

- Fermentation Fed-batch

on suppose que la fermentation n'est pas limitée par aucun facteur.

$$X = X_0 + \int_{t_0}^t dX \quad (\text{biomasse au tps } t)$$

Comme

$$y_{x/s} = \frac{dX}{dS} = \frac{dX}{S_0 - S}$$

on peut écrire

$$X = X_0 + y_{x/s} (S_0 - S)$$

et comme l'inoculum

$$X_0 \ll X \Rightarrow X = y_{x/s} (S_0 - S)$$

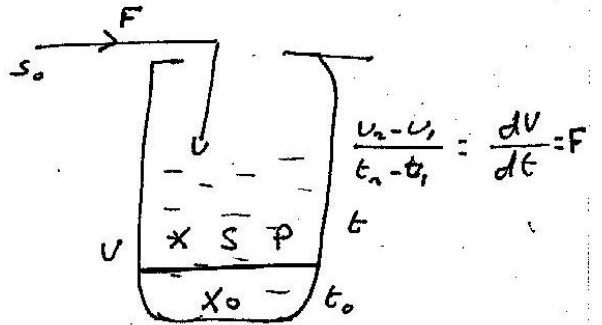
∴

et si  $S'$  est totalement utilisable

$$\text{donc } X = y_{x/s} \cdot S_0$$

et comme  $\frac{dX}{dt}$  est lié à  $\frac{dV}{dt}$

on aura une fonction à deux inconnus



(6)

$$\frac{dx}{dt} = \left( \mu \cdot \frac{dx}{dt} - x \cdot \frac{dV}{dt} \right) / V^2$$

et nous avons  $\frac{dx}{dt} = \mu x \frac{dV}{dt} = F$   
 $D = \frac{F}{V}$  Taux de dilution

$\Downarrow$   
 $F = DV$  de là on obtient

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

$\Rightarrow \boxed{\frac{dx}{dt} = x(\mu - D)}$  pour un volume unitaire

nous pouvons obtenir un état d'équilibre lorsque la quantité en masse cellulaire formée par apport au temps est égale à la quantité de substrat additionnée.

$$\frac{dx}{dt} = 0 \Rightarrow \boxed{\mu = D}$$

Il y a toujours formation de la même quantité de M.C

Comme on peut régler le débit  $\Rightarrow$  maximum de croissance.  
 d'où on ~~apporte~~ apporte des conditions de la fermentation  
 continues, en absence de facteurs limitants.

l'équation de Monod ~~peut~~ peut être utilisée

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

avec  $S_0$  corollaire  $S_0 \gg K_s$   
 l'équation  $X_{max} = \frac{\mu_{max}}{D} \cdot S_0$

Donc le substrat restant (Residual) est lié au Débit

par  $S = D \frac{K_s}{\mu_{max} - D}$  (8)

Bilan de masse durant tout le cycle

variation en stb = vitesse d'entrée - vitesse de sortie  
 en stb en stb

$$\frac{dS_R}{dt} = F \cdot S_0 - R_s \quad \text{quand } y_{x/s} = \frac{R_x}{R_s} = \frac{q_x}{q_s}$$

$$\Rightarrow R_s = \frac{R_x}{y_{x/s}} = \frac{u \cdot X}{y_{x/s}}$$

$$\frac{dS_R}{dt} = F \cdot S_0 - \frac{u \cdot X}{y_{x/s}} \quad *$$

et si on avait la même quantité de substrat qui est transformé pour chaque unité de temps

Donc  $\frac{dS}{dt} = 0$  ← mais  $\frac{dS_T}{dt} = 0$

$$0 = \frac{dS_R}{dt} = F \cdot S_0 - \frac{u \cdot X}{y_{x/s}} \quad \leftarrow \begin{array}{l} \text{P. Équation} \\ \text{à résoudre} \end{array} *$$

$$F \cdot S_0 = \frac{u \cdot X}{y_{x/s}}$$

De là on obtient l'état d'équilibre (approximatif)  
 reprenant par  $\frac{dS_T}{dt} = 0$ ,  $\frac{dS}{dt} = 0$ ,  $\frac{dX}{dt} = 0$  et  $u \ll D$

l'augmentation en masse cellulaire peut être décrite par:

$$F \cdot S_0 = \frac{u \cdot X}{y_{x/s}} = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} \cdot \frac{X}{y_{x/s}} = \frac{dX}{dt} \cdot \frac{1}{y_{x/s}}$$

$$\text{d'où } \frac{dX}{dt} = F \cdot S_0 \cdot y_{x/s}$$

et on peut écrire

$$X = X_0 + dX$$

$$X = X_0 + F \cdot S_0 \cdot y_{x/s} \cdot dt$$

$$X = X_0 + F \cdot S_0 \cdot y_{x/s} \cdot t \quad \text{si } t_0 = 0$$

## ④ - Avantages de la culture en fed-batch.

Le type de culture avec ajout au cours de la fermentation permet :

- l'utilisation d'un substrat qui n'inhibe à haute concentration la croissance cellulaire (hydrocarbure, éthanol...)
- d'augmenter la concentration en biomasse et la productivité par rapport au batch.
- la production de métabolites associés à la phase stationnaire grâce à la molécule de l'ajout en substrat (Antibio, hormones, enzymes).
- à favoriser un métabolisme ou l'inhibition d'un autre (fermentation ou respiration).

Enfin la culture fed-batch présente moins le risque de contamination et le mutage qu'une culture continue.

Mais la fermentation en fed-batch nécessite un système de régulation et le contrôle plus strict que en mode batch. et ainsi plus difficile à mettre en oeuvre.

## - Solide et la Culture Continue.

en batch les conditions évoluent au cours de la culture:

- la population microbienne augmente et change d'état physiologique,
- la teneur en substrat diminue
- la consommation en oxygène et perturbation
- les métabolites primaires et secondaires s'accumulent.

Donc, il serait intéressant pour l'industrie lacticière le maintien des conditions de culture constantes.

exp → pour la production de biomasse, nous avons intérêt à prolonger la phase exponentielle pendant laquelle le taux de croissance ( $\mu$ ) est maximum.

- la culture continue permet de répondre à ces exigences.

Car caractérisée par:

- établissement d'un état stable  $\Rightarrow$  conditions maintenues constantes (conditions stables pour l'environnement cellulaire  $\Rightarrow$  population cellulaire dans un état physiologique constant).
- $\Rightarrow$  réduction des temps morts du procédé (nettoyage, remplissage, stérilisation, ...)

elle se distingue du batch et du fed-batch par une alimentation continue en substrat frais.

Avant  $\xrightarrow{q}$  g

cette dernière en fonction la quantité maximale de  
 masse cellulaire produite pendant le temps  $t$ .

$$X_{max} = X_0 + F \cdot S_0 \cdot Y_{x/s} \cdot t$$

Remarque : Dans le cas où il y a un certain nombre de facteurs limitants.

l'équation de Monod 
$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S}$$

① devient 
$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{(K_s + S + \frac{S^2}{K_i})}$$
 et similairement

\* 
$$\mu = \mu_{max} \left( \frac{K_1 S_1}{K_1 + S_1} + \frac{K_2 S_2}{K_2 + S_2} + \dots + \frac{K_i S_i}{K_i + S_i} \right) \left( \frac{1}{\sum_{j=1}^i K_j} \right)$$

② avec un produit métabolique [P] qui inhibe la croissance avec la constante d'inhibition  $K_p$

$$\mu = \mu_{max} \frac{S}{K_s + S} \times \frac{K_p'}{K_p' + P}$$

La mise en oeuvre d'une fermentation continue s'effectue par une culture en "batch" pour laquelle on procède à l'ajout de milieu frais, lorsque la culture de  $t_0$  a atteint une concentration ou un état physiologique donné.

3\* Fermentation continue  
 on utilise le bilan  
 le volume de milieu dans la cuve est maintenu constant par soutirage (élimination).

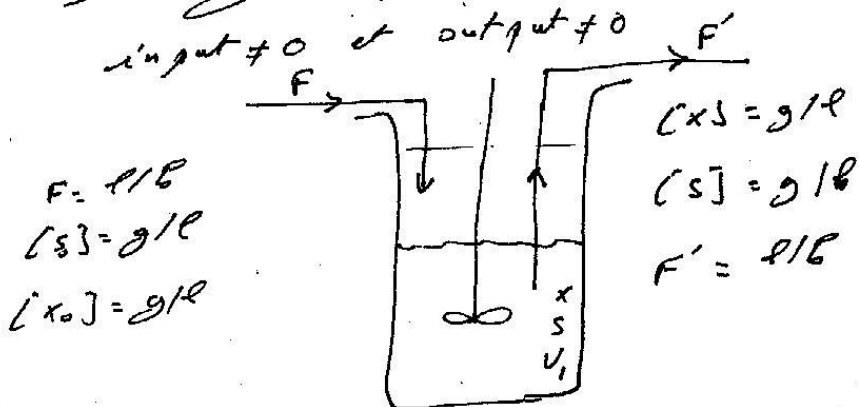
$$V_{entrée} + V_{production} = V_{sortie} + \text{Variation interne}$$

et en utilisant la formule suivante

$$\text{Accumulation} = (\text{input} + \text{production}) - (\text{output} + \text{consommation})$$

Dans ce type de fermentation nous avons

input  $\neq 0$  et output  $\neq 0$



④ Dans le cas idéal:

$$\text{Input} + \text{production} = \text{output} + \text{Consommation}$$

D'où on détermine les paramètres qui sont en relation avec la croissance microbienne.

$$r_x = R_x = \frac{dx}{dt} \quad \text{Taux de croissance absolu}$$

$$\mu = \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt} \quad \text{Taux spécifique de croissance}$$

$$\Rightarrow \boxed{\mu = \frac{1}{x} \cdot R_x}$$

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_s + S} \quad \text{le Rendement } Y_{x/s} = \frac{dx}{dS} = \frac{R_x}{R_s}$$

$F$  = flux de sbs Débit d'alimentation et  $F'$  = flux de l'effluent

$$\text{on pose } D = \frac{F}{V} = \frac{F'}{V} = \rho \cdot \mu \quad \text{Taux spécifique de rotation du milieu de culture}$$

$$\text{et } t_s = \frac{1}{D} = \tau = \frac{V}{F} = \text{tps moyen de séjour } V \text{ dans le réacteur}$$

à l'équilibre

$$F = F'$$

$$R_x = \frac{dx}{dt} = 0 \quad (\text{Taux de croissance} = 0 \text{t})$$

même chose pour

$$R_s = -\frac{dS}{dt} = 0 \quad (\text{Taux de conversion} = 0 \text{t})$$

\* Evolution des paramètres  $X$  et  $S$ .

$$FX_0 + VR_{xp} = Fx + (V \cdot R_{xc})$$

$$FX_0 + VR_{xp} = Fx$$

en divisant par  $F$

$$x_0 + \frac{V}{F} R_x = x$$

$$\frac{V}{F} R_x = x - x_0$$

$$R_x = \frac{F}{V} (x - x_0)$$

Comme  $D = \frac{F}{V}$

$$\Rightarrow R_x = D(x - x_0)$$

et nous aurons

$$\mu x = D(x - x_0)$$

pour  $x_0 = 0$

$$\mu x = D x \text{ et } \boxed{\mu = D}$$

$$FS_0 + VR_{sp} = FS + VR_{sc}$$

$$FS_0 = FS + V \cdot R_s$$

en divisant par  $F$

$$s_0 = s + \frac{V}{F} R_s$$

$$s_0 - s = \frac{V}{F} R_s$$

$$(s_0 - s) \frac{F}{V} = R_s$$

$$D(s_0 - s) = R_s$$

$$\boxed{R_s = D(s_0 - s)}$$

---

$$FP_0 + VR_{pp} = FP + (V R_{pc})$$

$$FP_0 + VR_{pp} = FP$$

sur  $F$

$$p_0 + \frac{V}{F} R_p = p$$

$$\frac{V}{F} R_p = p - p_0$$

$$R_p = \frac{F}{V} (p - p_0)$$

$$\boxed{R_p = D(p - p_0)}$$

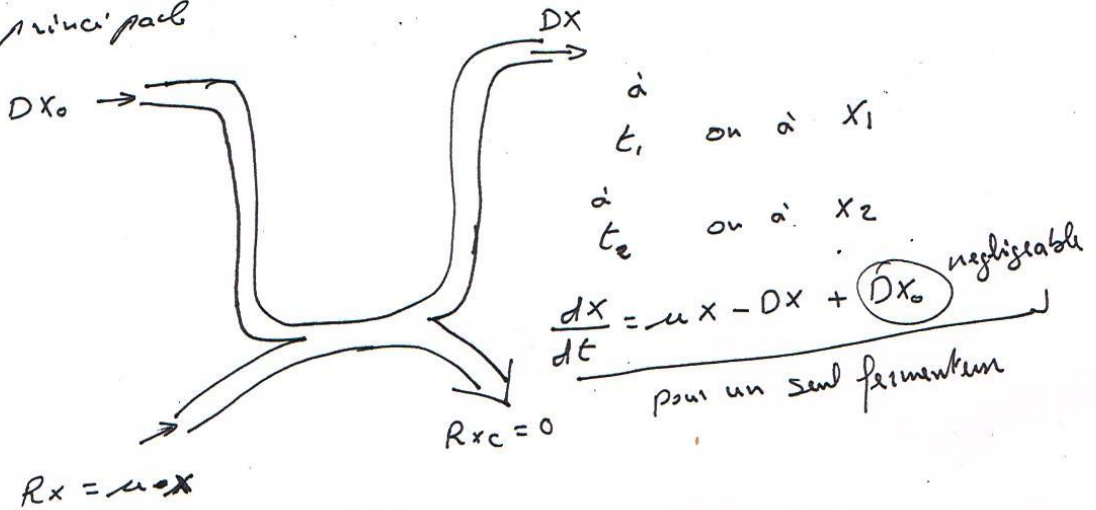
(14)



quel sont les facteurs qui contribuent la fermentation continue et croissance en Batch.

le plus important facteur est le substrat.

on remarque que dans toutes les relations finales que D (Taux de dilution) joue un rôle prépondérant et important et principal



$$\frac{X_2 - X_1}{t_2 - t_1} = \frac{dX}{dt} = \mu X - DX$$

Gain par division cellulaire à une vitesse spécifique

perte cellules perdues par le flux sortant

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

valeur max de  $\mu = \mu_{max}$  d'où

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{max} X - DX$$

en multipliant par  $\frac{1}{X}$

$$\frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} = \mu_{max} - D \Rightarrow \boxed{\mu = \mu_{max} - D}$$

Constant pour chaque microorganisme

la variable

① Si  $D$  est la variable  $\Rightarrow$  3 cas différents

①  $D > \mu_{max}$ . La vitesse de croissance ne peut l'atteindre  $\mu_{max}$  mais au contraire elle diminue en fonction du temps et sa variation

$$\text{inférieur à } (0) \quad \frac{dx}{dt} < 0$$

Dans ce cas la division cellulaire ne peut jamais combler la dilution qui se produit lors de l'introduction ou d'addition du substrat (nouveau). Donc diminution continue jusqu'à disparition de la masse cellulaire. absence  $\rightarrow$

②  $D = \mu_{max}$  le taux de dilution peut être régulé par système d'auto-régulation.

$$\frac{dx}{dt} = (\mu_{max} - D) x = 0 \quad \text{et } \mu = D$$

Les microorganismes se divisent dans une culture continue ~~sur~~ au taux de croissance maximal  $\mu_{max}$ . La population se stabilise au niveau de la phase logarithmique, en absence de tout facteur limitant.

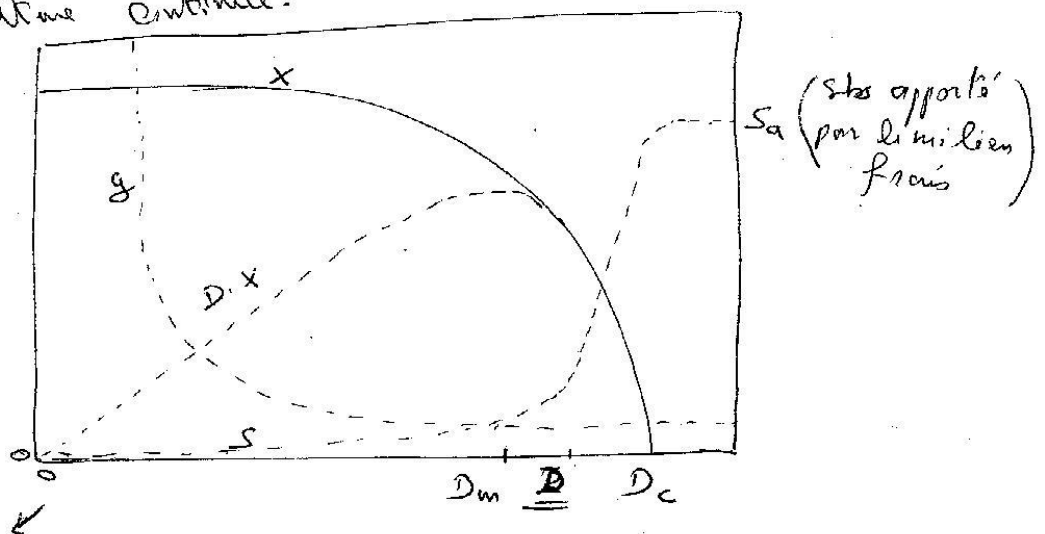
③  $D < \mu_{max}$  donc  $\frac{dx}{dt} > 0$  dans ce cas la population augmente mais la concentration du facteur limitant diminue et ne peut atteindre le taux de croissance maximum. Dans ces conditions le taux de croissance diminue jusqu'à atteindre une valeur  $\mu = D$  qui donne  $\frac{dx}{dt} = 0$  et population sera dans ~~un état d'équilibre~~ une situation d'équilibre.

Par conséquent, lors de l'instauration de la culture continue, l'évolution de la [X], [S] et [P] est déterminée par le choix du taux de dilution "D". Ce paramètre devra être bien choisi selon les objectifs de la culture continue.

La figure suivante va nous permettre de discuter le choix d'un taux de dilution approprié.

Nous l'imaginons :

- $D_c$  → Taux de dilution critique. Orne limite supérieure de la gamme de Taux de dilution utilisable en culture continue ( $D_c = \mu_{max}$ )
- $D_{max}$  ou  $D_m$  → Taux de dilution maximal, qui correspond à une productivité cellulaire optimale de la culture continue.



Effet du Taux de dilution sur la [X] en équilibre de concentration en équilibre en  $X$ ,  $S$ , le  $t_p$  de génération et la productivité  $D \cdot X$ .  $D_m$  est le Taux de dilution correspondant à la productivité maximale,  $D_c$  → Taux de dilution critique.

Donc  $\rightarrow$  strictement inférieure.  
 Il faut que  $D < D_c$

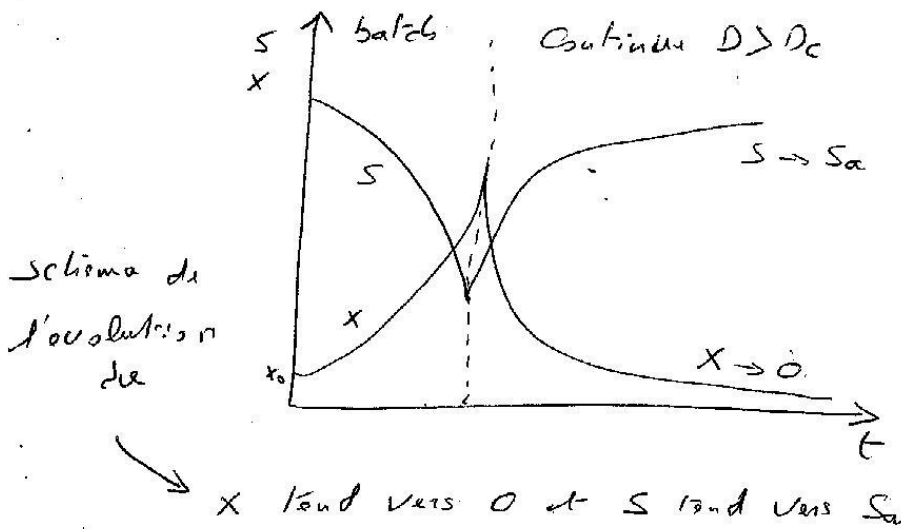
où  $D_c = \mu_{max}$  dans des conditions de culture définies.

En effet, si  $D > D_c \Rightarrow D > \mu_{max}$  et il restera toujours inférieur au taux de croissance, selon l'équation

$$\frac{dx}{dt} = x(\mu - D) \text{ avec } (\mu - D) < 0$$

$$\text{et donc } \frac{dx}{dt} < 0$$

$\Rightarrow$  la [X] chute sous le fermenteur jusqu'à atteindre la concentration critique du fait du remplacement par le milieu frais (lessivage) complet de la culture.



\* En pratique pour une fermentation continue on choisira un Taux de dilution "D" tel que  $0 < D \leq D_c$  (ou:  $0 < D \leq \mu_{max}$ )  
 Pour toutes ces valeurs du Taux de dilution, la culture continue évolue vers un état stationnaire //

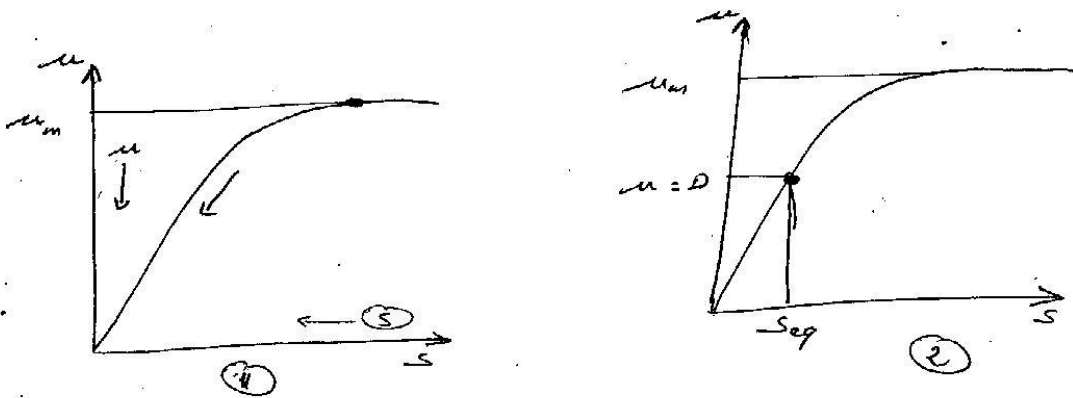
"apparent" défini par l'établissement d'un équilibre:

$$X = X_{eq} = \text{cst} \Leftrightarrow r_x = D \cdot X \quad (\text{ou } \mu = D)$$

$$S = S_{eq} = \text{cst} \Leftrightarrow r_s = D \cdot (S_a - S)$$

$$P = P_{eq} = \text{cst} \Leftrightarrow r_p = D \cdot P$$

• Suite Cours: la raison de l'établissement de cet équilibre au cours de la culture continue



On suppose une culture continue avec:

$[S_a] \rightarrow$  milieu frais assenti en phase exponentielle

$\left. \begin{array}{l} \text{en présence de } \mu = \mu_{max} \\ S = S_0 \\ X = X_0 \end{array} \right\} \text{ces conditions initiales.}$

Si  $D \ll \mu_{max}$  (avec,  $D = \text{cst}$ )

et  $S_0 \approx S_a$

Au cours de la période de transition (avant l'établissement de l'équilibre), la concentration  $[X]$  augmente tandis que la teneur en  $S$  diminue:

$$\frac{dX}{dt} = X(\mu - D) \quad \text{avec } (\mu - D) \gg 0$$

avec  $\frac{dX}{dt} \gg 0 \Rightarrow [X]$  augmente rapidement dans (18)

En a qui aucune la concentration en substrat-

$$\frac{dS}{dt} = D(S_a - S_0) - r_s \quad \text{avec } S_0 = S_a$$

dès lors  $r_s \gg D(S_a - S_0)$  (\*)

ainsi  $\frac{dS}{dt} \lll 0$  ce qui signifie que la teneur en substrat diminue suite à la consommation par les cellules.

Donc, selon la relation de Monod, cette diminution de la concentration en substrat affecte le taux de croissance:

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

$\Rightarrow \mu$  diminue et devient inférieur à  $\mu_{max}$  (figure 1)

↕ \* Lors de l'établissement de l'équilibre (figure 2), le taux de croissance des cellules dans la fermentation continue chute et tend progressivement vers la valeur du taux de dilution "D" choisi.

Dès lors  $(\mu - D)$  diminue et tend vers 0

selon l'équation  $\frac{dX}{dt} = X(\mu_{max} - D)$  avec  $(\mu_{max} - D) \gg 0$

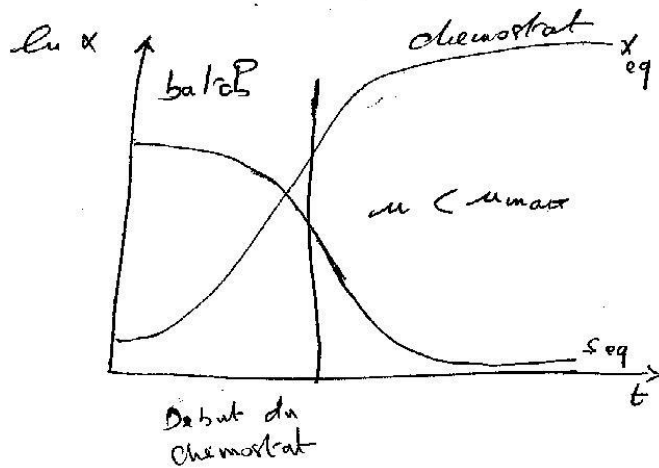
$\frac{dX}{dt} \rightarrow 0$  et par conséquent la biomasse  $X \rightarrow (X_{eq})$  est

de plus la concentration en substrat  $S \rightarrow S_{eq}$  est diminuée et  $(S_a - S)$  augmente

selon l'équation (\*),  $\frac{dS}{dt} \rightarrow 0$  et  $S \rightarrow S_{eq} = \text{cte}$

$\Rightarrow$  Dans ce cas, le taux de croissance atteint à l'équilibre ( $\mu_{eq}$ ) est inférieur à  $\mu_{max}$  et résulte de l'établissement d'une concentration limitante en un substrat ( $S_{eq}$ ).

⇒ pour les 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 appelée (chemostat)  
 Cet état stationnaire résulte de l'action limitante de la concentration en un élément chimique du milieu de culture.



V\* Si nous reste à choisir une dernière situation. En effet, le taux de dilution ( $D$ ) peut être choisi de telle manière que celui-ci soit égal au taux de croissance initiale ( $\mu_{max}$ ), c'est à dire lors de l'instauration de la fermentation continue.

$$D = \mu_{max}$$

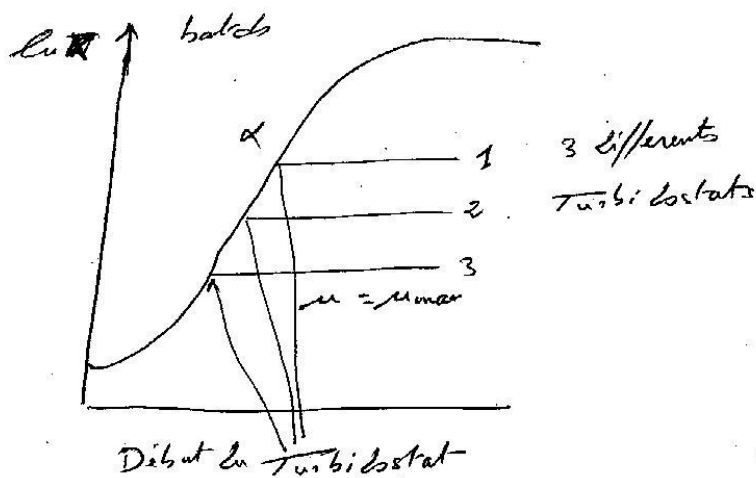


Figure : Zone de Travail dans le cas d'un Turbidostat

(18)

Comme, la culture est en phase de croissance exponentielle

$$\frac{dx}{dt} = x(\mu_{max} - D) = 0 \Rightarrow x = x_0 = \text{const}$$

La concentration en biomasse est 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.

en résumé nous donnons le tableau suivant

Choix du taux de dilution	Type de culture continue	Evolution des paramètres
$D > \mu_{max}$	lessivage	$x \rightarrow 0$ $s \rightarrow s_a$
$D < \mu_{max}$	chemostat	$x \rightarrow x_{eq}$ $s \rightarrow s_{eq}$ $\mu \rightarrow \mu_{eq} = D$
$D = \mu_{max}$	Turbidostat	$\mu = \text{constante}$ $\mu = \mu_{max}$

Tableau