

Fermenteurs

IV.1. Généralités

Bien avant que Pasteur ait démontré que la fermentation était provoquée par des cellules vivantes, les microorganismes étaient déjà exploités par l'homme. Ainsi 7 000 ans avant Jésus-Christ, les Sumériens utilisaient la plus ancienne fermentation connue, la conversion du sucre en alcool, pour fabriquer de la bière. 4000 ans avant J C, les Egyptiens employaient la levure pour faire lever la pâte à pain.

Le terme de fermentation est apparu au XVI^{ème} siècle, il vient du latin *fervere* : bouillir (dégagement de CO₂ dans un mout de vinification)

Pasteur l'a défini comme « la vie en absence d'oxygène ».

Les premiers procédés industriels de fermentation ont été les versions extrapolées de ces recettes domestiques. Pour satisfaire les besoins de plus en plus importants, de nouvelles dimensions se sont développées à partir de la capacité des microorganismes à produire en quantité importante, des métabolites primaires ou secondaires d'intérêt industriel, intéressant la plupart des grands secteurs de l'activité économique : chimie, pharmacie, énergie, alimentation, agriculture et environnement.

Les réactions de fermentations est un processus qui fait appel à des microorganismes qui se développent en consommant une partie d'un réactif appelé substrat et en transformant l'autre en divers produit. Les cuves ou le procédé de préparation et de transformations est mise en œuvre, que ça soit de dimension laboratoire (1 à 15 litres), à l'échelle pilote (1 à 5 m³) ou industrielle (jusqu'à 300 parfois 500 m³), est appelé **Fermenteurs**. Leur mode de fonctionnement, comme pour les réacteurs enzymatique est soit en discontinu (batch) , semi-continu (fed- batch) ou en continu.

IV.1.1.Critères de conception d'un fermenteur

Les critères de conception d'un fermenteur industriel découlent de la réaction biologique de fermentation que l'on souhaite mettre en œuvre dans le but de produire soit de la biomasse soit des molécules contenues dans le microorganisme ou produites par ce dernier (acide organique, acides aminés). En fonction du métabolisme sélectionné, les critères de stérilité, de transfert de matière, de gaz et de transfert de chaleur imposent des conditions de calcul qui gouvernent la conception du fermenteur.

IV.1.2. Mesures, Contrôles Régulation

A l'image de nombreux procédés chimiques, l'automatisation et l'informatisation sont aujourd'hui très développées sur les sites de production.

Les mesures courantes effectuées sont les suivantes :

- Vitesse d'agitation
- Aération (volume d'air injecté dans le réacteur par unité de temps)
- Température
- pH
- Pression
- Détection de mousse
- Oxygène dissout
- Gaz carbonique dissout
- Oxygène dans la phase gazeuse en sortie du fermenteur
- Gaz carbonique dans la phase gazeuse en sortie du fermenteur
- Masse

Des mesures plus spécifiques peuvent être rencontrées

- Turbidimétrie
- Boucle de filtration avec analyse en ligne Glucose-Acides organiques HPCL
- Méthane hydrogène (méthanisation)

Plusieurs particularités sont à mentionner compte tenu de la spécificité des cultures des microorganismes

- Maitrise des phénomènes de moussage
- Evolution des gaz dissout dans le milieu de fermentation

Chapitre IV

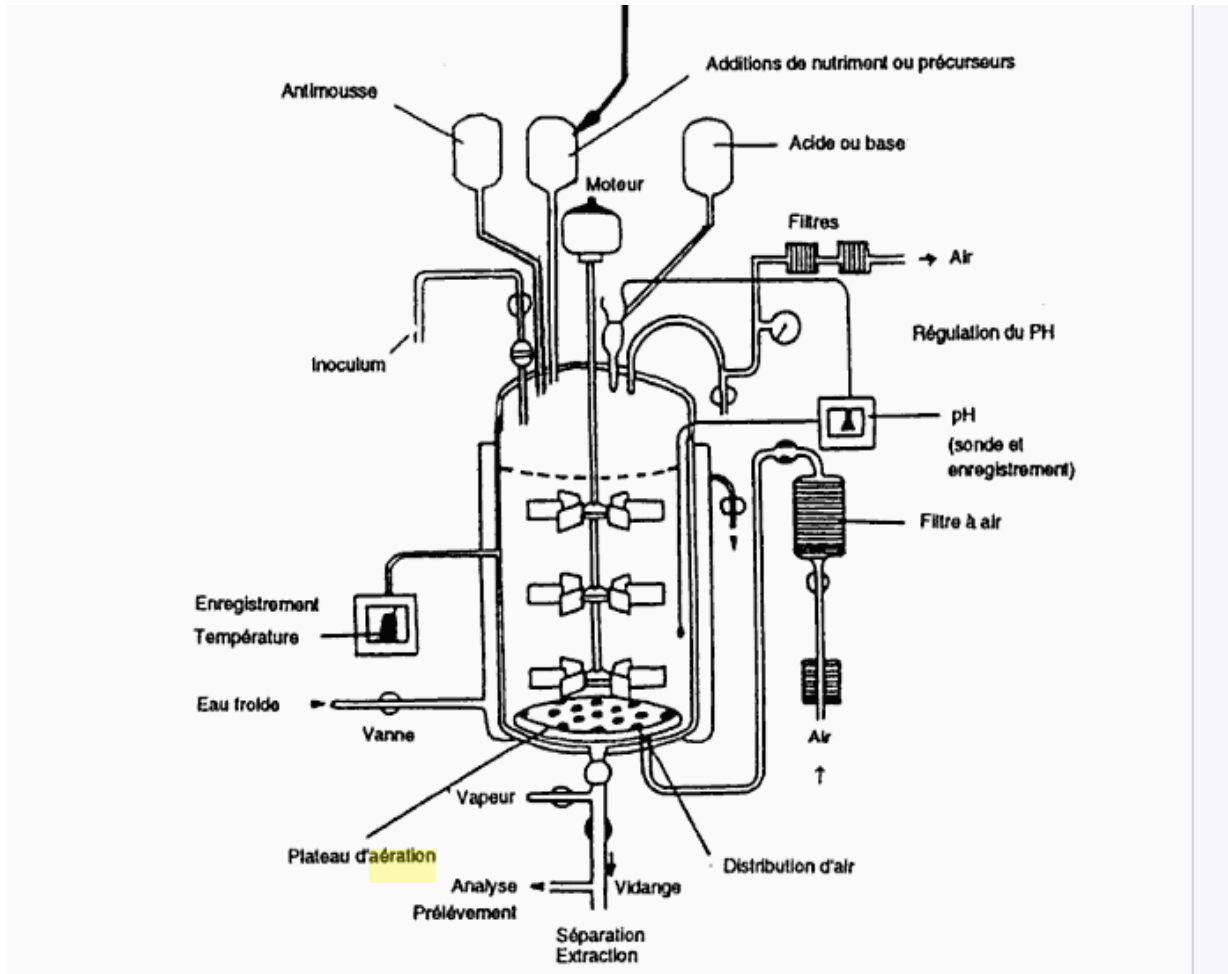


Schéma typique d'un fermenteur avec ses accessoires

IV.1.3. Les différentes échelles de travail

Echelle	laboratoire	pilote	industrielle
Temps	Recherche	Développement	Production
objectif	Etude de la faisabilité de la production (Collection des souches et Préparation des milieux)	Etude / mise au point des conditions industrielles	Mise en œuvre des conditions industrielles

IV.2. Rappels sur la formulation des paramètres fermentaire

Les réactions globales de croissance cellulaire et biotransformations peuvent être caractérisées en termes cinétiques et quantifiées par les paramètres ci-dessus :

Chapitre IV

IV.2.1.Taux de croissances

Le taux de croissance μ (h^{-1}) mesure l'accroissement de la population microbienne au cours d'une période de temps t donnée et dans des conditions déterminées, on a :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \Rightarrow X = \frac{1}{\mu} \frac{dX}{dt}$$

X symbolise la biomasse (exprimée en g/l ou en nombre de cellule)

IV.2.2.Temps de doublement t_d

Ce temps t_d (h) est donné par :

$$t_d = \frac{\text{Ln } 2}{\mu}$$

IV.2.4.Nombre de générations

Au temps t de la fermentation, le nombre de génération N est :

$$N = \frac{t}{t_d}$$

IV.2.4.Rendements

Après inoculation du milieu de culture, on observe successivement une phase de latence pendant laquelle les micro-organismes s'adaptent à leur nouvel environnement, une phase de croissance, souvent exponentielle, une phase de ralentissement suivie d'une phase stationnaire et une phase déclin et de mort des cellules. Le rendement est le rapport de l'accroissement de la biomasse sur la consommation du substrat S pour une période donnée.

Soit sur un intervalle de temps δt , $\delta [S]$ (kg/m^3) de substrats sont consommés pour former $\delta [X]$ (kg/m^3) de biomasse et $\delta [P]$ (kg/m^3) de produit.

On définit donc les **rendements** :

- ❖ De formation de biomasse par rapport au substrat : $Y_{X/S} = - \frac{\delta[X]}{\delta[S]}$
- ❖ De formation du produit par rapport au substrat : $Y_{P/S} = - \frac{\delta[P]}{\delta[S]}$

Lorsque ces rendements peuvent être supposés constants pendant une phase de culture, la **vitesse de consommation de substrat** r_S ($\text{kg m}^{-3} \text{ s}^{-1}$) et les **vitesse de formation de biomasse** r_X **et de produit** r_P suivent les relations :

Chapitre IV

$$r_S = - \frac{r_X}{Y_{X/S}} = - \frac{r_P}{Y_{P/S}}$$

IV.2.5. Coefficient métabolique q

Le coefficient métabolique q mesure la vitesse de consommation du substrat par la biomasse à un instant t de la fermentation.

$$q = \frac{1}{X} \frac{dS}{dt}$$

Si on considère que, pour une période courte, l'environnement et la biomasse sont constant, on a :

$$dS = \frac{\mu X}{Y_{X/S}} dt$$
$$\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{X/S}} \Rightarrow q = \frac{\mu}{Y_{X/S}}$$

IV.2.6. Cinétique de croissance limitée par un substrat

Selon les conditions de culture, il se peut qu'un **substrat** soit **limitant**, c'est-à-dire qu'une augmentation de la concentration en ce substrat entraîne un accroissement de la vitesse de croissance :

- ❖ En **culture** discontinue **anaérobie**, il peut s'agir du substrat carboné ou de la source azotée, lorsqu'en fin de culture ces substrats sont épuisés ;
- ❖ En **culture aérobie**, c'est en général l'oxygène, faiblement soluble dans les milieux de fermentation et apporté en continu qui est le substrat limitant.

La **relation cinétique** la plus connue, traduisant l'effet de la concentration en substrat limitant sur la vitesse de croissance d'un micro-organisme, est la relation de Monod :

$$\mu = \frac{r_X}{[X]} = \frac{\mu_{\max}[S]}{K_M + [S]}$$

avec

- μ (s^{-1}) taux de croissance,
- μ_{\max} (s^{-1}) taux de croissance maximal,
- K_M (kg/m^3) constante de Monod.

Cette relation est parfois justifiée en disant que la croissance cellulaire repose sur un grand nombre de réactions enzymatiques et qu'il est donc logique que la forme de la relation de Monod soit identique à celle de Michaelis et Menten .

Chapitre IV

La relation de Monod permet la modélisation cinétique des phases de croissance et de ralentissement. Les constantes de Monod ont des valeurs numériques en général faibles devant les concentrations usuelles de substrat

IV.3. Types de fermenteurs

IV.3.1. Cuve mécaniquement agitée aérée

La cuve mécaniquement agitée aérée est utilisée pour la production de micro-organismes en aérobiose. L'oxygène qui est très peu soluble dans les milieux de fermentation (8 mg/L à 25 °C dans l'eau) est alors le substrat limitant.

La vitesse globale de formation des micro-organismes est la résultante du couplage entre leur vitesse propre de croissance et la vitesse de transfert de l'oxygène de la phase gaz dispersée vers le milieu de fermentation. La puissance mécanique consommée sert à la fois à mélanger la phase liquide et à générer une aire interfaciale importante entre les bulles de gaz et le milieu de fermentation.

La configuration standard de **cuve** recommandée est celle munie d'un mobile d'agitation dont la hauteur de liquide est égale au diamètre de la cuve; on rencontre cependant des cuves multiagitateurs de hauteur égale à plusieurs fois leur diamètre.

Le gaz est injecté dans la cuve sous le mobile d'agitation, le plus souvent par un anneau perforé. Le **mobile d'agitation** a ici un double rôle : il doit mélanger la phase liquide, mais aussi, et surtout, disperser les bulles d'air injectées dans la cuve et éviter leur coalescence. Les mobiles cisailants sont les seuls utilisés, car les contraintes mécaniques qu'ils génèrent permettent, en cassant les bulles de gaz, d'obtenir des bulles de petites tailles et donc une aire d'échange interfaciale gaz-liquide importante :

$$a = \frac{6 \varepsilon_g}{d_b}$$

a (m^2/m^3) : aire spécifique volumique d'échange

d_b (m) : diamètre de la bulle

ε_g : rétention de gaz

$$\varepsilon_g = \frac{\text{volume de gaz}}{\text{volume de la suspension}}$$

Cuves multiagitateurs

Pour augmenter le temps de séjour du gaz dans le réacteur, on utilise parfois des cuves non standard dont la hauteur est égale à plusieurs fois leur diamètre. Dans ces conditions, pour assurer une dispersion convenable du gaz, plusieurs agitateurs sont placés sur le même axe.

Chapitre IV

La distance entre agitateurs la plus utilisée est de $2D$; on peut alors considérer qu'il n'y a pas d'interaction entre les agitateurs.

Pour n agitateurs, la **puissance mécanique** requise est égale à n fois la puissance consommée par une cuve standard.

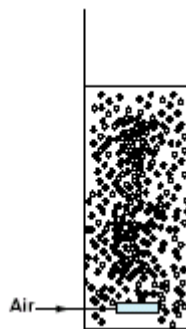
IV.3.2. Colonne à bulles

La **colonne à bulles** est un réacteur également utilisé pour la production de micro-organismes en aérobiose. Les bulles d'air injectées à la base de la colonne apportent l'oxygène aux microorganismes et mélangent la phase liquide au cours de leur mouvement ascendant. Comme pour la cuve mécaniquement agitée aérée, la vitesse globale de formation des micro-organismes est la résultante du couplage entre leur vitesse propre de croissance et la vitesse de transfert de l'oxygène de la phase gaz dispersée vers le milieu de fermentation.

Comparativement à la cuve mécaniquement agitée aérée, la colonne à bulles ne comporte pas de pièces en mouvement et ne consomme pas de puissance mécanique d'agitation. Sa fiabilité est plus grande et son coût en investissement et en fonctionnement plus faible. Par contre, ses performances de transfert d'oxygène sont nettement moins bonnes, car aucun effet mécanique ne vient s'opposer à la coalescence des bulles de gaz, phénomène qui diminue l'aire interfaciale entre les bulles de gaz et le milieu de fermentation.

La colonne à bulles est aussi employée lors des fermentations anaérobies, l'agitation pneumatique étant alors réalisée par les bulles de gaz carbonique dégagées in situ pendant la fermentation. Exemple, les cuves de vinification.

Les caractéristiques des colonnes à bulles sont très variables. Presque toujours de section circulaire, leur diamètre peut aller de 0,1 m pour les pilotes de laboratoire jusqu'à plus de 5 m pour les unités industrielles.



L'ascension du nuage de bulles de gaz induit un **mouvement** ascendant de la phase liquide au centre de la colonne et descendant au voisinage de la paroi.

Chapitre IV

Le **mélange** de la phase liquide est réalisé par l'ascension des bulles de gaz, qui entraînent dans leur sillage du liquide, et par les mouvements ascendants et descendants de la phase liquide, qui génèrent des boucles de recirculation.

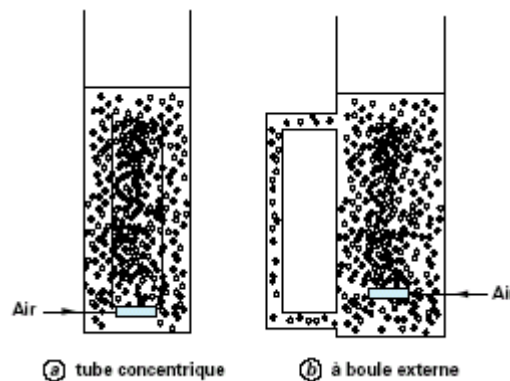
Compte tenu des faibles vitesses des bioréactions et du transfert de l'oxygène dans la phase liquide, celle-ci peut être valablement supposée parfaitement mélangée.

IV.3.3. Le réacteur airlift

C'est un appareil dérivé de la colonne à bulles et est utilisée pour les seules cultures aérobies.

Un réacteur airlift est une colonne à bulle comportant soit un tube concentrique interne placé au-dessus du distributeur de gaz, soit un tube de recirculation externe. L'addition de ces dispositifs modifie considérablement la circulation de la phase liquide.

Le **mouvement** de la phase liquide est ici induit par la différence entre les masses volumiques apparentes de la dispersion gaz-liquide située dans la partie centrale du réacteur et de la phase liquide située dans l'autre partie.



IV.4. Hydrodynamique des Fermenteurs

IV.4.1. Puissance consommée

La puissance mécanique P (Watt) consommée se calcule par l'intermédiaire du nombre de puissance N_p appelé aussi coefficient de trainée de l'agitateur dans le fluide, représente le rapport entre les forces externes et les forces d'inertie :

$$P = N_p N^3 d a^5 \rho$$

ρ : masse volumique du milieu exprimé en kg/m^3

N_p . nombre de puissance sa valeur est déterminée à partir de l'abaque de Rushton représentant $N_p = f(\text{Re})$

Chapitre IV

IV.4.2. Le nombre de Reynolds (Re)

Re représente le rapport entre les forces d'inertie et de viscosité (sans dimension, caractérise le type d'écoulement ; axial ou radial) :

$$Re = \frac{d_a^2 N \rho_l}{\mu}$$

avec d_a (m) diamètre de l'agitateur,

N (tr/s) vitesse de rotation,

ρ (kg/m³) masse volumique du liquide,

μ (Pa.s) viscosité du liquide.

En régime laminaire, le produit $N_p \cdot Re$ est constant ; en régime turbulent, c'est le nombre de puissance qui est constant : $N_p = 6$ pour la turbine et 0,4 pour l'hélice marine. L'hélice marine consomme donc moins de puissance que la turbine.

IV.4.3. Régimes hydrodynamiques

Il existe trois **régimes hydrodynamiques** dépendant de la vitesse de rotation du mobile et du débit de gaz injecté dans le réacteur :

- ✓ Engorgement (les bulles de gaz ne sont pas affectées par l'agitation) ;
- ✓ charge (les bulles de gaz sont mélangées au-dessus de l'agitateur) ;
- ✓ Dispersion (les bulles de gaz sont cassées et mélangées dans toute la cuve).

Les transitions entre ces régimes sont caractérisées par les valeurs de deux nombres sans dimension :

- le **nombre d'aération** Na

$$Na = \frac{G}{N d_a^3}$$

- le **nombre de Froude** qui exprime le rapport des forces d'inerties aux forces de gravité caractérisant le phénomène de vortex:

$$Fr = \frac{N^2 d_a}{g}$$

avec

G (m³/s) : débit volumique du gaz,

g : accélération de la pesanteur. $g = 9,81 \text{ m/s}^2$

Pour éviter la formation du vortex, les cuves sont équipées de contre-pales (chicanes)

Chapitre IV

Le **régime de dispersion** est, bien entendu, le plus efficace et c'est celui que l'on choisira. Il correspond, si le liquide est de l'eau, à des nombres d'aération Na exprimés par la relation :

$$N_a = 0,2 \left(\frac{d_a}{d_c} \right)^{0,5} F_r^{0,5}$$

Dans ce régime la dispersion du gaz est assurée par la formation de cavités à l'arrière des pales de la turbine. La meilleure efficacité est obtenue lorsque les cavités adhèrent sur toute la surface des pales, situation observée pour $Na > 0,1$.

Dans le domaine du génie biochimique, l'aération est souvent caractérisée par le **taux d'aération** qui s'exprime en volume de gaz introduit par minute par volume de liquide [VVM ou VVH (Volume de gaz par Volume de liquide et par Minute ou par Heure)]

IV.4.4. Puissance mécanique en milieu aéré

La **puissance mécanique** P_g (W) **consommée** par une cuve aérée est inférieure à la puissance P consommée par une cuve non aérée de même configuration, agitée à la même vitesse et renfermant le même liquide. Ce phénomène s'explique par la présence des cavités de gaz qui diminuent la traînée des pales dans le liquide.

Le rapport $\frac{P_g}{P}$ diminue régulièrement avec le nombre d'aération et devient constant pour $Na > 0,1$; il vaut alors :

$$\frac{P_g}{P} = 0,27 + \frac{0,022}{F_r}$$

La relation empirique **de Michel et Miller** est couramment utilisée dans les industries de fermentation pour calculer P_g

$$P_g = 0,34 \sqrt{n_p} \left(\frac{P^2 N d_a^3}{G^{0,56}} \right)^{0,45}$$

avec n_p nombre de pales de la turbine.

G (m^3/s) débit volumique de gaz

IV.4.5. Solubilité des gaz en phase liquide

A l'interface gaz –liquide, la concentration de l'espèce soluble en phase liquide est généralement décrite par une relation d'équilibre. Dans le cas de gaz peu solubles, comme l'oxygène, la relation d'équilibre est décrite par la loi de Henry

$$P = H C$$

Chapitre IV

Avec

P= Pression partielle de la phase gaz au dessus du liquide en atm

C = concentration de gaz dissout en mol/l

H= Constante de Henry l.atm/mol

IV.4.6. Coefficient volumique de transfert de matière gaz-liquide

Le transfert de matière gaz-liquide d'un gaz peu soluble, comme l'oxygène, est caractérisé par le produit du coefficient de transfert de matière K_L (m/s) coté liquide (coefficient de transfert de film liquide) par l'aire spécifique d'échange par unité de volume de liquide a (m^{-1}). Ce produit est par définition le **coefficient volumique de transfert de matière gaz-liquide**, noté $K_{L a}$ (s) et qui est en grande partie fonction du type de mobile de l'agitation et de la puissance dissipée.

En cuve mécaniquement agitée aérée, le coefficient volumique de transfert est un paramètre essentiel, car sa valeur doit être suffisante pour que les besoins en oxygène du micro-organisme soient satisfaits.

$$K_{L a} = k \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^\alpha (U_g)^\beta$$

k : coefficient empirique qui dépend du système

P/V : puissance volumique dissipée dans le milieu par l'agitateur (kilowatt par unité de volume)

Ug vitesse spécifique du gaz (m/s)

α et β dépendent du milieu coalescent ou non

$$\checkmark \text{ pour l'eau (milieu coalescent) : } K_{L a} = 2,6 \cdot 10^{-2} \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^{0,4} U_g^{0,5}$$

Avec V_L (m^3) volume du liquide

Ug : vitesse superficielle du gaz

$$U_g = \frac{G}{A} \text{ (m/s)}$$

A (m^2) aire de section droite de la cuve

$$\checkmark \text{ pour les solutions salines (milieux non coalescents) : } K_{L a} = 2,0 \cdot 10^{-3} \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^{0,7} U_g^{0,2}$$

IV.5. Echange gazeux d'oxygène

L'objectif est de satisfaire les besoins des cultures au niveau des échanges gazeux. Les microorganismes utilisent l'oxygène dissout et rejettent le CO₂ en équilibre avec la phase gazeuse.

Deux notions essentielles apparaissent :

- La capacité de transfert du réacteur OTR
- La demande en oxygène de la culture

IV.5.1. Capacité de transfert

Elle est définie par la relation suivante qui exprime la quantité d'oxygène transférée par unité de temps OTR (oxygen Transfer Rate) ou vitesse de transfert (r_{O_2}) exprimée en moles de O₂/l h:

$$OTR = \frac{dC_L}{dt} = K_{La}(C^* - C_L)$$

Avec

C_L : concentration en oxygène dans la phase liquide (mole/l)

C^* : concentration en oxygène à saturation (mole/l)

K_{La} (s⁻¹) coefficient volumétrique de transfert,

Notons que ($C^* - C_L$) ne dépend pas de l'agitation, mais de la nature du milieu, de la température et de la pression partielle du constituant à dissoudre.

La capacité de transfert des réacteurs va dépendre de plusieurs variables :

- La puissance d'agitation et l'efficacité du système d'agitation (la dispersion)
- La solubilité du gaz dépendant de la pression, du débit, de la composition, de la température et de la composition du milieu liquide

Plusieurs critères sont aussi à définir :

- Le volume d'expansion du liquide lié au gaz
- Le débit gazeux qui peut être exprimé sous plusieurs formes :
 - ✓ V_L : volume d'air (m³) par heures dans les CNTP
 - ✓ VVM : volume d'air par volume de liquide par minute
 - ✓ VVH : volume d'air par volume de liquide et par heure

Chapitre IV

IV.5.2. Demande en oxygène

Elle mesure les besoins en consommation d'oxygène de la culture OUR (Oxygen Uptake Rate) et s'exprime en mole/l h

$$OUR = \frac{X}{Y_{X/O_2}} \frac{\mu_{\max}(O_2)}{K_{O_2} + (O_2)}$$

IV.5.3. Equilibre entre la réaction biologique et le transfert de matière gaz-liquide

Ce couplage se rencontre lors de cultures aérobies de micro-organismes. L'oxygène passe de la phase gaz, dispersée sous forme de bulles, à la phase liquide pseudo-homogène renfermant les microorganismes, où il est consommé. Les deux phénomènes, transfert de matière gaz-liquide et bioréaction, sont successifs et la concentration en oxygène dissous dans la phase liquide résulte d'un régime quasi-stationnaire rapidement établi et pour lequel la vitesse de transfert de l'oxygène est égale à sa vitesse de consommation par bioréaction.

Compte tenu de sa très faible solubilité, le substrat limitant est en général l'oxygène ; en supposant que l'influence de la concentration en oxygène dissous sur la vitesse de croissance obéit à la loi de Monod, on peut alors écrire en régime quasi stationnaire :

$$K_{La} (O_2^* - O_2) = \frac{r_X}{Y_{X/O_2}} = \frac{X \mu}{Y_{X/O_2}} = \frac{X}{Y_{X/O_2}} \frac{\mu_{\max}(O_2)}{K_{O_2} + (O_2)}$$

Avec

μ (s^{-1}) : taux de croissance

μ_{\max} (s^{-1}) : taux de croissance maximal

r_X ($kg \cdot m^{-3} \cdot s^{-1}$) : vitesse de formation de biomasse

(O_2) (kg/m^3) : concentration en oxygène dissous,

(O_2^*) (kg/m^3) : concentration saturante en oxygène dissous,

Y_{X/O_2} : rendement de la biomasse par rapport à l'oxygène,

K_{O_2} (kg/m^3) : constante de Monod pour l'oxygène.

La **croissance aérobie** des micro-organismes se déroule en trois **phases**.

- En début de culture, la **concentration en biomasse** [X] est **faible** et le flux d'oxygène nécessaire à la croissance est bien inférieur au flux limite de transfert. La concentration en oxygène dissous [O_2] n'est donc pas très petite devant la concentration saturante. Le microorganisme se développe à son taux de croissance

μ_{\max}

Chapitre IV

- La **concentration en biomasse augmentant de manière exponentielle**, les besoins en oxygène croissent de même et la concentration $[O_2]$ diminue. Lorsque cette concentration devient du même ordre de grandeur que k_{O_2} , les deux phénomènes, transfert de matière et bioréaction, sont alors couplés. Les valeurs de k_{O_2} étant très faibles, le flux limite de transfert est très rapidement atteint.
- La **croissance est limitée par** le transfert d'oxygène, la vitesse de croissance est constante et égale à : $r_X = Y_{X/O_2} k_{L,a} (O_2^*)$

IV.6. Fermentation continue et discontinue

Equation du bilan massique sur le fermenteur

$$\text{Entrée} + \text{Production} = \text{Sortie} + \text{Accumulation}$$

Equation du bilan massique par rapport au substrat

$$Q_E S_0 - r_S V = Q_S S + \frac{d(V S)}{dt}$$

Equation du bilan massique par rapport à la biomasse

$$Q_E X_0 + r_X V = Q_S X + \frac{d(V X)}{dt}$$

Equation du bilan massique par rapport au produit

$$Q_E P_0 + r_P V = Q_S P + \frac{d(V P)}{dt}$$

Avec

V : volume du liquide

Q : débit volumique

S_0 , X_0 et P_0 concentration initiale respectives du substrat de la biomasse et du produit.

S, X et P concentration respectives à l'instant t du substrat de la biomasse et du produit

IV.6.1. Fermentation discontinu non alimenté ou Batch

Bilan sur le fermenteur batch

Le réacteur ne possède ni entrée ni sortie $Q_E = Q_S = 0$ et le volume est constant

Bilan sur le substrat

$$-r_S = \frac{d(S)}{dt}$$

Bilan sur la biomasse

Chapitre IV

$$r_x = + \frac{d(X)}{dt}$$

Bilan sur le produit

$$r_p = + \frac{d(P)}{dt}$$

La souche microbienne doit posséder un comportement cinétique connu, pendant la fermentation on introduit aucun milieu de culture sauf pour les réactifs de neutralisation, ou pour l'antimousse introduit en quantité très faible. De même façon, on ne soutire pas de la culture tant qu'elle n'est pas terminée. Le volume dans la cuve de fermentation est donc constant. La concentration en biomasse (X) augmente inversement par rapport à celle du substrat (S) qui lui est consommé. Le produit recherché (P) apparaît et sa concentration augmente.

Le temps nécessaire pour passer de la concentration en substrat S_0 à la concentration S, après consommation par le processus de fermentation est donné par la formule suivante :

$$t = - \int_{S_0}^S \frac{dS}{r_S}$$

r_S étant la vitesse de la réaction de fermentation souvent modélisé par l'équation de Monod

Le temps nécessaire pour passer de la concentration cellulaire X_0 , à la concentration X est donnée par la formule suivante :

$$t = \int_{X_0}^X \frac{dX}{r_X}$$

r_X désigne la vitesse de croissance cellulaire

Par le même raisonnement on peut écrire, si r_P est la vitesse d'apparition du métabolite recherché (on néglige sa dégradation) le temps nécessaire pour obtenir une concentration finale P de produit est donné par la relation suivante:

$$t = \int_{P_0}^P \frac{dP}{r_P}$$

IV.6.2. Fermentation discontinue alimentée ou Fed Batch

Après une phase rapide de démarrage, correspondant à la fermentation discontinu, on introduit le milieu de culture on dit qu'on a atteint la phase exponentielle de croissance (2^{ème} phase). Le débit d'alimentation Q est réglé de façons à ce que la concentration en substrat soit

Chapitre IV

constante dans le fermenteur $\frac{dS}{dt} = 0$ et correspond à une étape de la phase logarithmique de croissance cellulaire. Le fermenteur est alimenté sans soutirage.

Bilan massique par rapport au substrat

$$Q_E S_0 - r_s V = + \frac{d(V S)}{dt}$$

$$Q S_0 - \frac{r_x}{Y_{X/S}} V = + \frac{d(V S)}{dt} = \frac{S dV}{dt}$$

Bilan massique par rapport à la biomasse

$$r_x V = + \frac{d(V X)}{dt}$$

Bilan massique par rapport au produit

$$+ r_p V = + \frac{d(V P)}{dt}$$

L'augmentation du volume du liquide dans la cuve est donnée par l'expression suivante :

$$dV = Q dt$$

Dans ces conditions, le volume de milieu en fermentation augment ainsi que celui de la biomasse (XV), selon l'expression :

$$\frac{d(XV)}{dt} = r_x V = \mu X V = V \frac{dX}{dt} + X \frac{dV}{dt}$$

$$\frac{d(XV)}{XV} = \mu dt$$

$$\boxed{\Rightarrow XV = X_0 V_0 e^{\mu t}}$$

L'équation de bilan sur le substrat devient :

$$Q S_0 - \frac{r_x}{Y_{X/S}} V = + \frac{d(V S)}{dt} = \frac{S dV}{dt} = Q S$$

$$\Rightarrow Q (S_0 - S) = \frac{r_x}{Y_{X/S}} V = \frac{\mu X}{Y_{X/S}} V$$

$$1- Q = \frac{\mu \cdot X \cdot V}{Y_{X/S} \cdot (S_0 - S)} = \frac{\mu \cdot X_0 \cdot V_0}{Y_{X/S} \cdot (S_0 - S)} \cdot e^{\mu \cdot t}$$

$$2- V = V_0 + \int_0^t Q dt$$

$$3- V = V_0 + \frac{\mu \cdot X_0 \cdot V_0}{Y_{X/S} \cdot (S_0 - S)} \int_0^t e^{\mu t} dt$$

Chapitre IV

En combinant les 3 équations, on déduit la concentration en biomasse à l'instant t:

$$X = \frac{X_0 \cdot e^{\mu \cdot t}}{\left[1 + \frac{X_0}{Y_{x/s}} \cdot (S_0 - S) \cdot (e^{\mu \cdot t} - 1) \right]}$$

La variation de la concentration en biomasse au cours du temps dans le milieu de culture est exprimée par :

$$\frac{dX}{dt} = X \left(\mu - \frac{Q}{V} \right)$$

Si $\frac{dX}{dt} = 0 \Rightarrow \mu = \frac{Q}{V}$ la concentration en biomasse dans la cuve reste constante, on dit que le microorganisme est maintenu en phase exponentielle de croissance dans le fermenteur et

$$\frac{dV}{V} = \mu_m dt$$

Cette expression donne la loi d'évolution du volume de milieu en fermentation ou d'évolution dans le temps du débit d'alimentation.

A la fin de cette phase on coupe l'alimentation et la culture évolue en phase de décroissance ou dite de ralentissement puis en phase stationnaire au cours desquelles on assiste à l'épuisement en substrat du milieu.

IV.6.3. Fermentation Continue

Fermenteur continu infiniment (parfaitement) mélangé

La suspension microbienne en fermentation est homogène en tout point du réacteur.

En pratique on commence àensemencer la cuve contenant un volume V de liquide. L'alimentation et le soutirage se pratiquent aux mêmes débits $Q_E = Q_S = Q$

Bilan massique par rapport au substrat

$$Q S_0 - r_s V = Q S + \frac{d(V S)}{dt}$$

Bilan massique par rapport à la biomasse

$$Q X_0 + r_x V = Q X + \frac{d(V X)}{dt}$$

Bilan massique par rapport au produit

$$Q P_0 + r_p V = Q P + \frac{d(V P)}{dt}$$

Lorsque l'état d'équilibre pour ce qui est de la biomasse est établi, l'équation de bilan devient:

Chapitre IV

$$Q X_0 + r_x V = Q X$$

Soit $D = \frac{Q}{V}$ le taux de dilution $\Rightarrow D(X - X_0) = r_x = \mu X$

Le temps de séjour moyen pour que le taux de dilution soit égal au taux de croissance est :

$$\tau = \frac{1}{D} = \frac{X}{r_x} \quad \text{Avec } X_0 = 0$$

IV.6.4. Le fermenteur à gradient de concentration

Le concept du réacteur piston peut être appliqué à la fermentation. C'est un réacteur tubulaire dans lequel le milieu de culture ensemencé (X_0) se déplace en même temps que la fermentation se déroule. La concentration en biomasse et produit augmente progressivement le long du réacteur alors que la concentration en substrat diminue.

Bilan sur la biomasse

$$Q X + r_x dV = Q(X + dX) \quad \Rightarrow \quad r_x dV = Q dX$$

Le temps nécessaire pour passer d'une concentration X_0 biomasse à une concentration X est donné par l'expression:

$$t = \frac{V}{Q} = \int_{X_0}^X \frac{dX}{r_x}$$

IV.6.5. Fermentation avec recyclage de la biomasse

Le fermenteur parfaitement mélangé est limité dans son fonctionnement par un taux de dilution maximal : D_{\max}

$$D_{\max} = \mu_m \frac{S_0}{K_S + S_0}$$

Bilan massique par rapport à la biomasse sur le réacteur continu avec recyclage

Bilan

$$Q_E X_0 + r_x V = Q_S X + Q_R X_R + \frac{d(V X)}{dt}$$

La variation de la quantité de biomasse dans la cuve :

$$\frac{V dX}{dt} = \mu V X + Q X_0 + Q_R X_R - X(Q + Q_R)$$

Le taux de recyclage est lié à deux paramètres :

- le rapport des débits $\alpha = \frac{Q_R}{Q}$

Chapitre IV

- le rapport de concentrations cellulaire : $\beta = \frac{X_R}{X}$

En remplaçant on obtient :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X + \alpha\beta D X - (1 + \alpha)D X$$

En posant $\gamma = 1 + \alpha - \alpha\beta$ on obtient :

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - \gamma D) X$$

On voit que pour que la biomasse soit constante dans la cuve, la condition est que $\mu = \gamma D$

Chapitre IV

Série de TD N°4

Exercice 1

On utilise un fermenteur agité pour produire de la bière. On connaît les caractéristiques géométriques de ce fermenteur :

Nombre de pale $N_p = 6,5$; diamètre de l'agitateur = 94 inch; Vitesse de rotation = 1,8 rps ; masse volumique du milieu de fermentation: = $1,15 \text{ g/cm}^3$. Calculer la puissance d'agitation P en kilowatt (kW). On donne : 1 inch = 1 pouce = 2,54 cm

Exercice 2

Dans un bioréacteur en opération dont K_{La} est de 300 h^{-1} , la concentration en oxygène dissous dans la culture est de 44,1 %. Si la concentration à saturation dans le milieu à la température de fermentation est de 6,8 mg/L, quel est le taux (vitesse) de transfert d'oxygène dans le réacteur à ce moment?

Exercice 3

Un fermenteur de 20.000 litres est utilisé pour la production de levures. Les caractéristiques géométriques sont les suivantes : diamètre de la cuve : 3 m; diamètre de l'agitateur : 1 m ; hauteur de liquide : 2,83 m ; 1 agitateur turbine à 6 pales ; vitesse d'agitation 85 tr/min ; débit d'aération $600 \text{ m}^3/\text{h}$. Le milieu de fermentation a les caractéristiques suivantes : milieu newtonien, masse volumique = 1200 kg/m^3 ,

- 1) Calculer la puissance d'agitation P_o aux différentes vitesses d'agitation
- 2) Calculer la puissance d'agitation P_g (CV/m^3) par la corrélation de Michel et Miller

Exercice 4

Un fermenteur est conçu pour la production de levures à partir de lactoserum. Ce dernier contient 40 g/L de lactose sur lequel on peut faire pousser *K. fragilis* avec un rendement de 0,52 et un taux de croissance spécifique maximal de $0,4 \text{ h}^{-1}$. Afin d'éviter l'effet Pasteur et la formation d'éthanol, la concentration d'oxygène dissoute doit être maintenue en tout temps supérieure à 50 % de la valeur de saturation.

- a) Estimer la vitesse maximale de la consommation d'oxygène r_{O_2} pour laquelle le système d'aération doit être conçu on donne $r_{O_2} = Y_{O/X} * r_X$ avec $Y_{O/X} = 0,028 \text{ mole/g}$
- b) Estimer le $k_L a$ nécessaire pour y arriver, en admettant que l'on barbote une telle quantité d'air à travers le fermenteur, que la baisse de la concentration d'oxygène dans les bulles est négligeable. La constante de Henry pour l'oxygène (30 °C) vaut $850 \text{ atm} \cdot \text{l} \cdot \text{mol}^{-1}$

Chapitre IV

Exercice 5

Un fermenteur de forme cylindrique a les caractéristiques géométriques suivantes : diamètre de la cuve (d_c) = 3 m ; diamètre de l'agitateur (d_a) = 1,5 m ; hauteur du liquide (h) = 5 m ; $N_p = 6$; masse volumique du liquide (ρ) = 1050 kg/m³, vitesse d'agitation (N) = 40 tours / mn.

Calculer le volume du liquide V_L puis le débit volumique G (m³/s) de gaz. Déduire la vitesse superficielle du gaz U_g ; on donne son expression : $U_g = G / \text{Surface de la cuve}$.

Calculer les puissances d'agitation non aérées (P) et aérées (P_g)

Calculer le coefficient volumique de transfert d'oxygène k_{La} (h⁻¹) pour ce fermenteur

Exercice 6

Un fermenteur est utilisé pour la production de levures. Les caractéristiques géométriques de ce fermenteur sont les suivantes:

- 1 agitateur turbine type 6 pales
- Diamètre de la cuve = 7,32 m
- Diamètre de l'agitateur = 96 inch
- Hauteur de liquide = 7,32 m
- Vitesse de rotation = 1,4 rps

Le milieu de fermentation a les caractéristiques suivantes: Milieu newtonien, Masse volumique = 1,15 g/cm³, Viscosité = 12 000 cP

Calculer la puissance d'agitation et le temps de mélange.

Exercice 7

Les caractéristiques géométriques d'un fermenteur sont les suivantes :

- Diamètre de la cuve : 3 m
- Diamètre de l'agitateur : 1,5 m
- Hauteur de liquide : 5 m
- 4 contrepales

3 agitateurs turbine de Rushton à 6 pales

Les constantes du milieu de fermentation sont: milieu newtonien, masse volumique = 1050 kg/ m³, viscosité = 0,003 kg/m.s. La vitesse d'agitation est de 40 tours/min et l'aération de 0,5 VVM (volume d'air par volume de liquide et par minute)

- 1) Calculer les puissances d'agitation non aérées et aérées.
- 2) Calculer le coefficient de transfert d'oxygène pour ce fermenteur.

Chapitre IV

Exercice 8

On produit un polysaccharide par fermentation avec *Xanthomonas campestris*. La concentration en cellule est de 6 g/l.

- 1) Calculer la demande volumique en oxygène.
- 2) Quelle doit être la valeur du coefficient de transfert d'oxygène pour que la concentration d'oxygène dissous soit supérieure à 0,02 at ?
- 3) Le moteur du fermenteur a une puissance de 720 chevaux. Est-il suffisant pour satisfaire la demande en oxygène du micro-organisme ?

Données :

$$\text{Taux de croissance} = 0,042 \text{ h}^{-1}$$

$$\text{Rendement : } Y_{X/O_2} = 0,79 \text{ g/g}$$

$$\text{Volume du fermenteur} = 40 \text{ m}^3$$

$$\text{vitesse des gaz} = 4,9 \text{ m/min}$$

$$\text{Pression partielle d'oxygène à la sortie du fermenteur} = 0,11 \text{ at}$$

$$\text{Masse volumique du milieu} : 1300 \text{ kg/m}^3$$

Le milieu a un comportement non newtonien le fermenteur est de géométrie standard avec 3 agitateurs,

Exercice 9

En utilisant le fermenteur décrit dans l'exercice 2, on a mesuré la vitesse d'utilisation de l'oxygène (OUR) et la puissance d'agitation :

N (tr/min)	Débit air (m ³ /h)	OUR (mmoleO ₂ /l.h)	Puissance mesurée (CV)
50	200	16,7	6,8
70	200	19,4	10,3
85	200	23,7	11,7
50	320	21,8	9,9
70	320	26,3	13,3
85	320	27,8	14,7
85	600	39,0	20,5

Pendant les mesures, la concentration d'oxygène dissous était nulle.

A l'aide d'un bilan oxygène, calculer la concentration d'oxygène dans les gaz de sortie (température 30°C). En déduire le coefficient de transfert d'oxygène dans les différentes conditions ci-dessus.

Calculer la puissance par unité de volume et la comparer avec celle mesurée.

Chapitre IV

Calculer l'efficacité de transfert d'oxygène dans les différentes conditions. Commenter.

Problème 1

Des essais de production d'antibiotiques ont été réalisés sur un fermenteur pilote de 300 litres (volume liquide) de géométrie standard:

Diamètre de la cuve : 0,65 m ; Diamètre de l'agitateur : 0,19 m ; Hauteur de liquide : 0,90 m.

Le fermenteur est muni de deux agitateurs turbine à 6 pales, la vitesse de rotation est de 400 t/min. Le milieu de fermentation sera considéré comme newtonien de masse volumique 1 g/cm³ et de viscosité 1 cp.

Les mesures suivantes ont été réalisées

aération (VVM)	0,1	0,25	0,5	0,75
G (m ³ /s) : Débit de gaz				
Pg (Watts) : Puissance aérée				
K _{La} (s ⁻¹)				
titre en antibiotique (%)	10	60	100	95

1) Remplir le tableau. Tracer le titre en fonction du k_{La} et commenter la courbe.

2) Extrapolation :

On se propose d'utiliser ces données pour le calcul d'une installation de production d'industrielle d'antibiotique dans un fermenteur de volume liquide de 300 m³.

a) Quelle est la valeur de l'aération nécessaire pour maintenir la puissance par unité de volume constante et le coefficient de transfert d'oxygène constant ? Quelle est alors la nouvelle vitesse d'agitation ? Comparer les vitesses en bout de pales. Conclusions compte tenu de la nature du micro-organisme.

b) Quelle est la nouvelle puissance par unité de volume et le nouveau coefficient de transfert d'oxygène si on extrapole en maintenant la vitesse en bout de pales constante et en prenant une aération de 0,5 VVM ?

On donne les expressions suivantes :

$$0,2 \left(\frac{d_a}{d_c} \right)^{0,5} (Fr)^{0,5} = \frac{G}{Nd_a^3} \quad Fr = \frac{N^2 d_a}{g} \quad N_p = \frac{P}{\rho_l N^3 d_a^5} ;$$

$$\frac{P_g}{P} = 0,27 + \frac{0,0022}{F_r} \quad k_{L,a} = 2,6 \cdot 10^{-2} \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^{0,4} U_g^{0,5} ; \quad g = 9,81 \text{ m/s}^2$$

Chapitre IV

Problème 2

Les essais de production de la vitamine B6 consistent en une fermentation de glucose par la levure *Schizosaccharomyces pombe* dans un fermenteur (cuve mécaniquement agitée aérée) de laboratoire de volume liquide égal à 10 litres, de forme cylindrique et de géométrie **standard** (un agitateur de type turbine de Rushton), les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau ci-dessous.

Calculer le diamètre **dc** du fermenteur, en déduire la hauteur du liquide et le diamètre de l'agitateur **da**. Quels sont le rendement en biomasse $Y_{X/S}$ et le rendement en produit $Y_{P/S}$

Vous souhaitez dimensionner le transfert d'oxygène pour estimer les coûts de production. Après 28 h de fermentation, la concentration en oxygène $C^*_{O_2}$ est de 0,186 atm, le rendement Y_{X/O_2} est de 0,21 g/g pour un taux de croissance $\mu = 0,14 \text{ h}^{-1}$, en déduire la demande volumétrique en oxygène en mmole/ l. h.. Calculer le coefficient de transfert d'oxygène $k_{L a}$ (h^{-1}) qui permet de satisfaire la demande en oxygène de ce microorganisme.

Vous envisagez une production dans une unité industrielle de la vitamine B6 Le fermenteur utilisé, a les caractéristiques géométrique suivantes : diamètre de la cuve $d_c = 4 \text{ m}$, diamètre de l'agitateur $d_a = 1,2$ et une hauteur du liquide de 5,5 m. Calculer le volume V_L du liquide

b) En maintenant le coefficient $k_{L a}$ (h^{-1}) constant, quelle puissance P_g est-elle nécessaire en

appliquant la relation de Fukuda suivante : $k_{L a} = 1,83 (2 + 2,3 n_p) \left(\frac{P_g}{V_L} \right)^{0,77} (V_g)^{0,67}$

Avec V : volume du fermenteur, $n_p = 3$ et une vitesse superficielle du gaz $V_g = 0,025 \text{ m/s}$

Tableau Croissance et production de produit

t (h)	X (g/l)	P (g/l)
0	0,05	0,8
4	0,08	1,9
28	1,16	6,4

Milieu de fermentation: Source de carbone: glucose 10 g/l (utilisation complète en 28 h).

Masse molaire de l'oxygène 32 g / mole. La concentration d'oxygène C_L est de 0,02 atm , la constante de Henry $H = 850 \text{ atm litre mole}^{-1}$

Chapitre IV

Problème 3

On se propose de produire des levures de boulangerie (*saccharomyces cerevisiae*) par culture aérobie sur glucose à la température ambiante de 30 °C dans une cuve mécaniquement agitée aérée standard munie de 6 pales de diamètre $d_c = 1,08$ m et de volume utile de liquide V_L de 1 m³. Le mobile d'agitation est une turbine Rushton. Quel est la vitesse en bout de pales de l'agitateur (m/s) si la vitesse de rotation de la turbine N est de 300 tr/min. Calculer le nombre d'aération Na . A quelle hauteur du fond de la cuve doit-on placer l'agitateur. En déduire da ?

La levure se développe à partir du substrat avec un rendement $Y_{X/S}$, de 0,5 kg de levure par kilogramme de sucre (métabolisme respiratoire), La concentration souhaitée en fin de culture est 50 kg/m³, et la concentration d'inoculation de 1 kg/m³.

Si la concentration en glucose dépasse un certain seuil, la levure transforme une partie du glucose en éthanol (métabolisme fermentaire), et le rendement de production chute. Pour y remédier, un sucre d'une concentration de 250 kg/m³, est apporté dans le réacteur de culture au fur et à mesure de sa consommation, ce qui permet de maintenir sa concentration en dessous du seuil de bascule métabolique. Ce mode de culture discontinu alimenté entraîne une augmentation du volume de la phase liquide et une dilution de la biomasse formée. Dans ces conditions, le rendement par rapport à l'oxygène Y_{X/O_2} est voisin de 1 kg/kg. Le taux de croissance maximal μ_{max} de la levure en aérobiose est de 0,3 h⁻¹. Calculer le volume de remplissage initial du milieu de culture. Calculer le débit volumique G (m³/s) de gaz. Déduire le taux d'aération en VVM, puis la vitesse superficielle du gaz U_g . Calculer la puissance consommée par la cuve non aérée P pour une masse volumique de 10³ kg/m³. Quelle est la puissance consommée par la cuve en milieu aéré P_g . Déduire la valeur du coefficient volumique de transfert de matière gaz-liquide $k_{L,a}$

Ce type de culture se décompose en trois phases.

1. Phase 1 de croissance (de durée t_1 (h)) exponentielle au taux de croissance maximal μ_{max} ,
2. Phase 2 très courte (de durée t_2 (h)) où réaction de croissance et transfert de matière gaz-liquide sont couplés
3. Phase 3 de croissance (de durée t_3 (h)) à vitesse constante lorsque l'oxygène devient le substrat limitant.

La durée de la deuxième phase est négligeable devant celle des phases 1 et 3 et le volume du milieu de culture varie au cours du temps.

Faite un bilan massique sur la biomasse, puis un bilan massique sur le substrat.

Chapitre IV

Le débit d'alimentation en substrat Q (m^3/s) est une fonction du temps et égale à dV_L/dt . Si on considère que $[S]$ est constant et est très petit devant $[S_0]$, reformuler l'équation du bilan sur le substrat en exprimant Q en fonction uniquement de r_X , de $Y_{X/S}$, de $[S_0]$ et de V_L .

Soit $([X]V_L)_0$ la quantité de biomasse initiale égale à 0,6 kg de la phase de croissance exponentielle

(puisque V_0 vaut $0,6 \text{ m}^3$ et $[X]_0$ 1 kg/m^3). Reformuler l'équation du bilan sur la biomasse, intégrer la relation et montrer que le débit d'alimentation en substrat Q varie de manière exponentielle avec le temps.

Exprimer la relation donnant la variation du volume V_L par rapport au temps, avec V_{L0} le volume de remplissage initial du réacteur ($0,6 \text{ m}^3$).

La phase exponentielle de croissance s'arrêtera lorsque la vitesse r_X deviendra égale à la vitesse de limitation par l'oxygène. Calculer cette vitesse r_X , pour une concentration $[O_2^*] = 7,5 \cdot 10^{-3} \text{ kg/m}^3$, un taux de croissance maximal de $0,3 \text{ h}^{-1}$ et un rendement Y_{X/O_2} de 1 kg/kg . Déduire la concentration en biomasse $[X_L]$.

Si cette valeur $[X_L]$ est atteinte après un temps t , exprimer sa valeur en fonction de V_{L0} , de $Y_{X/S}$, de S_0 , du produit $(X V_L)_0$ et de $\exp \mu_{\max} t$.

avec $Y_{X/S}$ égale à $0,5 \text{ kg}$ de levure par kg de sucre (métabolisme respiratoire)

Déduire la valeur de t (h). Que représente t -elle ?

Si le taux de dilution est constant et est de la forme $D_i = Q/V_L$ calculer D_i .

Montrer que la relation du bilan sur la biomasse écrite précédemment peut s'écrire, après son intégration entre le début de la phase et t , sous la forme :

$$\text{Log} \frac{(r_X - D_i [X])_t}{(r_X - D_i [X])_{6,5}} = -D_i(t - 6.5)$$

Calculer le temps t (h) et que représente t -il ?