

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

***UNIVERSITE FERHAT ABBAS- SETIF
UFAS (ALGERIE)***

Mémoire

Présenté à

La faculté des sciences de l'ingénieur

Département de génie des procédés

Pour l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Option: Génie chimique

Par

M^{elle}: Khadra-Hanane TOUMI

Thème

***Modélisation et identification paramétrique des
processus de fermentation lactique***

Soutenu le: 08/07/2009

Devant la commission d'examen :

- Mr D.BENACHOUR	Pr. UFAS	Président
- Mr B.DJELLOULI	Pr. UFAS	Examineur
- Mr M.BOUTAHALA	Pr. UFAS	Examineur
- Mr A.BOUGUETTOUCHA	M.C. UFAS	Membre invité
- Mr S.NACEF	Pr. UFAS	Rapporteur

À la mémoire de mon grand père
À ma famille
À mes amis

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, louanges à Dieu pour nous avoir permis d'avoir les capacités physiques et mentales, me permettant de réaliser ce modeste mémoire, et nous l'implorons afin que notre travail soit couronné de succès.

Je tiens à remercier particulièrement :

*- Mon encadreur monsieur le professeur **S.NACEF** qui a suivi et orienté avec intérêt et abnégation ce travail.*

*- Monsieur : **Y. BENGUERBA** pour sa précieuse collaboration.*

*-Je remercie également l'honorable monsieur le professeur **D.BENACHOUR** pour avoir accepté d'être le président de mon jury de thèse.*

*-Tous mes remerciements à messieurs les professeurs **B.DJELLOULI** et **M.BOUTAHALA** en tant que membres du jury, d'avoir bien voulu nous faire l'honneur de juger ce travail.*

*-Toute ma gratitude à monsieur Dr **A. BOUGUETTOUCHA** qui a accepté de prendre part au jury.*

-Ma profonde gratitude à mes parents, mon frère et mes soeurs qui ont toujours cru en moi en me poussant toujours à accomplir ce que je souhaitais, ils ont été des piliers indispensables par leur présence et de leur affection.

-Enfin à tous ceux et celles qui m'ont soutenue et encouragée qu'ils y trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude.

TABLE DES MATIERES

Liste des figures.....	iv
Liste des tableaux.....	vi
Nomenclature.....	vii
Introduction générale.....	1
Chapitre I : Généralités sur la fermentation lactique	
Introduction.....	3
I.1 L'acide lactique.....	3
I.2 Les bactéries lactiques.....	4
I.3 Les types de la fermentation lactique.....	5
I.3.1 Fermentation homolactique.....	5
I.3.2 Fermentation hétérolactique.....	6
I.3.3 Fermentation amylolytique.....	8
I.4 Applications de la fermentation lactique.....	8
Conclusion.....	9
CHAPITRE II : Les bioréacteurs	
Introduction.....	10
II.1 Les différents types de bioréacteurs.....	10
II.1.1 Cuve mécaniquement agitée.....	10
II.1.2 La cuve mécaniquement agitée aérée.....	12
II.1.3 Bioréacteurs avec agitation pneumatique	14
II.1.4 Réacteur à couche fixe ou à couche fluidisée.....	16
II.1.5 Les bioréacteurs membranaires.....	17
II.2 Les modes de fonctionnement.....	18
II.2.1 Le mode discontinu (ou batch).....	19
II.2.2 Le mode semi-continu (ou fedbatch).....	19
II.2.3 Le mode continu (ou chemostat).....	20
II.3 Influence du transfert de matière.....	20
II.3.1 Aération et agitation.....	21
II.4 L'installation de fermentation.....	25
II.4.1 La stérilisation.....	26
II.4.2 L'automatique des bioprocédés.....	27
Conclusion.....	28

CHAPITRE III : Modélisation

Introduction	29
III.1 Les différents types de modèles mathématiques de la fermentation lactique.....	30
III.1.1 Les modèles structurés.....	30
III.1.2 Les modèles non structurés.....	30
III.2 Modélisation de la vitesse de croissance.....	30
III.2.1 la courbe de croissance microbienne.....	30
III.2.2 Étude de quelques modèles de croissance microbienne.....	34
III.3 Modélisation de la production de l'acide lactique.....	39
III.4 Modélisation de la consommation du substrat.....	42
III.5 Analyse des modèles utilisés dans notre travail.....	46
III.5.1 Cas du pH contrôlé.....	46
III.5.1.1 Cinétique de croissance.....	46
III.5.1.2 Cinétiques de production et de consommation.....	50
III.5.2 Effet de pH.....	51
Conclusion	53

CHAPITRE IV: Identification des paramètres des modèles

Introduction	54
IV.1 Principe de la méthode.....	54
IV.2 Cas du pH contrôlé.....	56
IV.2.1 Méthodes numériques de résolution.....	57
IV.2.1.1 Algorithme d'optimisation utilisant la fonction (lsqcurvefit).....	57
IV.2.1.2 Algorithme de Gauss-Newton.....	58
IV.3 Effet de pH	59
IV.3.1 Algorithme utilisé de Gauss-Newton utilisé.....	60
Conclusion	64

CHAPITRE V: Résultats et discussions

Introduction	65
V.1 Cas du pH contrôlé.....	65
V.1.1 Estimation des paramètres.....	65
V.1.2 Analyse de la cinétique de la première partie (phases : adaptation, exponentielle, décélération).....	65
V.1.2.1 Transformation des variables.....	66

V.1.2.2 L'écart standard.....	69
V.1.2.3 Détermination du taux de croissance spécifique.....	70
V.1.2.4 Représentation globale.....	71
V.1.3 Analyse de la cinétique de la deuxième partie (phase de déclin).....	72
V.1.4 La combinaison des deux parties.....	72
V.1.5 Cinétiques de production et de consommation.....	74
V.2 Effet de pH.....	75
V.2.1 L'effet du pH dans les cultures discontinues.....	75
V.2.2 Modèle cinétique et estimation des paramètres.....	77
Conclusion.....	82
Conclusions générales et perspectives.....	84
Bibliographie.....	86
Annexe A.....	97
A.1 Méthode du gradient.....	98
A.2 Méthode de Gauss-Newton.....	99
A.3 Méthode de Marquardt.....	100

LISTE DES FIGURES

Figure I.1 : Les deux structures isomères d'acide lactique L(+), D(-).....	4
Figure I.2 : Photo des Lactobacilles dans un microscope électronique.....	5
Figure I.3 : La fermentation du glucose chez les bactéries lactiques : Voie homofermentaire et voie hétérofermentaire.....	7
Figure II.1 : Cuve mécaniquement agitée.....	12
Figure II.2: Cuve mécaniquement agitée aérée.....	13
Figure II.3: Les différents types des réacteurs avec agitation pneumatique (Air-lift) :(a) réacteur colonne à bulle, (b) réacteur Air-lift, (c) air lift avec un tube concentrique perméable «net draft tube».....	15
Figure II.4 : Fermenteur à boucle externe.....	15
Figure II.5: Schéma d'un réacteur à lit fluidisé.....	17
Figure II.6 : Les principaux types des bioréacteurs membranaires.....	18
Figure II.7 : Les différents modes de fonctionnement des réacteurs biologiques.....	19
Figure II.8 : Transfert d'oxygène en milieu de culture liquide.....	22
Figure II.9 : Répartition des pressions partielles et des concentrations en oxygène respectivement dans la phase gazeuse et dans la phase liquide, à proximité de l'interface bulle d'air-eau (théorie du double film).....	23
Figure II.10: Différents mobiles d'agitation.....	25
Figure II.11 : Représentation du système de commande d'un bioprocédé.....	28
Figure III.1 : Courbe de croissance microbienne.....	31
Figure III.2: Évaluation de la productivité (croissance cellulaire).....	34
Figure III.3: Cinétique de croissance de <i>Lactobacillus helveticus</i>	46
Figure IV.1 : Processus itératif d'identification.....	55
Figure V.1: La cinétique de croissance de <i>Lactobacillus helveticus</i> à pH contrôlé (pH=5.9). Domaines de validité de trois modèles (les trois premières phases de croissance). (o) résultats expérimentaux, (-) résultats calculés à partir des modèles (algorithme d'optimisation).....	67
Figure V.2: Transformations liée aux trois modèles. (Trois phases de croissance : latence, exponentielle, décélération). (o) résultats expérimentaux, (-) résultats calculés à partir des modèles (algorithme d'optimisation).....	68
Figure V.3 : Représentation globale de la transition entre les trois premières phases de croissance (partie I).....	69
Figure V.4 : L'écart entre les données expérimentales et ceux de la simulation utilisant le modèle 3 estimé à la troisième phase (décélération) (Equation (III.63)).....	70
Figure V.5 : Les valeurs du taux de croissance spécifique évalué à partir de deux données expérimentales successives (+) et celles calculées par le modèle logistique (Equation (III.61)) (—).....	71

Figure V.6 : Les valeurs du taux de croissance spécifique évalué à partir de deux données expérimentales successives (+) et celles calculées par le modèle logistique (Equation (III.61)) (—).....	72
Figure V.7 : Cinétique de croissance de <i>Lactobacillus helveticus</i> . (o) résultats expérimentaux (Amrane, 2002), (-) la phase de déclin ajustée par les paramètres optimaux estimés à l'aide d'un algorithme d'optimisation (modèle de la phase de déclin) (Equation (III.67)).....	73
Figure V.8 : Cinétique de croissance globale de <i>Lactobacillus helveticus</i> à l'aide de deux expressions (modèle décélération et le modèle de la phase de déclin) (-), (o) résultats expérimentaux (Amrane, 2002).....	73
Figure V.9 : Cinétique de la production d'acide lactique. (o) résultats expérimentaux (Amrane, 2005), (-) résultats calculés à partir d'algorithme d'optimisation (Equation (III.73)).....	74
Figure V.10 : Cinétique de la consommation du lactose. (o) résultats expérimentaux (Amrane, 2005), (-) résultats calculés à partir d'algorithme d'optimisation (Equation (III.74)).....	74
Figure V.11 : Effet du pH sur la fermentation discontinue du lactose sous des conditions anaérobies. Les données expérimentales.....	75
Figure V.12: Cinétique de la consommation du lactose. (o) résultats expérimentaux (Fu et Mathews, 1999), (-) résultats calculés à partir d'algorithme d'optimisation (Equation (III.77)).....	78
Figure V.13 : Cinétique de la production d'acide lactique. (o) résultats expérimentaux (Fu et Mathews, 1999), (-) résultats calculés à partir d'algorithme d'optimisation (Equation (III.79)).....	78
Figure V.14 : Variation du taux spécifique de croissance en fonction du pH.....	81
Figure V.15 : Variation de la constante de saturation du substrat (K_S) en fonction du pH...	81
Figure V.16 : Variation du rendement ($Y_{P/S}$) en fonction du pH	82

LISTE DES TABLEAUX

Tableau V.1 : <i>les paramètres optimaux estimés pour la fermentation d'acide lactique avec lactobacillus helveticus</i>	65
Tableau V.2: <i>les paramètres optimaux estimés pour la fermentation d'acide lactique avec lactobacillus plantarum</i>	80

NOMENCLATURE

Symbole	Définition	Unité
A	la matrice des dérivées partielles	(adm)
A'	la matrice transposée	(adm)
a	aire interfaciale volumique d'échange de phase continue	(m ² /m ³)
C_{LO_2}	concentration en oxygène dans la phase liquide	(mole/m ³)
$C_{O_2}^*$	concentration de l'oxygène en équilibre dans la phase liquide	(mole/m ³)
C_{MO_2}	concentration en oxygène dans le micro-organisme	(mole/m ³)
c, d	constantes sans signification biologique dans le modèle de la croissance	(adm)
D	vecteur entre les concentrations mesurées et prédites	(adm)
F	constante additionnelle dans le terme de correction	(adm)
h	constante d'inhibition proportionnelle	(adm)
HL	concentration d'acide lactique non dissocié	(g/l)
K_d	constante de la mortalité des cellules	(h ⁻¹)
K_i	la constante d'inhibition du substrat à laquelle le facteur d'inhibition par le substrat est : $e^{-(S/K_i)^{n_1}} = 0.368$	(g/l)
K_{iP}	la constante d'inhibition d'acide lactique à laquelle le facteur d'inhibition par le produit est $e^{-(P/K_{iP})^{n_2}} = 0.368$	(g/l)
K_{iS}	la constante d'inhibition du substrat pour la consommation du substrat	(g/l)
K_{iX}	la constante d'inhibition du substrat pour la croissance de la biomasse	(g/l)
k_L	coefficient de diffusion de l'oxygène côté liquide	(m/s)
K_P	constante d'inhibition du produit	(g/l)
K_{PR}	constante de saturation des protéines utilisables	(g/l)
K_{PS}	La constante d'inhibition du produit pour la consommation du substrat	(g/l)
K_{PX}	la constante d'inhibition du produit pour la croissance de la biomasse	(g/l)
K_S	constante de saturation du substrat	(g/l)
K_{SS}	la constante de limitation du substrat pour la consommation du substrat	(g/l)
K_{SX}	la constante de limitation du substrat pour la croissance de la biomasse	(g/l)
$K_{\mu L}$	constante d'inhibition d'acide lactique dissocié	(g/l)
$K_{\mu LH}$	constante d'inhibition d'acide lactique non dissocié	(g/l)
L^-	concentration d'acide lactique dissocié	(g/l)
m	facteur de correction	(adm)

m_S	coefficient de maintenance	(adm)
n_1, n_2	constantes de forme pour la fonction exponentielle	(adm)
n	ordre d'inhibition	(adm)
Pr	concentration des protéines utilisables	(g/l)
P	concentration de l'acide lactique	(g/l)
Pka	constante de dissociation de l'acide lactique	(adm)
P^*	la concentration maximale d'inhibition par le produit	(g/l)
Q	la fonction objectif	(adm)
q_P	la productivité spécifique	(h ⁻¹)
q_S	consommation spécifique du substrat	(g/l)
S	concentration du substrat	(g/l)
t	temps	(h)
t_N	temps de nettoyage	(h)
t_R	temps de remplissage	(h)
t_S	temps de stérilisation	(h)
t_V	temps de vidange	(h)
t_2	temps correspond à la fin de la production d'acide lactique	(h)
X	concentration de la biomasse	(g/l)
$Y_{P/S}$	rendement de transformation du substrat en produit	(adm)
$Y_{X/S, G}$	rendement de conversion du substrat en biomasse pour la croissance	(adm)
$Y_{X/S, obs}$	rendement observé de conversion du substrat en biomasse	(adm)
$Y_{P/S, G}$	rendement de conversion du substrat en produit pour la croissance	(adm)
$Y_{P/S, M}$	rendement de conversion du substrat en produit pour la maintenance	(adm)
μ	vitesse spécifique de croissance ou un taux de croissance	(h ⁻¹)
α	coefficient de production lié à la croissance	(adm)
β	coefficient de production lié au maintien	(h ⁻¹)
Δa	la différence entre les valeurs estimées des paramètres a_{i+1} et a_i	(adm)

Indice :

d début de la phase de croissance de décélération
e début de la phase exponentielle
f abréviation de final
G indice désignant la croissance
M indice désignant la maintenance
max maximum
0 initial

Abréviations

MC milieu de culture infiniment mélangé
I L-M interface milieu liquide micro-organisme
I B-L interface bulle milieu liquide

INTRODUCTION GENERALE

La fermentation lactique a connu un essor considérable au cours de ces dernières décennies. Elle est utilisée dans différents domaines tels que l'industrie alimentaire, pharmaceutique, cosmétique, et récemment dans la préparation de matériaux polymériques biodégradables comme l'acide polylactique (Balannec et al., 2007).

La fermentation bactérienne produit environ 90% de l'acide lactique annuellement dans le monde, le reste étant produit synthétiquement par voie chimique. En effet, la synthèse chimique donne toujours un mélange racémique d'acide lactique, qui est un inconvénient. Par contre la production fermentative d'acide lactique offre deux avantages : l'utilisation des hydrates de carbone renouvelables et la production d'acide lactique optiquement pur L(+) ou D(-) selon le type de fermentation choisie. L'acide lactique L(+) est l'isomère préféré dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (Reddy et al., 2008).

Récemment, la conversion des matières premières renouvelables en différents produits chimiques est devenue un sujet important de recherche et de développement. Divers ressources renouvelables comme la cellulose, l'amidon, le blé, le petit lait et la mélasse ont été employés comme substrats dans la production d'acide lactique. Ces ressources renouvelables ne contribuent que peu dans le dégagement du CO₂ dans l'atmosphère (Nandasana et Kumar, 2008).

Cette fermentation est réalisée dans des réacteurs biologiques ou biochimiques appelés aussi fermenteurs. Généralement, les réacteurs biochimiques sont des systèmes très complexes du point de vue réactions biologiques.

La modélisation de tels types de système physique aboutit à des modèles mathématiques complexes très difficiles à résoudre, ce qui nous amène à émettre des hypothèses permettant la simplification de tels systèmes. Le processus de fermentation lactique est essentiellement décrit par des équations différentielles non linéaires de premier ordre, (qui relient les différentes variables du système (concentration en micro-organisme, produit et substrat) moyennant certains nombres de paramètres qu'il convient d'identifier. Divers modèles cinétiques structurés et non structurés ont été rapportés dans la littérature scientifique pour représenter la fermentation lactique. Les modèles non structurés sont beaucoup plus faciles à employer, et décrivent correctement le processus de la fermentation lactique.

Le but de ce travail est donc d'arriver à résoudre ces équations et ainsi d'identifier les paramètres cinétiques des modèles étudiés du processus de la fermentation lactique en discontinue, en exploitant des résultats expérimentaux obtenus par Amrane (2002) et Fu et Mathews (1999). Dans ce sens, nous avons développé deux routines d'optimisation pour la résolution de ce problème. Ces deux routines nous ont permis de valider les modèles étudiés dans les deux cas suivants :

- le premier cas (pH contrôlé) concerne les modèles de la cinétique de croissance qui sont basés uniquement sur la concentration de la biomasse (Diaz et al., 1999). S'agissant de la production, le modèle Luedeking et Piret a été modifié afin d'expliquer la cessation de la production de l'acide lactique dès qu'il y ait épuisement du substrat carboné Amrane (2005).
- le second cas est relatif à la détermination de l'effet du pH, en modifiant le modèle de Monod, sur la croissance de la biomasse et la consommation du substrat, ainsi que la production (Fu et Mathews, 1999).

Le mémoire est organisé en cinq chapitres principaux:

Le premier chapitre présente des généralités sur la fermentation lactique.

Le deuxième chapitre donne les critères de base afin de réaliser le processus de la fermentation et augmenter la production tels que : le choix d'un type de bioréacteur, le mode de fonctionnement, l'influence du phénomène de transfert de matière, ainsi que l'installation de la fermentation.

Le troisième chapitre donne une analyse bibliographique de plusieurs modèles de la fermentation lactique pour la croissance bactérienne et la consommation du substrat ainsi que la production de l'acide lactique. Une attention particulière a été accordée aux modèles utilisés dans ce travail.

Le quatrième chapitre traite le problème d'identification des paramètres cinétiques. Nous avons élaboré deux méthodes d'optimisation pour estimer les paramètres de nos modèles en utilisant les méthodes des moindres carrés (Lsqcurvefit) et de Gauss-Newton.

Le cinquième chapitre a été réservé à la présentation et aux discussions des résultats obtenus dans le cadre de ce travail

La fin de ce mémoire est consacrée aux conclusions et perspectives de ce travail.

Chapitre I : Généralités sur la fermentation lactique

Introduction

La fermentation microbienne est un procédé qui consiste à faire croître une population de micro-organismes (bactéries, levures, moisissures...) aux dépens de certains éléments nutritifs sous des conditions environnementales (température, pH, agitation, aération...) favorables. Elle correspond à la transformation de substances (substrats carbonés généralement) en produits résultant de l'activité métabolique des cellules (Grisales Palacio, 2007).

On entend par fermentation lactique la transformation de certains sucres tels que: sucre de lait, glucose, sucre de canne (lactose) en un acide liquide et soluble dans l'eau, qui est l'acide lactique.

La fermentation lactique concerne une part importante des produits alimentaires. On peut citer pour les produits animaux : les laits fermentés, les fromages et pour les produits végétaux : le vin, le pain au levain, la choucroute, les olives, etc. Cette fermentation met en jeu des bactéries lactiques qui sont de plus en plus souvent des bactéries lactiques sélectionnées, produites par des industries spécialisées (Spinnler, 1998).

Dans ce chapitre nous présenterons la fermentation lactique, en donnant un aperçu général sur l'acide lactique qui est un produit essentiel de la fermentation. Ensuite, nous citerons les propriétés des bactéries lactiques source de la transformation des sucres en acide lactique. Par ailleurs, nous présenterons les types de la fermentation lactique ainsi que les différents domaines d'applications de celle-ci.

I.1 L'acide lactique

L'acide lactique est l'un des acides organiques les plus importants, produit par des bactéries lactiques, découvert par un scientifique Suédois C.W. Scheel en 1780 dans le lait fermenté. Il est également un acide organique hydrosoluble, aliphatique et fortement hygroscopique et un produit chimique énigmatique polyvalent, ayant un large champ d'applications (Reddy et al., 2008). L'acide lactique existe en deux stéréo-isomères optiquement actifs, le L(+) et D(-) (**Figure I.1**). Puisque les niveaux élevés de l'acide lactique D(-) sont nocifs aux humains, l'acide lactique L(+) est l'isomère préféré dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (Zhang et al., 2008).

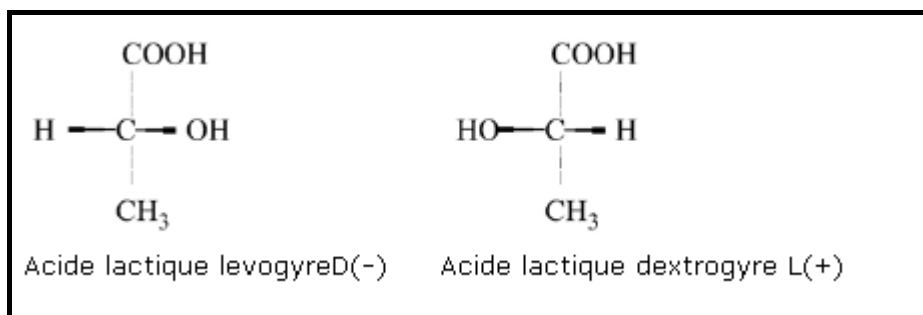


Figure I.1 : Les deux structures isomères d'acide lactique L(+), D(-) (Reddy et al., 2008).

L'acide lactique peut être fabriqué par une synthèse chimique ou par fermentation microbienne (Lin et Wang, 2007). La synthèse chimique est le résultat d'un acide lactique racémique D-L, tandis que la fermentation nous donne les formes stéréospécifiques L(+) et D(-) et un mélange D-L (Lin et al., 2007). L'avantage significatif que présente la production biologique par rapport à la synthèse chimique réside dans l'utilisation des matières premières à bon marché telles que : petit lait, mélasse, betterave, amidon, sucre de canne et d'autres matériaux riches en hydrates de carbone (Reddy et al., 2008).

I.2 Les bactéries lactiques

Les bactéries lactiques sont celles qui produisent l'acide lactique comme un produit métabolique principal (Djoule Darman, 2004). Ces micro-organismes sont hétérotrophes et ont généralement des conditions alimentaires complexes parce qu'elles manquent de beaucoup de possibilités biosynthétiques (Novel, 1993). Elles ont besoin de vitamines, d'acides aminés ainsi que d'autres composés pour leur multiplication (Berry et al., 1999).

Les bactéries de l'acide lactique sont utilisées dans l'industrie alimentaire pour plusieurs raisons. Leur croissance abaisse la teneur en hydrates de carbone des aliments qu'ils fermentent et le pH (acidification). Le pH peut diminuer jusqu'à des valeurs inférieures à 4, ce qui inhibe la croissance de la plupart des autres microorganismes.

Les bactéries lactiques se composent de 20 types, dont certaines bactéries principales en l'occurrence : *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* et *Weisella* où la bactérie *Lactobacillus* (**Figure I.2**) comporte près de 80 espèces identifiées. La taxonomie des bactéries lactiques a été basée sur la réaction de Gram et la production d'acide lactique de divers hydrates de carbone fermentescible (Axelsson, 2004).

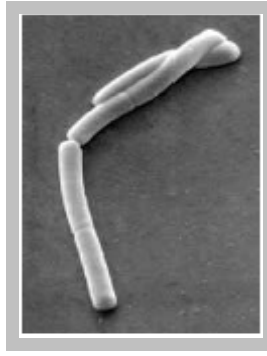


Figure I.2 : Photo des *Lactobacilles* dans un microscope électronique (Novel, 1993).

Les bactéries de l'acide lactique sont des bactéries Gram-positives généralement immobiles, jamais sporulées, elles sont normalement dépourvues de cytochromes, anaérobies mais aérotoles (Novel, 1993).

Par conséquent, les bactéries lactiques ne possèdent pas une chaîne de transport d'électrons et comptent sur la fermentation pour produire de l'énergie, puisqu'elles n'emploient pas d'oxygène dans leur production énergétique. Les bactéries lactiques se développent sous des conditions anaérobies, mais elles peuvent également se développer en présence de l'oxygène. Ce genre de bactéries tolère de petites quantités d'oxygène, mais pas trop excessive. Ceci peut probablement être lié au peroxyde d'hydrogène qui est produit dans les cellules en présence d'air. Le peroxyde d'hydrogène doit être éliminé sinon son accumulation devient toxique. Le système le plus efficace d'élimination du peroxyde d'hydrogène est une enzyme nommée catalase dont les bactéries lactiques sont déficientes. Les bactéries de l'acide lactique peuvent se développer à des températures allant de 5 à 45°C., et des valeurs de pH optimales de 5,5 à 6,5. Elles peuvent également être homofermentatives ou hétérofermentatives (Axelsson, 2004).

I.3 Les types de la fermentation lactique

I.3.1 Fermentation homolactique

L'acide lactique est le produit essentiel de ce type de fermentation (>90% des produits formés), contrairement à la fermentation hétérolactique (entre 25 et 90% d'acide lactique). Cependant, il y a parfois formation d'une petite quantité de glycérol et plus souvent d'acétoïne et de diacétyle (par exemple par l'intermédiaire de l'acétolactate). Par ailleurs, dans des conditions de pH basique, il y a formation de quantités croissantes de formate, d'acétate et d'éthanol (Arnaud et Guiraud, 1999).

La fermentation lactique du lactose commence par la transformation du lactose en glucose par une enzyme lactase, ensuite la dégradation du glucose s'effectue par une voie

connue sous le nom de *glycolyse* ou voie *d'Embden-Meyerhof-Parnas* (**Figure I.3**). Dans ce processus, une molécule de glucose va donner, via plusieurs intermédiaires, deux molécules du produit final qui est l'acide pyruvique (Pernoud et al., 2005).

L'acide lactique provient de la réduction de l'acide pyruvique catalysée par la lactico-déshydrogénase (**Figure I.3**). Il peut être de forme D (*Bacillus coagulans*, *Bacillus laevolacticus*...), L (*Lactobacillus delbrueckii*...) ou DL (*Bacillus racemilacticus*). Cette production dépend de la stéréospécificité de la lactico-déshydrogénase et de la présence ou de l'absence de racémase. Le micro-organisme peut ne posséder qu'une L-lactico-déshydrogénase, D-lactico-déshydrogénase ou les deux. Certaines souches de lactobacilles produisent de l'acide racémique, bien qu'elles possèdent une lactico-déshydrogénase stéréospécifique ; la racémisation s'effectue après la formation de l'acide lactique optiquement actif, avec intervention d'une racémase.

La fermentation homolactique est effectuée par tous les membres des genres bactériens *Streptococcus*, *Pediococcus* et *Microbacterium*, par beaucoup de *Lactobacillus*, par certains *Bacillus* et certaines moisissures (Arnaud et Guiraud, 1999).

I.3.2 Fermentation hétérolactique

Parmi les moisissures, *Rhizopus oryzae* constitue un cas particulier. Cultivé en aérobiose, il produit de l'acide lactique, de l'acide acétique et du CO₂, alors que dans des conditions anaérobies, il produit un mélange d'acide lactique, d'éthanol et de CO₂. Ces produits sont identiques à ceux obtenus au cours de la fermentation hétérolactique des *Leuconostoc* mais le mécanisme de formation est différent :

La dégradation du glucose s'effectue par la voie de glycolyse. En aérobiose, une partie du pyruvate est transformée en acide lactique, l'autre est oxydée (Arnaud et Guiraud, 1999).



Acide pyruvique

acide lactique

acide acétique

En anaérobiose, une partie du pyruvate est transformée en éthanol et CO₂, l'autre en acide lactique. L'acide lactique formé dans les deux cas est de forme D (**Figure I.3**).

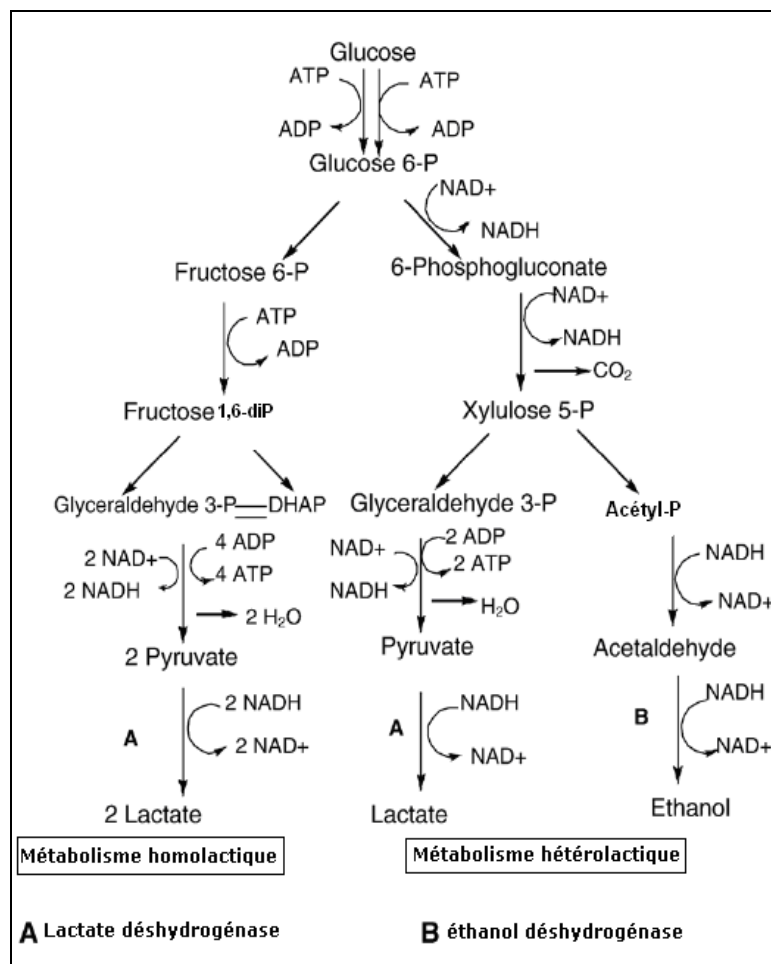


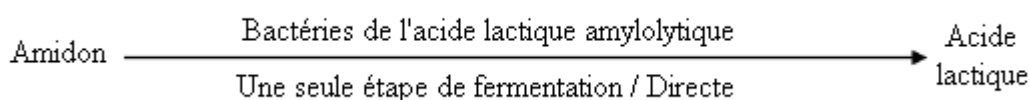
Figure I.3 : La fermentation du glucose chez les bactéries lactiques: voie homofermentaire et voie hétérofermentaire (Novel, 1993).

Il est à noter que le coût de la matière première est l'un des facteurs primordiaux dans la production économique de l'acide lactique. L'utilisation d'amidon comme substrat ainsi que d'autres substrats moins coûteux remplacent les sucres et les matériaux très chers tels que : glucose, lactose. L'efficacité et l'économie de la fermentation finale de l'acide lactique sont toujours les problèmes de beaucoup de points de vue et les compositions en milieu jouent un rôle très important dans l'amélioration d'un tel processus. Des efforts de recherches sont concentrés sur une nouvelle source alimentaire efficace et une nouvelle technique de fermentation permettant l'accomplissement de la conversion élevée du substrat et un rendement élevé de la production par la fermentation amylolytique (Bulut et al., 2004).

I.3.3 Fermentation amylolytique

Beaucoup de publications et de revues sur la fermentation amylolytique sont apparues, ce qui montre l'importance de celle-ci.

Les bactéries de l'acide lactique amylolytique peuvent convertir directement l'amidon en acide lactique en une seule étape, ceci éliminerait le processus de deux étapes comportant l'hydrolyse enzymatique suivi de la fermentation microbienne pour aboutir à un résultat plus économique (Reddy et al., 2008).



I.4 Applications de la fermentation lactique

L'acide lactique est un produit du processus de la fermentation lactique existant dans le fromage, beurre, bière, levain, et beaucoup d'autres aliments fermentés, on utilise comme un additif alimentaire. Litchfield (1996) a résumé des applications alimentaires typiques pour l'acide lactique et leurs sels. Le marché de la consommation d'acide lactique est dominé par le secteur alimentaire et boissons depuis 1982. Plus de 50% d'acide lactique produit est employé comme un agent émulsionnant dans des produits de boulangerie (Litchfield, 1996). Il est utilisé comme agent acidulant ou inhibiteur de la détérioration bactérienne dans une large variété d'aliments traités tels que : sucre, pain, et produits de boulangerie, boissons non alcooliques, bière, mayonnaise, et les œufs traités, produits laitiers, confitures, ainsi que d'autres acidulants. L'acide lactique ou ses sels sont utilisés dans la désinfection et emballage des carcasses, en particulier ceux de volaille et poissons (Datta et al., 1995 ; Naveena et al., 2004). Les esters de calcium et les sels de sodium de lactate avec une longue chaîne des acides gras ont été développés en tant que excellents émulsifiants dans les produits de boulangerie.

La capacité de retenue d'eau de l'acide lactique le rend approprié à l'usage comme produit hydratant dans les formulations cosmétiques. Le lactate d'éthyle est un ingrédient actif dans plusieurs préparations anti-acné. L'occurrence naturelle de l'acide lactique dans le corps humain fait qu'il est très utile comme substance active dans les produits cosmétiques (Reddy et al., 2008).

L'acide lactique a été longtemps utilisé dans les formulations pharmaceutiques, principalement les onguents (pommades) et les solutions parentérales. Il est également utilisé dans la préparation des polymères biodégradables pour des usages médicaux tels que les

sutures chirurgicales et les prothèses (Wee et al., 2006). La présence des deux groupes fonctionnels réactifs donne à l'acide lactique un élément de base le plus potentiel pour les conversions chimiques en produits potentiellement utiles comme l'acide acétique et l'acide acrylique, etc.

L'acide lactique est utilisé, dans divers procédés industriels, comme : agent de détartrage, dissolvant, nettoyant, mouillant, etc. En raison de l'augmentation des quantités de déchets plastiques, dans le monde entier, des efforts considérables de recherches et de développement ont été consacrés afin de substituer les thermoplastiques conventionnels par des matériaux biodégradables, à une seule utilisation (Reddy et al., 2008).

Les polymères biodégradables sont classifiés en tant que famille de polymères qui se dégradent complètement en monomères correspondants ou en produits non toxiques par l'action métabolique des microorganismes vivants (Senthuran et al., 1997).

On prévoit une augmentation de la demande de l'utilisation de l'acide lactique suite à l'augmentation dans la production industrielle des plastiques biodégradables comme l'acide polylactique (Nandasana et Kumar, 2008 ; Sun et al, 1999 ; Balannec et al., 2007) ; car l'acide polylactique, qui suscite une attention considérable, est utilisé comme précurseur pour la synthèse de plastiques biodégradables (Reddy et al., 2008). Les polymères de l'acide lactique présentent de nombreux avantages comme : biodégradabilité, thermo-plasticité, potentiellement pour de grands marchés. La propriété physique de l'acide polylactique dépend de la composition isomérique de l'acide lactique, la production de l'acide lactique optiquement pure est essentielle pour la polymérisation.

L'acide polylactique est utilisé dans plusieurs applications biomédicales telles que : la fixation orthopédique, les applications cardiovasculaires, dentaires et intestinales (Wee et al., 2006).

Conclusion

La fermentation lactique a reçu une attention considérable durant les dernières années depuis son application potentielle dans divers secteurs, en particulier dans le secteur alimentaire et la préparation des plastiques biodégradables. Les bactéries lactiques peuvent être homofermentatives ou hétérofermentatives et peuvent produire les formes L(+) et D(-) ou un mélange racémique de l'acide lactique. L'utilisation des substrats, à bon marché comme l'amidon, petit lait et la mélasse, pour la fabrication de l'acide lactique, remplacent les sucres coûteux tels que le lactose et le glucose.

Chapitre II : Les bioréacteurs

Introduction

Les bioréacteurs sont des dispositifs de culture de micro-organismes formés d'un récipient renfermant un milieu liquide contenant les éléments nutritifs nécessaires à la croissance de la biomasse microbienne, croissance donnant parfois lieu à l'apparition de nouveaux composés biochimiques (Mailleret, 2004).

Dans ce chapitre nous donnerons un aperçu global sur les bioréacteurs, en décrivant les éléments de base tels que les types de réacteurs et les modes de fonctionnement, ensuite nous présenterons l'influence des conditions opératoires telles que l'agitation et l'aération sur les phénomènes de transfert de matière dans un procédé de fermentation et en dernier point nous décrirons l'installation de fermentation.

II.1 Les différents types de bioréacteurs

Le choix d'un type approprié de bioréacteur est une étape principale dans la réalisation avec succès de la fermentation. Dans le cas de la culture microbienne, l'environnement de la fermentation et les conditions fournies par le bioréacteur devront adapter les besoins spécifiques des microorganismes, afin d'obtenir une productivité élevée des produits désirés. La performance des bioréacteurs dépend de leur construction géométrique, conception interne, la dispersion du gaz (aération et agitation), et les modes opératoires. Les types de réacteurs les plus utilisés dans les applications industrielles sont les cuves agitées (Fu et al., 2003).

Dans l'objectif d'évaluer et de comparer des types de bioréacteurs, les critères de base les plus utilisés sont le transfert de masse gaz-liquide, le mixage du liquide, l'hydrodynamique des fluides et les forces de cisaillement. A titre d'exemple, pour une fermentation aérobie, la vitesse de consommation de l'oxygène est souvent très élevée et ainsi la capacité de transfert de matière (oxygène) est très importante dans ce cas. Pour des grandes installations (échelle industrielle), des hétérogénéités peuvent apparaître à cause de l'insuffisance d'agitation et on constate des fluctuations de concentrations des substrats et des produits (zones mortes) ce qui diminue les performances des réacteurs. Dans le cas des micro-organismes sensibles aux forces de cisaillement, il est approprié d'employer d'autres types de bioréacteurs tels que les colonnes à bulles ou les réacteurs Air-Lift (Fu et al., 2003).

II.1.1 Cuve mécaniquement agitée

La cuve mécaniquement agitée est souvent le réacteur choisi lorsque toutes les espèces de la bioréaction (substrats, enzymes, micro-organismes) sont dans une phase liquide unique. Sous réserve d'une agitation mécanique suffisante pour que la phase liquide soit parfaitement

mélangée (Onken et Weiland, 1980), le seul phénomène à prendre en compte dans le dimensionnement et la conduite du bioréacteur est la vitesse de la bioréaction.

L'agitation et l'aération dans le bioréacteur mécaniquement agité engendrent presque toujours la formation de la mousse, un excès de celle-ci contaminera le système et peut poser des problèmes mécaniques pour le mobile d'agitation.

La présence de l'anti-mousse réduit la tension de surface qui est toujours appliquée en fermentation, cependant, elle affecte également la vitesse de transfert de l'oxygène et la croissance des cellules ; par conséquent, l'addition de l'anti-mousse est préjudicieusement nuisible aux opérations de fermentation (Liu et al., 1994).

La figure (II.1) montre la conception générale d'un bioréacteur classique. C'est une cuve cylindrique munie en haut et en bas de deux calottes sphériques. Elle est munie d'une agitation introduite par le haut de la cuve, munie de dispositifs de guidage, de trois turbines d'agitation et d'un mobile supérieur destiné à la réduction des mousses. La régulation de la température est faite par un serpentin disposé au sein du liquide en fermentation. D'autres dispositifs peuvent être utilisés, par exemple la mise en place d'une double enveloppe de préférence au serpentin. Cela libère l'intérieur de la cuve et facilite les opérations de nettoyages.

Ce type de bioréacteur convient parfaitement à la production d'antibiotique. Il s'agit de processus, généralement peu exothermiques, utilisant des microorganismes filamenteux (bactéries, moisissures) relativement fragiles et sensibles aux actions de cisaillement et dont les besoins en oxygène ne sont pas très grands (Leveau et Bouix, 1999).

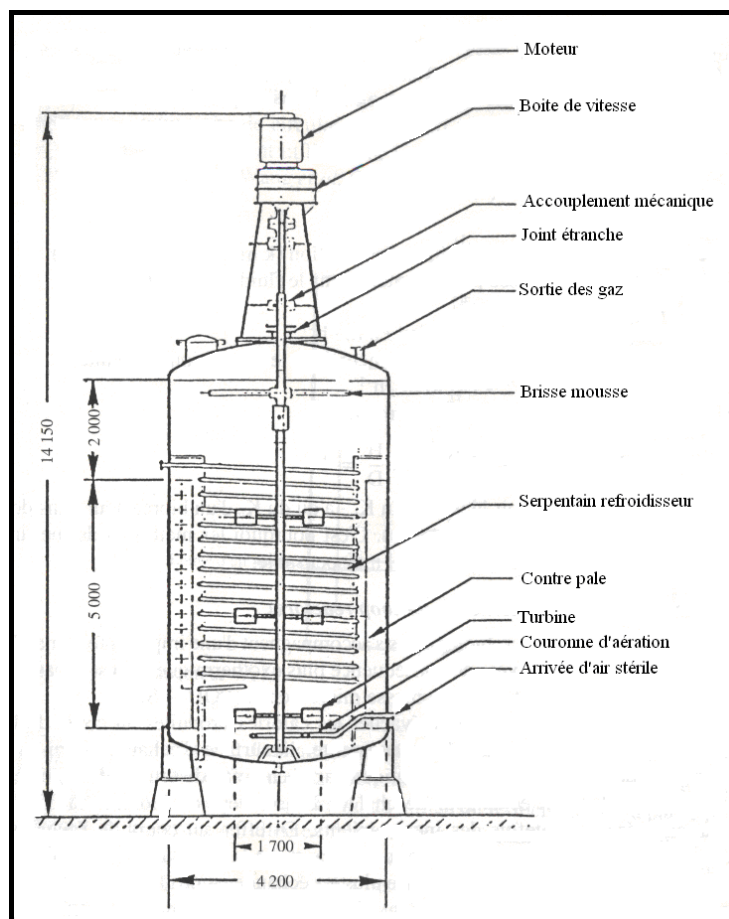


Figure II.1 : Cuve mécaniquement agitée (Hermans et al., 1989).

II.1.2 La cuve mécaniquement agitée aérée

La cuve mécaniquement agitée aérée est utilisée pour la production de micro-organismes en aérobiose. L'oxygène qui est très peu soluble dans les milieux de fermentation est alors le substrat limitant.

La vitesse globale de formation des micro-organismes est la résultante du couplage entre leur vitesse propre de croissance et la vitesse de transfert de l'oxygène de la phase gaz dispersée vers le milieu de fermentation. La puissance mécanique consommée sert à la fois à mélanger la phase liquide et à générer une aire interfaciale importante entre les bulles de gaz et le milieu de fermentation (Riba, 1998).

Chemap propose un bioréacteur à circulation interne muni d'un dispositif d'agitation-aération breveté : la turbine « **Effigas** » (**Figure II.2**). Ses bonnes capacités de transfert d'oxygène permettent de l'employer en production de biomasse mais aussi en fermentation acétique, processus particulièrement exigeant de ce point de vue. Afin de faciliter l'évacuation des calories produites, rien ne s'oppose, étant donné leur conception, à ce que le tube de circulation soit réalisé à l'aide de plaques cintrées de canaux thermiques. Il facilite ainsi deux actions complémentaires l'une de l'autre : amélioration de la circulation du fluide à l'intérieur

de la cuve et augmentation du coefficient de transfert thermique. À la base du tube de circulation se trouve la turbine « **Effigas** ». Il s'agit d'un mobile d'agitation conçu comme le rotor d'une pompe centrifuge. Le liquide en fermentation et le gaz d'aération sont aspirés par la partie centrale de la pièce. Ce liquide est celui de l'intérieur du tube de circulation, où il a tendance à descendre. Le gaz est aspiré, soit à partir d'une conduite l'amenant au-dessus de la turbine par le haut de la cuve, soit par le bas, au moyen d'un arbre creux. Le mélange gaz-liquide ainsi formé est propulsé radialement, à l'extérieur du tube de circulation. Allégé du fait de l'émulsion, le fluide remonte à la périphérie de la cuve pour être réaspiré à l'intérieur du tube. L'entraînement de la turbine a lieu par le bas de la cuve à l'aide d'un arbre court. L'aspiration du gaz permet de réduire le coût énergétique entraîné par l'utilisation de compresseurs. Cet effet d'auto aspiration est toutefois limité dans les grands fermenteurs du fait de la hauteur du liquide. Mais, dans la plupart des cas, il permet tout de même de remplacer les compresseurs par des surpresseurs. Contrairement au dispositif classique d'agitation qui disperse l'énergie dans la totalité du fermenteur, la turbine « **Effigas** » disperse l'énergie dans un volume faible, à voisinage immédiat (Leveau et Bouix, 1999).

Les cellules microbiennes doivent évidemment être capables de supporter les forces de cisaillement importantes. Ce type de bioréacteur s'applique mal à la culture d'organismes filamenteux sensibles à ce type d'action mécanique (Leveau et Bouix, 1999).

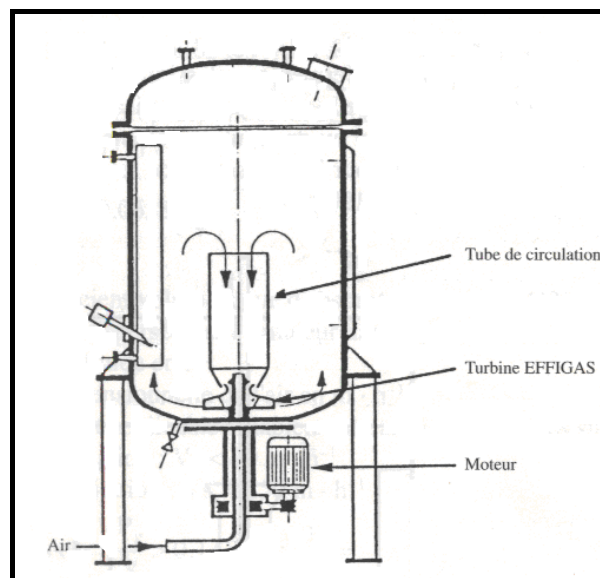


Figure II.2: Cuve mécaniquement agitée aérée (Leveau et Bouix, 1999).

II.1.3 Bioréacteurs avec agitation pneumatique

Les bioréacteurs Air-Lift représentent un nouveau type de fermenteurs dérivés des colonnes à bulles (**Figure II.3**). Ces réacteurs sont surtout utilisés en présence de fluides relativement moins visqueux et quand il y a un besoin d'agitation douce et un bas coût de transfert de l'oxygène (Chisti et al., 2002). On les retrouve dans différents domaines d'applications, tels que le traitement des eaux usées, la fermentation, la production des cellules animales et végétales (Luo et al., 2007).

Les bioréacteurs Air-Lift et les colonnes à bulles sont des réacteurs agités d'une manière pneumatique (Sanchez Pérez et al., 2006), caractérisés par la flottabilité des microorganismes (Luo et al., 2007), c'est-à-dire que les deux types de réacteurs utilisent l'énergie cinétique des bulles de gaz pour réaliser le mélange et l'aération. Le dispositif commun de ce type de réacteur est le gaz fourni au fond du réacteur. L'écoulement du gaz crée la différence de densité dans la région du liquide, qui provoque la circulation de celui-ci. En outre, ce mouvement du liquide aide à favoriser le transfert de masse et le mélange nécessaire (Fu et al., 2003 ; 2005).

Les principaux avantages de ces réacteurs, comparés à ceux agités mécaniquement, sont essentiellement la simplicité de leur construction et la faible consommation d'énergie ainsi que le cisaillement faible (Fu et al., 2005 ; Znad et al., 2004a, b). Cependant, ces réacteurs présentent des capacités de mélange et de transfert de matière plus faibles (Fu et al., 2005).

Les réacteurs Air Lift les plus utilisés et les plus anciens sont ceux ayant une boucle de circulation externe (**Figure II.4**), c'est-à-dire la partie dans laquelle le mélange gaz-liquide circule vers le bas (downcomer) (Joshi et al., 1990). Les versions (**Figure II.3 b et c**) utilisent des cylindres concentriques où les zones de circulation vers le haut (riser) et vers le bas (downcomer) sont situés respectivement à l'intérieur et à l'extérieur du cylindre concentrique. Les mélanges gaz-liquide circulant dans ces zones présentent des caractéristiques spécifiques de vitesses d'écoulement et de rétentions de phases. Par exemple, les vitesses d'écoulement et les rétentions de gaz dans la zone ascendante (riser) sont nettement plus élevées que celles se trouvant dans la zone descendante (downcomer) (Znad et al., 2004b ; Lo et al., 2004 ; Luo et al., 2007). On trouve dans la littérature plusieurs corrélations (Riba et al., 1998 ; Joshi et al., 1990 ; Dhaouadi et al., 1996 ; Vial et al., 2000), pour estimer ces paramètres ainsi que le coefficient volumétrique de transfert, mais qui ont été obtenues en utilisant l'eau ou l'eau salé comme liquide. Nous notons que ces corrélations ne peuvent pas être utilisées directement dans le cas de la fermentation car les phénomènes de coalescence des bulles ne sont pas les mêmes du fait que dans le dernier cas (fermentation) on trouve souvent des produits

organiques qui rendent les liquides peu coalescents voir même moussants. Les performances de ces réacteurs dépendent essentiellement des régimes d'écoulement qui peuvent avoir lieu, et qui sont fonctions des paramètres opératoires (vitesses d'écoulement) et des propriétés physico-chimiques des systèmes gaz-liquide et microorganismes.

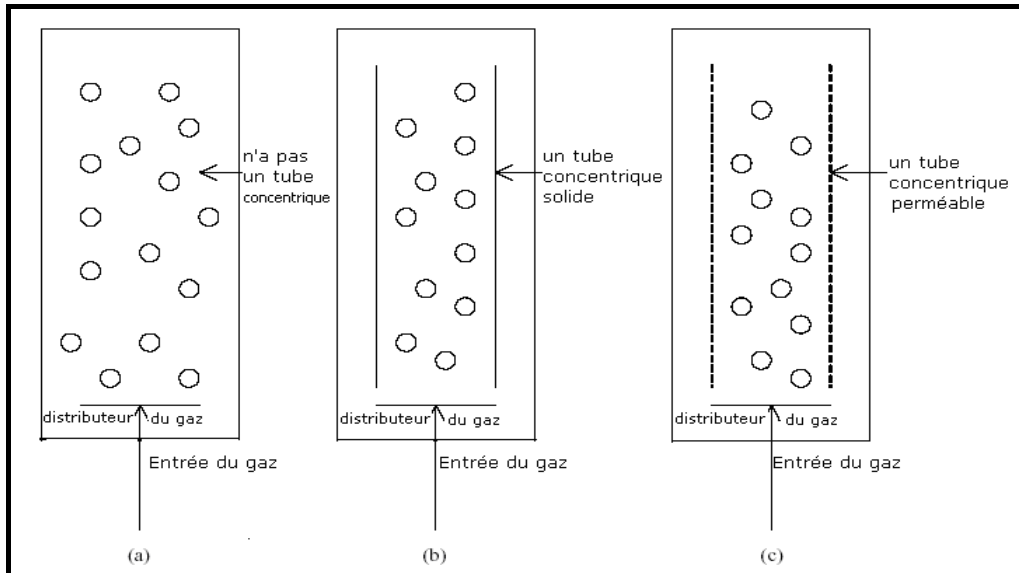


Figure II.3: Les différents types des réacteurs avec agitation pneumatique: (a) réacteur colonne à bulle, (b) réacteur Air-lift, (c) réacteur Air-lift avec un tube concentrique perméable «*net draft tube*» (Fu et al., 2003).

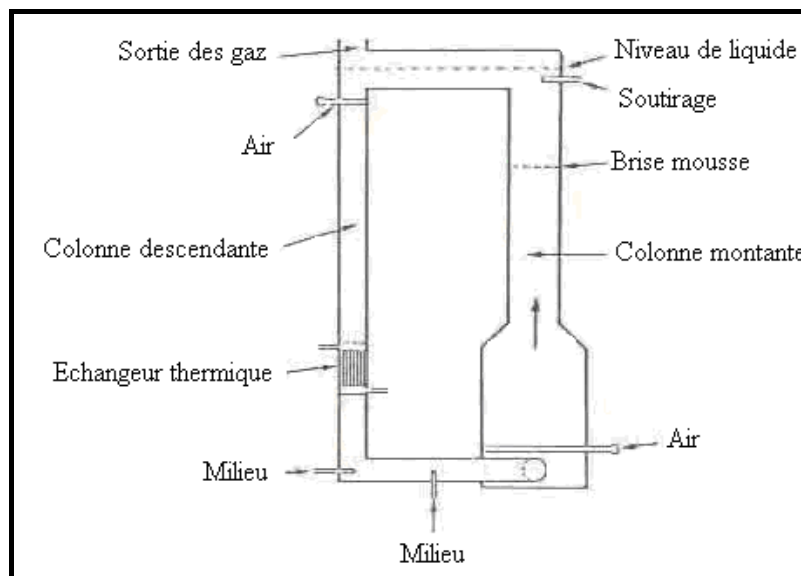


Figure II.4 : Fermenteur à boucle externe (Leveau et Bouix, 1999).

A l'échelle industrielle, on cite l'exemple du réacteur développé par la firme Britannique ICI (Imperial Chemical Industries) qui a mis au point un bioréacteur Air-lift à circulation interne pour la production de la biomasse microbienne sur le substrat à base de méthanol (Hamer (1979)), dont la capacité peut atteindre 3000 m³. Ce réacteur, de 7 m de diamètre et

60 m de hauteur, a été équipé de plusieurs plateaux de distribution à différents niveaux de la section ascendante (riser) et ce pour remédier aux problèmes de coalescence des bulles en augmentant la capacité de transfert d'oxygène et ainsi améliorer ses performances (Hamer, 1979).

De nombreuses études sur l'hydrodynamique et le transfert de masse gaz-liquide dans le réacteur Air-Lift ont été rapportés (Liu et al. 1994 ; Lo et Hwang, 2004 ; Luo et al., 2007 ; Kiese et al., 1980). Une description précise des performances du bioréacteur Air-lift est toujours difficile, où le mélange est toujours imparfait et les modèles mathématiques proposés sont incapables de décrire correctement la réalité physique (Znad et al., 2004 a, b).

Beaucoup d'efforts ont été consacrés pour améliorer l'efficacité de mélange de ces réacteurs, à savoir : un temps de mélange très court, une meilleure circulation de liquide et une vitesse élevée de transfert de l'oxygène (Fu et al., 2003 , 2005). A titre d'exemple, Bando et al. (1992 a, b) ont montré que le mélange et la performance du transfert de masse étaient sensiblement améliorés par la modification du réacteur Air-Lift en utilisant un réacteur Air-lift avec un tube concentrique, perméable au transfert de matière « **net draft tube** » (**Figure II.3c**).

II.1.4 Réacteur à couche fixe ou à couche fluidisée

Un bioréacteur à lit fixe est constitué d'un tube de section circulaire rempli de particules solides rendues actives par fixation de micro-organismes ou d'enzymes et dont les extrémités sont fermées par des grilles ou des plaques perforées permettant la percolation d'une phase liquide, mais empêchant tout mouvement de la phase solide dispersée (Riba, 1998).

Dans les réacteurs à lit fluidisé, des particules et des micro-organismes immobilisés sont maintenus dans un état fluide dans un flux de liquide (**Figure II.5**). C'est une technique de culture de souches anaérobies comme les bactéries méthanogènes. Ces réacteurs sont également adaptés à la culture de micro-organismes à croissance lente, et à la régénération de substances peu biodégradables comme pour les eaux usées après la gazéification du charbon (benzol, cyanure, acide sulfhydrique), de substances cellulaires (acide lignique, chlorolignine) ou de l'industrie textile (lessives, nitrates).

Le choix entre couche fixe et couche fluidisée dépend du caractère colmatant des solutions à traiter et de la taille des particules solides. La fluidisation permet de s'affranchir des risques de colmatage, mais les performances de transfert de matière liquide-solide d'une couche fluidisée sont plus limitées que celles d'une couche fixe (Schmidt,1999).

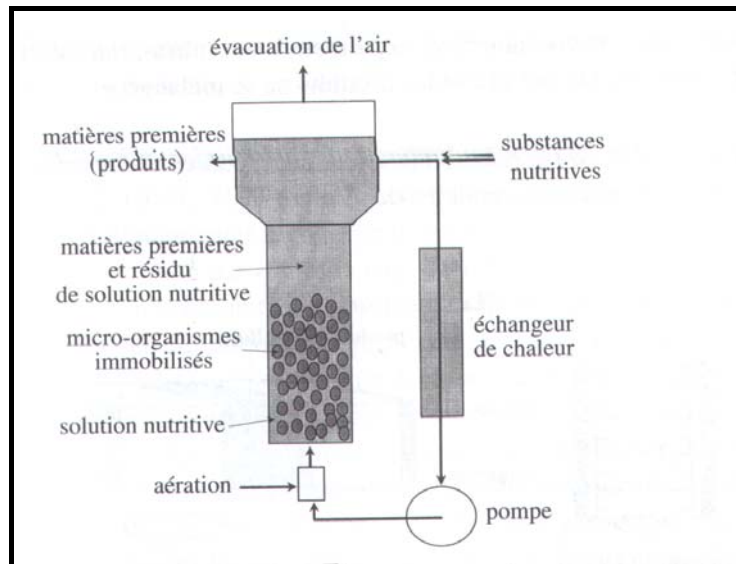


Figure II.5: Schéma d'un réacteur à lit fluidisé (Schmidt, 1999).

Il est à noter que le taux de solide diffère d'un réacteur à un autre, il ne représente que 10% en cuve agitée et peut atteindre les 40% en lit fluidisé et 60% en présence de lit fixe. D'autre part, dans une cuve agitée, les chocs de particules solides sur le mobile d'agitation peuvent entraîner leur destruction (Riba, 1998).

II.1.5 Les bioréacteurs membranaires

De nos jours, les bioréacteurs membranaires attirent de plus en plus l'intérêt des études théoriques et industrielles. L'utilisation des modules membranaires associés aux bioréacteurs est prometteuse. Le recyclage des cellules conduit à travailler avec des concentrations cellulaires élevées, on peut donc augmenter les productivités et par voie de conséquence, réduire la taille des installations et diminuer les prix de revient. De plus, ces dispositifs permettent d'envisager, en parallèle, l'extraction des composés produits par le métabolisme, d'où le concept de fermentation extractive, particulièrement intéressante dans le cas où les produits formés sont inhibiteurs (Leveau et Bouix, 1999). D'ailleurs, plusieurs d'entre eux avaient été employés dans l'industrie alimentaire, chimique, médical et biologique, aussi bien que dans les traitements d'environnement (Giorno et Drioli, 2000).

Sur la base de l'immobilisation des biocatalyseurs et le fonctionnement de la membrane, généralement les bioréacteurs membranaires sont classifiés en deux types (**Figure II.6**) :

- des biocatalyseurs sont suspendus en solution, compartimentés par la membrane et où celle-ci sert seulement à la séparation. (**voir Figure II.6 A**)
- des biocatalyseurs sont immobilisés dans la membrane, celle-ci agit en tant que support des biocatalyseurs et unité de séparation (Charcosset, 2006). D'où différentes

techniques d'immobilisation peuvent être utilisées, comme l'attachement à une surface par adsorption ou par liaison covalente, l'encapsulation ou encore l'inclusion dans une matrice (Yang et al., 2006 ; voir **Figure II.6 B**).

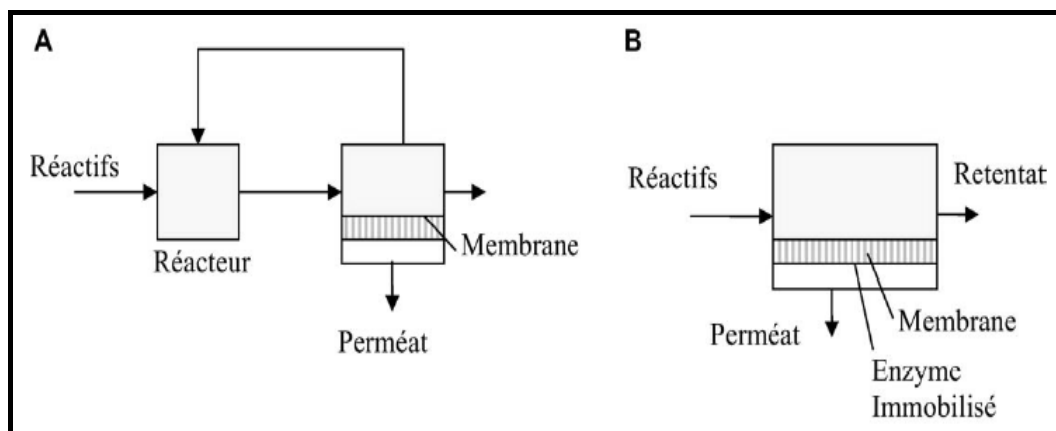


Figure II.6 : *Les principaux types des bioréacteurs membranaires (Charcosset, 2006).*

En plus de la variété de formes des membranes et des modules membranaires, il y a également différents types de bioréacteurs membranaires où l'utilisation du bioréacteur membranaire à fibre creuse est la plus large dans les bioprocessus (Salzman et al., 1999) . Les bioréacteurs membranaires peuvent être également classés selon les types de matériaux de membrane (exemples : organiques, inorganiques, polymériques, etc.).

Par ailleurs, les bioréacteurs membranaires sont généralement distingués par leur modes opératoires, tels que le bioréacteur membranaire d'ultrafiltration ; bioréacteur membranaire biphasique (organique et aqueuse) (Giorno et Drioli, 2000).

II.2 Les modes de fonctionnement

Dans la pratique, les modes opératoires se caractérisent par les échanges liquides, c'est à dire par la façon dont les réacteurs biologiques sont alimentés en substrat. Nous distinguons trois modes principaux à savoir le mode batch (discontinu), le mode semi continu et le mode continu (**Figure II.7**).

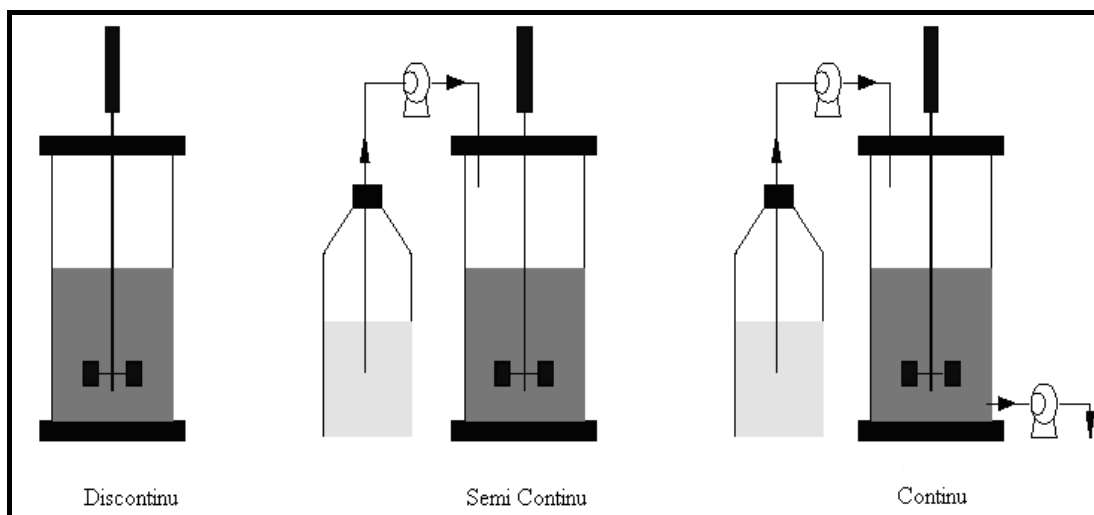


Figure II.7 : *Les différents modes de fonctionnement des réacteurs biologiques (Queinnec, 2000).*

II.2.1 Le mode discontinu (ou batch)

Dans ce mode de fonctionnement la totalité des éléments nutritifs nécessaires à la croissance biologique est introduite lors du démarrage de la réaction. Aucun apport ni prélèvement (excepté bien sûr pour quelques mesures hors lignes éventuellement) n'est réalisé par la suite et la réaction se déroule à volume constant (Manyri, 2005).

Les seules actions possibles de l'opérateur ne concernent que les variables d'environnement (pH, température, vitesse d'agitation, aération,...). Peu de moyens sont ainsi nécessaires à sa mise en œuvre, ce qui en fait son attrait du point de vue industriel (Grisales Palacio, 2007). Il souffre cependant d'un inconvénient majeur : l'apport initial d'une quantité élevée de substrat inhibe généralement la croissance des microorganismes qui le consomment, ce qui se traduit par des durées de traitement allongées, et limite la charge initiale admissible (Queinnec, 2000).

II.2.2 Le mode semi-continu (ou fedbatch)

Tout en nécessitant un dispositif de stockage des affluents, ce mode de fonctionnement se distingue du précédent par un apport des différents éléments nutritifs au fur et à mesure des besoins constatés des micro-organismes. La variation du volume du milieu réactionnel est donc une fonction directe de l'état d'avancement de la réaction.

Ce mode permet essentiellement d'éviter les problèmes d'inhibition associés au mode précédent, et de fonctionner à des taux spécifiques de croissance proches de leur valeur maximale.

A partir d'un volume initial préalablement ensemencé, le réacteur est alimenté par un débit augmentant de façon exponentielle, nécessitant un contrôle en boucle fermée. C'est d'ailleurs ce dernier point qui a fortement limité l'utilisation du *fedbatch* en milieu industriel (Grisales Palacio, 2007 ; Queinnec, 2000).

Ce mode de fonctionnement est essentiellement utilisé pour des productions issues de procédés déjà anciens : production de levure, de vinaigre, de bière, ... Il est par ailleurs, tout comme le précédent, également préconisé lorsque la récupération des produits est réalisée en discontinu (accumulation intracellulaire par exemple) ou que l'on ne peut se permettre de relarguer des matières toxiques résiduelles (cas du fonctionnement en continu) (Grisales Palacio, 2007).

II.2.3 Le mode continu (ou chemostat)

C'est le mode le plus souvent employé dans le domaine du traitement de l'eau (Queinnec, 2000). Caractérisé par un volume réactionnel constant, il est soumis à un soutirage de milieu réactionnel égal au flux d'alimentation en matière nutritive (en employant une régulation de niveau) (Demeyer et al., 1982).

Les procédés continus fonctionnent en régime permanent, en maintenant, pour des conditions d'alimentation fixées, le système dans un état stationnaire, en évitant tout phénomène inhibiteur grâce à l'effet de dilution dû à l'alimentation (Grisales Palacio, 2007 ; Queinnec, 2000). Ces modes de fonctionnement permettent en outre des productions importantes dans des réacteurs de taille réduite et ne nécessitent pas d'importants dispositifs de stockage en amont, contrairement aux modes précédents. Ils peuvent en outre être intégrés dans des dispositifs plus complexes constituant les stations de traitement d'eaux (Queinnec, 2000).

II.3 Influence du transfert de matière

Toute réaction dans laquelle interviennent des microorganismes peut être considérée comme un système hétérogène comportant une phase continue contenant les substrats et produits solubles et des phases dispersées : phase solide (microorganismes, substrats solides tels que cellulose...), phase gazeuse (air, vecteur d'oxygène nécessaire aux cultures aérobies, phase liquide immiscible (substrats insolubles tels que les hydrocarbures) (Douzou et al., 1993 ; Gomez et al., 2006 ; Galaction et al., 2004).

L'efficacité de ce système dépend largement du contact suffisant entre les différentes phases (Gomez et al., 2006). Par conséquent, le transfert de masse des éléments nutritifs

(sources de carbone et l'énergie, oxygène) est plus complexe que pour les processus chimiques (Galaction et al., 2004).

Dans la fermentation aérobie ; le transfert de l'oxygène est un facteur très important dans la conception des bioréacteurs, les microorganismes aérobies ont besoin d'oxygène pour leur croissance, et la maintenance des cellules (Wang et al., 1995 ; Yao et al., 2001 ; Gogate et al., 1999).

Au cours de la croissance, l'oxygène est utilisé comme accepteur final d'électrons mais aussi incorporé dans les différentes molécules structurales (Demeyer et al., 1982). Si l'oxygène n'est pas disponible en quantité suffisante dans le milieu, il devient en quelque sorte un substrat limitant et le taux de croissance en est affecté (modèle de Monod) (Puthli et al., 2005 ; Dhanasekharan et al., 2005).

Cette demande en oxygène pour la fermentation est normalement satisfaite par l'opération aération-agitation, qui est l'une des opérations unitaires indispensables à la maîtrise des réactions biologiques (Yao et al., 2001).

II.3.1 Aération et agitation

Quel que soit le procédé d'aération retenu, on a toujours une injection de gaz et formation de bulles au sein du milieu de culture. Le problème d'aération est donc essentiellement un problème de transfert de l'oxygène des bulles d'air vers les microorganismes, ce qui est schématisé par la **figure II.8**. On se place ici dans le cas d'un milieu gaz-liquide homogène. L'oxygène étant très faiblement soluble dans l'eau, dès l'instant que cesse l'aération du fermenteur, la réserve en oxygène dissout peut être épuisée en quelques secondes par les microorganismes. De ce fait, l'oxygène consommé doit être renouvelé en permanence et le facteur limitant sera donc la diffusion à travers l'interface gaz-liquide (**Figure II.9**) (Demeyer et al., 1982). La loi de Fick relative à la diffusion peut être appliquée ici. On obtient :

$$\frac{dN}{dt} = k_L a (C_{O_2}^* - C_{LO_2}) \quad \text{(II.1)}$$

$\frac{dN}{dt}$: La vitesse de transfert de l'oxygène exprimée en mole/m³.s

$C_{O_2}^*$: Concentration saturante en oxygène dans la phase liquide (mole/m³)

C_{LO_2} : Concentration en oxygène dans la phase liquide (mole/m³)

k_L : Coefficient de diffusion de l'oxygène côté liquide (m/s)

a : aire interfaciale volumique d'échange (m^2/m^3) de phase continue.

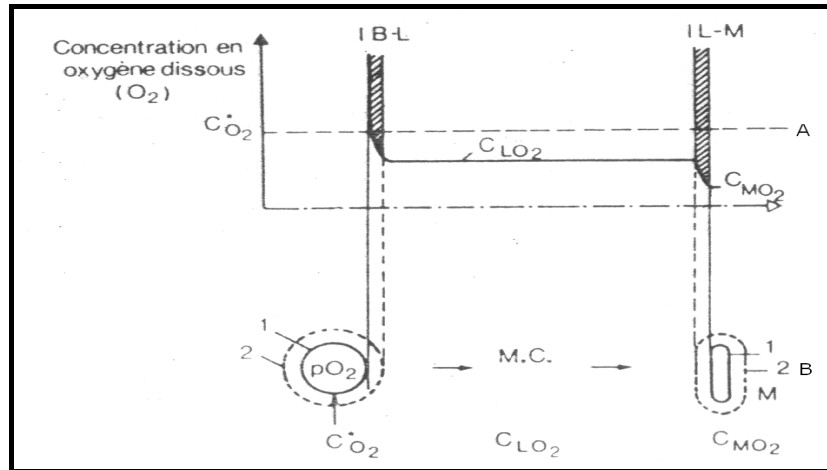


Figure II.8 : *Transfert d'oxygène en milieu de culture liquide (Demeyer et al., 1982).*

A : Variation de concentration en oxygène dissous

B : Transfert d'oxygène de la bulle de gaz au micro-organisme (M)

I B-L : Interface bulle-milieu liquide

I L-M : Interface milieu liquide micro-organisme

MC : Milieu de culture infiniment mélangé

C_{MO_2} : Concentration en oxygène dans le micro-organisme

1 : Air interfaciale

2 : Film liquide

Le coefficient de transfert peut être évalué grâce à diverses théories faisant intervenir le concept du double film, du renouvellement de surface et de la pénétration (Gomez et al. 2006).

Le coefficient $k_L a$ est une caractéristique propre pour un fermenteur fonctionnant dans des conditions précises d'agitation et d'aération (Demeyer et al., 1982). Il exprime une capacité de transfert de l'oxygène et peut être déterminé expérimentalement par la méthode au sulfite de Cooper (Talvy et al., 2007), il peut décroître durant la croissance, par suite d'une augmentation de la viscosité (production de polysaccharide) ou de l'introduction d'agents tensioactifs. Il faut donc réduire au maximum l'emploi d'agents anti mousse qui limitent la diffusion et leur préférer si possible des dispositifs mécaniques (Demeyer et al., 1982).

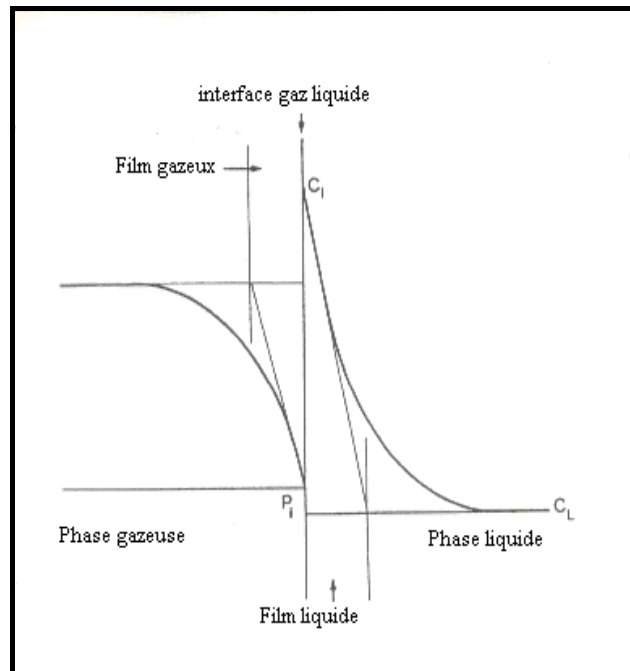


Figure II.9 : Répartition des pressions partielles et des concentrations en oxygène respectivement dans la phase gazeuse et dans la phase liquide, à proximité de l'interface bulle d'air-eau (théorie du double film) (Hermans et al., 1989).

L'amélioration de l'aération en fermentation repose sur :

- une adaptation de la demande biologique en oxygène et de la capacité de transfert de façon à optimiser les rendements de transfert ;
- un accroissement du rendement d'oxygénation (quantité d'oxygène transférée par rapport à celle injectée) en surveillant l'effet concomitant de l'accroissement des pressions partielles en CO_2 ;
- une augmentation du rendement énergétique d'oxygénation (quantité d'oxygène transférée par unité d'énergie consommée pour l'agitation-aération ; en pratique, kg O_2 transféré par kWh) ;
- une augmentation des facteurs de potentialité $C_{\text{O}_2}^* - C_{\text{LO}_2}$ en opérant avec de faibles valeurs de C_{LO_2} (mais non limitantes) et des valeurs élevées de $C_{\text{O}_2}^*$ (accroissement de la pression partielle de O_2 en opérant sous pression ou avec de l'air enrichi en oxygène ou par augmentation de la solubilité de O_2 par addition de phases liquides insolubles dans l'eau et dans lesquelles O_2 est très soluble (paraffines, dérivés fluorés...).

Trois types de systèmes sont employés pour réaliser efficacement l'aération. D'abord des dispositifs mécaniques à l'aide de turbines, agitateurs et pales ou à l'aide de pompes. Ensuite, des insufflations d'air par des colonnes à bulles et des réacteurs gazosiphons.

Enfin le dispositif mixte tel que le couplage d'un système mécanique et d'un gazosiphon. Mais il faut se souvenir qu'il ne s'agit pas uniquement de fournir une quantité d'oxygène donnée, encore faut-il le faire avec le meilleur rendement énergétique possible ? (C'est-à-dire que la masse d'oxygène transférée par unité d'énergie dépensée doit être la plus élevée possible) (Douzou et al., 1993).

Il est à remarquer que le mobile d'agitation peut jouer un autre rôle tels que le mélange et l'homogénéisation du liquide.

De nombreux types d'agitation ont été décrits (**Figure II.10**), le plus employé en fermentation est la turbine à pales droites et étroites (turbine Rushton) ; il s'agit d'un mobile à débit radial. La turbine Rushton est bien adaptée pour l'agitation des fluides peu visqueux. L'action de cisaillement de ce type de turbine facilite le transfert de l'oxygène. Dans le cas de micro-organismes particulièrement fragiles, elle ne convient pas. Les turbines à pales incurvées exercent le même type d'action.

Lorsque la viscosité du fluide à agiter augmente, ce qui est le cas de certaines fermentations (antibiotiques, polysaccharides), on utilise d'autres agitateurs à débit radial, tel que l'agitateur à pales larges rectangulaires ou les agitateurs à ancre (**voir Figure II.10**).

Les agitateurs à débit axial sont intéressants du fait de la circulation du fluide qu'ils provoquent. On utilise les hélices marines (propeller) carrées dont le pas est égal au diamètre. Du fait de leur action de pompage, elles sont mal adaptées au transfert d'oxygène. Les hélices à double flux sont également dans ce cas. Elles comportent aux extrémités des pales tronquées d'une hélice, de petites pales d'une hélice de pas inverse. Au centre du mobile, le fluide circule de haut en bas et au niveau des petites pales périphériques, il circule de bas en haut.

Pour les fluides visqueux, les hélices à grandes pales minces sont intéressantes, du fait de leur débit qui peut être important. On peut utiliser également dans ce cas les agitateurs à ruban hélicoïdal.

En fermentation, on a souvent besoin des deux actions, de pompage et de cisaillement. C'est pourquoi on peut monter sur le même arbre un mobile à débit radial (turbine Rushton) alimenté par un mobile à débit axial (hélice à grandes pales minces). La turbine à pales inclinées est à la fois génératrice d'action de pompage et d'action de cisaillement (Stanbury et al., 1995 ; Leveau et Bouix, 1999 ; Oldshue, 1997).

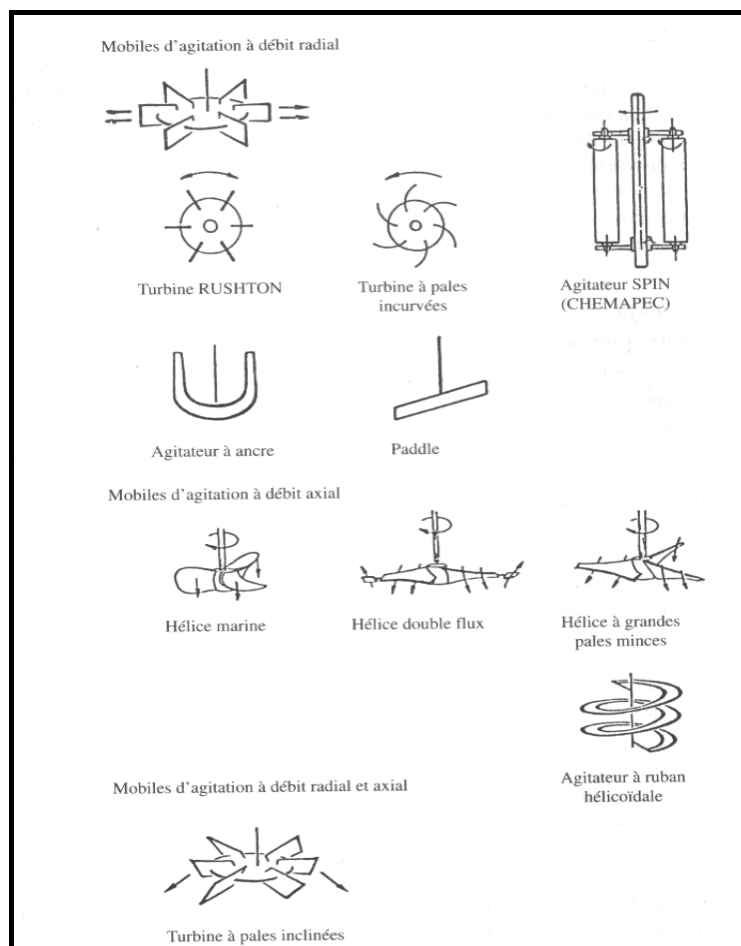


Figure II.10: Différents mobiles d'agitation (Leveau et Bouix, 1999).

II.4 L'installation de fermentation

À côté du bioréacteur, l'installation de fermentation comprend un certain nombre de périphériques et tout d'abord d'autres cuves (**Figure II.11**). En effet, la mise en œuvre de la fermentation implique la préparation du milieu de culture, obtenu par mélange aqueux des différents ingrédients nécessaires à la croissance du micro-organisme et à la production du métabolite recherché. Cette préparation est parfois faite dans le bioréacteur lui-même. Ce n'est pas le cas général car cela entraîne son immobilisation pour une opération simple, ne faisant pas intervenir les équipements complexes dont il est doté, ce qui globalement n'est pas rentable.

L'installation prévoit donc une ou plusieurs cuves de préparation du milieu de culture. Elle comprend également des cuves de stockage des différents réactifs nécessaires au bon déroulement du processus :

- milieu de culture ajouté dans le bioréacteur au fur et à mesure de sa transformation par le micro-organisme (fermentation discontinue alimentée) ;

- réactifs de correction du pH (acides - bases) pour neutraliser les composés sécrétés au cours de la fermentation par le microorganisme, les processus microbiologiques étant le plus souvent acidogènes ;
- réactifs anti mousses ;
- composés divers, parfois nécessaires à la biosynthèse du métabolite recherché (précurseurs).

L'installation doit être conçue, dans son ensemble, pour permettre la stérilisation et le maintien de l'asepsie, la distribution d'air, dans le cas de processus aérobies, la réduction ou l'élimination des mousses, les transferts de fluides et de suspension d'une cuve à une autre.

Elle peut concevoir différents équipements de contrôle, de régulation et d'automatisation plus ou moins élaborés, destinés à rationaliser son exploitation et aussi augmenter les rendements (Leveau et Bouix, 1999).

II.4.1 La stérilisation

Lorsque l'on réalise une fermentation, il faut évidemment que seul le micro-organisme sélectionné se développe. Il est donc nécessaire de supprimer les autres germes existants qui pourraient contaminer le milieu (Boeck, 1988). A cet effet, il est indispensable de pouvoir stériliser chaque composante du système (Schmidt, 1999). Selon les normes admises, le terme « stérile » signifie l'absence de tous les microorganismes viables (Boeck, 1988), et la stérilisation est souvent interprétée comme un processus non absolu (Boeck, 1988 ; Schmidt, 1999). Dans le cas idéal, les méthodes de stérilisation devraient être efficaces, rapides, simples et bon marché et elles devraient pouvoir s'appliquer à une grande variété de matériels. La stérilisation s'effectue habituellement par des méthodes physiques, le plus souvent par la chaleur.

Lors de la stérilisation par chaleur, les cellules bactériennes d'espèces différentes varient dans leur sensibilité à la chaleur et les endospores sont beaucoup plus résistantes que les cellules végétatives. Ces dernières meurent généralement fort vite dans l'eau bouillante, tandis que les endospores peuvent y survivre longtemps. Le pouvoir stérilisant de la chaleur ne dépend pas seulement de la température, mais aussi de facteurs comme le temps, l'humidité présente et le nombre et l'état des micro-organismes traités. La stérilisation par la chaleur est réalisée généralement par l'autoclavage qui est considéré comme l'« étalon or » de la stérilisation. Cet instrument utilise la vapeur sous pression à 121 °C, pendant une période de temps appropriée (Singleton, 2005).

Les coûts de la stérilisation constituent un pourcentage significatif de tout le coût de la production pour beaucoup de processus microbiens. Une réduction significative dans le coût de la production peut être réalisée si la fermentation est sans stérilisation. Différentes méthodes ont été proposées pour la fermentation sans stérilisation ; parmi ces méthodes une qui consiste en l'addition de basses concentrations des substances qui sont inhibiteurs aux micro-organismes contaminants à condition que le micro-organisme de fermentation soit résistant (Ohta, 1994).

II.4.2 L'automatique des bioprocédés

Le domaine des procédés biotechnologiques est assez vaste, en effet il englobe plusieurs types de procédés comme : les fermentations pour la production de substances chimiques à haute valeur ajoutée (pharmaceutiques), la production en grande quantité d'aliments et de boissons (yaourt, fromage, etc.) ainsi que les traitements biologiques des résidus.

Ces procédés font appel à la croissance des micro-organismes par la consommation de substrats ou de nutriments en imitant les cycles d'auto-épuration trouvés dans la nature, cette croissance n'est possible qu'en présence de conditions «environnementales» favorables. Par conditions environnementales, on entend les conditions physico-chimiques (pH, température, agitation, aération,...) nécessaires à une bonne activité des micro-organismes. Pour parvenir à ces conditions et aux exigences techniques, économiques et environnementales actuelles, il est nécessaire de faire appel à des systèmes de mesure, de commande, de supervision et de surveillance adéquats (Grisales Palacio, 2007).

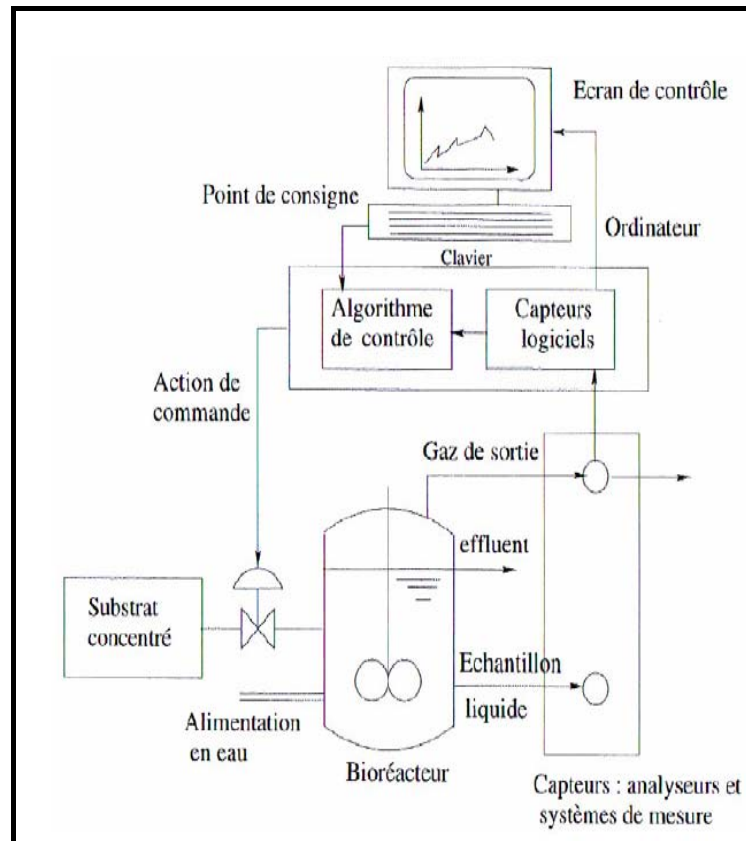


Figure II.11 : Représentation du système de commande d'un bioprocédé
(Grisales Palacio, 2007).

Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté les critères de base nécessaires à la réalisation du processus de fermentation, en vue d'augmenter le rendement de production. Les principaux résultats peuvent être résumés comme suit :

- chaque type de réaction possède un bioréacteur spécifique pour augmenter le rendement ;
- le phénomène de transfert de matière est un facteur très important pour la mise en contact des trois phases (gaz, liquide, solide) où se déroule la réaction biologique ;
- l'oxygène est un facteur très important pour les réactions qui nécessitent l'oxygène comme un élément limitant ;
- la stérilisation est une étape très importante pour les réactions biologiques, qui nécessitent la présence des microorganismes seuls sans la présence d'autres germes qui contaminent le milieu ;
- l'utilisation des mesures physico-chimiques et de contrôle des paramètres opératoires et autres « capteurs » augmente le rendement de la production.

Chapitre III: Modélisation

Introduction

La croissance microbienne est un phénomène très complexe, par le nombre et le type des réactions mises en jeu au cours de son déroulement et par leur dépendance vis-à-vis des facteurs extérieurs pouvant d'ailleurs exercer des influences d'interactions. L'application des méthodes mathématiques et statistiques au traitement des résultats expérimentaux permet d'établir des équations (appelés modèles) traduisant de façon précise et rapide les phénomènes observés. Le modèle est alors testé (ou mis à l'épreuve) par comparaison des valeurs expérimentales et celles fournies par le calcul à l'aide du modèle. Par la suite, celui-ci peut être éventuellement modifié (Bouix et Leveau, 1999).

La **fermentation** lactique a été intensivement étudiée (Litchfield, 1996). De nombreux modèles sont disponibles, structurés (Nielsen et al., 1991; Cachon et Diviès, 1993) ou non structurés (Kumar Dutta et al., 1996 ; Amrane et Prigent, 1999 ; Biazar et al., 2003).

Les modèles structurés décrivent avec précision la cinétique de croissance et de la production d'acide lactique mais, ils sont généralement complexes (Amrane, 2005). D'autre part, il s'est avéré que les modèles non structurés sont plus faciles à employer, et décrivent correctement le processus de la fermentation lactique dans un large domaine de conditions et de milieux expérimentaux (Balannec et al., 2007).

La cinétique de la production de l'acide lactique peut être alors déduite de la cinétique de croissance, puisque la plupart des modèles disponibles assument une association partielle de la production de l'acide lactique avec la croissance, comme l'indique le modèle de Luedeking Piret (Amrane, 2005).

Dans ce chapitre nous donnerons les différents types de modèles de la fermentation lactique, puis nous présenterons la cinétique de croissance microbienne, ensuite une analyse bibliographique de quelques modèles déjà proposés pour la croissance de la biomasse, la production de l'acide lactique ainsi que la consommation du substrat en mode discontinu.

En dernier ressort nous analyserons les modèles ayant fait l'objet de nos travaux.

III.1 Les différents types de modèles mathématiques de la fermentation lactique

III.1.1 Les modèles structurés

A l'intérieur d'une même population cellulaire, il est possible de distinguer des entités différentes selon l'âge, la taille, la morphologie, l'état physiologique, et la composition biochimique, éléments reliés d'ailleurs les uns aux autres (Nielsen et al., 1991). Les modèles structurés prennent les différences en compte en faisant appel à des fonctions statistiques de distribution de telle ou telle propriété plus intéressante à retenir. L'état physiologique d'une population cellulaire est étroitement lié aux concentrations des différents types de constituants présents dans les cellules qui définissent le vecteur physiologique d'état de la population considérée (Leveau et Bouix, 1999). Les modèles de ce type bien sûr très intéressants, sont cependant plus rarement utilisés du fait de leur degré de complexité mathématique (Bouguettoucha et al., 2007) et des difficultés d'acquisition de données concernant l'âge, la morphologie et l'état physiologique des cellules (Norton et al., 1993).

III.1.2 Les modèles non structurés

Ils utilisent les cinétiques microbiennes les plus classiques pour exprimer les vitesses spécifiques de croissance, de consommation de substrat et de production des métabolites tout en donnant une idée de l'évolution de la concentration microbienne. Les modèles non structurés sont simples et plus faciles à employer, et décrivent exactement la fermentation lactique (Bouguettoucha et al., 2007).

III.2 Modélisation de la vitesse de croissance

III.2.1 la courbe de croissance microbienne

La courbe de croissance d'une population microbienne est obtenue en traçant, en coordonnées semi logarithmiques, l'évolution de la biomasse X en fonction du temps ($\ln(X) = f(t)$). La vitesse volumique de croissance est :

$$r_x = \frac{dX}{dt} \quad \text{(III.1)}$$

r_x peut s'exprimer sous la forme $X * \mu$

μ_x est un facteur qui dépend des conditions opératoires (température, pH, etc.) et le milieu réactionnel (concentrations en composés carbonés, azotés, phosphores, en produits formés, en sels minéraux, en oxygène...); Ce paramètre est un des plus importants pour la description de l'évolution de la population microbienne (Manyri, 2005). Ce facteur μ_x est la **vitesse spécifique de croissance** qui est donné par la relation suivante :

$$\mu = \frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} \quad (\text{III.2})$$

Le graphe de la **Figure III.1** est une représentation caractéristique de la croissance d'une population microbienne :

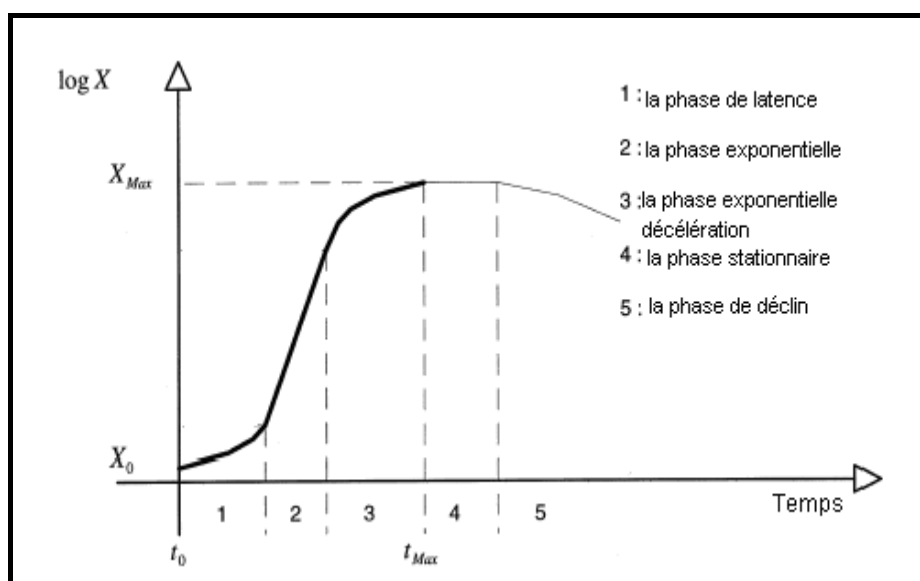


Figure III.1 : Courbe de croissance microbienne (Diaz et al, 1999).

La croissance d'une population microbienne se déroule en plusieurs phases distinctes :

1. la phase de latence : quand des bactéries sont introduites dans un milieu liquide frais, la division cellulaire peut ne pas commencer immédiatement. Pendant cette phase, les cellules s'adaptent à leur nouvel environnement par exemple, en fabriquant les enzymes requises pour utiliser la nourriture nouvellement disponible. La longueur de la phase de latence dépendra beaucoup des conditions dans lesquelles les cellules se trouvaient avant d'être introduites dans le nouveau milieu. La phase de latence sera souvent longue si les cellules ont préalablement été soumises à des conditions défavorables, ou si elles ont été cultivées avec des substances nutritives différentes ou à une autre température. La phase de latence sera courte (ou même absente) si les cellules proviennent d'un milieu similaire ou identique, incubé à la même température (Singleton, 2005).

Au cours de la phase de latence (adaptative), des molécules sont synthétisées, mais l'augmentation de la masse totale de la population cellulaire ne s'accompagne pas d'une augmentation du nombre de cellules. On dit que les cellules sont en croissance non-équilibrée (Singleton, 2005) :

$$X = X_0 \quad \text{(III.3)}$$

2. la phase logarithmique ou exponentielle de croissance : lorsque la vitesse de reproduction cellulaire atteint son maximum, c'est la phase logarithmique ou exponentielle qui commence et qui dure tant que la vitesse de reproduction est constante. Elle peut être évaluée simplement par le temps de doublement de la population microbienne (temps de génération) qui, tout au long de la phase logarithmique, prend sa valeur minimale. Cette valeur varie d'un micro-organisme à un autre et pour un micro-organisme donné, en fonction des conditions de culture (milieu de culture, température, oxygène, etc.) (Leveau et Bouix 1999).

Au cours de cette phase, la vitesse de croissance dX/dt augmente, et ce proportionnellement à X . D'où l'allure logarithmique (ou exponentielle) du phénomène. En coordonnées semi-logarithmiques, $\log X = f(t)$, cette phase a l'allure d'une droite. La vitesse spécifique est quant à elle constante et maximale :

$$\frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} = \mu_{\max} \quad \text{(III.4)}$$

Et ainsi, on peut avoir l'expression suivante :

$$\log X_2 - \log X_1 = \mu_{\max} (t_2 - t_1) \quad \text{(III.5)}$$

Au cours de cette phase, la composition cellulaire est constante, et bien que la composition du milieu de culture varie beaucoup, pour permettre les synthèses cellulaires, le taux de croissance reste constant. Cette phase correspond, particulièrement pour les bactéries à taux de croissance élevé, à un potentiel de multiplication et de synthèse considérable, justifiant à lui seul leur emploi en biotechnologie (Leveau et Bouix 1999).

3. la phase de décélération ou phase de freinage : qui semble intervenir au fur et à mesure que le substrat s'épuise ou que des produits toxiques s'accumulent (Charles Bajard, 1996).

4. la phase stationnaire maximale : X est à son maximum et est constant. dX/dt est nul. Ceci ne traduit pas qu'il n'y a plus de division cellulaire : le taux de division est égal au taux de mortalité ($\mu_x = 0$) (Manyri, 2005).

5. *la phase de décroissance (déclin)* : le nombre des cellules viables diminue alors, du fait de la mortalité dont le taux augmente progressivement et parallèlement, la concentration en biomasse décroît par suite de l'autolyse sous l'action des enzymes des cellules elles-mêmes.

A partir des résultats fournis par l'étude de la croissance microbienne, on peut déduire tout d'abord la valeur du coefficient de conversion du substrat :

$$Y_{x/s} = \frac{X - X_0}{S_0 - S} \quad (\text{III.6})$$

S_0 : étant la concentration initiale du substrat et S étant la concentration instantanée.

$Y_{x/s}$: le rendement de transformation du substrat S en biomasse X .

La productivité (biomasse produite en g/l.h) est souvent le critère retenu pour l'évaluation d'un procédé de fermentation. C'est elle en tout état de cause qui servira lors du dimensionnement d'une installation de fermentation. Pour son évaluation, dans le cas des procédés discontinus, on doit tenir compte du temps nécessaire à la vidange du fermenteur, t_v (essai précédent), à son nettoyage t_N , à son remplissage pour l'essai à évaluer t_R , à la stérilisation t_s en plus du temps strictement nécessaire à la croissance microbienne t_M , au bout duquel l'essai est arrêté : on peut aussi définir la productivité maximale, en reliant l'origine au point t_m, X_m (**figure III.2**):

$$P_m = \frac{X_m}{t_m} \quad (\text{III.7})$$

Cela suppose l'arrêt de l'essai au bout du temps t_m , alors que la concentration cellulaire n'a pas atteint sa valeur maximale. Il en résulte une perte de substrat non métabolisé (diminution du rendement) (Leveau et Bouix 1999).

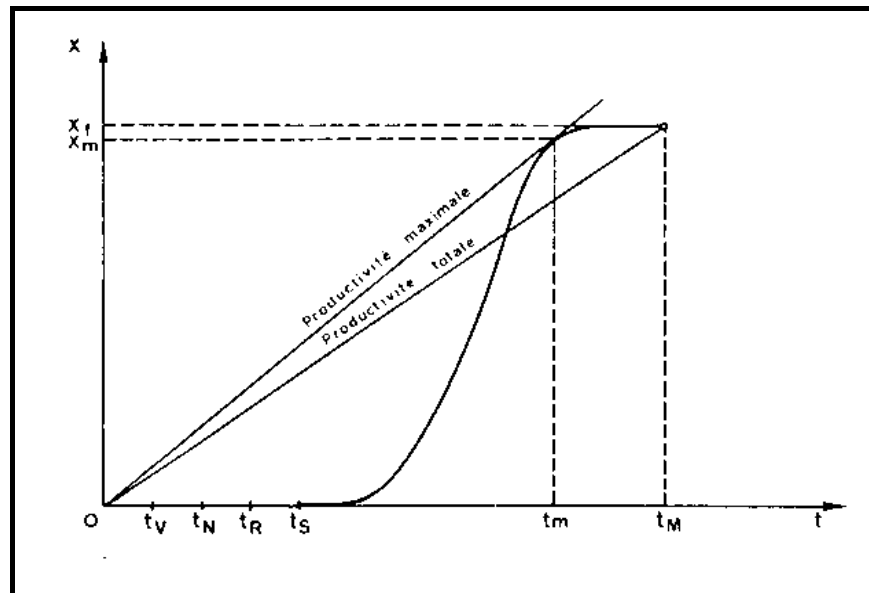


Figure III.2: Évaluation de la productivité (croissance cellulaire) (Leveau et Bouix 1999).

La productivité totale s'exprime par :

$$P_T = \frac{X_f}{t_M} \quad (\text{III.8})$$

III.2.2 Étude de quelques modèles de croissance microbienne

Le modèle le plus simple exprime que la vitesse de croissance est proportionnelle à la quantité de biomasse présente dans la culture :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (\text{III.9})$$

Où X représente la concentration cellulaire et μ la vitesse spécifique de croissance.

L'intégration entre t_1 et t_2 , en prenant μ constant et égal à sa valeur maximale (μ_{\max}), donne la relation (III.10), correspondant à la phase exponentielle de croissance.

$$X = X_0 e^{\mu_{\max}(t_2 - t_1)} \quad (\text{III.10})$$

Lorsque la croissance est limitée par un manque de substrat S , le modèle le plus utilisé est celui de Monod (1942):

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} \quad (\text{III.11})$$

Où : S et K_S sont respectivement la concentration et la constante de saturation du substrat limitant.

Pirt (1975) a intégré le système formé par les équations (III.9) et (III.11), en considérant μ_{\max} , K_S et $Y_{X/S}$ (le rendement de transformation du substrat S en biomasse X) comme constants :

$$\mu_{\max} \cdot t = \left(1 + \frac{K_S \cdot Y_{X/S}}{X_f}\right) \cdot \ln \frac{X}{X_0} + \frac{K_S \cdot Y_{X/S}}{X_f} \cdot \ln \frac{X_f - X_0}{X_f - X} \quad (\text{III.12})$$

Où : X_0 et X_f sont respectivement les concentrations initiales et finales en biomasse.

Tayeb et al. (1984) ont considéré que la variation du taux spécifique de croissance avec la concentration en produit peut être décrite par une relation hyperbolique de type d'inhibition non compétitive :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{K_p}{P + K_p} \quad (\text{III.13})$$

Où : P et K_p sont respectivement la concentration et la constante d'inhibition du produit.

Plusieurs auteurs ont tenu compte des deux effets à la fois la limitation par le substrat carboné et l'inhibition non compétitive par le produit formé. La vitesse spécifique de croissance devient :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{S + K_S} \frac{K_p}{P + K_p} \quad (\text{III.14})$$

Luedeking et Piret (1959) ont proposé un modèle où μ vari linéairement avec la concentration du produit :

$$\mu = \mu_{\max} - h \cdot P \quad (\text{III.15})$$

Cette relation où h est une constante, rend bien compte de leurs résultats obtenus avec le type de bactérie *Lactobaccilus delbrueckii* utilisant le glucose comme un substrat.

Belhocine (1987) a montré que les résultats obtenus en continu avec la bactérie *Lactobaccilus helveticus* ne donnent une bonne concordance qu'avec ceux obtenus par la loi d'inhibition proportionnelle (III.15).

Roy et al. (1987) ont utilisé, pour la modélisation de la croissance de la bactérie *Lactobacillus delbrueckii* sur le glucose, une loi de Verhulst qui dépend uniquement de la concentration de la biomasse :

$$\mu = \mu_{\max} \left(1 - \frac{X}{X_{\max}} \right) \quad \text{(III.16)}$$

Où : X_{\max} est la concentration maximale atteinte par la biomasse.

Leh et Charles (1989) ont proposé un modèle mathématique qui tient compte des deux limitations de l'azote et le substrat carboné par une modification de la loi de Monod (III.11) :

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{1}{1 + \frac{K_{PR}}{Pr} + \frac{K_S}{S} + \frac{K_S}{S} \cdot \frac{K_{PR}}{Pr}} \quad \text{(III.17)}$$

Dans cette relation, Pr et K_{pr} sont respectivement la concentration et la constante de saturation des protéines utilisables.

Lorsque K_S est négligeable devant S (Leh, 1987), l'équation précédente (III.17) est ramenée à la loi de Monod, c'est-à-dire à un seul substrat limitant qui est l'azote :

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{Pr}{Pr + K_{PR}} \quad \text{(III.18)}$$

Lorsqu'on tient compte de l'inhibition par le produit dans l'équation (III.18), l'expression de la vitesse spécifique de croissance devient :

$$\mu = \mu_{\max} \cdot \frac{Pr}{Pr + \left(\frac{P}{K_p + 1} \right)^2 \cdot K_{PR}} \quad \text{(III.19)}$$

Le modèle logistique, qui est très utilisé par plusieurs auteurs pour décrire la cinétique de croissance de la phase exponentielle de décélération, sera détaillé dans le chapitre III (voir III.5).

Le modèle mathématique exprimé par l'équation (III.16) est un modèle logistique qui tient compte des trois premières phases de croissance, à savoir celles de latence, exponentielle et exponentielle de décélération. L'arrêt de la production à la fin de la phase stationnaire démontre bien l'insuffisance de ce modèle pour décrire la cinétique de la croissance jusqu'à la fin de la phase stationnaire.

Amrane (1991) a développé un modèle mathématique qui prend en considération la phase stationnaire. L'expression de la vitesse spécifique de croissance est donnée par la relation suivante :

$$\mu = \mu_{\max} \frac{1}{1 + \left(\frac{ce^{dt}}{\mu_{\max} - c} \right)} \quad \text{(III.20)}$$

A partir de la loi précédente, il est possible d'obtenir la loi décrivant la croissance :

$$X = X_0 \exp \left(\mu_{\max} t - \frac{\mu_{\max}}{d} \left[\ln \frac{\mu_{\max} - c + ce^{dt}}{\mu_{\max}} \right] \right) \quad \text{(III.21)}$$

Dans cette expression, c et d sont des constantes sans signification biologique évidente.

Kumar Dutta et al. (1996) ont développé un modèle mathématique de la fermentation du glucose en acide lactique par *Lactobacillus delbrueckii* en considérant l'inhibition par le produit formé, en tenant compte de l'effet d'une puissance toxique (n). Ces auteurs ont utilisé le modèle de Levenspiel (1980) qui propose une généralisation simple de l'équation de Monod en tenant compte de l'effet d'inhibition par le produit formé pour les différents types de réacteurs ainsi que Keller et Gerhardt (1975) qui ont confirmé cette idée d'inhibition dans la formulation de leur modèle pour la fermentation continue. La cinétique de croissance est donnée par l'équation suivante :

$$\frac{dX}{dt} = \left[\mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P^*} \right)^n \right] \left[\frac{SX}{(K_s + S)} \right] \quad \text{(III.22)}$$

Ou,

$$\frac{dX}{dt} = \mu' \left[\frac{SX}{(K_s + S)} \right] \quad \text{(III.23)}$$

$$\text{Où : } \mu' \neq \mu = \left[\mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P^*} \right)^n \right] \quad \text{(III.24)}$$

Avec : P^* , la concentration maximale d'inhibition par le produit ; n la puissance toxique qui caractérise la manière dont on peut approcher la concentration limite supérieure pour l'inhibition par le produit P^* , au-dessus de laquelle la fermentation est stoppée.

Les travaux de Berry et al. (1999) ont développé un milieu de culture pour la croissance de la bactérie *Lactobacillus rhamnosus*. Ce milieu offre une gamme d'études métaboliques pouvant être réalisée favorablement. Par contre elle n'est pas faisable dans des milieux complexes traditionnels. Celui-ci inclut l'utilisation des acides aminés. Leurs études préliminaires ont identifié quatre acides aminés principaux : sérine, glutamine, asparagine et cystéine.

Ces auteurs ont modifié un modèle non structuré qui a été proposé par Yabannavar et Wang (1991) pour décrire la croissance du *Lactobacillus rhamnosus* dans ce milieu défini. Cette modification inclue un terme de la mortalité des cellules dans la cinétique de croissance.

La cinétique de croissance peut être décrite par l'équation (III.25), où le taux spécifique de croissance est inhibé par l'acide lactique dissocié et non dissocié (équation (III.26)) :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X - K_d X \quad \text{(III.25)}$$

$$\mu = \left(\frac{\mu_{\max} S}{K_S + S} \right) \left(1 - \frac{L^-}{K_{\mu L}} \right) \exp \left(- \frac{HL}{K_{\mu HL}} \right) \quad \text{(III.26)}$$

Dans cette relation, $K_{\mu L}$, $K_{\mu HL}$, L^- , HL sont respectivement la constante d'inhibition d'acide lactique dissocié, la constante d'inhibition d'acide lactique non dissocié, concentration d'acide lactique dissocié, concentration d'acide lactique non dissocié.

Biazar et al. (2003) ont utilisé pour décrire la croissance de *Lactobacillus helveticus* un modèle de la croissance qui tient compte des effets de limitation par le substrat, les inhibitions par le substrat et le produit ainsi que la mortalité des cellules :

$$\frac{dX}{dt} = \left[\mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} e^{-(S/K_i)^{n_1}} e^{-(P/K_{iP})^{n_2}} - K_d \right] X \quad \text{(III.27)}$$

Où : K_i la constante d'inhibition du substrat à laquelle le facteur d'inhibition par le substrat est : $e^{-(S/K_i)^{n_1}} = 0.368$ g/l ; K_{iP} la constante d'inhibition d'acide lactique à laquelle le facteur d'inhibition par le produit est $e^{-(P/K_{iP})^{n_2}} = 0.368$ g/l ; n_1, n_2 les constantes de forme (allure) pour la fonction exponentielle et K_d le taux de mortalité spécifique de cellules.

Nandasana et Kumar (2008) ont développé leur modèle en se basant sur les résultats expérimentaux de Boonmee et al. (2003) de la croissance de la bactérie *Enterococcus faecalis*, utilisant la mélasse comme matière première à bon marché. Ces auteurs ont proposé un modèle cinétique qui tient compte des effets de la limitation de substrat, l'inhibition de

substrat et du produit aussi bien que l'effet de la mortalité des cellules. La cinétique de croissance est donnée par l'équation suivante :

$$\frac{dX}{dt} = (\mu - K_d)X \quad (\text{III.28})$$

Où le taux spécifique de croissance :

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S K_{iX}}{(K_{SX} + S)(K_{iX} + S)} e^{-P/K_{PX}} \quad (\text{III.29})$$

Dans cette relation : K_{iX} , K_{SX} , K_{PX} sont respectivement les constantes : d'inhibition du substrat, de limitation par le substrat, et d'inhibition par le produit pour la croissance de la biomasse.

III.3 Modélisation de la production de l'acide lactique

Dans le cas général de la fermentation lactique, Luedeking et Piret (1959 a et b) ont considéré qu'il existe une relation linéaire entre le taux spécifique de la production q_p et le taux de croissance spécifique μ du type :

$$q_p = \frac{dP}{Xdt} = \alpha\mu + \beta \quad (\text{III.30})$$

Dans cette relation, q_p est la productivité spécifique, α un coefficient de production lié à la croissance et β un coefficient de production lié au maintien.

Cogan (1978) a résolu le système formé par les deux équations (III.9) et (III.30), en prenant μ constant et égal à sa valeur maximale μ_{\max} , et a trouvé l'équation suivante:

$$P = X_0 \frac{\alpha\mu_{\max} + \beta}{\mu_{\max}} (e^{\mu_{\max}t} - 1) \quad (\text{III.31})$$

Cette loi décrit la cinétique de la production de la phase exponentielle de croissance. Son intérêt est qu'elle permet de calculer la pente μ_{\max} (pente de la courbe $\ln(dp/dt)=f(t)$).

Roy et al. (1987) ont proposé que la quantité d'acide lactique totale soit égale à la somme des deux termes :

$$P = P_{\alpha} + P_{\beta} \quad (\text{III.32})$$

Le premier est la quantité d'acide lactique synthétisée par le mécanisme associé à la croissance (P_α) et le deuxième est celui correspondant à la quantité synthétisée par le mécanisme non associé à la croissance (P_β) :

$$P_\alpha = \alpha \frac{dX}{dt} = \alpha X_0 \left(\frac{e^{\mu_{\max} t}}{1 - \frac{X_0}{X_{\max}} (1 - e^{\mu_{\max} t})} - 1 \right) \quad (\text{III.33})$$

Et

$$P_\beta = \beta X = \beta \frac{X_{\max}}{\mu_{\max}} \ln \left(1 - \frac{X_0}{X_{\max}} (1 - e^{\mu_{\max} t}) \right) \quad (\text{III.34})$$

D'après Amrane (1991), ce modèle est insuffisant car il ne permet de calculer que P à partir de X, alors que l'inverse aurait été souhaitable.

Leh et Charles (1989) ont utilisé une loi de production qui dépend de la consommation en substrat:

$$\frac{dP}{dt} = -Y_{P/S,G} \left(\frac{dS}{dt} \right)_G - Y_{P/S,M} \left(\frac{dS}{dt} \right)_M \quad (\text{III.35})$$

Où : $Y_{P/S,G}$ et $Y_{P/S,M}$ sont respectivement les rendements de conversion du substrat en produit, pour la croissance et la maintenance (G est un indice désignant la croissance et M un indice désignant la maintenance).

Kummar Dutta et al. (1996) ont estimé la vitesse de production d'acide lactique par l'incorporation de l'équation (III.24) dans l'équation (III.30) et par une analogie avec l'équation de Michaelis-Menten on obtient une modification de l'équation de la formation du produit :

$$\frac{dP}{dt} = \left[\alpha \mu_{\max} \left(1 - \frac{P}{P^*} \right)^n + \beta \right] \left[\frac{SX}{(K_S + S)} \right] \quad (\text{III.36})$$

Kummar Dutta et al. (1996) ont observé d'après le graphe du taux spécifique de croissance en fonction de la production d'acide lactique une courbe et non pas une droite linéaire comme le présente le modèle de Keller et Gerhardt (1975). Cependant, la courbe non linéaire est justifiée par l'introduction de la valeur de n dans leur modèle qui est égale à 0.88, par contre le modèle de Keller n = 1.

Les résultats expérimentaux concordent assez bien avec ceux obtenus à partir du modèle de Kummar Dutta et al. (1996). On note cependant l'insuffisance du modèle de Keller qui sous estime le taux de croissance en fonction de la production.

Berry et al. (1999) ont utilisé pour la production d'acide lactique une bactérie *Lactobacillus rhamnosus* dans un milieu bien défini comme nous l'avons vu précédemment pour la cinétique de croissance (cf.III.2.2), un modèle mathématique suppose que la formation d'acide lactique est une combinaison des mécanismes associés et non associés à la croissance, et que la part de production non associée à la croissance est également liée par la dépendance des approvisionnements de substrat par l'intermédiaire de la cinétique de Monod.

La cinétique de formation du produit peut être décrite par une équation de Luedeking et Piret (1959) modifiée :

$$\frac{dP}{dt} = \alpha\mu X + \beta XS / (K_s + S) \quad (\text{III.37})$$

Biazar et al. (2003) ont exprimé la vitesse de production par la relation suivante :

$$\frac{dP}{dt} = X \left[\left(\mu_{\max} \alpha \frac{S}{K_s + S} e^{-(S/K_i)^{n_1}} e^{-(P/K_{ip})^{n_2}} - K_d \right) + \beta \right] \quad (\text{III.38})$$

Les travaux de Bouguettoucha et al. (2007) ont montré que la fermentation lactique utilisant une souche *Lactobacillus helveticus* se déroule en deux étapes; une première à pH libre, suivie d'une seconde à pH régulé.

Concernant le pH libre: ceci, en introduisant la part non dissociée de l'acide lactique, qui est la principale espèce inhibitrice de la croissance (Balannec et al., 2007) :

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \left(1 - \frac{HL}{HL_{inh}} \right) \quad (\text{III.39})$$

Où HL_{inh} représente la concentration d'acide lactique non dissocié inhibitrice. Le pH a été également inclus dans le modèle par l'équation de Henderson-Hasselbach suivante:

$$HL = \frac{L^-}{10^{pH - pK_A}} \quad (\text{III.40})$$

Le modèle correspondant simule correctement les résultats expérimentaux, et a été validé pour différents milieux de culture.

Pour ce qui de l'étape à pH régulé, le modèle repose sur une limitation par le substrat carboné, l'analyse de ce modèle sera donnée en détail à la fin de ce chapitre (voir III.5). La signification biologique des paramètres a été améliorée et le modèle a été validé dans différentes conditions de culture. Le modèle est décrit par l'équation suivante (Amrane, 2005):

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \left(1 - \frac{S_{lim}}{S} \right) \quad (\text{III.41})$$

Où : S_{lim} la concentration limitante du lactose.

Afin d'éviter l'utilisation de deux modèles, selon les conditions de culture, un modèle généralisé a été développé, qui tient compte à la fois de l'effet inhibiteur par l'acide non dissocié (et le pH) et des limitations nutritionnelles. Ce modèle décrit bien les résultats à pH libre et à pH régulé.

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \left(1 - \frac{S_{lim}}{S} \right) \left(1 - \frac{HL}{HL_{inh}} \right) \quad (\text{III.42})$$

III.4 Modélisation de la consommation du substrat

Il y a trois types de consommation du substrat dans le processus de la fermentation qui produit des métabolites :

1. d'une part, la consommation nécessaire à l'élaboration de cellules nouvelles ou synthèse de la biomasse;
2. d'autre part, la consommation nécessaire à la production de métabolites ;
3. ensuite, la consommation de substrat nécessaire au maintien des cellules dans un état viable.

Dans la plupart des modèles cités dans la littérature, la vitesse de consommation du substrat est la somme de deux termes de la croissance et la maintenance des cellules:

$$\left(\frac{dS}{dt} \right)_T = \left(\frac{dS}{dt} \right)_G + \left(\frac{dS}{dt} \right)_M \quad (\text{III.43})$$

Où $(dS/dt)_G$ est le terme lié à la croissance et $(dS/dt)_M$ celui lié à la maintenance.

Pirt (1975) a exprimé les termes liés à la croissance et à la maintenance par les équations suivantes :

$$\left(\frac{dS}{dt}\right)_G = -\frac{\mu \cdot X}{Y_{X/S,G}} = -\frac{1}{Y_{X/S,G}} \frac{dX}{dt} \quad (\text{III.44})$$

$$\text{Et} \quad \left(\frac{dS}{dt}\right)_M = -m_s \cdot X \quad (\text{III.45})$$

Où m_s est le coefficient de maintenance et $Y_{X/S,G}$ est le rendement vrai de la conversion du substrat en biomasse, pour la croissance, qu'il est défini par :

$$Y_{X/S,G} = -\left(\frac{dX}{dS}\right)_G \quad (\text{III.46})$$

En combinant les équations (III.43), (III.44) et (III.45), la consommation spécifique du substrat est:

$$q_s = -\left(\frac{dS}{Xdt}\right)_T = \frac{\mu}{Y_{X/S,G}} + m_s \quad (\text{III.47})$$

La division des deux membres de l'équation précédente par le taux de croissance μ , permet d'aboutir à la loi de Pirt :

$$\frac{1}{Y_{X/S,obs}} = -\left(\frac{dS}{dX}\right)_T = \frac{m_s}{\mu} + \frac{1}{Y_{X/S,G}} \quad (\text{III.48})$$

Où $Y_{X/S,obs}$ est le rendement observé de conversion du substrat en biomasse.

Roy et al. (1987) ont utilisé une loi dérivant du modèle de Luedeking-Piret qui exprime le taux spécifique de la consommation du substrat :

$$q_s = -\frac{dS}{Xdt} = \alpha_s \mu + \beta_s \quad (\text{III.49})$$

Ces auteurs ont remarqué que le rendement de la transformation du substrat en produit est constant dans un processus de la fermentation lactique, ce qui a été confirmé par Belhocine (1987) et l'équation s'écrit :

$$q_s = \frac{1}{Y_{P/S}} q_p = \frac{\alpha}{Y_{P/S}} \mu + \frac{\beta}{Y_{P/S}} \quad (\text{III.50})$$

Par analogie avec l'équation (III.47), on a :

$$\frac{\alpha}{Y_{P/S}} = \frac{1}{Y_{X/S,G}} \quad (\text{III.51})$$

et

$$\frac{\beta}{Y_{P/S}} = m_S \quad (\text{III.52})$$

Cette relation est faisable car quand S_0 est grand (48 g/l, dans le cas de lactosérum), la plus grande partie du substrat consommé convient à la production de l'acide lactique, alors que quelques g/l de sucre contribuent à la croissance de la biomasse.

Comme nous l'avons vu précédemment (cf.III.2.2) et (cf.III.3) dans les travaux de Berry et al. (1999) pour la cinétique de croissance et de production, ces auteurs ont proposé pour la prise de substrat une fonction linéaire associée au produit d'acide lactique. De ceci, la relation entre la consommation de glucose et l'acide lactique peut être décrite :

$$\frac{dS}{dt} = -Y_{S/P} \frac{dP}{dt} \quad (\text{III.53})$$

Où $Y_{S/P}$ est le rendement du substrat pour la formation du produit.

Biazar et al. (2003) ont signalé que la vitesse de consommation du substrat par la bactérie *Lactobacillus helveticus* peut être décrite par l'équation (III.54) suivante :

$$\frac{dS}{dt} = - \left[\frac{X}{Y_{X/S}} \left(\mu_{\max} \frac{S}{K_S + S} e^{-(S/K_i)^{n_1}} e^{-(P/K_{ip})^{n_2}} - K_d \right) + m_S X + \frac{1}{Y_{P/S}} \frac{dP}{dt} \right] \quad (\text{III.54})$$

Cette équation prend en considération tous les effets à savoir : limitation par le substrat, l'inhibition par le substrat et le produit ainsi que la mortalité des cellules, et le coefficient de maintenance.

Où : $Y_{X/S}$, $Y_{P/S}$ sont respectivement les rendements de la biomasse et du produit par rapport au substrat.

Ces auteurs ont utilisé, pour la résolution numérique de système des trois équations différentielles, une méthode de décomposition par domaine. Ces équations représentent la cinétique de croissance (III.27), production (III.38), et la consommation du substrat (III.54).

Comme nous l'avons vu précédemment (cf.III.2.2) relatif à la cinétique de croissance, Nandasana et Kumar (2008) ont utilisé l'expression de la vitesse de consommation du sucre suivante :

$$\frac{dS}{dt} = q_{S,\max} \frac{SK_{iS}}{(K_{SS} + S)(K_{iS} + S)} e^{-P/K_{PS}} X \quad \text{(III.55)}$$

Où $q_{S,\max}$ la consommation spécifique maximale du substrat, K_{iS} , K_{SS} , K_{PS} sont respectivement les constantes : d'inhibition du substrat, de limitation par le substrat, et d'inhibition par le produit pour la consommation du substrat.

En plus, ces auteurs ont montré l'effet du pH sur les paramètres cinétiques du modèle, et ont conclu que les paramètres K_{iS} , K_{SS} , K_{PS} , $q_{S,\max}$ sont sensibles au changement du pH et par conséquent les valeurs extrêmes du pH peuvent influencer défavorablement sur la production d'acide lactique. Le pH optimum étant de 7.

Ce modèle peut être utilisé pour la fermentation continue et discontinue, en utilisant les substrats à bon marché tels que la mélasse.

III.5 Analyse des modèles utilisés dans notre travail

A partir d'une synthèse bibliographique de plusieurs modèles comme nous l'avons vu précédemment (cf.III.2, cf.III.3, cf.III.4), nous présentons dans cette section en premier lieu l'étude des modèles de la cinétique de croissance qui sont basés uniquement sur la concentration de la biomasse (Diaz et al., 1999 ; Amrane, 2005). S'agissant de la production, le modèle Luedeking et Piret a été modifié afin d'expliquer la cessation de la production de l'acide lactique dès qu'il y ait épuisement du substrat carboné (Amarne, 2005). En deuxième lieu nous nous intéresserons au modèle qui prend en considération l'effet d'inhibition par le produit sur la croissance de la biomasse et la consommation du substrat ainsi que le produit par la variation des paramètres en fonction du pH dans le modèle de Monod (Fu et Mathews, 1999).

III.5.1 Cas du pH contrôlé

III.5.1.1 Cinétique de croissance

D'après les résultats expérimentaux de Amrane (2002) il a été remarqué que les trois premières phases de croissance (adaptation, exponentielle, décélération) constituent la **première partie (Figure III.3)** dont chaque phase est représentée par un modèle mathématique. Le modèle de la troisième phase est un modèle logistique qui peut décrire la croissance bactérienne des trois premières phases (**partie 1**) (Diaz et al., 1999 ; Amrane, 2005). Ensuite en l'absence de la phase stationnaire (Milieu Riche (MR), en anglais (Rich Medium (RM)), la **deuxième partie** correspond à la phase de déclin (**Figure III.3**) qui est représentée par un modèle non structuré (Amarne, 2002). La combinaison des deux parties, donne la cinétique de croissance globale (**voir chapitre V**).

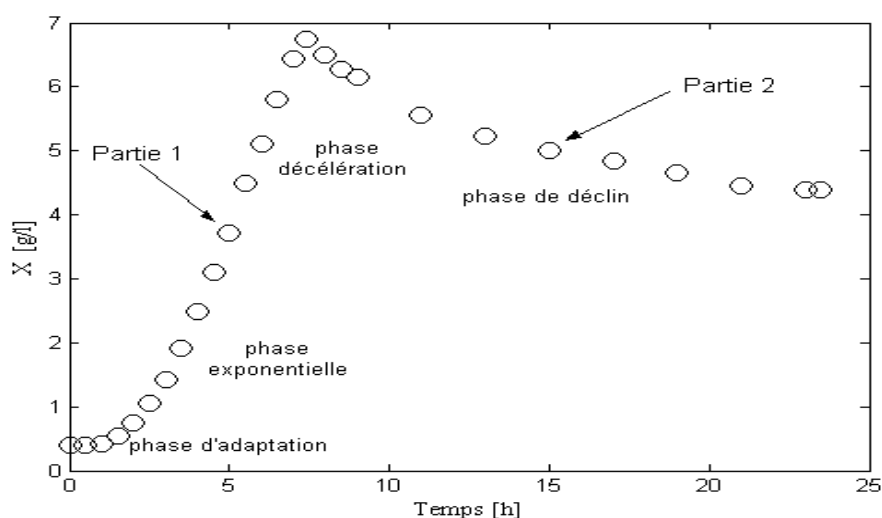


Figure III.3: Cinétique de croissance de *Lactobacillus helveticus* (Amarne, 2002).

a) La première partie

L'attention étant fixée sur la croissance de la bactérie lactique *Lactobacillus helveticus*, durant les trois premières phases de la croissance, à savoir celles de latence, exponentielle et exponentielle décélérée. Notons que la production de l'acide lactique est essentiellement liée à ces trois phases.

L'estimation des phases de croissance microbienne représente une importance primordiale, étant donné que la production est directement ou partiellement liée à la croissance des bactéries (Diaz et al., 1999).

La croissance de la bactérie peut être représentée par des lois simples, pour les bioréacteurs en batch, les cinétiques sont modélisées par l'équation (III.9) :

$$\frac{dX}{dt} = \mu X$$

Quand seulement la concentration de biomasse est évaluée pendant la croissance, le coefficient μ peut être modélisé en fonction du temps ou en fonction de X . La dernière approche a été employée puisqu'elle permet l'explication des relations possibles entre μ et la variable d'état. Trois modèles linéaires $\mu = f(x)$ ont été considérés pour représenter les trois premières phases de croissance (Diaz et al., 1999) :

1. Modèle 1 (phase de latence)

Cette phase correspond à l'adaptation de la biomasse à leur nouveau milieu et les conditions physico-chimiques. Aucune augmentation de la concentration de la biomasse n'a été observée pendant la phase de latence (Amrane, 2005) :

$$X = X_0 \quad (\text{III.56})$$

Pendant cette phase, une valeur nulle est alors notée pour le taux de croissance dX / dt , aussi bien que pour μ .

$$\mu = 0 \quad (\text{III.57})$$

2. Modèle 2 (phase exponentielle)

Le taux de croissance est constant et maximal (Diaz et al., 1999) :

$$\mu(X) = \mu_{\max} \quad (\text{III.58})$$

Donc l'équation de la dynamique devient (Diaz et al., 1999):

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} X \quad (\text{III.59})$$

et l'intégration de l'équation (III.59) donne :

$$X = X_0 e^{\mu_{\max} t} \quad (\text{III.60})$$

La phase exponentielle est produite quand les conditions environnementales sont favorables sans la présence d'inhibition. La majeure partie de la biomasse est produite pendant cette phase. Le but du biologiste est d'augmenter la durée de cette phase afin de produire autant de biomasse possible à un taux de croissance donné. Comme le modèle précédent, ce modèle peut seulement décrire une partie de culture puisqu'elle est d'un type exponentiel (Diaz et al., 1999).

3. Modèle 3 (phase décélération)

Durant cette phase on note une diminution linéaire du taux de croissance spécifique en fonction de la concentration de biomasse ; ce qui est représenté par l'équation suivante :

$$\mu(X) = \mu_{\max} \left(1 - \frac{X}{X_{\max}} \right) \quad (\text{III.61})$$

Le modèle dynamique décrivant cette phase est alors :

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} \left(1 - \frac{X}{X_{\max}} \right) X \quad (\text{III.62})$$

Ce modèle de Verhulst est connu comme étant un modèle logistique, il représente le taux de croissance limitant la biomasse. L'intégration de l'équation (III.62), qui est une équation de Riccati, donne la solution suivante (Diaz et al., 1999 ; Amrane, 2005 ; Balannec et al., 2007) :

$$X = \frac{X_0 e^{\mu_{\max} \cdot t}}{1 - \frac{X_0}{X_{\max}} (1 - e^{\mu_{\max} \cdot t})} \quad (\text{III.63})$$

La phase de décélération ou phase de freinage qui semble intervenir au fur et à mesure que le substrat s'épuise ou l'accumulation des produits qui à partir d'une certaine concentration commencent à inhiber (ou ralentir) la croissance (Diaz et al., 1999). Ce modèle logistique, qui peut représenter la croissance globale des trois premières phases de croissance, implique la connaissance des trois paramètres: X_0 , μ_{\max} , X_{\max} .

- **Transformations des variables**

Les transformations simples des variables facilitent la distinction, sur la représentation graphique, des différentes phases de croissance.

1. Modèle 1 (phase de latence)

Comme nous l'avons vu précédemment la première phase est caractérisée par un simple modèle :

$$Y = X \quad (\text{III.64})$$

Où ($X = X_0$)

2. Modèle 2 (phase exponentielle)

L'équation (III.60) peut être réarrangée comme suit (Diaz et al., 1999):

$$\ln(X) = \mu_{\max} t + \ln(X_0) \quad (\text{III.65})$$

de telle manière que, pendant la phase exponentielle, les points $Y = \ln(X)$ en fonction du temps représentent une ligne droite avec la pente μ_{\max} et l'ordonné à l'origine $\ln(X_0)$.

3. Modèle 3 (phase décélération)

Le réarrangement de l'équation (III.63) donne (Diaz et al., 1999):

$$\ln\left(\frac{X}{X_{\max} - X}\right) = \mu_{\max} t + \ln\left(\frac{X_0}{X_{\max} - X_0}\right) \quad (\text{III.66})$$

Ainsi en traçant $Y = \ln(X / (X_{\max} - X))$ en fonction du temps on obtient une ligne droite, de pente μ_{\max} et d'ordonnée à l'origine $\ln(X_0 / (X_{\max} - X_0))$, pour toutes les données évoluant selon le modèle 3.

b) La deuxième partie

La cinétique de croissance suit une loi exponentielle décélérée (Amrane, 2002):

$$X = (X_{\max} - X_{res})e^{(-K_d(t-t_2))} + X_{res} \quad (\text{III.67})$$

La dérivée de l'équation précédente donne :

$$\frac{dX}{dt} = (X_{\max} - X_{res})[-K_d e^{(-k_d(t-t_2))}] \quad (\text{III.68})$$

Où : X_{\max} , X_{res} , t_2 , K_d sont respectivement la concentration maximale, concentration résiduelle cellulaire, le temps à la fin de la production de l'acide lactique ($t_2=7,43h$) et la constante de la mortalité des cellules.

Les paramètres de cette phase, équation (III.67), peuvent également être déduits sur la base des données expérimentales à l'aide d'une méthode d'optimisation (**voir chapitre IV**).

III.5.1.2 Cinétiques de production et de consommation

Amrane et Prigent (1994) ont ajouté un terme correctif dans l'équation de Luedeking et Piret :

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X [1 - e^{-F\mu}] \quad \text{(III.69)}$$

Où F est constante additionnelle dans le terme de correction.

Le terme correctif F n'a aucune signification biologique évidente. Il a été récemment démontré que ce paramètre empirique caractérise la concentration d'azote utilisé par le milieu.

Par conséquent pour améliorer le modèle, il serait intéressant de tenir compte de la cinétique de la consommation de la source limitante du substrat (la source du carbone), puisque les travaux précédents par Amrane et Prigent (1997) ont démontré que l'arrêt de la production coïncide toujours avec l'épuisement du lactose.

Le terme correctif F de l'équation précédente a été remplacé par une expression tenant compte de la limitation de substrat :

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \left(1 - \frac{S_{res}}{S}\right) \quad \text{(III.70)}$$

Récemment, l'expression ci-dessus a été améliorée par Bouguettoucha et al. (2007) par l'introduction de la concentration limitante du lactose S_{lim} , au lieu de la concentration résiduelle du lactose S_{res} .

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \left(1 - \frac{S_{lim}}{S}\right) \quad \text{(III.71)}$$

Où S et S_{lim} sont respectivement la concentration au temps t et la fin de l'expérience.

Le rendement du produit d'acide lactique par rapport au substrat (lactose) est donné par la relation suivante :

$$Y_{P/S} = \frac{P - P_0}{S_0 - S} \quad (\text{III.72})$$

Où $Y_{P/S}$ est le rendement du produit par rapport au substrat consommé et S_0, P_0 sont les concentrations initiales du substrat et du produit.

Le taux de la production peut être exprimé en fonction de la concentration de l'acide lactique P, en introduisant l'équation (III.72) dans l'équation (III.71) :

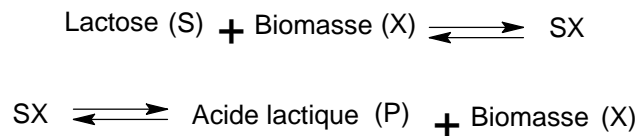
$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \left[1 - \frac{S_{\text{lim}} Y_{P/S}}{S_0 Y_{P/S} + P_0 - P} \right] \quad (\text{III.73})$$

Donc à partir de la relation du rendement, on déduit la vitesse de consommation du substrat :

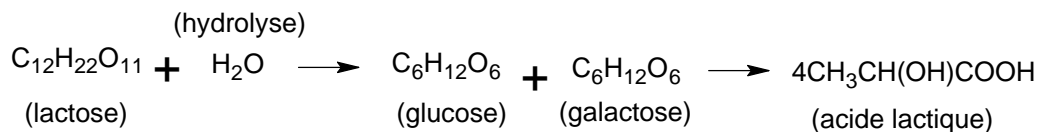
$$S = S_0 - \left(\frac{P - P_0}{Y_{P/S}} \right) \quad (\text{III.74})$$

III.5.2 Effet de pH

La vitesse de croissance de la biomasse dépend principalement de la température, le pH, la concentration du substrat et la concentration du produit. Avec le lactose comme un substrat, le processus peut être décrit par le mécanisme général des bioréactions :



dont la réaction est:



Le rendement de la conversion complète pour cette réaction est de 105% (W/W). Le rendement réel est environ 90-99%(W/W). Quand il n'y a pas d'inhibition par le produit et n'a pas de limitations nutritionnelles, la vitesse de croissance des cellules à la température et pH donnés est décrite par l'équation de Monod (1942):

$$\frac{1}{X} \frac{dX}{dt} = \mu = \frac{\mu_{\text{max}} S}{K_S + S} \quad (\text{III.75})$$

Toutefois, lorsque la concentration de l'acide lactique (P) augmente, le pH du milieu diminuera d'où la croissance bactérienne est inhibée. C'est un facteur important qui peut être

considéré dans la modélisation des cinétiques de croissance des cellules. Plusieurs études ont développé des modèles non structurés qui prennent en compte ce facteur (Fu et Mathews, 1999).

Puisque l'effet d'inhibition du produit (l'acide lactique) est principalement dû à l'action des ions $[H^+]$, le pH peut être utilisé comme un paramètre de base dans les modèles de la cinétique de croissance de la biomasse selon l'équation suivante (Fu et Mathews, 1999):

$$\mu X = \frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max}(pH)SX}{K_S(pH) + S} \quad (\text{III.76})$$

Dans cette équation, μ_{\max} , K_S sont des paramètres variant en fonction du pH. Les relations fonctionnelles pour $\mu_{\max}(pH)$, $K_S(pH)$, peuvent être obtenues à partir des données expérimentales pour les différentes valeurs de pH.

La vitesse de consommation est la suivante:

$$\frac{dS}{dt} = \frac{-X}{Y_{X/S}(pH)} \frac{\mu_{\max}(pH)S}{K_S(pH) + S} \quad (\text{III.77})$$

Où $Y_{X/S}$ est le rendement de la biomasse par rapport au substrat carboné (S) qui varie en fonction du pH ; qui est défini par l'équation suivante :

$$X = Y_{X/S}(pH)(S_0 - S) + X_0 \quad (\text{III.78})$$

La concentration du produit (P) est reliée à la concentration du substrat (S) par la relation suivante :

$$P = Y_{P/S}(pH)(S_0 - S) + P_0 \quad (\text{III.79})$$

Où $Y_{P/S}$ est le rendement du produit par rapport au substrat, P_0, S_0, X_0 sont respectivement les valeurs initiales du produit, du substrat et la concentration de la biomasse.

Les équations (III.76-III.79) peuvent être utilisées pour décrire le processus de la fermentation lactique. Les équations (III.76) et (III.77) sont des équations non linéaires, et les équations (III.78) et (III.79) sont des équations linéaires (Fu et Mathews, 1999).

Conclusion

D'après ce chapitre on peut tirer les conclusions suivantes :

- la cinétique de croissance est décrite par cinq phases : adaptation, exponentielle, exponentielle de décélération, stationnaire, et de déclin,
- il existe plusieurs modèles non structurés qui décrivent bien la cinétique de croissance et la production de l'acide lactique. Selon les auteurs, ces modèles dépendent de plusieurs paramètres tels que : le pH, l'inhibition par le produit et/ou le substrat ainsi que la concentration de la biomasse etc...,
- Presque la majorité de ces modèles sont basés sur des modifications du modèle de Monod et Luedeking et Piret. Par ailleurs un modèle logistique est fréquemment utilisé pour décrire les trois premières phases de croissance de l'adaptation jusqu'à la phase de décélération,
- Nous avons retenu deux modèles dans nos travaux, le premier cas prend en compte uniquement la concentration de la biomasse pour la cinétique de croissance des différentes phases de croissance et la limitation du substrat carboné pour la cinétique de production. Le deuxième cas considère l'effet du pH sur la cinétique de croissance et la consommation du substrat ainsi que la production de l'acide lactique.

Chapitre IV: Identification des paramètres des modèles

Introduction

L'identification du système est l'un des problèmes essentiels de l'optimisation des bioréacteurs. Identifier ces processus, c'est déterminer la valeur des paramètres, intervenant dans le modèle qui décrit d'une manière aussi satisfaisante que possible l'évolution des différentes concentrations.

Il existe de nombreuses méthodes, dont la plupart ont été appliquées aux processus de fermentation. Elles consistent, à partir d'un modèle mathématique, avec des valeurs initiales appropriées des paramètres, à l'améliorer (à améliorer le modèle), itérativement en faisant évoluer les paramètres pour minimiser une fonctionnelle de l'écart entre les valeurs expérimentales et les valeurs fournies (celles estimées par le modèle) par le calcul à l'aide du modèle (Queinnec, 2000).

Dans ce chapitre, nous traiterons le problème d'identification des paramètres cinétiques des modèles à partir des données expérimentales. Nous introduirons d'abord le principe général de l'optimisation paramétrique ensuite nous estimerons les paramètres cinétiques de nos modèles en utilisant deux routines d'optimisation : la méthode des moindres carrés utilisant la fonction « Lsqcurvefit » et la méthode Gaussienne.

IV.1 Principe de la méthode

Les paramètres pouvant être identifiés ayant été exhibés de par l'étude de l'identifiabilité du modèle, l'identification proprement dite peut être entreprise, à partir d'une campagne de mesures sur le site expérimental. D'un point de vue général, l'identification des paramètres de modèles se fait par des **méthodes itératives d'essais-erreurs**, en minimisant à chaque itération une **fonction objectif** représentant l'écart entre les sorties mesurées du processus et les sorties du modèle (**Figure IV.1**):

1. les paramètres du modèle sont fixés à des valeurs initiales arbitraires, mais admissibles.
2. le modèle est simulé afin de reconstruire les mesures disponibles à chaque étape de mesures.
3. L'écart ε_i , entre résultats expérimentaux et simulés, est calculé à chaque étape de mesures afin d'obtenir le vecteur $\varepsilon = [\varepsilon_1 \dots \dots \dots \varepsilon_n]$, où n est le nombre de mesures.
4. Les valeurs des paramètres du modèle sont identifiées de manière à minimiser une certaine fonction d'erreur $f(\varepsilon)$ (fonction objectif), généralement quadratique, et on retourne à l'étape 2.

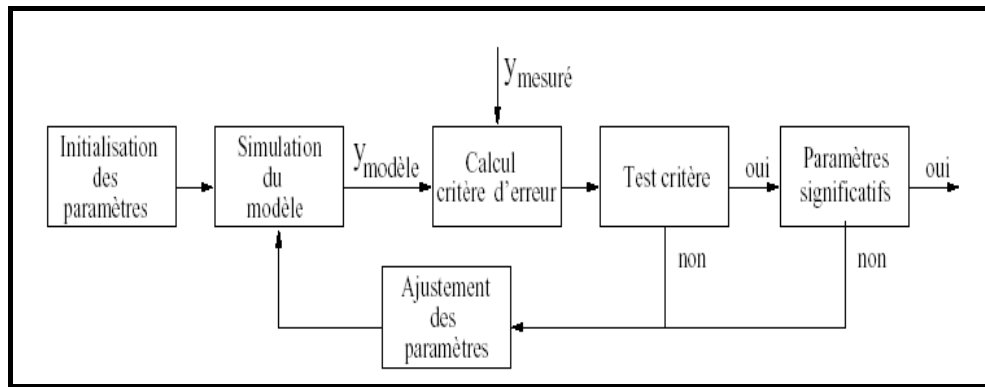


Figure IV.1 : Processus itératif d'identification (Queinnec, 2000).

La minimisation de la fonction objectif est un problème d'optimisation non linéaire, pour lequel diverses méthodes ont été appliquées avec succès dans le cadre des procédés biochimiques. Citons à titre d'exemples:

- les techniques séquentielles, en particulier la méthode du Simplexe de Nelder et Mead (1965), qui utilisent des formes géométriques pour explorer la surface d'optimisation.
- Les méthodes de gradient basées sur les dérivations partielles de la fonction à minimiser par rapport aux paramètres recherchés. La méthode de Levenberg et Marquardt donne lieu à de nombreuses applications (**voir l'annexe A**).
- La fonction d'écart la plus généralement retenue est la somme des carrés des écarts (méthode des moindres carrés).
- Parmi les algorithmes d'identification, les plus performants sont ceux qui font intervenir les fonctions de **sensibilité** comme par exemple l'algorithme de **Gauss-Newton (Annexe A)**.
- Durant les dernières années, de nouvelles techniques d'optimisation plus récentes comme les algorithmes génétiques ont fait leur apparition pour l'estimation des paramètres cinétiques du modèle (Ray Dutta et al., 2005).

IV.2 Cas du pH contrôlé

Les modèles mathématiques déjà analysés dans le troisième chapitre (cf. III.5.1), sont les suivants:

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} \left(1 - \frac{X}{X_{\max}} \right) X \quad (\text{IV.1})$$

$$X = \frac{X_0 e^{\mu_{\max} \cdot t}}{1 - \frac{X_0}{X_{\max}} (1 - e^{\mu_{\max} \cdot t})} \quad (\text{IV.2})$$

$$X = (X_{\max} - X_{res}) e^{(-K_d(t-t_2))} + X_{res} \quad (\text{IV.3})$$

$$\frac{dP}{dt} = \alpha \frac{dX}{dt} + \beta X \left[1 - \frac{S_{\lim} Y_{P/S}}{S_0 Y_{P/S} + P_0 - P} \right] \quad (\text{IV.4})$$

$$S = S_0 - \left(\frac{P - P_0}{Y_{P/S}} \right) \quad (\text{IV.5})$$

Nous avons donc, huit paramètres à identifier qui sont :

$$X_0, \mu_{\max}, X_{\max}, K_d, X_{res}, \alpha, \beta, Y_{P/S}$$

- **Les données expérimentales**

Les paramètres cinétiques des modèles ont été déterminés sur la base des données expérimentales, et c'est pour cette raison que nous avons pris les résultats de Amrane (2002) de la croissance d'une bactérie lactique *Lactobacillus helveticus* à pH contrôlé comme un exemple de référence.

Cet auteur a réalisé une fermentation lactique en discontinue (batch), utilisant un milieu contenant du petit lait en poudre comme source de carbone constitué de 57 g/l, correspondant à une concentration du lactose de 48 g/l. Avant l'emploi, le perméat est clarifié à chaud par le calcium. La solution est laissée pour se décanter à 4°C durant toute la nuit, puis on lui a ajoutée 20 g/l d'extrait de levure, 5 g/l de peptones de caséine (tryptique et pancréatiques) pour le milieu de préculture, et 10 g/l de l'extrait de levure (YE) pour le milieu de culture. Ils ont utilisé une souche du *Lactobacillus helveticus* de milano. Les cultures ont été maintenues sur 10 % du lait écrémé et surgelé à -16 °C. Ces cultures ont été dégelées et réactivées dans 10 % du lait écrémé à 42 °C pendant 24 h. Les bactéries étaient precultivées (9h) sur un milieu stérile de préculture. Puis 1600 ml de milieu de culture pasteurisé étaient inoculés avec 200

ml de préculture, et la réaction a été réalisée à 42 °C. Le pH a été maintenu à 5.9 par ajout automatique de NaOH d'une concentration 10 molaires.

IV.2.1 Méthodes numériques de résolutions

Pour identifier les paramètres cités ci-dessus et ajuster les courbes théoriques aux résultats expérimentaux, nous avons utilisé deux routines d'optimisation : la méthode des moindres carrés utilisant la fonction « **Lsqcurvefit** » mise à disposition dans le module optimisation de Matlab pour l'estimation des paramètres cinétiques (X_0 , μ_{\max} , X_{\max} , K_d , X_{res}) des modèles représentant la cinétique de croissance, puis la méthode de **Gauss-Newton** incluant une intégration numérique par la méthode de Runge-Kutta d'ordre 4 pour l'identification des paramètres α , β de la cinétique de production.

IV.2.1.1 Algorithme d'optimisation utilisant la fonction (lsqcurvefit)

Cette routine d'optimisation est basée sur une résolution par la méthode des moindres carrés en utilisant la fonction « Lsqcurvefit¹ » disponible sur Matlab. Le schéma suivant décrit les étapes générales de la routine d'optimisation :

Algorithme d'optimisation des paramètres utilisant la fonction « Lsqcurvefit »

Etape 1 :

Données d'entrée :

Valeur d'initialisation des concentrations

Valeurs d'initialisation des différents paramètres que l'on souhaite « optimiser »

Nom du fichier expérimental

Etape 2 :

Routine d'optimisation : utilisation de la fonction « Lsqcurvefit »

(disponible dans le module « optimisation » de Matlab :

Comparaison des données expérimentales avec celles obtenues par le modèle utilisé

Utilisation de la méthode des moindres carrés

Détermination des paramètres cinétiques

Etape 3 :

Affichage des résultats :

Affichage des paramètres optimisés

Affichage de la fonction ajustée (déterminée à partir des paramètres optimisés)

¹ Toute la documentation de la fonction « **Lsqcurvefit** » est sur : le help du Matlab (le module d'optimisation)

Les étapes précédentes de l'algorithme ont été programmées sur Matlab pour obtenir les paramètres cinétiques cités ci-dessus.

IV.2.1.2 Algorithme de Gauss-Newton

La problématique est la suivante : nous avons n couples de mesures (P_i, t_i) , avec $i=1, \dots, n$. Il s'agit d'estimer le vecteur des paramètres \mathbf{a} , à partir de l'équation différentielle qui décrit le processus (IV.4). Pour cela, nous avons fait appel à une méthode itérative de Gauss-Newton, l'intégration numérique de l'équation différentielle est faite par la méthode de Runge-Kutta d'ordre 4. Cette méthode itérative d'optimisation permet le calcul d'un nouveau jeu des paramètres a_i , à partir de l'ancien jeu a_{i-1} , du vecteur des écarts et de la matrice des dérivées partielles $(\frac{\partial P}{\partial a})$ pour tous les points expérimentaux. L'itération est arrêtée lorsque la somme des carrés des écarts entre valeurs calculées et mesurées est minimale, c'est à dire la fonction objectif est inférieure à la tolérance.

Les dérivées partielles $(\frac{\partial P}{\partial a})$ se calculent de la manière suivante : l'expression de $\frac{dP}{dt}$ est dérivée par rapport aux paramètres, puis le résultat est intégré numériquement par la méthode de Runge-Kutta (c'est-à-dire par rapport au temps t). En effet, l'équation variationnelle a la forme la suivante:

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\partial P}{\partial a} \right) = \frac{\partial}{\partial a} \left(\frac{dP}{dt} \right) \quad (\text{IV.6})$$

L'intégration numérique, par rapport au temps, donne donc bien les dérivées partielles. Une étude de sensibilité est très importante, lorsque le processus physique est représenté par des équations non linéaires, car il est souvent difficile de se rendre compte de l'influence des variations de tel paramètre sur l'évolution des variables du système. De plus, les paramètres apparaissant dans le modèle mathématique sont estimés d'après les expériences et ne sont donc connus qu'avec une certaine approximation.

L'utilisation de la formule de Gauss-Newton consiste à un développement au premier ordre en série de Tylor autour de a_i , ce qui donne la formule d'itération suivante :

$$(A^t A) \Delta a = A^t D \quad (\text{IV.7})$$

$$D = \begin{bmatrix} P_{i1} - P_1 \\ P_{i2} - P_2 \\ \vdots \\ P_{in} - P_n \end{bmatrix} \quad (\text{IV.8})$$

Dans cette relation, Δa est la différence entre les valeurs estimées des paramètres a_{i+1} et a_i , A est la matrice des dérivées partielles $(\frac{\partial P}{\partial a})$ et A' sa matrice transposée, et P_i représente le vecteur des points expérimentaux et P correspond à un vecteur des valeurs prédites du modèle pour des valeurs des paramètres estimés. Nous avons développé donc un programme mettant en jeu l'algorithme décrit ci-dessus pour déduire, à partir des données de la cinétique de production, les paramètres α , β .

IV.3 Effet de pH

Les modèles déjà analysés dans le troisième chapitre (cf. III.5.2) sont les suivants :

$$\frac{dS}{dt} = \frac{-X}{Y_{X/S}(pH)} \frac{\mu_{\max}(pH)S}{K_S(pH) + S} \quad (\text{IV.9})$$

$$\frac{dX}{dt} = \frac{\mu_{\max}(pH)SX}{K_S(pH) + S} \quad (\text{IV.10})$$

$$X = Y_{X/S}(pH)(S_0 - S) + X_0 \quad (\text{IV.11})$$

$$P = Y_{P/S}(pH)(S_0 - S) + P_0 \quad (\text{IV.12})$$

Les paramètres de ce modèle (μ_{\max} , K_S , $Y_{X/S}$ et $Y_{P/S}$) ont été estimés par la méthode de Gauss-Newton.

- **Les données expérimentales**

Pour l'estimation des paramètres cinétiques des modèles, nous avons pris les résultats de Fu et Mathews (1999) pour la cinétique de croissance en discontinue (batch) de *Lactobacillus plantarum* de la fermentation du petit lait sous des conditions aérobies et anaérobies pour une gamme de valeurs du pH.

Ces auteurs ont utilisé la bactérie *Lactobacillus plantarum* dans un milieu expérimental de lactose synthétique, ayant la composition suivante : 40 g/l de lactose, 10 g/l de peptone, 5g/l d'extrait de levure, 0.75 g/l de NH_4HCO_3 ; 0.1 g/l de MgSO_4 ; 0.05 g/l de MnSO_4 ; 2 g/l de K_2PO_4 . Le pH final du milieu a été ajusté selon les conditions expérimentales nécessaires avec deux solutions dont l'une est acide (HCl, 1N) et l'autre basique (NaOH, 1N). Les

milieux expérimentaux ont été stérilisés à une température de 121°C, pendant 15 minutes avant inoculation.

Les expériences de fermentation ont été réalisées dans un fermenteur à 2 L avec une vitesse d'agitation de 150 tr/min et à une température de 37°C. Le pH a été maintenu aux valeurs souhaitées en employant un contrôleur de pH (avec l'addition automatique de NaOH).

Les expériences de la fermentation anaérobies étaient réalisées en absence de l'aération, le niveau de l'oxygène du milieu est entre 0.15-0.2 mg/l au début de la fermentation, et proche de zéro après 4-6 h de la fermentation.

Les débits d'air s'étendent de 0.5 à 1 vvm ont été utilisés pendant les études de la fermentation aérobie. Les milieux utilisés sont identiques dans les deux cas (Fu et Mathews, 1999).

IV.3.1 Algorithme de Gauss-Newton utilisé

Afin d'utiliser ce modèle, les paramètres cinétiques μ_{\max} , K_S , $Y_{X/S}$ et $Y_{P/S}$, doivent être spécifiés. Ces paramètres ont été optimisés en considérant la fonction objectif (Q) suivante, qui représente la somme des carrés des écarts entre les valeurs observées et les valeurs prédites:

$$Q = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - S)^2}{n}} \quad (\text{IV.13})$$

S est le vecteur des concentrations du substrat prédites par le modèle, et S_i le vecteur des données expérimentales du substrat.

L'utilisation des concentrations du substrat (S), à la place de la concentration de la biomasse (X) ou celle du produit (P), dans la fonction objectif, a été choisie pour plusieurs raisons, dont la première peut être liée au fait que X et P sont fonctions de S (équations IV.11 et IV.12) et la deuxième est due à la bonne précision des mesures de S plutôt que X ou P.

La fonction objectif donnée par l'équation (IV.13) est minimisée en utilisant la méthode Gaussienne. Cette méthode exige le développement des équations de la sensibilité par rapport aux paramètres suivants : μ_{\max} , K_S , $Y_{X/S}$.

Les équations (IV.14- IV.16) considérées dans cette analyse sont les suivantes (Fu et Mathews, 1999):

$$\frac{dS}{d\mu_{\max}} = -\frac{S_0 Y_{X/S}(pH) + X_0}{Y_{X/S}(pH)(K_S(pH)/S + (b/X))} t \quad (\text{IV.14})$$

$$\frac{dS}{dY_{X/S}} = \frac{(K_S(pH) + S_0) \ln(X/X_0) - K_S(pH) \ln(S/S_0) - \mu_{\max}(pH) S_0 t + ((S_0 - S)b/X)}{((Y_{X/S}(pH)b/X) + (c/S))} \quad (\text{IV.15})$$

$$\frac{dS}{dK_S(pH)} = \frac{Y_{X/S} \ln(X/X_0) - \ln(S/S_0)}{(b/XY_{X/S}) + (c/S)} \quad (\text{IV.16})$$

Où $b = (K_S(pH) + S_0) Y_{X/S}(pH) + X_0$

$$c = K_S(pH) Y_{X/S}(pH) \quad (\text{IV.17})$$

$$d = \mu_{\max}(pH) [S_0 Y_{X/S}(pH) + X_0]$$

Ces équations (IV.14- IV.16) sont obtenues sur la base du modèle de Monod intégré. On remarque que les sensibilités par rapport aux différents paramètres, μ_{\max} , K_S , $Y_{X/S}$, ne sont pas linéaires.

L'écart entre les valeurs des concentrations expérimentales du substrat et celles calculées pour donner les valeurs des paramètres peuvent être obtenues par le développement au premier ordre en série de Taylor autour des paramètres. Le résultat de l'expression est donné par l'équation (IV.18):

$$S_i - S = \Delta\mu_{\max} \frac{dS}{d\mu_{\max}} + \Delta K_S \frac{dS}{dK_S} + \Delta Y_{X/S} \frac{dS}{dY_{X/S}} \quad (\text{IV.18})$$

La solution de cette équation est donnée par:

$$(A^t A) \Delta a = A^t D \quad (\text{IV.19})$$

Où : A et D sont des matrices données par les équations (IV.20) et (IV.21), respectivement.

$$A = \begin{bmatrix} \frac{dS_1}{d\mu_{\max 1}} & \frac{dS_1}{dK_{S1}} & \frac{dS_1}{dY_{X/S1}} \\ \frac{dS_2}{d\mu_{\max 2}} & \frac{dS_2}{dK_{S2}} & \frac{dS_2}{dY_{X/S2}} \\ \frac{dS_n}{d\mu_{\max n}} & \frac{dS_n}{dK_{Sn}} & \frac{dS_n}{dY_{X/Sn}} \end{bmatrix} \quad (\text{IV.20})$$

$$D = \begin{bmatrix} S_{i1} - S_1 \\ S_{i2} - S_2 \\ \vdots \\ S_{in} - S_n \end{bmatrix} \quad (\text{IV.21})$$

Les S_i sont des données expérimentales et les S correspondent aux valeurs prédites du modèle.

Ces valeurs prédites du modèle du substrat sont obtenues par l'intégration numérique des équations différentielles (IV.9) et (IV.10) par une méthode numérique disponible sur Matlab «**ode15s**». Le procédé d'estimation des paramètres commence par des valeurs initiales supposées pour les trois paramètres, ensuite pour n'importe quelle itération, les valeurs des paramètres sont ajustées en utilisant un vecteur Δa de terme de correction (IV.22) obtenu par la solution de l'équation (IV.19). Ce procédé sera répété jusqu'à ce que le critère de tolérance pour minimiser la fonction objectif (équation (IV.13)) soit satisfaisant.

Les valeurs des paramètres initiales utilisées dans cette analyse sont tirées des données cinétiques de la fermentation lactique par la bactérie *Lactobacillus debruckii* (Fu et Mathews, 1999):

$$\Delta a = \begin{bmatrix} \Delta \mu_{\max} \\ \Delta K_S \\ \Delta Y_{X/S} \end{bmatrix} \quad (\text{IV.22})$$

Dans la pratique, l'utilisation unique du facteur m de Δa pour corriger les valeurs des paramètres de la prochaine itération est très efficace pour assurer la convergence.

La correction du terme a est donné par:

$$a_{i+1} = a_i + m\Delta a \quad (\text{IV.23})$$

Où : a_i et a_{i+1} représentent les valeurs du paramètre a obtenus aux itérations i et $i+1$ respectivement.

Les étapes précédentes de la méthode de Gauss-Newton appliquées à notre deuxième modèle ont été programmées sur Matlab. L'algorithme suivant donne les étapes principales de ce programme:

Algorithme « Gauss-Newton » d'optimisation des paramètres cinétiques**Etape 1 :****Données d'entrée :**

Valeurs d'initialisation des différentes concentrations de la biomasse, substrat ainsi que l'acide lactique

Valeurs d'initialisation des différents paramètres que l'on souhaite « optimiser »

Nom du fichier expérimental

Etape 2 :**Intégration numérique des équations différentielles par « ode15s » disponible sur Matlab**

Résoudre les deux équations (équations IV.9 et IV.10) pour avoir les couples (S, t) et (X, t)

Etape 3 :**Résolution du système matriciel :**

Calculer la matrice des dérivées partielles (équation IV.20) pour avoir Δa à partir de la relation suivante:

$$(A^t A)\Delta a = A^t D$$

Etape 4 :**Calcul les nouvelles valeurs des paramètres :**

Les nouvelles valeurs des paramètres sont estimées à partir de la relation suivante (eq IV.23):

$$a_{i+1} = a_i + m\Delta a$$

Etape 5 :**Test d'arrêt :**

Reprendre à partir de l'étape 2 jusqu'à satisfaction du critère d'arrêt qui s'écrit :

$$\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_i - S)^2}{n}} < \varepsilon$$

Donc, Le processus itératif continu jusqu'à ce que la fonction objectif soit inférieure à la tolérance.

Etape 6 :**Affichage des résultats :**

Affichage des paramètres optimisés

Affichage de la fonction ajustée (déterminée à partir des paramètres optimisés)

Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons retenu deux algorithmes d'identification paramétrique qui minimisent la somme des carrés :

- le premier étant l'algorithme des moindres carrés utilisant la fonction « Lsqcurvefit »
- le deuxième étant l'algorithme de Gauss-Newton qui est basé sur la sensibilité du modèle par rapport aux paramètres.

Les résultats de ces routines seront présentés dans le chapitre cinq.

Chapitre V: Résultats et Discussions

V Introduction

Dans ce chapitre, nous présenterons les résultats obtenus avec les deux cas à l'aide des méthodes de Gauss-Newton et Lsqcurvefit, qui ajustent les courbes théoriques et les résultats expérimentaux et ce en optimisant les paramètres des modèles.

V.1 Cas du pH contrôlé

V.1.1 Estimation des paramètres

Les deux méthodes d'optimisation que nous avons développé précédemment permettent de déterminer les paramètres optimisés (ou optimums) de chaque modèle (cf.IV.2) et ainsi ajuster les courbes théoriques aux résultats expérimentaux. Les valeurs optimisées sont données par le **tableau V.1** suivant :

Tableau V.1 : Les paramètres optimaux estimés pour la fermentation lactique avec *Lactobacillus helveticus*.

Paramètres	X_0	μ_{\max}	X_{\max}	K_d	X_{res}	α	β	$Y_{P/S}$
Valeurs	0.1777	0.7407	7.8700	0.1582	4.2092	2.3552	1.2003	0.9185

Tous les paramètres optimisés ont une signification biologique évidente.

V.1.2 Analyse de la cinétique de la première partie (phases : adaptation, exponentielle, décélération)

Pendant la première phase de latence (**Figure V.1 a**), on constate une augmentation très faible de la concentration de la biomasse qui reste voisine de sa valeur initiale jusqu'à $t_e = 1$ h c'est-à-dire le début de la phase exponentielle (**modèle 1, équation III.56**). Cette phase correspond à l'adaptation de la biomasse aux nouvelles conditions physico-chimiques et au nouveau milieu. D'après la **Figure (V.1 a)** on observe que la durée de cette phase, de croissance de la bactérie *Lactobacillus helveticus*, est très courte. Ceci est dû à l'âge des bactéries inoculées. Lorsque des cellules jeunes de quelques heures, sont introduites dans un milieu neuf, la phase de latence peut être extrêmement courte ; elle est, au contraire, retardée avec des bactéries provenant d'une culture en phase stationnaire ou en phase de déclin (Amrane, 1991 ; Amrane, 2005).

Lorsque les conditions environnementales sont favorables pour un taux de croissance spécifique maximum (μ_{\max}), le modèle de la phase exponentielle (**modèle 2, équation III.60**)

donne une meilleure description de la culture jusqu'à $t_d=5h$ c'est-à-dire le début de la phase exponentielle décélération (**Figure V.1 b**). Pendant cette phase, il n'y a aucun signe d'inhibition. À la fin de cette phase, la concentration de la biomasse (X) est égale à $X_d=3.71g/l$.

Pendant la phase de décélération, qui commence à partir de 5 h, l'accumulation du produit synthétisé n'est pas responsable de la diminution du taux de croissance comme il a été montré par Amrane (2001), ce qui correspond au ralentissement de la croissance par épuisement du substrat (Amrane, 2005).

Un modèle logistique (**modèle 3, équation III.63**), qui décrit la croissance des trois premières phases de croissance de t_0 jusqu'au temps final de la phase exponentielle décélération t_f qui est égal à $t_f=7.43h$ où la concentration de la biomasse ($X=6.73 g/l$) a été testé. Nous constatons que ce modèle simule mieux ces phénomènes de croissance (**Figure V.1 c**). On note d'après cette figure une bonne concordance entre les résultats expérimentaux et ceux prédits par ce modèle, qui est représenté par l'équation suivante :

$$\frac{dX}{dt} = 0.177 \left(1 - \frac{X}{7.8} \right) X \quad (\text{V.1})$$

V.1.2.1 Transformation des variables

La **Figure V.2 (a-c)**, illustrent les domaines de validité des trois modèles. Dans la première phase, l'équation dynamique qui décrit la phase de latence est une équation linéaire simple de type $Y = X$ [**équation III.64**]. La deuxième transformation concerne la phase de croissance exponentielle où on calcule $\ln(x)$ ($Y = \ln(X)$, **équation III.65**), qui est représentée par une droite de pente μ_{\max} et d'ordonnée à l'origine ($\ln(X)$).

La troisième transformation $Y = \ln\left(\frac{X}{X_{\max} - X}\right)$ [**équation III.66**] exige que X_{\max} soit connu. Celle-ci a besoin d'un ajustement pour être réalisée en utilisant des données expérimentales de X en fonction du temps [**équation III.63**] ou un changement manuel de X maximum en utilisant un curseur fixé sur l'affichage, cette dernière technique permet une détermination visuelle de X maximum.

Les deux premières transformations de linéarisation des phases d'adaptation et exponentielle sont assez simples et efficaces pour déterminer les domaines de transition entre les phase1/phase 2 et phase2/phase3.

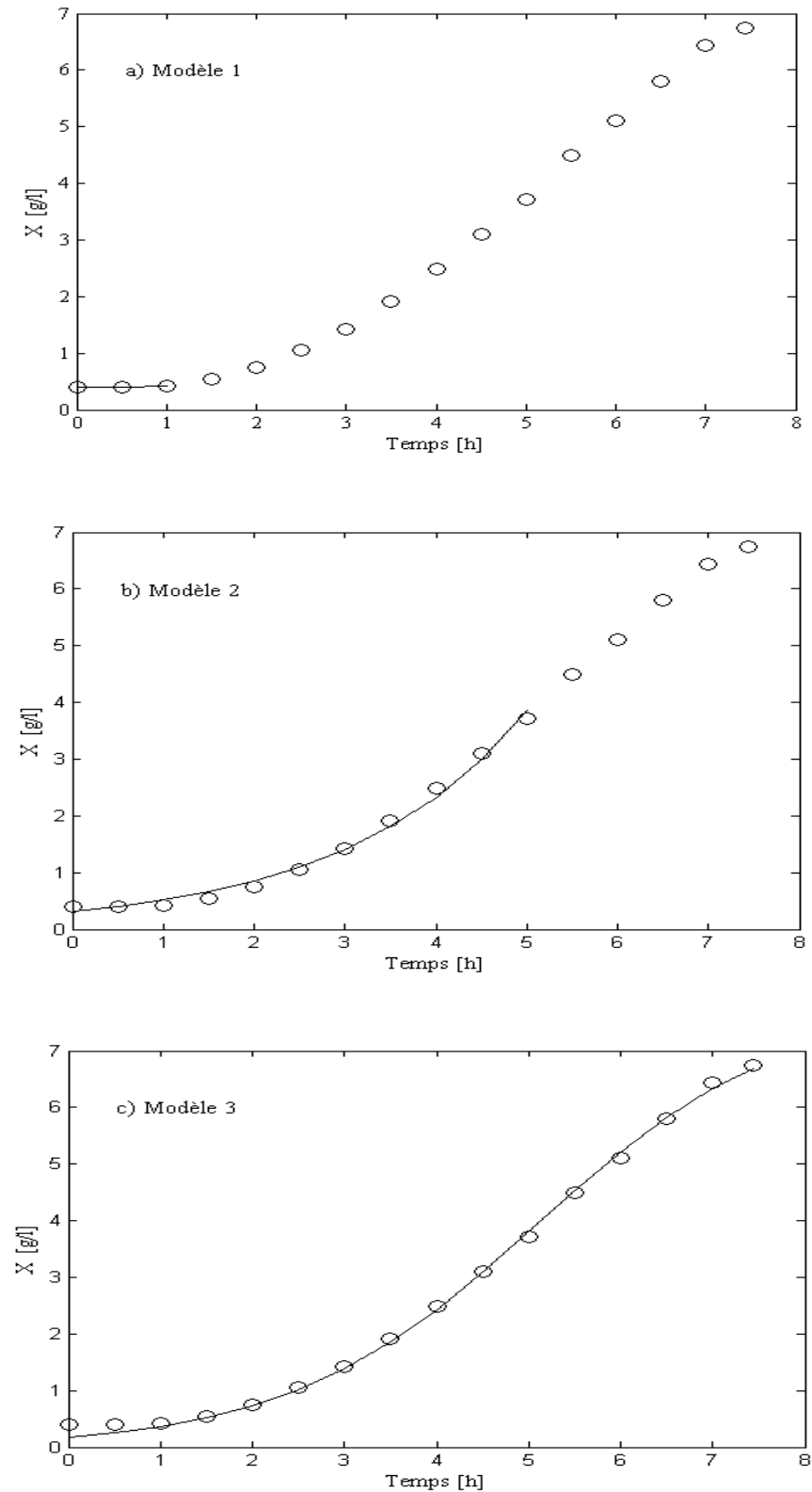


Figure V.1: La cinétique de croissance de *Lactobacillus helveticus* à pH contrôlé (pH=5.9).
Domaines de validité de trois modèles (les trois premières phases de croissance).
(o) résultats expérimentaux (Amrane, 2002), (—) résultats calculés à partir des modèles
(algorithme d'optimisation).

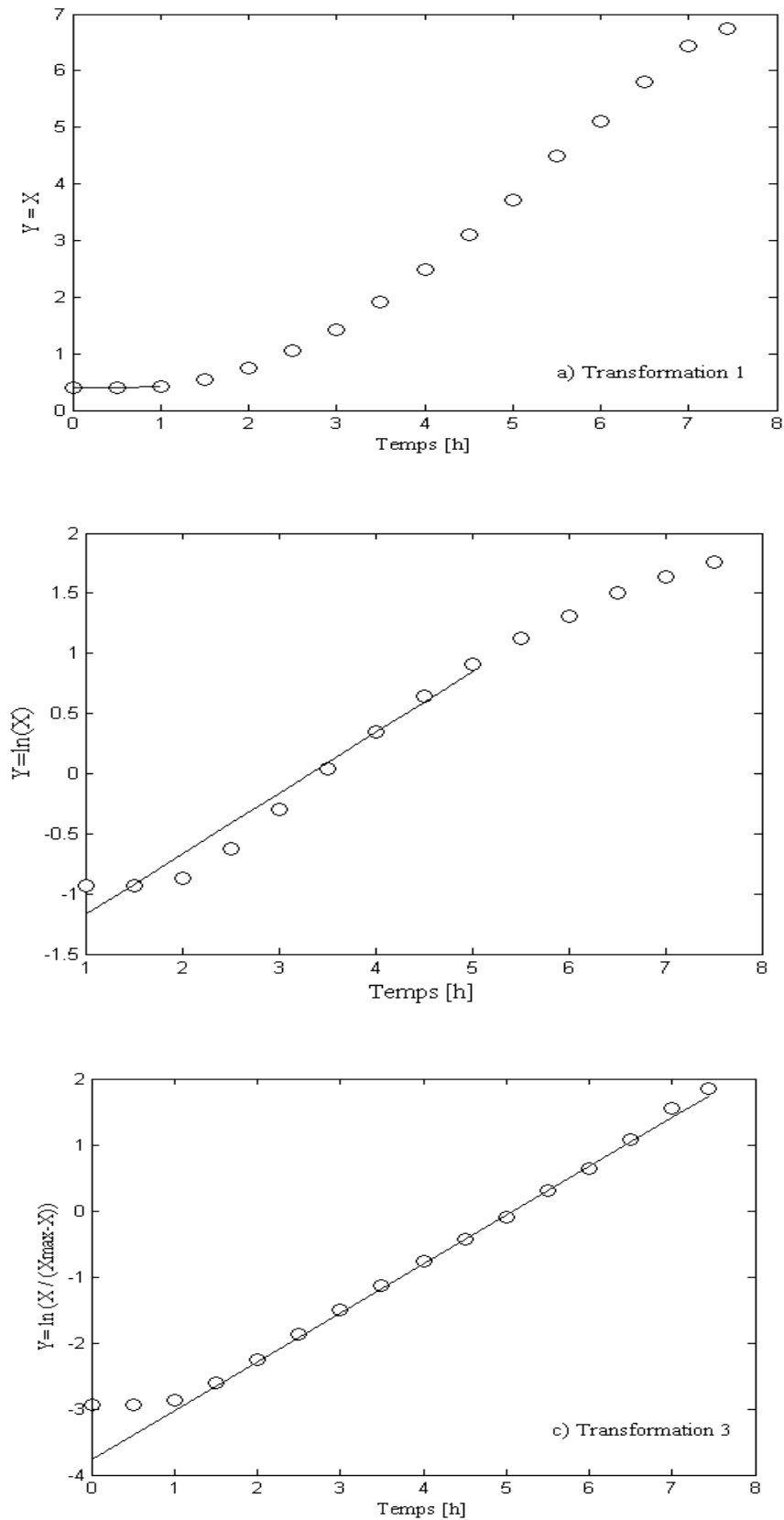


Figure V.2: Transformations liée aux trois modèles.
 (Trois phases de croissance : latence, exponentielle, décélération).
 (o) résultats expérimentaux (Amrane, 2002), (—) résultats calculés à partir des modèles
 (algorithme d'optimisation).

La **figure (V.3)** donne une représentation globale de la transition entre les trois premières phases de croissance (adaptation, exponentielle, décélération):

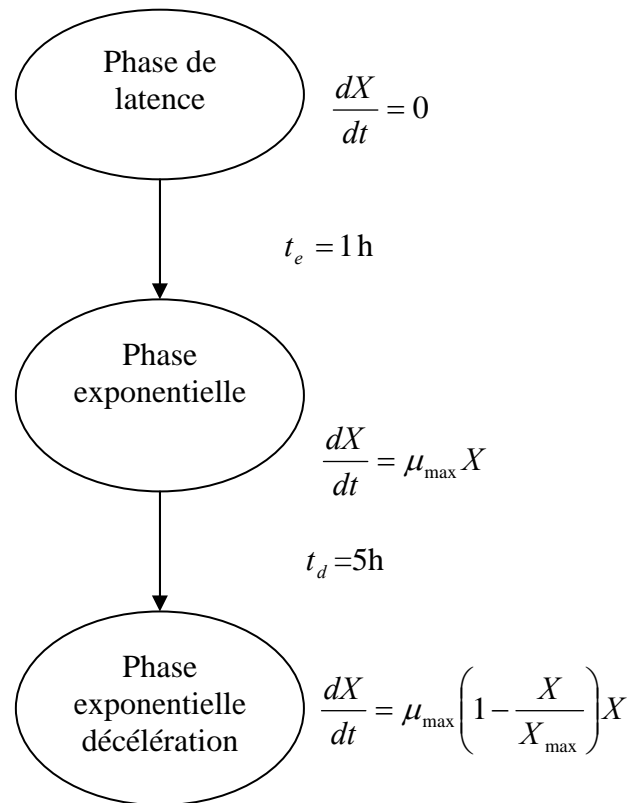


Figure V.3 : Représentation globale de la transition entre les trois premières phases de croissance (partie I).

V.1.2.2 L'écart standard

La **Figure (V.4)** montre l'écart standard entre les données expérimentales (X_0, \dots, X_N) , et celles calculées par le modèle logistique de la troisième phase décélération (modèle 3) $(X_0^{i,N}, \dots, X_N^{i,N})$.

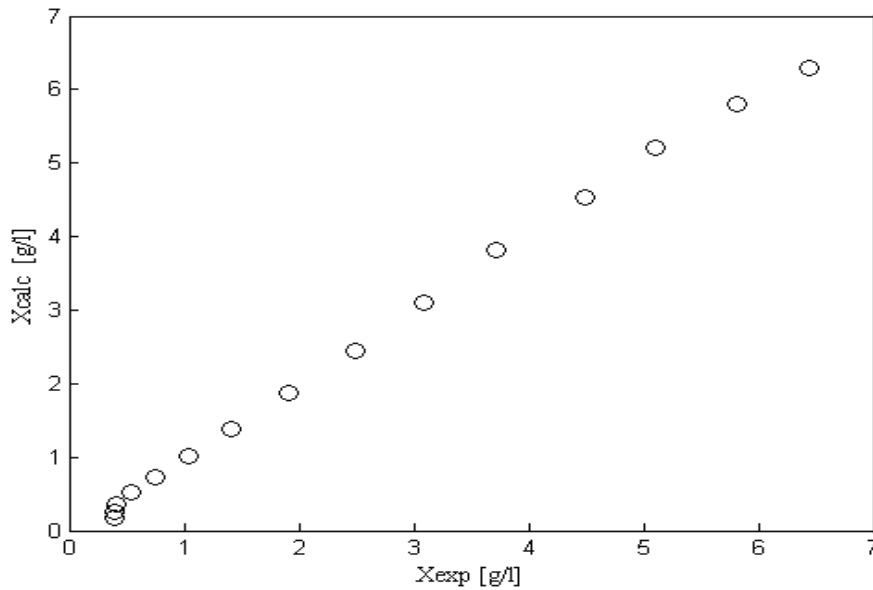


Figure V.4 : L'écart entre les données expérimentales et ceux de la simulation utilisant le modèle trois estimé à la troisième phase de décélération (Equation (III.63)).

V.1.2.3 Détermination du taux de croissance spécifique

Il s'avère que le contrôle du taux de croissance (μ) dans un bioréacteur est d'une importance majeure pour la synthèse de produits microbiens (Diaz et al., 1999). Il est également bien connu que le calcul du taux de croissance a été obtenu à partir des données expérimentales en faisant la moyenne des pentes de deux points de repères adjacents comme suit (Amrane, 2005) :

$$\frac{1}{X_i} \frac{dX_i}{dt_i} = \frac{1}{2X_i} \left(\frac{X_{i+1} - X_i}{t_{i+1} - t_i} + \frac{X_i - X_{i-1}}{t_i - t_{i-1}} \right) \quad (\text{V.2})$$

L'utilisation des modèles et le calcul du taux de croissance en utilisant des meilleurs modèles [équations (III.58), (III.61)] donnent une estimation beaucoup plus précise de μ (Figure V.5).

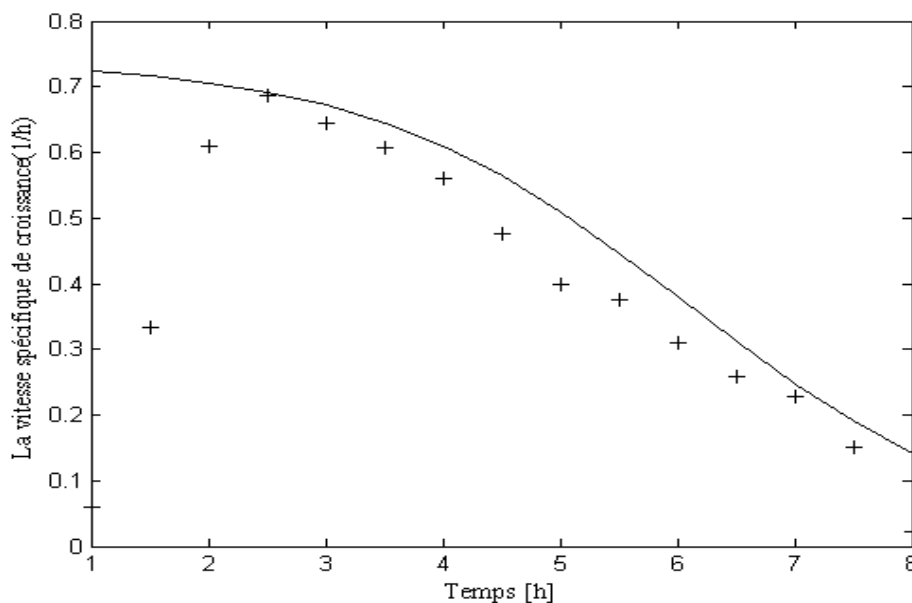


Figure V.5 : Les valeurs du taux de croissance spécifique évalué à partir de deux données expérimentales successives (+) et celles calculées par le modèle logistique (Equation (III.61)) (—).

V.1.2.4 Représentation globale

Aucune partie de la biomasse n'est produite pendant la première phase $\mu=0$ et la plupart d'entre elles est produite pendant la deuxième phase. La **(Figure V.5)** représente le taux de croissance calculé entre deux mesures successives de la concentration de biomasse, et le taux de croissance calculé par le modèle estimé au temps final (t_f) de la phase de décélération [équation (V.1)] en fonction de la concentration de la biomasse. Malgré que le système soit non linéaire **(Figure V.5)**, lorsqu'on trace μ en fonction de X , on constate une diminution linéaire **(Figure V.6)**.

Le modèle estimé à la fin de la phase exponentielle de décélération représente l'évolution globale de la biomasse dans les trois phases de croissance.

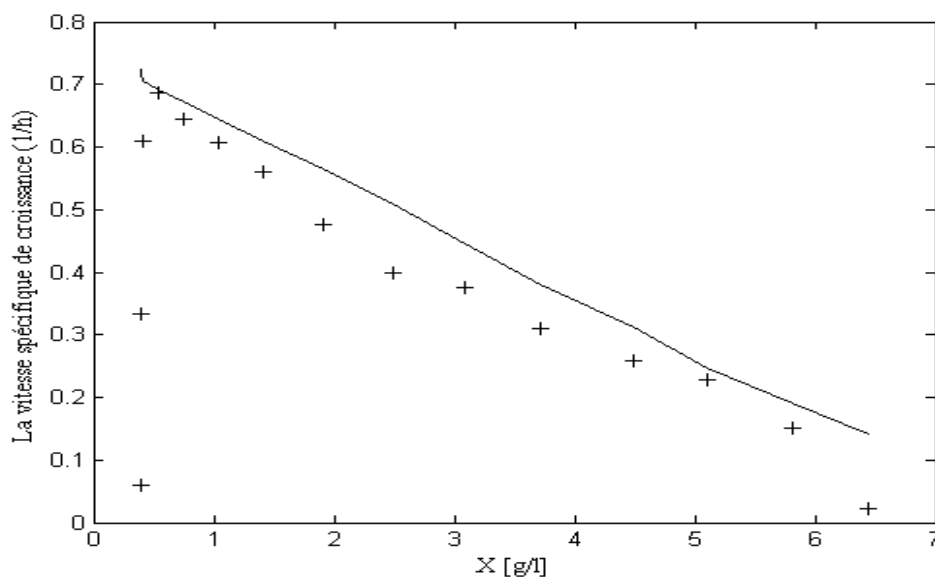


Figure V.6 : Les valeurs du taux de croissance spécifique évalué à partir de deux données expérimentales successives (+) et celles calculées par le modèle logistique (Equation (III.61)) (—).

V.1.3 Analyse de la cinétique de la deuxième partie (phase de déclin)

La **Figure (V.7)**, qui correspond à la phase de déclin, montre une diminution de la concentration de la biomasse. Durant cette phase, le nombre des cellules viables diminue à cause de l'augmentation du taux de mortalité des bactéries suite à l'autolyse sous l'action des enzymes des cellules elles-mêmes. On voit bien d'après la figure (V.7) que les résultats calculés par l'équation représentant la phase de déclin [équation (III.67)] sont en accord avec ceux obtenus expérimentalement par Amrane (2002).

V.1.4 La combinaison des deux parties

En fin de compte la combinaison des deux modèles à savoir le modèle de Verhulst [équation (III.63)] et le modèle de la phase de déclin [équation (III.67)] donne un bon ajustement avec les résultats expérimentaux (**Figure V.8**).

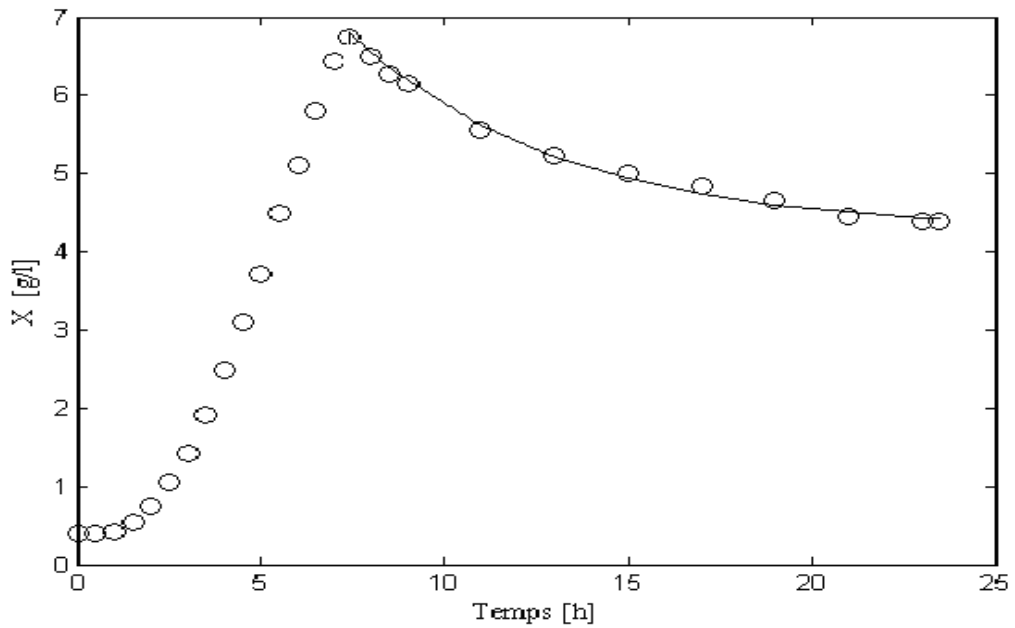


Figure V.7 : Cinétique de croissance de *Lactobacillus helveticus*.
 (o) résultats expérimentaux (Amrane, 2002), (—) la phase de déclin ajustée par les paramètres optimaux estimés à l'aide d'un algorithme d'optimisation (modèle de la phase de déclin (Equation (III.67))).

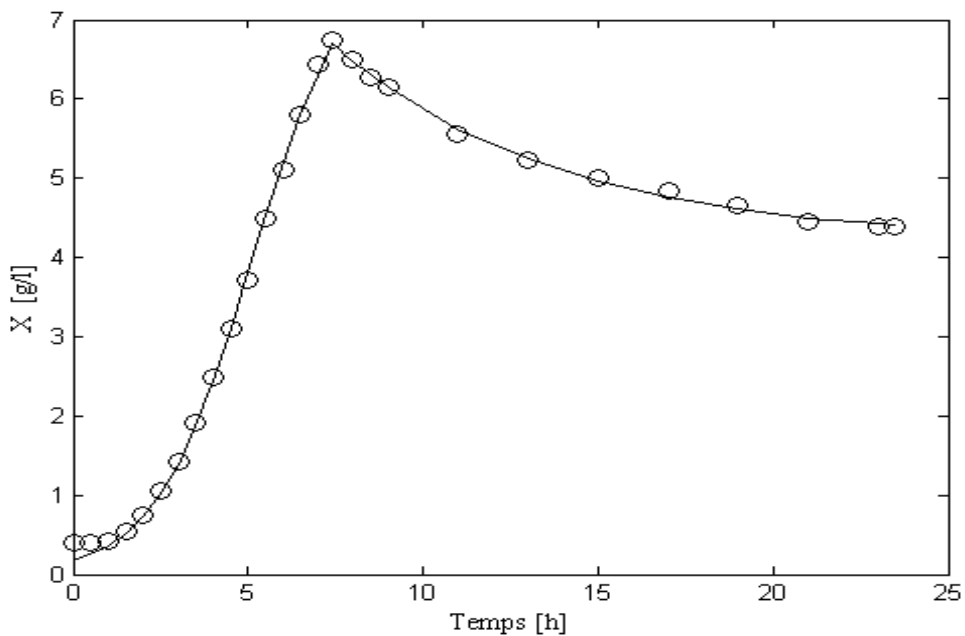


Figure V.8 : Cinétique de croissance globale de *Lactobacillus helveticus* à l'aide de deux expressions (le modèle logistique et le modèle de la phase de déclin) (—),
 (o) résultats expérimentaux (Amrane, 2002).

V.1.5 Cinétiques de production et de consommation

Les **Figures (V.9 et V.10)** de la production d'acide lactique et la consommation du substrat respectivement montrent une augmentation de la production d'acide lactique accompagnée d'une diminution de la consommation du substrat. D'après ces courbes la production d'acide lactique sera donc interrompue puisque tout le lactose a été consommé, ce qui correspond au début de la mortalité des cellules (autolyse).

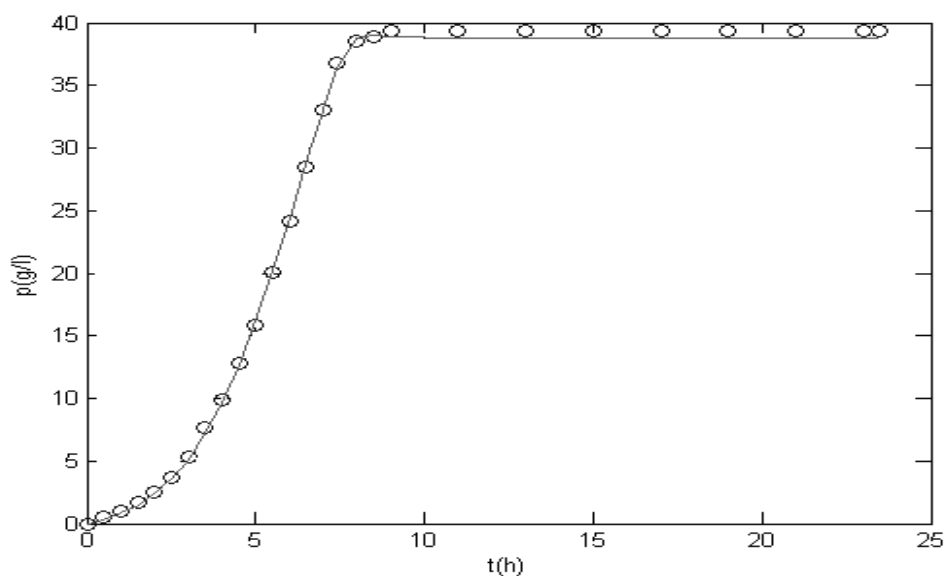


Figure V.9 : Cinétique de la production d'acide lactique.
(o) résultats expérimentaux (Amrane, 2005), (—) résultats calculés à partir d'algorithme d'optimisation (Equation (III.73)).

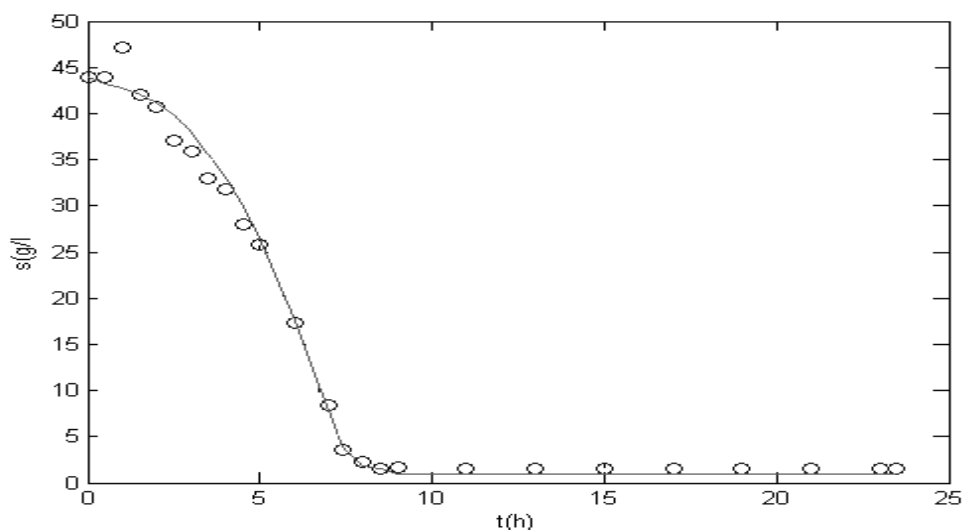


Figure V.10 : Cinétique de la consommation du lactose.
(o) résultats expérimentaux (Amrane, 2005), (—) résultats calculés à partir d'algorithme d'optimisation (Equation (III.74)).

D'après les deux Figures (V.9 et V.10), on voit bien que les courbes ajustées obtenues par le programme d'optimisation et les concentrations expérimentales sont très proches, ce qui traduit un écart quadratique bien minimisé par la fonction d'optimisation et montre que les modèles décrivent bien le comportement dynamique des micro-organismes.

V.2 Effet de pH

V.2.1 L'effet du pH dans les cultures discontinues

La **Figure (V.11)** présente les données expérimentales obtenues par Fu et Mathews (1999) de la fermentation lactique en batch avec un milieu du lactose à différentes valeurs du pH qui varient de 4 à 7. Cette figure montre que le bas pH de 4 inhibe fortement la croissance des cellules alors que les valeurs les plus élevées du pH de 5 à 7, sont favorables pour la croissance des bactéries.

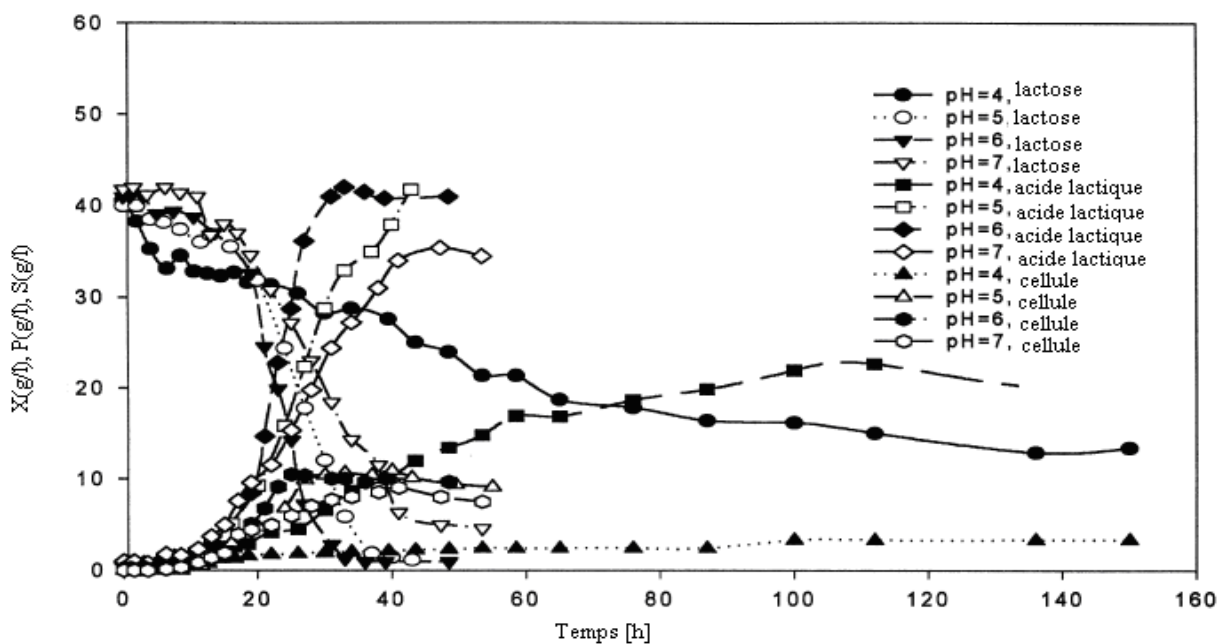


Figure V.11 : Effet du pH sur la fermentation discontinue du lactose sous des conditions anaérobies. Les données expérimentales (Fu et Mathews, 1999).

Ces résultats montrent que les concentrations de l'acide lactique et la biomasse atteignent des valeurs maximales pour un pH qui se situe entre 5-6 (11g/l pour la concentration de l'acide lactique et 40g/l pour la concentration de la biomasse). Donc le pH optimal de la croissance de la bactérie *Lactobacillus plantarum* est de l'intervalle 5 à 6.

Les vitesses de consommation du lactose aux différentes valeurs du pH sont montrées dans la **Figure (V.11)**. La formation de l'acide lactique continue jusqu'à épuisement du lactose. Dans le cas de pH égal à 4, où l'acidité est très élevée, la consommation du lactose est très faible; le lactose n'est épuisé qu'après une semaine de fermentation. Pour un pH optimal (5 à 6), l'épuisement complet du lactose est d'une durée faible. La croissance des microorganismes bascule vers la phase de déclin, juste après l'épuisement du substrat.

Fu et Mathews (1999) ont expliqué que l'effet du pH sur la croissance de la biomasse est dû, en partie, aux deux concentrations de formes dissociées et non dissociées de l'acide lactique.

Plusieurs recherches ont montré que les deux concentrations de l'acide lactique dissocié et non dissocié ont des effets d'inhibition, dans lesquels on peut citer les travaux effectués par Fu et Mathews (1999). Ces auteurs ont noté que la forme non dissociée est la plus inhibitrice. La valeur du pKa de l'acide lactique est de 3.86. La relation entre $[L^-]$ dissocié et non dissocié $[HL]$ est donnée par l'équation suivante:

$$pKa = pH - \log\left(\frac{[L^-]}{[HL]}\right) \quad (\text{V.3})$$

La concentration de l'acide lactique dans la fermentation du lactose est environ 50 g/l, et la concentration molaire totale d'acide est calculée par la formule (Fu et Mathews):

$$[L^-] + [HL] = 50 \text{ g/l} = 0.555 \text{ M} \quad (\text{V.4})$$

D'après les deux équations (V.3) et (V.4), et pour un pH=5, le pourcentage de l'acide lactique totalement dissocié est 93.2%, ce qui signifie que seulement 6.8% sont non dissocié. Cependant, lorsque le pH diminue jusqu'à 4, l'acide lactique non dissocié peut atteindre 42% de la concentration totale (initiale). Ce qui explique en partie la raison pour laquelle une faible vitesse de croissance est obtenue pour des valeurs de pH faibles. Ainsi, la bactérie *Lactobacillus plantarum* continue de croître jusqu'à un pH de 4, avec une faible vitesse.

D'autre part, lorsque le pH est de 7, ce qui n'est pas favorable à la bactérie, les vitesses de croissance et de consommation ainsi que la production d'acide lactique sont considérablement réduites.

Il est évident qu'à partir des équations (V.3) et (V.4) et quand le pH est supérieur à 6, l'acide lactique dans le milieu est presque totalement dissocié. L'effet d'inhibition augmente quand même si l'acide lactique est dans la forme dissociée ou non dissociée.

Les concentrations des ions $[H^+]$, $[OH^-]$ dans l'intervalle du pH de 4 à 8 sont beaucoup plus petites que les espèces d'acide lactique basées sur les équations (V.3 et V.4). Les concentrations des espèces d'acide lactique varient en fonction du pH [équation (V.3)], d'où les effets d'inhibitions d'acide lactique dissocié ou non dissocié peuvent être reliés à la variation du pH. Ces effets peuvent être adaptés dans le modèle cinétique par la variation déterminante des paramètres cinétiques en fonction du pH (Fu et Mathews).

V.2.2 Modèle cinétique et estimation des paramètres

Les données expérimentales obtenues par Fu et Mathews (1999) de la fermentation sous des conditions anaérobies avec les valeurs du pH variant de 4 à 7 ont été utilisées pour obtenir les valeurs des paramètres du modèle en fonction du pH. Les données expérimentales typiques pour la consommation du lactose et la production de l'acide lactique s'accordent avec des valeurs prédites du modèle (Figures V.12-V13).

Sachant que d'après certains résultats de la littérature qui stipulent l'existence de limitations, cette approche semble fournir une bonne estimation des paramètres de la fermentation lactique en utilisant la bactérie *Lactobacillus plantarum*.

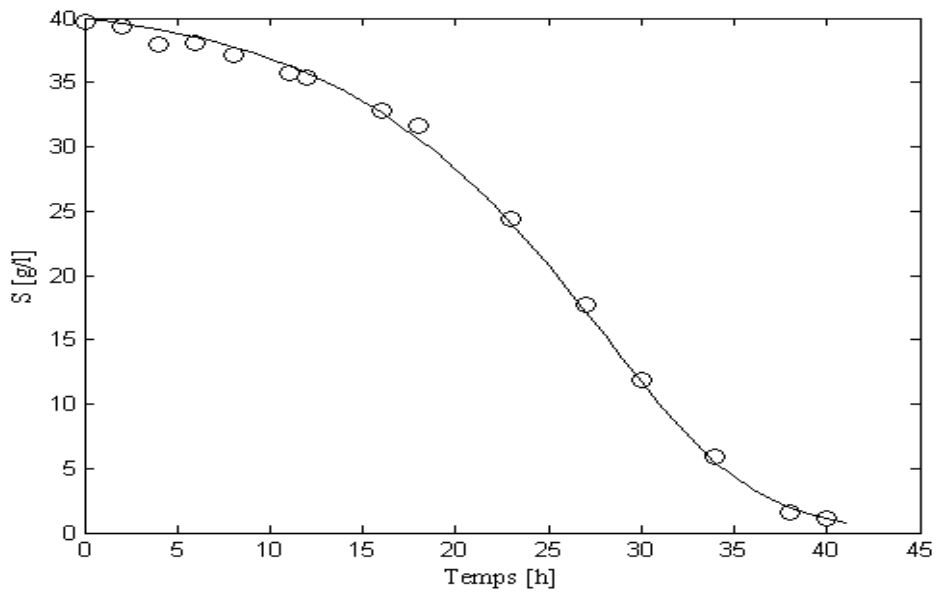


Figure V.12: Cinétique de la consommation du lactose (pH=5).

(o) résultats expérimentaux (Fu et Mathews, 1999), (—) résultats calculés à partir de l'algorithme d'optimisation (Equation (III.77)).

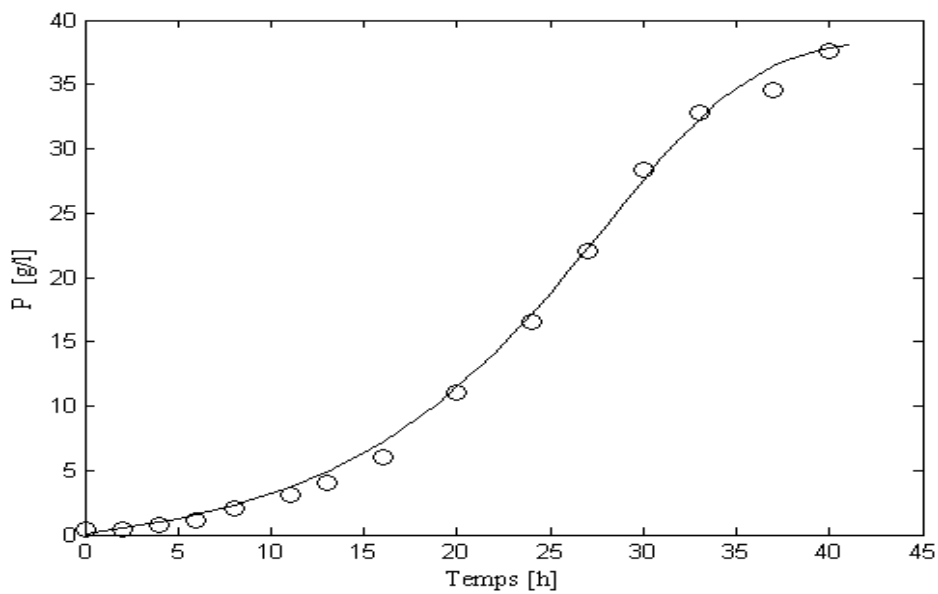


Figure V.13 : Cinétique de la production d'acide lactique (pH=5).

(o) résultats expérimentaux (Fu et Mathews, 1999), (—) résultats calculés à partir de l'algorithme d'optimisation (Equation (III.79)).

Les valeurs optimales de l'ensemble des paramètres déterminés par une méthode de régression non linéaire et celles obtenues par Fu et Mathews (1999) (algorithme d'optimisation) sont mentionnées dans le **Tableau (V.2)**. Nous constatons que les valeurs des paramètres cinétiques des modèles obtenues à la base des données expérimentales de Fu et Mathews (1999) ne sont pas très éloignées comparés aux résultats obtenus par ces auteurs pour un pH d'intervalle 6-7 sauf pour le pH=4 dont l'écart minimisé par la fonction objectif est grand, même si on utilise et on remplace les mêmes valeurs de Fu et Mathews (1999) dans l'équation différentielle, tandis que le pH=5 (optimal) celui ci présente des paramètres qui concordent bien avec ceux de Fu et Mathews (1999) (**voir Tableau V.2**).

Ces écarts peuvent être liés en fait à la sensibilité d'acquisition des données expérimentales à l'aide du logiciel qui nous avons utilisé (*Get Data Graphe Digitizer*), ou bien à la méthode numérique utilisée. On note que Fu et Mathews ont utilisé la méthode de Runge-Kutta pour la résolution des équations différentielles alors que nous avons utilisé la méthode «ode 15s» disponible sur Matlab.

Fu et Mathews (1999) ont remarqué que les valeurs des rendements de la biomasse par rapport au substrat carboné ($Y_{X/S}$) mentionnés n'indiquent pas la quantité exacte du substrat qui a été transformée en produit, parce que le milieu utilisé dans la fermentation anaérobie ne contient pas seulement le lactose, mais aussi le peptone et l'extrait de levure. Ces matériaux contiennent des protéines, des vitamines et d'autres éléments nutritionnels nécessaires pour la croissance de la bactérie *Lactobacillus plantarum*.

La relation entre la consommation du lactose et la production de l'acide lactique est bien décrite par l'**équation (IV.12)**. Une relation linéaire est indiquée, avec un rendement d'environ **1** pour toutes les valeurs du pH, sauf pour le pH=4.

On observe que pour une faible valeur du pH=4, le rendement de la biomasse par rapport au substrat carboné est très faible comparé au rendement du produit qui atteint **0.724** d'après Fu et Mathews (1999). Selon ces auteurs, cette valeur (0.724) est due en fait à la consommation du substrat au début de la fermentation sous une faible valeur du pH et est principalement utilisée pour la croissance et la maintenance de la biomasse.

Après la phase initiale d'adaptation, le rendement du produit par rapport au substrat augmente à 1.03 (W/W) environ. Ceci est également valable pour les valeurs du pH allant de 5 à 7. Le rendement théorique maximum est de 1.05 (W/W). D'après les données expérimentales, les rendements estimés varient entre 0.95 et 1.03. Ceci indique qu'une fois les bactéries adaptées à des conditions environnementales, le rendement du produit est

essentiellement constant. En d'autres termes, les valeurs faibles du pH peuvent significativement réduire les vitesses de la croissance de la biomasse, mais le coefficient de rendement du produit ne sera pas affecté de la même manière (Fu et Mathews, 1999).

L'ensemble des paramètres optimaux sont corrélés en tenant compte du pH du milieu par les équations empiriques suivantes (Fu et Mathews, 1999):

$$\mu_{\max} = 0.523 \exp(-0.106(pH - 5.0)^2) - \frac{0.265}{0.614 + (pH - 4.0)} \quad (\text{V.5})$$

$$K_S = 0.605 \exp(0.85(pH - 5.0)^2) + \frac{106.4}{0.65 + (pH - 4.0)} \quad (\text{V.6})$$

$$Y_{P/S} = 1.036 \exp(-0.092(pH - 6.0)^2) \quad (\text{V.7})$$

Tableau V.2: Les paramètres optimaux estimés pour la fermentation lactique avec *Lactobacillus plantarum*.

pH	μ_{\max}	K_S	$Y_{X/S}$	$Y_{P/S}$
pH=4	0.20	175	0.05	0.99
(Fu et Mathews, 1999) pH=4	0.0072	178.0	0.005	0.724
pH=5	0.38	49	0.45	0.97
(Fu et Mathews, 1999) pH=5	0.382	49	0.45	0.98
pH=6	0.39	40	0.40	1.05
(Fu et Mathews, 1999) pH=6	0.364	44.4	0.39	1.02
pH=7	0.29	30	0.30	0.99
(Fu et Mathews, 1999) pH=7	0.29	45.0	0.27	0.95

Les Figures (V.14-V16) représentent les évolutions du taux de croissance et de la constante de saturation ainsi que le rendement du produit en fonction du pH à partir des corrélations (V.5-V.7), qui varie de 4 à 7. Ces figures montrent également l'intervalle du pH optimal qui se situe entre 5-6.

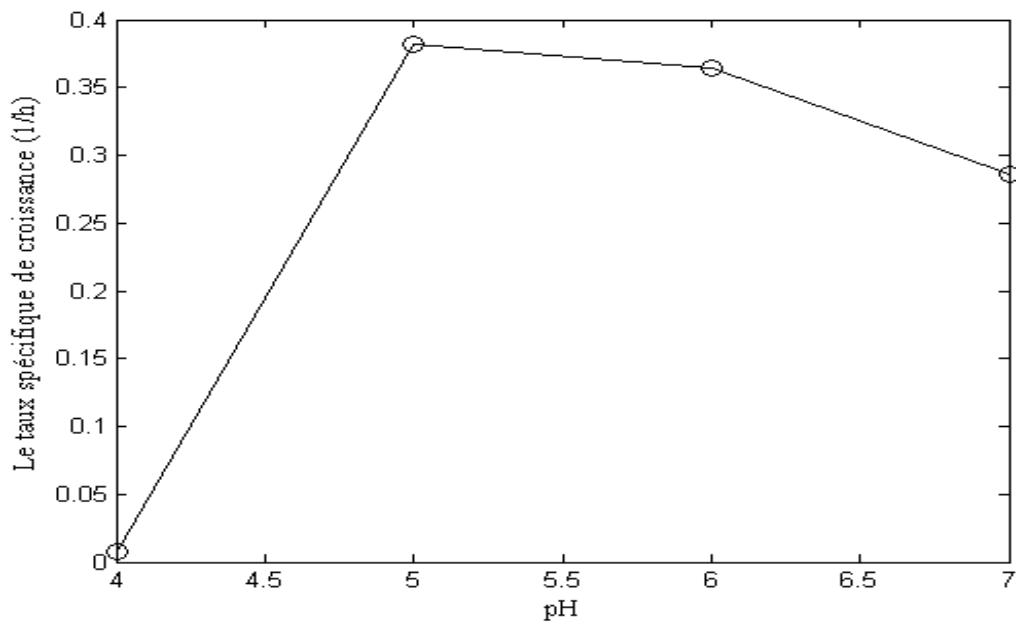


Figure V.14 : Variation du taux spécifique de croissance en fonction du pH.

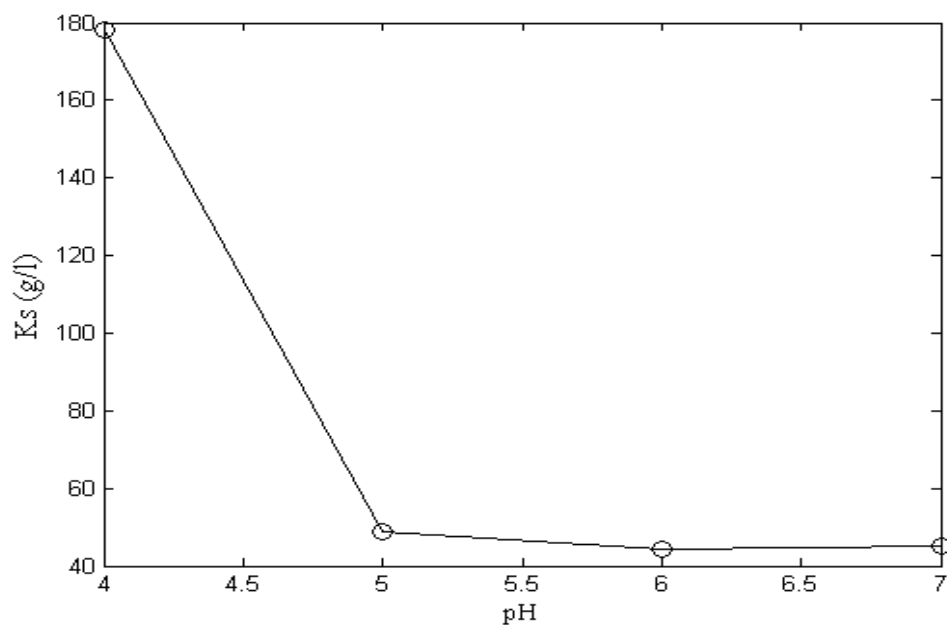


Figure V.15 : Variation de la constante de saturation du substrat (K_s) en fonction du pH.

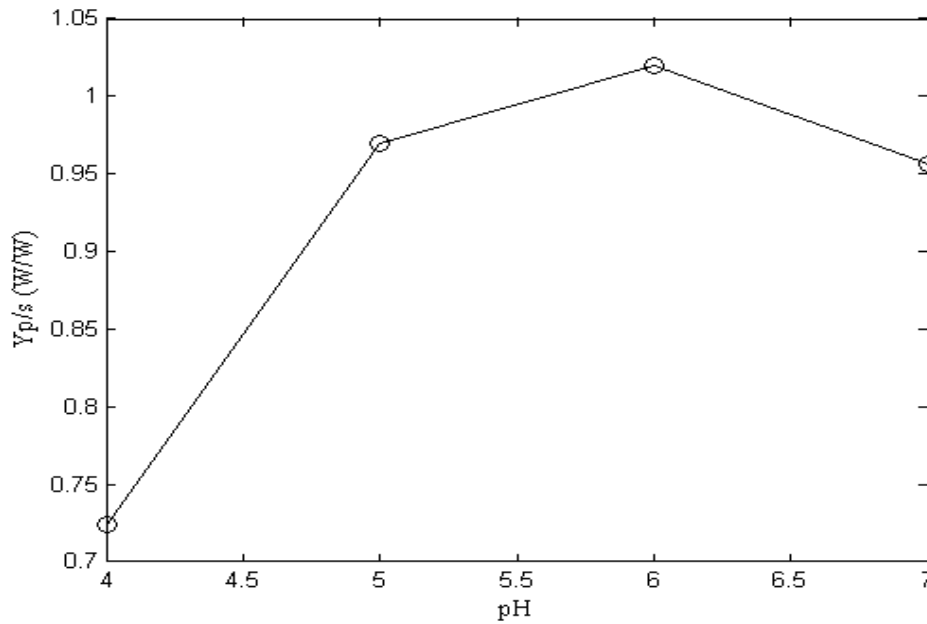


Figure V.16 : Variation du rendement ($Y_{P/S}$) en fonction du pH.

Conclusion

D'après cette étude, nous citons les résultats suivants :

a) Cas du pH contrôlé:

- la modélisation de la cinétique de croissance microbienne *Lactobacillus helveticus* dans un bioréacteur a été réalisée en utilisant des modèles cinétiques, basés sur l'évolution de la concentration de la biomasse,
- la croissance est une succession de phases dont chacune étant caractérisée par un modèle spécifique. Avec l'utilisation de cette approche, il est possible de surveiller la phase courante et de détecter les transitions entre les phases. La croissance globale de la bactérie *Lactobacillus helveticus* a été rapprochée par la combinaison de deux modèles dont l'un dit « logistique » qui décrit les trois premières phases de croissance (adaptation, exponentielle, décélération) et l'autre relatif à la phase de déclin,
- la production d'acide lactique est décrite par le modèle de Luedeking et Piret modifié en considérant une association partielle de production à la croissance avec une limite additionnelle présentée pour expliquer la cessation de la production quand le substrat carboné devient limitant,
- tous les paramètres ont une signification biologique évidente et peuvent être directement estimés sur la base des données expérimentales en utilisant deux routines

d'optimisation (méthodes des moindres carrés (Lsqcurvefit) et de Gauss-Newton). Ces routines d'optimisation donnent un bon ajustement entre les prédictions des modèles et les données expérimentales.

b) Effet de pH :

Dans ce cas, la fermentation discontinue du lactose en l'acide lactique a été menée par l'utilisation de la bactérie *lactobacillus plantarum*. Les résultats essentiels sont les suivants :

- l'expérience avec un milieu du lactose synthétique indique que les vitesses de la croissance de la biomasse et la production de l'acide lactique sont considérablement affectées par le pH du milieu dont le domaine optimal est situé dans l'intervalle de 5 à 6,
- le rendement de l'acide lactique est assez élevé (0.95-1.03 (W/W), comparé à la conversion complète dont le rendement est de 1.05 (W/W)). Ceci indique le bon potentiel d'utilisation de cette bactérie pour la production industrielle d'acide lactique,
- le processus de la fermentation est modélisé en utilisant l'équation de Monod avec les effets d'inhibition par le produit incorporé dans les paramètres du modèle. La méthode Gaussienne est utilisée pour estimer les valeurs optimales des paramètres,
- les paramètres des modèles ont été corrélés en utilisant des équations empiriques, dans un intervalle de pH de 4 à 7.

CONCLUSIONS GENERALES ET PERSPECTIVES

A partir d'une analyse théorique de plusieurs modèles de la fermentation lactique, nous avons étudié deux cas :

- le premier cas (pH contrôlé) concerne les modèles de la cinétique de croissance qui sont basés uniquement sur la concentration de la biomasse. S'agissant de la production, le modèle Luedeking et Piret a été modifié afin d'expliquer la cessation de la production de l'acide lactique dès qu'il y ait épuisement du substrat carboné.
- et dans le deuxième cas (l'effet de pH) nous nous sommes intéressés au modèle qui prend en considération, l'effet d'inhibition par le produit, sur la croissance de la biomasse et la consommation du substrat ainsi que la production. Dans ce cas, les paramètres du modèle de **Monod** ont été déterminés en fonction du pH.

L'identification des paramètres cinétiques de ces modèles a été réalisée par l'utilisation de deux routines d'optimisation : la méthode des moindres carrés (Lsqcurvefit) et la méthode de Gauss-Newton. Ces méthodes permettent de décrire correctement les phénomènes observés tels que:

- la croissance de la biomasse,
- la consommation du substrat,
- la production d'acide lactique.

Les résultats obtenus dans le cadre de ce travail dépendent du pH:

Le premier cas (pH contrôlé):

- chaque phase est représentée par un modèle.
- le **modèle logistique** décrit correctement les trois premières phases (adaptation, croissance exponentielle et exponentielle de décélération).
- la combinaison des deux modèles **logistique** et celui de la phase de **déclin**, permet de décrire la cinétique globale de croissance.
- la croissance de la bactérie *Lactobacillus helveticus* et la production d'acide lactique seront stoppées par l'épuisement du substrat.

Le deuxième cas (l'effet de pH):

- l'effet du pH est très important pour l'optimisation du processus de la fermentation lactique. Pour cette étude l'effet d'inhibition est introduit par la variation des paramètres cinétiques en fonction du pH, dans le modèle de Monod. L'intervalle du pH optimal pour la croissance de la bactérie et pour un rendement élevé de la production d'acide lactique se situe entre 5-6.
- La variation de chaque paramètre du modèle en fonction du pH est corrélée par des équations empiriques pour un intervalle de pH situé entre 4-7.

Les résultats calculés, d'après les modèles de la croissance et la consommation, ainsi que la production d'acide lactique, concordent bien avec ceux obtenus expérimentalement pour les deux cas étudiés.

En perspectives, nous estimons que cette étude doit être complétée, surtout par l'acquisition de données expérimentales, sachant que notre équipe vient d'acquérir un bioréacteur.

BIBLIOGRAPHIE

1. **Amrane A.**, «Optimisation de la productivité d'un fermenteur effectuant la conversion en acide lactique de perméat de lactosérum supplémenté» Thèse de doctorat, Université de Rennes I, France, (1991).
2. **Amrane A., Prigent Y.**, «Lactic acid production from lactose in batch culture: analysis of the data with the help of a mathematical model; relevance for nitrogen source and preculture assessment», *Applied Microbiology Biotechnology*, vol. 40, pp.644-649, (1994).
3. **Amrane A., Prigent Y.**, «Growth and lactic acid production coupling for *Lactobacillus helveticus* cultivated on supplemented whey. Influenced of peptidic nitrogen deficiency», *Journal Biotechnology*, vol. 55, pp.1-8, (1997).
4. **Amrane A., Prigent Y.**, «Analysis of growth and production coupling for batch cultures of *Lactobacillus helveticus* with the help of an unstructured model», *Process Biochemistry*, vol. 34, pp.1-10, (1999).
5. **Amrane A.**, «Batch cultures of supplemented whey permeate using *Lactobacillus helveticus*: unstructured model for biomass formation, substrate consumption and lactic acid production», *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 28, pp.827-834, (2001).
6. **Amrane A.**, «Unstructured model for the decline phase of batch cultures of *Lactobacillus helveticus* growing on supplemented whey permeate», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 10, pp.9-15, (2002).
7. **Amrane A.**, «Analysis of the kinetics of growth and lactic acid production for *Lactobacillus helveticus* growing on supplemented whey permeate», *Journal Chemical Technology and Biotechnology*, vol.80, pp.345-352, (2005).
8. **Arnaud A., Guiraud J.P.**, «Le métabolisme microbien», In: **Scriban R.**, «Biotechnologie», 5^{ème} édition, Edition Technique & Documentation, Paris, pp.45-189, (1999).
9. **Axelsson L.**, «Lactic acid bacteria: classification and physiology», (2004). In :**Reddy G., Altaf Md., Naveena B.J., Venkateshwar M., Vijay Kumar E.**, «Amylolytic bacterial lactic acid fermentation -A review», *Biotechnology Advances*, vol. 26, pp.22-34, (2008).

BIBLIOGRAPHIE

- 10. Balanec B., Bouguettoucha A., Amrane A.,** «Unstructured model for batch cultures without pH control of *Lactobacillus helveticus*-Inhibitory effect of the undissociated lactic acid», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 35, pp.289–294, (2007).
- 11. Bando Y., Nishimura M., Sota H., Toyoda K., Suzuki S., Idota A.,** «Flow characteristics of bubble column with perforated draft tube effects of equipment dimensions and gas dispersion», *Chemical Engineering Journal*, vol. 25, pp.49–54, (1992a).
- 12. Bando Y., Nishimura M., Sota H., Suzuki S., Kawase N.,** «Flow characteristics of countercurrent bubble column with perforated draft tube», *Chemical Engineering Science*, vol. 47, pp.3371–3378, (1992 b).
- 13. Belhocine D.,** «Etude de la valorisation du lactose par fermentation lactique», (1987). **In :** **Amrane A.,** «Optimisation de la productivité d'un fermenteur effectuant la conversion en acide lactique de perméat de lactosérum supplémenté» Thèse de doctorat, Université de Rennes I, France, (1991).
- 14. Berry A.R., Franco M.C.M., Zhang W., Middelberg A.P.J.,** «Growth and lactic acid production in batch culture of *Lactobacillus rhamnosus* in a defined medium», *Biotechnology Letters*, vol. 21, pp.163–167, (1999).
- 15. Biazar J., Tango M., Babolian E., Islam R.,** «Solution of the kinetic modelling of lactic acid fermentation using a domain decomposition method», *Applied Mathematics and Computation*, vol. 144, pp.433-439, (2003).
- 16. Boeck L.D., Wetzel R.W., Burt S.C., Huber F.M., Fowler G.L. et Alford J.S.,** «Sterilization of bioreactor media on the basis of computer-calculated thermal input designated as Fo», *Journal of Industrial Microbiology*, vol. 3, pp.305-310, (1988) .
- 17. Boonmee M., Leksawasdi N., Bridge W., Rogers P.L.,** «Batch and continuous culture of *Lactococcus lactis* NZ133: experimental data and model development», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 14, pp.127-135, (2003).
- 18. Bouguettoucha A., Balanec B., Nacef S., Amrane A.,** «A generalised unstructured model for batch cultures of *Lactobacillus helveticus*», *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 41, pp.377–382, (2007).

BIBLIOGRAPHIE

- 19. Bouix M., Leveau J.Y.**, «Cinétiques microbiennes», **In : Scriban R.**, «Biotechnologie», 5^{ème} édition, Edition Technique & Documentation, Paris, pp.193-224, (1999).
- 20. Bulut S., Elibol M., Ozer D.**, «Effect of different carbon sources on L (+) lactic acid production by *Rhizopus oryzae*», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 21, pp.33-37, (2004).
- 21. Cachon R., diviès C.**, «Modeling of growth and lactate fermentation by *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis biovardiacetylactis* in batch culture», *Applied Microbiology Biotechnology*, vol. 40, pp.28-33, (1993).
- 22. Charcosset C.**, «Membrane processes in biotechnology: An overview», *Biotechnology Advances*, vol. 24, pp.482–492, (2006).
- 23. Charles Bajard S.**, «Modélisation à visée prévisionnelle de la cinétique de croissance d'une population de *Listeria monocytogenes*», Thèse de doctorat, Université de Lyon I, France, (1996).
- 24. Chisti Y., Jauregui-Haza U.J.**, «Oxygen transfer and mixing in mechanically agitated airlift bioreactors», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 10, pp.143–153, (2002).
- 25. Cogan T.M.**, «Determination of growth rates of lactic cultures», (1978). **In : Amrane A.**, «Optimisation de la productivité d'un fermenteur effectuant la conversion en acide lactique de perméat de lactosérum supplémenté» Thèse de doctorat, Université de Rennes I, France, (1991).
- 26. Datta R., Tsai S.P., Bonsignor P., Moon S., Frank J.**, «Technological and economical potential of polylactic acid and lactic acid derivatives», *FEMS Microbiology Review*, vol. 16, pp.221–231, (1995).
- 27. Demeyer A., Jacob F., Jay M., Menguy G., Perrier J.**, «La conversion bioénergétique du rayonnement solaire et les biotechnologies», Edition Technique & Documentation, Paris, pp.187-212 (1982).
- 28. Dhanasekharan K.M., Sanyal J., Jain A., Haidari A.**, « A generalized approach to model oxygen transfer in bioreactors using population balances and computational fluid dynamics», *Chemical Engineering Science*, vol. 60, pp.213 – 218, (2005).

BIBLIOGRAPHIE

29. **Dhaouadi H., Poncin S., Hornut J.M., Wild G., Oinas P.**, «Hydrodynamics of an airlift reactor: Experiments and modelling», *Chemical Engineering Science*, vol.51, pp.2625-2630, (1996).
30. **Diaz C., Lelong P., Dieu P., Feuillerat C., Salome M.**, «On-line analysis and modeling of microbial growth using a hybrid system approach», *Process Biochemistry*, vol. 34, pp.39–47, (1999).
31. **Djoulde Darman R.**, «Mise au point d'un ferment mixte destiné à la bioconversion des tubercules de manioc cyanogène», Thèse Ph.D, Université de Ngaoundéré, Cameroun, (2004).
32. **Douzou P., Durand G., Kourilsky P., Siglet G.**, «Les biotechnologies», 2^{ème} édition, Edition Bouchene, Alger, pp.55-80, (1993).
33. **Fu C.C., Wu W.T., Lu S.Y.**, «Performance of airlift bioreactors with net draft tube», *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 33, pp.332–342, (2003).
34. **Fu C.C., Lu S.Y., Wu W.T.**, «Optimal feeding for tower-type reactors», *AIChE Journal*, vol. 51, pp.713-724, (2005).
35. **Fu W., Mathews A.P.**, «Lactic acid production from lactose by *Lactobacillus plantarum*: kinetic model and effects of pH, substrate, and oxygen», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 3, pp.163-170, (1999).
36. **Galaction A.L., Cascaval D., Oniscu C., Turnea M.**, «Prediction of oxygen mass transfer coefficients in stirred bioreactor for bacteria, yeasts and fungus broths», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 20, pp.85-94, (2004).
37. **Giarlet P.G.**, «Introduction à l'analyse matricielle et à l'optimisation», Edition Masson, Paris, pp.135-252, (1985).
38. **Giorno L., Drioli E.**, «Biocatalytic membrane reactors: application and perspectives-Reviews», *Trends Biotechnology*, vol. 18, pp.339-349, (2000).
39. **Gogate P.R., Pandit A.B.**, «Survey of measurement techniques for gas–liquid mass transfer coefficient in bioreactors», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 4, pp.7–15, (1999).

BIBLIOGRAPHIE

40. Gomez E., Santos V.E., Alcon A., Garcia-Ochoa F., «Oxygen transport rate on *Rhodococcus erythropolis* cultures: Effect on growth and BDS capability», *Chemical Engineering Science*, vol. 61, pp.4595 – 4604, (2006).
41. Grisales Palacio V.H., «Modélisation et commande floues de type Takagi-Sugeno appliquées à un bioprocédé de traitement des eaux usées», Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, France, (2007).
42. Hamer G., «Biomass from natural gaz». In: Rose A.H., «Economic microbiology», *Microbiology Biomass Academic Press*, vol. 4, pp.315-360, (1979).
43. Hermans L., Gosselle F., Biot A., «Fermentations industrielles », In : Larpent J.P., Sanglier J.J., «Biotechnologie des antibiotiques», édition Masson, Paris, pp.339-381, (1989).
44. Joshi J.B., Ranade V.V., Gharat S.D., Lele S.S., «Sparged Loop Reactors», *Canadian Journal of Chemical Engineering*, vol. 68, pp.705-741, (1990).
45. Keller A.K., Gerhardt P., «Continuous lactic acid fermentation of whey to produce a ruminant feed supplement high in crude protein», *Biotechnology Bioengineering*, vol. 17, pp. 997-1018, (1975).
46. Kiese S., Ebner H.G., Onken U., «A simple laboratory airlift fermentor», *Biotechnology Letters*, vol. 2, pp.345-350, (1980).
47. Kumar Dutta S., Mukherjee A., Chakraborty P., «Effect of product inhibition on lactic acid fermentation: simulation and modelling», *Applied Microbiology Biotechnology*, vol.46, pp.410–413, (1996).
48. Leh M.B., «The effect of whey protein hydrolyzates on the lactic acid fermentation», Thèse Ph D., Université de Lehigh, USA, (1987).
49. Leh M.B., Charles M., «Lactic acid production by batch fermentation of whey permeates: a mathematical model», (1989). In : Amrane A., «Optimisation de la productivité d'un fermenteur effectuant la conversion en acide lactique de perméat de lactosérum supplémenté» Thèse de doctorat, Université de Rennes I, France, (1991).

BIBLIOGRAPHIE

- 50. Leveau J.Y., Bouix M.,** « Bio-ingénierie », **In : Scriban R.,** « Biotechnologie», 5^{ème} édition, Edition Technique & Documentation, Paris, pp.229-310, (1999).
- 51. Levenspiel O.,** «The Monod equation: a revisit and a generalisation to product inhibition situation», *Biotechnology Bioengineering*, vol.22, pp.1671-1687, (1980).
- 52. Lin J., Zhou M., Zhao X., Luo S., Lu Y.,** «Extractive fermentation of l-lactic acid with immobilized *Rhizopus oryzae* in a three-phase fluidized bed», *Chemical Engineering and Processing*, vol. 46, pp.369–374, (2007).
- 53. Lin H.T., Wang F.S.,** «Optimal Design of an Integrated Fermentation: Process for Lactic Acid Production», *AIChE Journal*, vol. 53 (2), pp.449-459, (2007).
- 54. Litchfield J.H.,** «Microbiological production of lactic acid», *Advanced Applied Microbiology*, vol. 42, pp.45-95, (1996).
- 55. Liu Y.C., Li Y.P., Wu W.T.,** «Stirred Tank Bioreactor with a Recirculation Loop for Improved L-Lysine Production», *Biotechnology Techniques*, vol. 8, pp.67-70, (1994).
- 56. Lo C.S., Hwang S.J.,** «Dynamic behavior of an internal-loop airlift bioreactor for degradation of waste gas containing toluene», *Chemical Engineering Science*, vol. 59, pp. 4517 – 4530, (2004).
- 57. Luedeking R., Piret E.L.,** «A kinetic study of the lactic acid fermentation: Batch process at controlled pH», *Biochemical Microbiology Technology Engineering*, vol. 4, pp. 393-412, (1959a).
- 58. Luedeking R., Piret E.L.,** «Transient and steady states in continuous fermentation: Theory and experiments», *Biochemical Microbiology Technology Engineering*, vol. 4, pp.431-459, (1959b).
- 59. Luo H.P., Al-Dahhan M.H.,** «Macro-mixing in a draft-tube airlift bioreactor», *Chemical Engineering Science*, vol. 63, pp.1572-1585, (2007).
- 60. Mailleret L.,** «Stabilisation globale de systèmes dynamiques positifs mal connus applications en biologie», Thèse de Doctorat, Université de Nice-Sophia Antipolis, Nice, France, (2004).

BIBLIOGRAPHIE

- 61. Manyri L.**, «Analyse automatique d'images de populations microbiennes», Thèse de Doctorat, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse, France, (2005).
- 62. Monod J.**, «Recherche sur la croissance des cultures bactériennes», Hermann, Paris, (1942).
- 63. Moré J.J.**, «The Levenberg-Marquardt algorithm: implementation and theory». **In: Watson G.A.**, Numerical analysis, Lecture notes in Mathematics 630, Springer-Verlag, pp. 105-116, (1977).
- 64. Nandasana A.D., Kumar S.**, «Kinetic modeling of lactic acid production from molasses using *Enterococcus faecalis* RKY1», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 38, pp.277–284, (2008).
- 65. Naveena B.J., Altaf Md., Bhadriah K., Reddy G.**, «Production of L(+) lactic acid by *Lactobacillus amylophilus* GV6 in semi-solid state fermentation using wheat bran», *Food Technology Biotechnology*, vol. 42, pp.147–152, (2004).
- 66. Nelder J., Mead R.**, «A simplex method for function minimization», *Computer Journal*, vol. 7, pp. 308-313, (1965).
- 67. Nielsen J., Nikolajsen K., Villadsen J.**, «Structured modelling of a microbial system: A theoretical study of lactic acid fermentation», *Biotechnology Bioengineering*, vol. 38, pp.1-10, (1991).
- 68. Norton S., Lacroix C., Vuilleumard J.C.**, «Effect of pH on the morphology of *Lactobacillus helveticus* in undissociated-cell batch and immobilized-cell continuous fermentation», *Food Biotechnology*, vol. 7, pp.235-251, (1993).
- 69. Novel G.**, «Les bactéries lactiques», **In : Leveau J.Y., Bouix M.**, «Microbiologie industrielle : Les microorganismes d'intérêt industriel», Edition Technique & Documentation, Paris, pp.170-331, (1993).
- 70. Ohta T., Ogonna J.C., Tanaka H., Yajima M.**, «Development of a fermentation method using immobilized cells under unsterile conditions. 2. Ethanol and L-lactic acid production without heat and filter sterilization», *Applied Microbiology Biotechnology*, vol. 42, pp. 246-250, (1994).

BIBLIOGRAPHIE

- 71. Oldshue J.I.**, «Agitation», **In: Vogel H.C., Todaro C.L.**, «Fermentation and Biochemical Engineering Handbook: Principles, Process Design, and Equipment», Second Edition, Noyes Publications, New Jersey, pp.181-241, (1997).
- 72. Onken U., Weiland P.**, «Hydrodynamics and mass transfer in an Airlift loop fermentor», *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 10, pp. 31-40, (1980).
- 73. Pernoud S., Schneid-Citrain N., Agnetti V., Breton S., Faurie J.M., Marchal L., Obis D., Oudot E., Paquet D., Robinson T.**, «Application des bactéries lactiques dans les produits laitiers frais et effets probiotiques», **In : Luquet F.M., Corrieu G.**, «Bactéries lactiques et probiotiques», Edition Technique & Documentation, Paris, pp.1-100, (2005).
- 74. Pirt S.J.**, «Principles of microbe and cell cultivation», (1975). **In : Amrane A.**, «Optimisation de la productivité d'un fermenteur effectuant la conversion en acide lactique de perméat de lactosérum supplémenté» Thèse de doctorat, Université de Rennes I, France, (1991).
- 75. Press W.H., Flannery B.P., Teukolsky S.A., Vetterling W.T.**, «Numerical recipes», Cambridge University Press, Cambridge, pp.498-539, (1986).
- 76. Puthli M.S., Rathod V.K., Pandit A.B.**, «Gas-liquid mass transfer studies with triple impeller system on a laboratory scale bioreactor», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 23, pp.25-30, (2005).
- 77. Queinnec I.**, «Contribution à la commande de procédés biotechnologiques : application au traitement biologique de la pollution», Thèse de Doctorat, Université Paul Sabatier, Toulouse, France, (2000).
- 78. Ray Dutta J., Kumar Dutta P., Banerjee R.**, «Modeling and optimization of protease production by a newly isolated *Pseudomonas* sp. using a genetic algorithm», *Process Biochemistry*, vol. 40, pp.879-884, (2005).
- 79. Reddy G., Altaf Md., Naveena B.J., Venkateshwar M., Vijay Kumar E.**, «Amylolytic bacterial lactic acid fermentation — A review», *Biotechnology Advances*, vol. 26, pp.22-34, (2008).

BIBLIOGRAPHIE

- 80. Riba J.P.**, «Réacteurs enzymatiques et fermenteurs», Technique de l'Ingénieur, F3 600, pp.1-20, (1998).
- 81. Roy D., Luedy A., Goulet J.**, «Kinetics of growth and lactic acid production from whey permeate by *Lactobacillus helveticus*», (1987). In : **Amrane A.**, «Optimisation de la productivité d'un fermenteur effectuant la conversion en acide lactique de perméat de lactosérum supplémenté» Thèse de doctorat, Université de Rennes I, France, (1991).
- 82. Salzman G., Tadmor R., Guzy S., Sideman S., Lotan N.**, «Hollow fiber enzymic reactors for a two substrate process: analytical modeling and numerical simulations», *Chemical Engineering and Processing*, vol. 38, pp.289–299, (1999).
- 83. Sanchez Pérez J.A., Rodriguez Porcel E.M., Casas Lopez J.L., Fernandez Sevilla J.M., Chisti Y.**, «Shear rate in stirred tank and bubble column bioreactors», *Chemical Engineering Journal*, vol. 124, pp.1–5, (2006).
- 84. Schmidt R.**, «Comportement des matériaux dans les milieux biologiques applications en médecine et biotechnologie», Première édition, Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne, pp.246-273, (1999).
- 85. Senthuran A., Senthuran V., Mattiasson B., Kaul R.**, «Lactic acid fermentation in a recycle batch reactor using immobilized *Lactobacillus casei*», *Biotechnology Bioengineering*, vol. 55, pp.843-853, (1997).
- 86. Singleton P.**, «Bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies», 5^{ème} édition, Edition Dunod, Paris, pp.447-454, (2005).
- 87. Spinnler H.E.**, «Technologies de transformation des produits agroalimentaires», Technique de l'Ingénieur, F 1 170, pp.1-14, (1998).
- 88. Stanbury P.F., Whitaker A., Hall S.J.**, «Principles of Fermentation Technology», Utterworth Einemann, Burlington, pp.167-210, (1995).
- 89. Sun Y., Li Y.L., Bai S.**, «Modeling of continuous L(+) lactic acid production with immobilized *R. oryzae* in an airlift bioreactor», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 3, pp. 87-90, (1999).

BIBLIOGRAPHIE

90. Talvy S., Cockx A., Liné A., «Modeling of oxygen mass transfer in a gas-liquid Airlift reactor», *AIChE Journal*, vol. 53, pp.316-326, (2007).
91. Tayeb J., Bouillance C., Desmazeaud M.J., «computerized control of growth with temperature in a mixed culture of lactic acid bacteria», (1984). In: Amrane A., «Optimisation de la productivité d'un fermenteur effectuant la conversion en acide lactique de perméat de lactosérum supplémenté» Thèse de doctorat, Université de Rennes I, France, (1991).
92. Vial C., Camarasa E., Poncin S., Wild G., Midoux N., Bouillard J., «Study of hydrodynamic behaviour in bubble columns and external loop airlift reactors through analysis of pressure fluctuations», *Chemical Engineering Science*, vol. 55, pp.2957-2973, (2000).
93. Wang S.J., Zhong J.J., Chen Y.L., Yu J.T., «Characterization and Modeling of Oxygen Transfer in a 20l Modified Cell-Lift Bioreactor with a Double-Screen Cage», *Journal of Fermentation and Bioengineering*, vol. 80, pp.71-77, (1995).
94. Wee Y.J., Kim J.N., Ryu H.W., «Biotechnological production of lactic acid and its recent applications», *Food Technology Biotechnology*, vol. 44 (2), pp.163–172, (2006).
95. Yang P., Teo W.K., Ting Y.P., «Design and performance study of a novel immobilized hollow fiber membrane bioreactor», *Bioresource Technology*, vol. 97, pp.39–46, (2006).
96. Yao H.M., Tian Y.C., Tadé M.O., Ang H.M., «Variations and modelling of oxygen demand in amino acid production», *Chemical Engineering and Processing*, vol. 40, pp.401–409, (2001).
97. Ybannavar V.M., Wang D.I.C., (1991). In: Berry A.R., Franco M.C.M., Zhang W., Middelberg A.P.J., «Growth and lactic acid production in batch culture of *Lactobacillus rhamnosus* in a defined medium», *Biotechnology Letters*, vol. 21, pp.163–167, (1999).

BIBLIOGRAPHIE

- 98. Zhang B., He P.J., Ye N.F., Shao L.M.,** «Enhanced isomer purity of lactic acid from the non-sterile fermentation of kitchen wastes», *Bioresource Technology*, vol.99, pp.855–862, (2008).
- 99. Znad H., Bales V., Kawase Y.,** «Modeling and simulation of airlift bioreactors», *Biochemical Engineering Journal*, vol. 21, pp.73–81, (2004a).
- 100. Znad H., Bales V., Kawase Y.,** «Modeling and scale up of airlift bioreactor», *Computers and Chemical Engineering*, vol. 28, pp.2765–2777, (2004b).

Annexe A : Les méthodes d'optimisation des paramètres cinétiques

Etant donné n valeurs mesurées (y_i, t_i) au cours d'une expérience, on se donne une loi différentielle, qui décrit cette expérience, a étant un vecteur paramétrique de dimension k .

$$\frac{dy}{dt} = f(a, t) \quad (\text{A.1})$$

Le problème consiste à optimiser a

Supposons que (A.1) soit intégrable, numériquement au moins, et qu'on puisse mettre l'intégrale sous la forme :

$$y = h(a, t) \quad (\text{A.2})$$

La fonction objectif à minimiser lors de l'optimisation de a est la somme des carrés des écarts :

$$\varepsilon[y_i - y] = (y_i - y)^t \cdot (y_i - y) \quad (\text{A.3})$$

A partir d'une estimation initiale a_0 , on peut calculer les valeurs de $y = h(a_0, t)$. Il faut maintenant appliquer une méthode itérative qui, à partir de cette estimation initiale a_0 , permettra de calculer la suite :

$$a_0, a_1, a_2, \dots, a_i \quad (\text{A.4})$$

Telle que :

$$\varepsilon_0 > \varepsilon_1 > \dots > \varepsilon_i \quad (\text{A.5})$$

Avec $\varepsilon = [y^* \cdot h(a_i, t)]$, $i \geq 0$

Cette suite est bornée inférieurement par $\varepsilon = [y_i \cdot h(a, t)]$, où a est le vecteur paramétrique optimal recherché.

Voici **trois algorithmes** pour déterminer la suite (A.4) de telle sorte que la suite (A.5) converge :

A.1 Méthode du gradient

On développe au premier ordre ε autour de a_i , et on cherche la valeur a_{i+1} qui maximalise l'accroissement :

$$\Delta\varepsilon = \varepsilon[y_i, h(a_{i+1}, t)] - \varepsilon[y_i, h(a_i, t)] \quad (\text{A.6})$$

En posant $\Delta a_i = a_{i+1} - a_i$, le développement au premier ordre donne :

$$\Delta\varepsilon = \frac{\delta}{\delta a_i} \varepsilon[y_i, h(a_i, t)] \cdot \Delta a_i \quad (\text{A.7})$$

Pour déterminer Δa_i , on utilise une formule itérative :

$$\Delta a_i = a_{i+1} - a_i = -K \frac{\delta\varepsilon}{\delta a_i} \quad (\text{A.8})$$

Où K est une constante arbitraire.

Dans (A.8), la dérivée partielle est calculée à partir des définitions (A.2) et (A.3) on trouve :

$$\frac{\delta\varepsilon}{\delta a_i} = -2 \left[\frac{\partial h}{\partial a_i} \right]^t \cdot [y_i - h(a_i, t)] \quad (\text{A.9})$$

En reportant ce résultat dans (A.8), on a la formule d'itération (Giarlet, 1985) :

$$\Delta a_i = 2K \cdot [A]^t \cdot [y_i - h(a_i, t)] \quad (\text{A.10})$$

Dans cette relation, [A] est la matrice :

$$[A] = \left[\frac{\partial h}{\partial a_i} \right] = \begin{bmatrix} \left(\frac{\partial h}{\partial a_1}\right)_{y_1} & \left(\frac{\partial h}{\partial a_2}\right)_{y_1} & \dots & \left(\frac{\partial h}{\partial a_k}\right)_{y_1} \\ \left(\frac{\partial h}{\partial a_1}\right)_{y_2} & \left(\frac{\partial h}{\partial a_2}\right)_{y_2} & \dots & \left(\frac{\partial h}{\partial a_k}\right)_{y_2} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ \left(\frac{\partial h}{\partial a_1}\right)_{y_N} & \left(\frac{\partial h}{\partial a_2}\right)_{y_N} & \dots & \left(\frac{\partial h}{\partial a_k}\right)_{y_N} \end{bmatrix} \quad (\text{A.11})$$

Remarque : Comme on ne connaît pas à priori la fonction h (sinon le problème serait résolu autrement), il faut passer pour le calcul de chaque terme de $[A]$ par l'équation variationnelle : l'équation (A.1) de départ peut s'écrire :

$$\frac{\delta}{\delta a} \left(\frac{dy}{dt} \right) = \frac{\delta}{\delta a} [f(a, t)] \quad (\text{A.12})$$

En reportant la définition de y (A.2), on a :

$$\frac{d}{dt} \left[\frac{\delta h}{\delta a} \right] = \frac{\partial f}{\partial y} \cdot \frac{\delta h}{\delta a} + \frac{\partial f}{\partial a} \quad (\text{A.13})$$

Comme on dispose pour $t=0$ d'une mesure de y valant y fixe et indépendante de a . On a donc

$\left[\frac{\delta h}{\delta a} \right]_{y=y_0} = 0$ comme valeur initiale pour le calcul numérique de $\left[\frac{\delta h}{\delta a} \right]_{y=y_1}$, celle-ci servant de

valeur initiale pour le calcul de $\left[\frac{\delta h}{\delta a} \right]_{y=y_2}$, etc..

L'intégration numérique peut être aussi réalisée pour les N estimées $Y_i = h(\hat{a}, t_i)$, successivement, le terme en $i-1$ servant de valeur initiale pour le terme en i d'où l'on tire le vecteur erreur de (A.10), puis la correction.

Noter bien : si $\frac{dy}{dt}$ n'est pas fonction de y , on a en plus la condition $\frac{\partial f}{\partial t}$, ce qui ramène

(A.13) à la relation simplifiée :

$$\frac{d}{dt} \left[\frac{\delta h}{\delta a} \right] = \frac{\partial f}{\partial a} \quad (\text{A.14})$$

A.2 Méthode de Gauss-Newton

On approxime $h(a_i, t)$ par un développement au premier ordre en série de Taylor autour de a_i :

Compte tenu de la définition de $[A]$ (A.11) :

$$h(a_{i+1}, t) \approx h(a_i, t) + [A] \cdot \Delta a_i \quad (\text{A.15})$$

Le vecteur paramètre optimal minimise la somme des carrés des écarts :

$$\varepsilon[y_i, h(a_i, t)] = [y_i - h(a_i, t)] \quad (\text{A.16})$$

Ce qui implique que la dérivée de ε s'annule, alors :

$$\frac{\delta \varepsilon}{\delta a_i} \varepsilon = 2.[A]^t \cdot [h(a_i, t) - y_i] + 2.[A]^t \cdot [A] \Delta a_i = 0 \quad (\text{A.17})$$

On tire la formule d'itération (Press et al., 1986) :

$$\Delta a_i = \left([A]^t \cdot [A] \right)^{-1} \cdot [A]^t \cdot [y_i - h(a_i, t)] \quad (\text{A.18})$$

A.3 Méthode de Marquardt

Dans l'algorithme de GAUSS-NEWTON, lorsque la loi (A.1) est linéaire par rapport aux paramètres, les surfaces équicritères dans l'espace des paramètres sont des hyperboloïdes. Sinon, elles sont modifiées et peuvent être complexes (avec des minima locaux différents du minimum de la somme des carrés). Mais, en tout état de cause, au voisinage du minimum de ε , les surfaces équicritères restent sensiblement ellipsoïdes. Comme la méthode est fondée sur la linéarisation de (A.2), on peut s'attendre à ce qu'elle soit très efficace au voisinage du minimum. Par contre, si l'estimée initiale est mauvaise, la méthode peut diverger.

La méthode du gradient est assez peu efficace (elle est fondée sur la linéarisation de l'erreur), et converge en général très lentement, mais avec moins de risques de divergence que l'algorithme de GAUSS-NEWTON.

C'est donc une meilleure méthode d'approche du vecteur paramètre optimal, l'affinage pouvant ensuite être réalisé par la méthode de GAUSS-NEWTON. Les deux méthodes sont complémentaires, la synthèse des deux étant l'algorithme de MARQUARDT (Moré, 1977).

Dans cette méthode, on prend comme vecteur de correction :

$$\Delta a_i = [A]^t \cdot [A] + \lambda [I]^{-1} \cdot [A]^t \cdot [y_i - h(a_i, t)] \quad (\text{A.19})$$

Où [I] est la matrice unité et λ une constante arbitraire.

On voit que si λ est très grand, le terme $[A]^t \cdot [A]$ est négligeable, et on retrouve la méthode du gradient. Si λ est très petit, $\lambda \cdot [I]$ devant $[A]^t \cdot [A]$, et on retrouve la méthode de GAUSS-NEWTON.

En pratique, on se donne un paramètre estimé a_0 et une valeur initiale λ très grande ; on diminue λ à chaque itération. On arrête l'itération lorsque $|\varepsilon_i - \varepsilon_{i-1}| < \text{eps}$, où eps est une constante (naturellement positive) proche de 0.

Résumé:

Dans ce mémoire nous avons étudié deux cas de la fermentation lactique:

Le cas d'un pH contrôlé, les modèles cinétiques de croissance de la bactérie *Lactobacillus helveticus* sont basés sur la concentration de la biomasse. La croissance bactérienne est une succession de phases, chaque phase est caractérisée par un modèle cinétique simple. La cinétique de croissance globale de la bactérie *Lactobacillus helveticus* a été rapprochée par la combinaison de deux modèles dont le premier est le modèle logistique, décrivant correctement les trois premières phases de croissance (adaptation, exponentielle, décélération), et le second qui correspond à la phase de déclin. La cinétique de la production d'acide lactique est décrite par une modification du modèle de Luedeking et Piret. La croissance de la bactérie *Lactobacillus helveticus* et la production d'acide lactique seront stoppées dès qu'il y ait épuisement du substrat carboné.

Les paramètres cinétiques de ces modèles ont été estimés par l'utilisation des deux routines d'optimisation : la méthode des moindres carrés (Lsqcurvefit) et la méthode de Gauss-Newton.

Le cas, où nous avons étudié l'effet du pH sur la croissance de la biomasse et la production d'acide en utilisant une bactérie de *Lactobacillus plantarum* sous des conditions anaérobies. Le pH optimum de la croissance de la bactérie *Lactobacillus plantarum* et la production d'acide lactique se situe entre 5 et 6.

Un procédé non linéaire d'estimation des paramètres utilisant la méthode Gaussienne incluant l'intégration numérique des équations différentielles par la méthode «ode 15s» a été utilisé pour obtenir les valeurs optimales des paramètres cinétiques du modèle de Monod qui varient en fonction du pH.

Les résultats calculés, d'après les modèles de la croissance et la consommation, ainsi que la production d'acide lactique, concordent bien avec ceux obtenus expérimentalement pour les deux cas étudiés.

Mots-clés : Bioréacteur; Acide lactique ; Petit lait ; Fermentation lactique ; *Lactobacillus* ; Modélisation ; Paramètres cinétiques ; Gauss-Newton ; Lsqcurvefit ; ode 15s.

Abstract

In this report we studied two cases of lactic fermentation:

The first with controlled pH, the growth kinetic models of *Lactobacillus helveticus* is based on the biomass concentration. The growth is a succession of phases, and each one was characterized by simple model. By means of both models, the first was logistic model which describes well the three phases of growth (adaptation, exponential, deceleration) and a second corresponds to the decline phase, therefore, the whole growth history is described. The lactic acid production kinetic was described by a modification of the model of Luedeking and Piret. The growth of *Lactobacillus helveticus* and the lactic acid production will be stopped when the carbon substrate became limiting. The kinetic parameters of these models were estimated by the use of the two routines of optimization the Lsqcurvefit and Gauss-Newton methods.

Second case, we studied the effect of the pH on the growth of the biomass and the production of lactic acid by using *Lactobacillus plantarum* under anaerobic conditions (operation without aeration). Optimum pH for cell growth and acid production was found to be between 5 and 6.

Taking pH variations into account in a Monod model, a nonlinear parameter estimation procedure using the Gaussian method and numerical integration of the differential equation by «ode 15s» method are used to obtain optimal kinetic model parameters. The results predicted for models agree well with the experimental results.

Keywords: Bioreactor; Lactic acid; Whey; Lactic acid fermentation; *Lactobacillus*; Modelisation ; Kinetic parameters; Gauss-Newton; Lsqcurvefit; ode 15s.

ملخص

في هذه المذكرة تمت دراسة حالتين للتخمير اللبني :

في حالة عامل pH ثابت تتركز حركية تكاثر بكتيريا لاكتوباسيلوس هالفتيكيس على تركيز الكتلة الحيوية. حركية تكاثر هذه البكتيريا هي عبارة عن تتابع لمراحل وكل مرحلة معرفة بنموذج بسيط. حركية التكاثر الإجمالي للبكتيريا تم بواسطة إدماج نموذجين ، بالنسبة للنموذج الأول أعطي وصف جيد للمراحل الأولى لتكاثر البكتيريا (مرحلة الخمول، الأسية و المتباطئة) و النموذج الثاني متعلق بالمرحلة النهائية. تم وصف حركية إنتاج حمض اللاكتيك بتعد يل نموذج Luedeking et Piret. تتوقف حركية تكاثر البكتيريا و إنتاج حمض اللاكتيك عندما يصبح السطح الكربوني محددًا بالنسبة لـ pH ثابت.

تم تحديد قيم العوامل الحركية لهذه النماذج باستعمال طريقتين معا: طريقة Lsqcurvefit وطريقة Gauss-Newton. بالنسبة للحالة الثانية تمت دراسة التخمير اللبني الناتج عن تحول اللاكتوز إلى حمض اللاكتيك باستعمال بكتيريا لاكتوباسيلوس بلانتاروم تحت شروط لا هوائية ، خلال هاته الدراسة :

تم التطرق إلى تأثير عامل pH على نمو البكتيريا و إنتاج حمض اللاكتيك. الـ pH المثالي لتكاثر البكتيريا و إنتاج حمض اللاكتيك يتراوح بين 5 و 6 .

في هذه الحالة تم الأخذ بعين الاعتبار تغيير العوامل الحركية بدلالة عامل الـ pH في نموذج Monod. تم تحديد قيم العوامل الحركية لهذا النموذج بواسطة طريقة Gauss-Newton بإدخال التكامل العددي للمعادلات التفاضلية بواسطة طريقة «ode15s».

النتائج المتحصل عليها حسابيا عن طريق النماذج تتوافق مع النتائج التجريبية في كلتا الحالتين.

الكلمات الدالة : المفاعل البيولوجي ، حمض اللاكتيك ، التخمير اللبني ، لاكتوباسيلوس ، النماذج الحركية ، طريقة Gauss-Newton ، طريقة Lsqcurvefit ,ode15s .