

Opérations de génie fermentaire. Exercices pratiques à propos des bioréacteurs et de leur conduite

Exercice 1

A disposition :

- une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve est chargée de 1,2 L de milieu M stérilisable à la vapeur.
- Petit matériel nécessaire : coton cardé, papier aluminium, tuyauterie autoclavable, pinces, filtres à air adaptés autoclavables ...
- Documentation technique du matériel.

A réaliser :

- Préparer le réacteur pour autoclavage. Suivi et régulation de pH, flacon de NaOH pour régulation de pH conséquence de la tendance à l'acidification en cours de bioréaction. Suivi et régulation de dioxygène. Batch simple. La durée de processus sera de 48 heures avec un micro-organisme de classe 1.
 - Traiter la question de l'étalonnage des capteurs de pH et de dioxygène.
-

Exercice 2

A disposition :

- Une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve est chargée de 1,2 L de milieu M stérilisable à la vapeur.
- Un flacon de solution S (autoclavable) pour ligne d'alimentation (fed batch).
- Petit matériel nécessaire : coton cardé, papier aluminium, tuyauterie autoclavable, pinces, filtres à air adaptés autoclavables ...
- Documentation technique du matériel.

A réaliser :

- Préparer la cuve de bioréaction pour autoclavage. Suivi de pH, pas de régulation du pH en cours de processus. Suivi de dioxygène, pas de cascade de régulation en cours de processus. Mise en place d'une ligne d'alimentation (solution S autoclavable) pour fed batch. La durée de processus sera de 48 heures avec un micro-organisme de classe 1.
 - traiter la question de l'étalonnage des capteurs de pH et de dioxygène.
-

Exercice 3

A disposition :

- Une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve, chargée de 1,2 L de milieu M stérilisable à la vapeur a été préparée et autoclavée. Pour bioréaction en batch. Les 2 capteurs dioxygène et pH sont en place. Avant mise en place, le capteur pH a été étalonné.
- Flacon de préculture pour inoculer. Petit matériel nécessaire.
- Documentation technique du bioréacteur.

A réaliser :

- Mettre en place et connecter la cuve de bioréaction.
 - Démarrer l'installation en attente d'inoculation : température régulée à 28°C, lecture de pH initial, régulation du pH à sa valeur initiale, aération fixe à 1 vvm (1,3 bar), régulation de dioxygène à 20 % minimum par l'actionneur turbine entre 80 et 350 rpm.
 - Inoculer sous un volume de 40 mL.
-

Exercice 4

A disposition :

- Une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve, chargée de 1,2 L de milieu M stérilisable à la vapeur a été préparée et autoclavée. Pour bioréaction en batch. Les 2 capteurs dioxygène et pH sont en place. Avant installation à la cuve du bioréacteur, le capteur pH a été étalonné et le zéro de la sonde dioxygène a été validé.
- Flacon de solution B stérile. Petit matériel nécessaire.
- Documentation technique du bioréacteur.

A réaliser :

- Mettre en place et connecter la cuve de bioréaction.
 - Démarrer l'installation en attente d'inoculation : température régulée à 28°C, turbine à 300 rpm (vitesse fixe), aération fixe à 1 vvm (1,2 bar), suivi du dioxygène (non régulé), suivi du pH (non régulé).
 - Le milieu de culture complet nécessite l'apport de 60 mL de solution stérile B par litre (solution qui doit être stérilisée séparément). Compléter le milieu de culture..
-

Exercice 5

A disposition :

- Une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve, chargée de 1,2 L de milieu LB stérilisable à la vapeur a été préparée et autoclavée. La cuve de bioréaction a été mise en place et l'installation a été démarrée en attente d'inoculation : température régulée à 28°C, turbine à 300 rpm, aération à 1 vvm (1,2 bar), suivi du dioxygène, suivi du pH.
- Préculture pour inoculation, en fiole ErlenMeyer et flacon inoculateur (à aiguille pour perçage de bouchon plasma). Germe utilisé de classe 1.
- Documentation technique du bioréacteur.
- Petit matériel et réactifs nécessaires.

A réaliser :

- Relever les valeurs de vitesse de rotation de la turbine, pression d'aération, débit d'aération, pH et température.
 - Vérifier le réglage 100% de saturation en dioxygène.
 - Présenter 2 techniques d'inoculation sous un volume de 40 mL.
-

Exercice 6

A disposition :

- Une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve, chargée de 1L de milieu LB stérilisable à la vapeur a été préparée et autoclavée. La cuve de bioréaction a été mise en place et l'installation a été démarrée et inoculée (germe de classe 1). Température régulée à 28°C, turbine à 300 rpm, aération à 1 vvm (1,2 bar), suivi du dioxygène, suivi du pH.
- Petit matériel et réactifs nécessaires.
- Documentation technique du bioréacteur.

A réaliser :

- Réaliser un prélèvement (5 mL suffisent) en conditions d'asepsie.
 - Relever les valeurs de vitesse de rotation de la turbine, pression d'aération, débit d'aération, dioxygène dissous, pH et température.
 - Alimenter le bioréacteur de 10 mL de la solution A fournie (la solution sera stérilisée par filtration stérilisante lors de son ajout. Le bioréacteur est équipé de façon adéquate).
-

Exercice 7

A disposition :

- Une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve, chargée de 1L de milieu LB stérilisable à la vapeur a été préparée et autoclavée. La cuve de bioréaction a été mise en place et l'installation a été démarrée et inoculée (germe de classe 1). Température régulée à 28°C, régulation du pH à 7,0, aération fixe à 1 vvm (1,3 bar), régulation de dioxygène à 20 % minimum par l'actionneur turbine entre 80 et 350 rpm.
- Petit matériel et réactifs nécessaires.
- Documentation technique du bioréacteur.

A réaliser :

- Réaliser un prélèvement (5 mL suffisent) en conditions d'asepsie.
 - Couper l'aération. Donner l'allure attendue de la cinétique $[O_2]_{\text{dissous}} = f(\text{temps})$. Reprendre l'aération. Donner l'allure attendue de la cinétique $[O_2]_{\text{dissous}} = f(\text{temps})$.
 - Commenter la régulation du dioxygène dissous.
-

Exercice 8

A disposition :

- Une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve, chargée de 1L de milieu LB stérilisable à la vapeur a été préparée et autoclavée. La cuve de bioréaction a été mise en place et l'installation a été démarrée et inoculée (germe de classe 1). Température régulée à 28°C, régulation de pH, régulation de dioxygène à 8% par actionneur unique sur la vitesse de turbine (min. 100 rpm / max. 400 rpm), aération fixe à 0,8 vvm.
- Petit matériel et réactifs nécessaires.
- Documentation technique du bioréacteur.

A réaliser :

- Réaliser un prélèvement (5 mL suffisent) en conditions d'asepsie.
 - Relever les valeurs de vitesse de rotation de la turbine, pression d'aération, débit d'aération, pH et température.
 - Le dioxygène dissous est tombé à 0%. On souhaite modifier les paramètres de régulation du dioxygène pour atteindre les 8% fixés. Réaliser les nouveaux réglages.
-

Exercice 9

A disposition :

- Une des unités « bioréacteur de laboratoire de 2L » du lycée Saint-Louis. La cuve, chargée de 1,2 L de milieu LB stérilisable à la vapeur a été préparée et autoclavée. La cuve de bioréaction a été mise en place et l'installation a été démarrée et inoculée (germe de classe 1) ...
- Petit matériel nécessaire.
- Documentation technique du bioréacteur.

A réaliser :

- Réaliser un prélèvement (5 mL suffisent) en conditions d'asepsie.
 - Relever les valeurs de vitesse de rotation de la turbine, pression d'aération, débit d'aération, pH, dioxygène et température.
 - Collecter 500 mL de moût de fermentation en conditions propres dans le réservoir proposé (pas d'asepsie nécessaire).
 - Arrêter la fermentation. Préparer le bioréacteur pour la phase de nettoyage.
-

Exercice 10

A disposition :

- 500 mL de moût de fermentation ont été collectés en ligne sur l'unité de micro-filtration tangentielle connectée. Micro-organisme présent de classe 1.
- Unité de micro-filtration tangentielle du lycée saint-Louis (filtre $0,5 \mu\text{m}$; surface 50 cm^2)
- Petit matériel nécessaire
- Documentation technique du bioréacteur et de l'unité de micro-filtration tangentielle

A réaliser :

- Concentrer à 50 mL de volume final.