

Déterminations de $K_L a$

1 Relations fondamentales

1.1 Dioxygène dissous (à saturation) et Loi de Henry et $[O_2]_{\text{dissous}}$ donnée en %

La loi de Henry donne une expression de la concentration en dioxygène que l'on pourra dissoudre dans une phase aqueuse (C_L^* , en mol/L) en fonction de la pression partielle en O_2 dans le gaz injecté (P_{O_2} , en Pa) et du coefficient de Henry pour le milieu de culture à la température de travail ($K_{H,cp}$ en $\text{mol.L}^{-1}.\text{Pa}^{-1}$).

$$C_L^* = K_{H,cp} P_{O_2} = K_{H,cp} * (\text{fraction molaire de } O_2 * \text{Pression totale})$$

Il faut bien comprendre ce que représente C_L^* . C_L^* est la concentration en O_2 dissous obtenue dans le liquide quand il est en équilibre avec la pression partielle d' O_2 dans la phase gazeuse (c'est à dire concentration en O_2 dissous (mol/L) dans le milieu liquide si on le met à saturation avec la phase gazeuse).

Par convention, en génie fermentaire, on dit que la concentration en dioxygène dissous est à 100% quand le milieu de culture est à saturation de dioxygène avec l'air ambiant ou l'air injecté (c'est à dire avec une pression en dioxygène de $0,21 * P_{\text{air}}$ puisque la teneur en dioxygène de l'air est d'environ 21%). Ainsi la teneur en dioxygène d'un milieu aéré à l'air ambiant sous une pression totale donnée pourra varier du 100 % de référence à 0%. Évidemment, si l'aération est enrichie en dioxygène, il sera possible de dépasser 100%, au moins en début de procédé.

1.2 Limitation de μ par O_2 , concentration critique en O_2

De nombreuses cultures de micro-organismes réalisées à des fins de productions biotechnologiques concernent des germes de type aérobie qui consomment donc du dioxygène (O_2 est l'accepteur terminal des électrons du métabolisme énergétique respiratoire).

O_2 est peu soluble dans les milieux aqueux et la concentration en O_2 dissous peut être un élément critique limitant dans un procédé. Pour illustrer simplement, on peut, par exemple, rappeler et appliquer le modèle de limitation de la vitesse spécifique de croissance (μ) de Monod à O_2 :

$$\mu = \mu_{\text{max}} \frac{[O_2]}{K_{50} + [O_2]} \quad (\text{où } \mu_{\text{max}} \text{ désigne la vitesse spécifique maximale de croissance})$$

Un ordre de grandeur pour K_{50} : 10^{-5} mol/L. Donc en admettant qu'à partir de 10 fois K_{50} le dioxygène ne sera plus limitant, on obtient des valeurs critiques de concentration en dioxygène dissous vers 10^{-4} mol/L soit de l'ordre de 5% à 50% de saturation - selon les espèces - sous aération par l'air de l'atmosphère terrestre et vers 30 °C.

1.3 Absence de « réserve de dioxygène » dans les milieux de bioréaction

Compte-tenu de la faible solubilité du dioxygène et compte-tenu des niveaux de consommation lors des métabolismes respiratoires, il n'y a pas de « réserve de dioxygène » par le dioxygène dissous dans un milieu : sans renouvellement, il est potentiellement consommé en quelques secondes à quelques minutes.

1.4 Cinétiques (lentes) de dissolution du dioxygène

Il faut retenir que c'est l'étape de passage du dioxygène à travers le film liquide de l'interface bulle de gaz/liquide qui est limitante des capacités de transfert du dioxygène et que les cinétiques de dissolution du dioxygène dans un milieu aqueux sont lentes et dépendent (entre autres) de la surface de l'interface gaz/liquide et du gradient de concentration (voir aussi schéma à construire avec le professeur).

$$OTR = K_L a (C_L^* - C_L)$$

- OTR (oxygen transfer rate) = vitesse de transfert de l'O₂ dans le réacteur est exprimée en quantité d'O₂ par unité de volume et par unité de temps (mol.m⁻³.s⁻¹).
- C_L : concentration en O₂ dissous dans le milieu liquide de culture supposé parfaitement homogénéisé (mol/L).
- C_L^{*} : concentration en O₂ dissous obtenue si elle était en équilibre avec la pression partielle d'O₂ dans la phase gazeuse (c'est à dire concentration en O₂ dissous (mol/L) dans le milieu de culture si on le mettait à saturation avec la phase gazeuse -telle qu'elle est- supposée homogène dans les bulles)
- K_La : produit du coefficient K_L (coefficient d'échange global pour O₂ en m.s⁻¹) et du coefficient "a" (aire d'échange spécifique ramenée à l'unité de volume de phase liquide de milieu de culture, en m² par m³ de milieu de culture). K_La est appelé coefficient de transfert volumétrique ramené à l'unité de volume de milieu (en temps⁻¹, s⁻¹).

Pour améliorer les cinétiques de transfert de dioxygène dans un bioréacteur, on peut jouer sur :

- « a » injecter sous forme d'un bullage intense de fines bulles dans un milieu homogénéisé :
- C_L^{*} : augmenter la pression en dioxygène, enrichir éventuellement en dioxygène l'air injecté.

Voir http://www.perrin33.com/genie_ferment/regulation-o2-cascade_1.php

1.4 Bilan en dioxygène et K_La. Cas d'un modèle idéal simple

On suppose un bioréacteur alimenté par un apport de bulles d'un gaz contenant du dioxygène. On suppose que les 2 phases "bulles de gaz" et milieu liquide de culture sont parfaitement homogènes à l'intérieur du bioréacteur. On peut alors écrire les relations fondamentales :

$$\text{vitesse de transfert de l'O}_2 \text{ dans le réacteur (OTR (oxygen transfer rate))} = K_L a (C_L^* - C_L) \quad (1)$$

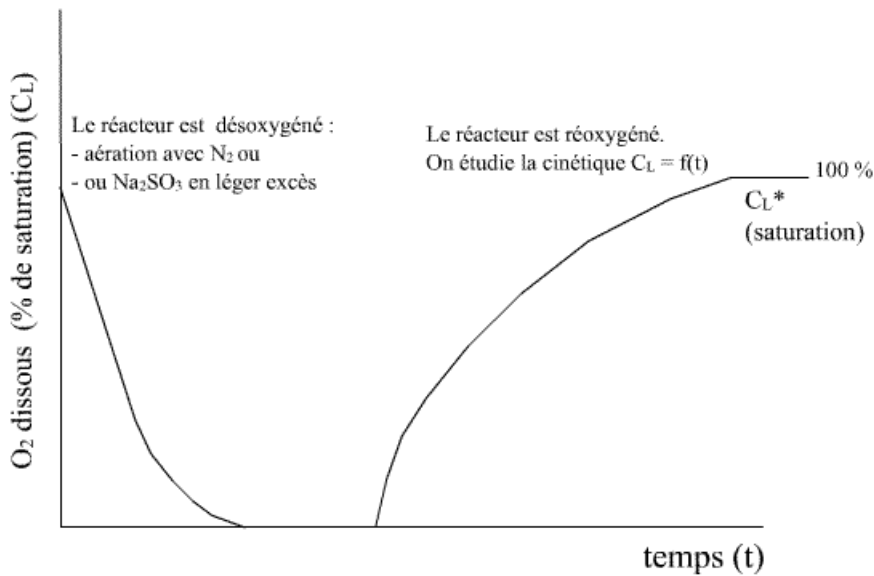
$$\text{vitesse de consommation de l'O}_2 \text{ par la biomasse (OUR (oxygen uptake rate))} = r_{O_2} = Q_{O_2} [X] \quad (2)$$

(1) et (2) conduisent à la relation fondamentale :

$$dC_L/dt = OTR - OUR = K_L a (C_L^* - C_L) - r_{O_2}$$

2. Méthode de détermination de K_La par désoxygénation réoxygénation, en absences de microorganismes

Avec cette méthode, les K_La sont mesurables dans différentes conditions en absence de micro-organismes (débit d'aération, rotation de l'agitation, température, nature du milieu ...). On pourra ainsi réaliser d'intéressantes comparaisons entre différentes configurations.



En absence de micro-organismes, la cinétique de la phase de réoxygénation obéit à l'équation différentielle :

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a (C_L^* - C_L) \text{ qui se résout en } C_L = C_L^* (1 - e^{-K_L a t}) \text{ en tenant compte des conditions}$$

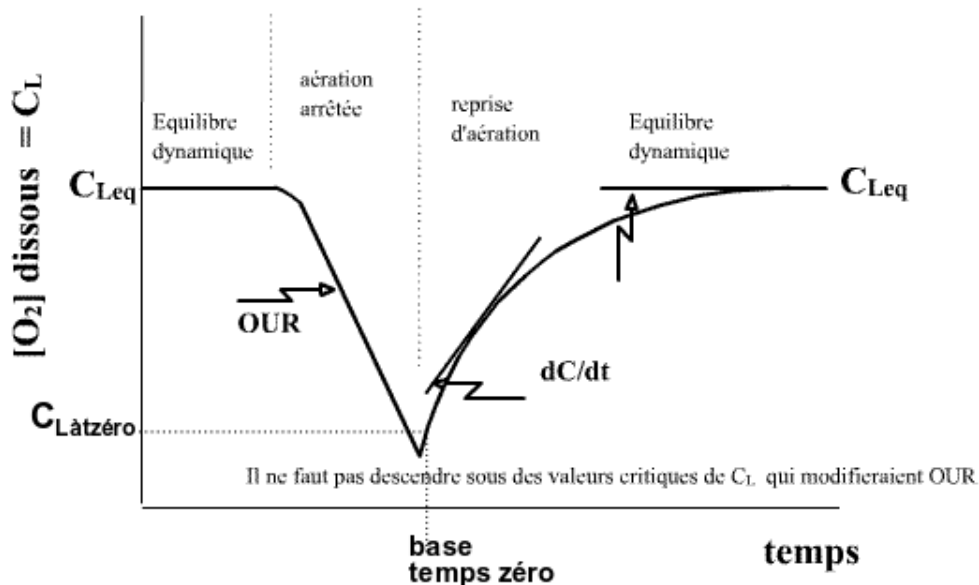
initiales. Equation qui devient :

$$C_L = C_L^* - C_L^* e^{-K_L a t} \text{ c'est à dire } C_L - C_L^* = -C_L^* e^{-K_L a t} \text{ c'est à dire } C_L^* - C_L = C_L^* e^{-K_L a t} \text{ c'est à dire } \frac{C_L^* - C_L}{C_L^*} = e^{-K_L a t}$$

qui devient : $\ln\left(\frac{C_L^* - C_L}{C_L^*}\right) = -K_L a t$ le coefficient directeur de la droite obtenue est $-K_L a$

$$\ln\left(\frac{C_L^* - C_L}{C_L^*}\right) = f(t) \text{ donne une droite de pente } -K_L a.$$

3. Méthode de détermination dynamique en présence de microorganismes



Avec cette méthode, les $K_L a$ sont mesurables en présence de microorganismes. Donc dans les conditions réelles d'un process.

Si on considère que la manipulation est conduite pendant un temps assez court pour négliger toute variation en [biomasse], on peut écrire :

→ Durant la première phase d'équilibre dynamique :

OTR = OUR (= phase d'équilibre dynamique réacteur/culture)

soit $dC_L/dt = OTR - OUR = K_L a(C_L^* - C_{Leq}) - r_{O_2} = 0$

c'est à dire $r_{O_2} = K_L a(C_L^* - C_{Leq})$

→ Pendant la phase d'arrêt de l'aération :

OTR = 0

donc $dC_L/dt = OTR - OUR = -r_{O_2}$ (d'où l'allure d'une droite tant que la concentration ne devient pas trop basse). On obtient r_{O_2} .

→ Pendant la phase de reprise d'aération :

$dC_L/dt = OTR - OUR = K_L a(C_L^* - C_L) - r_{O_2}$ avec r_{O_2} constant (équation (a)).

Et en fin d'expérience on atteint à nouveau l'équilibre dynamique pour lequel on aura

$dC_L/dt = OTR - OUR = K_L a(C_L^* - C_{Leq}) - r_{O_2} = 0$

c'est à dire $r_{O_2} = K_L a(C_L^* - C_{Leq})$ (équation (b)).

Si on injecte (b) dans (a), on obtient : $dC_L/dt = K_L a(C_L^* - C_L) - K_L a(C_L^* - C_{Leq}) = K_L a(C_{Leq} - C_L)$

Ainsi, en présence de micro-organismes, la cinétique de la phase de réoxygénation obéit à l'équation différentielle :

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a(C_{Leq} - C_L) \text{ qui se résout en } C_L = (C_{L\text{à}t\text{zéro}} - C_{Leq})e^{-K_L a t} + C_{Leq}$$

en tenant compte des conditions initiales et en appelant $C_{L\text{à}t\text{zéro}}$ la concentration en dioxygène dissous lors de la reprise d'aération à l'instant où on déclenche le temps zéro des mesures.

On peut retravailler cette équation en :

$$C_L - C_{Leq} = (C_{L\text{à}t\text{zéro}} - C_{Leq})e^{-K_L a t} \text{ c'est à dire } \frac{(C_L - C_{Leq})}{(C_{L\text{à}t\text{zéro}} - C_{Leq})} = e^{-K_L a t} \text{ c'est à dire } \frac{(C_{Leq} - C_L)}{(C_{Leq} - C_{L\text{à}t\text{zéro}})} = e^{-K_L a t}$$

qui devient : $\ln\left(\frac{C_{Leq} - C_L}{C_{Leq} - C_{L\text{à}t\text{zéro}}}\right) = -K_L a t$

$\ln\left(\frac{C_{Leq} - C_L}{C_{Leq} - C_{L\text{à}t\text{zéro}}}\right) = f(t)$ donne une droite de pente $-K_L a$.

Bibliographie

- Garcia-Ochoa, Gomez, Bioreactor scale-up and oxygen transfer rate in microbial processes : an overview, *Biotechnology Advances*, 2009 27:153-176
- Ben Hassan, Ghali, Mansour, A microcomputer-based oxygen measurement and control system for fermentation processes, *Applied Biochem. And Biotech.*, 1991:30:247-263
- Norme NF X 42-103 de décembre 1989. Détermination du coefficient de transfert volumétrique de l'oxygène par la méthode de Cooper