

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
—oOo—

وزارة التعليم و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement et de la Recherche Scientifique  
—oOo—

11/88

# ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

DEPARTEMENT GENIE DE L'ENVIRONNEMENT

المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
BIBLIOTHEQUE — المكتبة  
Ecole Nationale Polytechnique

## PROJET DE FIN D'ETUDES

### SUJET

CONCEPTION ET OPTIMISATION  
DE LA  
STRUCTURE HYDRODYNAMIQUE  
D'UN  
BIOREACTEUR

Proposé par :

D<sup>r</sup> MAMERI N

Etudié par :

KAADA R

Dirigé par :

D<sup>r</sup> MAMERI N

PROMOTION: JANVIER 88

## DEDICACES

Je dédie ce modeste travail

à mes parents

à mes frères et sœurs

à ma fiancée

à mes amis

et à ceux dont leur aide m'a été très utile.

## REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à M<sup>r</sup> MAMERI pour n'avoir jamais ménagé son temps ni ses efforts pour me prodiguer tous les conseils nécessaires lorsque je le sollicitais, qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je tiens également à remercier également:  
Les membres du Jury qui m'honorent de juger ce modeste travail,

M<sup>lle</sup> ARRAR, enseignante dans notre département, de m'avoir permis d'utiliser tout le matériel nécessaire à mes expériences,

NOUAR et MAHFOUD, nos deux sympathiques techniciens

et enfin à tous ceux qui de loin ou de près ont contribué à l'élaboration de ce travail sans toutefois oublier M<sup>r</sup> BELLAL, professeur à L'I.N.A.



الموضوع:

إن الاهتمام المتواصل للمفاعل البيولوجية، سواءً كانت في ميدان التلوث أو ميدان الإنتاج، أدت بنا إلى الاقتراب منها والتمسك فيها.

دأستناستكرى للنظرية وتحقيقها للتركيب الهيدرو ديناميكي للمفاعل البيولوجية بهدف معرفة مزايا طرق استعمالها حتى يتم ازديادها إلى مرشح دقيق.

Sujet:

L'ampleur prise par les bioréacteurs, que ce soit dans le domaine de la dépollution ou dans le domaine de la production, nous a amené à nous intéresser à eux.

Notre travail sera consacré à la conception, réalisation et optimisation de la structure hydrodynamique de notre bioréacteur afin de déterminer les conditions optimales de fonctionnement pour pouvoir l'accoupler à un ultrafiltre.

Subject:

The continuous interest in bio-reactors, either in pollution or in production, led us to be more interested in.

Our work will be devoted to the conception, achievement and to the optimization of the hydrodynamic structure of our bio-reactor, to determine the optimum condition of the bio-reactor's working which will be joined to an ultrafilter.



## SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
--------------	---

### CHAPITRE I

#### ETUDE HYDRAULIQUE ET MODELES D'ÉCOULEMENT

1.1. Introduction	5
1.2. Quelques définitions	5
1.2.1. Généralités sur la distribution des temps de séjour	5
1.2.1.1. Réponse à la stimulation impulsion	8
1.2.1.2. Moyenne et variance de la DTS	10
1.2.1.3. Calcul du taux de volume mort et de court-circuit	11
1.2.2. Fonction de transfert	12
1.3. Présentation de quelques modèles d'écoulement	14
1.3.1. Réacteur parfaitement agité	14
1.3.2. Réacteur parfaitement agité avec zone morte et court-circuit	15

## CHAPITRE II

### FERMENTATIONS

2.1. Croissance des microorganismes en culture pure	17
2.2. Définition d'une fermentation	18
2.3. Objectifs des fermentations	19
2.4. Utilisation d'un fermenteur	25
2.5. Contrôle d'une fermentation	26
2.5.1. Substrats nutritifs	26
2.5.2. Temperature	26
2.5.3. Environnement ionique -pH	27
2.5.4. Potentiel d'oxydo-réduction	29
2.5.5. Aération , Agitation	29

## CHAPITRE III

### CONCEPTION ET REALISATION

3.1. Conception	30
3.1.1. Bases microbiologiques de la conception	30
3.1.2. Forme	33
3.1.3. Choix du matériau	33
3.1.4. Matériau utilisé	38

3.2. Agitation	39
3.2.1. But	39
3.2.2. Différents types d'agitation	39
3.2.2.1. Aération	39
3.2.2.2. Agitation mécanique	40
3.3. Echangeur thermique	45
3.3.1. Type d'échangeur	45

## CHAPITRE IV

### PARTIE EXPERIMENTALE

4.1. Etude hydrodynamique	46
4.1.1. Appareillage et mode opératoire	46
4.1.2. Temps de séjour moyen	51
4.1.3. Calcul du taux de volume mort ou de court-circuit	53
4.1.4. Détermination des conditions optimale	57

CONCLUSION	66
NOTATIONS	68
BIBLIOGRAPHIE	70
ANNEXE	



## INTRODUCTION

L'industrie et le secteur des fermentations ont connu ces dernières années une expansion importante dans le monde, surtout au cours de ces dix dernières années, à la fois en capacité de production ainsi que dans le nombre et la variété de produits fabriqués.

De nombreuses compagnies qui n'avaient, jusqu'à présent, que peu d'intérêt dans le domaine des fermentations, pénètrent aujourd'hui ce secteur ou développent des programmes de recherche dans le but d'évaluer les différentes approches destinées à produire des substances issues des fermentations. Particulièrement des produits pharmaceutiques, des enzymes, des acides organiques, des acides aminés, des polysaccharides, ainsi que des nouvelles sources d'alimentation humaine ou pour le bétail. Ce progrès de l'industrie des fermentations a conduit à une meilleure définition des fermenteurs et notamment des fermenteurs en continu et a accéléré les processus de transfert permettant à la biologie de passer de l'échelle du laboratoire à l'échelle industrielle.

Plusieurs facteurs ont conduit à accroître l'intérêt international pour les fermentations.

- L'accent mis sur le contrôle de la pollution et les problèmes d'environnement : de nombreux procédés

industriels actuels tels que la fabrication du fromage, la fabrication du papier, le traitement de l'amidon produisent des déchets facilement fermentables, et qu'il est possible de valoriser par les fermentations.

- La nécessité de produire des substances issues de processus naturels: cette nécessité résulte notamment des contraintes de plus en plus sévères exercées par les organismes de santé publique et qui sont exigées sur tous les produits chimiques de synthèse.

- La crainte de la diminution des protéines alimentaires a conduit également de nombreuses compagnies à s'intéresser à la production de protéines par des organismes unicellulaires croissant sur des substrats de faible valeur économique.

- L'amélioration des biotechnologies, et tout particulièrement des processus de contrôles et de régulations des fermentations grâce à une automatisation plus poussée et une plus grande fiabilité.

Au cours de cette étude, nous nous sommes intéressés, dans un premier temps, à la conception d'un bioréacteur; pour cela une recherche a été effectuée



pour le choix du matériau et du type d'agitateur à utiliser. Nous nous sommes ensuite intéressés à l'étude du macromélange en vue de déterminer les paramètres optimaux de fonctionnement de notre réacteur ; l'étude de l'influence de différents paramètres a été entreprise :

- vitesse de rotation,
- temps de passage,
- viscosité,
- température.

# CHAPITRE I

## ETUDE HYDRAULIQUE ET MODELES D'ECOULEMENT

- 1.1. INTRODUCTION
- 1.2. QUELQUES DEFINITIONS
- 1.3. PRESENTATION DE QUELQUES MODELES

# 1-ETUDE HYDRAULIQUE ET MODELES D'ECOULEMENT

## 1.1. INTRODUCTION

Pour déterminer le modèle d'écoulement d'un réacteur, la technique la plus utilisée est celle de stimulation et réponse, par l'emploi d'un traceur qui peut être un traceur radioactif, un colorant, ou toute substance de mêmes propriétés hydrodynamiques que le fluide. Plusieurs types de stimulations peuvent être employés; impulsion  $\delta$ -Dirac, échelon, stimulation sinusoïdale, etc... Dans notre travail expérimental, nous n'allons utiliser que l'impulsion  $\delta$ -Dirac.

## 1.2. QUELQUES DEFINITIONS

Nous présentons de façon succincte quelques concepts largement employés dans la littérature du génie du réacteur. Des ouvrages bibliographiques traitent plus en détail ces termes [1],[6],[19],[20].

### 1.2.1. Généralités sur la distribution des temps de séjour DTS

Considérons les particules de fluide sortant d'un réacteur et définissons l'âge de sortie d'une particule comme le temps mesuré à partir de son entrée dans le réacteur. Comme toutes les



particules sortantes n'ont pas le même âge, on peut définir une fonction de distribution des âges des particules à la sortie du réacteur; celle-ci correspond à la distribution de temps de séjour des particules et on l'appelle DTS ou fonction E.

L'équation ci-dessous suit la définition de la fonction E :

$$\int_0^{\infty} E(t) dt = 1$$

La plupart du temps, on travaille en coordonnées réduites, en normant le temps par rapport au temps de passage du fluide dans le réacteur ( $T_A$ ).

$$T_A = \text{Volume du réacteur (V)} / \text{débit d'alimentation (Q)}$$

nous avons donc:

$$\theta = t / T_A \quad \text{temps réduit}$$

La fonction E peut s'exprimer en fonction du temps réel (t) ou du temps réduit ( $\theta$ );

$$E(t) \cdot T_A = E(\theta) \quad (1)$$

Le temps de séjour d'un fluide dans un réacteur est d'un intérêt fondamental dans la détermination du modèle d'écoulement faisant appel aux deux types idéaux d'écoulement suivant:

-l'écoulement piston: toutes les molécules du fluide traversent le réacteur à la même vitesse et y séjournent

Le même temps,

-l'écoulement en mélange parfait: la composition interne est uniforme en tout point du réacteur. Dès qu'une molécule est introduite dans le réacteur, elle a la même probabilité d'en sortir que n'importe quelle molécule séjournant depuis très longtemps [5].

Un réacteur réel est intermédiaire entre ces deux cas extrêmes et peut être caractérisé par sa distribution des temps de séjour.

La DTS est une fonction densité de probabilité notée  $E(t)$  et  $E(t) dt$  représente la fraction du fluide dans le courant de sortie dont le temps de séjour est compris entre  $t$  et  $t+dt$  [8].

La figure 1 montre l'allure de la DTS dans le cas des réacteurs piston, parfaitement agité et réel:

-pour le réacteur piston tous les temps de séjour sont égaux aux temps de passage  $T_A$ ; ceci se traduit par la présence d'un pic très étroit au voisinage de  $T_A$ ,

-dans le cas du réacteur parfaitement agité, la courbe DTS est une exponentielle de la forme:

$$E(t) = \frac{1}{T_A} \exp\left(-t/T_A\right) \quad (2)$$

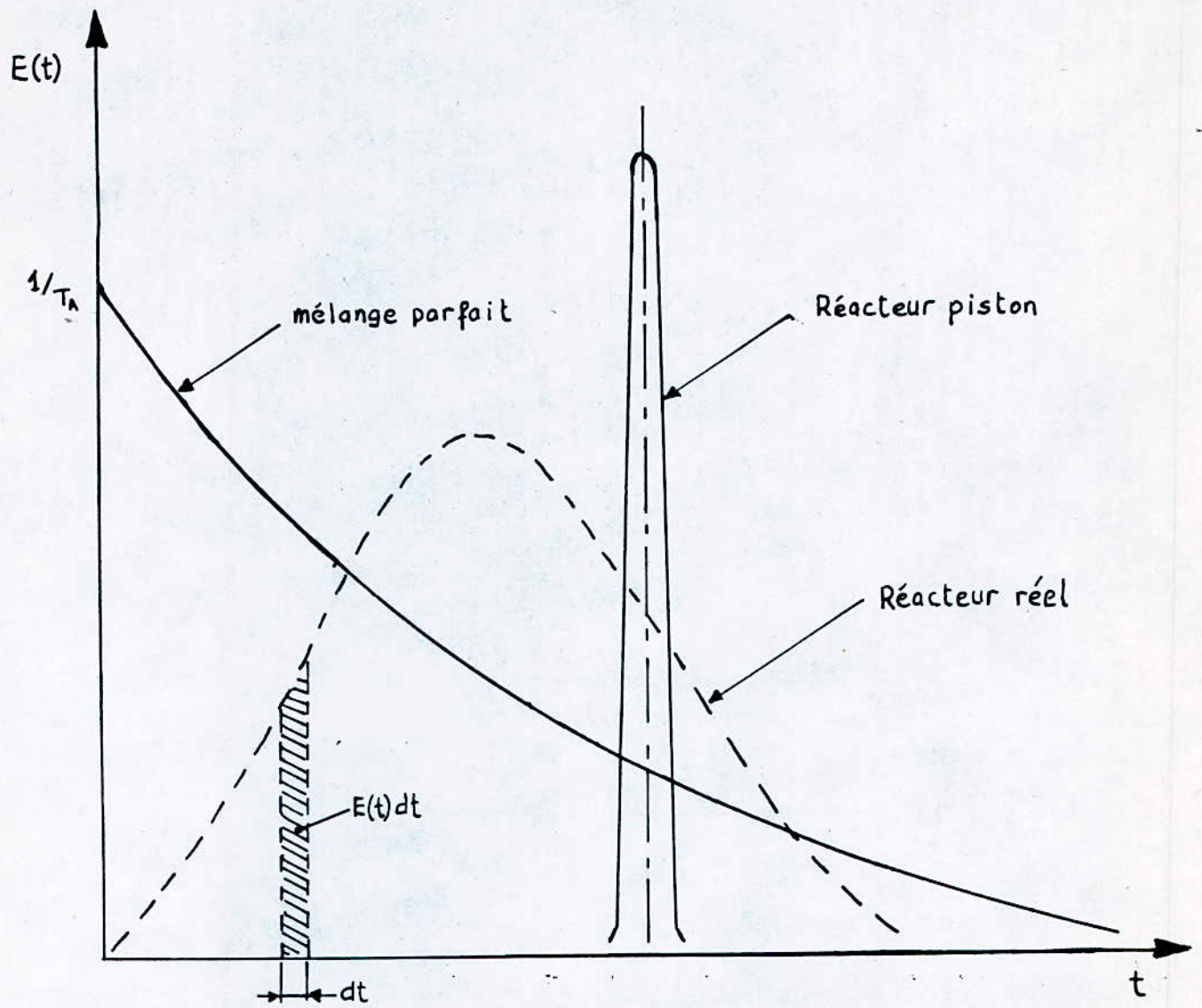


FIG 1 : Allure des courbes DTS



-pour le réacteur réel, la DTS est intermédiaire entre ces deux cas limites

L'acquisition de  $E(t)$  qui est la réponse à une injection-impulsion permet d'atteindre, entre autres, le temps de séjour moyen, le volume accessible au liquide et par l'intermédiaire de la variance, le degré de mélangeage dans le réacteur [8]

La courbe expérimentale  $E(t)$  permet également de déceler des anomalies de fonctionnement du réacteur telles que les volumes morts et les court-circuits.

#### 1.2.1.1. Réponse à la stimulation impulsion

La courbe  $C$  représente la réponse, à la sortie, à une stimulation impulsion instantanée ( $\delta$ ) effectuée à l'entrée du réacteur.

Mathématiquement, la fonction  $\delta(t)$  est définie de la façon suivante:

$$\delta(t-t_0) = \infty \quad t = t_0$$

$$\delta(t-t_0) = 0 \quad t \neq t_0$$

$$\text{avec } \int_0^{\infty} \delta(t) dt = \text{valeur finie}$$

Comme avec l'impulsion  $\delta$  toutes les particules de traceur sont injectées dans le réacteur au même instant, la courbe  $C$  représente la distribution d'âges à la sortie du réacteur, c'est à dire, sa DTS.

La fonction  $C$  pour un réacteur quelconque est présentée sur la figure 2.

La courbe  $C$  est normée par rapport à la valeur de la surface sous la courbe  $C(t)$ :

$$C(t) = \frac{C(t)}{\int_0^{\infty} C(t) dt} \quad (3)$$

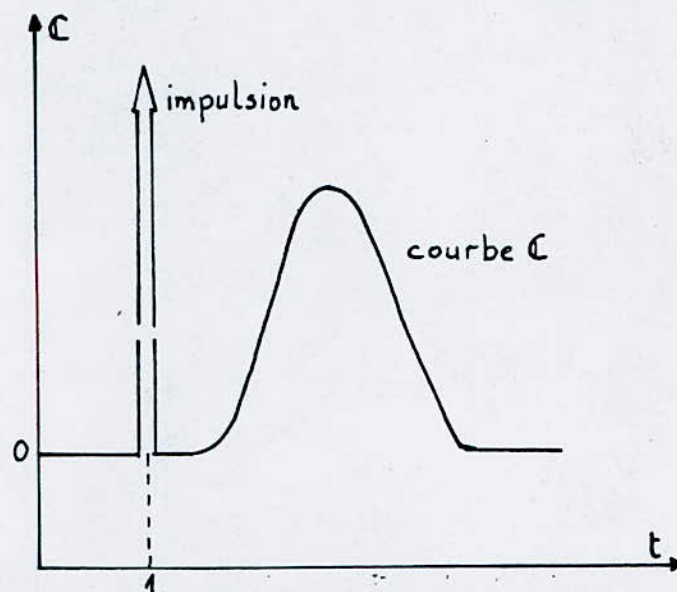


FIG 2 : Courbe  $C$  pour un réacteur quelconque  
Les relations suivantes entre  $C$  et  $E$  peuvent être établies:

$$C(t) = E(t) \quad ; \quad \int_0^{\infty} C(t) dt = \int_0^{\infty} E(t) dt = 1 \quad (4)$$

$$C(\theta) = E(\theta) = T_R \cdot E(t) \quad (5)$$

$$\int_0^{\infty} E(\theta) d\theta = \int_0^{\infty} C(\theta) d\theta = 1 \quad (6)$$

### 1.2.1.2. Moyenne et variance de la DTS

A partir de la courbe réponse  $C$ , deux paramètres importants se déduisent : la moyenne (moment d'ordre 1) et la variance de la distribution du temps de séjour :

$$\bar{t}_s = \frac{\int_0^{\infty} t C(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) dt} \quad (7)$$

pour une courbe expérimentale on peut écrire

$$\bar{t}_s = \frac{\sum_0^{\infty} t_i C_i \Delta t_i}{\sum_0^{\infty} C_i \Delta t_i} \quad (8)$$

$$\sigma_t^2 = \frac{\int_0^{\infty} t^2 C(t) dt}{\int_0^{\infty} C(t) dt} - \bar{t}_s^2 \quad (9)$$

pour une courbe expérimentale on peut écrire

$$\sigma_t^2 = \frac{\sum_0^{\infty} t_i^2 C_i \Delta t_i}{\sum_0^{\infty} C_i \Delta t_i} - \bar{t}_s^2 \quad (10)$$

Les expressions ci-dessous lient les moments des courbes réponses normées et non normées :

$$\bar{\theta} = \bar{t}_s / T_R \quad ; \quad \sigma_{\theta}^2 = \sigma_t^2 / T_R^2$$

La moyenne et la variance sont deux grandeurs très importantes, car il existe toujours une équation liant les paramètres du modèle d'écoulement aux moments d'ordre 1 et 2 de la DTS,



### 1.2.1.3. Calcul du taux de volume mort et de court-circuit

Lors d'un écoulement réel en général, il existe toujours des zones de stagnations dites volume mort qui n'échange pas ou échange à très faible vitesse avec le reste du fluide.

A ce défaut de fonctionnement s'ajoute le phénomène de court-circuit, ceci s'explique par le fait que le fluide traverse rapidement le réacteur en se frayant des chemins préférentiels échappant ainsi à la mesure [7].

#### a) Calcul du taux de volume mort

Ce phénomène est observé par une longue queue sur la courbe réponse.

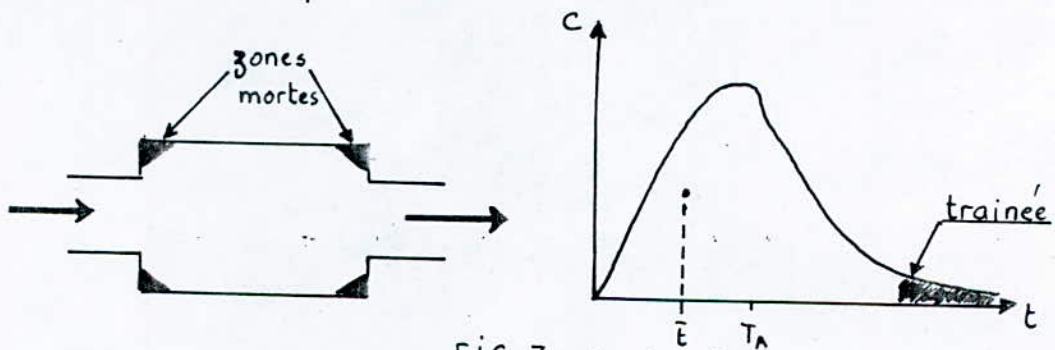


FIG 3 : Courbe réponse au cours d'un traçage

Soient  $V_a$  et  $V_m$  respectivement le volume accessible au fluide, le volume mort du fluide du réacteur de volume  $V$ , le rapport  $V_m/V$  représente le taux de volume mort.

$$V_m/V = 1 - \bar{t}_s/T_A \quad (11)$$

avec  $V = V_m + V_a$

## b) Calcul du taux de court-circuit

Le phénomène de court-circuit s'observe aux premiers instants de la courbe réponse par un pic de court-circuit.

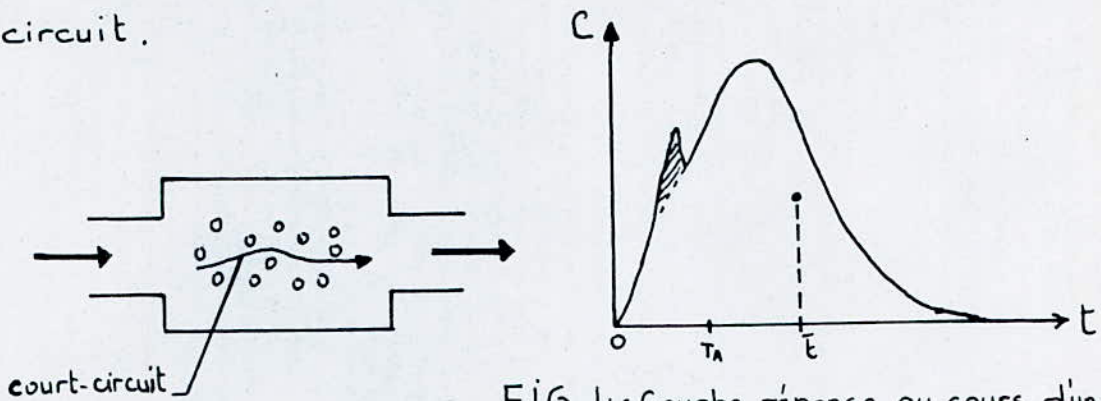


FIG 4: Courbe réponse au cours d'un traçage

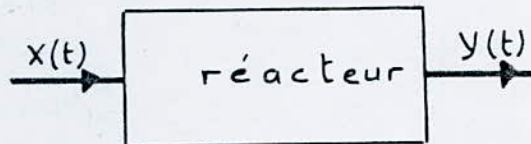
Le taux de court-circuit est donné par:

$$Q_c/Q = 1 - T_A/\bar{t}_s \quad (12)$$

où  $Q = Q_c + Q'$

### 1.2.2. Fonction de transfert

Le réacteur, en étude, peut être considéré comme une "boîte noire" soumise à une stimulation  $X(t)$  et présentant une réponse  $Y(t)$ .



La fonction de transfert du réacteur est définie par:

$$G(p) = Y(p) / X(p)$$

où  $X(p) = \mathcal{L} X(t)$  et  $Y(p) = \mathcal{L} Y(t)$   
 $p$  étant la variable de Laplace.

Pour une stimulation impulsion  $\delta$ , on a :

$$X(p) = 1 \rightarrow Y(p) = G(p) = E(p)$$

VAN DER LAAN [ ] a montré que la moyenne et la variance de la courbe DTS sont liées à la fonction de transfert, par les équations suivantes :

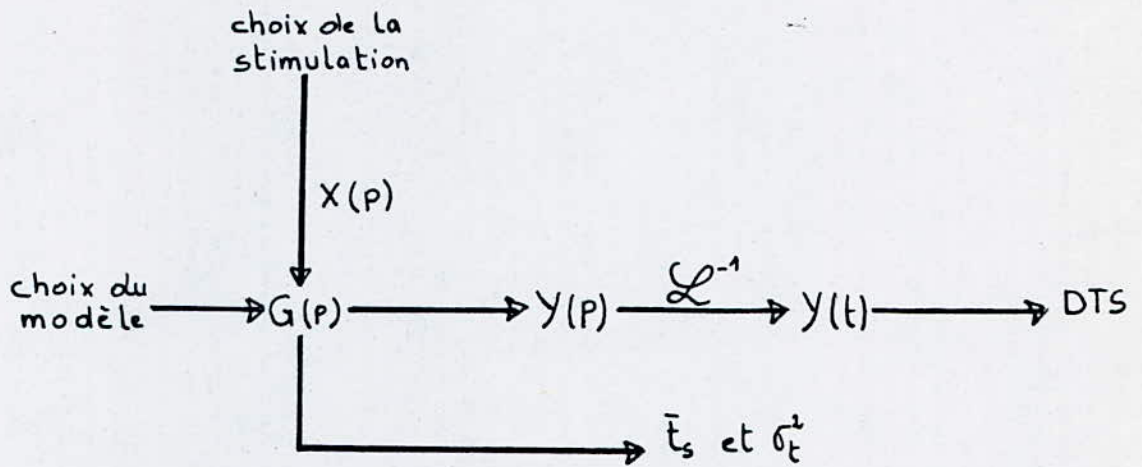
$$\bar{t}_s = -\lim_{p \rightarrow 0} \left( \frac{dG(p)/G(p)}{dp} \right) \quad (13)$$

$$\sigma_t^2 = \lim_{p \rightarrow 0} \left( \frac{d^2 G(p)/G(p)}{dp^2} \right) - \bar{t}_s^2 \quad (14)$$

La connaissance de la fonction de transfert du réacteur permet d'atteindre directement la moyenne et la variance, sans connaître la fonction  $E(t)$ . Comme les paramètres du modèle hydraulique sont reliés avec  $\bar{t}_s$  et  $\sigma_t^2$ , ils peuvent être calculés sans déterminer la DTS. Cette propriété de la fonction de transfert est très importante, car il existe de nombreux cas où l'on ne peut pas trouver l'expression analytique de la DTS, due à la complexité mathématique du modèle d'écoulement choisi. Alors, la détermination des paramètres du modèle peut être faite à partir des équations (13) et (14).



Le schéma ci-dessous illustre cette procédure:

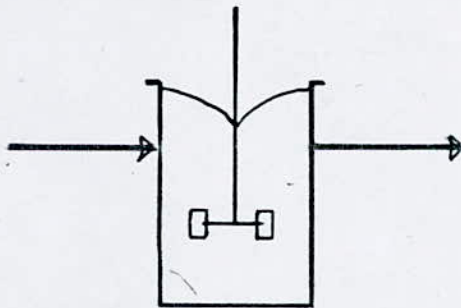


La notion de fonction de transfert est très utile lorsqu'on travaille avec les modèles composés, qui résultent de l'enchaînement en série ou en parallèle de plusieurs modèles de réacteurs.

### 1.3. PRESENTATION DE QUELQUES MODELES D'ECOULEMENT

Nous présentons quelques modèles d'écoulement, leurs  $E(\theta)$  et les valeurs de la moyenne et variance en fonction des paramètres de ces modèles.

#### 1.3.1. Réacteur parfaitement agité



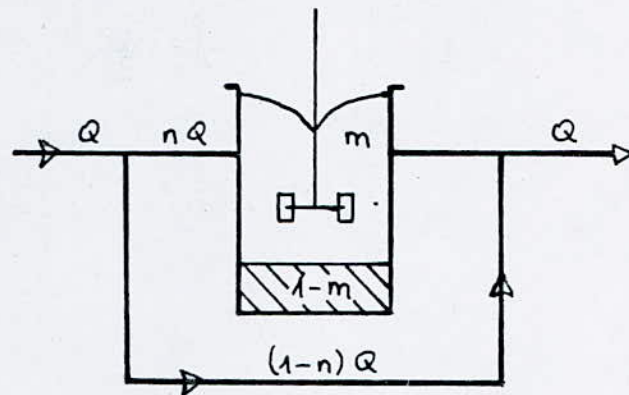
Il s'agit d'un modèle idéal, la concentration est identique en tous les points du réacteur. On peut aussi dire qu'il s'agit d'un réacteur qui présente un coefficient de dispersion infiniment élevé.

$$G(p) = 1/(1 + T_A p)$$

$$E(\theta) = \exp(-\theta) \quad (15)$$

$$\bar{\theta} = 1 \quad \sigma_\theta^2 = 1$$

### 1.3.2. Réacteur parfaitement agité avec zone morte et court-circuit



$m$  = fraction active du volume  $V$

$(1-n)$  = fraction du débit en court-circuit

$$G(p) = \frac{n}{(T_A p + 1)} + (1-n) \quad T_{A1} = mV/nQ$$

$$E(\theta) = \frac{n^2}{m} \exp[-n\theta/m] + (1-n) \delta(\theta)$$

$$\bar{\theta} = m \quad \sigma_\theta^2 = m(2-n)/n$$

C'est un modèle à deux paramètres, qui peut décrire des anomalies de fonctionnement d'un réacteur réel.

Sur la figure 5, on trouve des courbes typiques de  $E(\theta)$  pour les deux modèles que nous venons de décrire. Les valeurs des paramètres ont été arbitrairement choisies en guise d'illustration [13].

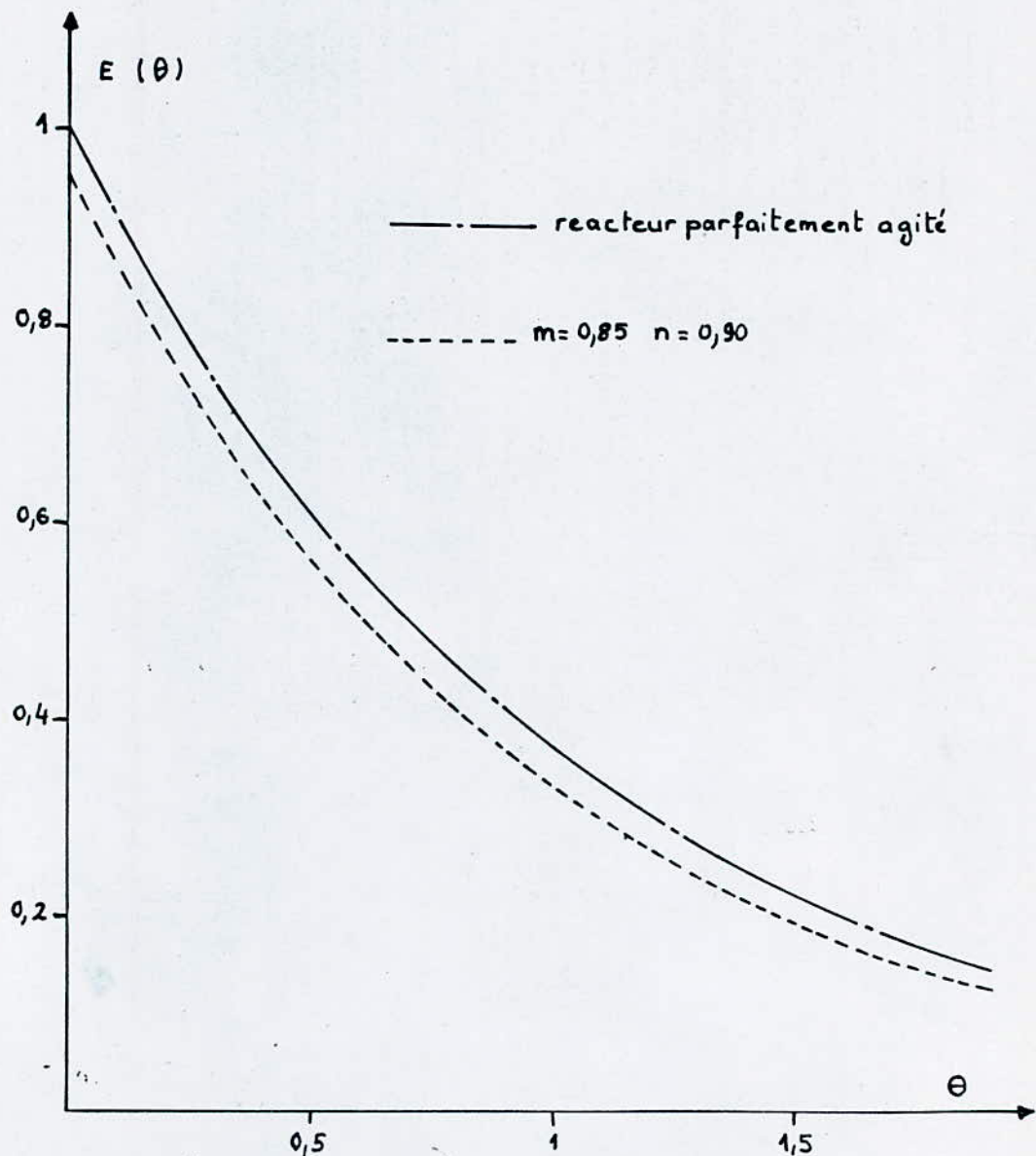


FIG 5 : Modèles à forte dispersion



## CHAPITRE II

### FERMENTATIONS

- 2.1. CROISSANCE DES MICROORGANISMES EN  
CULTURE PURE
- 2.2. DEFINITION D'UNE FERMENTATION
- 2.3. OBJECTIFS DES FERMENTATION
- 2.4. UTILISATION D'UN FERMENTEUR
- 2.5. CONTROLE D'UNE FERMENTATION

## 2- FERMENTATIONS

### 2.1. CROISSANCE DES MICROORGANISMES EN CULTURE PURE

Les microorganismes sont généralement conservés et isolés par repiquages sur des milieux de culture gélosés. Leur multiplication rapide peut être obtenue par ensemencement d'un milieu de culture convenable. Le rôle du fermenteur dans lequel se pratique cette opération est de réaliser :

- une parfaite isolation vis à vis du milieu extérieur pour éviter les contaminations par des germes étrangers,
- une régulation de la température à une valeur proche de l'optimum,
- une agitation convenable du milieu pour éviter des hétérogénéités dans les concentrations en nutriments ou en microorganismes,
- une oxygénation suffisante du milieu dans le cas de cultures aérobies,
- éventuellement une régulation du pH si le développement microbien provoque une modification de ce paramètre du fait de la consommation de certains nutriments ou de l'accumulation de certains métabolites [12].

Dans la plupart des procédés biotechnologiques pratiqués dans l'industrie, on fait travailler une population microbienne pure, c'est à dire que tous les individus présents dans le fermenteur proviennent de la même espèce, voire même de la souche [9].

## 2.2. DEFINITION D'UNE FERMENTATION

Ce terme de fermentation est encore souvent objet de confusion, certains voient un bouillonnement mystérieux, d'autres une putréfaction.

A l'origine, pour PASTEUR il s'agissait essentiellement d'une activité microbienne en absence d'air avec dégagement gazeux, actuellement on emploie indistinctement pour des cultures microbiennes, en présence ou en absence d'oxygène, c'est à dire en aérobose ou en anaérobose.

D'un point de vue technologique, la fermentation se définit comme l'ensemble des opérations qui permettent de cultiver des microorganismes et de contrôler leurs activités biosynthétiques : synthèse de biomasse, d'enzymes ou de molécules diverses.

Une double définition peut être donnée.

-D'une part, la fermentation d'un point de vue technologique se définit comme des processus de transformation conduisant



d'un substrat organique à un métabolite particulier avec libération d'énergie. Selon la nature du métabolite synthétisé par le microorganisme, on parle de fermentation alcoolique, lactique, acétique, méthanique...

-D'autre part, la fermentation d'un point de vue technologique se définit comme l'ensemble des opérations qui permettent de cultiver des microorganismes et de contrôler leurs activités biosynthétiques : production de biomasse microbienne, d'enzymes ou d'autres molécules organiques [2].

### 2.3. OBJECTIFS DES FERMENTATIONS

Les définitions précédentes laissent entendre que les microorganismes peuvent produire divers composés dont l'homme a besoin pour son alimentation ou son industrie. Les objectifs des fermentations sont de trois ordres :

- obtenir des corps microbiens (biomasse microbienne) pour eux-mêmes à des fins alimentaires, médicales, pharmaceutiques, agricoles ou industrielles ;
- produire des "outils biologiques" que l'on appelle des enzymes ;
- synthétiser des métabolites non catalytiques que l'homme utilise dans des domaines très divers : des composés

énergétiques (méthane, éthanol), des matières premières chimiques intéressantes (éthanol, butanol ou des composés alimentaires (acides aminés, vitamines, ...)) [2]

a) Production de biomasse microbienne

L'obtention des cellules microbiennes peut être recherchée à des fins

- ① alimentaires: c'est alors une source de protéines-aliments
- ② médicales: ils constituent la matière première de nombreux vaccins (tuberculose, coqueluche, choléra, peste, typhoïde)
- ③ pharmaceutiques: ce sont des médicaments tels les ultra-levures que l'on ordonne pendant les traitements aux antibiotiques
- ④ agricoles: les grains de légumineuses (soja, luzerne) avant leur mise en terre, sont inoculés par des Rhizobiums, bactéries symbiotiques fixatrice d'azote
- ⑤ industrielles: il s'agit d'inoculum microbiens utilisés notamment en industries agro-alimentaires.

## b) Production d'enzymes

Plutôt que d'utiliser le microorganisme entier dans des opérations de conversion, il est parfois plus judicieux d'extraire les principes actifs: les enzymes, du milieu de culture ou des corps microbiens et de les faire agir en lieu et place de ces microorganismes.

Le tableau 1 nous donne un aperçu sur les principaux enzymes utilisés dans l'industrie.

Enzymes	Substrats	Utilisation ou produits obtenus
$\alpha$ -amylase	amidon	glucose
amino-acylase	D-L amino-acides	L-amino-acides
cellulase	cellulose	glucose
glucose isomérase	glucose	fructose
lactase	lactose	glucose + galactose
invertase	saccharose	glucose + fructose
fumarase	acide fumarique	acide aspartique
aspartase	acide aspartique	acide fumarique
protéase neutre	caséine	hydrolysats de caséine
pectinase	pectine	clarification des jus de fruits
protéase alcaline	protéine	dans les lessives en tannerie

Tableau 1: Les principaux enzymes d'origine microbienne utilisés dans l'industrie.



L'intérêt de ce procédé est double: se soustraire aux aléas de culture et échapper aux autorégulations cellulaires.

Dans certains cas, il a été possible de fixer ces enzymes sur un support particulière et ainsi de rendre continues les attaques enzymatique [3,17,2].

L'enzyme n'est plus éliminé avec le mélange réactionnel, le coût financier de l'opération en est abaissé.

Un processus mixte peut être envisagé quand les systèmes enzymatiques sont soit trop complexes, soit pas suffisamment stables pour être isolés. Les cellules microbiennes sont immobilisées sur différents supports et accomplissent leurs activités de transformation biochimique, incluse dans cette structure, un flux continu assure le renouvellement du milieu de culture et l'élimination des produits formés [4].

#### c) Production de métabolites non catalytiques

Dans un fermenteur, la croissance des populations microbiennes se traduit généralement par une augmentation harmonieuse des différents constituants cellulaires à savoir protéines, glucides, lipides, acides nucléiques, composés que l'on peut extraire en fin de culture. Les cellules microbiennes contiennent aussi en quantités variables, de petites molécules qui participent au métabolisme primaire comme produits intermédiaires ou finaux;

ce sont, par exemple, des acides aminés, des nucléotides, des sucres simples, des acides gras, des vitamines [2]

La diversité des produits pouvant être obtenus par fermentation apparaît dans le tableau 2.

acides aminés	glutamate de sodium, L-lysine, L-tryptophane L-thréonine, L-méthionine
solvants et carburants	éthanol, butanol, acétone glycérol, manitol, méthane
acides organiques	acide citrique, acide fumarique, acide gluconique acide itaconique, acide oxalique, acide tartrique acide lactique, acide acétique
vitamines	acide ascorbique (vitamine C) cyano cobalamine (B <sub>12</sub> ), riboflavine (B <sub>2</sub> ) pyridoxine (B <sub>6</sub> )
antibiotiques	pénicilline, streptomycine, bacitracine, néomycine tétracycline, tyrothricine
divers	diacétyl, acide 5' guanylique (GMP) acide 5' inosinique (IMP) acide 5' xanthylque (XMP), stéroïdes, hormones végétales, gibbérelline, dextran, biopolymère (cuir synthétique)

Tableau 2: Quelques produits pouvant être obtenus par fermentation



## Les agents responsables de ces transformations

Les microorganismes pouvant être utilisés en fermentation sont extrêmement variés; ce sont, soit des eucaryotes appartenant au règne végétal (levures, moisissures, algues) ou au règne animal (protozoaires), soit des procaryotes (cyanobactéries et bactéries). Certains d'entre-eux sont photosynthétiques: toutes les algues, toutes les cyanobactéries, certaines bactéries (bactéries pourpres) et quelques protozoaires d'affiliation incertaine (phytoflagellés)[2].

La diversité des microorganismes utilisés à l'échelle industrielle apparait dans le tableau 3.

Microorganismes utilisés	Produits formés
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	L-lysine, acide L- glutamique
<i>Escherichia coli</i>	acide aspartique
<i>Brevibacterium ammoniagènes</i>	guanosine 5' monophosphate = GMP
<i>Propionibacterium shermanii</i>	vitamine B <sub>12</sub>
<i>Gluconobacter suboxydans</i>	sorbose
<i>Candida curvata</i>	éthanol
<i>Candida utilis</i>	protéines
<i>Saccharomyces flagilis</i>	protéines
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	protéines, éthanol
<i>Aspergillus niger</i>	acide citrique, acide gluconique
<i>Eremothecium ashbyii</i>	riboflavine
<i>Rhizopus nigricans</i>	11 $\alpha$ -hydroxy progestérone

Tableau 3 : Quelques microorganismes utilisés à l'échelle industrielle



## 2.4. UTILISATION D'UN FERMENTEUR

On pratique aujourd'hui deux méthodes différentes de culture industrielle des microbes qui correspondent à deux modes d'utilisation des bioréacteurs :

- La méthode de culture en discontinu qui consiste à introduire dès le départ dans la cuve du fermenteur les microbes et tous les ingrédients nécessaires à la fermentation. Celle-ci étant terminée, on vidange la cuve pour en retirer le produit recherché et on prépare l'appareil pour une nouvelle opération.

- La méthode de culture en continu : le fermenteur reçoit sans interruption des matières premières et des substances nutritives. Il y a un flux entrant de matières neuves et un flux sortant de produits finis. Dans ce cas pour empêcher les microbes de "s'échapper" avec les produits finis, et éviter une opération toujours risquée de recyclage, on peut les fixer sur un support solide, par exemple des grains d'argile, de céramique ou de matières plastiques.

On discute beaucoup sur les avantages respectifs des deux méthodes. La méthode en continu paraît de prime abord plus séduisante, d'autant que l'on y gagne du point de vue productivité. Par contre, on comprendra qu'il est plus difficile de garantir des contaminations de l'appareillage qui fonctionne pendant longtemps.

Les fermenteurs travaillant en discontinu, eux, sont stérilisés après chaque opération [9].

## 2.5. CONTROLE D'UNE FERMENTATION

L'optimisation de la productivité en fermentation passe par un contrôle et une régulation des conditions d'environnement des microorganismes. Parmi tous les facteurs définissant l'environnement et donc conditionnant les potentialités, la température, le potentiel rédox, le pH, les conditions d'aération.

### 2.5.1. Substrats nutritifs

Les substrats nutritifs doivent apporter les éléments chimiques qui constitueront le matériel cellulaire ainsi que ceux nécessaires aux activités enzymatiques et aux systèmes de transport.

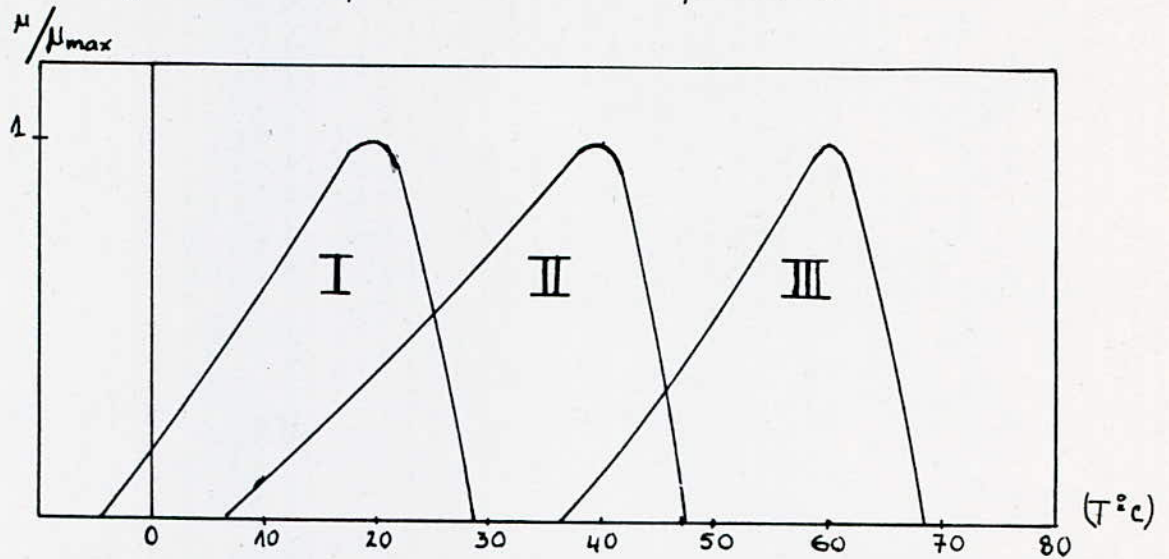
Les milieux de fermentation doivent renfermer les facteurs de croissance en concentration suffisante pour satisfaire les besoins des microorganismes. Si le milieu en est carencé, il faut impérativement les ajouter.

### 2.5.2. Température

Les microorganismes, contrairement aux animaux supérieurs, ne peuvent réguler leur température. Celle-ci est donc identique à la température du milieu de culture dans lequel ils se

developpent et leur métabolisme peut en être affecté.

Le tableau 4 nous renseigne sur le comportement des microorganismes en fonction de la température.



I: souche psychrophile

II: souche mésophile

III: souche thermophile

Tableau 4: Comportement des

microorganismes vis à vis du

facteur température

La température affecte non seulement les vitesses de réactions cellulaires, les voies métaboliques empruntées, les besoins nutritionnels mais aussi la composition de la biomasse microbienne, c'est un facteur qu'il est donc important de pouvoir contrôler.

### 2.5.3 Environnement ionique-pH

La concentration en ions  $H^+$  dans le milieu extérieur influe grandement sur la croissance des microorganismes (bactéries, levures et champignons inférieurs)[2].

Pour maintenir le pH, on peut utiliser des tampons, tels que



les phosphates, mais le coût en limite l'emploi, ou du carbonate de calcium (production d'acide lactique de fermentation).

En général, on emploie des agents neutralisants peu coûteux, l'acide chlorhydrique, la lessive de soude, l'ammoniaque [11].

La plupart des bactéries ont un pH optimum de croissance voisin de la neutralité.

Le tableau 5 nous renseigne sur leur sensibilité au pH.

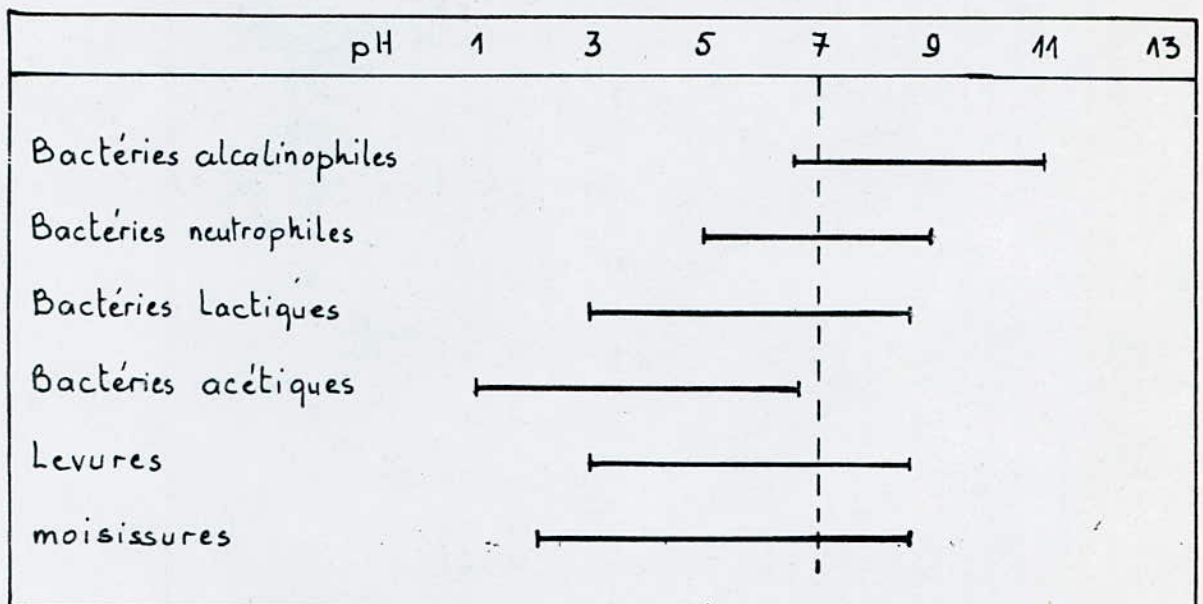


Tableau 5: Sensibilité des microorganismes au facteur pH.

Le pH des milieux de culture dépend des ingrédients qui le composent, mais il peut être modifié par le métabolisme des microorganismes en croissance. PIRT [10] signale l'existence de microorganismes anaérobies qui par les produits de leur métabolisme, tendent à neutraliser leur propre milieu de culture et le rendre ainsi plus

favorable.

#### 2.5.4. Potentiel d'oxydo-réduction

Le potentiel d'oxydo-réduction [E] traduit la tendance d'une solution (ou de milieu de culture) à donner ou à accepter des électrons [2].

#### 2.5.5. Aération, Agitation

Les cultures sont agitées et actuellement aérées par injection d'air sous-pression car l'oxygène pur est trop onéreux. A cause de la très faible solubilité de l'oxygène (qui diminue quand la température augmente), la réserve de ce métabolite essentiel est particulièrement faible. Si la concentration du milieu en oxygène est inférieure à une valeur critique, on constate des troubles métaboliques qui peuvent entraîner la mort des microorganismes [11].

Le tableau 6 nous renseigne sur les besoins en oxygène des microorganismes.

Microorganismes	Température de culture (°C)	concentration critique d'oxygène	Besoins maxima en oxygène
Azotobacter	30	0,018	260
Escherichia coli	37	0,008	5-8
Levure	30	0,004	10-15
Penicillium chrysogenum	24	0,022	20-30
Acétobacter	30	-	90
Streptomyces griseus	30	-	15

Tableau 6: Besoins maxima et concentration critique d'oxygène (exprimée en millimoles par litre de milieu et par heure) pour divers microorganismes.

## CHAPITRE III

### CONCEPTION ET REALISATION

3.1. CONCEPTION

3.2. AGITATION

3.3. ECHANGEUR THERMIQUE



## 3- CONCEPTION ET REALISATION

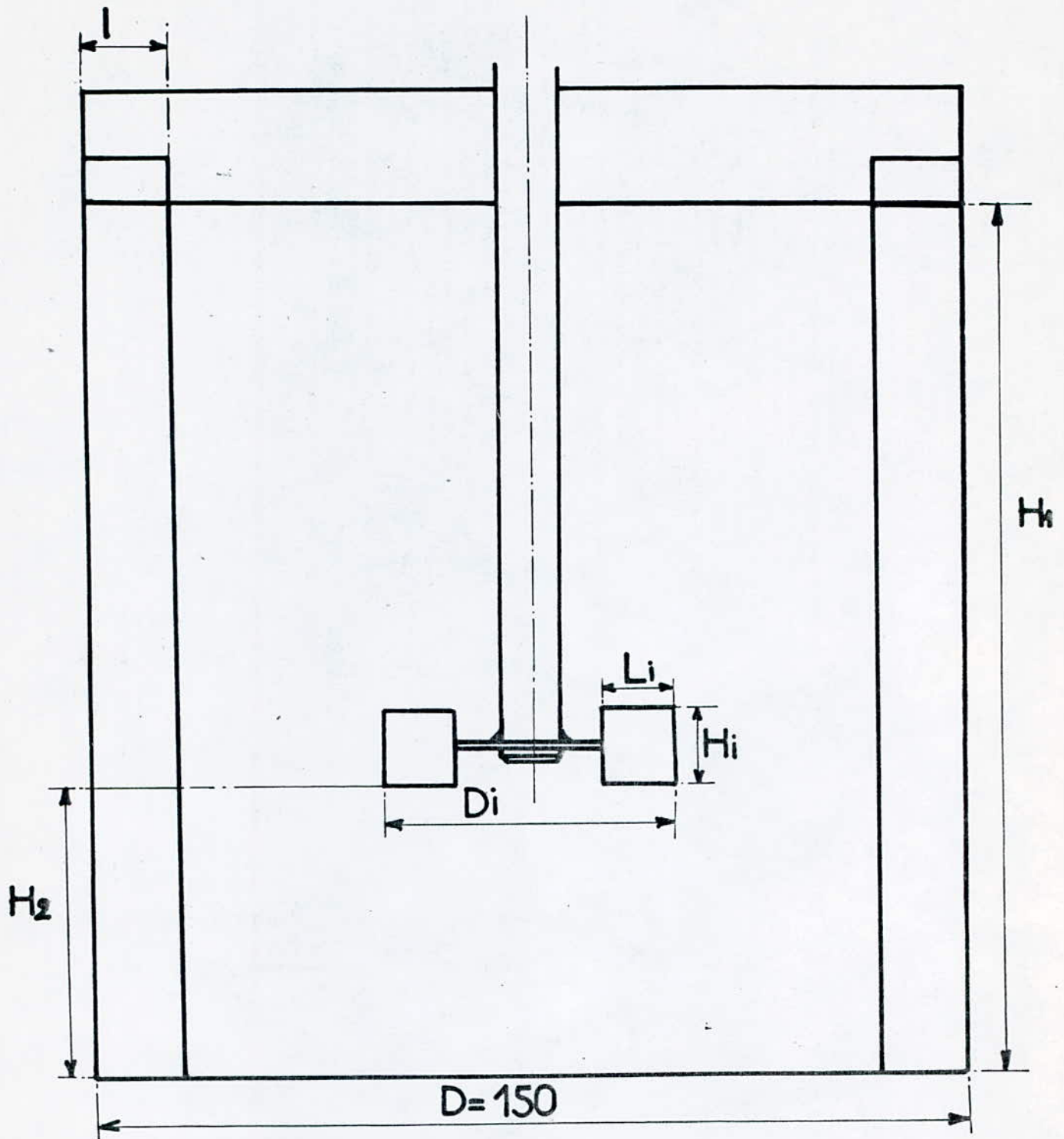
### 3.1. CONCEPTION

Les études menées sur la conception des bioréacteurs nous ont amené à concevoir notre bioréacteur selon les normes Steel-Miller (voir planche 1).

Dans notre étude, on va représenter notre bioréacteur en coupe transversale (voir planche 2A), de plus nous allons détailler certains de ses éléments (voir planches 2B, 3 et 4).

#### 3.1.1. Bases microbiologiques de la conception

Quel que soit le type de microorganismes, le bioréacteur doit permettre un contact aussi bon que possible entre les deux phases, biotique et abiotique du système. Le bon déroulement du procédé, selon l'allure cinétique optimale, est lié aux phénomènes de transferts entre les cellules et le milieu de culture. Il s'agit tout d'abord de transferts de matière du milieu extérieur vers la cellule pour ce qui est du substrat et des composés du milieu de culture nécessaires à la croissance cellulaire, en sens inverse pour les produits de métabolisme. Pour que les transferts puissent s'effectuer correctement, la répartition des cellules dans le milieu de culture doit être



$$\frac{D}{D_i} = 3 \quad \frac{H_1}{D} = 1 \quad \frac{H_2}{D_i} = 1 \quad \frac{L_i}{D_i} = 0,25 \quad \frac{H_i}{D_i} = 0,25 \quad \frac{l}{D} = 0,1$$

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

CUVE-AGITATEUR

KAADA

03-10-87

ECHELLE: 1



Mat: Acier 18/8

PROJET 1/4



la meilleure possible.

Une caractéristique très importante du bioréacteur, dans le cas de processus aérobies, est sa capacité de transférer à la biomasse microbienne qu'il contient, la partie d'oxygène dont elle a besoin.

La croissance microbienne est globalement exothermique. Le bioréacteur doit faciliter les transferts de chaleur, du milieu vers les cellules, tout d'abord, puis à l'inverse au fur et à mesure que la croissance cellulaire se produit. La répartition homogène des cellules dans le milieu évite alors tout phénomène de surchauffe locale dangereuse étant donné la sensibilité à la chaleur des processus microbiologiques.

La dernière contrainte imposée au bioréacteur, découlant de la nature des processus microbiologiques, est celle de devoir les protéger ou les garantir vis à vis des contaminations. Les bioréacteurs agités sont de ce point de vue et par nature plus vulnérable. Aussi a-t-on recours à des dispositifs sophistiqués pour assurer leur étanchéité, à l'endroit où l'arbre d'agitation traverse la paroi de la cuve. Lors de conduite discontinue, entre deux opérations de fermentations, le fermenteur doit être nettoyé et désinfecté avec soin, afin de ne pas compromettre le déroulement du nouveau cycle [14].



### 3.1.2 Forme

Le bioréacteur est une cuve cylindrique munie de deux platines horizontales [15], (voir planches 2A, 2C).

La partie supérieure porte un certain nombre de tuyauteries destinées à l'arrivée de l'air, à l'échappement de l'air et des gaz, à l'addition des réactifs, à l'entrée du milieu, --- (voir planche 3).

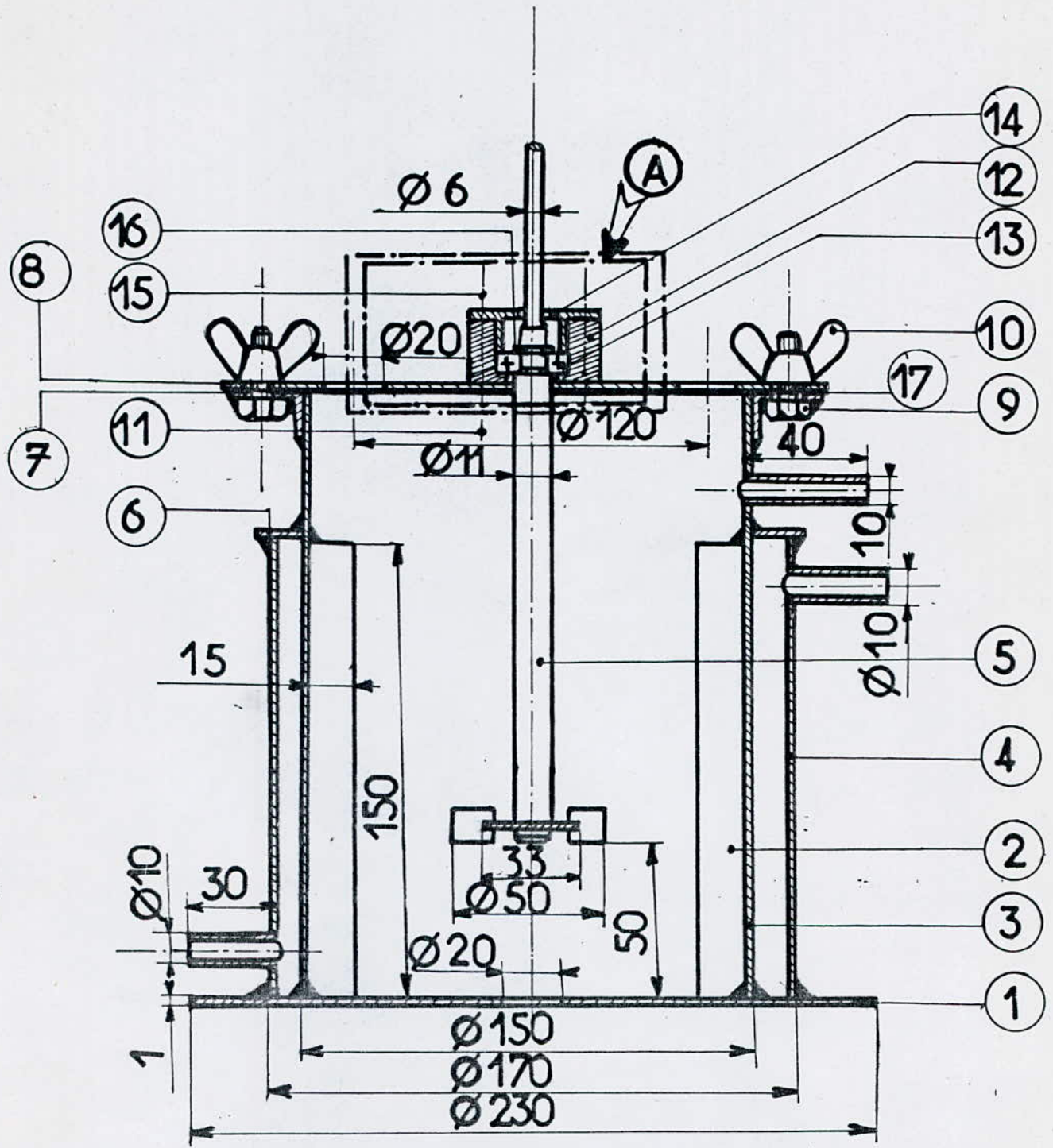
On dispose encore un certain nombre d'appareils de contrôle tels que les électrodes de pH, thermomètre, électrode de mesure de l'oxygène dissous [12].



Le fond inférieur porte à sa partie basse une tuyauterie de vidange [15].

### 3.1.3 Choix du matériau

Le matériau utilisé en génie biochimique devra répondre aux exigences suivantes:

- absence de composants: pouvant être cédés aux milieux de culture et toxiques pour les microorganismes,
- résistance à la corrosion presque absolue: les fermenteurs, surtout, sont soumis à de nombreux facteurs de corrosion et d'oxydation, comme les alternances de température, le contact permanent de l'air humide, l'érosion interne provoquée par l'agitation à vitesse élevée des particules solides suspendues



ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE		KAADA	
REACTEUR BIOLOGIQUE		03-10-87	
ECHELLE: 0,5		 Mat: Acier - 18/8	PROJET 2/4



17	1	Joint d'étanchéité	S.B.R
16	1	Anneau élastique	Acier E22
15	2	Vis de fixation Fs.M5.7.4	Acier E27
14	1	Couvercle	Acier doux
13	1	Roulement étanche 8BC016.22 B7	Acier 100c6
12	1	Mecanisme de guidage	Acier doux
11	3	Vis de fixation Fs M5. 10-7 à 120°	Acier 18/8
10	4	Écrous à oreilles	Acier E27
9	4	Vis HM6.16.46	Acier E24
8	1	Bride supérieure	Acier 18/8
7	4	Coudes	Acier 18/8
6	1	Couvercle d'échangeur thermique	Acier 18/8
5	1	Agitateur à 8 pales	Acier 18/8
4	1	Echangeur thermique	Acier 18/8
3	1	Cylindre	Acier 18/8
2	4	Contrepales	Acier 18/8
1	1	Bride inférieure	Acier 18/8

Rep	N <sup>bre</sup>	DESIGNATION	MATIERE	Observation
-----	------------------	-------------	---------	-------------

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

REACTEUR BIOLOGIQUE

KAADA

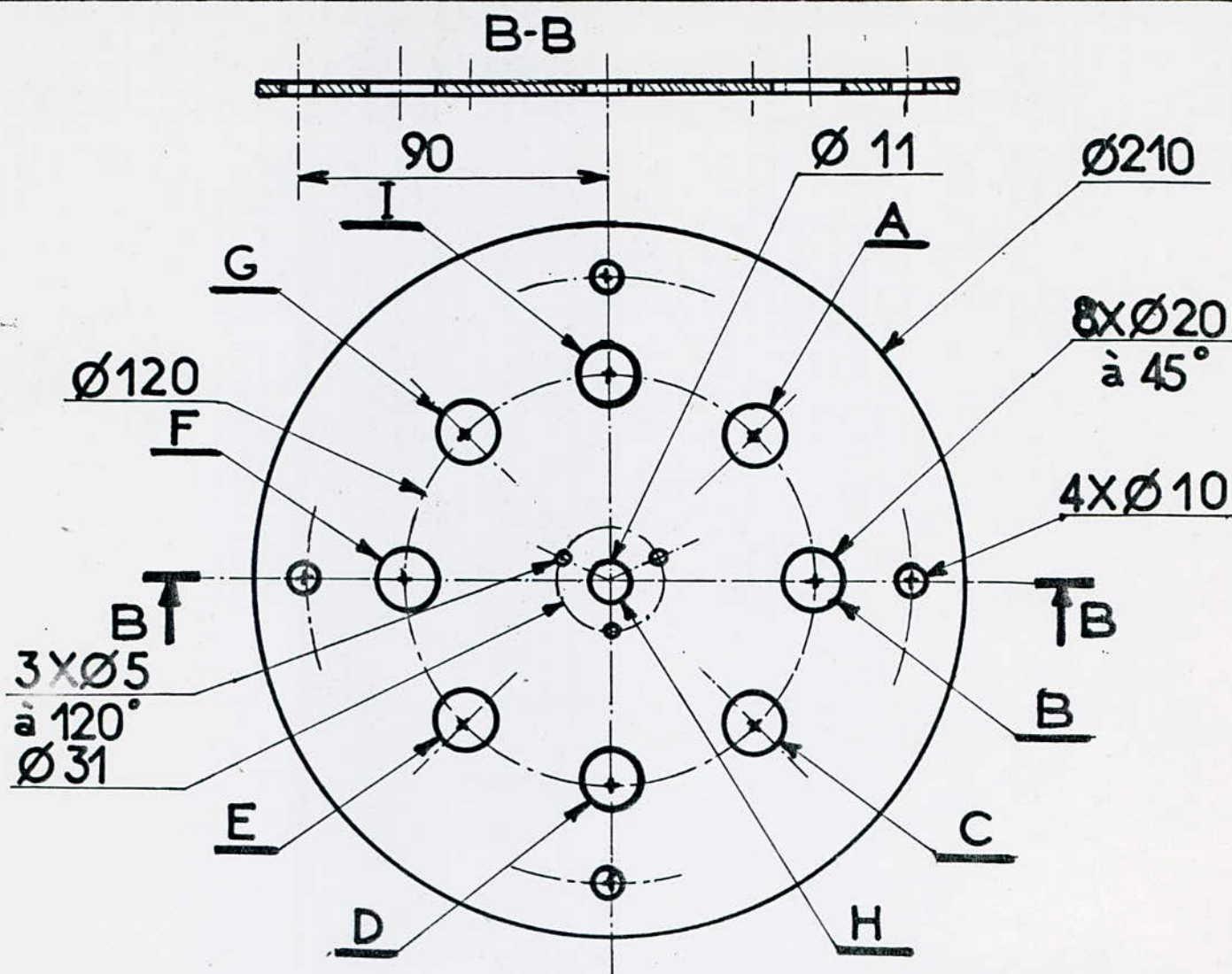
03-10-87

ECHELLE: 0,5



PROJET 2C/4





A	Electrode de mesure de l'O <sub>2</sub> dissous
B	Entrée d'air
C	Entrée Sonde ph
D	Sortie d'air
E	Entree de la solution
F	Entree Solution Neutralisante
G	Entree Thermomètre
H	Entree Agitateur
I	Capteur de densité optique

ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE	
BRIDE SUPERIEURE	KAADA
	03-10-87
EHELLE:05	Mat:Acier 18/8
PROJET	3/4

dans le milieu de culture et même parfois des phénomènes d'électrolyse provoqués par le contact de plusieurs métaux,

- stabilité des soudures: l'emploi de certaines nuances d'aciers inoxydables exigent pour leur soudure, l'application de règles très strictes, faute de quoi, à l'usage, des zones de moindre résistance à la corrosion le long des lignes de soudure,

- absence de criques et d'inclusions étrangères: ces défauts, très rares actuellement dans les matériaux modernes, favorisent, eux aussi, l'attaque du métal par les agents corrosifs.

En outre, la présence de criques peut entraîner l'accumulation dans ces endroits de certains microorganismes ou de leurs spores très difficile à détruire même par la chaleur,

- résistance aux agents chimiques: utilisés pour le nettoyage, comme en particulier les détergents,

- possibilité d'un polissage soigné: l'état de surface est important. En effet, un polissage de qualité diminue les risques de corrosion et évite l'adhérence de matières organiques pouvant fixer les germes contaminants. Néanmoins, le polissage est une opération coûteuse et pour les fermenteurs de grand volume, on se contente souvent du métal non poli. Ces exigences



très strictes ont entraîné l'utilisation généralisée de l'acier inoxydable pour la plupart des appareils utilisés du génie biochimiques [15].

L'appareillage est réalisé dans des matériaux inoxydables, l'état de surface intérieur doit être soigné pour éviter l'adhérence des microorganismes nuisibles à la bonne homogénéité du milieu et pouvant être à l'origine de corrosions par piqûres de type bactérien [12].

#### 3.1.4. Matériau utilisé

Les aciers inoxydables: ces alliages sont formés en nuances variées mais les plus utilisés sont les aciers austénitiques, désignés sous l'appellation 18-8.

Ces alliages sont constitués par 18% de Chrome et de 8% de Nickel et sont caractérisés par une faible teneur en Carbone et par l'addition de petites quantités de Molybdène, de Manganèse, de Silice, de Soufre destinés à améliorer leur qualité.

Cet alliage résiste remarquablement à la corrosion et à l'oxydation, ainsi qu'à des nombreux agents chimiques. Sa soudure ne nécessite aucun traitement spécial et il ne cède aux milieux de culture usuels aucune trace métallique susceptible d'inhiber la croissance des microorganismes [15].



Toutes les études menées sur le bien fondé de ce matériau nous ont amené à réaliser notre bioréacteur avec de l'acier inoxydable de type 316 CN 18-8 avec 2 à 3% de Mo.

### 3.2. AGITATION

#### 3.2.1. But

Le but de l'agitation est d'assurer l'uniformité de la suspension microbienne de façon à accélérer la vitesse des échanges entre les germes et le milieu nutritif, et surtout à diviser les bulles d'air de façon à accroître leur surface et à créer des turbulences en vue d'augmenter la durée de leur contact avec le liquide [15].

#### 3.2.2. Différents types d'agitation

##### 3.2.2.1. Aération

-Le rôle des dispositifs d'aération placés dans le fermenteur est de fournir aux microorganismes l'oxygène nécessaire à leur croissance, pour les fermentations aérobies, elles ne peuvent s'effectuer qu'en présence d'air [15].

On sait que les fermentations anaérobies ne peuvent s'effectuer qu'en absence d'air.

-L'injection de gaz comprimé dispersé en bulles à la partie inférieure assure une agitation du milieu.

Pour les fermentations anaérobies en produisant du  $\text{CO}_2$ , les bulles de ce gaz vont assurer une certaine agitation

-Le dispositif est constitué par une couronne (Sparger) munie de trous à sa partie supérieure et reliée à la tuyauterie d'arrivée d'air [15].

### 3.2.1.2 Agitation mécanique

L'agitation mécanique facilite les transferts de matières (oxygène entre les bulles d'air et le liquide, substrats et produits entre les microorganismes et le liquide) en augmentant le temps de séjour des bulles de gaz dans le liquide et en augmentant les coefficients de transferts [12].

Généralement l'agitation est provoquée par une pièce (mobile d'agitation) entraînée dans un mouvement en rotation par un arbre lui-même relié à une source d'énergie mécanique. Il a pour fonction de mettre en mouvement un fluide constitué de plusieurs phases [14].

#### a) Type d'agitateur

Malgré la présentation de systèmes d'agitation plus ou moins complexes, on observe à l'heure actuelle une sorte de normalisation de ces appareils. Ceux-ci sont essentiellement constitués par des arbres, disposés dans l'axe des fermenteurs et animés d'un mouvement de rotation supportant une ou



plusieurs turbines d'agitation.

Les types d'agitateurs employés dans les industries de fermentation correspondent aux types suivants:

- Les turbines ou disques à pales (flat blade turbines ou varried disc impellers);
- Les roues à aubes (paddles);
- Les hélices.

Cependant le premier de ces types ayant montré une supériorité indiscutable, les turbines à pales équipent maintenant les fermenteurs industriels. Ces agitateurs tournant dans un plan horizontal, sont positionnés au-dessus du dispositif d'aération placé lui-même à une certaine cote au-dessus du fond du fermenteur [15].

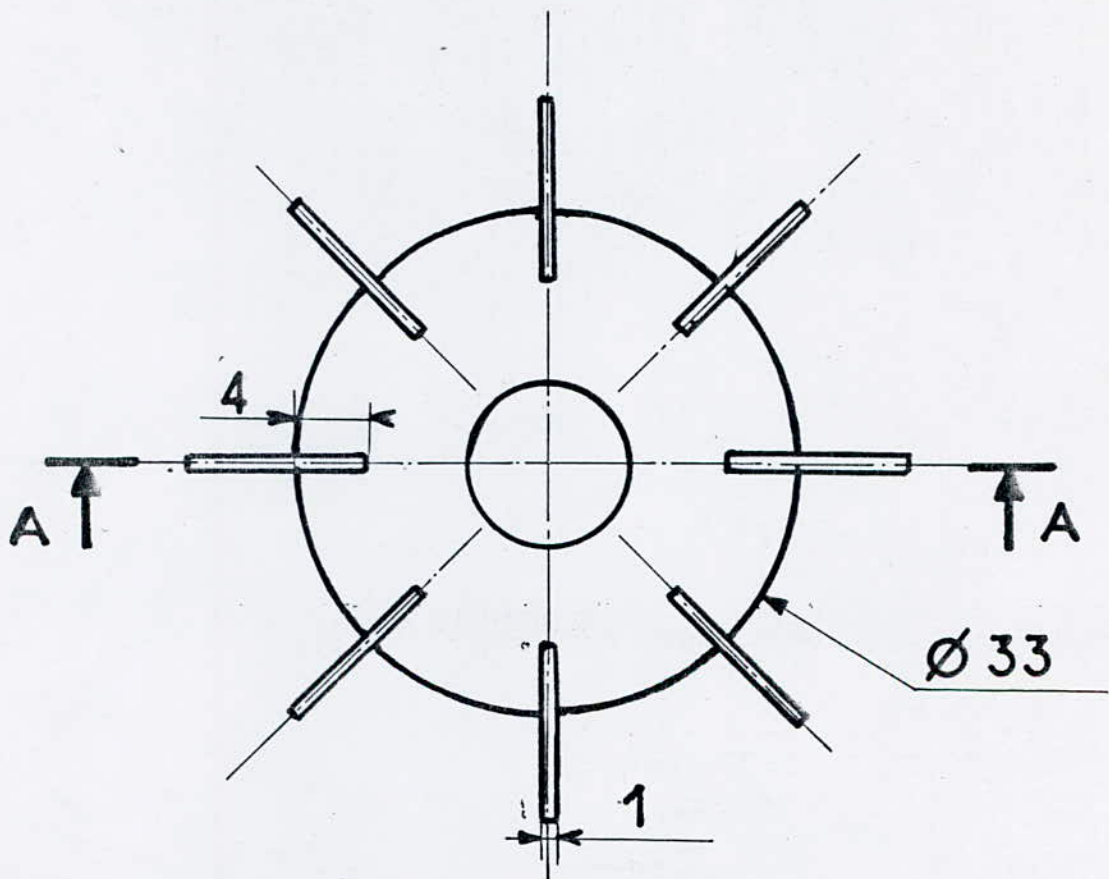
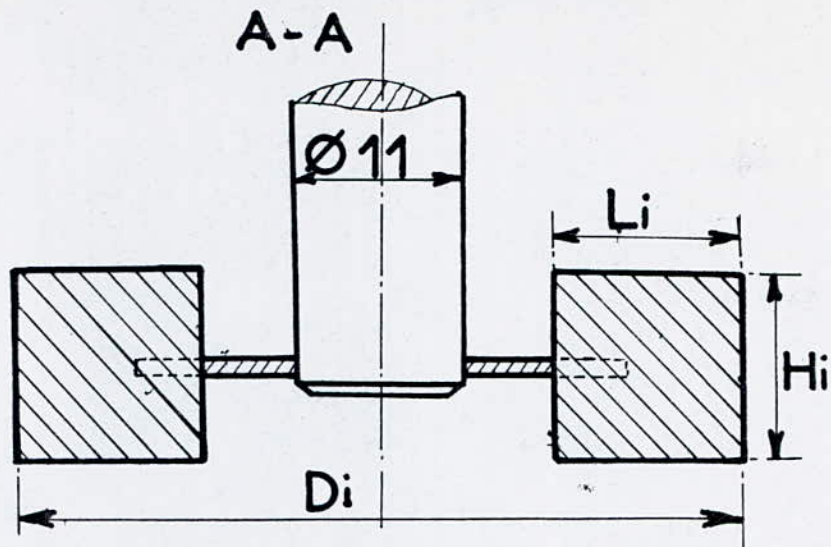
La supériorité des turbines à pales nous a amené à utiliser ce genre d'agitateur pour équiper notre bioréacteur (voir planche 4); notre disque à pales droites (turbine Rushton) comporte 8 pales.

L'introduction de l'agitateur se fait par la partie supérieure (top entering) du fermenteur.

#### b) Construction de l'agitateur

Afin d'assurer dans de bonnes conditions le mouvement rotatif du mobile d'agitation, le dispositif comporte





ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE

MÓBILE D'AGITATION

KAADA

03-10-87

ECHELLE: 2



Mat: Acier 18/8

PROJET 4/4

différents organes :

- l'arbre d'agitation (shaft) sur lequel est fixé le mobile à entraîner,
- un système d'étanchéité (shaft seal) à l'endroit où l'arbre traverse la paroi du fermenteur. Il doit principalement empêcher les contaminations,
- un système de guidage de l'arbre (voir planche 28),
- un mécanisme d'accouplement de l'arbre au réducteur de vitesse du moteur qui va l'entraîner [14].

#### c) Moteur d'entraînement

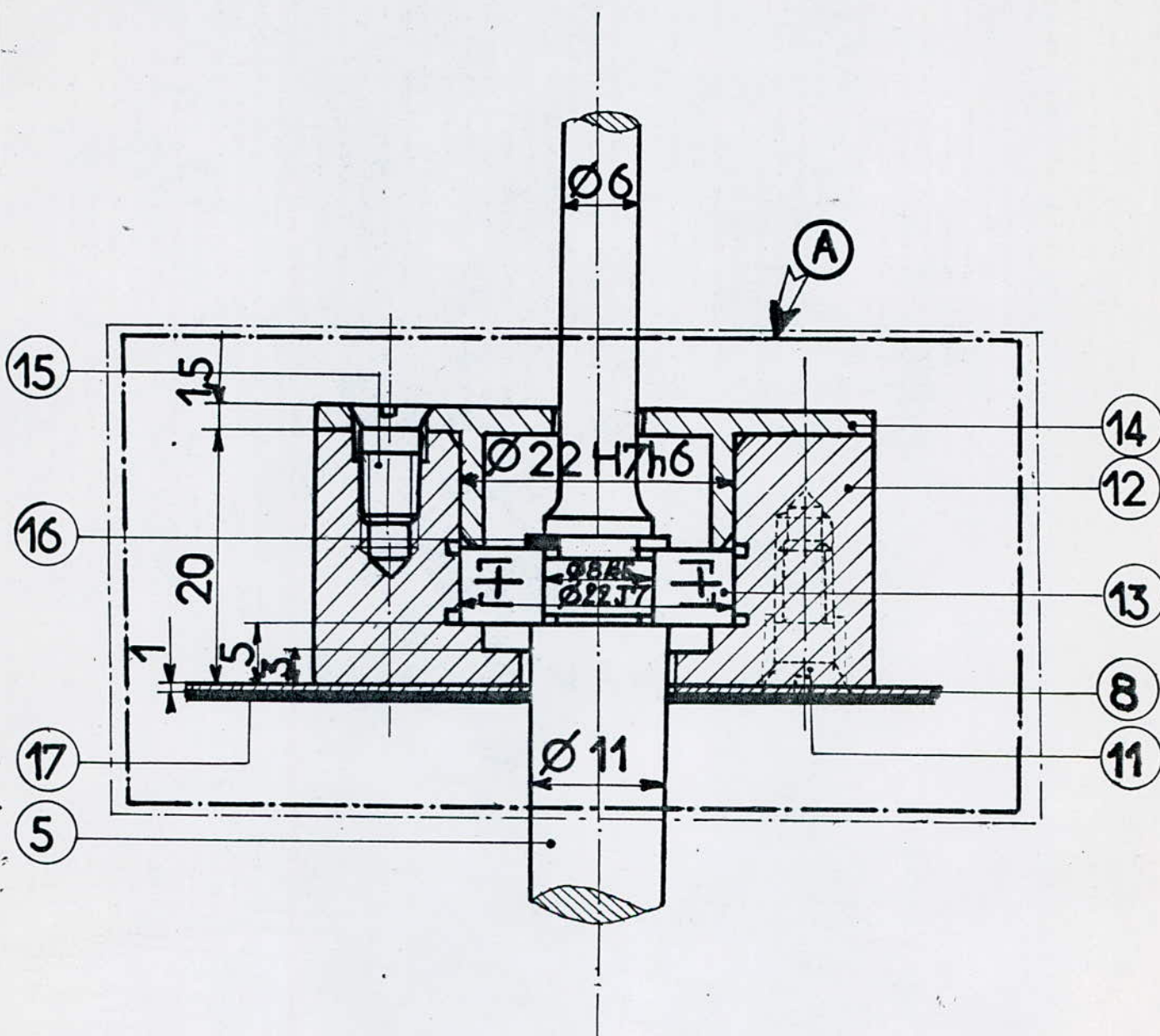
On utilise un moteur électrique de marque IKA-WERT ayant une gamme de vitesses de 50 à 1000 tr/mn sous une tension de 220 V.

#### d) Les contrepales (contre-agitateurs)

- Les contrepales évitent les phénomènes du vortex,
- elles sont destinées à augmenter la turbulence et la qualité de l'aération.

On emploie quatre (4) contrepale (baffles) soudées verticalement sur la paroi intérieure et placées à





ECOLE NATIONALE POLYTECHNIQUE	
MECANISME DE GUIDAGE	KAADA
	03 10-87
ECHELLE: 2	PROJET 2B/4



l'extrémité de deux diamètres perpendiculaires [15].

### 3.3. ECHANGEUR THERMIQUE

L'appareil est muni d'un dispositif d'échange de chaleur qui permet d'évacuer les calories libérées au cours de la fermentation [12].

#### 3.3.1. Type d'échangeur thermique

On utilise une double enveloppe (jaquette extérieure) pour augmenter la surface d'échange thermique dans notre bioréacteur.

# CHAPITRE IV

## PARTIE EXPERIMENTALE

### 4.1. ETUDE HYDRODYNAMIQUE

## 4 - PARTIE EXPERIMENTALE

### 4.1. ETUDE HYDRODYNAMIQUE

On se propose de caractériser l'écoulement du liquide, en déterminant le temps de séjour moyen.

#### 4.1.1. Appareillage et mode opératoire

##### a) Choix du traceur

Le choix du traceur dans cette étude est constitué par une solution d'acide chlorhydrique (HCl) très facilement détectable par conductimétrie. Nous avons opté pour l'application d'une injection du traceur à l'aide d'une seringue (injection impulsion). La réponse du réacteur est détectée à la sortie par une cellule branchée à un conductimètre auquel a été couplé un appareil enregistreur qui donne la courbe de variation de la concentration en fonction du temps.

##### b) Etalonnage de la cellule conductimétrique

Avant d'effectuer les essais de traçage, nous avons procédé à l'étalonnage de la cellule conductimétrique aux différentes températures.

A cette fin, une série de solutions de concentration en HCl connue ont été préparées et analysées. A titre d'exemple, pour une température  $T = 20^{\circ}\text{C}$ , nous constatons une loi linéaire



entre la hauteur du signal capté par l'enregistreur et la concentration de l'étalon (figure 6), nous obtenons un coefficient de proportionnalité égal à  $854,6 \text{ mm} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$  pour des concentrations en HCl allant jusqu'à  $0,1 \text{ M}$ .

Dans cette gamme de concentration, on peut écrire la corrélation suivante:

$$H_T = H_{H_2O} + H_{HCl} = H_{H_2O} + \epsilon C_{HCl}$$

$H_T$  = hauteur totale de la conductance totale

$H_{H_2O}$  = hauteur de la conductance de l'eau

$H_{HCl}$  = hauteur de la conductance de HCl

$\epsilon$  = coefficient de proportionnalité

### c) Essais de traçage

Lors de nos expériences de traçage, on injecte toujours  $6 \text{ ml}$  d'acide chlorhydrique ( $5N$ ) à l'aide d'une seringue ⑨. Le zéro de l'appareil enregistreur est réglé de façon à ce qu'il corresponde à  $H_{H_2O}$ . Ainsi la réponse du réacteur à l'injection du traceur est enregistrée dans un intervalle compris entre 0 et la hauteur maximale de  $H_{HCl}$  (figure 7)



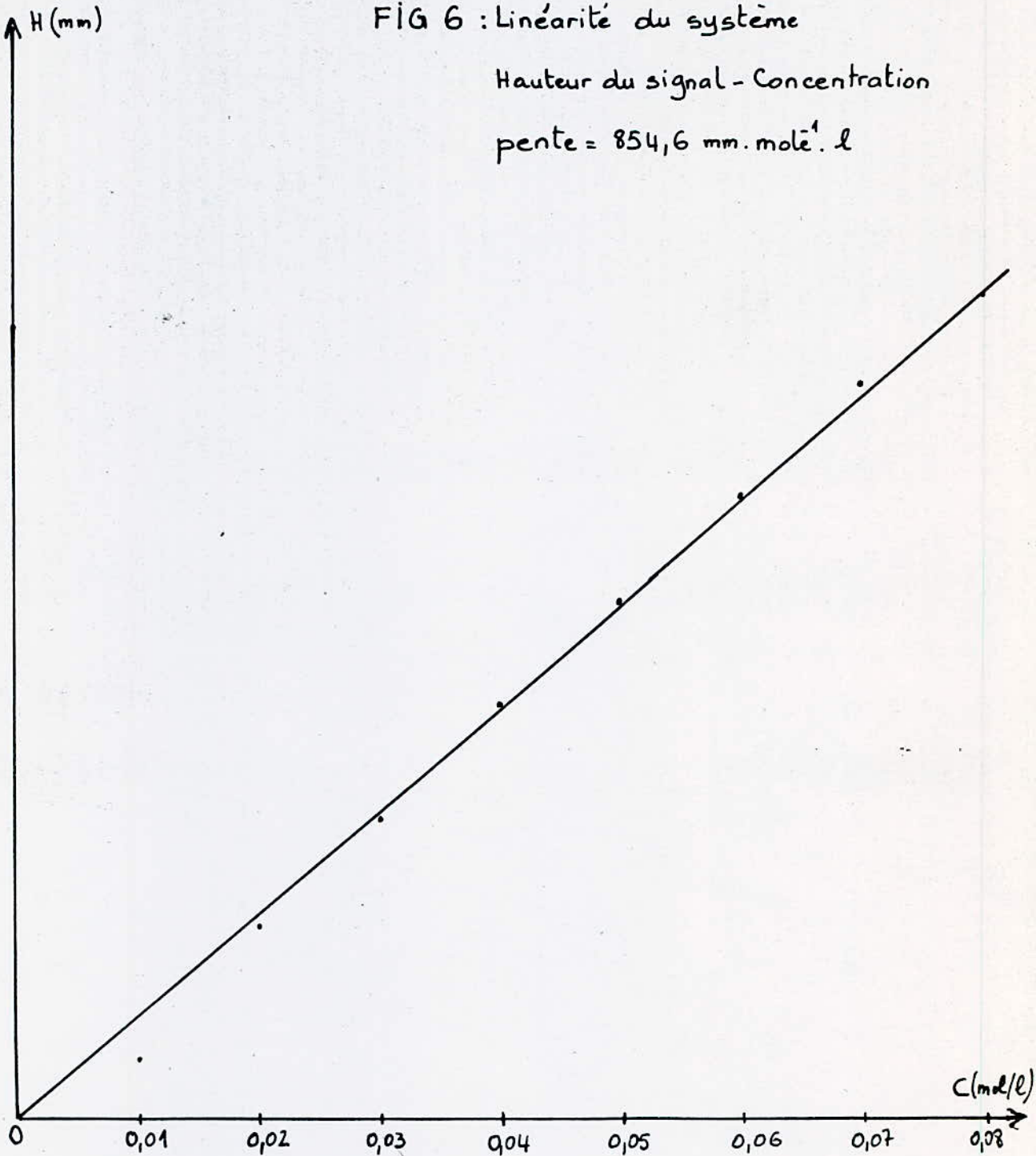
figure 7: Intervalle de variation de  $H_{HCl}$

H (mm)

FIG 6 : Linéarité du système

Hauteur du signal - Concentration

pende =  $854,6 \text{ mm} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{l}$



Un schéma de principe des expériences de traçage est donné par la figure 8.

Avant injection, nous opérons comme il suit:

- 1) remplir le bac d'alimentation ①,
- 2) mettre la pompe ② en marche et régler le rotamètre ③ au débit désiré,
- 3) mettre en marche le bain thermostaté ④ à la température voulue,
- 4) mettre en marche le moteur d'agitation ⑤ et choisir une vitesse de rotation,
- 5) attendre l'établissement du régime stationnaire dans le bioréacteur ⑥,
- 6) mettre le conductimètre ⑦ sur opération et régler le zéro de l'enregistreur ⑧.

Après injection

- 7) prélever à l'aide d'une seringue ⑨ 6 ml d'acide chlorhydrique (5N) et effectuer une injection impulsion. Au même moment mettre le conductimètre ⑦ sur opération et l'enregistreur ⑧ en marche (à cet effet on choisira une vitesse convenable du papier),
- 8) arrêter l'enregistreur ⑧ une fois que le stylet ait repris sa position initiale,



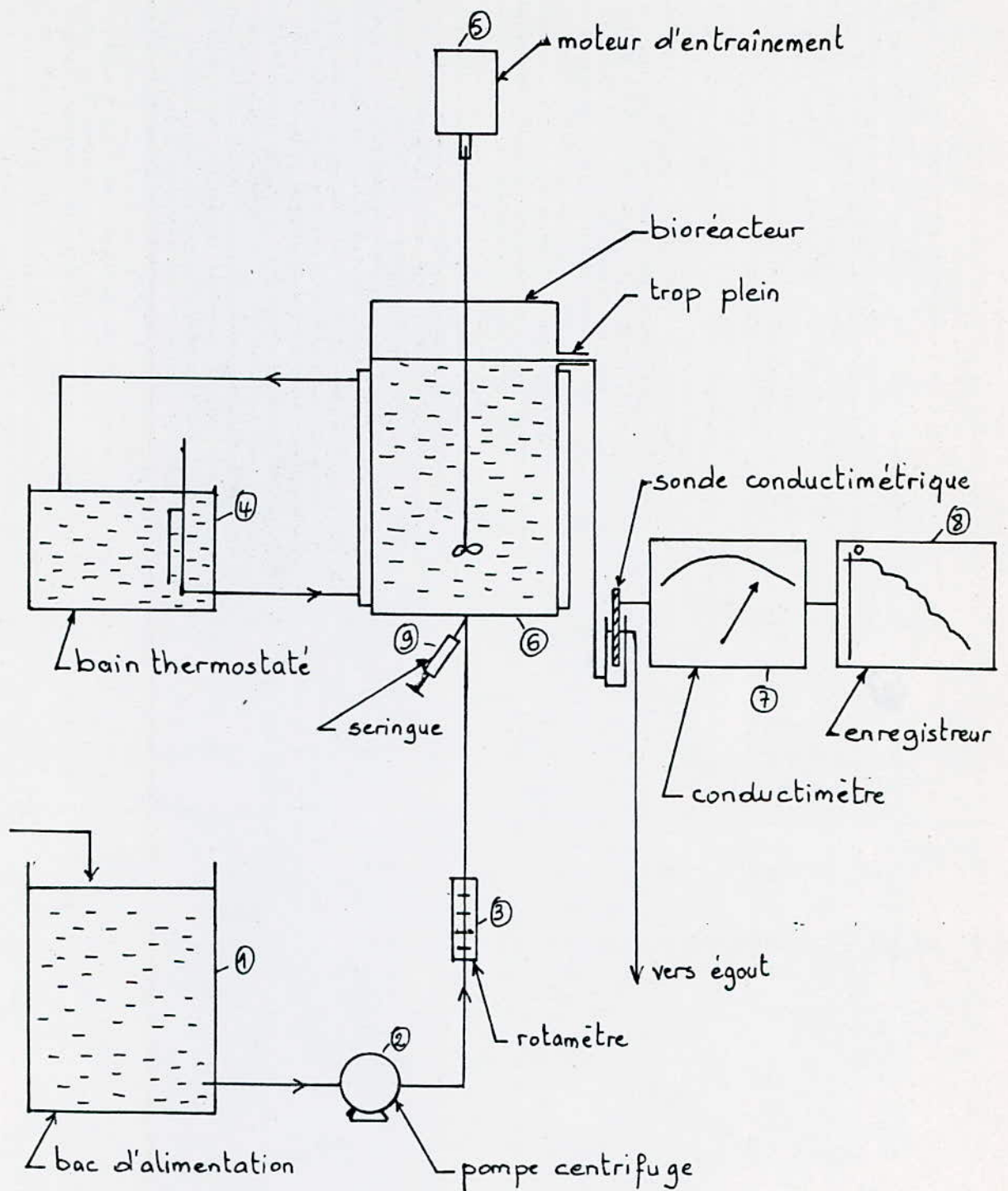


FIG 8 : Schéma du dispositif des expériences de traçage

- 9) balayer toute la gamme des vitesses d'agitation en suivant les huit (8) étapes pour un débit désiré et une température désirée,
- 10) refaire les mêmes opérations (1 à 9) en changeant la température,
- 11) reprendre la même procédure (1 à 10) en changeant le débit.

Une fois la courbe de variation de la concentration en fonction du temps enregistrée, nous déterminons graphiquement le temps de séjour moyen à l'aide de la méthode décrite en annexe 1.

#### 4.1.2. Temps de séjour moyen $\bar{t}_s$

Les temps de séjour moyen ont été calculés suivant les paramètres d'étude : viscosité, température, temps de passage et vitesse de rotation.

Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 7.

- Nous constatons globalement que pour un temps de passage de l'ordre de  $T_A = 73$  s à des températures de 20, 30 et 40°C, le temps de séjour moyen est inférieur au temps de passage ; cette différence s'accroît avec la croissance de la vitesse d'agitation. Par contre, à une température  $T = 50^\circ\text{C}$  les valeurs de temps de séjour sont proches de celle du temps de passage  $T_A$ .

- Au temps de passage  $T_A = 147$  s, nous remarquons aux erreurs

$\mu$ (c.Poises)	T (°C)	$T_A$ (s)	Temps de séjour moyen $\bar{t}_s$ (s)			
			N (tr/mn)	100	300	500
1,03	20	73	43	33	33	28
		147	117	114	131	129
		295	320	338	354	327
0,85	30	73	59	51	40	34
		147	155	151	174	136
		295	230	249	183	170
0,70	40	73	54	67	55	38
		147	131	140	176	138
		295	135	135	146	138
0,59	50	73	73	84	91	80
		147	154	149	159	157
		295	101	110	121	116

Tableau 7: Détermination des temps de séjour moyen ( $\bar{t}_s$ )



expérimentales que les temps de séjour moyens, calculés pour les quatre températures (20, 30, 40 et 50°C), et obtenus sont de même ordre de grandeur que le temps de passage.

- Pour le temps de passage  $T_A = 295$  s, mis à part les résultats obtenus à  $T = 20^\circ\text{C}$ , nous constatons un net écart entre les valeurs calculées du temps de séjour moyen et celle du temps de passage  $T_A$ .

L'élévation du paramètre température de 20 à 50°C se traduit par une réduction de la viscosité de 1 à 0,6 cPois.

Aux viscosités plus élevées (tableau 8), nous obtenons des résultats différents à ceux préalablement cités pour des faibles viscosités (tableau 7); quelle que soit la viscosité, à un temps de passage  $T_A = 159$  s, des temps de séjour moyens relativement proches du temps de passage sont obtenus.

D'une façon générale, les temps de séjour moyens étant éloignés du temps de passage  $T_A$  cela se traduit par un volume mort ou un court-circuit.

4.1.3. calcul du taux de volume mort ou de court-circuit.

Pour quantifier ces derniers paramètres, nous avons utilisé les équations préalablement mentionnées au chapitre I (1.2.1.3) par les expressions (11) et (12).

$$V_m V = 1 - \bar{E}_s / T_A \quad (11)$$

$$Q_c Q = 1 - T_A / \bar{E}_s \quad (12)$$

		Temps de séjour moyen: $\bar{t}_s$ (s)				
$\mu$ (cPoises)	T (°C)	$T_R$ (s) \ / \ $N$ (tr/mn)	100	300	500	800
8,51	20	119	144	162	130	158
		159	151	168	189	172
		318	233	245	265	255
6,92	30	119	175	163	161	156
		159	231	205	170	198
		318	242	230	234	274
4,94	40	119	175	139	202	151
		159	171	181	239	262
		318	215	224	231	205
3,49	50	119	210	170	191	175
		159	154	236	199	175
		318	230	218	268	243

Tableau 8 : Détermination des temps de séjour moyens ( $\bar{t}_s$ )



Aux faibles viscosités de 0,6 à 1 cPoise (tableau 9), les calculs des taux de court-circuit ou de volume mort nous ont permis de constater que globalement notre réacteur était assez performant mis à part les valeurs obtenues pour un temps de passage  $T_A = 295$  s aux viscosités 0,7 et 0,59 cPoises, et un temps de passage  $T_A = 73$  s à la viscosité de 1,03 cPoises.

Taux de court-circuit ou de volume mort (%)						
$\mu$ (cPoises)	T (°C)	$T_A$ (s) \ $n$ (tr/min)	100	300	500	800
1,03	20	73	41,1	54,8	54,8	61,6
		147	20,4	22,4	10,9	12,2
		295	7,8	12,7	16,6	9,8
0,85	30	73	19,2	30,1	45,2	53,4
		147	5,2	2,6	15,5	7,5
		295	22	15,6	38	42,4
0,70	40	73	26	8,2	24,6	47,9
		147	10,9	4,8	16,5	6,1
		295	54,2	54,2	50,5	53,2
0,59	50	73	0	13,1	19,8	8,8
		147	4,5	1,3	7,5	8,7
		295	65,8	62,7	59	60,8

Tableau 9 : Détermination du taux de volume mort ou de court-circuit (%)



Aux viscosités plus élevées (tableau 10), de forts taux de volume mort ou de court-circuit sont obtenus pour un temps de passage de l'ordre de  $T_A = 119$  s. A des temps de passage plus élevés, des résultats moyens ont été obtenus.

		Taux de volume mort ou de court-circuit(%)				
$\mu$ (cPoisel)	T (°C)	$T_A$ (s) \ N(tr/mn)	100	300	500	800
8,51	20	119	17,4	26,5	8,5	24,7
		159	5	5,4	15,9	7,6
		318	26,7	22,9	16,7	19,8
6,92	30	119	32	27	26,1	23,7
		159	31,2	22,4	6,5	19,7
		318	23,9	27,7	26,4	13,8
4,94	40	119	32	14,4	41	21,2
		159	7	12	33,5	39,3
		318	32,4	29,6	27,4	35,5
3,49	50	119	43,3	30	37,7	32
		159	3,1	32,6	20,1	9,1
		318	27,7	31,4	15,7	23,6

Tableau 10: Détermination du taux de volume mort ou de court-circuit (%)

#### 4.1.4. Détermination des conditions optimales

L'étude hydrodynamique du bioréacteur a pour but de déterminer les conditions optimales de fonctionnement. Pour cela nous avons porté sur un graphe  $\theta$ , rapport de  $\bar{E}_s T_A$  en fonction du temps de passage  $T_A$  aux différentes vitesses de rotation et viscosités.

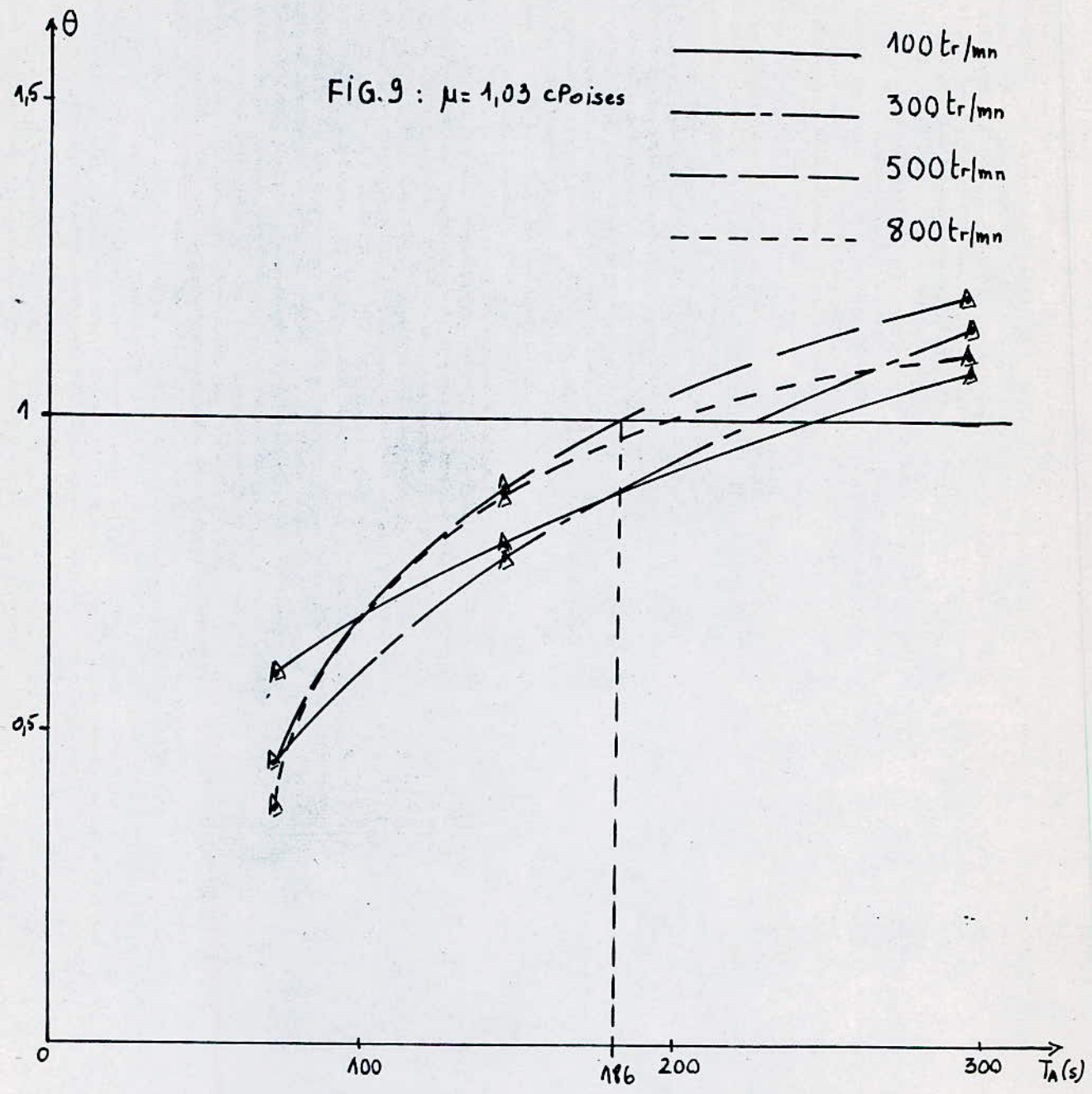
Les courbes obtenues sont présentées sur les figures 9, 10, 11, 12, 13 et 14.

A l'aide de ces différentes courbes nous pouvons déterminer à des conditions opératoires bien définies, le temps de passage idéal.

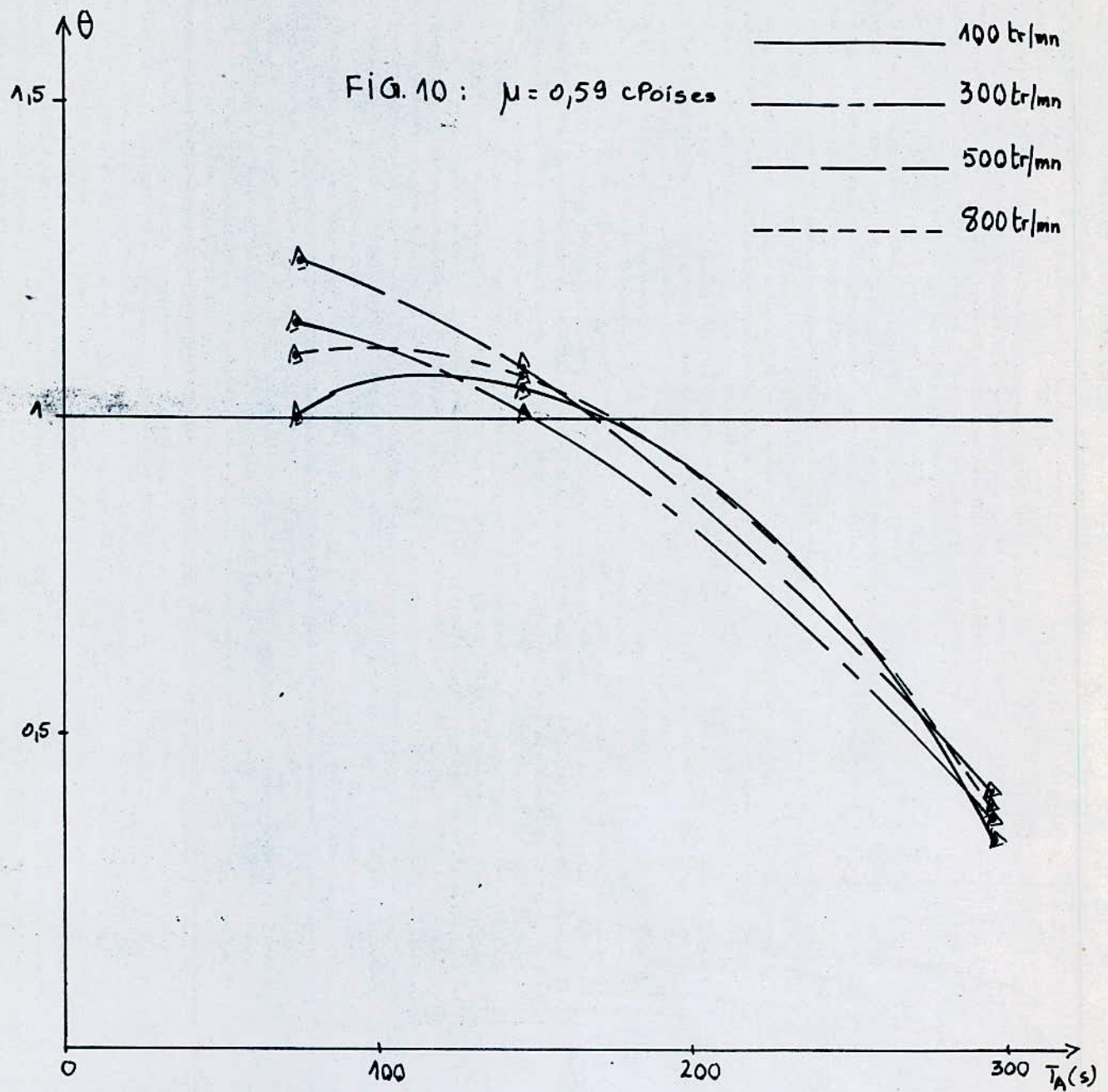
A titre d'exemple, pour une solution de viscosité de 1,03 cpoises, à une vitesse de rotation de l'agitateur de 500 tr/mn, le temps de passage "idéal" obtenu par interpolation est de l'ordre de  $T_A = 116s$  (figure 9).

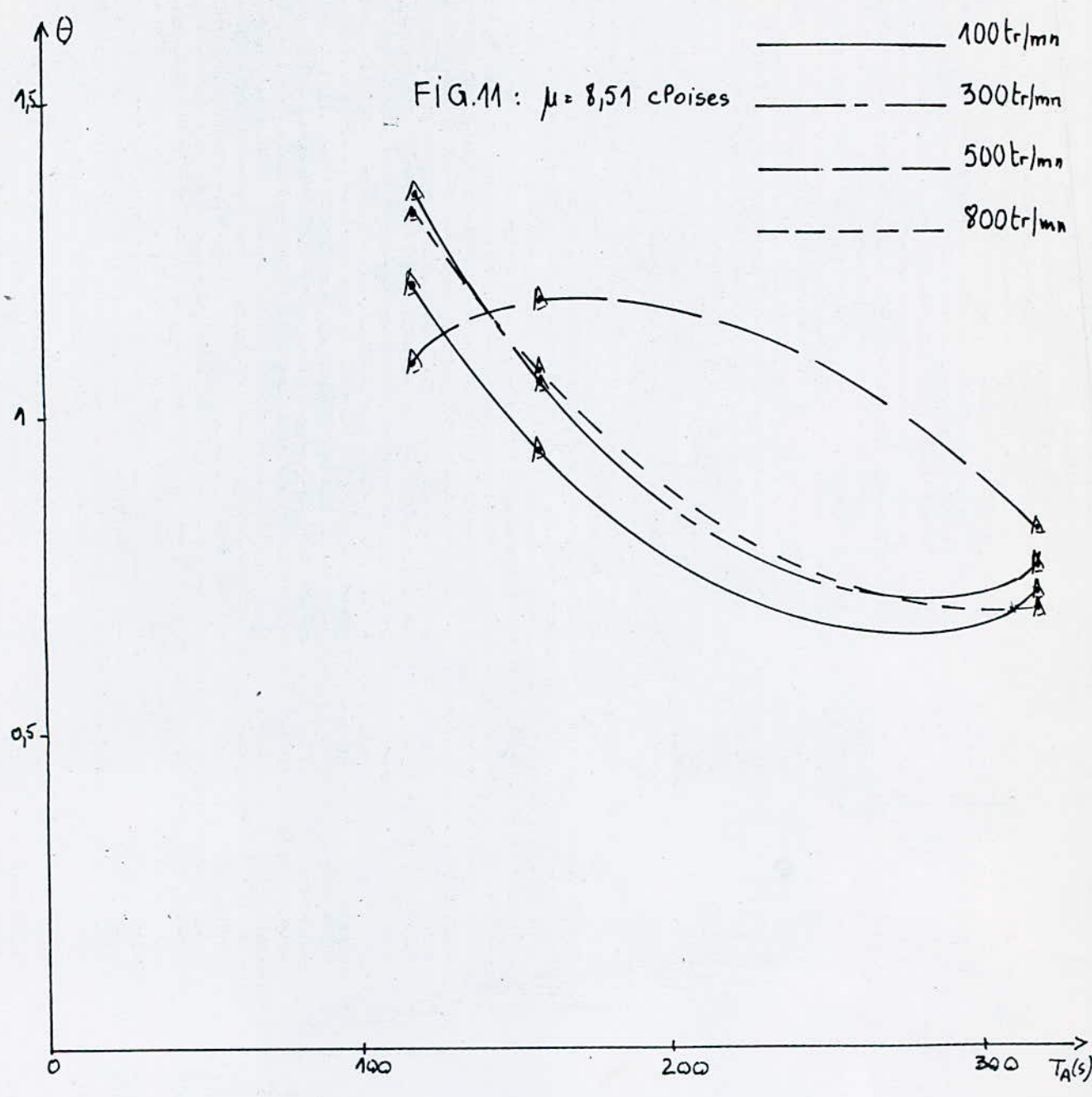
D'une façon générale nous pourrions ainsi déterminer pour des conditions expérimentales connues (vitesse de rotation, viscosité) le temps de passage permettant un fonctionnement optimum de notre réacteur.

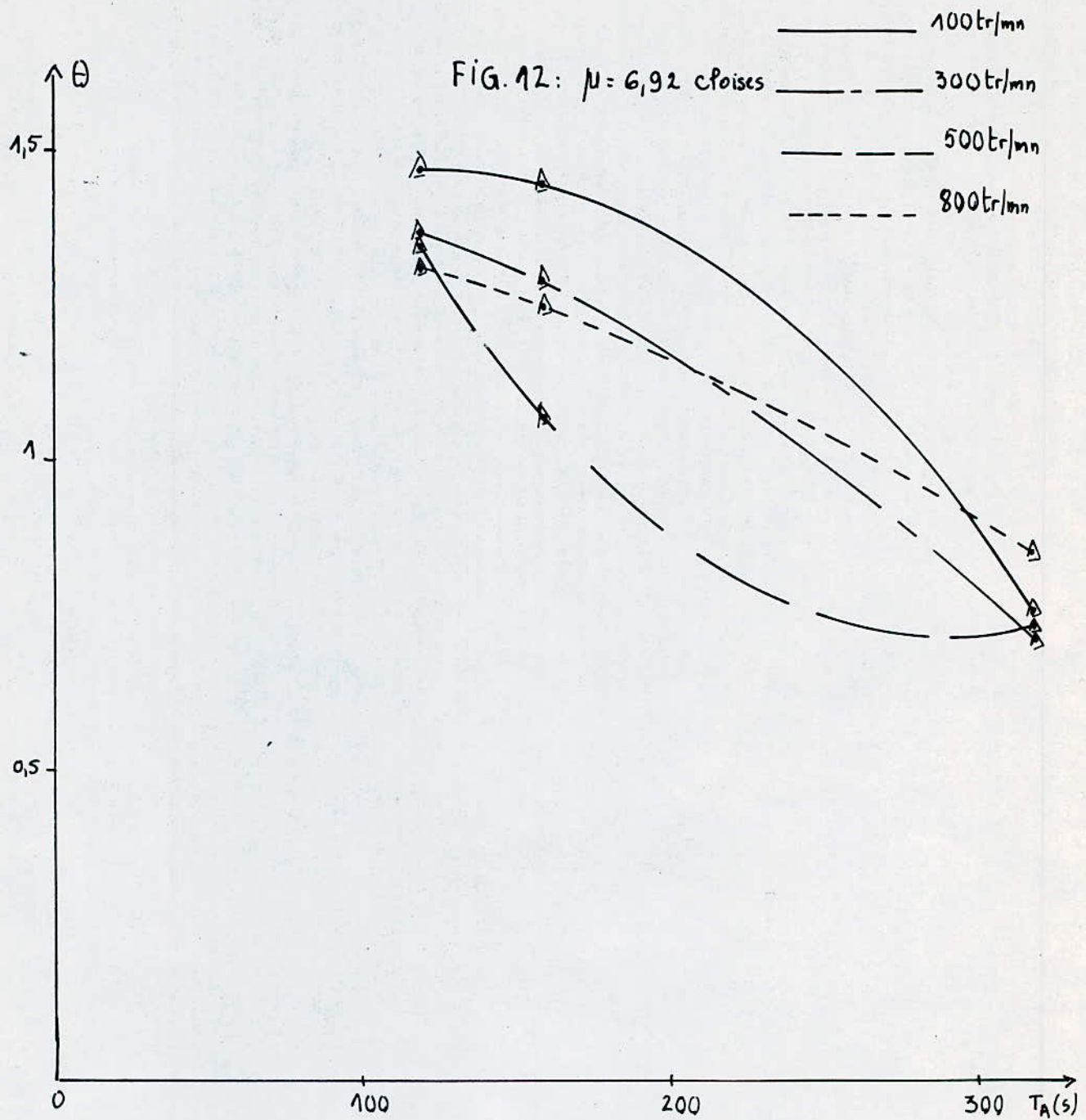
Il nous a semblé intéressant de construire une abaque qui nous permettrait de déterminer rapidement le temps de passage "idéal" quelque soit la viscosité du



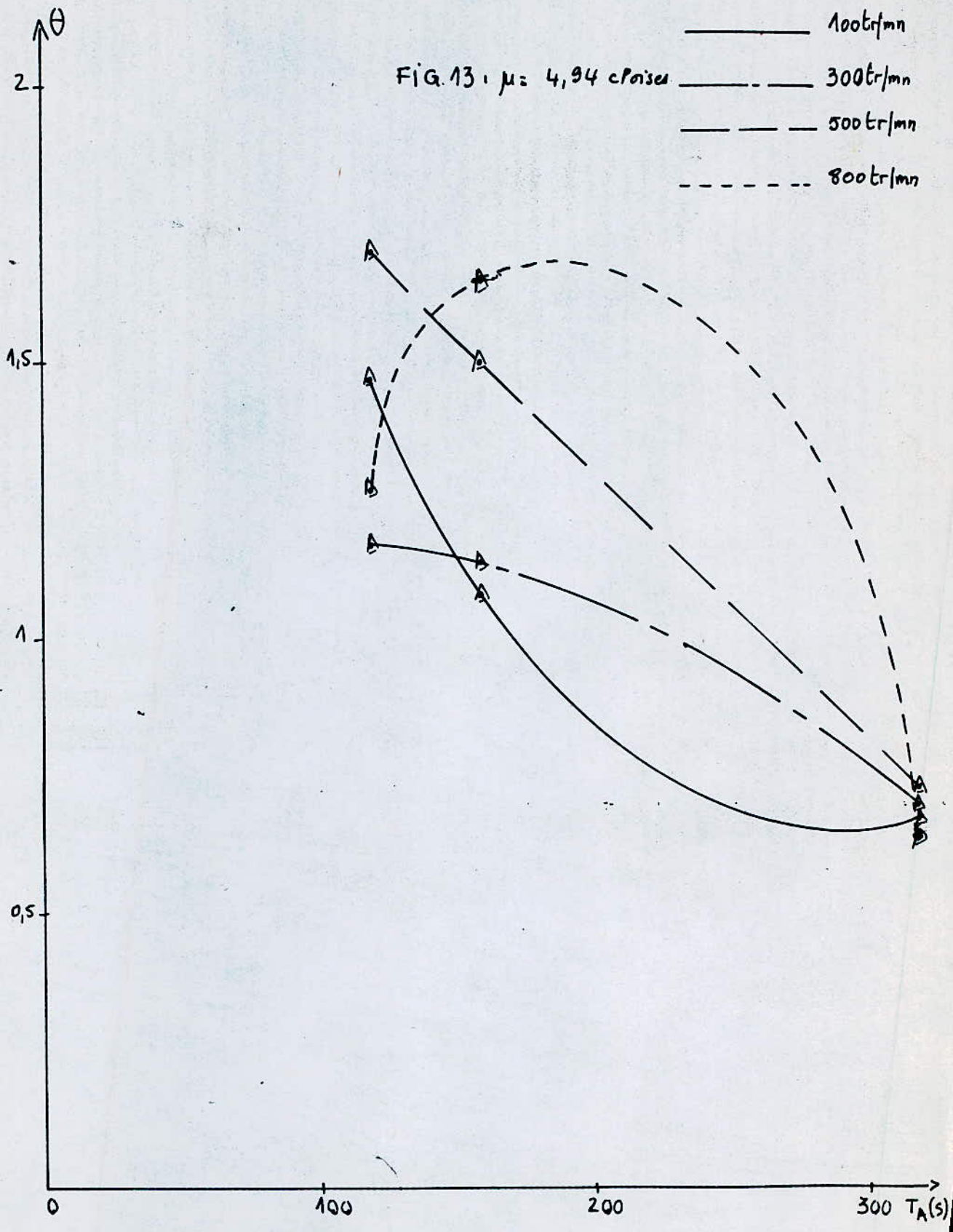


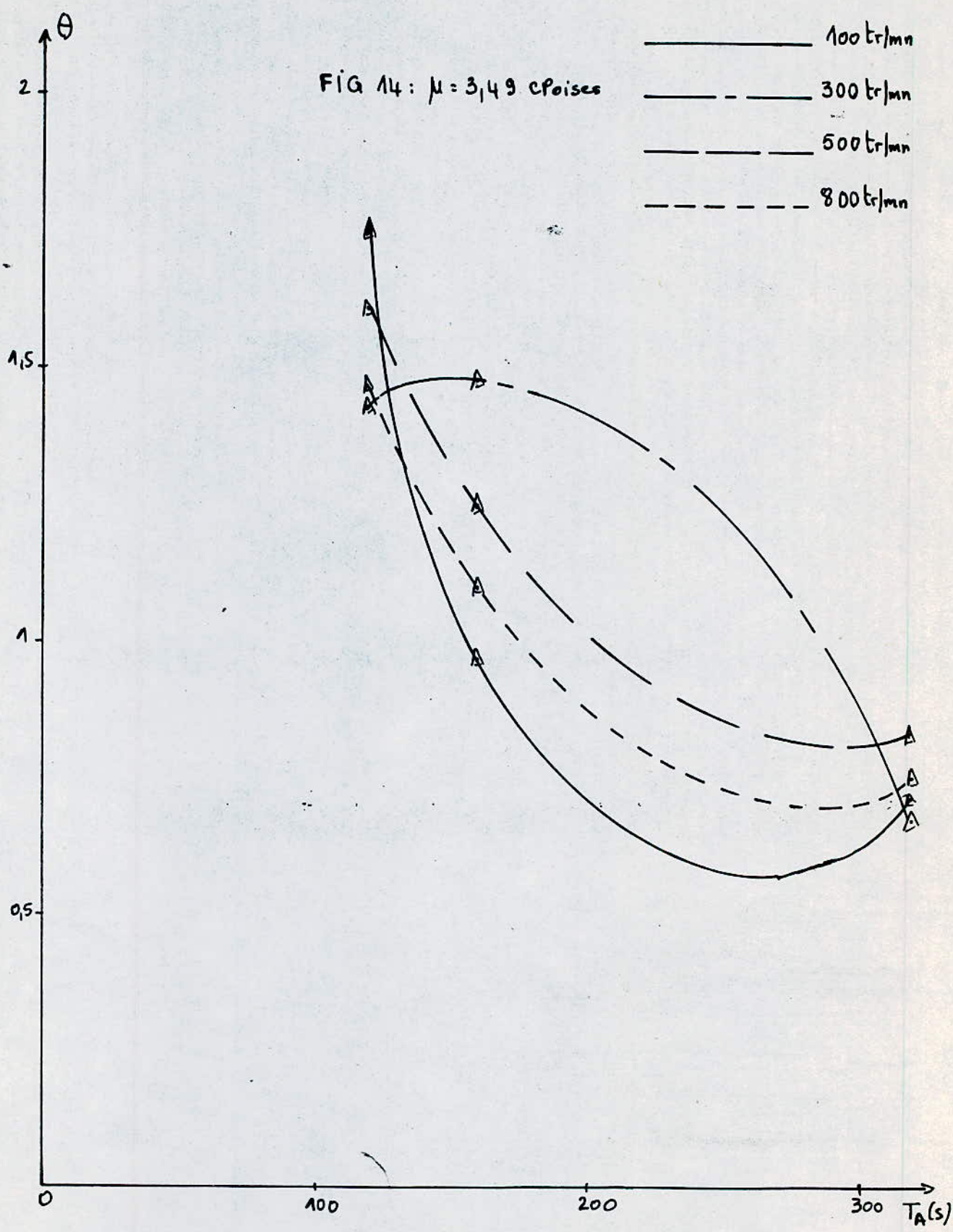












milieu de fermentation et la vitesse d'agitation.

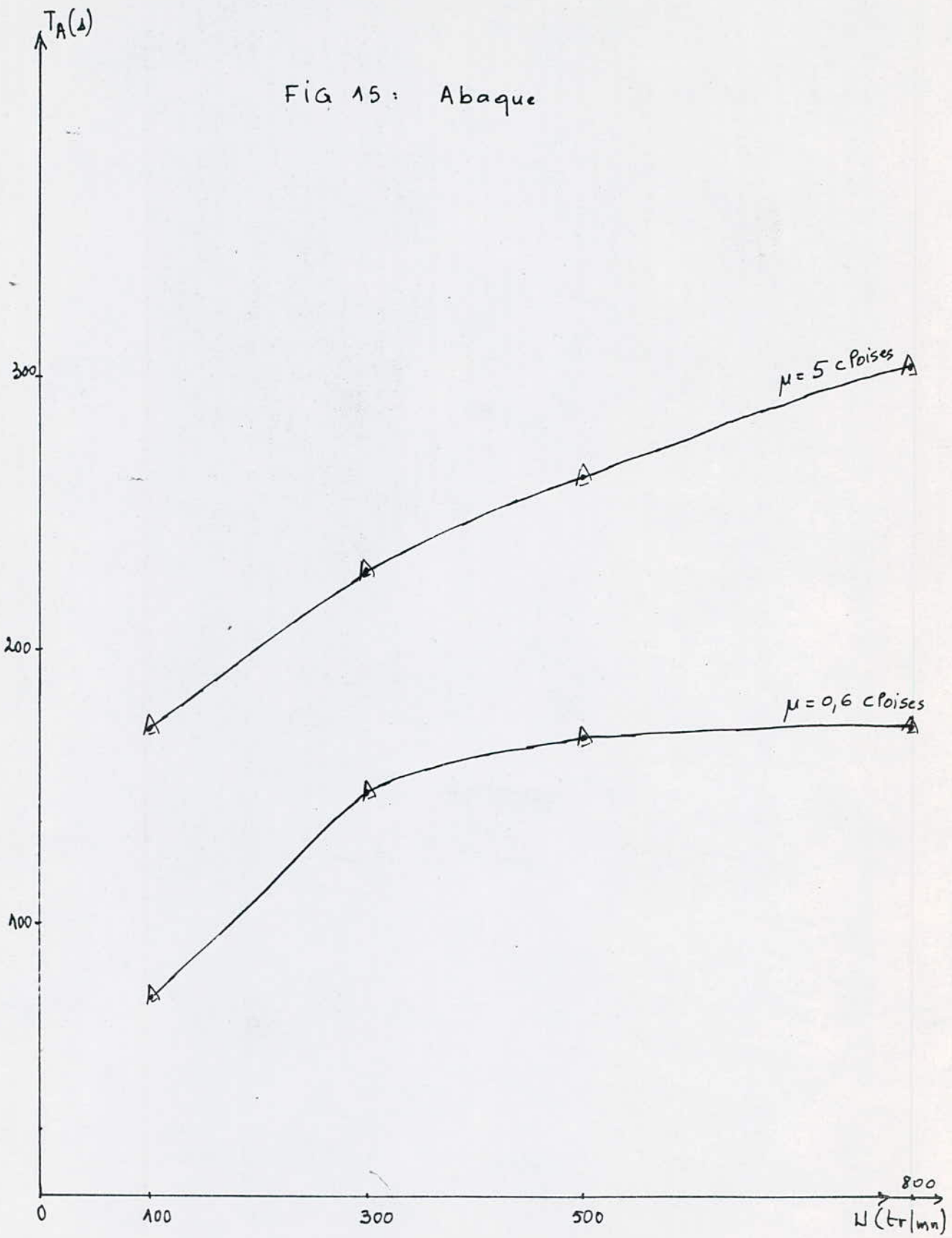
A titre d'exemple, nous présentons les courbes obtenus pour une viscosité de l'ordre de 0,6 cpoises et de 5 cPoises (figure 15).

Sachant que certains milieux de fermentation peuvent avoir des viscosités plus élevées, il serait nécessaire alors de compléter l'abaque à des viscosités du même ordre de grandeur.

En effet, l'optimisation hydrodynamique d'un réacteur à une viscosité de l'ordre de 0,5 cpoise, conduirait à des résultats erronés en travaillant à une viscosité de l'ordre de 5 cpoises (figure 15).



FIG 15: Abaque



CONCLUSION

L'intérêt croissant des bioreacteurs, aussi bien dans le domaine de la dépollution que dans le secteur de la production, justifie amplement notre travail.

Pour mener à bien notre étude, nous avons conçu un bioréacteur suivant les normes de STEEL-MILLER; nos recherches bibliographiques nous ont permis aussi d'opter sur le type d'agitateur et le matériau à utiliser.

Dans le but d'améliorer les performances globales du bioréacteur, nous nous sommes intéressés à l'optimisation de la structure hydrodynamique de notre bioréacteur. D'une façon générale, les résultats obtenus montrent, dans le domaine de viscosité, débit d'alimentation et vitesse de rotation, une performance moyenne de notre fermenteur. En effet, de faibles taux de volume mort et court-circuit ont été déduits.

De l'ensemble des résultats expérimentaux, nous avons établi une abaque permettant d'accéder aux conditions optimales de fonctionnement de notre bioréacteur. De même, nous avons montré toute l'importance du



paramètre viscosité du milieu lors de l'optimisation de la structure hydrodynamique à savoir que les performances d'un fermenteur à une viscosité ne sont pas extrapolables pour des viscosités plus élevées.

Il apparaît ainsi tout le danger de se contenter des données fournies par les constructeurs de bioréacteur sans tenir compte des conditions opératoires.

Dans la poursuite de ces travaux, nous compléterons l'optimisation du bioréacteur pour le cas de solutions aux viscosités plus élevées.

## NOTATIONS

$C(t)$ :	fonction normée de concentration à la sortie du réacteur	$T^{-1}$
$D$ :	diamètre du bioréacteur	$L$
$D_i$ :	diamètre du mobile d'agitation	$L$
$E(t)$ :	fonction distribution de temps de séjour	$T^{-1}$
$E(\theta)$ :	fonction normée distribution de temps de séjour	
$G(p)$ :	fonction de transfert	
$H$ :	hauteur manométrique de l'agitateur	$L$
$H_i$ :	hauteur des pâles de la turbine	$L$
$H_L$ :	hauteur du liquide dans la cuve	$L$
$L$ :	largeur des contrepales	$L$
$L_i$ :	largeur des pâles de la turbine	$L$
$m$ :	fraction active du liquide dans le réacteur	
$n$ :	fraction de court-circuit	$L^3 T^{-1}$
$Q$ :	débit liquide (alimentation)	$L^3 T^{-1}$
$Q_c$ :	débit de court-circuit	$L^3 T^{-1}$
$Q'$ :	débit actif	$L^3 T^{-1}$
$t$ :	temps	$T$

$\bar{t}_s$	: temps de séjour moyen	T
$T_A$	: temps de passage du liquide	T
V	: volume	L <sup>3</sup>
$V_a$	: volume actif du liquide ( $V_a = \bar{t}_s \cdot Q$ )	L <sup>3</sup>
$V_m$	: volume mort	L <sup>3</sup>
$X(t)$	: stimulation quelconque	
$Y(t)$	: réponse à la sortie du réacteur	

### LETTRES GRECQUES

$\mu$	: viscosité dynamique	FL <sup>-2</sup> T
$\delta(\theta)$	: stimulation impulsion de Dirac	
$\theta$	: temps réduit ( $\theta = t/T_A$ )	
$\bar{\theta}$	: temps moyen de séjour (réduit) ( $\bar{\theta} = \bar{t}_s/T_A$ )	
$\sigma_t^2$	: variance de la DTS	T <sup>-2</sup>
$\sigma_\theta^2$	: variance (réduite) de la DTS ( $\sigma_\theta^2 = \sigma_t^2/T_A^2$ )	

### OPERATEURS

$\mathcal{L}$	: transformée de Laplace
$\mathcal{L}^{-1}$	: transformée inverse de Laplace
p	: variable de Laplace



## BIBLIOGRAPHIE

- [ 1 ] DANCKWERTS (P.V.), 1953, Chem. Eng. Sci., 2, 1.
- [ 2 ] DEMEYER (A.), JACOB (F.), JAY (M.), MENGUY (G.), PERRIE (J.), 1981, La conversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies, Tech et Doc, PARIS.
- [ 3 ] DURAND (G.), MONSAN (P.), 1974, Les enzymes immobilisées, p. 339, Gauthier-Villars, PARIS.
- [ 4 ] DURAND (G.), NAVARRO (J.M.), 1979, Utilisation et propriétés des cellules de microorganismes immobilisées. Congrès intern. de Microbiol. et industrie alimentaire.
- [ 5 ] LE GOFF (P.), Les méthodes du génie chimique, Actualités chimiques n° 10-74 et 1-75.
- [ 6 ] LEVENSPIEL (O.), 1972, "Chemical Reaction Engineering", 2<sup>e</sup> ed, John Wiley & Sons, Inc.
- [ 7 ] MAMERI (N.), Thèse d'ingénieur, Ecole Nationale Polytechnique ALGER, 1983.
- [ 8 ] MEZA OUI (A.), 1979, Thèse 3<sup>ème</sup> cycle, Université des Sciences et Techniques du Languedoc, FRANCE
- [ 9 ] PADIRAC (D.), 1985, La Biotechnologie: des cellules domestiquées, Lyon: Chronique Sociale

- [10] PIRT (S.J.), Principles of Microbe and Cell Cultivation, Blackwell Scientific publications, p 274, Oxford
- [11] RIVIERE (J.), 1975, Les applications industrielles de la microbiologie, Masson, PARIS.
- [12] ROQUES (H.), 1980, Fondements théoriques du traitement biologique des eaux, Vol I, 2<sup>ème</sup> ed, Tech et Doc, PARIS.
- [13] SANT'ANNA (G.L.), 1980, Rapport D.E.A, Institut National des Sciences Appliquées de TOULOUSE, FRANCE.
- [14] SCRIBAN (R.), 1982, Biotechnologie, 1<sup>ère</sup> ed, Tech et Doc, PARIS.
- [15] SIMON (P.), MEUNIER (R.), 1970, Microbiologie industrielle et génie biochimique, Masson et Cie, PARIS.
- [16] STEE (R.), MILLER (T.L.), 1970, Fermentor design Adv. Appl. Microbiol, 12: 153-188.
- [17] THOMAS (D.), GELLF (G.), 1979, Les enzymes immobilisées, Congrès international.
- [18] VAN DER LAAN (E.Th.), 1958, Chem. Eng. Sci
- [19] VILLERMAUX (J.), (1971), Introduction à la théorie des réacteurs.
- [20] VILLERMAUX (J.), 1982, Genie de la réaction chimique. Conception et fonctionnement des réacteurs

# ANNEXES

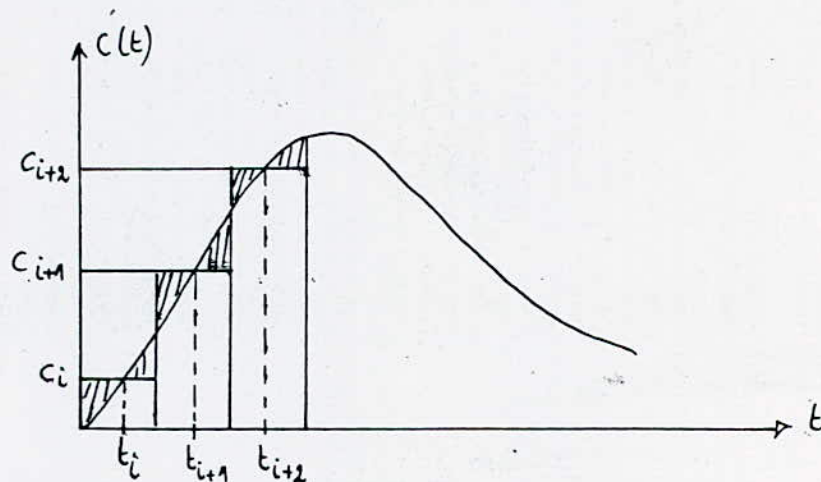


## ANNEXE 1

### 1. Méthode de calcul du temps de séjour moyen

Le calcul du temps de séjour moyen  $\bar{t}_s$  a été fait de la manière suivante:

une fois la courbe enregistrée, nous avons à l'aide de la courbe d'étalonnage de la cellule conductimétrique, relevé les concentrations d'acide chlorhydrique à un intervalle de temps défini. Nous avons ensuite délimité la courbe comprise dans cet intervalle, on détermine ensuite un point  $i$  sur la courbe de manière à balancer les aires.



A l'aide de l'expression (8) mentionnée au chapitre I (1.2.1.2), nous obtenons pour  $\bar{t}_s$

$$\bar{t}_s = \frac{c_i t_i \Delta t + c_{i+1} t_{i+1} \Delta t + \dots + c_{i+n} t_{i+n} \Delta t}{c_i \Delta t + c_{i+1} \Delta t + \dots + c_{i+n} \Delta t}$$

$$\bar{t}_s = \frac{(C_i t_i + C_{i+1} t_{i+1} + \dots + C_{i+n} t_{i+n}) \Delta t}{(C_i + C_{i+1} + \dots + C_{i+n}) \Delta t}$$

$$\bar{t}_s = \frac{C_i t_i + C_{i+1} t_{i+1} + \dots + C_{i+n} t_{i+n}}{C_i + C_{i+1} + \dots + C_{i+n}}$$

$$\text{d'où } \bar{t}_s = \frac{\sum_{i=0}^{\infty} t_i C_i}{\sum_{i=0}^{\infty} C_i}$$

## 2. Exemple de calcul du temps de séjour

Vu le nombre élevé de temps de séjour, nous avons mentionné uniquement un seul exemple. Nous représentons sur la figure 17 la courbe enregistrée de cet exemple.

On va prendre comme exemple (Tableau 11)

Calcul de  $\bar{E}_s$  pour  $T_A = 159$  s

$\mu = 8,51$  cpoises ,  $T = 20^\circ\text{C}$  ,  $N = 100$  tr/mn  $\Delta t = 15$  s

$t_i$ (s)	$H_i$ (mm)	$C_i$ (mole/l)	$t_i C_i$ (s.mole/l)
7,5	170/3	0,0663078	0,4973086
13,5	255/3	0,0994617	2,0141002
25	260/3	0,1014119	3,8029487
35	245/3	0,0955612	5,016967
45	230/3	0,0897105	6,0554645
55	215/3	0,0838598	6,9184414
65	200/3	0,0780092	7,60558975
75	190/3	0,0741087	8,3372338
85	180/3	0,0702082	8,9515563
95	167,5/3	0,0653327	9,3099111
105	157,5/3	0,0614322	9,6755792
115	150/3	0,0585069	10,092441
125	142,5/3	0,0555815	10,421542
135	135/3	0,0526562	10,662883
145	130/3	0,0507059	11,028551
155	125/3	0,0487557	11,335713
165	122,5/3	0,0477806	11,825708
175	120/3	0,0468055	12,28645
185	115/3	0,0448552	12,447344
195	112,5/3	0,0438801	12,834952
205	110/3	0,042905	13,193307
215	105/3	0,0409548	13,207934
225	102,5/3	0,0399797	13,493155
235	100/3	0,0390046	13,749122
		1,4977755	224,76451

Tableau 11.

$$\bar{E}_s = 151 \text{ s}$$



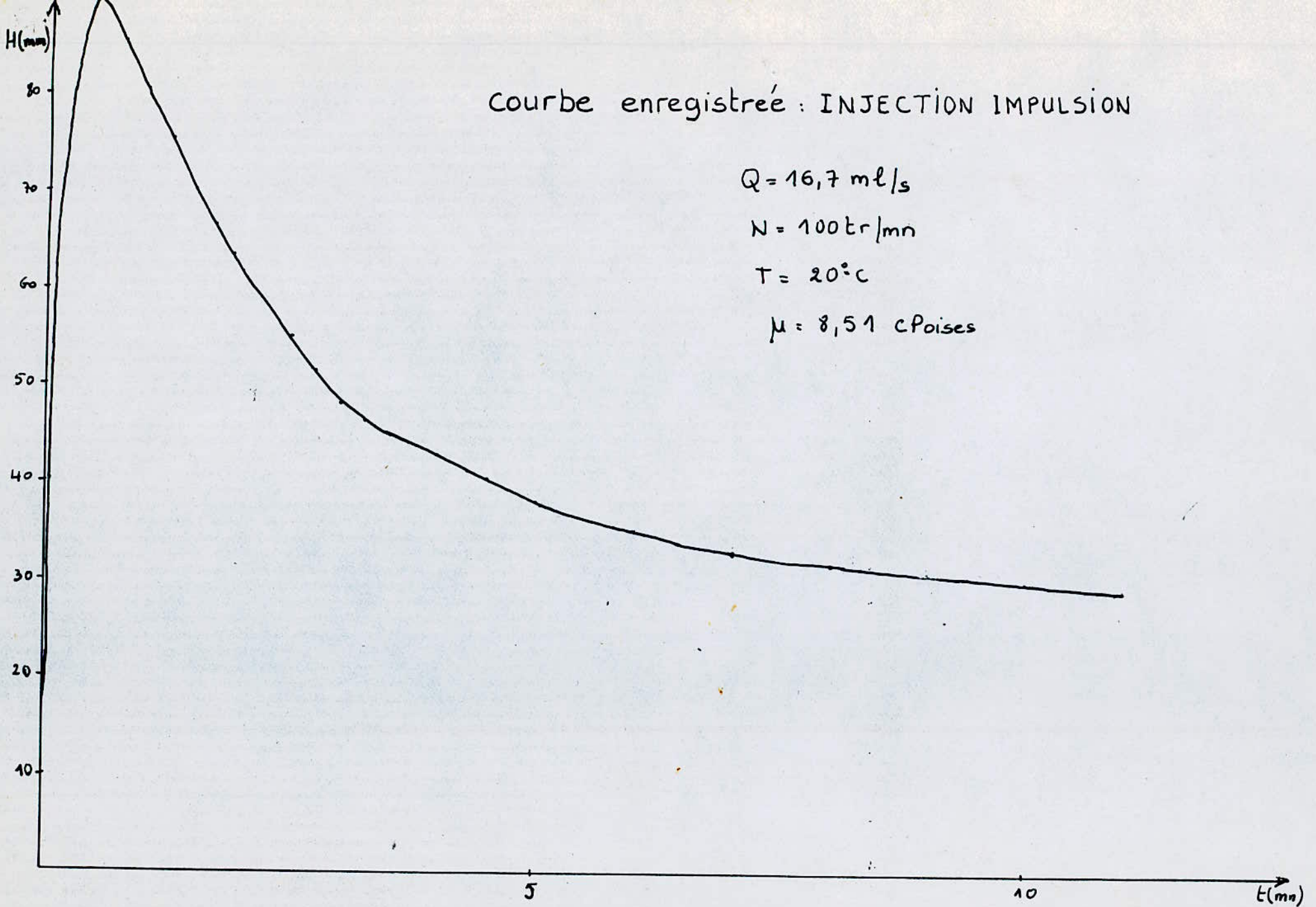
Courbe enregistrée : INJECTION IMPULSION

$$Q = 16,7 \text{ ml/s}$$

$$N = 100 \text{ tr/mn}$$

$$T = 20^\circ\text{C}$$

$$\mu = 8,51 \text{ cPoises}$$



## ANNEXE 2

### 1. EVALUATION DES ERREURS EXPERIMENTALES

#### 1.1. Temps de passage

$$T_A = V/Q$$

$$\frac{\Delta T_A}{T_A} = \frac{\Delta V}{V} + \frac{\Delta Q}{Q}$$

où  $\Delta Q = 30 \text{ ml/mn}$

$\Delta V = 3 \text{ ml}$  et  $V = 2650 \text{ ml}$

$\Delta V/V$  est négligeable devant  $\Delta Q/Q$  alors on

supposera que  $\Delta T_A/T_A = \Delta Q/Q$

d'où  $\Delta T_A = T_A(\Delta Q/Q)$  (16)

Nous mentionnons sur le tableau 12 les erreurs absolues à chaque temps de passage.

$T_A$ (s)	73	119	147	159	295	318
$\Delta T_A$ (s)	1	2,7	4,1	4,8	16,4	19,1
$\Delta T_A/T_A$ (%)	1,4	2,3	2,8	3	5,6	6

Tableau 12

Nous voyons bien à l'aide de ce tableau que les erreurs absolues sont assez élevées ce qui nous a permis d'écrire les temps de passage sans utiliser les nombres

décimaux.

### 1.2. Taux de volume mort

$$X = V_m/V = 1 - \bar{t}/T_A$$

$$\Delta X/X = \Delta \bar{t}/\bar{t} + \Delta T_A/T_A$$

$$\Delta X = X(\Delta \bar{t}/\bar{t} + \Delta T_A/T_A) \quad (17)$$

Bien que le temps de séjour moyen ait été calculé à l'aide d'une expression approchée, on considère que la valeur de  $\bar{t}$  est négligeable devant celle de  $T_A$ .

L'expression (17) s'écrit alors:

$$\Delta X = X(\Delta T_A/T_A)$$

Nous mentionnons sur le tableau 13 les différentes valeurs des erreurs absolues obtenues pour les divers temps de passage et vitesses de rotation utilisées aux faibles viscosités.

Sur le tableau 14, nous mentionnons les différentes valeurs des erreurs absolues pour les mêmes paramètres mais à des viscosités plus élevées.



Erreur absolue du taux de volume mort ou de c-c						
$\mu$ (cPoises)	T (°C)	$T_A$ (s) \ N (lt/mn)	100	300	500	800
1,03	20	73	0,6	0,8	0,8	0,9
		147	0,6	0,6	0,3	0,3
		295	0,4	0,7	0,9	0,5
0,85	30	73	0,3	0,4	0,6	0,7
		147	0,1	0,1	0,4	0,2
		295	1,2	0,9	2,1	2,4
0,70	40	73	0,4	0,1	0,3	0,7
		147	0,3	0,1	0,5	0,2
		295	3,0	3,0	2,8	2,9
0,59	50	73	0,0	0,2	0,3	0,1
		147	0,1	0,1	0,2	0,2
		295	3,7	3,5	3,3	3,4

Tableau 13 : Détermination des erreurs absolues  
du taux de volume mort ou de  
court-circuit

Erreur absolue du taux de volume ou de court-circuit						
$\mu$ (c.Poises)	T ( $^{\circ}$ C)	$T_R$ (s) \ N (tr/mn)	100	300	500	800
8,51	20	119	0,4	0,6	0,2	0,6
		159	0,2	0,2	0,5	0,2
		318	1,6	1,4	1,0	1,2
6,92	30	119	0,7	0,6	0,6	0,5
		159	0,9	0,7	0,2	0,6
		318	1,4	1,7	1,6	0,8
4,94	40	119	0,7	0,3	0,9	0,5
		159	0,2	0,4	1,0	1,2
		318	1,9	1,8	1,6	2,1
3,49	50	119	1,0	0,7	0,9	0,7
		159	0,1	0,9	0,6	0,3
		318	1,7	1,9	0,9	1,4

Tableau 14 : Détermination des erreurs absolues du taux de volume mort ou de court-circuit.

