OBJET : **Acquisition d'un photobioréacteur plan pour la culture de microalgues en conditions axéniques pour la plateforme AlgoSolis de Nantes Université**

Cahier des Clauses Techniques Particulières

CCTP n°26033PAF

Procédure N° 26033PAF

Article 1 - Objet et contexte du marché public

Le présent marché public a pour objet l'acquisition d'un photobioréacteur plan pour la culture de microalgues en conditions axéniques.

Les porteurs du projet sont :
Emmanuel Dechandol, Jordan Tallec, Jordan Prieto, Jérémy Pruvost.

Contexte :
AlgoSolis UAR3722 est une plateforme académique basée à Saint-Nazaire (44600) dédiée à la valorisation préindustrielle des microalgues. Les activités de l'Unité inclus à la fois des procédés amont (sélection de souche, optimisation des conditions de culture, production de biomasse) et des procédés aval (récolte, déconstruction cellulaire, fractionnement d'extraits, purification de molécules d'intérêt). Le positionnement scientifique et technologique d'AlgoSolis consiste à lever les verrous de la montée en échelle (volume) et en niveau de maturité de technologie (TRL) des bioprocédés appliqués au microalgues.

Dans ce contexte, la plateforme AlgoSolis souhaite faire l'acquisition d'un photobioréacteur plan compact permettant la montée en échelle de souche de microalgues en conditions axéniques. Les cultures réalisées dans ce photobioréacteur serviront d'inoculum propre (i.e. microbiologiquement contrôlé) pour alimenter des systèmes de production de plus grands volumes. Cette chaine d'ensemencement permettra d'avoir un contrôle strict sur la qualité microbiologique des cultures.

Article 2 - Objet du marché public

2.1 Définition et contexte d'utilisation de l'équipement

Le photobioréacteur compact permet la culture de microalgues photosynthétiques en conditions axéniques : il s'agira d'un système de production de biomasse microalgale permettant d'atteindre les besoins en biomasse de la chaine de production mise en place, à savoir un minimum de 40g par semaine de biomasse sèche (pour une espèce de référence de type Chlorelle). Le photobioréacteur devra être compact et permettra la production en continu. Il devra apporter des conditions de culture a minima axéniques.

2.2 Caractéristiques techniques de l'équipement

La technologie proposée devra respecter les caractéristiques suivantes :

L'équipement proposé comprendra :

- Une enceinte de culture (photobioréacteur) permettant la culture de microalgues dans des conditions axéniques
- Un système d'éclairage de type LED à intensité modulable

- Une unité de contrôle permettant le pilotage des options suivantes :
    - Régulation pH par injection de CO2
    - Débit d'air
    - Intensité lumineuse
    - Température de culture
    - L'enregistrement des données (dataloggeur)

2.2.1 Dimensions de l'équipement

- Le système devra avoir un encombrement maximal sur paillasse de 100 cm de large et de 70 cm de profondeur pour une hauteur maximale de 100 cm. L'encombrement sur la paillasse prend en compte le système d'éclairage, l'unité de contrôle et la pompe péristaltique, si la PSE 1 est retenue.

- L'enceinte de culture présente des surfaces optiques planes.

- La géométrie de l'enceinte de culture devra permettre d'atteindre une production de 40g de biomasse sèche en 7 jours de culture de microalgues cultivées en photoautotrophie*. La solution de stérilisation doit être soit une stérilisation par autoclavable soit une solution de stérilisation par vapeur fluente.
    - Si la solution de stérilisation par autoclavable est retenue, l'enceinte de culture proposée devra rentrer dans un cylindre (autoclave) de 49 cm de diamètre et de 70 cm de haut.
    - Si la solution de stérilisation par vapeur fluente est retenue (<0.5bar), le photobioréacteur proposé devra respecter encombrement maximal sur paillasse de 100 cm de large et de 70 cm de profondeur pour une hauteur maximale de 100 cm .

*Pour faciliter le dimensionnement de l'enceinte de culture, un abaque de sélection d'épaisseur de culture, intensité lumineuse et volume de culture est fourni en annexe pour garantir la possibilité d'atteindre 40g de biomasse en 7 jours,

2.2.2 Matériaux de l'enceinte de culture

- Le matériau des faces exposées à la lumière pour la culture photosynthétique doit être transparent (>70% de transmission dans le visible) et résistant à la température de stérilisation.
- Les matériaux de l'enceinte de culture et de ses périphériques (event, sondes, canules, ligne d'alimentation gaz) devront être compatibles avec la procédure de stérilisation choisie dans le 2.2.1.

Pour information, le générateur de vapeur et l'autoclave est déjà disponible au laboratoire et n'est donc pas demandé.

- Les matériaux de l'enceinte de culture seront également compatibles avec l'usage d'une solution de stérilisation chimique du type acide peroxyacétique.

- Les matériaux retenus devront avoir une surface lisse, éviter tout relargage et être résistants aux microrayures
- Les matériaux retenus devront résister à une amplitude de pH allant de 2 à 11 pour une salinité d'eau pouvant atteindre 35g/L.

2.2.3 Système de culture

- Le système de culture disposera :
    - D'un évent pour la sortie des gaz
    - De 2 canules d'injection pour le milieu de culture et l'inoculum
    - D'une canule de soutirage en point haut
    - D'au minimum 3 emplacements dédiés à l'installation de sondes (pH/T°C, O2, Concentration cellulaire). Il est demandé la fourniture des bouchons pour refermer ces emplacements en cas de non utilisation pendant la culture.
    - D'une surverse en point haut
    - D'une vidange en point bas permettant le retrait de la culture de façon axénique
    - D'un système d'injection d'air pour l'homogénéisation de la suspension algale
    - D'un système de régulation thermique du type échangeur de chaleur intégré au système
    - D'une méthode pour la prise d'échantillon de façon axénique (ex : septum)

- Les canules seront fournies par l'entreprise.
- Les pas de vis seront de type PG13,5 ou M18/150 pour les sondes et les canules
- L'homogénéisation de la suspension algale devra se faire par bullage d'air avec contrôle des débits par débitmètres massiques. L'air entrant sera préalablement filtré à 0.2µm.
- L'injection de CO2 (par le débitmètre) sera asservie à la régulation du pH et sera en mélange avec l'air.
- Le système de régulation thermique devra permettre de maintenir une température de culture sur une gamme de température comprise entre 12 à 38°C
- Un contrôle de l'axénie du PBR sera réalisé après installation du PBR. Il consistera à opérer le réacteur en conditions réelles d'utilisation (stérilisation, ajout du milieu de culture, bullage d'air, etc), sans microalgues, avec un milieu de croissance bactérienne stérile (ex : BHI, LB) pendant 7 jours en réalisant 4 échantillonnages (0 j, 2 j, 4j, 7j). Le contrôle qualité sera réalisé par comptage d'unité formant colonie (CFU/mL) sur le même milieu de culture utilisé en atmosphère aérobique à 37°C. Il sera validé s'il y a moins de 10 CFU/mL en moyenne décomptés pour chacun des échantillons. Les tests seront pris en charge par la plateforme AlgoSolis.

2.2.4 Unité de contrôle

- Le système devra être équipé d'une régulation du pH/T.
    - La sonde pH/température devra mesurer un pH compris entre 2 et 11 et une température entre 5 et 100°C, et devra être fournie.

- Le contrôle du pH sera fait par une électrovanne tout ou rien et l'application d'une consigne de débit de CO2 via un rotamètre CO2.
- Afin de réguler les entrées de gaz, devront être fournis :
    - Un rotamètre pour le gaz Air pilotable (< 500mL/min)
    - Un rotamètre gaz CO2 pilotable (< 50mL/min)
- L'asservissement de la température sera réalisé via un cryostat en tout rien.
- Le système de régulation thermique devra être pilotable par l'interface Homme machine.
- Lors de l'opération du PBR, le milieu de culture sera maintenu dans une plage de températures comprise entre 12°C minimum et 38°C maximum, avec une température consigne respectée à +/- 1°C.

2.2.5 Système d'éclairage

- La source lumineuse de type LED est à prévoir.
- Le spectre de lumière sera idéalement blanc, ou à défaut une combinaison à environ 50%-50% de bleu et de rouge.
- L'éclairage sera réglable en intensité. Le niveau d'intensité doit être précisé dans l'offre.
- Il devra permettre un éclairage homogène sur la culture.
- L'intensité lumineuse devra pouvoir être contrôlée et régulée au travers de l'interface logicielle de contrôle suivant les besoins (entre 0 et la valeur choisie par pas de 20µmolhv/m2/s minimum), solution préférée, ou via une alimentation externe qui permettra le même contrôle. Pour une aide à définir la puissance lumineuse voir l'abaque jointe.
- Pour optimiser la géométrie de l'enceinte de culture, un éclairage des deux faces du PBR peut être proposé (voir annexe).
- Un éclairage interne pourra aussi être proposé.

2.2.6 Monitoring

- Le logiciel développé pilotera l'ensemble des paramètres de culture tels que
    - L'intensité lumineuse.
    - La consigne pH.
    - La température.
    - Les débits d'aération et d'alimentation en CO2 (si débitmètres massiques sélectionnés en PSE)
    - Le réglage des débits des canaux de la pompe (si sélectionné en PSE).
- Le logiciel permettra de garder en mémoire plus d'un mois de paramètre (les sondes, les consignes et les états des actionneurs demandé par le soft) à un pas de temps de 2 secondes.
- Dans cette optique, les capteurs et actionneurs devront être en 4/20ma ou 0/10V dans l'optique de pouvoir intégrer des capteurs autres que ceux initialement fournis.
- La modification de la gamme de mesure et de contrôle devra être possible.

2.3 Montage/Démontage

- Le photobioréacteur devra être entièrement démontable aisément pour assurer maintenances, nettoyages mécaniques et manuels en complément des procédures de nettoyage et de stérilisation en place.
- L'ensemble composé du photobioréacteur équipé et des réseaux de gaz devra donc être démontable, nettoyable et stérilisable thermiquement (vapeur fluente, autoclavage).
- Le système doit permettre d'assurer une étanchéité totale à l'air et à l'eau.

2.4 Sécurité

- La sécurité d'emploi de l'ensemble sera prévue et documentée

2.5 Nettoyage/Stérilisation

- L'ensemble du système de culture doit permettre d'appliquer une procédure de nettoyage et de stérilisation en place qualifiable. Des tests complémentaires de validation du maintien de l'axénie seront réalisés. (voir 2.2.3 Système de culture).
- Un protocole de stérilisation sera à fournir. Ce protocole devra garantir que l'ensemble des parties internes du réacteur entre en contact avec l'agent stérilisant pendant la durée nécessaire à la stérilisation complète.
- L'efficacité des procédés de nettoyage doit être montrée scientifiquement et de manière documentée à l'aide de méthodes analytiques validées.
- Un rapport de validation des procédés de nettoyage sera établi, reprenant l'ensemble des résultats obtenus et leur évaluation.

2.6 Précision concernant la Prestation Supplémentaire Eventuelle obligatoire 1

La pompe péristaltique qui doit être proposée devra permettre l'inoculation de la biomasse, ainsi que l'alimentation à débit constant et contrôlé de milieu nutritif (débit permettant d'assurer entre 10% et 75% de renouvellement quotidien).
L'ensemble des raccords nécessaires au fonctionnement des pompes sera fourni.

---

3. Prestations Supplémentaires Eventuelles <u>obligatoires</u> (PSE)

La consultation contient trois (3) Prestations Supplémentaires Eventuelles à l'initiative de l'acheteur à caractère obligatoires, décrites ci-dessous.

Les soumissionnaires ont l'obligation de faire une proposition chiffrée pour ces PSE en faisant apparaître un chiffrage détaillé, et clairement identifié comme portant sur la PSE, dans l'annexe financière. Chaque élément propre à une PSE doit également être détaillé dans leur offre technique.

PSE	Description

PSE obligatoire n°1	L'intégration d'une pompe péristaltique, pilotable par logiciel avec au minimum 2 multi-canaux indépendants, par leur débit et sens de rotation. L'ensemble des raccords nécessaires au fonctionnement des pompes sera fourni.
PSE obligatoire n°2	Fourniture du cryothermostat permettant la régulation du PBR dans les gammes de température voulus entre 12 à 38°C
PSE obligatoire n°3	Remplacement des rotamètres par des débitmètres massiques. Le pilotage des débitmètres sera intégré à l'interface de contrôle.

Article 3 - Prestations connexes

3.1 Formation

Une formation de base de 1 jours sur site, sera assurée par le titulaire, pour 2 à 6 personnes, dédiée à la prise en main de l'équipement (Montage/Démontage, lancement et conduite de cultures).

Le candidat indiquera les modalités de la formation dans son offre.

3.2 Documentation

Le titulaire fournira, en deux exemplaires rédigés en français ou en anglais et sans supplément de prix, un manuel pratique d'utilisation et un manuel de maintenance de l'ensemble de l'équipement, qui resteront la propriété de Nantes Université.
Ces manuels doivent expliquer clairement les manœuvres de mise en route, d'utilisation, d'arrêt ainsi que les interdictions, les mesures de sécurité, les opérations de contrôle qui peuvent être faites par le personnel du site et la liste des pièces consommables associées à l'utilisation de l'équipement.
La documentation prévue doit être remise au plus tard au moment de la livraison.

3.3 Livraison

L'équipement devra être livré à cette adresse :

AlgoSolis UAR3722
16 chemin des Infirmières
44600 Saint-Nazaire

Le fournisseur devra prévoir le matériel nécessaire à l'acheminement et l'installation de l'équipement sur le lieu de livraison. L'équipement devra être livré avant le 9 juillet 2027.

3.4 Installation

- A compter de la date de livraison définie par le fournisseur, le matériel devra être installé dans un délai de 2 semaines.

- L'équipement devra être installé et le fournisseur devra attester de son bon fonctionnement et être en capacité de fournir les résultats attendus, dans la limite et tolérances établies.
- Des tests de performance seront effectués sur site après installation par le fournisseur, attestant des caractéristiques techniques annoncées, et leurs résultats conditionnent la validation du procès-verbal de mise en route suite à la vérification d'aptitude.
- Cette vérification a pour but de constater que le matériel livré présente les caractéristiques techniques qui les rendent aptes à remplir les fonctions précisées par le marché.

3.5 Garantie

Le matériel est garanti pièces, main d'œuvre et déplacement dans les conditions prévues ci-dessous contre tout vice de construction, fabrication, fonctionnement ou défaut de matières premières à compter de la date d'admission définitive de l'équipement pendant un minimum de deux ans.

3.6 Maintenance

La maintenance devra être assurée par le titulaire pendant la période de garantie initiale.

Annexe

Les graphiques présentés ci-dessous sont des outils d'aide au dimensionnement du photobioréacteur, incluant le volume total, l'épaisseur de culture et intensité lumineuse. La source lumineuse peut être dirigée d'un seul côté, ou des deux côtés de la culture, permettant de travailler avec un volume de culture moindre.
A titre d'exemple, si le système est équipé avec un système d'illumination d'un seul côté, fournissant 1000µmol/m2/s, et dont l'épaisseur de culture est de 3cm, un volume de culture utile de 11L sera nécessaire pour produire 40g de biomasse en 7 jours.

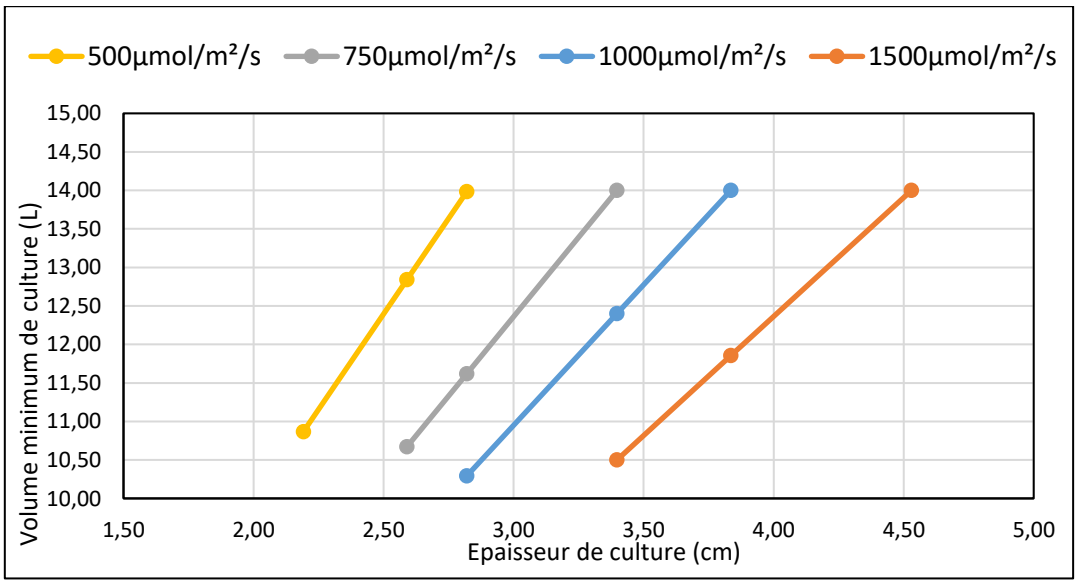


Figure 1 : Dimensionnenment du photobioréacteur si éclairage d'un seul côté du photobioréacteur.

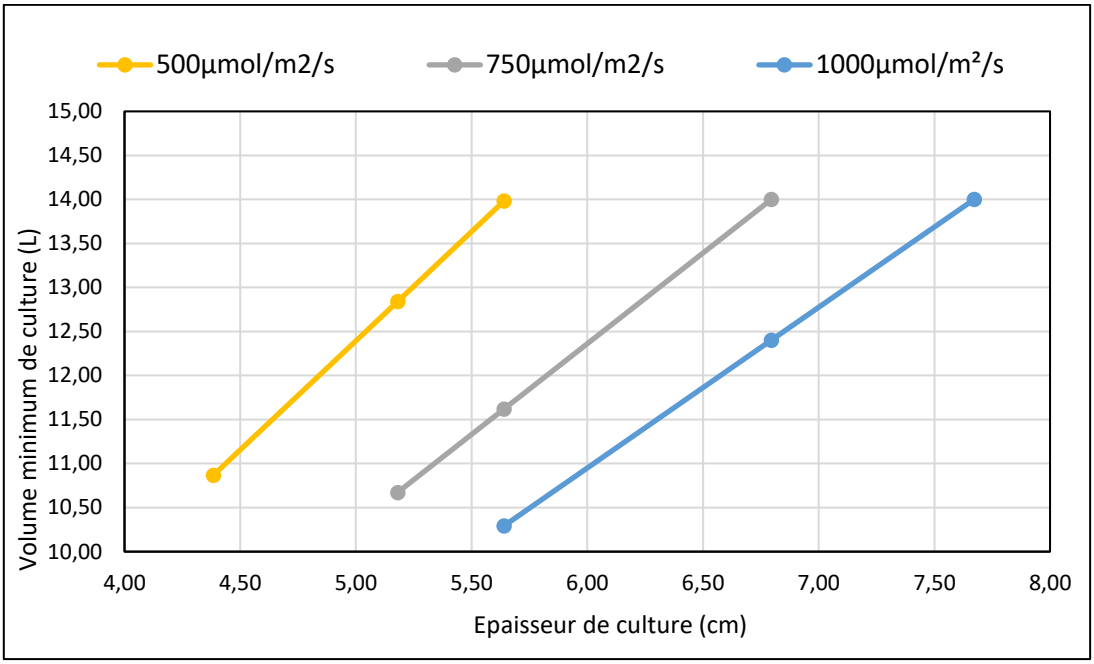


Figure 2 : Dimensionnenment du photobioréacteur si éclairage de deux côtés du photobioréacteur.