

Introduction et domaines d'activités

Bio ingénierie ; c'est l'application des principes et des méthodes de l'ingénierie dans les domaines

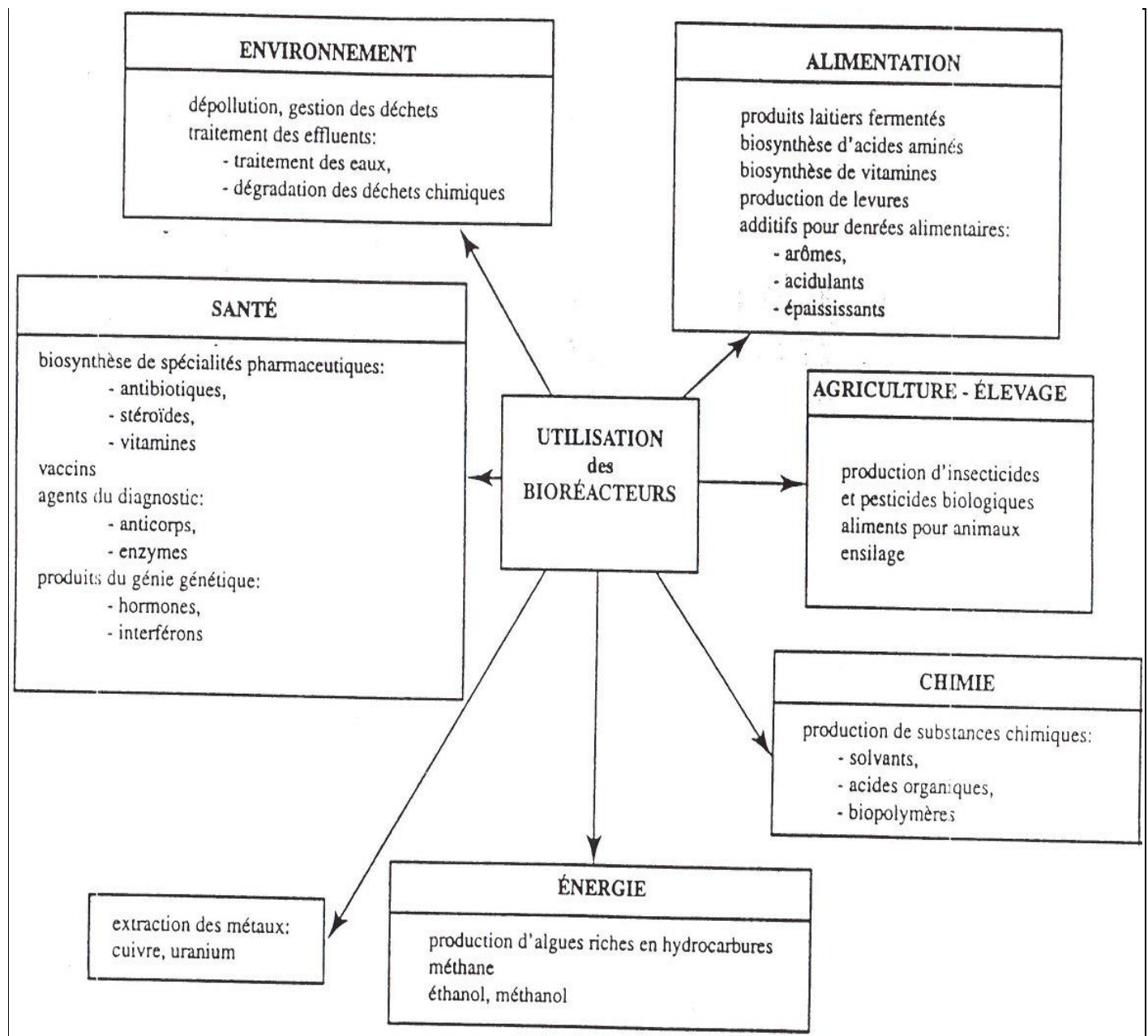
Microbiologie industrielle : couvre des procédés de bioconversion ou biosynthèse réalisé par un microorganisme. Elle concerne l'utilisation des microorganismes dans la production de substances organiques (éthanol, glycérol, acétate, propionate...), d'antibiotiques, de composés pharmaceutiques et additifs alimentaires....

Domaines d'activité (voir schéma):

- ☐ **Agro-alimentaire** (agents de saveurs, émulsifiants, fermentations alcoolique, lactique...)
- ☐ **Production d'énergie** (éthanol, méthane, hydrogène,...)
- ☐ **Production de solvants** (acétone, butanol,...)
- ☐ **Environnement** (bioremédiation des sols pollués, épuration biologique d'eau, forage pétrolier)
- ☐ **Agriculture** (vecteur pour la production d'OGM, herbicides, insecticides, hormones végétales)
- ☐ **Biologie moléculaire** (production d'enzymes de restriction,...)
- ☐ **Industrie pharmaceutique** (antibiotiques, vitamines, acides aminés, insuline, hormone de croissance, hydrocortisone, ,...et de nombreux autres produits du groupes des antitumoraux, immunosuppresseurs, anti-inflammatoires,...).

Avantages:

- Cout plus faible que les procédés chimiques (catalyse enzymatique)
- Synthèse de certaines molécules que par les microorganismes (prostaglandines, stéroïdes)
- production des grandes quantités dans un temps court,
- une bonne sécurité, moins de contamination de produit fini



DOMAINES D'ACTIVITES

I. LES MICROORGANISMES INDUSTRIELS

1. Bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires qui, normalement, se multiplient par scissiparité, c'est-à-dire en se divisant en deux. La méthode la plus simple de classification des bactéries est leur apparence. Mais pour voir les bactéries, il faut d'abord les colorer puis les étudier au microscope avec un agrandissement d'environ 1000 fois.

La méthode la plus utilisée pour colorer les bactéries est la coloration de Gram, introduite par le bactériologiste danois du même nom. Les bactéries sont réparties en deux groupes principaux, selon leurs caractéristiques de coloration de Gram : les rouges ou Gram-négatives, les bleues ou Gram-positives.

1.1. Morphologie des bactéries

Morphologie signifie étude (*ologie*) de la forme (*morph*). Les caractéristiques morphologiques des bactéries incluent la forme, la taille, la structure cellulaire, la mobilité (l'aptitude à se déplacer dans un liquide), et la formation de spores (sporulation) et de capsules.

On peut distinguer trois formes caractéristiques : les sphériques, les allongées et les spiralées. La position des bactéries les unes par rapport aux autres est également une caractéristique distinctive importante.

Les diplocoques sont disposés en paires. Les staphylocoques forment des groupes (du grec *staphulê* = grain de raisin), alors que les streptocoques forment des chaînes (du grec *streptos* = chaîne).

Les bactéries allongées (bacilles) peuvent varier en longueur et en épaisseur. Elles forment également des chaînes. Les bactéries spiralées (spirilles) peuvent également varier en longueur et en épaisseur, et en nombre de spires

La taille des coques varie entre 0,4 et 1,5 μm (1 μm = 0,001 mm). La longueur des bacilles peut varier entre 1 et 10 μm , même si quelques espèces sont plus grandes ou plus petites.

1.2. Classification par préférence de température

Il est possible de répartir les bactéries dans les catégories suivantes d'après leur plage de température de préférence :

Les bactéries **psychrotrophes** (tolérantes au froid) sont des souches psychrophiles ou mésophiles qui peuvent se reproduire à une température de 7°C ou inférieure, quelle que soit la température optimale.

Les bactéries **psychrophiles** (aiment le froid) ont une température optimale de croissance inférieure à 20°C.

Les bactéries **mésophiles** (aiment le “juste milieu”) ont une température optimale de croissance comprise entre 20 et 44°C.

Les bactéries **thermophiles** (aiment la chaleur) ont une température optimale de croissance entre 45 et 60°C.

Les bactéries **thermoduriques** (aiment les températures élevées), au-dessus de 70°C. Elles ne croissent pas et ne se reproduisent pas aux températures élevées, mais peuvent y résister sans être tuées.

2. Champignons

Les champignons sont un groupe de micro-organismes que l'on trouve fréquemment dans la nature chez les êtres humains, les végétaux, et les animaux. Selon les espèces, les champignons peuvent varier considérablement dans leur structure et méthode de reproduction. Ils peuvent être de forme ronde, ovale ou filiforme. Les filiformes peuvent former un réseau, visible à l'oeil nu, qui a la forme de moisissures sur la nourriture, par exemple. Les champignons se répartissent entre les levures et les moisissures.

2.1. Les levures

Les levures sont des organismes unicellulaires de forme sphérique, elliptique ou cylindrique. La taille des cellules de levure varie considérablement. *Saccharomyces cerevisiae*, la levure à bière, a un diamètre compris entre 2 et 8 µm et une longueur de 3 à 15 µm. Certaines cellules de levure d'autres espèces peuvent atteindre 100 µm.

La cellule contient du cytoplasme et un noyau clairement visible, entouré d'une membrane nucléaire (Tp) Elle est protégée par une paroi et une membrane cellulaire perméable qui laisse entrer les nutriments et sortir les déchets. La cellule contient une vacuole qui sert de dépôt pour la nourriture de réserve et les déchets avant leur évacuation de la cellule. Les globules gras et les particules glucidiques sont noyés dans le cytoplasme. Le cytoplasme comprend également les mitochondries, qui génèrent l'énergie nécessaire à la croissance de la cellule, et les ribosomes. Les cellules de levure se reproduisent normalement par *bourgeoisement*

3. Archaea

Les **archées** ou *archaea* (anciennement *archéobactéries* ou bien encore *archéobactéries*, du grec *archaios*, « ancien » et *backterion*, « bâton ») forment un groupe de [micro-organismes](#) unicellulaires et sont un groupe majeur de [procaryotes](#). Comme les [bactéries](#), elles ne présentent donc ni [noyau](#), ni [organites](#) intracellulaires.

Habituellement, la taille et la forme des archées sont similaires à celles des bactéries, bien que certaines espèces d'archées présentent une forme inhabituelle, comme *Haloquadrada walsbyi* qui est de forme plate et carrée. En dépit de ces similarités visuelles avec les bactéries, les archées s'en distinguent par certains caractères biochimiques, comme la constitution de la **membrane cellulaire**. De plus, elles présentent des gènes et des voies métaboliques qui sont plus similaires à ceux qui sont rencontrés chez les

eucaryotes, notamment les enzymes impliquées dans le mécanisme de [réplication de l'ADN](#), la transcription et la [traduction](#). Les archées utilisent une plus grande variété de source d'énergie que les eucaryotes : [composé organique](#) comme les [sucres](#), l'[ammoniac](#), les [ions métalliques](#) et même l'[hydrogène gazeux](#) comme nutriments.

Les **Halo bactéries** utilisent la lumière solaire comme source d'énergie. Les **archaea** se reproduisent de manière [asexuée](#) et se divisent par [fission binaire](#), fragmentation ou bourgeonnement. Par opposition aux bactéries et aux eucaryotes, aucune espèce d'archées identifiée à ce jour n'est capable de former des [spores](#).

Les *archaea* sont extrêmement diversifiées. Certaines sont connues pour leur capacité à vivre dans des conditions extrêmes et occupent des [niches écologiques](#) qu'elles sont souvent seules à occuper (pH proche de 0, température supérieure à 100°C, salinité élevée par exemple), mais il existe beaucoup d'archées vivant dans des [biotopes](#) plus courants et très variés comme le sol, les lacs, la mer ou l'intestin des animaux. Ces procaryotes sont maintenant ainsi reconnus comme une part majeure du vivant sur Terre, ils peuvent jouer un rôle dans le [cycle du carbone](#) et le [cycle de l'azote](#). Il n'y a pas d'exemple clairement reconnu d'archées [pathogènes](#) ou [parasites](#), mais il existe des espèces [mutualistes](#) ou [commensales](#). Par exemple, les archées [méthanogènes](#) du tractus intestinal de l'Homme et des ruminants participent à la [digestion](#) des aliments. Les archées ont également une importance en technologie, avec par exemple l'utilisation des méthanogènes pour produire des [biogaz](#) ou leur participation au [traitement des eaux usées](#). Par ailleurs, les [enzymes](#) des archées extrémophiles, résistantes aux températures élevées et aux solvants organiques, sont exploitées en [biotechnologie](#).

Sur la base de critères uniquement métaboliques, les archées ont été divisées en quatre grands groupes : les [archéobactéries méthanogènes](#), les [archéobactéries halophiles](#), les [archéobactéries thermophiles](#).

***Archea méthanogène :** [Archéobactéries](#) productrices de [méthane](#) se trouvant dans des milieux variés, allant de sédiments marins ou d'estuaires, jusqu'aux tourbières et aux [intestins](#) de nombreux animaux ([termites](#), [mammifères](#), ...). Il a été estimé qu'un tiers du méthane rejeté dans l'[atmosphère](#) pourrait avoir pour origine les archaea méthanogènes... Elles représentent aujourd'hui une part très importante des recherches effectuées dans le monde sur les archaea. Ces sont des [organismes chimioautotrophes](#). Ce sont des microorganismes [anaérobies](#) strictes

***Archées thermophiles** : (anciennement appelées *thermoacidophiles*) sont des [archées](#) qui s'accommodent de la chaleur. On parle de [thermophiles](#) lorsqu'elles ont un optimum de croissance aux alentours de 60°C et d'hyperthermophiles, lorsqu'elles se développent à plus de 80 °C). Ces organismes sont [chimiotrophes](#).

Par exemple : les [sulfolobales](#), les [thermoprotéales](#), les [thermococcales](#)

***Halophile : Halobacteria** : halophiles (Halobacteria, ou Haloarchae) qui peuvent vivre en présence de fortes concentrations en chlorure de sodium comme dans la Mer Morte. Il s'agit d'organismes chimioautotrophes. Parmi les exemples d'Archaea halophiles, l'ordre des [Halobacteriales](#) comprend les genres [Halobacterium](#), [Halococcus](#), [Haloarcula](#), [Haloferax](#), [Natronococcus](#).

Exp : L'archée *Haloferax volcanii* vit dans la mer morte, presque huit fois plus salée que les océans (275 g/l de chlorure de sodium)

4. Virus

Lorsque les virus entrent en contact avec des cellules hôtes, ils déclenchent les cellules pour les engouffrer ou se fusionner avec la membrane cellulaire de sorte qu'ils peuvent libérer leur ADN dans la cellule. Une fois à l'intérieur d'une cellule hôte, les virus prennent le relais de son mécanisme de reproduire

Les virus sont la plus petite et la plus simple de microbes; ils peuvent être jusqu'à 10.000 fois plus petite que les bactéries. Les virus sont constitués d'une petite collection de matériel génétique (ADN ou ARN) enfermé dans une enveloppe protéique de protection appelée capsid. (Les rétrovirus font partie des particules infectieuses qui utilisent l'ARN comme matériel héréditaire.) Dans certains virus, la capsid est recouverte d'une enveloppe virale en protéines, lipides et hydrates de carbone. Les enveloppes peuvent être parsemées par des pointes en hydrates de carbone et des protéines qui aident les particules virales se fixent aux cellules hôtes.

Exemple d'utilisation : les adénovirus sont utilisés dans des traitements de thérapie génique pour délivrer des gènes expérimentaux thérapeutiques.

5. Les algues

5.1. Les Micro-algues

Principaux composants du **phytoplancton**, les micro-algues (en incluant les cyanobactéries) sont des êtres photosynthétiques unicellulaires. Peuplant les océans et cours d'eau depuis plus de trois milliards et demi d'années. La consommation des algues remonterait à des millénaires. Tchadiens consomment la **spiruline** séchée depuis plusieurs décennies. En Europe, c'est dans un contexte de pénurie alimentaire que les chercheurs ont commencé à s'intéresser aux **algues microscopiques** en tant qu'**aliment** ou **complément alimentaire**. Aujourd'hui, avec seulement quelques **dizaines** d'espèces de micro-algues cultivées, la production mondiale plafonne à 10 000 tonnes chaque année. Cette valeur reste négligeable en comparaison à celle de la production mondiale de macro-algues (15 millions de tonnes).

Les espèces de micro-algues les plus cultivées sont par ordre décroissant : la cyanobactérie *Arthrospira* (la spiruline, qui représenterait 50% de la production mondiale), suivie par les microalgues vertes *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus*, *Nannochloropsis* et la diatomée *Odontella*.

5.2.. Caractéristiques des micro-algues

LES CYANOBACTERIES sont des **algues bleues procaryotes** dont la principale espèce cultivée est la **spiruline**. Apparues il y a environ 3,8 milliards d'années elles auraient permis la production d'oxygène dans l'atmosphère en réalisant la photosynthèse. **Leurs cellules ont une structure procaryote typique des bactéries. La photosynthèse se produit directement dans le cytoplasme.**

Les micro-algues présentent l'avantage d'avoir un cycle de division très court, de l'ordre de quelques heures, permettant la production rapide de biomasse (plusieurs grammes de matière sèche par litre).

5.2. Composition biochimique

Les micro-algues présentent une très grande diversité de molécules au sein de leurs cellules. Cette biomasse se différencie principalement des autres végétaux par sa richesse en lipides, en protéines, en vitamines, en pigments et en antioxydants.

☞ Elles représentent une source importante de quasi toutes les **vitamines essentielles** : **B1, B6, B12, C, E, K1**, et possèdent un large panel de pigments, fluorescents ou non, pouvant aussi avoir un rôle d'antioxydants. En plus de **la chlorophylle** (0,5 à 1% de la matière sèche) qui est le pigment photosynthétique primaire chez toutes les algues photosynthétiques, on trouve toute une gamme de pigments supplémentaires de type **caroténoïdes** (0,1 à 0,2% de la matière sèche) et phycobiliprotéines (phycoérythrine et phycocyanine). Les pigments principalement exploités sont la phycocyanine de la **spiruline** (colorant bleu), la phycoérythrine (couleur rouge) de *Porphyridium purpureum*, l'astaxanthine d'*Haematococcus pluvialis* ou le bêta-carotène de *Dunaliella salina*.

☞ Les micro-algues peuvent accumuler plus de 50% de leur poids sec en **lipides**. Ces derniers sont principalement constitués de triglycérides, de phospholipides, et de glycolipides. Ces lipides contiennent des acides gras saturés et polyinsaturés (AGPI) comme les **oméga-3** ou les **oméga-6**

☞ Le contenu élevé en **protéines, peptides et acides aminés** (entre 12 et 65% de matière sèche) de plusieurs espèces de micro-algues est une des principales raisons pour les considérer comme une source non conventionnelle de protéines dans l'alimentation humaine et animale (**pisciculture**).

☞ Certaines espèces présentent aussi une richesse en **oligosaccharides et polysaccharides**, d'autres encore peuvent produire des molécules à activité **antivirales, antibiotiques**, ou **antiprolifératrices** chez l'homme. Beaucoup de molécules restent probablement encore à découvrir et font l'objet de recherches dans beaucoup de laboratoires à travers le monde. *Spirulina* et *Chlorella* sont toutes deux destinées à des **produits nutraceutiques** de prix relativement plus élevés.

II. Fermentation, recherche de souches nouvelles, amélioration et conservation

En **microbiologie industrielle**, le terme de fermentation désigne l'opération unitaire qui permet de produire de la **biomasse**, des **molécules contenues dans les microorganismes** ou des **produits de bioconversion** par la culture de micro-organismes. Ainsi, contrairement au sens biochimique, le terme de fermentation industrielle ne se réfère pas au métabolisme du micro-organisme. Ce terme s'applique en industrie pour des métabolismes **aérobies et anaérobies**.

Alors, L'industrie de la fermentation est un terme générique appliqué aux processus commerciaux qui reposent sur la capacité des microorganismes à produire des molécules utiles. La majorité des organismes utilisés commercialement, tels que les actinomycètes, ne poussent pas dans des conditions anaérobies et réalisent une fermentation. Dans l'industrie, le terme fermentation se réfère à la production à grande échelle de molécules biologiques dans des fermenteurs ou dans des cuves. Quand une souche est isolée pour la première fois d'une collection de culture, ce « producteur » potentiel de produits d'intérêt industriel n'est pas très différent des espèces proches. Cependant, le développement rigoureux de souches à partir de la culture originale est nécessaire avant une exploitation commerciale rentable du produit synthétisé.

Des métabolites tels que des acides aminés, des vitamines B, et des bases azotées nucléiques sont « surproduits » par certains microorganismes qui les excrètent dans leur microenvironnement. D'autres microorganismes de l'environnement peuvent assimiler ces composés. Une souche est susceptible de surproduire un métabolite tout en nécessitant pour sa croissance un métabolite excrété par un autre microorganisme. De telles associations harmonieuses sont fréquentes dans la nature. Les microorganismes qui surproduisent un composé dans leurs conditions naturelles, isolés en culture pure et soumis à une croissance dans des conditions de laboratoire, sont susceptibles de produire des quantités accrues du métabolite considéré. Une croissance non optimale en laboratoire peut également conduire à l'expression d'information génétique spécifique et à la production accrue de certains métabolites tels que des antibiotiques.

Les souches microbiennes utilisées pour la synthèse de produits commerciaux sont des « spécialistes » hautement sélectionnés qui ne survivraient probablement pas dans des conditions autres que les conditions de laboratoire. Choisis pour leur stabilité génétique au cours du processus de

fermentation et leur efficacité de production, ils présentent une croissance rapide et produisent des molécules d'intérêt dans une période de temps relativement courte. De telles souches ne doivent généralement pas être nuisibles à l'Homme ni à l'environnement, car le conditionnement des microorganismes industriels impliqués dans les fermentations à grande échelle serait difficile et coûteux.

Des procédures standards sont utilisées pour améliorer les souches microbiennes susceptibles de générer des métabolites utiles : **la mutation et la sélection**. Les scientifiques soumettent une souche productrice à des agents mutagènes et sélectionnent les souches les plus prolifiques dans la descendance. Après des applications rigoureuses et répétées de ces procédés, des augmentations phénoménales de rendement peuvent être observées. Les souches originales de *Penicillium chrysogenum*, par exemple produisaient 1,2 mg/L de pénicilline. Après manipulation génétique et sélection, elles produisent plus de 50 000 mg/L.

Conservation des souches :

La conservation à long terme des **systèmes biologiques** représente un enjeu considérable dans de très nombreux domaines d'activités industriels ou académiques : recherche, santé, industries biotechnologiques ou alimentaires... il est aujourd'hui possible de conserver, sur des durées plus ou moins étendues, des cellules microbiennes (ferments, probiotiques, souches de collection...), des cellules et tissus végétaux ou animaux (cellules sanguines, cellules souches, tissus, embryons, organes).

Les méthodes de préservation des systèmes biologiques reposent sur deux procédés :

➤ **La déshydratation et la congélation**. Ces deux méthodes conduisent à une forte augmentation de la viscosité intracellulaire, permettant de ralentir fortement les réactions de dégradation cellulaire. La mise en oeuvre de ces méthodes peut cependant conduire à des altérations cellulaires pouvant aboutir à la mort des cellules. La maîtrise des paramètres opérationnels des procédés de déshydratation et de congélation, conditionnant les transferts de chaleur et de masse, est un élément-clé dans l'optimisation de la survie des systèmes biologiques à conserver (reposent par conséquent sur des modifications physico-chimiques induites par la variation des deux principaux paramètres qui influencent la mobilité moléculaire au sein des systèmes biologiques : la température et la teneur en eau

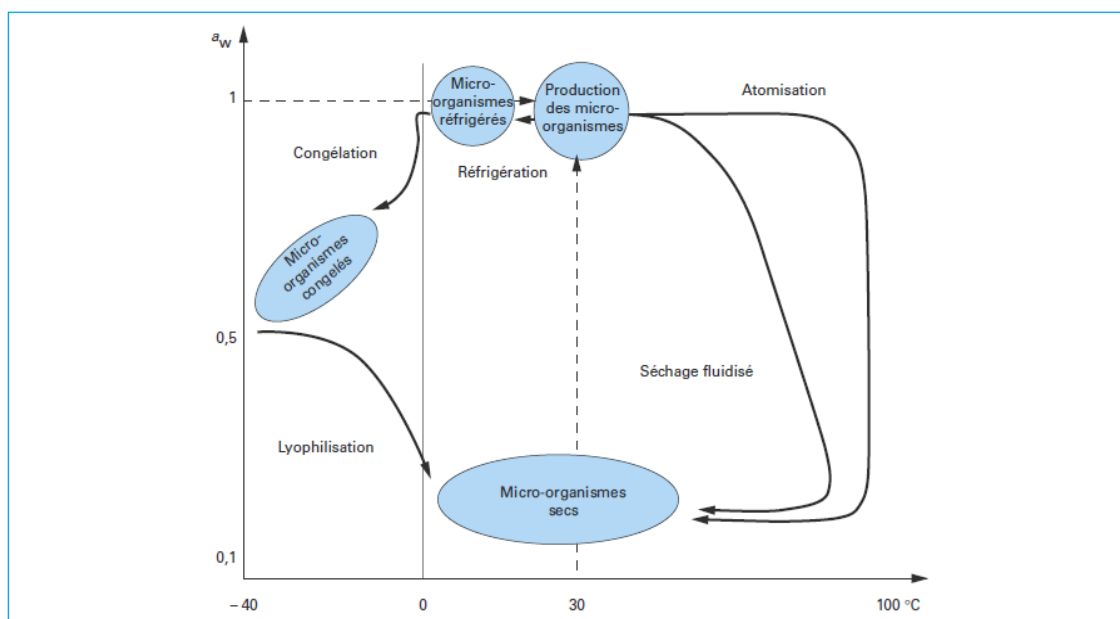


Schéma des fluctuations hydriques (activité de l'eau) et thermiques des micro-organismes au cours de différents procédés de stabilisation et conservation

➤ **La lyophilisation** basée sur la sublimation de la glace d'un échantillon préalablement congelé par chauffage sous pression réduite. La conservation par déshydratation est principalement utilisée pour les cellules microbiennes.

Remarque : atomisation : déshydratation par atomisation, le liquide est pulvérisé en fines gouttelettes, dans une enceinte cylindrique verticale au contact d'un courant d'air chaud afin d'évaporer l'eau. La poudre obtenue est entraînée par le flux de chaleur jusqu'à un cyclone ou un filtre à manche qui va séparer l'air de la poudre.

Tableau : Durées de conservation de différents organismes biologiques

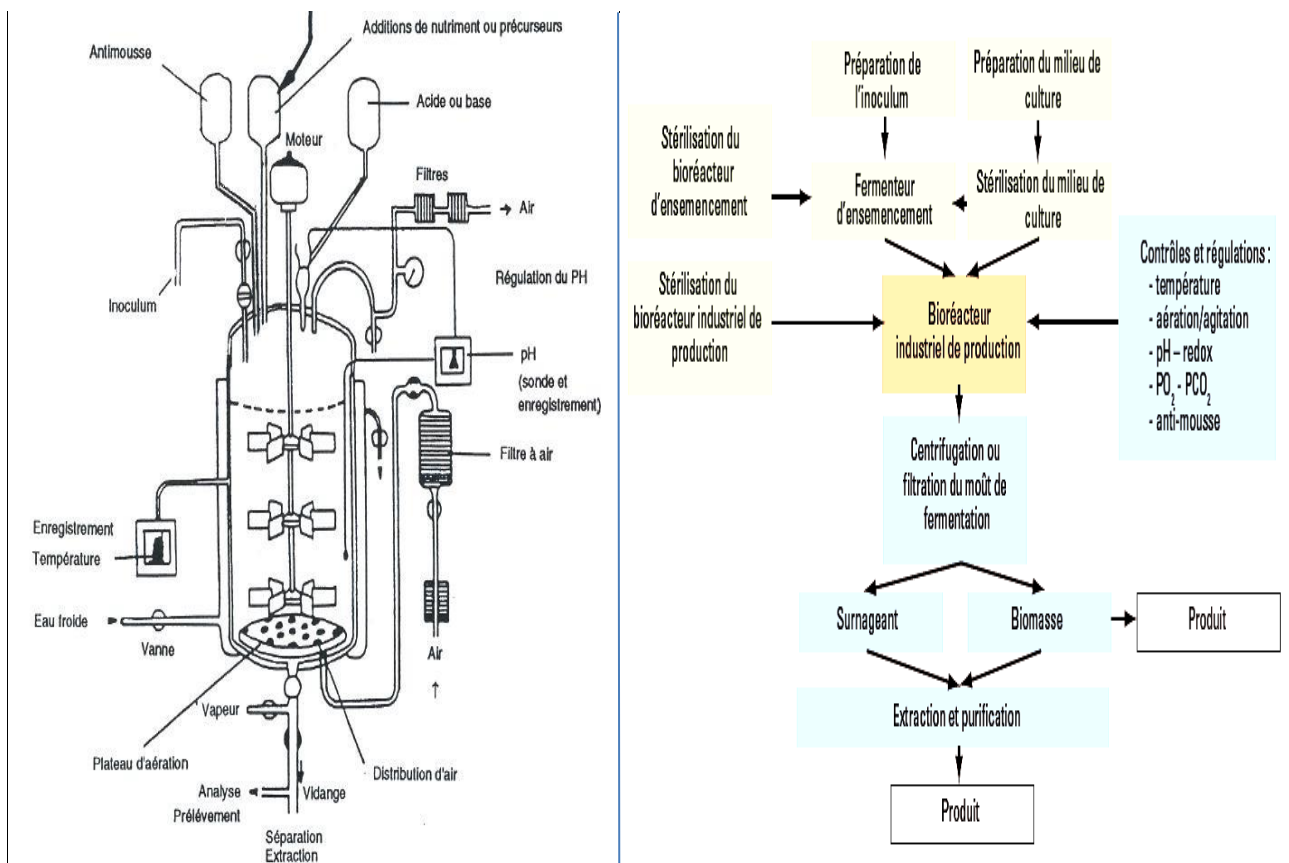
Types d'organisme	Méthodes de conservation	Durées de conservation
Bactéries	Congélation – Azote liquide	5-35 ans
Bactéries	Lyophilisation	10 ans
Levures	Congélation – Azote liquide	10 ans
Levures	Séchage	2-5 ans
Cellules souches	Congélation – Azote liquide	15 ans
Globules rouges	Congélation – Azote liquide	12 ans
Sperme humain	Congélation – Azote liquide	5-21 ans
Embryons de mammifères	Congélation – Azote liquide	5-13 ans

III. FERMENTATIONS INDUSTRIELLES,

1. Le bioréacteur (fermenteur) :

Le bioréacteur (ou fermenteur) est une enceinte permettant d'assurer une croissance des micro-organismes et une production optimale dans un environnement dont les paramètres physiques et chimiques de la fermentation sont contrôlés. On distingue **cinq** étapes importantes dans tout procédé de fermentation :

- 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.



Fermenteur et les étapes de la fermentation

Processus de mise à l'échelle (ou extrapolation) : *scale up*

On classe les bioréacteurs en fonction de leur volume maximal:

- les bioréacteurs de laboratoire stérilisables à l'autoclave jusqu'à 18 L ;
- les bioréacteurs de laboratoire stérilisables *in situ* jusqu'à 30 L ;
- les bioréacteurs pilotes jusqu'à 300 L ;
- les bioréacteurs industriels jusqu'à 500 000 L (500 m³).

Le ***scale up*** (ou mise à l'échelle) est le transfert du procédé d'un bioréacteur de laboratoire de petit volume à celui d'un bioréacteur industriel à grande échelle. Le *scale up* s'effectue en plusieurs étapes : de la fiole d'Erlenmeyer au bioréacteur de paillasse, du bioréacteur de paillasse au bioréacteur pilote de laboratoire et du bioréacteur pilote de laboratoire au bioréacteur industriel. Il est impossible de conserver l'ensemble des paramètres identiques ou proportionnels au changement d'échelle. Chaque transfert à une plus grande échelle est complexe car divers paramètres tels que le barème de stérilisation, l'aération et l'agitation sont modifiés lorsqu'on augmente le volume, le diamètre et la hauteur du bioréacteur. Des conditions physicochimiques similaires doivent être maintenues dans l'environnement de chaque cellule malgré l'augmentation du volume de culture. À chaque étape du *scale up*, divers paramètres sont analysés puis modifiés car les réactions physicochimiques et enzymatiques se produisant à l'intérieur du bioréacteur varient en fonction du volume du réacteur utilisé. En outre, lors du changement d'échelle il est indispensable:

- de prendre en compte les coûts d'investissement du matériel (bioréacteur, techniques d'extraction et de purification) et de fonctionnement (milieu de culture et énergie) ;
- de réaliser si possible une automatisation du matériel;
- de réduire la production de déchets ;
- d'obtenir des produits correspondant à la qualité souhaitée.

2. Milieux de culture industriels :

2.1.Types de milieux de culture

2.1..1 milieu solide

Les milieux solides sont des milieux de choix pour la culture des microorganismes mycéliens terrestres (les moisissures). Ils offrent les avantages suivants :

- La simplicité de mise en place (ne nécessite pas de montage sophistiqué)
- La rapidité et la stabilité de la croissance mycélienne
- L'augmentation de la productivité
- Le faible risque de contamination dû à l'absence d'eau
- L'absence de mousse produite lors de la fermentation
- La facilité de l'aération qui peut être passive ou faiblement active en calibrant les particules du substrat
- L'absence de la viscosité du milieu lors de la croissance fongique.

Les inconvénients de ces milieux sont :

- L'impossibilité d'homogénéiser les nutriments
- La difficulté de faire un suivi et un maintien des conditions physicochimiques
- Certaines moisissures collent fortement au milieu de culture, ce qui fausse l'estimation de la biomasse.

Ces inconvénients sont majeurs, car ils rendent impossibles la réalisation d'une culture continue en renouvelant le milieu et en maintenant les conditions physicochimiques fixes. La culture sur milieu solide est principalement utilisée pour les cultures en batch.

Néanmoins, la culture liquide a aussi quelques inconvénients, notamment :

- La production de la mousse durant les procédés de fermentation
- Les touffes de mycélium qui bloquent le procédé et causent un arrêt prématuré de la culture
- Le risque de briser les structures mycéliennes par l'agitation
- La viscosité engendrée qui risque de gêner considérablement la culture et la production.

Remarque : Tous ces problèmes peuvent être maîtrisés en utilisant des bioréacteurs appropriés.

2.2.2. Milieu liquide

Le milieu liquide permet de réaliser une culture discontinue (en batch), semi-continue ou continue. Ceci du fait qu'il offre les avantages suivants :

- La facilité d'homogénéisation du milieu
- La possibilité de renouveler le milieu pour une culture continue
- La facilité du contrôle et du maintien des conditions physicochimiques
- La possibilité de récupérer les souches après la culture
- La facilité de récupérer les produits libérés dans le milieu
- La disponibilité de plusieurs types de montages.

2.3. Substrats :

La bonne formulation du milieu repose sur le choix de la source de carbone, d'azote, de vitamines ou d'oligoéléments, mais surtout leur équilibre. La matière brute du milieu de culture, par son coût, influence la compétitivité économique du procédé.

a) Matières brutes couramment utilisées :

Source de carbone : mélasses, grains de céréales, petit lait, déchets agricoles.....

Source d'azote : farine de soja, vinasses, déchets d'abattoir ammoniacale et sels d'ammoniacale.....

Vitamines : préparations brutes des produits végétaux et animaux

Fer et oligoéléments : dérivés chimiques inorganiques bruts.....

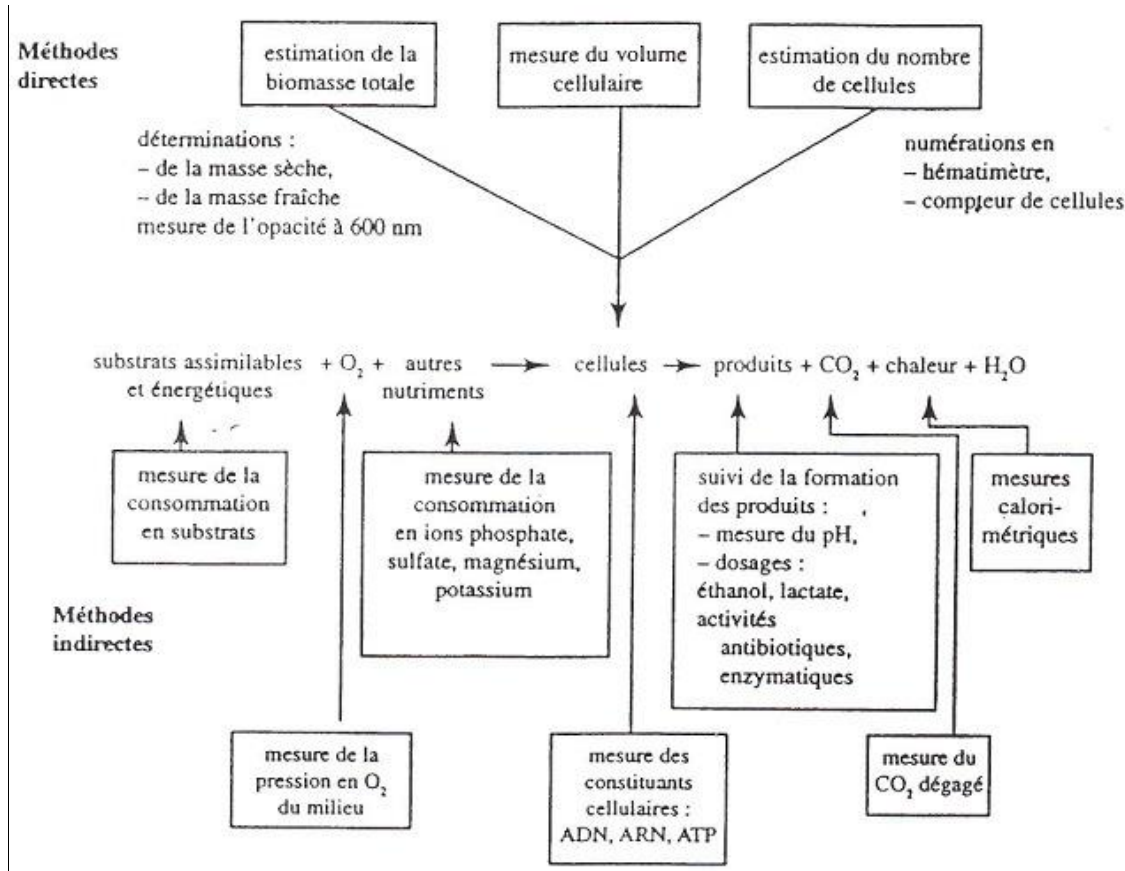
Antimousses : alcools, silicones, esters, saindoux et huiles végétales.....

Tampons de pH : craie, carbonates bruts, phosphates pour engrais

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

Des mesures plus spécifiques peuvent être rencontrées : Turbidimétrie, Analyse en ligne Glucose-Acides organiques HPCL Méthane hydrogène (méthanisation)



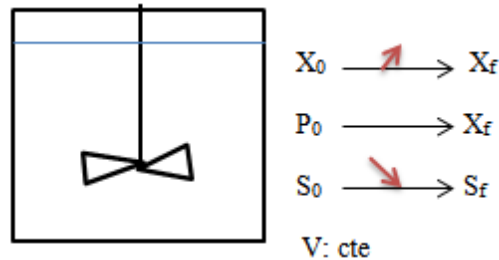
3. Différents procédés de fermentation

On distingue trois types de procédés de fermentation

- le procédé *batch* ou fermentation discontinue ;
- le procédé *fed-batch* ou fermentation discontinue alimentée ;
- le procédé de culture continue.

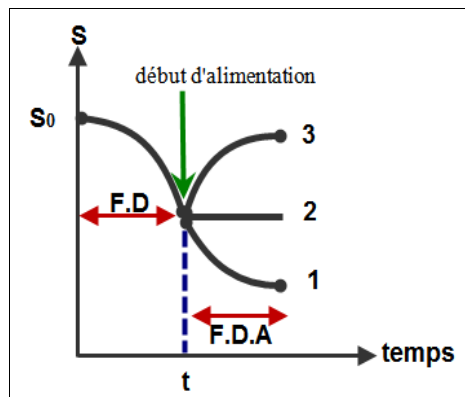
1. Procédé discontinu (*batch*) ;

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. La biomasse augmente selon la courbe de croissance microbienne. Le substrat S est consommé et le produit P apparaît.



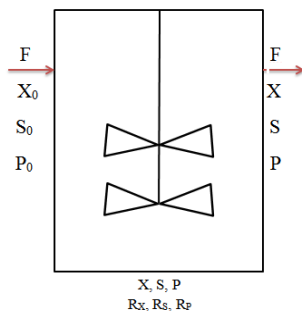
2. Procédé discontinu alimenté (fed batch)

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 est réglé de façon à ce que la concentration en substrat soit constante dans le fermenteur et corresponde à une étape de la phase logarithmique de croissance cellulaire. Le fermenteur est alimenté sans soutirage.



3. Procédé continu

Est un système ouvert où les conditions de la culture sont maintenues constantes par l'apport continu de nutriments et l'élimination continue des déchets.



(1): débit d'alimentation faible.
(2): concentration constante.
(3): débit d'alimentation élevé.

Au cours de la phase exponentielle, le milieu nutritif (S_0) s'appauvrit en substances nutritives, tandis que les produits du métabolisme microbien s'accumulent (P). Si on renouvelle le milieu dans le fermenteur en apportant du milieu neuf avec un débit F et en soutirant (éliminant) le milieu qui contient les cellules formées et les métabolites produits avec le même débit F , la culture se maintient en phase exponentielle. C'est le cas des cultures continues.

Au cours de la fermentation, l'alimentation du fermenteur est continue avec un volume égal du volume de soutirage du mélange biomasse-milieu liquide (produit final), de façon à maintenir le volume de fermenteur constant.

Contrairement à la fermentation discontinue, la fermentation continue permet de maintenir constants:

- La concentration cellulaire
- Le taux de croissance de la biomasse
- Les équilibres nutritifs du milieu
- La production en métabolites recherchés.

Le vidage du fermenteur ne s'effectue que s'il y a des mutations ou des contaminations. La productivité est plus importante en mode discontinue.

➤ Il y a 2 principaux types de système de culture continu qui sont généralement utilisés: Chémostat et Turbidostat.

Chémostat: (Bactogène): Dans ce fermenteur, le taux de croissance n'est jamais maximal, sa valeur est liée à la concentration en facteur limitant dans la cuve de fermentation. Donc le milieu est souvent renouvelé, permettant ainsi de maintenir la croissance bactérienne en phase exponentielle.

Turbidostat: Un dispositif qui assure une culture en continue à un taux de croissance maximale et une population constante .

2.4. Protéines d'organismes unicellulaires

Les POU ou **SCP** (de l'anglais *Single-Cell Protein*), toute biomasse microbienne destinée à enrichir l'alimentation humaine ou animale en protéines. Les sources potentielles de SCP sont la biomasse de **levures et de bactéries** ainsi que les **moisissures** et les **algues**.

Les POU ou **SCP** sont **préconisés pour** :

- Les sportifs désirants augmenter leur apport en protéines
- Les malades afin de diminuer le taux de cholestérol ou de matière grasse dans leur alimentation
- Les personnes qui veulent perdre du poids sans restriction de l'apport protéique
- Les personnes qui ne consomment pas de viandes (intolérance alimentaire ou convictions personnelles),
- Les populations soumises à un risque élevé en famine

Exemples de microorganismes utilisés :

- Les levures (sont les plus utilisées) : principalement *Candida utilis* (1^{ère} productrice), *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces fragilis*, *Kluyveromyces lactis*, *Candida pseudotropicalis*.
- Les Cyanobactéries: principalement *Spirulina maxima*, *Spirulina platensis*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Chlorella sorokiana*, *Chlorella vulgaris* (Photos 7,8).
- Les moisissures : *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Fusarium graminearum*, *Mucor juvanticus*, *Cladosporium cladosporioides* (Photo 9).
- Les bactéries : *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus megaterium*, *Streptomyces albus*, *Actinoplanes missouriensis*, *Hydrogenomonas sp.*, *Methanomonas sp.*, *Methylomonas sp.*

Pour la culture de ces microorganismes, on utilise des milieux à base de déchets industriels, comme cités auparavant. Exemples :

- *Kluyveromyces fragilis* : culture sur le lactosérum.
- *Candida utilis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus niger* et *Aspergillus oryzae* : culture sur l'amidon ou matières amylacées



Aspergillus oryzae cultivé sur les déchets de riz

