

Université Abou Bekr Belkaïd -Tlemcen-
Faculté SNV et STU
Département de Biologie
Licence : Biologie moléculaire

COURS DU MODULE DE BIOTECHNOLOGIE

Chapitre : Fermentations industrielles

M. BELYAGOUBI Larbi

2019-2020

La cuve

Les cuves sont en verre jusqu'à 20 L, en acier inoxydable au-delà. Leur fond est généralement rond. Les cuves doivent résister:

- aux sollicitations thermiques, lors de la stérilisation,
- aux vibrations, résultant de l'agitation,
- aux surpressions de gaz, lors de la stérilisation et de la vidange,
- à la corrosion.

Les cuves doivent être étanches aux contaminations extérieures, et supporter les additions d'acides, de bases, d'anti-mousses.

Le volume utile (volume de milieu) est généralement = $\frac{3}{4}$ du volume de la cuve, pour tenir compte de l'augmentation de volume due à l'injection d'air et à la formation de mousse.

Les différentes étapes:

On distingue cinq étapes importantes dans tout procédé de fermentation (Figure 1):

- la fabrication du milieu de culture ;
- la stérilisation du bioréacteur et de ses équipements ainsi que du milieu de culture ;
- la préparation de l'inoculum ;
- la production en bioréacteur ;
- l'extraction du produit et sa purification.

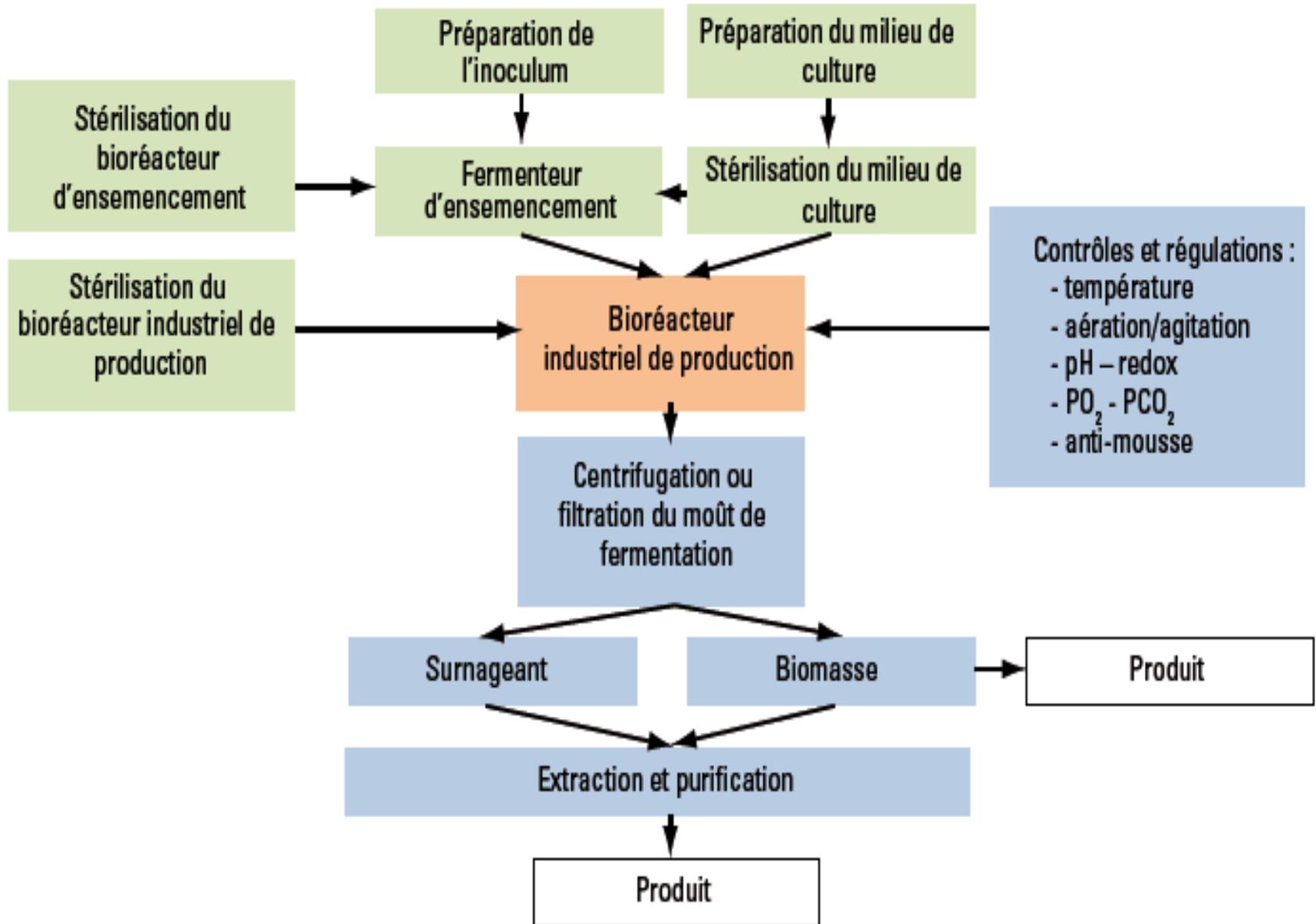


Figure 1 : Les étapes du procédé de fermentation

Chapitre: Fermentations industrielles

Il existe plusieurs types de bioréacteurs selon que l'on travaille en milieu liquide, en milieu solide ou avec des systèmes immobilisés.

I – Systèmes en phase solide :

I.1. Introduction :

Dans ces systèmes, les substrats sont simplement humidifiés et non solubilisés ou en suspension. Les substrats les plus utilisés sont les grains céréales, les copeaux de bois, la paille, etc.

Les microorganismes doivent avoir la particularité de présenter une tolérance à une activité d'eau faible (A_w): c'est le cas des levures et des champignons filamenteux. Plusieurs types de systèmes sont utilisés : colonnes à lits fixe, plateaux, fermenteur rotatif (Figure 2). Leurs principaux avantages résident dans leur simplicité, la forte productivité obtenue et le peu d'énergie exigée.

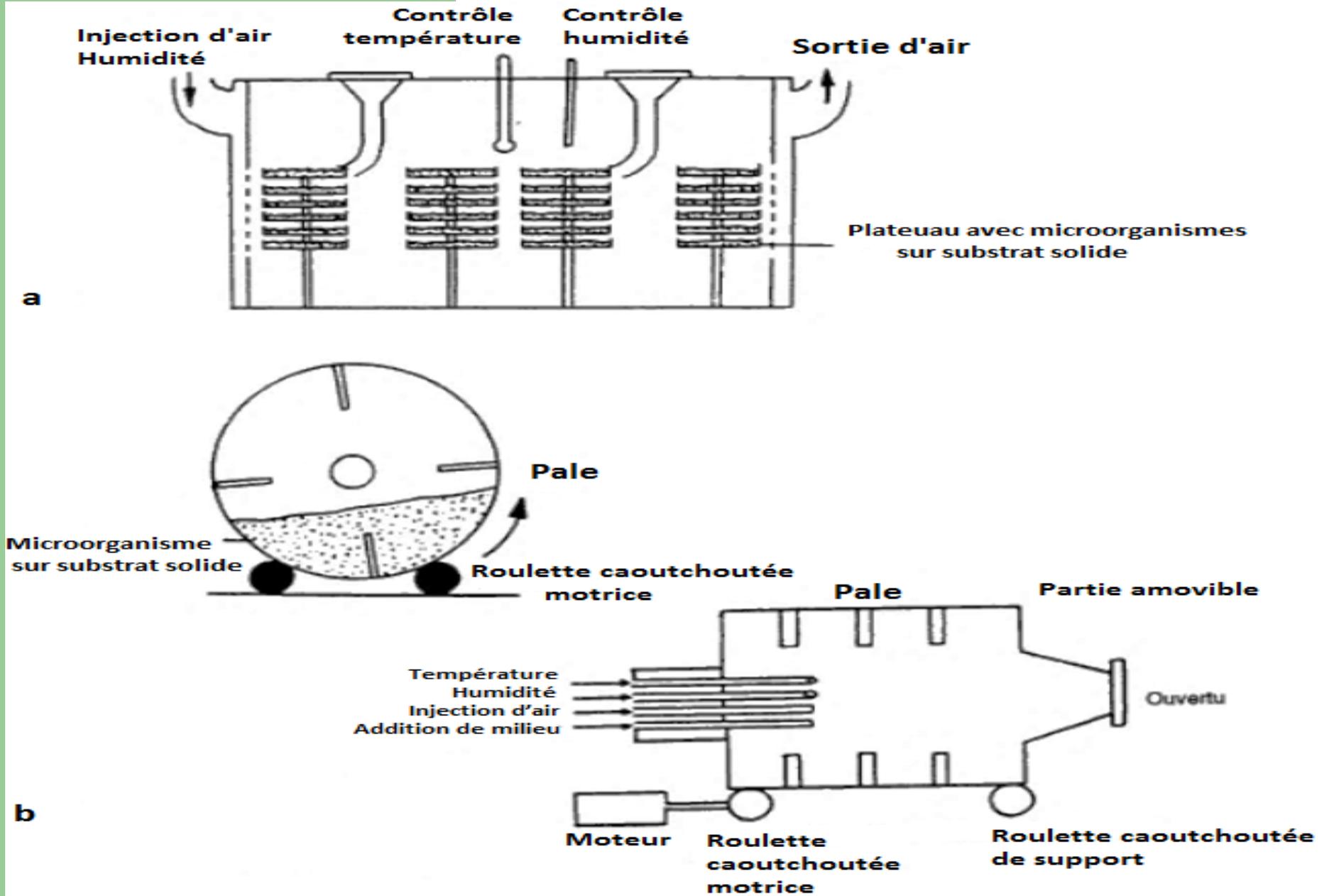


Figure 2: Systèmes en phase solide, (a) plateaux, (b) fermenteurs rotatifs

Le pain et le fromage sont des produits alimentaires issus d'une fermentation en milieu solide.

I.2. - Les avantages de la fermentation solide

- C'est une technique simple à réaliser et ne nécessitant pas d'équipement sophistiqué;
- L'absence d'eau libre permet de réduire considérablement le volume des installations de fermentation et les contaminations bactériennes;
- Elle assure une forte productivité en métabolites;
- Il n'y a pas de production de mousses lors des fermentations solides, contrairement aux fermentations liquides;
- Cette fermentation ne nécessitant pas obligatoirement une stérilisation du substrat. Ce qui réduit le coût énergétique nécessaire;
- En cas de production d'aliments pour animaux, tout le produit est utilisé, sans rejet d'eau usée. Les frais de séchage éventuels sont réduits.

I.3.-Inconvénients des fermentations solides :

- Les microorganismes utilisés sont limités, seuls les microorganismes se développant en faible activité de l'eau (A_w) peuvent être utilisés;
- Les problèmes de transfert d'oxygène et de chaleur rendent difficile l'augmentation d'échelle des procédés;
- La nature solide et hétérogène des substrats utilisés complique le suivi direct des paramètres de fermentation;
- Le contrôle *on line* des paramètres de culture tels que le pH, l'humidité et la concentration des nutriments, est assez aléatoire;
- Les microorganismes étant inséparables du substrat, l'estimation de la biomasse est délicate.

II- Systèmes immobilisés :

Dans ce type de procédé, les microorganismes producteurs n'évoluent pas librement dans le milieu, mais sont immobilisés sur un support ou une matrice. À l'entrée il y a introduction du milieu frais qui alimente la biomasse et à la sortie un milieu fermenté qui contient le produit désiré.

La chlorotétracycline, la céphalosporine et la bacitracine ont été produites grâce aux cellules immobilisées.

La mise au point de ces systèmes présente, au niveau théorique plusieurs avantages :

- Conservation du matériel biologique en fin de culture qui est réutilisable pour d'autres cycles;
- Opération de récupération des produits facilités, la souche n'étant pas dispersées dans le milieu réactionnel;
- Accroissement de la densité cellulaire et des vitesses de réaction.

En principe tous les types de cellules peuvent être immobilisés par des processus divers, dérivées des techniques utilisées pour l'immobilisation des enzymes. Quatre types d'immobilisation peuvent être utilisés.

-L'adsorption, qui est un processus ancien utilisé lors de la fabrication du vinaigre, dans lequel les *Acetobacter* sont adsorbés sur des copeaux d'hêtre. Maintenant, on utilise des billes de PVC, de DEAE cellulose (La cellulose diéthylaminoéthyle)(*exp : Nocardia erythropolis : conversion des stéroïdes*).

-L'inclusion, avec incorporation des microorganismes dans une matrice d'un polymère rigide tel que l'alginate de sodium (*Sc. cerevisiae : production d'alcool, B. subtilis : production d'alpha- amylase, Aspergillus niger : production d'acide citrique*).

-La liaison covalente, qui est moins utilisée pour les microorganismes. Outre l'irréversibilité, ce système présente l'inconvénient d'utiliser comme ligand des réactifs souvent toxiques pour les microorganismes;

-La floculation, système par lequel on provoque l'agrégation des cellules, par exemple par l'addition de polyélectrolytes (chitosane). Elle met en jeu des liaisons hydrogènes et de Van der Waals. Elle est notamment utilisée dans le traitement des eaux résiduaires en boues activées.

Divers processus sont utilisés dans les systèmes immobilisés :

***Réacteurs à lit fixe : entassement des billes dans une colonne, l'aération et les divers contrôles étant effectués par un système externe (Figure 3(a)).**

***Réacteurs à lit fluidisé : où l'on évite un colmatage des billes en ajustant leur densité et la vitesse d'écoulement, ceci permettant de meilleurs transferts de matière.**

***Réacteurs à fibres creuses : on fait circuler le milieu de culture au travers de fibres creuses où les cellules se développent (Figure 3(b)).**

***Réacteurs à plaques semi perméables : voisin du précédent, les fibres étant remplacées par des membranes semi-perméables.**

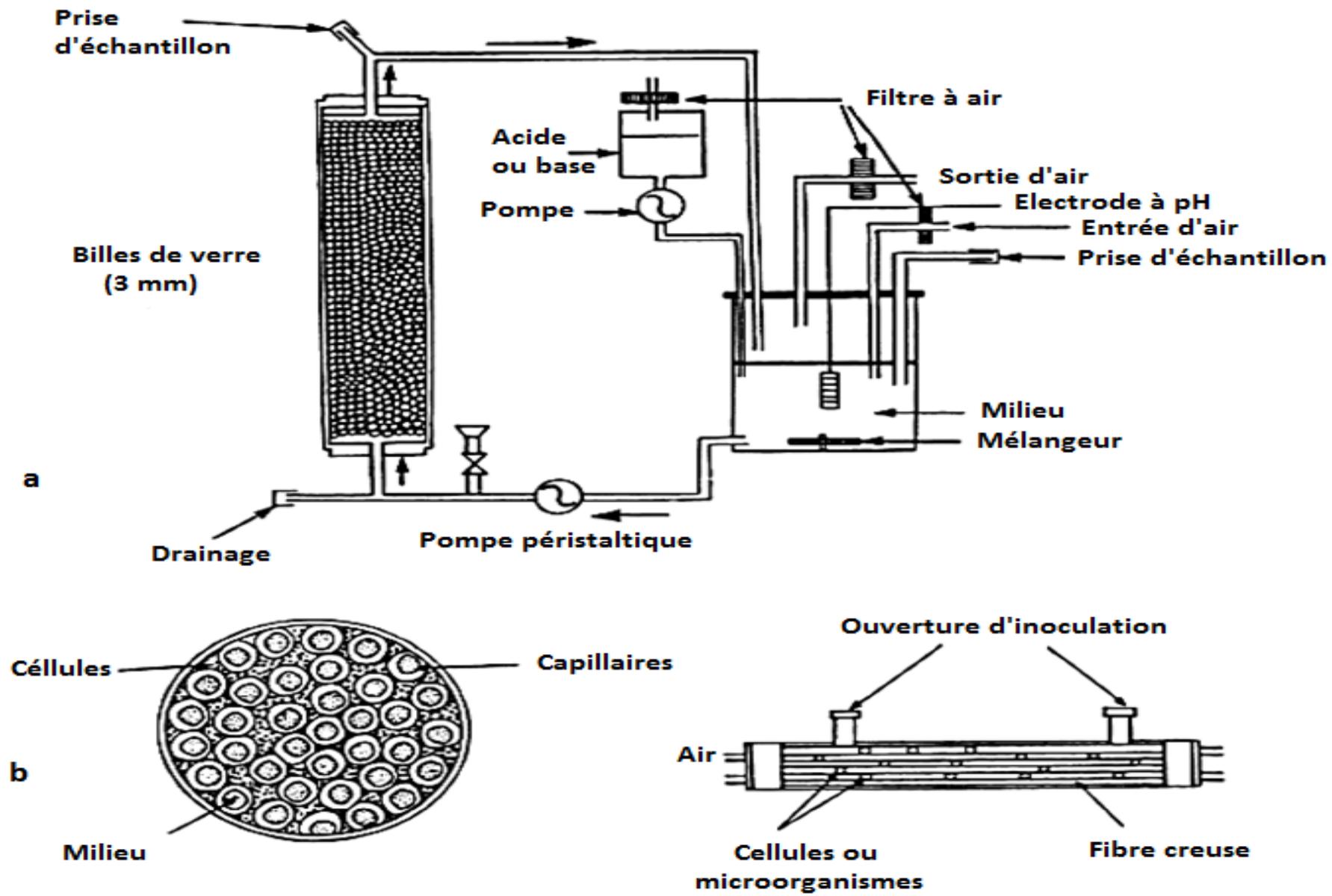


Figure 3 : Systèmes immobilisés, (a) lit fixe, (b) fibres creuses

III-Systèmes en phase liquide :

Trois procédés peuvent être utilisés (Batch, Fed-batch et Continu)

III.1.- Fermentation discontinue des micro-organismes, dite de type

Batch

III.1.1.- Introduction :

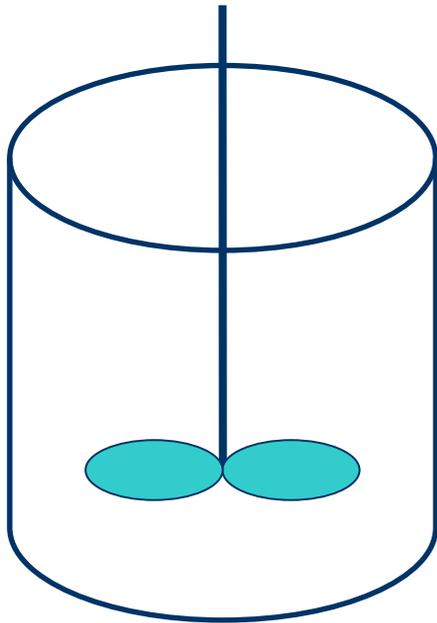
Mode de culture le plus simple, il est caractérisé par un **volume constant**.

L'inoculum est ajouté au milieu et on laisse se dérouler la culture. La biomasse évolue selon la courbe de croissance caractéristique des microorganismes.

La culture est terminée lorsque tout le substrat est consommé et le produit attendu est formé.

On intervient sur la vitesse de rotation, sur l'aération ou encore l'ajustement du pH. Mais aucun milieu nutritif n'est ajouté en cours de fermentation et rien n'est retiré.

Systeme fermé: cuvée (batch)



- Aucune entrée ou sortie
- À $t = 0$, $X = X_0$, $S = S_0$

III.1.2.- Avantages

- **Méthode la plus utilisée en industrie, historiquement importante (pratiquement toutes les fermentations alimentaires sont en mode BATCH)**
- **Mise en place et gestion aisée**
- **Coûts d'installation relativement faibles**
- **Peu de chance de mutation car la fermentation est de faible durée**
- **Risque de contamination peu élevée car peu de manipulations**
- **Validation facilitée (car procédé éprouvé)**
- **Evite la perte de l'ensemble de la production en cas de problème (car généralement plusieurs réacteurs sont utilisés)**

III.1.3.- Inconvénients

- Temps d'arrêt très important impliquant une productivité moindre. Il est nécessaire de nettoyer et de stériliser entre deux fermentations. Le temps entre 2 batchs peut être très important.
- Coûts de personnel important (prise échantillon et analytique)
- Risques de répressions de la croissance ou de la production par le substrat (**Effet Crabtree, Effet Pasteur**)
- **Faible densité maximale (pas le temps de pousser!)**
- **Accumulation de produits toxiques**

Références bibliographiques

- ❖ **Bourat, G. (1992).** Fermentations Propriétés des micro-organismes. Journal de Techniques de l'Ingénieur, Paris. Doc. J 6 004, 12p.
- ❖ **Chillet, P. (2011).** Opérations unitaires en génie biologique Volume 3, La fermentation. Edition CRDP d'Aquitaine, Bordeaux. 111p.
- ❖ **Deneuvill, F. (1991).** Génie fermentaire, travaux pratiques. Edition Doin. 307p.
- ❖ **Duchiron F., Legin-Copinet E. (2019).** Fermentation en milieu solide (FMS). Journal de Techniques de l'Ingénieur, Paris. Réf. BIO620 v2.
- ❖ **Eyer, K., Dubuis, P. (2008).** «Development of an Industrial Biotechnology Process : Nutritional strategies», HES-SO Valais.Sion. In Jaccard, N. (2008). Comptage de cellules.
- ❖ **Meyer, A., Bernard, A. Deiana, J. (2004).** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. 2ème Edition Doin, Paris. 430p.

