



**HAL**  
open science

## **Bioreacteur hyperbar fonctionnant en mode semi-continu**

Gérard Demazeau, Alain Largeteau, Pierre Lemay

► **To cite this version:**

Gérard Demazeau, Alain Largeteau, Pierre Lemay. Bioreacteur hyperbar fonctionnant en mode semi-continu. Génie des procédés biotechnologiques : actes du Colloques 1998 du programme de recherche CNRS "Génie des procédés chimiques, physiques et biotechnologiques". Vol. 1, Jan 1998, Nancy, France. <hal-01718486>

**HAL Id: hal-01718486**

**<https://hal.science/hal-01718486v1>**

Submitted on 27 Feb 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire HAL, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC-ND 4.0 - Attribution - Non-commercial use - No Derivative Works - International License

# BIOREACTEUR HYPERBAR FONCTIONNANT EN MODE SEMI-CONTINU

Gérard DEMAZEAU, Alain LARGETEAU et Pierre LEMAY(\*)

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE DE CHIMIE ET DE PHYSIQUE DE BORDEAUX  
INTERFACE HAUTES PRESSIONS  
ICMCB - CNRS UPR 9048  
AVENUE PEY BERLAND - BP 108  
33402 TALENCE CEDEX

(\*)INSA - DEPARTEMENT DE GENIE BIOCHIMIQUE ALIMENTAIRE / CNRS UMR 5504  
LABORATOIRE BIOTECHNOLOGIE ET BIOPROCEDES, LA INRA  
COMPLEXE SCIENTIFIQUE DE RANGUEIL  
31077 TOULOUSE CEDEX 4

## RESUME

Un pilote hyperbar permettant des bioséparations ou des réactions en mode semi-continu est décrit. Son fonctionnement fondé sur l'utilisation de "cartouches" interchangeables permet une utilisation multifonctionnelle.

## INTRODUCTION

Il a pu être montré la faisabilité d'un procédé de baro-immunodésorption, l'inconvénient majeur de cette application résidait dans le fait qu'il était fondamentalement discontinu [1]. Un dispositif fonctionnant en mode semi-continu a donc été développé. La sensibilité des divers types d'interactions existant au sein des molécules et des biomolécules à la pression est rappelée dans la Figure 1.

| Nature des liaisons ou interactions | Energie (kJ/mol) | Groupes fonctionnels impliqués  | Effet d'une augmentation de pression  | Effet d'une augmentation de température                                |
|-------------------------------------|------------------|---|---|--|
| Covalente                           | 330-400<br>200   | Liaison peptidique :-NH-CO-<br>Cystine : S-S  | Pas d'effet   | Défavorable  |
| Electrostatique                     | 42-84            | Acides aminés avec COO <sup>-</sup> (Asp, Glu), ou NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> (His, Arg, Lys) | Défavorable   | Favorable  |
| Hydrogène                           | 8-40             | Atome H de OH ou NH (donneur) avec CO (accepteur).<br>Ex: -O-H...O=C                            | Pas d'effet ou très légèrement favorable  | Défavorable  |
| Hydrophobe                          | 4-12             | Acides aminés avec chaîne latérale aliphatique (Leu, Ile, Val)<br><br>ou aromatique (Phe, Tyr)  | Défavorable<br><br>Favorable dans le cas de l'empilement des noyaux aromatiques | Favorable à température modérée<br><br>Défavorable à haute température |

Figure 1 Effets de la pression et de la température sur les différents types de liaisons ou d'interactions à l'origine de la stabilité d'une protéine [2,3]

A la lecture de ces diverses sensibilités, la conception d'un pilote "universel" trouvant des applications dans les domaines des (bio)séparations (non limitées aux interactions bioaffines) a été entreprise. Sa structure non figée permet de l'utiliser dans d'autres domaines tels que la catalyse enzymatique par exemple.

## DESCRIPTION DU PILOTE

Le schéma général du pilote est repris dans la Figure 2. La justification des choix est définie dans les chapitres suivant.

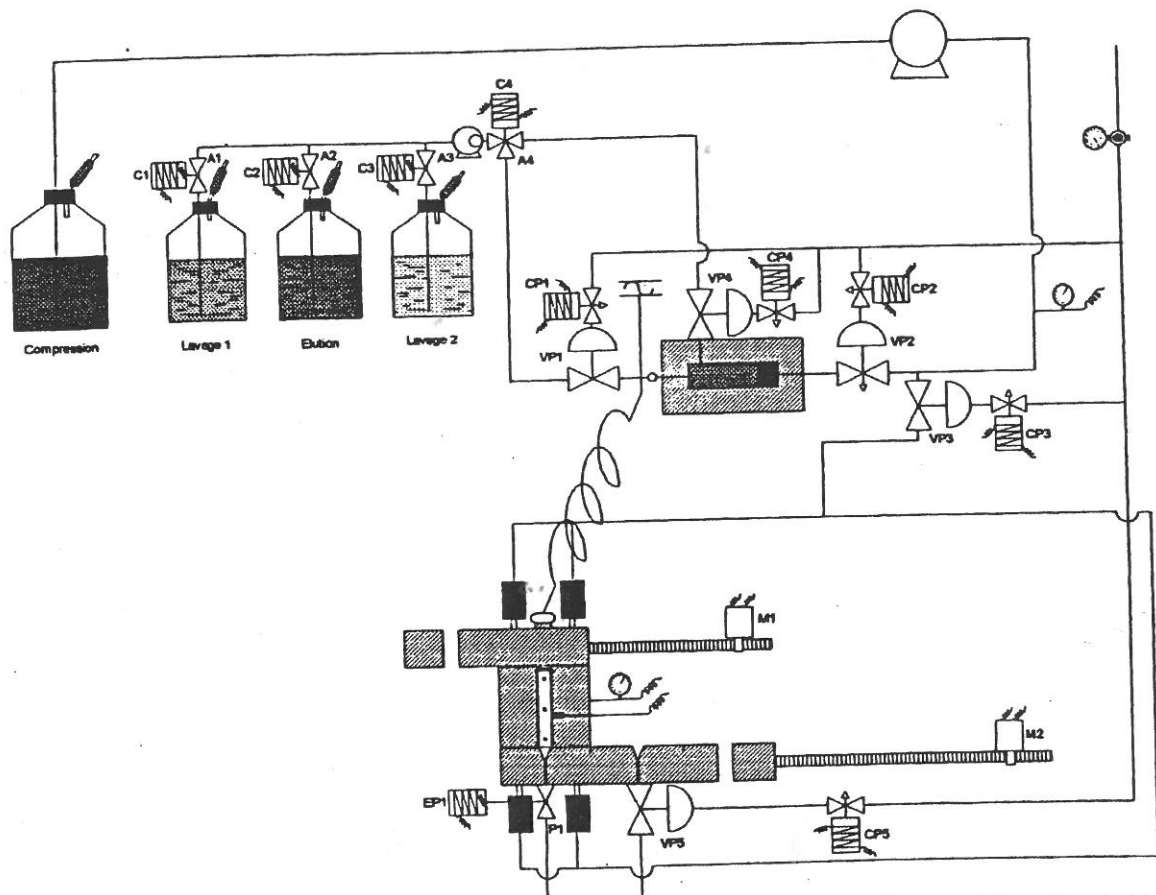


Figure 2 Schéma général du pilote. (VP : vannes haute pression ; CP : Contrôle pneumatique des vannes haute pression ; EP et P : Contrôle et purge basse pression ; C et A : Contrôle circuit basse pression ; M : moteurs de commande des translations).

Les vannes A1 à A4 permettent la distribution des réactifs sous basse pression. Les vannes VP1 et VP4 desservent le surpresseur haute pression. Les vannes VP2 et VP3 contrôlent la pressurisation des réactifs et assurent l'étanchéité du dispositif. Les vannes P1 et VP5 régulent, respectivement, la purge basse et haute pression.

## BASES DE LA CONCEPTION

Le pilote devait répondre aux obligations suivantes :

- pluripotentialité
- résistance à la corrosion et à la pression

- précision et reproductibilité des opérations
- thermostatisation

## **PLURIPOTENTIALITE**

Afin d'obtenir une grande souplesse d'utilisation et de varier à la demande les supports utilisées (affinité, hydrophobes, enzymes greffées...), les matrices sont introduites sous forme de cartouches, ceci permet des pré-traitements ou des pré-incubations à pression atmosphérique, sans mobilisation du pilote d'où gain de temps.

## **CONTRAINTES MATERIELLES**

Le corps du dispositif constituant l'enceinte du chromatographe hyperbar est un cylindre réalisé en alliage base nickel présentant d'une part une bonne tenue à la corrosion et d'autre part de hautes caractéristiques mécaniques et dans lequel sont introduites les cartouches.

Un dispositif de compression hydraulique permet de fermer l'enceinte par deux pièces réalisées en acier inoxydable, faisant office d'obturateurs. L'étanchéité est réalisée jusqu'à 400 MPa par un joint torique en nitrile (dureté 90 shores), logé dans une gorge sur chaque face du cylindre constituant l'enceinte.

## **PRECISION ET REPRODUCTIBILITE DES OPERATIONS**

Les obturateurs sont déplacés à l'aide de moteurs pas à pas permettant successivement de positionner, avec précision, les orifices en face de la cavité du cylindre.

Le prototype est conçu suivant l'approche d'une double commande : manuelle et interfacée.

L'approche manuelle permet une définition précise (temps, température, pression) des étapes de déroulement d'une application en vue du développement de logiciels de commande/acquisition spécifiques à chacune d'entre elles (sur une base commune bien évidemment).

## **PRINCIPE DE FONCTIONNEMENT**

Le déroulement d'une chromatographie "hyperbare", par exemple, est le suivant :  
Après chargement de la cartouche sur le support de laquelle est fixé, à partir d'un mélange, la molécule d'intérêt, un lavage basse pression (lavage 1) est pratiqué. Le réacteur est alors mis sous pression en vue de la désorption du produit du support. L'ensemble est dépressurisé, la cartouche lavée (lavage2) et une autre cartouche peut être introduite en vue d'une nouvelle séparation.

## **ETAT D'AVANCEMENT DES TRAVAUX**

Le principe de fonctionnement étant défini, le montage du pilote est en cours de réalisation (Figure3). La partie basse pression et le module de commande manuelle sont opérationnels. La complexité de la partie haute pression, compte tenu des contingences

exprimées plus haut, est en cours de définition et son implantation, pour ce qui est des éléments standards en développement.

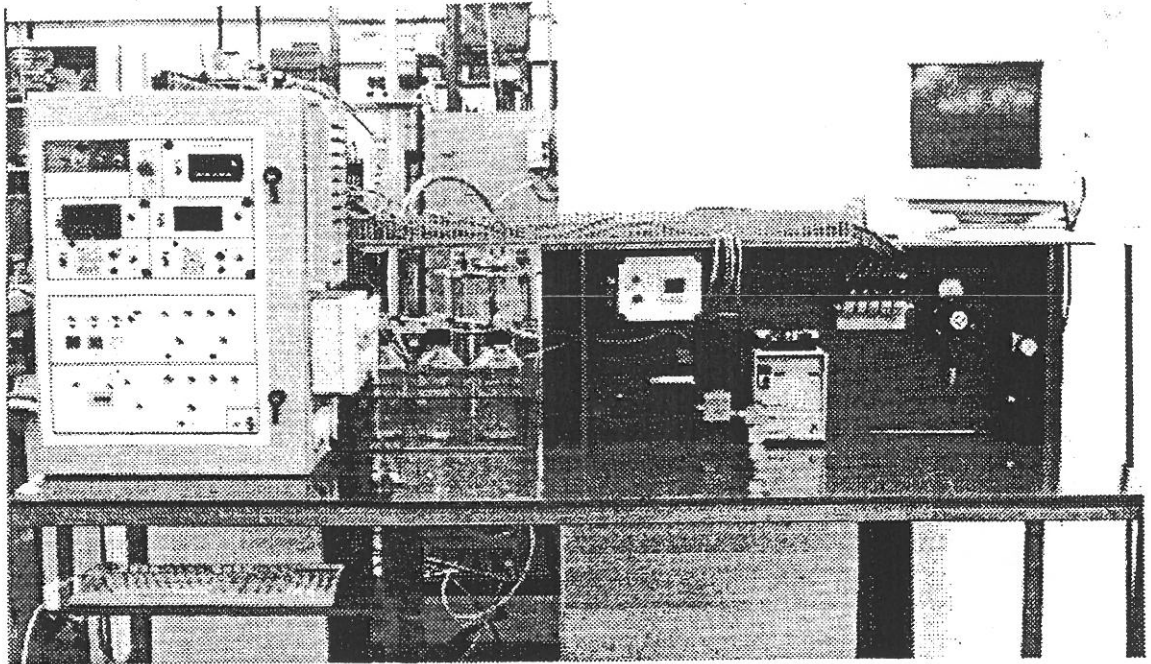


Figure 3 : Pilote en cours de réalisation

Le tableau de commande (à gauche) et les réservoirs basse pression ainsi que la zone de distribution des réactifs sont visibles (partie centrale).

### CONCLUSION-PERSPECTIVES

La stratégie étant maintenant définie, les calculs et la réalisation des divers éléments « artisanaux » devraient permettre d'envisager les premiers essais du pilote durant l'été 1999.

L'interfaçage commande/acquisition se fera à l'issue de ces essais.

Nous n'avons développé que l'aspect bioséparations. Il va de soi que n'importe quel réactif, à condition qu'il soit greffable sur un support (enzyme, catalyseur...), dont l'activité soit modulée par la pression et/ou la température, peut être utilisé dans un tel réacteur.

### BIBLIOGRAPHIE

- [1] Degraeve P., Lemay P., Antigen-antibody interactions under high pressure: Application to a baro-immunosorption process. in : High Pressure Research in the Biosciences and Biotechnology, 115-118. Ed : Heremans K., Leuven University Press Leuven (1997)
- [2] Balny C., Mozhaev, V.V., Lange R., Hydrostatic pressure and proteins: basic concepts and new data, Comp. Biochem. Physiol., 116A, 299-304 (1997)
- [3] Messens W., Van Camp J., Huyghebaert, A., The use of high pressure to modify the functionality of food proteins, Trends Food Sci. Technol., 8, 107-112 (1997)