

 LYCEE SAINT-PAUL IV	PROCEDURE	Pr Micro Ma 011
		Version 1
	UTILISATION DU BIOREACTEUR 2,1L	Date de mise en application : 19/11/13
		Page 1/5

1. PRESENTATION DU PILOTE

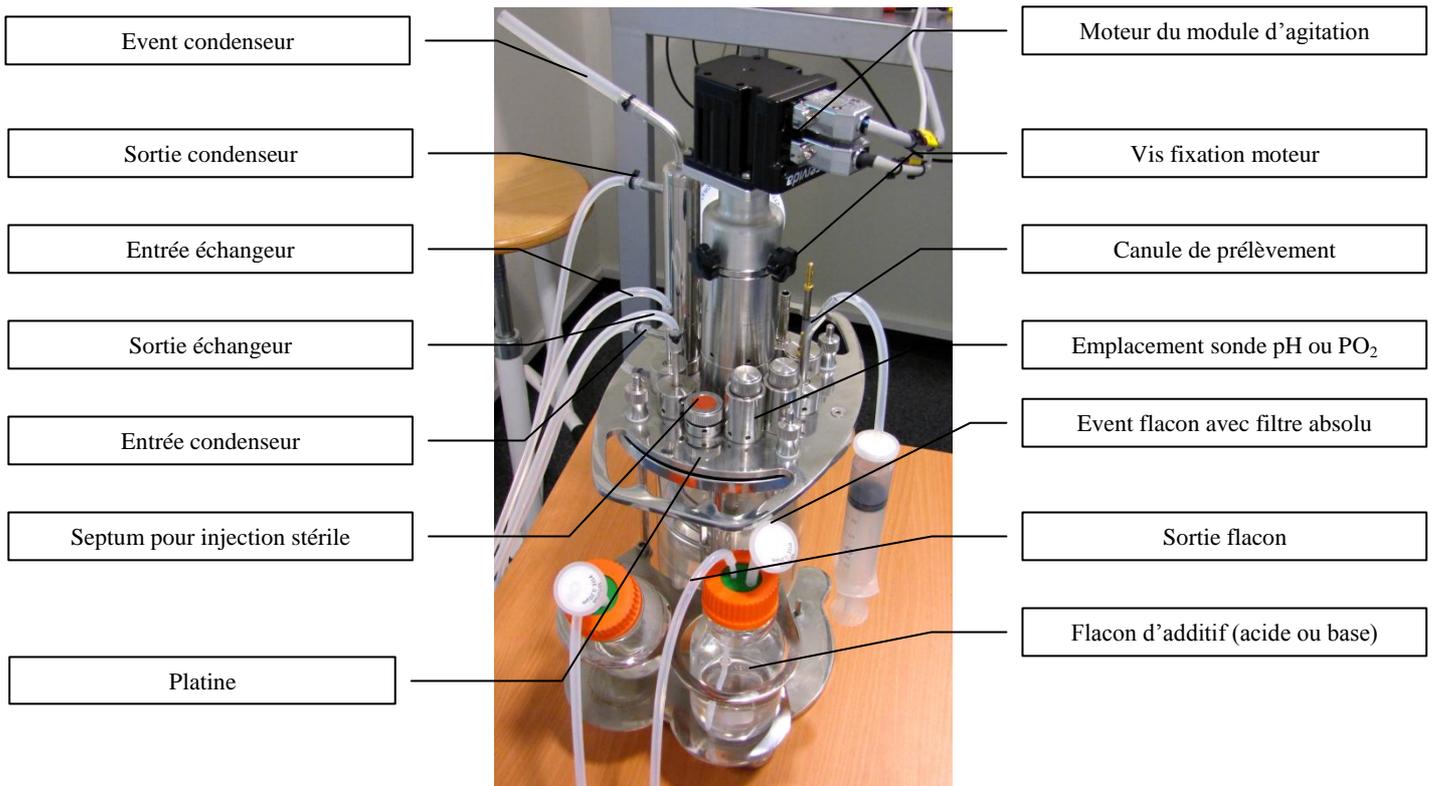
Le pilote comporte 3 éléments principaux :

- la console de régulation (1)
- la dalle tactile (2)
- le bioréacteur 2,1L (3)



Document 1 : les éléments du pilote

1.1 BIOREACTEUR (F1)



Document 2 : le fermenteur

Rédigé par M.L. Serrayet & F. Decofour le 24/09/12	Vérifié par C. Kiehl & G. Costet le 28/10/12	Approuvé par P. Lamauve le 19/11/2013
--	--	---------------------------------------

 LYCEE SAINT-PAUL IV	PROCEDURE	Pr Micro Ma 011
		Version 1
	UTILISATION DU BIOREACTEUR 2,1L	Date de mise en application : 19/11/13
		Page 2/5

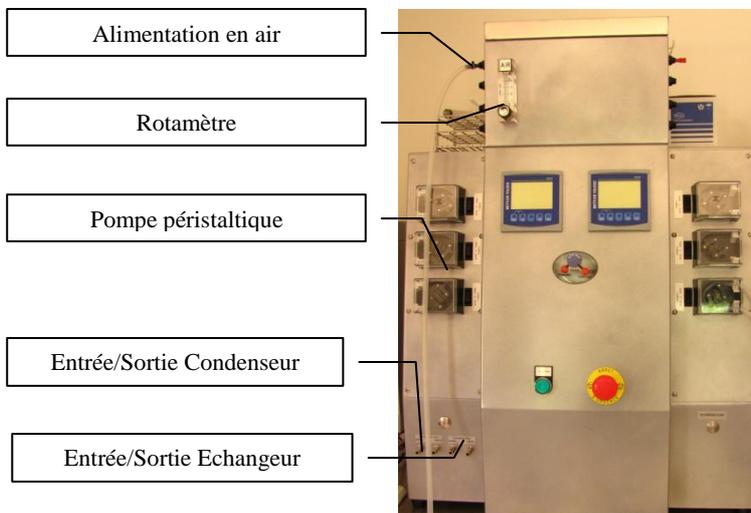
1.2 DALLE TACTILE

On y observe un schéma synoptique des bioréacteurs F1 et F2 sur lesquels on peut agir de façon indépendante.

La dalle tactile permet entre autres :

- la visualisation de certains paramètres de la croissance (température, pH, agitation, potentiel d'oxydo-reduction, anti-mousse)
- leur régulation
- la création et le lancement de séquences permettant un enchaînement préalablement programmé d'actions (ex : ensemble des actions nécessaires à la stérilisation à plein du bioréacteur)
- l'acquisition et l'enregistrement des mesures sous forme de tableau ou de graphique.

1.3 LA CONSOLE DE REGULATION



Elle permet :

- le calibrage des sondes de pH et pO₂
- une distribution régulée de l'air, des solutions acide/basique et de l'anti-mousse en fonction des consignes appliquées sur la dalle tactile.
- la régulation de la température de F1

→ Ici seule la partie gauche de la console participe au fonctionnement de F1.

Document 3 : la console de régulation

Assistance technique : Mr Lévêque

05 46 52 51 30

06 45 67 97 12

2. MISE EN ROUTE GENERALE

- Actionner l'interrupteur général sur la goulotte murale.
- Ouvrir la vanne murale d'air comprimé.
- Ouvrir l'alimentation générale en eau et la vanne d'arrivée d'eau sur les 2 bioréacteurs (B)
- Sur la dalle tactile, cliquer sur OK pour le log on Window puis sur l'icône C-BIO.
- Cliquer sur l'icône « login » dans la barre des menus. Taper les codes donnés par l'enseignant.
- Ouvrir un dossier de lot, avec l'icône « batch ». Rentrer le nom du dossier de lot choisi (JJMMAA) et switcher sur « start ». Conserver ce nom dans le cahier de laboratoire.
- Sur la console, désactiver l'arrêt d'urgence (le tirer en tournant) et appuyer sur le bouton (vert) de validation.



 LYCEE SAINT-PAUL IV	PROCEDURE	Pr Micro Ma 011
		Version 1
	UTILISATION DU BIOREACTEUR 2,1L	Date de mise en application : 19/11/13
		Page 3/5

3. STERILISATION DU BIOREACTEUR 2,1L

Matériel : solutions tampon de référence à pH4 et pH7, solution de dithionite de sodium, 3 béchers 50 mL, 1 bécher 100 mL, pissette d'eau distillée, potence, 10 pinces de Mohr, papier absorbant, papier alu.

3.1 CHARGEMENT DU MILIEU DE CULTURE

- Enlever le moteur après avoir dévissé ses 2 vis de fixation.
- Dévisser les 4 vis de la platine, ouvrir le fermenteur, poser délicatement la platine puis remplir de milieu.
Volume maxi = 1,5L Volume mini = 750 mL.
- Replacer la platine en introduisant le colonel d'orientation dans son emplacement. Revisser à la main en quinconce.

3.2. ETALONNAGE ET INTRODUCTION DES SONDES pH ET PO₂

⊕ Etalonnage sonde pH

- Brancher la sonde 1PH1 au câble 1PHR1 (issu de la partie gauche de la console) et la placer sur une potence. Enlever le bouchon vert.
 - Sélectionner le mode « CAL » sur la console puis le canal « pH » avec la flèche haute. Valider.
 - Sélectionner « étalonnage en 2 points » et valider. Suivre les instructions (tampon 1 = pH4, rinçage, tampon 2 = pH7).
 - La validation du calibrage est indiquée après stabilisation.
- Débrancher la sonde (rincée et séchée), l'introduire puis la visser dans un des 2 emplacements disponibles sur la platine.

⊕ Etalonnage sonde pO₂

- Brancher la sonde 1OX1 au câble correspondant et la placer sur une potence.
 - Sélectionner le mode « CAL » sur la console puis le canal « oxygène » avec la flèche haute. Valider.
 - Sélectionner « étalonnage en 2 points » et valider. Suivre les instructions :
 - 0% = utiliser une solution de dithionite de sodium (10 à 50M)
 - 100% = dans un bécher d'eau distillée placer le tuyau d'alimentation en air issu de la console. Actionner l'arrivée d'air (1D08) sur la dalle tactile : cliquer sur le rond → Control State ON → Confirm (un dossier de lot doit être ouvert). Régler le rotamètre afin d'obtenir de l'eau barbotante dans un bécher.
 - Placer la sonde de pO₂ dans le bécher d'eau aérée.
 - La validation du calibrage est indiquée après stabilisation.
 - Arrêter l'alimentation en air sur la dalle tactile.
- Débrancher la sonde, l'introduire puis la visser dans un des 2 emplacements disponibles sur la platine

3.3 GESTION DES ENTREES / SORTIES DU FERMENTEUR

- Remplir les flacons d'additifs nécessaires à la régulation de la croissance : anti-mousse, solution acide (HCl 1M) et solution basique (NaOH 1M)
- Relier flacons et canules d'alimentation avec des flexibles.
- Vérifier que chaque flacon et que l'alimentation en air du spargeur soient munis d'un filtre absolu.
- Avec des pinces de Mohr, clamber :
 - Les flexibles d'alimentation en acide, base et antimousse,
 - Les flexibles entrée et sortie issus de l'échangeur
 - Le flexible de prélèvement d'échantillon
 - Le flexible d'alimentation du spargeur
 - Les flexibles entrée et sortie du condenseur
- NE PAS CLAMPER LES EVENTS DES FLACONS ET DU CONDENSEUR (CECI EVITERA UNE MONTEE EN PRESSION LORS DE LA STERILISATION)
- Recouvrir d'aluminium chacune des zones de branchement du moteur et des sondes.
- Enrouler les flexibles libres autour de la platine.
- Placer dans l'autoclave et faire lancer le cycle de stérilisation (20 min à 110°C) par une personne habilitée.

 LYCEE SAINT-PAUL IV	PROCEDURE	Pr Micro Ma 011
		Version 1
	UTILISATION DU BIOREACTEUR 2,1L	Date de mise en application : 19/11/13
		Page 4/5

4. LANCEMENT DE LA CULTURE

Matériel : briquet, alcool, seringues stériles

4.1 BRANCHEMENTS ET ALIMENTATION DU FERMENTEUR

- Enlever les pinces de Mohr.
- Replacer le moteur et le fixer. Ce dernier doit complètement adhérer à l'axe de fixation.
- Brancher rapidement, sur la console de régulation, les flexibles entrée/sortie de l'échangeur (pas de sens à respecter).
- Brancher rapidement à proximité le flexible de sortie du condenseur (bas du condenseur) puis le flexible d'entrée (haut du condenseur).
- Incérer la sonde de température 1TE1 jusqu'au fond de sa canule.
- Connecter le spargeur à la sortie d'air de la console.
- Câbler les sondes de pH, de pO₂ et d'anti-mousse (fiche rouge haute, fiche noire en bas)
- Placer les flexibles issus des flacons dans les pompes péristaltiques (pompe 1 =acide, pompe 2 = base, pompe 3 = anti-mousse). Le flexible provenant du flacon dans la partie inférieure.

4.2 REGLAGE DES PARAMETRES DE CROISSANCE

⊗ Signalétique de la dalle tactile

SYMBOLE	ROLE	ETAT
Rond	Permet d'actionner un élément (ex : moteur, rotamètre, pompe péristaltique...)	3 modes possibles : ON (vert) → l'élément est en activité constante OFF (gris) → l'élément n'est plus en activité PID CONTROLE → l'élément se met en route ou s'arrête afin de respecter une valeur consigne
Rectangle	Permet de réguler l'élément	VALEUR MESUREE → rectangle bleu CONSIGNE → rectangle jaune CONSIGNE DEPASSEE → rectangle rouge PUISSANCE → rectangle orange

⊗ Réglage des paramètres

PARAMETRES	ACTIONS A MENER
Agitation	Actionner le moteur (rond → ON ou PID Control). Rentrer la valeur consigne (rectangle jaune).
Air (spargeur)	Actionner le rotamètre. Régler le débit d'air sur le rotamètre de la console de régulation. Attention penser à convertir les VVM en L/h.
pH	Placer les interrupteurs des pompes péristaltiques sur AUTO. Actionner les pompes 1 et 2 (rond → PID Control). Rentrer la valeur consigne de pH.
Température	Actionner les 3 boutons de l'échangeur (rond → PID Control). Rentrer la valeur consigne de température.
Anti-mousse	

4.3 INOCULATION

Lorsque les paramètres sont stables, procéder à l'inoculation de façon aseptique.

→ Voir avec l'enseignant pour la technique à utiliser.

 LYCEE SAINT-PAUL IV	PROCEDURE	Pr Micro Ma 011
		Version 1
	UTILISATION DU BIOREACTEUR 2,1L	Date de mise en application : 19/11/13
		Page 5/5

5. SUIVI DE L'OPERATION UNITAIRE

5.1 PRELEVEMENTS

- Les prélèvements s'effectueront à l'aide d'une seringue stérile fixée sur le tuyau de la canule de prélèvement.

5.2 SUIVI DES MESURES

- Dans la barre des menus, cliquer sur l'icône « Edit Trends ».
- Choisir dans Fichier « Nouveau ».
- Sélectionner le groupe d'acquisition F1_F2 et le lot ouvert en partie 2.
- Sélectionner les paramètres à afficher.
- Cliquer sur la double flèche droite puis sur afficher.
- Cliquer sur les courbes à visualiser dans la nouvelle fenêtre qui s'ouvre.

- Pour ajouter un commentaire sur une courbe cliquer sur 

- Pour enregistrer les données sur clé USB cliquer sur 

6. ARRET ET DECONTAMINATION

- Arrêter l'ensemble des actionneurs (tous les ronds doivent apparaitre gris)
- Dévisser le moteur et recouvrir le support moteur d'aluminium.
- Débrancher sonde anti-mousse et enlever la sonde de température.
- Débrancher les sondes et les recouvrir d'aluminium.
- Débrancher les flexibles du condenseur et de l'échangeur.
- Débrancher les flexibles d'alimentation en acide et base des pompes.
- Clamper à l'aide de pinces de Mohr comme indiqué dans la partie 3.3.
- Décontaminer le fermenteur et le milieu par un cycle d'autoclavage (20 min à 110°C).
- Couper les alimentations en air , eau et tension.

7. NETTOYAGE

- Enlever, rincer et sécher les sondes.
- Replacer la sonde pH dans son électrolyte et la sonde PO₂ dans sa protection verte.
- Enlever la platine.
- Eliminer le milieu.
- Nettoyer les différents éléments à l'éponge.
- Remonter l'appareil.
- Couper l'eau, l'air puis l'alimentation électrique.