

## AUTOMATISATION DES PROCESSUS BIOTECHNOLOGIQUES

L'objectif premier est l'**utilisation optimale** des systèmes biologiques (biosynthèses, transformations, dégradations). La méthode d'automatisation utilisée peut avoir un impact non négligeable sur le bioprocédé utilisé.

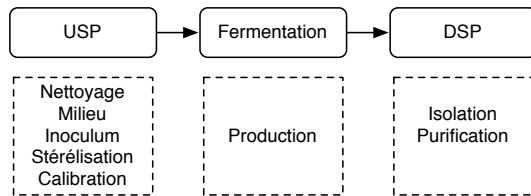
L'efficacité (**rendement**) d'un bioprocédé est déterminée à la fois par les **performances des cellules** en tant qu'usines de production et des **paramètres environnementaux**.

La tâche principale de l'automatisation est donc d'assurer la constance des conditions du processus en surveillant et en contrôlant les différents paramètres. Elle permet également d'établir une documentation.

Le problème principal provient du **temps de réponse** des différents capteurs. En effet, ces derniers doivent pouvoir détecter des changements rapides de manière précise.

L'automatisation est de plus en plus importante lors du développement d'un bioprocédé. Les raisons sont multiples, mais elles visent toutes à rendre le processus plus efficace et économique :

- Besoins nutritionnels de plus en plus complexes à gérer (fed batch nécessite une régulation précise des volumes ajoutés).
- De plus en plus de variables doivent être surveillées.
- Les variables sont de plus en plus complexes.
- Les demandes liées au "quality management" ont radicalement augmentées.
- La documentation demandée par les organes régulateurs (FDA, ...) devient de plus en plus complexe.



*Vue d'ensemble du processus*

### CONDITIONS POUR L'AUTOMATISATION D'UN PROCESSUS

Il faut une **connaissance détaillée** du processus et des procédures individuelles ainsi que la capacité de surveiller l'ensemble des opérations (**Software + Hardware**)

### ROLE EN UPSTREAM PROCESSING

L'automatisation en upstream processing vise surtout le nettoyage du réacteur, sa stérilisation, la filtration du milieu, la préparation de l'inoculum et l'établissement de la documentation.

### ROLE LORS DE LA FERMENTATION

La fermentation est un **processus empirique** (modèle de la "black box", contrairement aux processus chimiques très bien caractérisés) qui, à partir de substrat et d'oxygène va fournir un produit, de la biomasse et des déchets (eau, CO<sub>2</sub>). Il est impossible de connaître parfaitement toutes les pathways biochimiques en jeu car le processus est **complexe, hautement interactif, parallèle et non-linéaire**.

L'automatisation permet une description relativement correcte du processus, cette dernière serait impossible sans.

### PROCESSUS

Système intégré grâce auquel la transformation ou le transport de matière est réalisé

### CONTROLE D'UN PROCESSUS

Contrôle automatique d'un processus dans lequel un ordinateur est utilisé pour réguler des opérations continues

### SURVEILLANCE (MONITORING) D'UN PROCESSUS

Acquisition des variables clés nécessaire à la régulation d'un processus

### AUTOMATISATION

Séquence d'opérations se déroulant sans intervention humaine. Le degré le plus avancé d'automatisation est la robotique.

Un ensemble de paramètres non-mesurables sont estimés grâce à des calculs faisant intervenir des variables mesurables

Contrôle des variables d'état	Contrôle des procédures
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Température</li> <li>• pH (acidité)</li> <li>• pO<sub>2</sub> (oxygène dissous dans milieu)</li> <li>• Conductivité</li> <li>• Pression</li> <li>• Agitation</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Prise d'échantillons</li> <li>• "Feed" (substrats, inducers, précurseurs, ...)</li> <li>• Contrôle du taux de dilution (culture continue)</li> <li>• Gestion des déchets de fermentation</li> </ul>

En plus de ces rôles, l'automatisation permet d'établir une documentation complète du processus de fermentation.

#### ROLE LORS DU DOWNSTREAM PROCESSING

L'automatisation est essentielle pour le downstream processing car il s'agit souvent des étapes limitantes du processus. Ainsi elle permet d'améliorer la récolte finale ainsi que la purification et la caractérisation du produit obtenu.

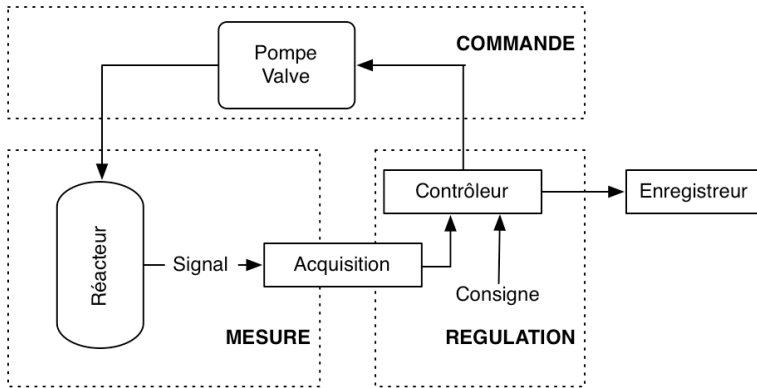


Schéma d'un contrôleur classique d'un processus de fermentation (boucles séparées sans mise en réseau des variables)

**ONLINE**  
La mesure peut être effectuée directement (p. ex. pH, température)

**OFFLINE**  
Echantillon prélevé et analysé, une préparation peut être nécessaire causant un délai

**IN-SITU**  
Le capteur se trouve dans le réacteur

**EX-SITU**  
Echantillon transféré dans un appareil externe pour analyse

#### "FROM DATA TO INFORMATION"

Le contrôle d'un processus est la fusion des méthodes classiques de contrôle avec les technologies de l'information permettant la surveillance et l'automatisation. Alors qu'il était par le passé basé principalement sur une interaction **homme-machine** se faisant principalement via des **signaux**, il est dorénavant basé sur une communication **homme-processus** basée sur **l'information**. Ainsi la mise en réseau et la coordination précise des différentes parties individuelles d'un processus est possible.

#### EXEMPLE D'APPLICATION : FED BATCH FERMENTATION POUR LA PRODUCTION DE PROTEINES RECOMBINANTES DANS E.COLI

Lors de la phase de batch, la surveillance des variables est plutôt classique (pH, température, pO<sub>2</sub>, rpm). Lorsque le substrat commence à devenir limitant (c'est à dire que la croissance est importante, ce qui a pour effet une diminution de l'oxygène dissous dans le milieu), l'automatisation va permettre un feed exponentiel pour maintenir la croissance désirée, donnée par la formule  $x = x_0 \cdot e^{\mu t}$ . Ainsi  $\mu$  est contrôlé et peut être maintenu à la valeur désirée.

<b>Variables de contrôle</b> (servent à la régulation)	<b>Variables d'état</b> (surveillance)	<b>Variables cibles</b> (ne peuvent être mesurées)
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chauffage (Température)</li> <li>• Agitateur (rpm)</li> <li>• Feed de substrat (balance)</li> <li>• Flux d'air</li> <li>• Acide / Base</li> <li>• Anti-mousse</li> </ul>	<p style="text-align: center;"><u>ONLINE</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Analyse de Gaz (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, OUR, CPR, RQ)</li> <li>• Température, pH, pO<sub>2</sub></li> </ul> <p style="text-align: center;"><u>OFFLINE</u></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Biomasse</li> <li>• Substrat</li> <li>• Produit</li> <li>• OD / Couleur</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Taux de croissance</li> <li>• Taux de production</li> <li>• Rendement</li> <li>• Taux de feed</li> </ul>

*Classement des variables par rapport à leur utilité*

	<b>Variables physiques</b>	<b>Variables chimiques</b>	<b>Variables biologiques</b>
in situ online continu	T, p, F, V, w, rpm, P/ V, λ	pH, rH, pO <sub>2</sub> , %O <sub>2</sub> , %CO <sub>2</sub> , glucose	OD, RQ, taux de croissance μ, production de chaleur
in bypass online continu		milieu extra- cellulaire	
in bypass online discontinu	rhéologie	FIA, GC, LC, CE, ELISA, MS	biomasse, taille, morphologi
offline discontinu		analyses intracellulaires	biomasse, enzymes, plasmides, gènes

*Classement des variables par rapport à leur nature*

**Objectif : ONLINE et IN-SITU !**

#### DEFINITIONS

OUR [Oxygen Update Rate]  
 CPR [Carbon Production Rate]  
 RQ [Respiration Quotient = CPR/OUR]  
 CER [Carbon Evaluation Rate]

#### SOURCES

Eyer K. « Development of an Industrial Biotechnology Process : Bioprocess automation and control », HES-SO Valais. Sion, Mars 2008