

Louis Tessier

Technologies des

BIOPROCÉDÉS INDUSTRIELS



Version corrigée



TABLE DES MATIÈRES

PREMIÈRE PARTIE : UNE INTRODUCTION AUX BIOPROCÉDÉS

1. Les bioprocédés industriels	3
1.1 Les bioprocédés : l'art de faire travailler les cellules en industrie	3
1.1.1 La technologie des fermentations : l'origine des bioprocédés	4
1.1.2 Les cultures de cellules animales et végétales : la production de molécules complexes	5
1.1.3 Les bioprocédés environnementaux : la biotechnologie au service de l'environnement	5
1.2 L'historique des bioprocédés	6
1.2.1 Les origines	6
1.2.2 Le Moyen-Âge et la Renaissance	8
1.2.3 Pasteur : la fin de la préhistoire	8
1.2.4 La production de levure de boulangerie : la première fermentation aérobie	10
1.2.5 La fermentation acétone-butanol : le développement technologique des cuves	11
1.2.6 La pénicilline : l'entrée en scène de l'industrie pharmaceutique	11
1.2.7 L'insuline humaine recombinante : le génie génétique à l'œuvre	12
1.2.8 Les cultures de cellules supérieures	13
1.2.9 Les bioprocédés environnementaux	13
1.2.10 Les bioprocédés : des technologies qui marqueront l'Histoire	14
1.3 Les finalités des bioprocédés industriels	16
1.3.1 Les technologies des fermentations	16
1.3.1.1 La production de biomasse microbienne	17
1.3.1.2 La production de métabolites microbiens	17
1.3.1.3 La production d'enzymes microbiennes	19
1.3.1.4 La production de protéines recombinantes	19
1.3.1.5 La production de plasmides microbiens	20
1.3.1.6 La bioconversion ou procédé de transformation	21
1.3.2 Les cultures de cellules animales et végétales	22

1.3.3	Les bioprocédés environnementaux.....	22
1.4	Les étapes d'un bioprocédé industriel.....	24
1.4.1	La formulation du milieu de culture	25
1.4.2	La stérilisation des milieux de culture, du bioréacteur et de ses composantes	25
1.4.3	L'inoculum	26
1.4.4	Le bioréacteur de production.....	26
1.4.5	La séparation, la récupération et la purification des produits.....	26
1.4.6	Le traitement des effluents et des résidus.....	27
	Questions de révision.....	28
2.	Des éléments de physiologie cellulaire.....	31
2.1	La vue d'ensemble du vivant	32
2.1.1	Les cellules procaryotes et eucaryotes	32
2.1.2	Les organismes autotrophes et hétérotrophes	32
2.1.3	La classification des êtres unicellulaires et pluricellulaires.....	33
2.1.3.1	Les eubactéries	33
2.1.3.2	Les archéobactéries	34
2.1.3.3	Les eucaryotes	34
2.2	La base biochimique du métabolisme	35
2.2.1	Les concepts fondamentaux	35
2.2.1.1	Les enzymes	35
2.2.1.2	La régulation métabolique	36
A.	La régulation allostérique.....	36
B.	La régulation génétique	38
2.2.2	Le métabolisme énergétique.....	38
2.2.2.1	Une revue du métabolisme	39
2.2.2.2	Le transfert d'énergie et l'oxydoréduction.....	40
2.2.2.3	La respiration aérobie	41
A.	La glycolyse	43
B.	Le cycle de Krebs	43
C.	La chaîne de transport d'électrons	44

2.2.2.4	La respiration anaérobie	44
2.2.2.5	La fermentation	45
A.	La diversité des voies de fermentation	48
a.	La fermentation alcoolique	49
b.	La fermentation lactique	49
c.	Les autres voies de fermentation	50
2.2.2.6	Les autres voies cataboliques	52
2.2.3	Les voies anaboliques	53
2.3	Les microorganismes utilisés dans les bioprocédés	54
2.3.1	Les bactéries	54
2.3.2	Les levures	56
2.3.3	Les moisissures	56
2.3.4	Le choix des espèces utilisées dans le bioprocédés	56
	Questions de révision	58

DEUXIÈME PARTIE : **LES PROCÉDÉS DE FERMENTATION**

3.	Les milieux de culture industriels	63
3.1	Les besoins nutritionnels des microorganismes	64
3.1.1	Les sources de carbone et d'énergie	64
3.1.2	Les sources d'azote	64
3.1.3	Les minéraux	65
3.1.3.1	Les macroéléments	65
3.1.3.2	Les oligo-éléments	66
3.1.4	Les facteurs de croissance	66
3.1.5	L'eau	66
3.1.6	Les précurseurs, inhibiteurs et inducteurs	67
3.1.6.1	Les précurseurs	67
3.1.6.2	Les inhibiteurs	67
3.1.6.3	Les inducteurs	68
3.1.7	Les facteurs physicochimiques influant sur la croissance	68
3.1.7.1	La température	68

3.1.7.2	Le pH.....	69
3.1.7.3	L'oxygène dissous	70
3.1.7.4	La pression osmotique	71
3.2	La formulation des milieux de culture industriels.....	71
3.2.1	Les composantes des milieux industriels	72
3.2.1.1	Les substrats carbonés	73
3.2.1.2	L'azote organique.....	75
3.2.1.3	L'azote inorganique	76
3.2.1.4	Les minéraux et les facteurs de croissance.....	77
3.2.1.5	Les milieux synthétiques	77
3.3	L'optimisation des milieux de culture industriels.....	78
	Questions de révision.....	79
4.	La cinétique microbienne de croissance et de production.....	81
4.1	Les méthodes de mesure de la croissance	81
4.1.1	Le décompte cellulaire.....	82
4.1.1.1	Le comptage en gélose.....	82
4.1.1.2	La chambre de comptage.....	83
4.1.1.3	Les autres méthodes de comptage.....	84
4.1.2	Les méthodes de mesure de la biomasse.....	85
4.1.2.1	La biomasse sèche.....	85
4.1.2.2	L'analyse spectrophotométrique.....	86
4.1.3	Les autres méthodes.....	89
4.1.3.1	Le dosage de l'ATP.....	89
4.1.3.2	La consommation en substrats	89
4.1.3.3	La formation de produits	89
4.2	La cinétique de croissance microbienne.....	89
4.2.1	Les phases de croissance microbienne	90
4.2.1.1	La phase de latence	90
4.2.1.2	La phase d'accélération	90
4.2.1.3	La phase exponentielle de croissance	91
4.2.1.4	La phase de ralentissement	91

4.2.1.5	La phase stationnaire.....	91
4.2.1.6	La phase de déclin.....	91
4.2.2	Le modèle cinétique et la courbe de croissance microbienne.....	91
4.2.2.1	Le taux de croissance spécifique	94
4.2.2.2	Le temps de dédoublement ou de génération	94
4.3	L'utilisation du substrat	95
4.4	La formation de produits.....	96
4.4.1	Les produits dépendants de la croissance.....	97
4.4.2	Les produits partiellement dépendants de la croissance.....	98
4.4.3	Les produits indépendants de la croissance.....	98
4.5	La performance d'un bioprocédé.....	98
4.5.1	Le rendement.....	98
4.5.1.1	Le rendement en biomasse.....	98
4.5.1.2	Le rendement en produit.....	99
4.5.1.3	Le rendement en produit par rapport à la biomasse et le taux de production spécifique	100
4.5.2	La productivité.....	101
4.5.2.1	La productivité en biomasse.....	101
4.5.2.2	La productivité maximale en biomasse	102
4.5.2.3	La productivité totale en biomasse.....	102
4.5.2.4	La productivité en produit.....	103
4.6	Un exemple d'évaluation de la performance d'une fermentation	105
	Aide-mémoire	108
	Questions de révision.....	109
5.	Les paramètres de fermentation	113
5.1	La température	114
5.2	Le pH.....	115
5.3	La concentration en substrat	116
5.4	L'oxygénation.....	119
5.4.1	Le taux respiratoire spécifique.....	120
5.4.2	La demande en oxygène	120

5.4.3	La concentration critique en oxygène.....	121
5.4.4	L'évolution de la consommation d'oxygène au cours de la croissance microbienne	122
5.4.5	Le transfert d'oxygène.....	124
5.4.5.1	Le taux de transfert d'oxygène et le $K_L a$	125
5.4.5.2	Le transfert d'oxygène pendant une fermentation	127
5.4.5.3	Les facteurs influençant le transfert d'oxygène.....	127
A.	L'effet de l'aération	127
B.	L'effet de l'agitation.....	128
C.	Les autres facteurs	128
5.4.5.4	La mesure du $K_L a$	129
A.	La méthode de désoxygénation statique.....	129
B.	La méthode de désoxygénation dynamique.....	130
C.	La méthode d'oxydation du sulfite de sodium.....	132
D.	La méthode du bilan gazeux.....	133
5.5	L'agitation.....	133
5.6	Le contrôle antimousse	135
5.7	La stérilisation.....	135
5.7.1	La cinétique de la stérilisation à la chaleur humide.....	136
5.7.2	La détermination du temps de stérilisation requis	138
5.7.3	La prise en considération du temps de chauffage et de refroidissement	139
5.7.4	L'altération des milieux de culture par la chaleur humide.....	140
	Aide-mémoire	142
	Questions de révision.....	143
6.	La technologie des fermentations.....	147
6.1	Les bioréacteurs	148
6.1.1	La conception physique générale d'un bioréacteur	149
6.1.2	Le contrôle de la température	151
6.1.3	Le contrôle du pH.....	153
6.1.4	Le contrôle de l'oxygénation.....	154

6.1.4.1	L'aération	154
6.1.4.2	La stérilisation de l'air et des gaz d'échappement	155
6.1.4.3	La mesure de la concentration en oxygène dissous	156
6.1.5	L'agitation	157
6.1.6	Le contrôle antimousse	159
6.1.7	Les systèmes de régulation	159
6.1.7.1	Les régulateurs à action tout ou rien	160
6.1.7.2	Les régulateurs à action tout ou rien modulée	160
6.1.7.3	Les régulateurs à action proportionnelle	161
6.1.8	La stérilisation du milieu et des équipements	161
6.1.8.1	La stérilisation du milieu	161
	A. La chaleur humide	162
	B. La microfiltration	163
6.1.8.2	La stérilisation du réacteur et de ses périphériques	164
6.2	Les modes de fermentation	165
6.2.1	La fermentation en mode discontinu	166
6.2.2	La fermentation en mode discontinu alimenté	167
6.2.2.1	La cinétique du mode discontinu alimenté	167
6.2.2.2	Des exemples d'application du mode discontinu alimenté	169
6.2.3	La fermentation en mode continu	170
6.2.3.1	Le mode continu sans recyclage de la biomasse	171
	A. La cinétique du mode continu	172
	B. Le contrôle du taux de dilution : le chémostat et le turbidostat	175
	C. Les avantages et les limites de la fermentation en mode continu	176
6.2.3.2	Le mode continu avec recyclage de la biomasse	177
6.3	La technologie des cellules immobilisées	178
6.3.1	Les techniques d'immobilisation	178
6.3.1.1	L'adsorption	179
6.3.1.2	L'inclusion dans une matrice	179

6.3.1.3	L'encapsulation	179
6.3.1.4	La floculation	180
6.3.2	Les limites de l'usage des cellules immobilisées	180
	Aide-mémoire	182
	Questions de révision.....	183
7.	Les technologies de récupération et de purification des produits	187
7.1	Le choix d'un procédé de récupération et de purification	188
7.2	Les techniques de séparation de la biomasse du milieu.....	189
7.2.1	La sédimentation	189
7.2.2	La filtration.....	189
7.2.2.1	La filtration membranaire.....	189
7.2.2.2	Le filtre rotatif	190
7.2.3	La centrifugation	191
7.3	Les techniques de récupération du produit	192
7.3.1	La lyse cellulaire	192
7.3.2	L'extraction chimique	193
7.3.3	La distillation.....	194
7.3.4	L'évaporation	195
7.3.5	La précipitation chimique.....	195
7.3.6	La nanofiltration et l'osmose inverse	196
7.3.7	La rétention sur résine	197
7.3.7.1	Les résines adsorbantes.....	198
7.3.7.2	Les résines échangeuses d'ions	198
7.4	Les techniques de purification du produit.....	198
7.4.1	La cristallisation	198
7.4.2	La chromatographie.....	199
7.5	Les étapes finales du procédé.....	200
7.5.1	La finition du produit.....	200
7.5.1.1	Le séchage.....	200
7.5.1.2	La formulation du produit	201
7.5.2	Le traitement des effluents	201

7.6	Des exemples de procédés industriels de récupération et de purification	201
	Questions de révision.....	205
8.	L'isolement, la conservation, le contrôle et l'amélioration des souches microbiennes	207
8.1	L'isolement des microorganismes	208
8.1.1	Les collections de souches	208
8.1.2	L'isolement à partir de l'environnement.....	209
8.2	La conservation des souches	210
8.2.1	Les techniques de conservation	210
8.2.1.1	Le repiquage.....	210
8.2.1.2	La gélose inclinée sous huile minérale	211
8.2.1.3	La congélation	211
8.2.1.4	La dessiccation.....	212
8.2.1.5	La lyophilisation	212
8.2.2	La production d'une souche-stock industrielle	212
8.3	Le contrôle des souches.....	213
8.3.1	Le contrôle de la viabilité	213
8.3.2	Le contrôle de la qualité et de la stabilité génétique.....	214
8.3.3	Le contrôle de la pureté.....	214
8.4	L'amélioration des souches.....	215
	Questions de révision.....	217

TROISIÈME PARTIE : **LES CULTURES DE CELLULES ANIMALES ET VÉGÉTALES**

9.	Les cultures industrielles de cellules animales et végétales.....	221
9.1	La culture des cellules animales	222
9.1.1	L'établissement d'une lignée cellulaire	222
9.1.2	Les milieux de culture.....	224
9.1.3	Les paramètres de culture et le suivi de la croissance	225
9.1.4	La culture de cellules animales en bioréacteur	227
9.1.5	Les produits issus des cultures industrielles de cellules animales	229

10.3.3.6	Le potentiel d'oxydoréduction (redox)	256
10.3.4	Les technologies utilisées au Québec	257
10.3.4.1	Le bioréacteur à boues activées	257
10.3.4.2	Les lagunes ou étangs d'aération	257
10.3.4.3	Les étangs facultatifs	258
10.3.4.4	Les réacteurs biologiques séquentiels	259
10.4	La digestion anaérobie	260
10.4.1	Les principales réactions de la digestion anaérobie	262
10.4.1.1	L'hydrolyse et la fermentation acide	262
10.4.1.2	La méthanisation	263
10.4.1.3	La réaction métabolique de production de méthane	264
10.4.2	L'influence des facteurs physicochimiques sur la digestion anaérobie	264
10.4.2.1	La température	265
10.4.2.2	Le pH	265
10.4.2.3	Le potentiel d'oxydoréduction (redox)	265
10.4.2.4	La présence de substances toxiques et d'inhibiteurs	265
10.4.2.5	L'agitation	266
10.4.3	Les technologies de digestion méthanique	266
10.4.3.1	Les technologies en discontinu	266
A.	La digestion anaérobie en discontinue	266
B.	Les étangs anaérobies	266
10.4.3.2	Les technologies en continu	267
A.	Le digesteur infiniment mélangé	267
B.	Le digesteur contact anaérobie	268
C.	Le digesteur filtre anaérobie	268
D.	Le digesteur anaérobie à lit fluidisé	269
10.5	La biofiltration	270
10.5.1	Les biofiltres ou lits bactériens	270
10.5.1.1	La formation des lits bactériens	270
10.5.1.2	Le principe de fonctionnement des biofiltres	272
10.5.2	Les disques rotatifs	273

10.5.3	Les biofiltres à base de tourbe	275
10.5.3.1	Les propriétés de la tourbe comme agent dépolluant.....	275
10.5.3.2	Les types de biofiltres à base de tourbe	275
10.5.3.3	Le traitement des odeurs.....	277
10.6	La technique du compostage	279
10.6.1	Le principe du compostage et les substrats utilisables	279
10.6.2	Les étapes du compostage	280
10.6.3	Les facteurs physicochimiques qui influent sur le compostage	281
10.6.3.1	L'oxygénation	281
10.6.3.2	L'humidité.....	282
10.6.3.3	La température	282
10.6.3.4	Le pH	282
10.6.3.5	Le rapport carbone/azote	282
10.6.4	Les procédés de compostage.....	283
10.6.4.1	Le compostage en tas retournés ou non	283
10.6.4.2	Le compostage en digesteur	283
10.6.4.3	Le lombricompostage	284
10.7	Le traitement biologique des sols contaminés	284
10.7.1	Les procédés biologiques <i>ex situ</i> (sol excavé).....	285
10.7.1.1	L'épandage contrôlé.....	285
10.7.1.2	Les biopiles	286
10.7.1.3	La bioventilation	286
10.7.1.4	Les bioréacteurs à boues activées.....	287
10.7.2	Les procédés biologiques <i>in situ</i> (sans excavation)	288
10.7.2.1	La bioventilation de la zone non saturée	288
10.7.2.2	La bioventilation de la zone saturée	289
10.8	La biolixiviation des minerais	290
	Questions de révision	294
	Annexe – Réponses aux questions.....	297
	Bibliographie.....	303
	Index	307

9.2	La culture des cellules végétales	229
9.2.1	L'établissement d'une culture en suspension	230
9.2.2	Les milieux et les paramètres de culture	231
9.2.3	La culture de cellules végétales en bioréacteur	232
9.2.4	Les produits issus des cultures industrielles de cellules végétales	233
	Questions de révision	234

QUATRIÈME PARTIE : **L'APPLICATION DES BIOPROCÉDÉS ENVIRONNEMENTAUX**

10.	Les bioprocédés environnementaux	237
10.1	La problématique de la pollution au Québec	238
10.1.1	Les eaux usées municipales ou urbaines	238
10.1.2	Les effluents industriels	239
10.1.3	Les résidus liquides agricoles (lisiers et purins)	240
10.2	La mesure de la pollution des eaux	243
10.2.1	La demande chimique en oxygène	243
10.2.2	La demande biochimique en oxygène	244
10.3	La digestion aérobie	246
10.3.1	Le principe de la bio-oxydation en discontinu	246
10.3.2	L'analyse des phases de la digestion aérobie	246
10.3.2.1	La phase de latence et d'accélération	249
10.3.2.2	La phase de croissance exponentielle	251
10.3.2.3	La phase de ralentissement et la phase stationnaire	252
10.3.2.4	La phase de déclin	252
10.3.2.5	La phase de nitrification	254
10.3.3	Les facteurs influant sur la performance de la digestion aérobie	255
10.3.3.1	La température	255
10.3.3.2	Le pH	255
10.3.3.3	La présence de substances toxiques et d'inhibiteurs	256
10.3.3.4	Les nutriments essentiels	256
10.3.3.5	L'oxygène dissous	256