

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

UNIVERSITE SALAH BOUBNIDER CONSTANTINE 3



**FACULTE DE GENIE DES PROCEDES
DEPARTEMENT DE GENIE PHARMACEUTIQUE**

N° d'ordre :

Série :

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Pharmaceutique

Intitulé

**Etude expérimentale et optimisation de la production d'un
biopesticide bactérien en bioréacteur**

Dirigé par :

Dr. Akila BENAÏSSA KACEM- CHAOUCHE

Maitre de conférences-A-

Présenté par :

TOUIDJENE Mohamed Nour Elislem

BENDAKIR Baha Eddine Tahar

Année

universitaire :

2021-2022

Table des matières

Contenu	Page
Remerciements	I
Dédicace	II
Liste des abréviations	III
Liste des figures	IV
Liste des tableaux	V
Introduction générale	1

CHAPITRE 1 : Aperçu Bibliographique

1.1 Biotechnologie	3
1.1.1 Définition	3
1.1.2 Historique	3
1.1.3 Domaine d'application	3
1.1.4 Technique en Biotechnologie	4
1.1.5 Valorisation des sous produits	4
1.1.5.1 Rebutts de dattes	4
1.1.5.2 Grignons d'olives	5
1.2 Bioréacteur	5
1.2.1 Définition	6
1.2.2 Mixing	6
1.2.3 Types du Bioréacteur	7
1.2.4 Utilisation du Bioréacteur	9
1.2.5 Les différents modes de fermentation	9
1.3 Optimisation des Bioprocédés	10
1.4 Différents Bioprocédés utilisés dans l'industrie	11
1.4.1 Industrie pétrolière	11
1.4.2 Industrie pharmaceutique et para -pharmaceutique	12
1.5 Production de la Biomasse	12
1.6 Production de biopesticide	12
1.6.1 Intérêt d'utilisation	12

TABLE DES MATIERES

1.6.2 Différentes souches utilisées	13
1.6.2.1 <i>Bacillus thuringiensis</i>	13
1.6.2.2 <i>Bacillus Subtilis</i>	14
1.6.2.2.a Historique, découverte	15
1.6.2.2.b Utilisation , caractéristique	15
1.6.2.2.c Toxine de <i>Bacillus subtilis</i>	16
1.6.2.3 <i>Bacillus Sphaericus</i>	17
1.6.2.4 <i>Pseudomonas sp</i>	17
1.6.3 Revue bibliographique sur la production de biopesticide	17
1.6.3.1 Etude de la cinétique de la production des biopesticides à base de souches de <i>Bacillus Thuringiensis</i>	17
1.6.3.2 Etude sur l'optimisation des conditions de production de biopesticide à base de <i>Bacillus Subtilis</i>	18
1.6.4 Production du bio pesticide en bioréacteur	18
1.7 Optimisation du coefficient du transfert de matière k_{La}	19
1.8 Production de biopesticide à base de <i>Bacillus subtilis</i>	20
1.8.1 Milieu de culture	21
1.8.2 Courbe de croissance	22
1.8.3 Effet des paramètres sur la cinétique de croissance d'un biopesticide	24

CHAPITRE 2 : Matériel et Méthodes

2.1 Verreries, petit matériel, appareillages et produits utilisés	25
2.2 Description du Bioréacteur utilisé	27
2.3 Procédures expérimentales	28
2.3.1 Sélection et réactivation de la souche microbienne	28
2.3.2 Réalisation du bioprocédés a l'échelle laboratoire	29
2.4 Mise en marche du bioréacteur	34
2.5 Calibrer les électrodes	34
2.6 Stérilisation de la cuve et accessoires	37
2.7 Méthode du détermination statique de k_{La}	37

TABLE DES MATIERES

2.8 Méthodologie des plans d'expériences	38
2.8.1 Matrice de Box-Behnken étudiée	39
2.9 Production de biopesticide	40
2.10 Estimation de la quantité de biomasse formée	41
2.11 Détermination de la quantité de Fengycine formée	42
2.12 Test d'antagoniste / Technique du trait	43
2.13 Technique du puits	44

CHAPITRE 3 : Résultats et Discussions

3.1 Optimisation du coefficient de transfert de matière k_{La}	47
3.1.1 Régression linéaire	51
3.1.2 Validation du modèle par "ANOVA"	52
3.1.3 Signification des facteurs	52
3.2 Optimisation de la réponse	53
3.3 Réalisation du bioprocédé dans des erlenmeyers	55
3.3.1 Mise en évidence du bacillus sp.	55
3.3.2 Détermination de la concentration cellulaire de la souche mère	56
3.4 Technique du trait	57
3.5 Application du bioprocédé	59
3.5.1 Réalisation du bioprocédé à l'échelle de laboratoire dans des erlenmeyers	59
3.5.2 Réalisation du bioprocédé à l'échelle de laboratoire dans un bioréacteur de 2 litres	59
3.5.2.1 Calcul de la concentration initiale C_0	60
3.6 Extraction des Fengycines	62
3.7 Les résultats du test antifongique	64
Conclusion Générale et Perspectives	67
Référence Bibliographique	VI
Annexe	VII
Résumé	VIII
Abstract	IX

Abstract

Biological control is considered a means of controlling the numerical density of pests, through the use of parasites, predators and pathogens, in addition to entomopathogens, which are microorganisms present in agricultural environments, which include bacteria, fungi and viruses.

Bacillus subtilis, an aerobic bacterium capable of producing effective substances to combat the enemies of agricultural crops, by secreting a toxin called fengycin. The production of biopesticide, on a laboratory scale, in a 2 liter bioreactor, containing a culture medium based on olive pomace (a by-product of the olive industry) requires an optimization of the oxygen transfer in this place. The optimal k_La value was estimated at 0.0053 s^{-1} for values: $Q_a = 2 \text{ vvm}$, $N = 300 \text{ rpm}$, $S = 0.1\%$. The aeration rate and the agitation speed positively influence the oxygen transfer, while the substrate concentration has a negative and insignificant effect on the O_2 transfer phenomenon. Olive pomace powder supplemented with peptone is sufficient for the multiplication of *Bacillus sp.* in a 2 liter bioreactor, and allows the production of fengycin, to fight against *Fusarium* F.O.

Keywords: Biopesticide, *Bacillus subtilis*, kLa , Bioreactor, Fengycin, *Fusarium*.