

Cours

Production des enzymes par Fermentation

Les principaux avantages des enzymes d'origine microbienne sont :

- Production en grande quantité en fermenteur (rendement important) ;
- Cout faible ;
- Production indépendante des contraintes géographiques et saisonnières ;
- Moins onéreux
- Manipulation génétique facile Purification plus facile ;
- Facilité d'approvisionnement ;
- Taux de croissance important – mutants hyperproducteurs ;
- Génie génétique et Clonage ;
- Productivité en enzyme importante ;

1) Fermentation et techniques de fermentation

1.1) Définition

Dans le sens biochimique, la fermentation est un processus de production d'ATP en anaérobiose, par contre dans le domaine industriel, c'est un bioprocédé qui consiste à cultiver des souches de microorganismes sur un substrat organique nutritif et dont elles se nourrissent. Les produits sont les microorganismes et des métabolites synthétisés.

1.2).Types de fermentation industrielle

Il existe 3 systèmes de fermentation ; fermentation dans les systèmes liquides, dans les systèmes solides et dans les systèmes immobilisés.

• Fermentation en culture continue

Procédé réalisé dans un système ouvert, dans lequel un volume d'un substrat stérile est ajouté en continu (figure1 a).

1.2.1) Système liquide (fermentation submergée) : En industrie, on réalise trois types de fermentation

1.2.1.1) Voie de réalisation de la fermentation continue

La fermentation continue peut être réalisée soit par fermentation dite continue unique, par continue recyclée ou bien continue à étapes multiples.

• Fermentation continue unique

C'est la voie dans laquelle, un seul fermenteur est inoculé puis, gardé en opération continue tout en équilibrant respectivement les intrants de nutriments en culture et aussi, la collecte de produits.

• Fermentation continue recyclée

Une portion dans la fermentation continue peut être recyclée lorsque, la teneur en nutriments dans le milieu devient faible. Ceci permet d'accroître la productivité.

• Fermentation continue à étapes multiples

Ceci implique deux ou plusieurs étapes pendant l'opération de fermentation ; La fermentation dans le cas présent est ainsi divisée en 2 étapes : la croissance et, la synthèse - 1ere étape : la phase de croissance qui est réalisée dans un premier fermenteur, - 2eme étape : la phase de synthèse réalisée dans le second fermenteur ou, dans plusieurs fermenteurs successifs.

1.2.1.2) Moyen de contrôle de la fermentation continue

Cours

Production des enzymes par Fermentation

1.2.1.2) Moyen de contrôle de la fermentation continue

On peut contrôler la fermentation par 2 moyens : turbidostat et la chimiostat (chemostat)

Turbidostat : le contrôle de la fermentation se fait par le contrôle de la turbidité

Chemostat : le contrôle est réalisé par le suivi de la biodisponibilité d'un nutriment (facteur limitant)

1.2.11)1. Fermentation en culture dis continue (batch)

Le procédé est réalisé dans un système clos dans lequel un même volume de milieu non renouvelé est utilisé pour la croissance des micro-organismes ; la quantité de nutriments est donc limitée (figure1 b).

1.2.11)2. Fermentation en culture dis continue alimentée (fed batch)

Le substrat est apporté au fur et à mesure de sa consommation par les microorganismes (figure 1c).

1.2.2) Fermentation en système solide

Elle est réalisée en phase solide ou les cellules vivantes sont inoculées avec un substrat solide (riz, blé, écorce de betterave) mais humidifié. Ce type de fermentation est spécifique au genre mycéliums.

1.2.3) Système immobilisé

Les cellules sont fixées sur un support ou matrice soit par adsorption, inclusion ou liaisons covalentes.

2). Bio fermenteur (bioréacteur)

Il s'agit de l'enceinte, d'une cuve, dans laquelle une ou plusieurs réactions interviennent (biochimique, chimique et microbiologique). On parle donc de réacteurs tant en industrie chimique (réactions chimiques) que dans le cadre de la biochimie (réactions enzymatiques). Et lorsque la réaction est initiée par un organisme vivant, on utilisera plus spécifiquement le terme de "bioréacteur".

2.1) Conception

Enceinte ou cuve en acier inoxydable (figure 3) ou parfois en verre, constitué de ; d'une ou plusieurs sondes de température, d'une ou plusieurs électrodes de pH, d'un thermostat, d'un mélangeur, d'un système d'aération et d'un système de raclage.

2.2). Composition

Un bioréacteur est constitué :

- Phase liquide ou semi solide (phase abiotique), généralement c'est le substrat ou le milieu nutritif dont le choix dépend de la souche utilisée, on utilise généralement une source de carbone, d'azote, de vitamine, de minéraux et de facteurs de croissances
- Biomasse (phase biotique) c'est les cellules vivantes cultivées et sélectionnées selon une réglementation stricte.

3).Types de bioréacteurs

Pour les systèmes liquides

Cours

Production des enzymes par Fermentation

- **Bioréacteur à agitation mécanique**

Constitué par des mélangeurs ou homogénéisateurs assurant le bon contact entre les différentes phases, l'agitation se fait soit par agitation rotative axiale (hélice), radiale (pales ou turbines) figure 3.

- **Bioréacteur à agitation pneumatique (air lift)**

Dispositif dépourvu de système d'agitation mécanique et l'agitation est réalisée par le déplacement des bulles de gaz dans le fluide (figure 4).

- **Bioréacteur à agitation hydraulique (à jet ou par pompage)**

L'aspiration du liquide (fluide) et sa projection brutale dans la cuve peuvent contribuer à l'agitation.

Pour les systèmes solides

4) Critères de choix des procédés de fermentations

- ✓ Demande en oxygène
- ✓ Propriétés des produits vis à vis des cellules
- ✓ Fragilité des microorganismes

5) Paramètres affectant la fermentation

- ✓ Eau
- ✓ Composition du milieu
- ✓ Température
- ✓ pH
- ✓ Temps
- ✓ Aération
- ✓ Agitation

6). Etapes de production des enzymes par fermentation (figure 7)

- Définir l'enzyme
- Sélectionner la souche
- Inoculation soit milieu solide ou liquide approprié
- Fermentation 15-30h
- Extraction
- Purification
- Stockage
- Commercialisation