

Bulletin  
N° 19

International Journal of Biotechnology  
Mar 74 pp. 29-32 - Biologie du Sol.  
(France)

REALISATION D'UN LABORATOIRE DE CULTURE CONTINUE

ETUDE DE LA BIOMASSE MICROBIENNE

Nous avons réalisé un dispositif de culture régulée permettant de maintenir constants le pH, la densité optique et le volume de la culture. Dans ces conditions, le temps de génération de la souche correspond au temps nécessaire pour amener un volume de milieu neuf égal à celui de la culture et l'on peut ainsi effectuer une étude directe de l'influence de différents facteurs (lumière, pH etc...) sur la croissance de la souche. La possibilité de disposer de façon permanente d'un milieu de densité constante et dans un stade de développement constant facilite grandement les autres études physiologiques.

Ce dispositif qui a été réalisé à partir de matériel courant ne nécessite qu'un faible investissement complémentaire.

- le récipient de culture (1) est constitué par un réacteur "QUICKLIT" de deux litres pourvu d'un couvercle à cinq tubulures rodées.
- l'éclairage est assuré par une lampe à osmium au néon de 40 W type lumière du jour.
- l'homogénéisation de la culture est assurée à la fois par un agitateur magnétique (2) et par un plongeur permanent dans une pompe péristaltique "L&L" (modèle 1000) (3) destinée à amener la culture dans le tube de lecture d'un densitomètre "BAUSCH et LOMB" (4) réglé à 510 nm pour éviter un dépôt d'algues sur les parois et une décontamination du tube de lecture, le débit doit être important. D'autre part, il convient de protéger l'ouverture de la chambre de mesure du densitomètre par un cache évitant toute lumière parasite.
- un relais à point de consigne (5) (ZOGBI, 1974), commandé par le densitomètre, déclenche l'apport de milieu neuf (6) par une pompe péristaltique (7) aussitôt que la densité de la culture dépasse la valeur-seuil sélectionnée. Le trop plein de culture est alors chassé par un tube (8) qui sert en même temps à l'évacuation de l'atmosphère de la chambre. La séparation de la culture

\* Adresse actuelle: Centre ORSTOM, PO 1336, DAKAR  
République du Sénégal.

10 FEV. 1976

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

62 M B 7390 Bio Sol

et de l'atmosphère de gazage est faite au niveau de l'ampoule (9); le surplus de culture est recueilli dans le récipient (10) après passage dans le siphon (11) qui oblige les gaz à barboter dans la cellule de mesure du pH (12). Pour un fonctionnement convenable du système, la hauteur utile du siphon (H) doit être légèrement supérieure à la somme des hauteurs d'immersion des tubes barboteurs de la cellule de mesure de pH ( $h_1$ ) et du barboteur de sortie ( $h_2$ ).

- La culture reçoit en permanence un mélange air- $\text{CO}_2$  à raison de 70 ml d'air par minute. Ce mélange est réalisé à partir d'une pompe à air (18) du type utilisé pour les aquariums et d'une bouteille de  $\text{CO}_2$  industriel. Les débits sont évalués à l'aide de deux compte-bulles étalonnés et sont réglés au moyen de tubes de verre capillaires en jouant à la fois sur le diamètre des capillaires et la pression d'admission des gaz. Si l'on désire faire varier de façon continue la teneur en  $\text{CO}_2$  du mélange, on a intérêt à remplacer le capillaire en réglant le débit par une vanne à aiguille "Millimite" (AIR LIQUIDE).

Les gaz sont stérilisés par passage sur filtre "Millipore".

En choisissant une concentration appropriée de  $\text{CO}_2/\text{Na}_2$  dans le milieu de culture et de  $\text{CO}_2$  dans l'air, on peut obtenir le pH désiré (UMBRETT, W.W., 1964).

- Après passage dans le récipient de culture (1), le gaz vient barboter dans la cellule de mesure du pH (12) remplie du même milieu non inoculé. A condition que le volume gazeux compris entre les deux récipients ne soit pas trop important, il n'existe pratiquement pas de décalage entre le pH des deux solutions et ce mode de mesure présente l'avantage de ne pas nécessiter une stérilisation de l'électrode dans la fiole de culture.

Le réajustement du pH de la culture, qui a tendance à s'alcaliniser est obtenu par apport supplémentaire de  $\text{CO}_2$  au moyen d'une électrovanne (13) (AIR LIQUIDE réf. 4 32 - A - DS) commandée par un relais à point de consigne (14) (CHAUVIN et ARNOUX régulateur RIP réf. 16831 3.10) relié au pH mètre. La juxtaposition de l'échelle du pH mètre et de celle du régulateur est obtenue par adjonction d'un pont diviseur constitué d'une résistance de  $3,3 \text{ K}\Omega$  et d'une résistance variable de  $300 \Omega$ . Ce type de régulateur ne peut être utilisé avec le densitomètre BAUSCH et LOMB car le signal de sortie de ce dernier est d'une impédance trop faible.

- En cours de culture, les prises d'échantillon sont effectuées à la seringue par un diverticule placé sur le tuyau de retour de la culture après son passage dans le densitomètre (19). Ce montage peut fonctionner soit comme turbidostat, soit comme pHstat et permet de combiner les deux effets. Il présente l'avantage d'être réalisé en grande partie

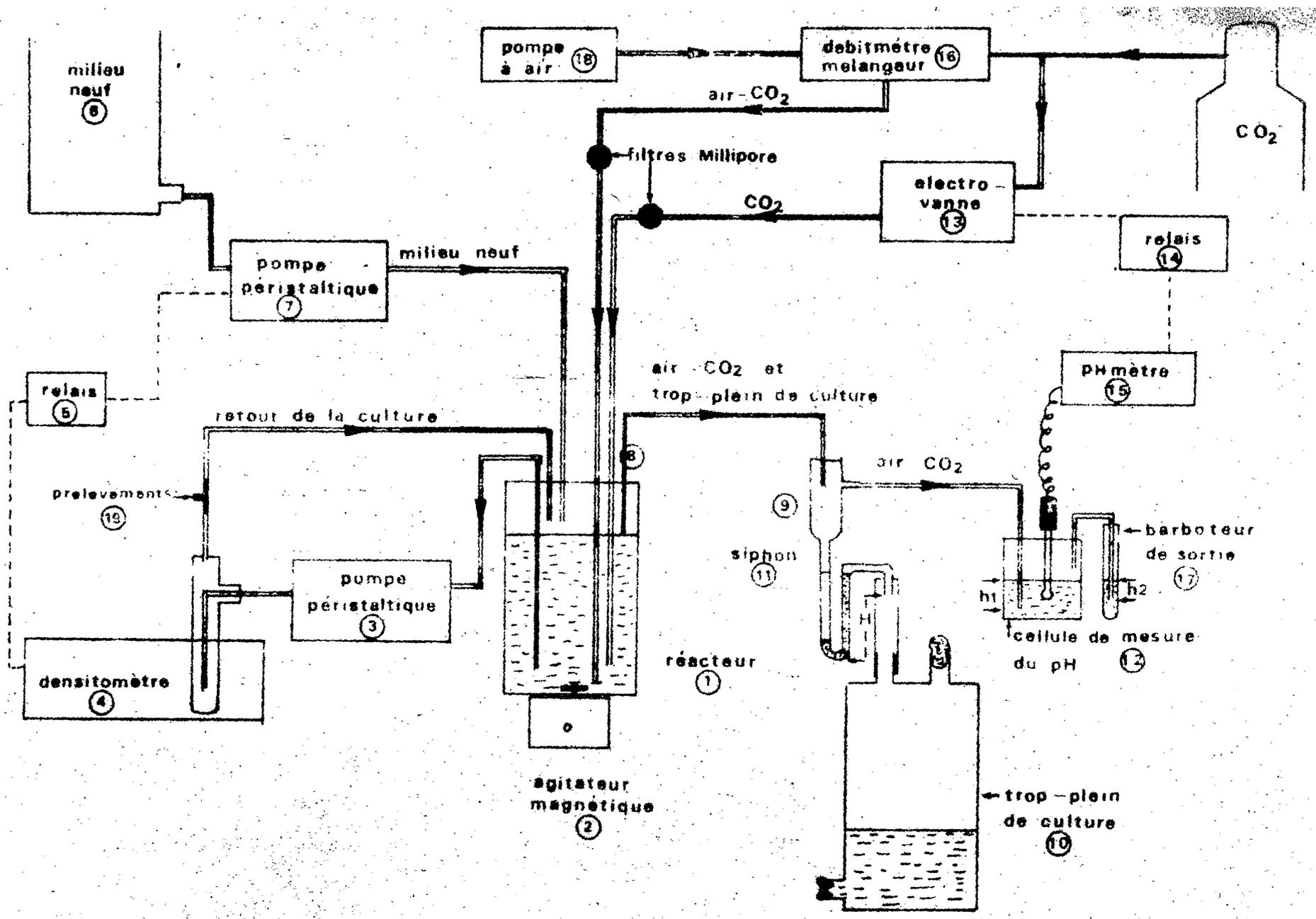


fig 1 : Turbidostat - pH-stat pour culture continue d'algues

avec des appareils courants de laboratoire. En outre, la régulation du pH est obtenue à partir d'une mesure effectuée en dehors de la culture, en utilisant le  $\text{CO}_2$  nécessaire à la nutrition carbonée des organismes étudiés.

#### Références

- UNBREIT, W.W., 1964. Carbon dioxide and bicarbonate in "Manometric techniques", Burgess Pub. Comp., p. 18-27
- ZOGBI, R., 1974. Réalisation d'un régulateur à niveau d'entrée réglable de - 15 V à + 15 V I 1mV. Doc. Ronéo ORSTOM.

#### Résumé:

Réalisation d'un dispositif de culture régulée pour algues fixatrices de  $\text{N}_2$ .

Ce montage peut fonctionner soit comme turbidostat, soit comme pHstat et permet de combiner les deux effets.

Il présente l'avantage d'être réalisé en grande partie avec des appareils courants de laboratoire. En outre la régulation du pH est obtenue à partir d'une mesure effectuée en dehors de la culture, en utilisant le  $\text{CO}_2$  nécessaire à la nutrition carbonée des organismes étudiés.

#### Summary:

An apparatus for regulating growth of  $\text{N}_2$ -fixing algae.

This apparatus was developed to provide continuous growth of  $\text{N}_2$ -fixing algae. It consists of a turbidostat and a pHstat utilizing usual laboratory equipment. Both regulatory systems can be operated simultaneously or independently. pH was monitored by measuring  $\text{CO}_2$  concentration in the gas over the algal culture and was maintained by controlling the supply of  $\text{CO}_2$  required for C-nutrition of the organisms.