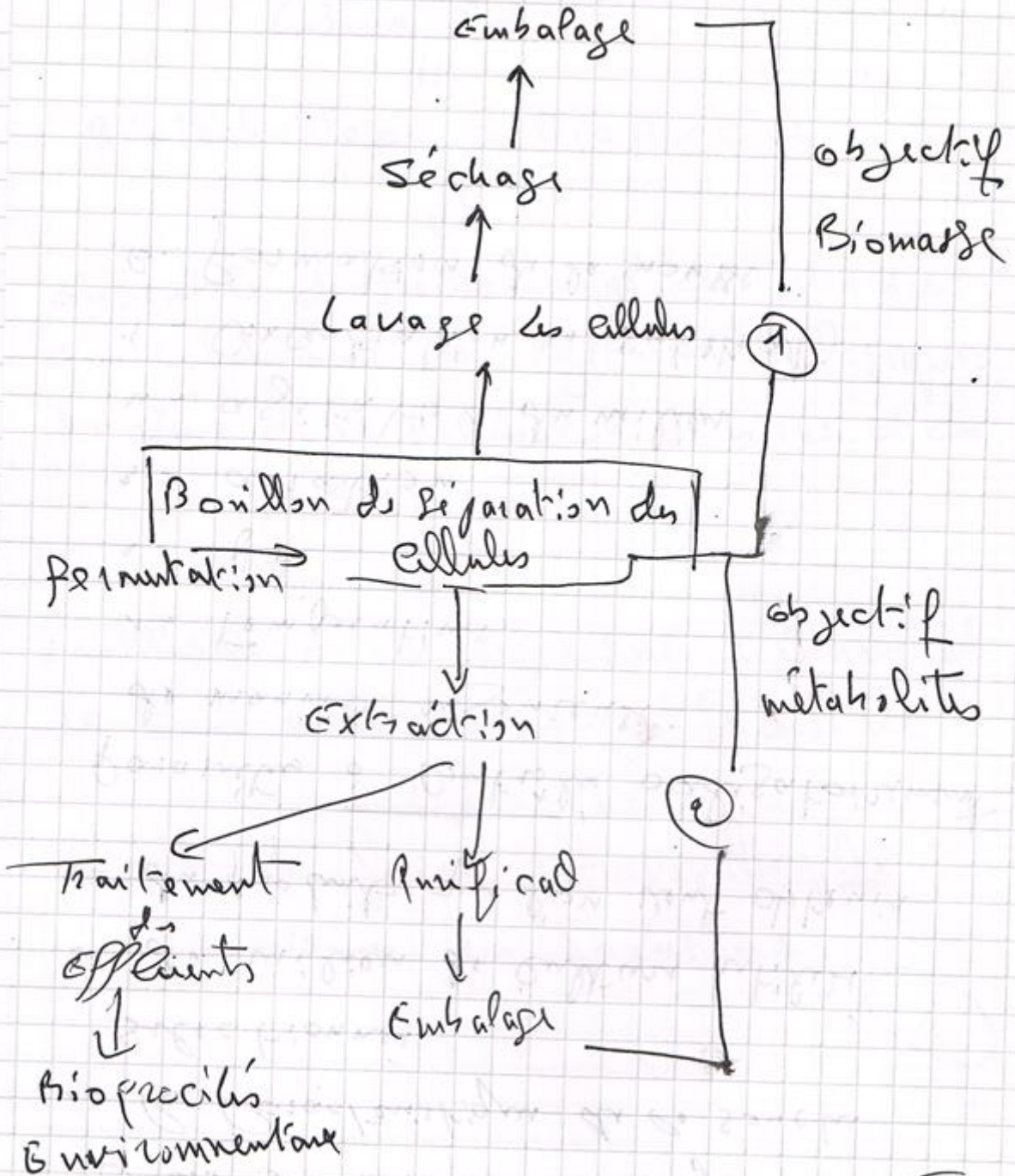
1 - réguler le volume des bulles de gaz en de l'eau → augmentation des espaces entaeriel

2 - réguler le transport de l'eau.

3 - garder la liquides en mouvement (anisotropie) pour permettre la diffusion et l'eau dans la base de l'organisme en substrat sur l'ensemble de la population microbienne.

③ Garder la température stable au sein de l'organisme.

Séparation et purification du produit final



Types de Bioreacteurs :

* Bioreacteurs à agitation mécanique
il existe aussi des bioreacteurs pour sbs solides.

a - Bioreacteurs à fermental liquide :

- leur performance est liée à :

- Construction géométrique

- Conception Interne

- Dispersion du gaz (aération, agitation)

- les modes opératoires

les plus utilisés c'est les cuves agitées en raison de :

- Transfert de masse gaz-liquide

- mixage du liquide

- l'hydrodynamique des fluides ~~et les~~

- les forces de cisaillement

* Cuve mécaniquement agitée (production d'ATP)

* Cuve mécaniquement agitée aérée (Biomasse)

O_2 est très peu soluble dans l'eau



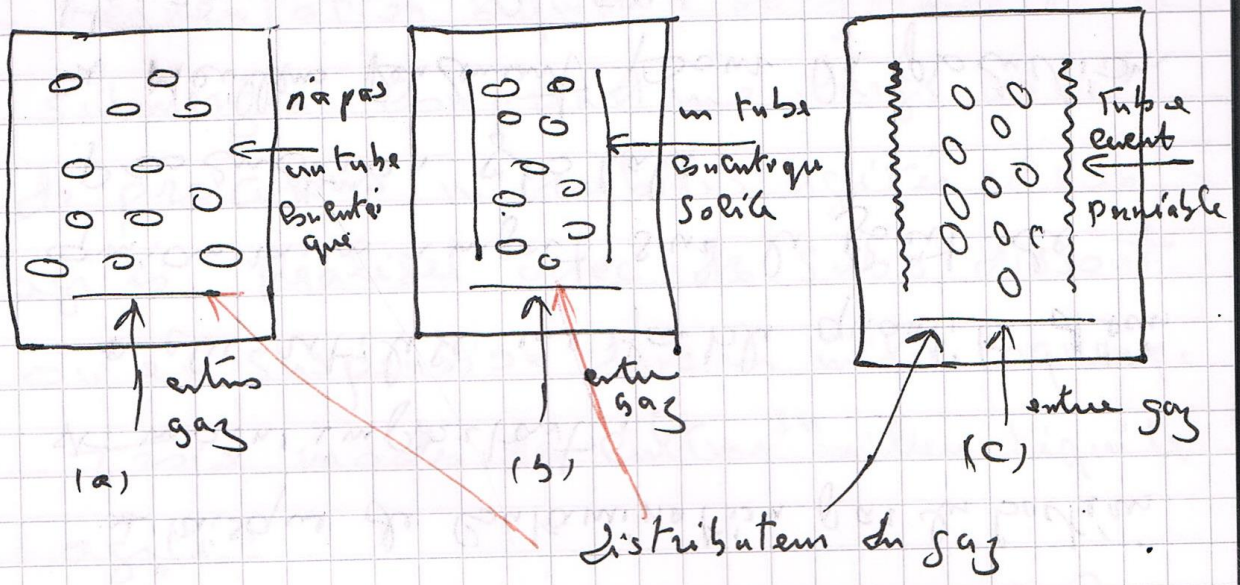
de fermentation est alors le sbs limitant.

La vitesse globale de formation des moles est la résultante du couplage entre leur vitesse propre de croissance et la vitesse de transfert de l'oxygène de la phase gaz dispersé vers le milieu de fermentation.

Donc, la puissance mécanique consommée sert à la fois à mélanger la phase liquide et à générer une interface importante entre les bulles de gaz et le milieu de fermentation.

- Bioréacteurs avec agitation pneumatique (Air-lift). Utilisés dans des fluides moins visqueux avec besoin d'agitation douce et un bas coût de transfert de l'oxygène.
- Dans ce type de réacteur on utilise l'énergie cinétique des bulles de gaz pour réaliser le mélange et l'aération.

Agitation pneumatique



- / a réacteur colonne à bulle
- / b réacteur Air-lift
- / c réacteur Air-lift avec } T.C perméable }
 ↓
 net draft tube }

* Bioreacteurs membranaires

* Bioreacteurs à substrats solides

- 1 - Bioreacteurs à plateaux (Tray bioreactor)
- 2 - " à lit fixe (Packed bed bioreactor)
- 3 - " à tambour rotatif (Rotating drum Bioreactor)
- 4 - " à lit fluidisé (Fluidized bed Bioreactor)



* Inconvénients et avantages de la fermentation en milieu solide :

① - Divers problèmes au cours d'une FMS

* faible capacité à réguler les paramètres influençant la FMS.

* forte hétérogénéité du milieu

* le passage à grande échelle

* l'estimation de la biomasse

② Cependant un certain nombre d'avantages :

* se prête bien à la croissance de champignons

* le procédé se déroule à faible taux d'humidité

* risque de contamination par des bactéries
* moins important.

* elle utilise une faible quantité d'eau qui aura un impact sur le goût de production globale.

* Meilleur rendement pour la production d'enzyme que la FML.

- Fermentation liquide : La fermentation submergée comprend une large variété de processus microbiens agités et non agités, réalisés avec des subs dissout ou en suspension dans un milieu aqueux.
Trois modes de cultures^{en} milieu liquide agité :

- 1 - Culture liquide agité en batch
- 2 - Culture discontinue alimentée (fed-batch)
- 3 - Culture continue

Important. A Retenir avant les
Trois types ou modes de fermentation

- Le suivi d'un processus microbien dans lequel il y a production de métabolites nécessite l'établissement de la courbe d'évolution de la concentration du produit formé.

Par conséquent on trace la courbe d'évolution de la CPJ "P" (g/l) en parallèle à l'établissement de la courbe de croissance cellulaire.

Des exemples de cette courbe "P = f(t)" sont représentés sur les figures qui vont suivre.

- De cette courbe, on peut déduire à tout moment, la vitesse de production du composé

$$\frac{dP}{dt} = v_p \text{ (g/l milieu} \cdot \text{h)} \quad (1)$$

de même pour μ , on définit la vitesse spécifique de production du métabolite "X" comme:

$$X = \frac{v_p}{X} = \frac{1}{X} \cdot \frac{dP}{dt} \text{ (g produit/g de cellule} \cdot \text{h)} \quad (2)$$

- on utilise couramment en industrie la fermentation la notion productivité (ou rendement Boraire) qui est définie comme le rapport de la concentration obtenue lors de l'arrêt de la culture à la durée totale d'un cycle de production.

$$\text{Productivité} = \frac{P_f}{t_{\text{total}}} \quad (\text{g/l.P}) \quad (3)$$

avec P_f : Concentration finale en produit (g/l)

t_{total} : durée totale du procédé (h).

Cette productivité permet d'étude de la rentabilité d'une installation de fermentation.

• Exemple

Pour un procédé discontinu, l'évaluation de la productivité nécessite de tenir compte du temps nécessaire à la vidange du fermenteur précédent (t_v) à son nettoyage (t_n), son remplissage (t_r), à la stérilisation (t_s), en plus du temps strictement nécessaire à la culture (t_c)

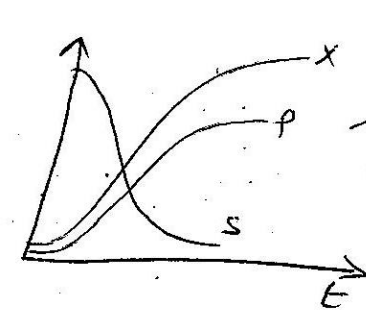
$$t_{\text{Total}} = t_v + t_n + t_r + t_c \quad (4)$$

(2)

- L'allure de la courbe de production et l'épendante à la courbe de croissance, on les trouve trois principaux types de produits

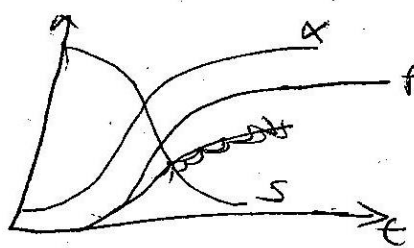
→ type I
éthanol

↓ métabolites
primaires



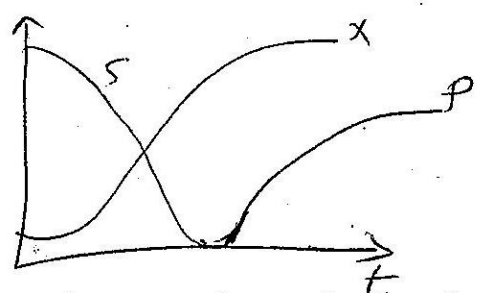
la synthèse est liée directement à la croissance des cellules

Type II
Acide lactique



metabolites liés à la croissance les ϕ mais sont différés dans le temps par rapport à la utilisation du substrat

Type III
métabolisme secondaire
Antibiotique



metabolites sont la forme n'est pas liée à la croissance et au catabolisme du substrat principal.

nous revenons sur la question (chap Métabolites) 3

- Les différents modes de culture en fermentation
on peut distinguer, sur la base de la technique d'alimentation en substrat, différents principes de culture en fermentation

- (1) système fermé, type de culture
discontinua → batch.

Pour la culture en batch, un cycle de production est formé par les étapes suivantes:

- Remplissage de la cuve (milieu complet)
- Stérilisation de la cuve et du milieu
- Enoculation en fermentation
- période de culture ou dya également en $\frac{1}{2}$
- récolte de la ~~consistance~~ biomasse ou du milieu contenant le produit
- nettoyage de la cuve