

Bioréacteurs ou fermenteurs : une technologie aux nombreuses applications

La biotechnologie est une technologie qui existe depuis des milliers d'années mais qui a été mise en lumière au cours des 20 dernières années. Pourquoi ?

Les procédés biotechnologiques sont faits dans des bioréacteurs ou fermenteurs, où des molécules sont synthétisées à l'aide de souches de bactéries, de levures et de cellules. Le produit final est utilisé dans de nombreux domaines de notre vie quotidienne, comme pour la fermentation du yaourt. Outre les applications dans le domaine des aliments et des boissons, il est également utilisé dans le domaine de la recherche et de la production de médicaments. Les régulateurs de débit jouent un rôle important dans ces bioréacteurs. L'essor de la biotechnologie et son champ d'applications croissant sont une bonne raison pour se pencher sur cette technologie fascinante.

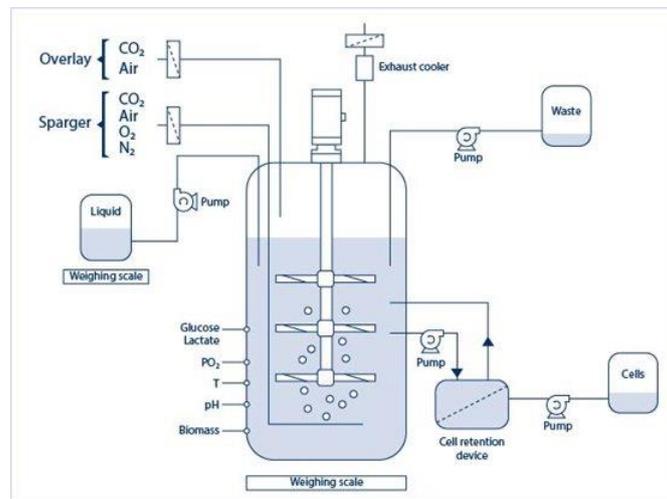


Le bioréacteur / fermenteur, cœur du procédé

En termes simples, un bioréacteur est un récipient dans lequel se produisent des procédés biologiques. Les bioréacteurs sont équipés soit d'une commande manuelle simple, soit d'une commande, entièrement automatique par automate. En général, le procédé du bioréacteur est un procédé discontinu. Le temps entre le début et la récolte s'appelle une campagne.

La majorité des bioréacteurs doivent être alimentés en gaz et en nutriments pour permettre la croissance des bactéries, des levures ou des cellules et pour que la synthèse biologique souhaitée puisse avoir lieu. Ces additifs sont généralement ajoutés en continu sur une période allant de quelques jours à plusieurs semaines. Les régulateurs de débit jouent un rôle d'une importance considérable dans le contrôle du procédé des bioréacteurs. La campagne d'un procédé contenant

des cultures cellulaires peut prendre jusqu'à trois ou quatre semaines avant la récolte, alors qu'une campagne avec des cultures bactériennes ne dure souvent que quelques jours.



Aperçu schématique du procédé du bioréacteur

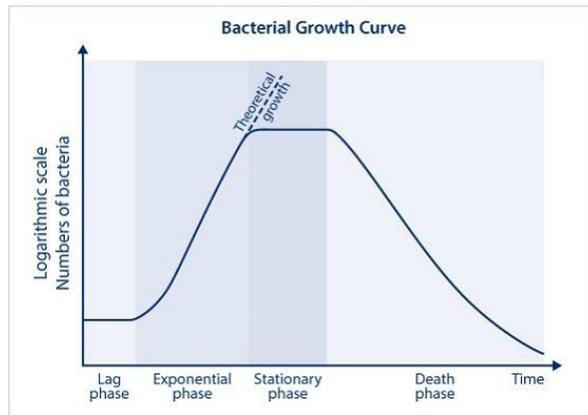
Mener à bien le procédé de manière stable pendant cette période représente un défi et il est donc très important de doser avec précision les gaz et les nutriments. Les variations de débit ont des conséquences importantes, que ce soit pour les bactéries ou pour les cultures cellulaires. Le dosage de tous les additifs est effectué dans des conditions stériles pour éviter toute contamination par des bactéries indésirables qui pourraient faire concurrence à la culture microbienne ou cellulaire.

En bref, la **fiabilité** mais surtout la **reproductibilité** sont des éléments clés dans les procédés du bioréacteur, en particulier en ce qui concerne la régulation des débits.

Aération des bioréacteurs à l'aide de régulateurs de débit massique

Les gaz qui sont couramment utilisés pour aérer les bioréacteurs sont : l'air, l'oxygène (O_2), l'azote (N_2) et le dioxyde de carbone (CO_2). L'azote (N_2) sert à étalonner le capteur d'oxygène (pO_2) et à réduire la teneur en O_2 dans le bioréacteur au début du procédé. Plus le nombre de bactéries ou de cellules est important, plus le besoin d' O_2 est grand. Le CO_2 sert à réguler l'acidité (pH) dans la phase liquide. Un bioréacteur est généralement régulé en vérifiant la pression partielle d'oxygène pO_2 et le pH dans la suspension.

L'absorption d'oxygène et de toutes les autres substances par les cellules se fait dans la phase liquide. L'oxygène doit donc être présent dans le liquide. Pour ce faire, il convient d'ajouter l'oxygène (éventuellement sous forme de composant de l'air) dans les plus petites bulles possibles. Le fait de remuer le liquide permet de répartir et de diffuser l'oxygène ajouté.



L'image montre la courbe de croissance idéale d'une culture bactérienne dans un bioréacteur.

L'histoire des bioréacteurs

La recherche et la première production de substances générées microbiologiquement et destinées aux médicaments ont commencé pendant la seconde guerre mondiale, lorsque les avantages du recours à la pénicilline pour soigner les soldats blessés ont été découverts. Il a alors été ainsi trouvé que l'utilisation de bactéries dans les procédés microbiologiques présentait un avantage par rapport à la synthèse chimique plus conventionnelle. Dans les synthèses chimiques, de nombreux composés résiduels sont générés, certains même dans des proportions bien plus importantes que la substance souhaitée elle-même



En revanche, dans les synthèses biologiques, on observe des rendements beaucoup plus élevés de la substance cible. En outre, cette synthèse offre souvent des méthodes de séparation plus simples. Par ailleurs, les bactéries, tout comme les cellules humaines ou animales, synthétisent des substances spécifiques auxquelles la synthèse chimique conventionnelle ne permet pas d'accéder, ou alors difficilement.

Au cours des 20 dernières années, de puissants procédés d'isolement de souches bactériennes et d'autres méthodes de génie génétique nous ont permis de produire, d'isoler et de multiplier

des souches qui font ce pour quoi elles ont été créées : synthétiser des substances cibles de manière spécifique, sélective et efficace. Dans la plupart des cas, ces synthèses sont réalisées dans ce que l'on appelle des bioréacteurs.

Applications du bioréacteur

Les bioréacteurs se présentent sous différentes tailles et formes qui conviennent à une grande variété d'applications. Cela va des plus petits réacteurs d'une capacité de quelques millilitres aux grands bioréacteurs pouvant atteindre 100 m³. En règle générale, le débit d'oxygène est de 0,1 à 0,15 fois le volume de travail par minute pour les cultures cellulaires et jusqu'à 2 fois pour les cultures bactériennes.

Industrie agro-alimentaire et boissons

Les bioréacteurs, appelés alors fermenteurs, sont utilisés dans la production d'aliments et de boissons à des fins de fermentation, que ce soit pour ajouter des vitamines, des colorants, des arômes, de l'alcool ou des antioxydants.

Prenez le yaourt par exemple. Il s'agit d'un produit issu de la fermentation du lait fait dans des fermenteurs. Les cultures de yaourt sont des bactéries d'acide lactique. Ou la bière... pour les procédés de brassage de la bière, les cellules de levure sont utilisées pour convertir les sucres en alcool. Et qu'en est-il du fromage ? À l'origine, le fromage est produit à partir du lait en y ajoutant la présure naturelle existante, qui est une enzyme provenant d'une plante ou d'un animal. De nos jours, la présure pour la fabrication du fromage est produite par des cellules de levure qui sont cultivées dans un fermenteur. Tous, des exemples d'applications du fermenteur.

Les micro-organismes sont utilisés depuis longtemps dans la production alimentaire, mais pourquoi la biotechnologie a-t-elle autant gagné en popularité depuis la seconde moitié du 20^e siècle ?



Développement et production de médicaments

La biotechnologie joue un rôle de plus en plus important dans le développement et la production de médicaments, ainsi que dans la multiplication des cellules souches. L'ensemble de ces activités est utilisé pour les traitements médicaux. Le délai de mise sur le marché, la réduction des coûts et la qualité constante des produits sont très importants pour la conception et la production de principes actifs pharmaceutiques. C'est pourquoi la fiabilité des bioréacteurs et la possibilité de faire évoluer le procédé des petits aux grands bioréacteurs sont très recherchées.

Produits chimiques et plastiques d'origine biologique

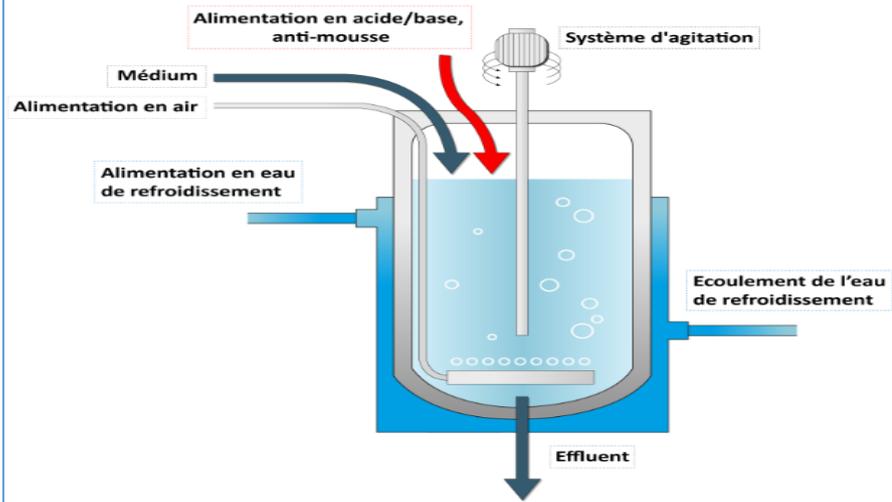
D'autres exemples d'applications biotechnologiques sont les produits chimiques et les plastiques d'origine biologique. Les chercheurs travaillent sur les plastiques renouvelables, qui sont fabriqués à partir de matériaux organiques à l'aide d'enzymes et de micro-organismes. Il existe déjà des exemples attrayants de plastiques d'origine biologique tels que des jouets, des pièces de voiture et des alternatives aux bouteilles en PET.

Le recours aux micro-algues et à la lumière du soleil pour convertir le CO₂ est un exemple concret de production biochimique. Nous vous invitons à lire la note d'application d'une université belge sur l'apport en CO₂ contrôlé pour l'algoculture : "Controlled CO₂ supply for algae growth." Algoculture

Énergie durable

Le passage à l'énergie durable est un autre facteur qui favorise l'utilisation des bioréacteurs. Le biogaz et le biocarburant sous forme de biométhane, de bioéthanol et de biodiesel gagnent en popularité dans l'approvisionnement énergétique de nos foyers, de l'industrie et des transports. Le gaz ou le carburant est créé par la fermentation de matières organiques telles que le fumier, les boues, les déchets organiques, l'herbe, le maïs ou la canne à sucre. Les cuves de fermentation, qui sont maintenues à une température de 38-40°C et qui font l'objet d'un brassage, sont en fait des bioréacteurs.

Bioréacteur



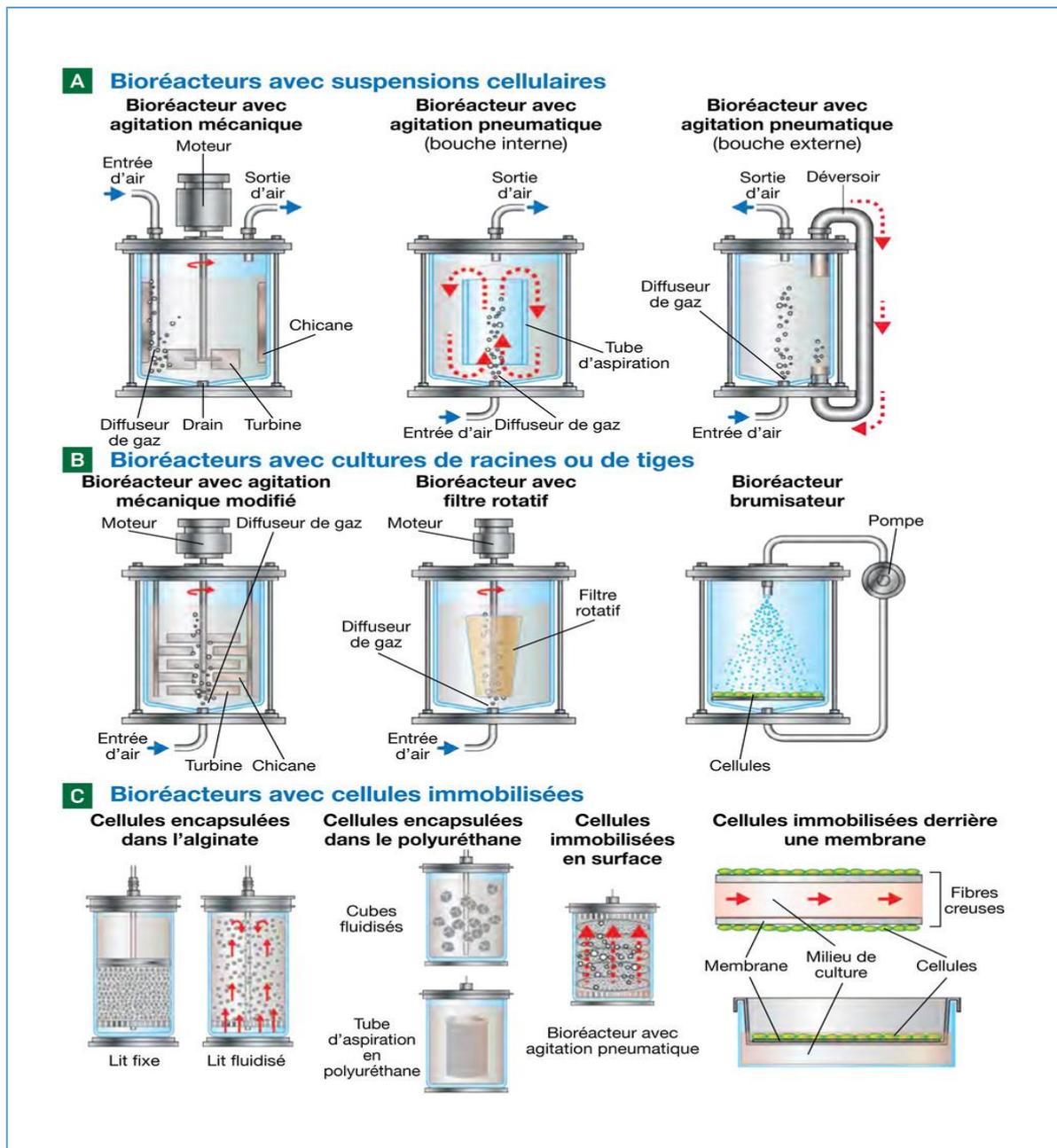


Figure 12.22 du manuel *Culture cellulaire animale et végétale*, d'Antoine Campeau-Péloquin et Sophie Roy.

Types de bioréacteurs

Les bioréacteurs présentés ici sont regroupés selon les types de cultures végétales. (A) On utilise ces bioréacteurs avec les suspensions cellulaires. Très bien adaptées à ce type de culture, les cellules libres sont agitées mécaniquement ou pneumatiquement. (B) Ces bioréacteurs sont utilisés avec les cultures de racines ou de tiges. Plus délicates et sensibles au cisaillement, elles sont placées sur des supports qui les protègent des turbines ou qui limitent l'effet de cisaillement. (C) On se sert de ces bioréacteurs avec les cellules immobilisées. Les dispositifs d'immobilisation séparent les cellules du milieu. Les cellules sont encapsulées ou immobilisées sur une surface ou derrière une membrane. Le mode d'agitation et l'immobilisation ont pour effet de limiter le cisaillement. Ce type de bioréacteur sert également à la production en continu.

Bioréacteurs et enzymes

Les enzymes peuvent être utilisées pour catalyser des réactions d'intérêt depuis de toutes petites échelles (on peut penser par exemple à un tube de PCR) aux échelles de productions industrielle énormes.

Un réacteur à enzymes est un "bocal" où une enzyme va catalyser la transformation d'un substrat en un produit d'intérêt. Il faudra ensuite récupérer le produit.

En comparaison aux catalyseurs chimiques, les enzymes proposent leur spécificité de réaction et de substrat reconnu, leur aptitude à catalyser à bas coût énergétique et plus de possibilités pour des procédés verts.

On verra dans la suite qu'il est intéressant de distinguer 2 grands types de procédés : ceux où on travaille par lots (procédés en batch, procédés par lots, procédés discontinus) et ceux où la production est réalisée en débit continu (procédés continus).

Dans la quasi totalité des process, il faut récupérer le produit sans le catalyseur enzymatique, c'est pourquoi la plupart des process utilisent désormais des enzymes immobilisées :

- **Grande facilité de récupération de l'enzyme en fin de cycle dans le cas des procédés discontinus (pour certaines catalyses, des industriels annoncent des utilisations d'enzymes immobilisées sur plusieurs centaines de cycles).**
- **Souplesse d'utilisation pour les procédés en continu grâce à la facilité de rétention dans le réacteur.**
- **Le fait que de nombreuses techniques d'immobilisation améliorent la stabilité thermique des enzymes.**

S'il fallait trouver des "inconvenients" à l'usage d'enzymes immobilisées dans les bioréacteurs à enzymes, on pourrait peut-être citer certaines baisses de performances en raison des limitations diffusionnelles qu'engendrent certaines immobilisations lors de la catalyse. L'enzyme libre est moins limitée. Mais cela ne paraît pas être un frein majeur !