

chapitre II: Bioréacteurs ou réacteurs enzymatiques

Bioréacteur: équipement pour réaliser toutes sortes de bioprocédés, construits en général sur les mêmes modèles que les réacteurs chimiques, se sont des cuves ou enceintes en verre pour les modèles de laboratoire ou en acier inoxydable pour les modèles industrielles

Fermenteur: bioréacteur qui permet d'atteindre et de maintenir les conditions optimal de fermentation en conditions stériles, l'ajout de nutriments, l'obtention de produits, la mise en place de capteurs ainsi que les équipements de chauffage, refroidissement, aération, agitation, stérilisation etc....

La mise en œuvre des réactions enzymatiques se fait dans des réacteurs dont le choix du design et de la configuration se fait en considérant plusieurs paramètres tel que:

- Type de réaction et nature du produit désiré.
- Quantité à produire.
- La forme de l'enzyme utilisée (libre ou immobilisée) et son cout.

Il existe des réacteurs industriels pour la catalyse homogène (enzyme libre) lorsque le cout de l'enzyme est faible, ce qui offre la possibilité d'une utilisation unique. Par contre lorsque le cout de l'enzyme est important, on l'utilise sous forme immobilisée qui nous permet sa récupération et son réutilisation.

La mise en place d'un nouveau procédé industriel, par les étapes suivante :

- Découverte : elle se fait en laboratoire dans un mini-procédé de 10 à 100ml de capacité.
- Développement : se réalise sur un pilote de développement de 10 à 100 l de capacité.
- Production : le procédé industriel est réalisé dans des réacteurs de capacité entre 10 et 100 m³ et peut atteindre 500 m³.

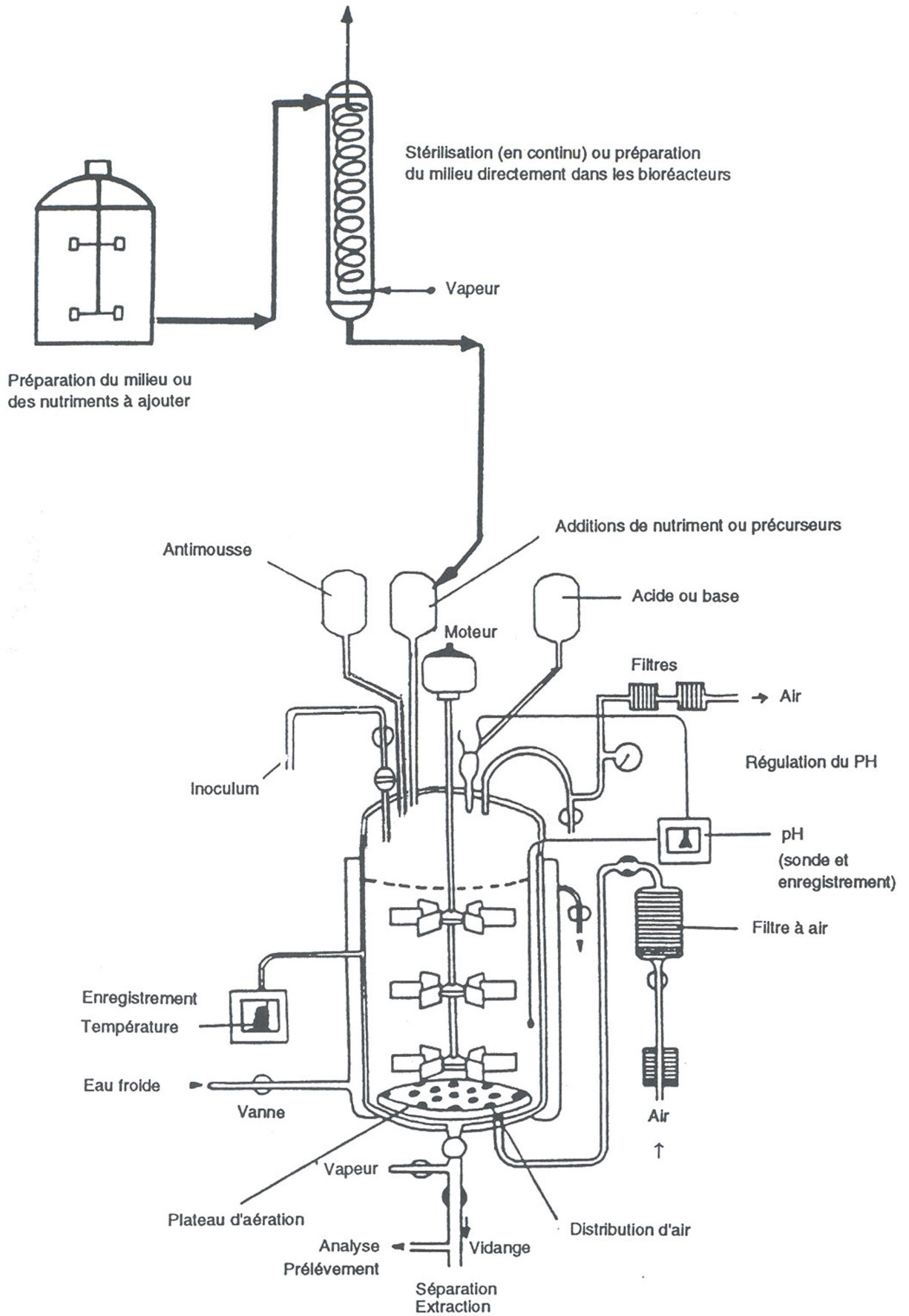


Schéma d'un fermenteur en discontinu et de ses accessoires.









II-1 : Réacteurs discontinus

La mise en œuvre des réactions biologique se fait généralement dans des cuves agité fermé, le catalyseur est mis en contact avec les substrats pendant un temps donné, la température et le pH sont contrôlés. La récupération des produits se fait généralement par, par filtration, par centrifugation ou par précipitation. Ce type de réacteur comporte plusieurs inconvénients tel que le cout de main d'œuvre lié à la fréquence des démarrages et des arrêts la perte des enzymes souvent actives en fin de chaque cycle ainsi que de la nécessité d'une étape supplémentaire de séparation des enzymes du milieu réactionnel.

II-2 : Réacteurs continus

Plusieurs réactions enzymatiques sont conduites dans des réacteurs continus tel que :

- Les réacteurs ouverts parfaitement agité.
- Les réacteurs à lit fixe.
- Les réacteurs à lit fluidisé.
- Les réacteurs membranaires.

L'écoulement dans les trois deniers types est considéré de type piston.

II-3 : Réacteurs à limitation diffusionnelle

II-3.1 : Transfert de matière liquide- solide dans le cas d'un film non poreux

Lorsque l'enzyme est immobilisé à la surface d'un support, il se produit un équilibre (couplage) entre

Entre la réaction biochimique et le transfert de matière liquide-solide entre la vitesse de la réaction enzymatique et la bioréaction. E couplage est rencontré lorsqu' un substrat réagit à la surface de particules solides sur lesquelles sont fixés une enzyme ou des micro-organismes, le substrat se déplace du cœur de la phase liquide à l'interface liquide-solide ou il est consommé par bioréaction, un régime quasi stationnaire est rapidement atteint, et la concentration en substrat à l'interface C_{Si} s'établit à une valeur telle que la vitesse de transfert de matière soit égale à la vitesse de bioréaction. Si on applique le modèle de Michaelis-Menten à une réaction enzymatique, l'égalité des vitesses permet d'écrire :

$$k_l \cdot a' (C_s - C_{Si}) = r_{max} \cdot C_{Si} / (K_M + C_{Si})$$

k_l (m/s) : coefficient de transfert de matière liquide-solide.

a' (m²/kg) : aire spécifique du support d'enzyme.

r_{\max} (mol.s⁻¹.kg⁻¹) : vitesse spécifique de bioréaction par unité de masse de support.

C_{Si} (mol/m³) : concentration en substrat à l'interface liquide-solide.

C_S (mol/m³) : concentration en substrat au cœur liquide loin de l'interface.

Après quelques transformations, la relation ci-dessus prend la forme adimensionnelle suivante :

$$\left[\frac{K_M}{C_S} + \frac{C_{Si}}{C_S} \right] \left[1 - \frac{C_{Si}}{C_S} \right] = \frac{r_{\max}}{k_l \cdot a' C_S} \left(\frac{C_{Si}}{C_S} \right)$$
$$= D_a \left(\frac{C_{Si}}{C_S} \right)$$

$D_a = \frac{r_{\max}}{k_l \cdot a' C_S}$ appelé nombre de **Damkohler**

Le nombre de Damkohler représente le rapport entre la vitesse maximale de la réaction et la vitesse maximale de transfert de matière. Transfert de matière et réaction étant en série, si leurs vitesses sont très différentes, c'est le phénomène le plus lent qui sera l'étape limitante du processus.

- **Da »1** : vitesse de réaction élevée devant la vitesse de transfert, ce dernier phénomène est donc limitant. Alors C_{Si} est très petite devant C_S et la vitesse du processus est donc égale à $k_1 a' C_S$.

- **Da «1**: le phénomène limitant est la réaction biochimique, la vitesse du processus est donc $r_{\max} C_S / (K_M + C_S)$.

II-3.2 : Transfert de matière liquide- solide dans le cas d'un support solide poreux

Ce cas est rencontré dans les situations suivantes :

- Des enzymes ou des microorganismes sont inclus à l'intérieur de particules poreuses ou de gel.
- Développement de films microbiens (biofilm).

Les phénomènes de transfert de matière intra particulaire et de consommation de substrat par réaction sont simultanés et non successifs comme précédemment. Il s'établit à l'intérieur de la particule, un gradient de concentration en substrat et donc une vitesse de consommation de celui-ci.

E régime quasi-stationnaire, un bilan de matière différentiel sur le substrat aboutit aux équations différentielles suivantes :

- En configuration sphérique de rayon z : $D_{\text{eff}}[d^2 C_S / dz^2 + 2/z \cdot dC_S / dz] = r$

- En configuration film plan : $D_{\text{eff}} d^2C_S/dx^2 = r$

Avec les cas limites suivantes :

- $C_S = C_{Si}$ pour $x=L$ ou $z=R$; continuité de la concentration en substrat à l'interface liquide-solide.
- $dC_S/dz = 0$ ou $dC_S/dx = 0$ pour $z=0$ ou $x=0$; arrêt de la diffusion au centre de la particule ou à l'extrémité du film.

Dans ces relations, $L(m)$ représente l'épaisseur du film, $R(m)$ le rayon de la particule, z et x les coordonnées courantes, $C_S(\text{kg}/\text{m}^3)$ la concentration en substrat dans la phase liquide qui imbibe le milieu solide poreux, $C_{Si}(\text{kg}/\text{m}^3)$ la concentration en substrat dans la phase liquide à la surface de la particule, $r(\text{mol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{m}^3)$ la vitesse spécifique de bioréaction par unité de volume du support solide et $D_{\text{eff}} (\text{m}^2/\text{s})$ le coefficient de diffusion effectif du substrat dans le milieu poreux qui dépend de la diffusivité du substrat ainsi que de la tortuosité et de la porosité du solide.

Si la loi de vitesse est $r = r_m C_S$, la résolution des équations ci-dessus donne le facteur d'efficacité η_e , défini comme le rapport entre la vitesse observée et la vitesse $r_m C_{Si}$ qu'aurait la réaction biochimique en l'absence de gradient de concentration intra particulaire en substrat.

Si la bioréaction suit le modèle Michaelis -Menten, alors le facteur d'efficacité η_e est fonction du rapport K_M/C_{Si}

Et d'un module de Thiele θ défini par :

- En configuration sphérique : $\theta = R/3 \cdot (r_m / D_{\text{eff}} K_M)^{1/2}$
- En configuration plane : $\theta = L \cdot (r_m / D_{\text{eff}} K_M)^{1/2}$

II-4 : Dimensionnement des bioréacteurs

Pour une conduite optimale d'une bioréaction, on doit dimensionner les différents éléments constitutifs du bioréacteur. L'opération de mélange et d'agitation est le paramètre critique du procédé puisque responsable des phénomènes de transferts intervenant au sein du réacteur.

II-4.1 : Agitation mécanique et force de cisaillement

Les mobiles d'agitation sont classés en deux catégories : les mobiles cisailant et les mobiles non cisailant.

Pour l'agitation des cuves standards, il existe deux types de mobiles d'agitation avec des propriétés différentes :

II-4.1.1 : Mobile rotatif à débit radial (cisailant)

Le mouvement généré par cette turbine est radial, puis axial lorsque le liquide rencontre la paroi de la cuve, le cisaillement créé par la turbine accroît la turbulence et donc le mélange du liquide et un bon transfert d'oxygène, mais il est traumatisant pour les cellules ce type de mobile convient aux bactéries et aux levures :

Turbine à pales droites ou incurvées (six pales plates ou turbine Rushton)

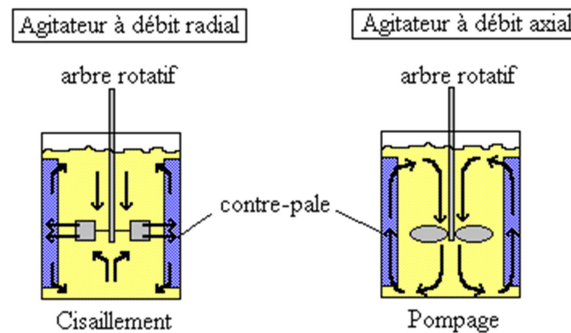
Aspiration axiale et refoulement radial ceci dissipe une forte énergie, les pales sur le disque sont souvent verticales et créent une forte turbulence à très grande vitesse du fluide et un fort cisaillement, le disque plein agit comme un piège pour le gaz et le dirige vers les pales.

Ces turbines consomment 10 à 12 fois plus d'énergie que les hélices.

II-4.1.2 : Mobile rotatif à débit axial (non cisailant)

L'agitation provoque un mouvement axial du liquide qui est moins traumatisant. Grâce à une action de pompage, le liquide et les **cellules sont** poussés délicatement au fond de la cuve et remontent le long des parois.

On a moins de collisions et zones stagnantes mais un mauvais transfert d'oxygène, ce type de mobile de type hélice marine convient pour les cellules fragiles.



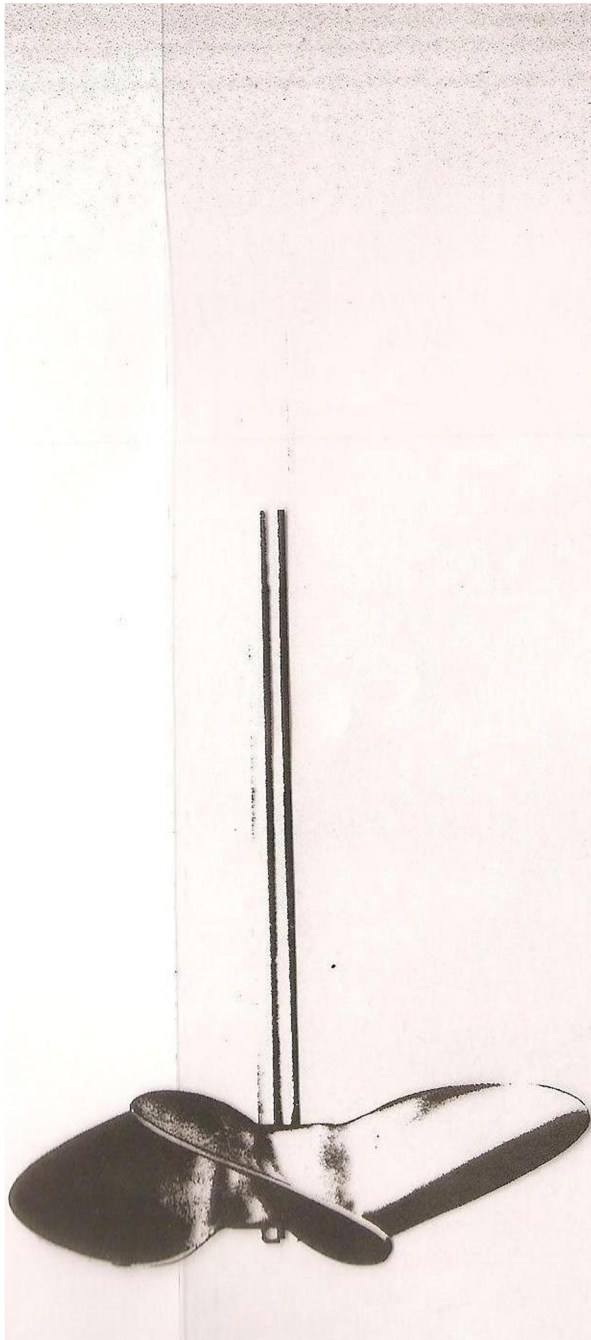


Figure 4.1: Photograph of square-pitch marine type impeller.

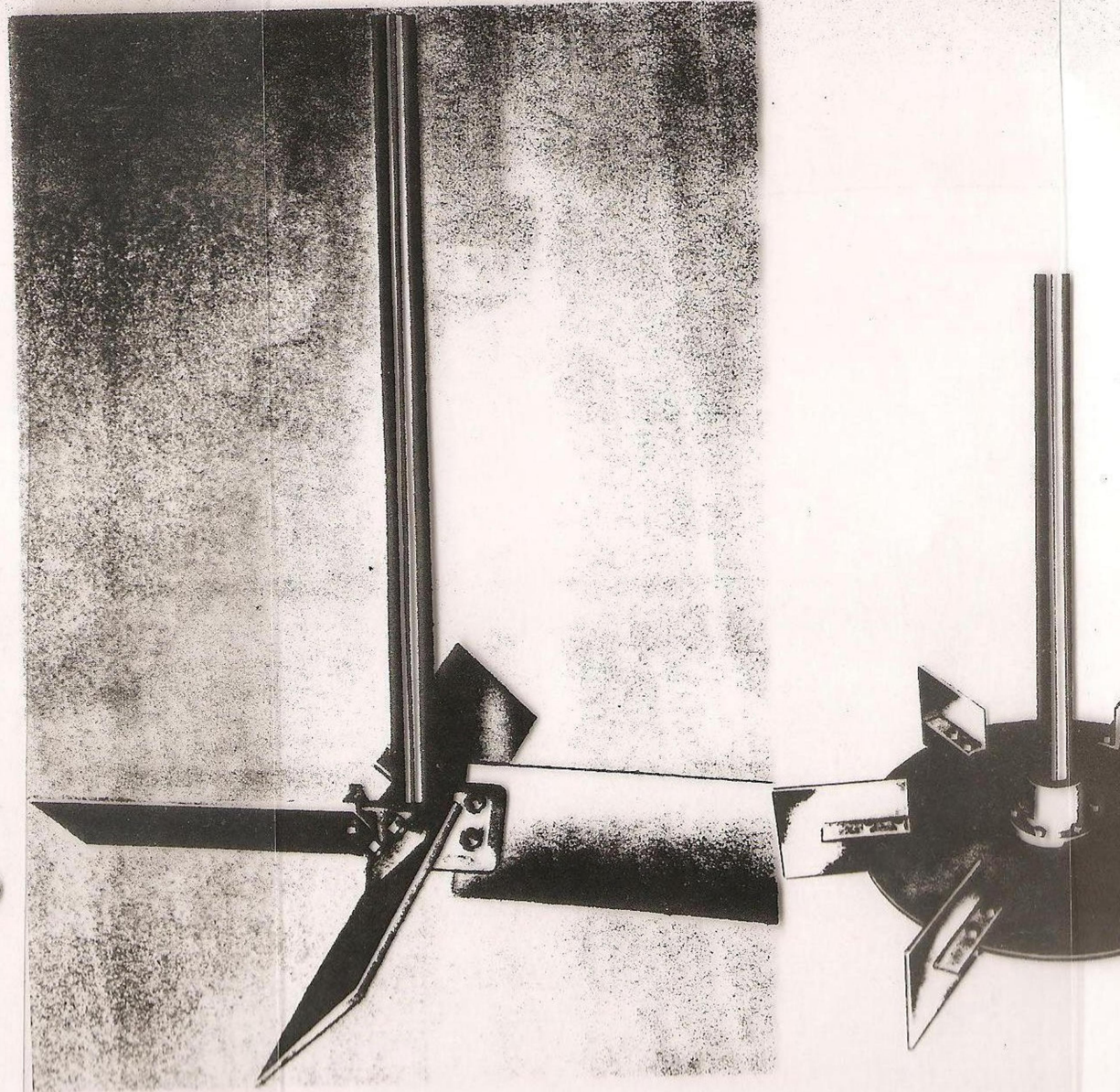


Figure 4.2: Photograph of radial flow, 0

II-4.2 : Temps de mélange

Le temps de mélange t_M est le temps nécessaire homogénéiser la composition d'une phase liquide suite à une perturbation.

En régime turbulent, le temps de mélange est donné par les relations :

$$t_M = 6 \left(d_c/d_a \right)^2 / N \quad \text{pour une turbine}$$

$$t_M = 4 \left(d_c/d_a \right)^2 / N \quad \text{pour une turbine}$$

Avec : d_c (m) représente le diamètre de la cuve (réacteur), d_a (m) le diamètre du mobile d'agitation et N (tr/s) la vitesse de rotation du mobile d'agitation. Si le temps de mélange est supérieur au temps de demi-réaction, on admet que le réacteur est parfaitement mélangé.

En configuration standard, t_M est atteint dès 55tr/mn avec une hélice et dès 35 tr/mn pour une turbine.

II-5 : Hydrodynamique des réacteurs

II-5.1 : Nombres caractéristiques adimensionnels

Chacune de ces valeurs pouvant être exprimée à partir de trois unités fondamentales (masse, longueur, temps), le théorème de Vaschy-Buckingham permet de transformer l'expression de la puissance dans une première approche, en 3 nombre adimensionnels liés les uns aux autres :

II-5.1 : Le nombre de Reynolds (R_e)

Il caractérise le rapport entre les forces d'inertie et les forces de viscosité

$$R_e = d_a^2 N \rho_i / \mu$$

Avec d_a (m) : diamètre de l'agitateur.

N (tr/s) : vitesse de rotation.

ρ_i (kg/m³) : masse volumique du liquide.

μ (Pa.s) viscosité du liquide.

II-5.2 : Le nombre de Froude (Fr)

Il caractérise le rapport entre les forces d'inerties et les forces de gravité.

$$F_r = N^2 d_a / g$$

g : accélération de la pesanteur. $g = 9,81 \text{ m/s}^2$

- Si $F_r \leq 1$ pas de vortex.
- Si $F_r \geq 3$ formation de vortex.

Pour éviter la formation du vortex, les cuves sont équipées contre-pales appelées chicanes.

II-5.3 : Le nombre de puissance (N_p)

Il caractérise le coefficient de traînée de l'agitateur dans le fluide et représente ainsi la puissance consommée.

$$N_p = P / \rho N^3 d^5$$

P (Watt) : puissance mécanique consommé par le moteur d'agitation.

En régime laminaire ($Re < 10$) , le produit $N_p \cdot Re$ est constant.

En régime turbulent ($Re > 10^4$, $N_p = 6$ dans le cas d'une turbine et 0,4 pour l'hélice marine. Cette dernière consomme donc moins de puissance que la turbine.

II-5.4 : Le nombre de Weber (W_e)

Il caractérise l'action des forces de tension superficielle.

$$W_e = \rho N^2 d_a^3 / \gamma$$

γ : tension superficielle ($kg.s^{-2}$ ou $N.m^{-1}$).

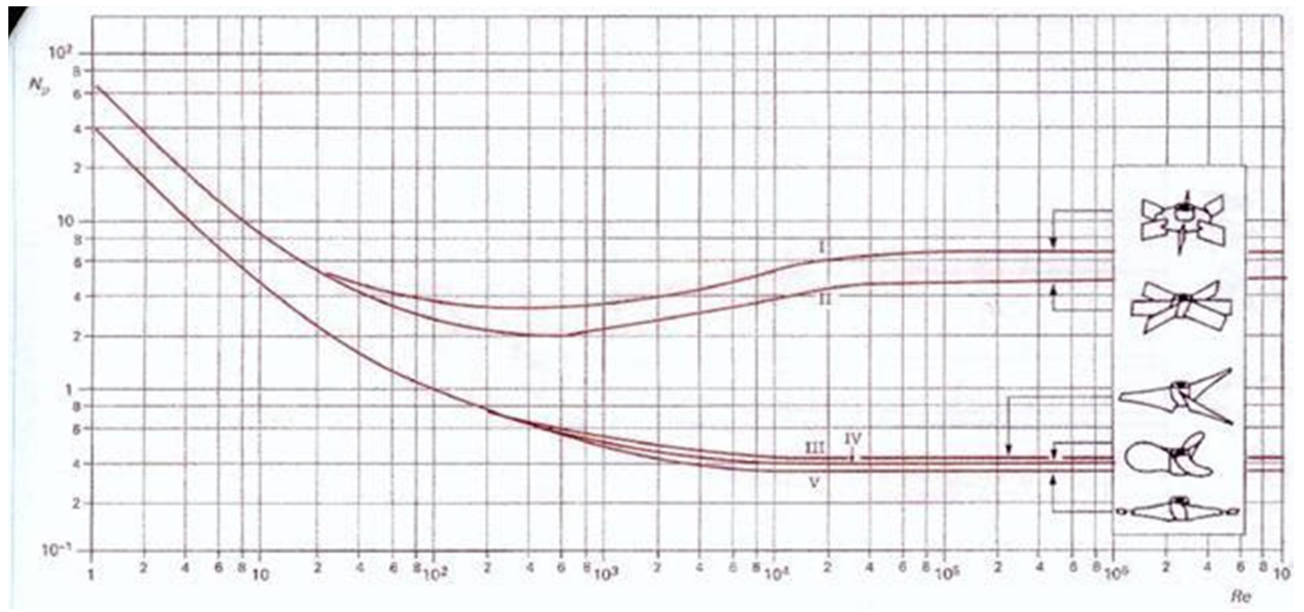
II-5.5 : Relation entre les nombres

Ces quatre nombre sont reliés par l'équation suivante :

$$N_p = K (Re)^x (Fr)^y (W_e)^z$$

Avec K, x, y, z : paramètres reliés à la géométrie agitateurs, ils sont obtenus par voie expérimentale.

Le nombre de puissance en fonction du nombre de Reynolds pour différents mobiles d'agitation sont traduit sous forme d'abaque :



III-6 : cuve standard à agitation mécanique

Cuve :

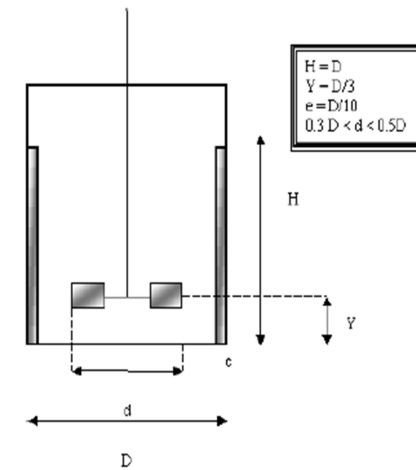
- Cuve cylindrique à fond plat.
- Hauteur de liquide (H) égale au diamètre de la cuve (D).
- Le rapport H/D peut être égal à 2 ou à 3 dans le cas de bioréacteurs aérés ou munis de plusieurs mobiles d'agitation.

Contre-pales :

- Nombre de contre-pales (n_p) = 4.
- Largeur des contre-pales (b) = D/12 ou D/10.
- Hauteur des contre-pales (h_b) = H.
- Écartement par rapport à la paroi de la cuve (e_b) = 0 ou 0,2D.

Mobiles d'agitation :

- Diamètre du mobile (d) = D/3.
- Distance par rapport au fond de la cuve (Y) = D/3.
- Le nombre de pales (n_p) et le rapport diamètre du mobile (d) sur largeur de la pale (l) sur hauteur de la pale (w) est fonction du type de mobile utilisé (pour une TD6 : $n_p = 6$ et $d/l/w = 20/5/4$)



II-7 : Réacteurs à lits fixes

Pour augmenter la concentration bactérienne ou améliorer l'activité de l'enzyme, on les immobilise sur des supports solides qui sont des particules ou billes.

Le réacteur à lit fixe offre l'avantage d'une grande productivité et un produit final exempt d'enzymes, évitant ainsi une étape finale de séparation du biocatalyseur et du produit, Il constitue la configuration classique pour la conduite des réactions catalytiques hétérogènes à grande échelle. Les inconvénients de ce réacteur sont :

- Une forte perte de charge.
- Un risque de colmatage du lit.
- Importantes limitations diffusionnelles.

Si les particules sont sphériques, la fraction de réacteur occupée par la phase solide est de l'ordre de 0,6 et celle occupée par la phase liquide est de 0,4.

La relation d'**Ergun**, donne une estimation de la perte de charge subie par le liquide à la traversée d'un lit de particules sphériques :

$$\Delta P/H = 150 \mu_i U_i / d_p^2 \cdot (1-\varepsilon_i)^2 / \varepsilon_i^3 + 1,75 \rho_i U_i^2 / d_p (1-\varepsilon_i) / \varepsilon_i^3$$

ΔP : perte de charge (Pa) , H : hauteur du lit (m)

D_p : diamètre des particules (m)

U_i : vitesse superficielle du liquide (m/s)

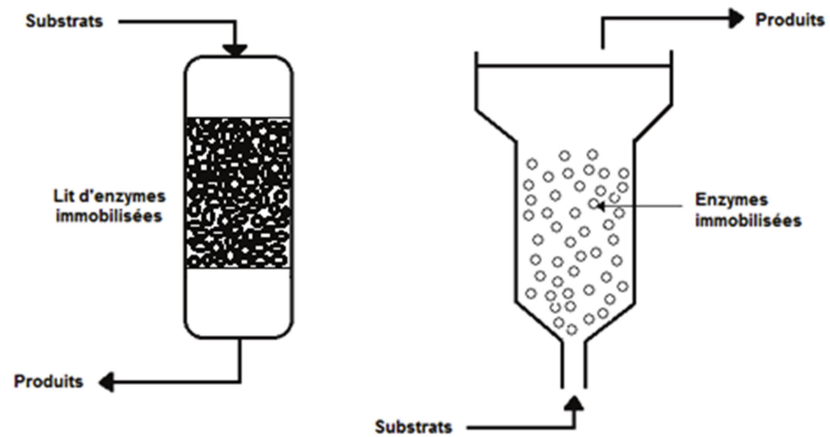
ε_i : fraction de lit occupée par la phase liquide égale à 0,4 max

μ_i : viscosité du liquide (Pa.s)

II-8 : Réacteur à lit fluidisé

Les enzymes ou les bactéries sont fixées sur un support poreux qui peut être du sable ou du charbon actif, la phase liquide traverse le réacteur de bas en haut et dès que la vitesse superficielle du liquide dépasse la valeur minimale de fluidisation, le lit s'expande et les particules solides sont animées d'un mouvement de flux ascendant rapide et régulier de l'effluent qui assure leur mélange.

Ce réacteur assure un bon transfert de matière et de chaleur, minimise son colmatage et évite l'emprisonnement des gaz produits.



réacteur à lit fixe

réacteur à lit fluidisé