

①9 RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

①1 N° de publication :

2 635 587

(à utiliser que pour les
commandes de reproduction)

②1 N° d'enregistrement national :

89 11028

⑤1 Int Cl^s : G 01 N 21/59, 21/82; C 12 M 1/34; G 06 F 15/42.

①2

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②2 Date de dépôt : 18 août 1989.

③0 Priorité : US, 19 août 1988, n° 234 367.

④3 Date de la mise à disposition du public de la demande : BOPI « Brevets » n° 8 du 23 février 1990.

⑥0 Références à d'autres documents nationaux apparentés :

⑦1 Demandeur(s) : William Robert MANDEL et Anthony Joseph DEKOVICH. — US.

⑦2 Inventeur(s) : William Robert Mandel ; Anthony Joseph Dekovich.

⑦3 Titulaire(s) :

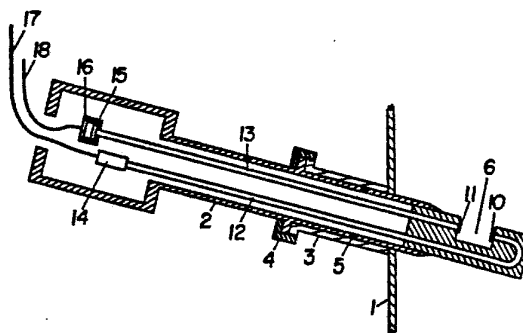
⑦4 Mandataire(s) : Rinuy et Santarelli.

⑤4 Appareil et procédé pour des mesures de densité optique de biomasses.

⑤7 L'invention concerne un appareil de mesure de densité optique.

Cet appareil comprend une sonde optique 2 à fibres optiques 12, 13, avec une cellule de détection 6, une source de lumière 14 et un détecteur de lumière 16 auquel sont reliés des moyens de linéarisation du signal de sortie, des moyens de compensation des interférences provoquées par l'agitation et les bulles de gaz, et des moyens d'enregistrement des résultats.

Application : procédés perfectionnés pour le contrôle direct en temps réel de la densité cellulaire.



FR 2 635 587 - A1

D

La présente invention concerne un perfectionnement ayant trait à, ou bien décrit, un appareil et un procédé pour l'obtention de mesures de densité optique comme moyen de contrôler avec précision un système de transformation dynamique de biomasse, tel qu'un procédé de fermentation, anaérobie ou aérobie, de micro-organismes. La présente invention concerne plus précisément un procédé pour déterminer la densité optique directe d'un système de traitement dynamique dans la totalité de la plage opératoire par compensation du facteur d'interférence primaire.

La mesure de la densité cellulaire est importante dans le contrôle du programme d'un procédé de fermentation. De nombreux procédés et appareils correspondants ont été proposés pour la mesure de la densité cellulaire. Aucun des procédés et appareils antérieurs ne se sont révélés réussis et satisfaisants avant la présente invention. De préférence, l'utilisation d'une sonde stérilisable, qui peut être insérée directement dans le fermenteur ou le milieu nutritif pour la mesure de la densité cellulaire, serait avantageuse et fournirait une information intéressante dans le contrôle de l'évolution du processus. Habituellement, la concentration en produit est liée à la masse cellulaire dont la détermination peut être obtenue à partir de mesures de densité cellulaire.

Jusqu'à présent, la densité cellulaire a été

mesurée par intervalles discrets en prélevant des échantillons dans le fermenteur. Ce mode opératoire ne permettait pas d'obtenir un dosage direct et rapide du produit, mais avait pour résultat une estimation de la masse
5 cellulaire qui constitue une indication de la concentration en produit au moment du prélèvement de l'échantillon dans le fermenteur. Pour parvenir à un contrôle opératoire satisfaisant et précis d'un système direct de mesure, un système de mesure en continu est souhaitable.

10 Les mesures indirectes de contrôle sont basées sur différents paramètres opératoires et sont limitées par la précision du modèle mathématique de croissance cellulaire, de consommation de substrat et de formation de produit. Les hypothèses concernant les rendements constants,
15 les coefficients de maintien et la stoechiométrie peuvent ne pas être valables dans toute la plage opératoire en raison d'un appauvrissement en substrats et d'une accumulation de substances intermédiaires qui peuvent être métabolisées, ainsi que de la formation de produits
20 inhibiteurs.

Le procédé de mesure de densité cellulaire par intervalles discrets constitue au mieux une technique de mesure de densité par approximation. A partir d'un orifice stérilisé de prélèvement d'échantillon, on prélève un petit
25 volume de bouillon de culture, après s'être assuré que l'orifice a été purgé. L'échantillon est transporté sur la paillasse du laboratoire et la dilution appropriée de l'échantillon est effectuée. Un soin particulier doit être apporté à la précision et à la régularité de la technique
30 de pipetage et de l'appareillage, ainsi qu'à celles d'autres opérateurs prélevant également des échantillons par intervalles. Finalement, la densité optique est mesurée, multipliée par le facteur de dilution et la valeur est enregistrée. Pendant ce temps, du prélèvement de
35 l'échantillon à l'enregistrement de la valeur mesurée, on

ne connaît pas quelle étape opératoire appropriée suivante sera nécessaire pour optimiser le procédé global.

Le procédé de mesure de la densité cellulaire par intervalles discrets n'est pas susceptible d'être automatisé. On doit se fier à un quelconque paramètre mesuré indirectement : métabolique ou physique. Les mesures dans les systèmes dynamiques présentent différents inconvénients. La complexité physique des cultures de fermentation microbienne est influencée par les caractéristiques du milieu, les dimensions, la forme et le type de l'organisme ; des variations opératoires : le pH, la température, la pression, l'agitation, etc. La complexité métabolique des cultures en croissance est influencée par des phases de croissance microbienne en réponse à l'environnement physique. Cela affecte les dimensions des cellules, les duplex de réplication, la formation de chaînes, les inclusions, la formation corpusculaire, etc. De même, pour des micro-organismes croissant dans un bouillon nutritif complexe, on ne possède pas de certitude sur les substances nutritives qui sont utilisées à chaque étape de développement dans ce procédé. En conséquence, il est difficile de préparer un modèle de la croissance.

Jusqu'à présent, les capteurs optiques étaient avantageux pour la mesure de la quantité de lumière passant à travers un fluide opératoire. Cependant, la quantité de lumière transmise à travers un quelconque fluide opératoire particulier peut être réduite par différents facteurs tels que les matières solides en suspension, les matières solides dissoutes et la formation d'une émulsion. Les matières solides en suspension et les émulsions réduisent également le facteur de transmission de lumière par dispersion de la lumière. Dans un milieu aérobie, la densité optique se révèle être influencée par le nombre de bulles et par les dimensions de ces bulles. Des bulles de gaz volumineuses, telles que des bulles d'air, dispersent

la lumière exactement de la même manière que des particules volumineuses, mais conservent une certaine transparence à la lumière. A de hautes vitesses d'agitation, lorsque des bulles plus petites sont produites, la dispersion de la lumière possède un effet réduit et la transparence est accrue. En conséquence, un système de biomasse pose des problèmes qui lui sont propres, associés aux mesures au moyen de capteurs optiques. En conséquence, l'objectif de la présente invention consiste à proposer un appareil et un procédé pour une mesure directe de densité optique d'un système de traitement dynamique de biomasse dans lequel des organismes sont en culture, des mesures rapides directes de la densité cellulaire étant requises ; les mesures sont effectuées en continu ou en temps réel par rapport au procédé ; une mesure sur place est utilisée pour éviter les problèmes liés à des prélèvements d'échantillons discrets successifs tels que les logistiques d'obtention de l'échantillon prélevé par intervalles, la stérilisation, le risque de perturber le processus, le temps écoulé entre le prélèvement d'un échantillon et l'enregistrement de la mesure, la détermination rapide de l'étape opératoire appropriée au moment de prélèvement de l'échantillon.

Un autre objectif de la présente invention consiste à proposer un procédé pour déterminer la concentration d'un système de biomasse aérobie ou anaérobie en termes de compensation de n'importe quel facteur interférent concernant la densité optique, tel que des bulles de gaz, ce qui garantit une linéarité dans toute la plage de mesure.

Un autre objectif consiste à proposer un appareil de mesure de densité optique qui facilite le contrôle automatique en continu, en temps réel, du processus de fermentation, avec pour résultat une automatisation totale du procédé.

Un objectif général de la présente invention

consiste à surmonter les inconvénients de l'art antérieur. Encore d'autres objectifs apparaîtront ci-après dans la description détaillée suivante.

Ces objectifs sont atteints dans la présente invention par utilisation d'une sonde stérilisable à fibres optiques ayant une ouverture ou distance de parcours de cellule à travers laquelle passe un fluide contenant une biomasse en réaction, et ayant une source de lumière pour fibres optiques et un détecteur de lumière transmise par fibres optiques. Lors du fonctionnement, la lumière provenant de la fibre optique constituant la source lumineuse passe à travers le milieu de l'échantillon dans l'ouverture de la cellule et la lumière transmise est ensuite envoyée à travers l'extrémité réceptrice du conduit à fibre optique et envoyée au transmetteur ; ledit transmetteur consiste en un amplificateur de signal et un ordinateur ayant un programme permettant de linéariser le signal de sortie. La sonde optique est enfermée de manière amovible dans un fermenteur ou un élément similaire muni d'une instrumentation de contrôle.

En général, le capteur optique dans la sonde mesure la quantité de lumière qui passe à travers un fluide opératoire présent dans l'ouverture de la cellule. Le système est capable de compenser automatiquement la présence de bulles de gaz dans l'ouverture de la cellule.

D'autres caractéristiques et avantages de la présente invention ressortiront de la description détaillée qui va suivre, faite en regard des dessins annexés sur lesquels :

la figure 1 est un diagramme schématique de la totalité du système opératoire ;

la figure 2 est une représentation schématique de la sonde avec la cellule de mesure ;

la figure 3 est une représentation schématique d'un réacteur-fermenteur pour systèmes biologiques.

En ce qui concerne les dessins, et en particulier la figure 2, le numéro de référence 2 désigne une sonde conforme à la présente invention. La sonde 2 peut être constituée de n'importe quelle matière non sujette à corrosion par du milieu présent dans l'installation. Cependant, la sonde 2 est de préférence constituée d'un boîtier en acier inoxydable. La sonde consiste en un raccord Ingold 4 qui permet l'insertion de la sonde 2 dans le corps ou la paroi d'un réacteur 1, tel qu'un réservoir de fermentation, et une fixation à celui-ci de manière ferme et amovible. Le raccord Ingold 4 et un dispositif de joint torique 5 permettent à la sonde 2 d'être ajustée de manière étanche à travers un tube d'accès 3 relié à la paroi du réacteur 1 et le tube d'accès 3 possède un raccord s'adaptant à celui du raccord Ingold 4.

A l'intérieur de la sonde 2 se trouve une source de lumière par radiation 14 et un photodétecteur sensible 16. La source de lumière 14 et le détecteur 16 sont chacun reliés respectivement à des conducteurs électriques 17 et 18. La source de lumière 14 est alimentée en courant par le conducteur 17. Le détecteur 16 transmet une impulsion de signal à travers le conducteur de courant 18 à un moyen d'amplification et d'enregistrement du signal. La source de lumière par radiation 14 et le photodétecteur 16 sont séparés du milieu opératoire par les fibres optiques 12 et 13 qui sont utilisées pour transmettre la lumière 12 de la source et la lumière 13 détectée. L'orifice de cellule à l'extrémité de la sonde faisant saillie dans le réacteur et le milieu réactionnel qui s'y trouve, il est défini par une longueur de parcours un espace d'échantillonnage 6 dans lequel les fibres optiques 12 et 13 se terminent par des fenêtres 10 et 11 fixées hermétiquement. Les fenêtres 10 et 11 sont les portions terminales des fibres optiques 12 et 13 respectives et ont pour rôle de protéger les extrémités des fibres optiques.

Les fenêtres 10 et 11 sont généralement placées face à face l'une de l'autre dans l'espace d'échantillonnage 6. En outre, ces fenêtres 10 et 11 peuvent être constituées de n'importe quelle matière transmettant la lumière, qui permet à la radiation lumineuse requise de passer à travers l'espace d'échantillonnage 6 et, de manière similaire, qui permet la détection de la lumière transmise à travers la matière présente dans la cellule d'échantillonnage 6. De préférence, les fenêtres sont constituées de Pyrex ou de quartz.

La fibre optique de captage 13 est reliée à un photodétecteur 16 qui est à son tour relié à un conducteur de courant 18. Le photodétecteur est recouvert par un filtre optique 15 qui élimine toutes les longueurs d'onde de lumière inférieures à 850 nanomètres, supprimant ainsi l'interférence par la lumière ambiante. Le seuil de coupure de longueur d'onde du filtre supprime ainsi l'interférence provoquée par une couleur. En conséquence, la plupart des particules apparaissent similaires à cette longueur d'onde élevée.

Au cours de la mise en oeuvre du procédé, la solution dans le fermenteur est tout d'abord un bouillon pratiquement limpide et se transforme au cours de la mise en oeuvre du procédé en une solution de couleur très foncée. Une longueur optimale de trajet optique est choisie dans l'espace d'échantillonnage 6 afin de permettre à la sonde un examen dans la totalité de la plage opératoire. L'intervalle de mesure est inversement proportionnel à la longueur de parcours et la résolution est directement proportionnelle à la longueur de parcours. En conséquence, plus la longueur de parcours dans la cellule 6 de la sonde optique est petite, plus la plage observable est grande, mais plus la résolution est faible.

L'unité classique de mesure est l'unité d'absorption (U.A.). Il s'agit d'une unité arbitraire qui

est définie lors de l'utilisation de la manière suivante :
zéro U.A. est la quantité de lumière absorbée dans un milieu nutritif limpide en l'absence de croissance cellulaire. Chaque unité supplémentaire correspond à une variation décimale (facteur 10, c'est-à-dire le logarithme de la variation) de la quantité de lumière absorbée et est corrélée à l'intensité du courant de sortie par le photodétecteur.

Un problème posé par un tel système est qu'il est possible que la corrélation entre les lectures d'absorption de lumière et la mesure réelle de concentration ne soit pas linéaire dans la totalité de la plage. Dans un segment extrêmement petit de la courbe d'absorption, il existe une relation linéaire entre le processus et le signal lumineux de sortie. Mais, dans le cas d'une mesure dans un large intervalle, il n'existe pas de relation linéaire, ce qui signifie qu'une variation dans une région limpide ne correspond pas à une variation égale ou équivalente dans la région sombre. Cependant, ce déséquilibre ou cette variation non égale peut être linéarisé dans le transmetteur programmé de la figure 2 et de la figure 3. Le transmetteur est un transmetteur contrôlé par microprocesseur avec une source d'entrée à pavé de touches numériques et un dispositif d'affichage de caractères. En conséquence, par la compréhension des relations comportementales entre les particules et en connaissant un certain phénomène concernant la nature de la lumière en rapport avec la concentration, il est possible d'extrapoler une courbe linéarisée précise à partir de seulement deux points d'entrée.

Lorsqu'un fermenteur microbien classique muni de l'instrumentation de contrôle nécessaire a été utilisé, le dispositif interne à l'intérieur du fermenteur consiste en une série de déflecteurs orientés radialement et en une unité d'échange de chaleur. Les déflecteurs empêchent un

tourbillonnement afin d'améliorer l'efficacité de l'aération. Il est également utilisé un moyen pour disperser efficacement de petites bulles dans le milieu, tel que des agitateurs à turbine à trois disques placés sur l'arbre de l'agitateur du fermenteur. Un dispositif mixte orifice de pulvérisation/agitateur (conduit perforé) produit et disperse de petites bulles d'air dans la totalité du fermenteur. La vitesse d'agitation, qui peut être variablement ajustée à 1000 tr/min, a été réglée dans le fermenteur.

L'agitation a pour rôle d'accroître la surface disponible pour le transfert de l'oxygène par dispersion de l'air dans le bouillon de culture sous forme de petites bulles. L'agitation retarde également la fuite des bulles d'air, c'est-à-dire augmente le temps de contact, dans le liquide et empêche une coalescence. L'agitation diminue l'épaisseur du film liquide à l'interface gaz/liquide en créant une turbulence dans la zone de culture. En général, cet appareillage, tel qu'il est décrit, se révèle très efficace par la production d'un grand nombre de très petites bulles de gaz dans le fermenteur.

Dans le système de fermentation aérobie défini ci-dessus, la vitesse d'agitation (turbulence) constitue le principal facteur d'interférence dans l'obtention de mesures précises et représentatives de la densité cellulaire. Le débit de l'air et la pression de l'air possèdent peu d'effet. Le problème d'une formation de mousse non contrôlée est provoqué par un temps de séjour accru des bulles. Lorsque la formation de mousse se poursuit, il existe un accroissement quantitatif du diamètre et du nombre de bulles.

La sonde en acier inoxydable est fixée de manière amovible et étanche à travers la paroi du fermenteur, de sorte que la partie sensible de la sonde contenant la fibre optique de la source lumineuse, la fibre optique

du photodétecteur et la cellule de mesure de densité est directement introduite dans le milieu de fermentation. Lors de la progression de la fermentation, le milieu liquide peut passer d'une solution pratiquement limpide à une solution très opaque. Un trajet optique est choisi dans la sonde pour permettre à la sonde une détection dans la totalité de la plage opératoire. Dans le cas de mesures dans un large intervalle, la corrélation entre les valeurs mesurées observées et réelles peut ne pas être linéaire. Cela signifie qu'une variation dans la solution limpide ne correspond pas ou n'indique pas une variation égale dans la région opaque. En conséquence, la sonde est couplée à un transmetteur qui est programmé pour linéariser les mesures dans un large intervalle.

Il a été trouvé que la vitesse d'agitation possède un effet sur la densité cellulaire directe observée. La variation du signal provenant de la sonde s'est révélé être proportionnelle à la vitesse d'agitation et inversement proportionnelle à la densité cellulaire. En conséquence, le signal de la sonde est une valeur composite qui dépend : a) de la densité cellulaire et de la viscosité de la solution, b) de la vitesse d'agitation si elle est supérieure à 400 tr/min, et c) du diamètre et du nombre de bulles dans le milieu liquide.

Le modèle de correction, qui ajuste les résultats bruts de densité, est basé sur deux équations linéaires. Chaque équation effectue une corrélation entre la valeur de densité cellulaire directe et la densité optique à une vitesse d'agitation particulière (en tr/min). L'intersection entre les équations linéaires est un point où l'agitation ne possède aucun effet sur le signal. Cela signifie que, au-dessous de ce point, un accroissement d'agitation rend l'aspect de la solution plus sombre, c'est-à-dire plus opaque (densité optique supérieure), sous l'influence du nombre de bulles et de leur diamètre ; et,

au-dessus de ce point, un accroissement d'agitation rend l'aspect de la solution plus limpide (densité optique inférieure). Le phénomène est attribué à l'effet des bulles dans le milieu sur le signal total de la sonde. Cela signifie que, à ce point, l'effet de transparence est égal à l'effet de dispersion en raison de la présence de bulles dans le milieu de fermentation.

Un autre facteur introduit dans les équations de linéarisation est l'effet connu de la vitesse d'agitation sur les bulles. Il a été trouvé qu'à un point autre que le point d'intersection, il existe une corrélation non linéaire entre la vitesse d'agitation (en tr/min) et les variations de signal. Il est choisi une équation qui se rapproche le mieux du phénomène entre 200 tr/min et 1000 tr/min. Une aération faible ou nulle se produit au-dessous de 200 tr/min et, de manière similaire, une aération faible ou nulle se produit au-dessus de 1000 tr/min, le procédé d'aération commençant à s'arrêter à un certain niveau en raison des limitations de conception du procédé général et de l'appareillage.

Il a été trouvé que le signal de la sonde constitue un facteur de la vitesse d'agitation. La réponse dépend également du rapport des concentrations des cellules aux bulles d'air, comparativement à la vitesse d'agitation. Cela signifie que, dans les mêmes conditions, à de faibles densités cellulaires, le signal est plus fort à de hautes vitesses d'agitation qu'il ne l'est à de hautes densités cellulaires. Une courbe dans la région de faible agitation a été choisie pour la plus grande précision dans l'intervalle qui était le plus déterminant pour le procédé de fermentation. Une dérivation polynomiale de la courbe a été déterminée à partir des résultats recueillis à partir de l'effet de la vitesse d'agitation sur la puissance du signal à une densité optique donnée ou choisie. La courbe était sous la forme :

$$\text{Pourcentage de variation de densité optique} = k_0 + k_1 A_g + k_2 A_g^2 + k_3 A_g^3$$

k étant une constante et A_g étant la vitesse d'agitation. Le transmetteur engendre une courbe de réponse qui s'approche étroitement du phénomène, c'est-à-dire d'une
5 variation linéaire dans la plage de concentration, et ajuste la courbe afin qu'elle s'adapte au fluide opératoire réel.

Le transmetteur engendre la courbe de réponse en effectuant des lectures directes ou dans des récipients
10 d'échantillonnage, en mettant les lectures en mémoire et les lectures mises en mémoire sont des valeurs attribuées qui ont été déterminées en laboratoire.

Le système instrumental utilise un ordinateur programmé qui mesure la concentration ou la consistance
15 d'un fluide par absorption de la lumière. Ledit ordinateur programmé contrôle un procédé en continu et engendre une valeur conforme aux courbes d'étalonnage du procédé. A un minimum, une courbe d'étalonnage en deux points est requise pour linéariser le signal de sortie. Ainsi,
20 l'échantillonnage indirect et les erreurs de laboratoire sont réduits et le résultat est représentatif de la concentration du fluide en temps réel.

L'ordinateur programmé est un instrument numérique à base d'un microprocesseur de conception
25 modulaire, consistant en des plaquettes de circuits imprimés, des plaquettes à sortie analogique, une plaquette centrale de traitement destinée à l'exécution du programme, qui comprend l'électronique et interprète les résultats de mesure, une plaquette de communication numérique, une
30 plaquette de platine avant destinée à assurer la communication avec l'homme, une plaquette de sortie de lampe destinée à régler la tension convenable pour les lampes de détection avec une compensation de perte de tension de réseau ; une plaquette-mère pour l'interconnexion de toutes

les plaquettes afin de former le système instrumental intégré. Une alimentation électrique fournit du courant électrique stabilisé et non stabilisé aux circuits, aux relais et aux capteurs ; une plaquette d'entrée de capteur
5 qui conditionne un signal du capteur pour standardiser l'entrée pour la facilité de lecture du microprocesseur.

Lors du fonctionnement, le microprocesseur peut interpréter et afficher les mesures provenant de différents capteurs. En général, les capteurs optiques
10 mesurent la quantité de lumière qui passe à travers un fluide opératoire. La quantité de lumière transmise peut être réduite par des substances solides en suspension, de substances solides dissoutes et des émulsions, de la manière décrite ci-dessus. Les substances solides en
15 suspension et les émulsions réduisent également la transmittance de la lumière.

De la manière précitée, l'unité classique de mesure est l'unité U.A. arbitraire (unité d'absorption). La U.A. est définie lors de l'utilisation comme : zéro U.A.-
20 la quantité de lumière absorbée dans une solution limpide (ou solution zéro). Chaque unité supplémentaire est une variation décimale de la quantité de lumière absorbée et, en conséquence, peut être corrélée à la sortie de courant par le photodétecteur. A titre d'exemple, zéro U.A. peut
25 correspondre à 10 mA de sortie de courant par le photodétecteur, 1 U.A. correspondrait alors à 1 mA et 2 U.A. correspondraient à 0,1 mA de sortie, etc.

Le problème que la présente invention permet de surmonter est la corrélation entre les lectures de
30 luminosité et les mesures réelles de densité cellulaire, qui peut ne pas être linéaire. Dans un petit segment quelconque de la courbe résultante, il existe une relation linéaire entre la densité cellulaire opératoire et la puissance lumineuse de sortie. Mais, dans un intervalle
35 plus large, il n'existe pas de relation linéaire ; le

comportement des particules dans les milieux limpides ne présente pas de corrélation avec une variation comportementale équivalente dans la région obscure ou opaque. Cela est linéarisé dans le transmetteur par le micro-processeur
5 programmé.

Ainsi, les inconvénients des procédés antérieurs sont supprimés. Un système perfectionné d'estimation directe a pour résultat des déterminations plus précises et rapides de la densité cellulaire dans des fermenteurs et
10 des réacteurs similaires. Même dans l'environnement turbulent d'un fermenteur, avec la présence de bulles provenant de l'aération du mélange réactionnel présent dans le réacteur, il a été possible avec la présente invention de résoudre des densités de cellules supérieures à 100 DC
15 et de coupler le système directement à un ordinateur pour le contrôle opératoire.

Il est entendu que chacun des éléments décrits ci-dessus, ou bien deux ou plus de deux de ces éléments, peut trouver également une application utile dans d'autres
20 types de constructions, de dispositifs, etc, qui diffèrent des types décrits ci-dessus.

Bien que la présente invention ait été illustrée et décrite sous une forme de réalisation destinée à mesurer la turbidité d'un liquide dans lequel des micro-
25 organismes sont en culture, elle n'est pas destinée à être limitée aux détails représentés et décrits, puisque différentes modifications et variations structurales peuvent être effectuées sans s'écarter en aucune manière de l'esprit et du cadre de la présente invention.

30 Sans autre analyse, ce qui précède révèle l'objet essentiel de la présente invention, objet que l'homme de l'art pourra aisément adapter, en utilisant ses connaissances usuelles, à différentes applications, sans omettre des caractéristiques qui, du point de vue de l'art
35 antérieur, constituent les caractéristiques essentielles de

l'aspect général ou particulier de la présente invention.

REVENDICATIONS

1. Procédé pour le contrôle d'un système biologique dynamique dans un réacteur biologique contenant un milieu fluide de culture en croissance, par la mesure de la lumière transmise dans une cellule d'échantillonnage définie, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant à effectuer simultanément :
- a) l'irradiation du milieu fluide présent dans la cellule,
 - b) l'agitation continue du milieu fluide de culture,
 - c) la détection de la lumière transmise,
 - d) la transformation de la lumière transmise détectée en un signal électrique non linéaire de sortie,
 - e) la linéarisation dudit signal électrique non linéaire de sortie,
 - f) la compensation de l'effet de l'agitation sur ledit signal de sortie linéarisé, et
 - g) l'enregistrement du signal.
2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce qu'un contrôle d'un système biologique dynamique est effectué par la mesure d'une densité optique directe du milieu fluide de culture en croissance présent dans la cellule.
3. Appareil pour la mesure de la densité optique directe d'un milieu biologique liquide dans un réacteur biologique dans lequel ledit milieu liquide est agité, ledit milieu liquide contenant un organisme biologique en développement et en croissance, en ce qu'il comprend des moyens pour introduire une sonde optique (2) comprenant une cellule de captage (6) dans ledit milieu biologique liquide, ladite sonde (2) comprenant une source de lumière (14) et un détecteur de lumière (16) positionnés vis-à-vis l'un de l'autre dans ladite cellule (6), et comprenant des moyens reliés audit

détecteur de lumière (16) et à l'extérieur dudit réacteur, pour linéariser le signal de sortie dudit détecteur (16) et des moyens pour compenser l'interférence provoquée par l'agitation du milieu liquide dans le réacteur sur ledit
5 signal de sortie ; ainsi que des moyens pour l'enregistrement des résultats de densité optique dans la cellule.

4. Appareil suivant la revendication 3, caractérisé en ce que les moyens pour introduire la sonde (2) comprenant une cellule de captage optique (6) dans le
10 milieu biologique liquide consistent en une sonde comprenant des fibres optiques (12,13) véhiculant la lumière à la cellule et, en position opposée à la cellule, un détecteur photosensible (16) relié aux fibres optiques (12,13) pour véhiculer le signal à un amplificateur et un
15 enregistreur extérieurs.

5. Procédé pour déterminer la masse cellulaire d'un système biologique en effectuant un calcul d'ajustement de courbe sur des résultats de densité optique et des résultats d'agitation obtenus à partir d'un réacteur
20 biologique contenant un fluide de culture en croissance, caractérisé en ce qu'il comprend les étapes consistant :

à choisir au moins deux séries de vitesses d'agitation et de densités optiques correspondantes, à linéariser les résultats dans un transmetteur par un
25 microprocesseur programmé et à définir la valeur de la masse cellulaire en fonction de l'agitation et de la densité optique et à compenser l'effet de l'agitation par deux équations linéaires dont chacune effectue la corrélation entre la valeur de densité cellulaire continue et la
30 densité optique à une vitesse particulière d'agitation, ce qui permet d'établir ainsi une relation entre la masse cellulaire et la densité optique.

6. Procédé suivant la revendication 5, caractérisé en ce que la linéarisation est la détermination d'au moins deux pentes desdites équations linéaires
35

pour la relation linéaire entre deux séries d'au moins deux points chacun pour les vitesses d'agitation et la densité optique correspondante.

5 7. Procédé suivant la revendication 6, caractérisé en ce que l'étape de linéarisation est basée sur deux points distincts, distants d'au moins vingt pour cent de la plage opératoire instrumentale et différents de zéro, zéro représentant un fluide de base dans le réacteur biologique.

10 8. Procédé suivant la revendication 5, caractérisé en ce qu'une vitesse d'agitation est choisie sous forme d'une valeur constante déterminée par le besoin en oxygène des cellules en culture dans le réacteur biologique contenant le fluide de culture.

Figure 1

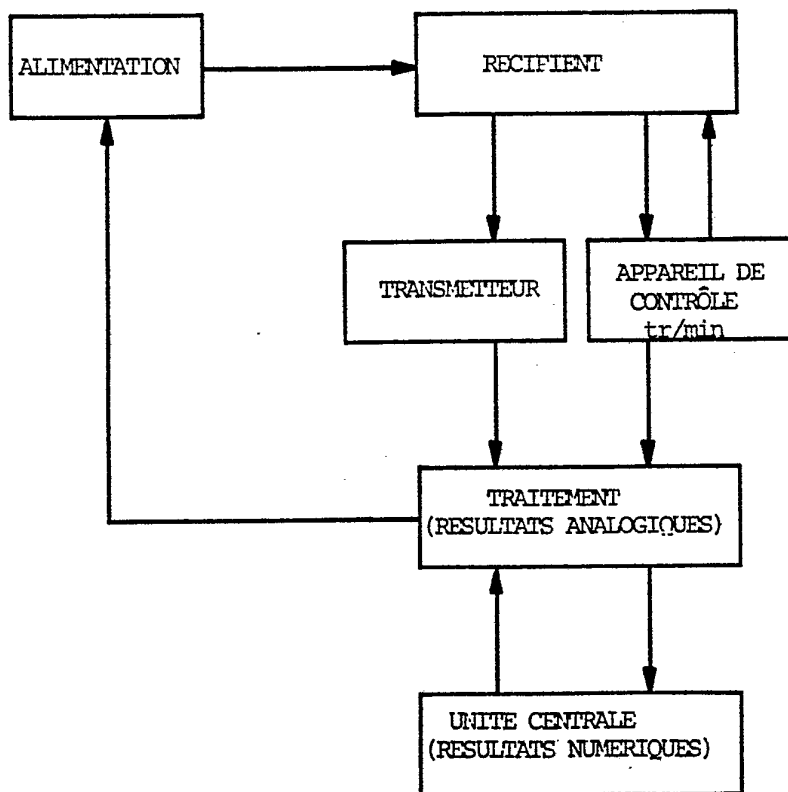


Figure 2

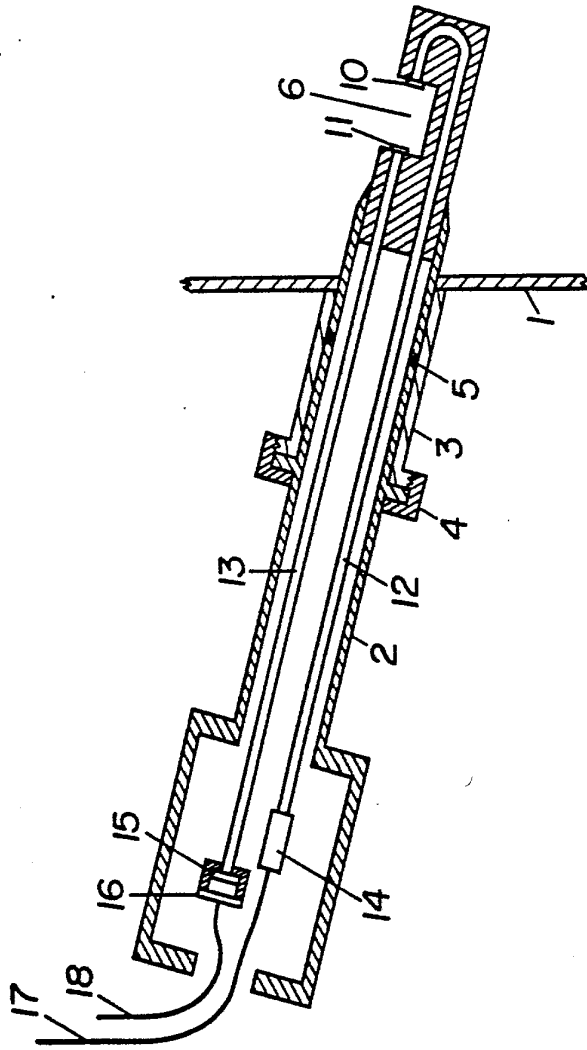


Figure 3

