

TABLE DES MATIÈRES

PARTIE 1 UNE INTRODUCTION AUX BIOPROCÉDÉS	2
CHAPITRE 1 Bioprocédés industriels	3
INTRODUCTION	4
1.1 Les bioprocédés: l'art de faire travailler les cellules en industrie	5
1.1.1 La technologie des fermentations: l'origine des bioprocédés . . .	6
1.1.2 Les cultures de cellules animales et végétales: la production de molécules complexes	6
1.1.3 Les bioprocédés environnementaux: la biotechnologie au service de l'environnement	7
1.2 L'historique des bioprocédés	7
1.2.1 Les origines	7
1.2.2 Le Moyen-Âge et la Renaissance	9
1.2.3 Pasteur: la fin de la préhistoire	9
1.2.4 La production de levure de boulangerie: la première fermentation aérobie	11
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 .	12
1.2.7 L'insuline humaine recombinante: le génie génétique à l'œuvre	13
1.2.8 L'utilisation de cultures de cellules animales et végétales	13
1.2.9 Le développement des bioprocédés environnementaux	14
1.2.10 Les bioprocédés: des technologies qui marqueront l'Histoire . . .	15
1.3 Les finalités des bioprocédés industriels	17
1.3.1 Les technologies des fermentations	18
1.3.1.1 La production de biomasse microbienne	18
1.3.1.2 La production de métabolites microbiens	19
1.3.1.3 La production d'enzymes microbiennes	21
1.3.1.4 La production de protéines recombinantes	22
1.3.1.5 La production de plasmides microbiens	22
1.3.1.6 La bioconversion ou procédé de transformation	23
1.3.2 Les cultures de cellules eucaryotes animales et végétales	25
1.3.3 Les bioprocédés environnementaux	26
1.4 Les microorganismes utilisés dans les bioprocédés	27
1.4.1 Les bactéries	27
1.4.2 Les levures	29
1.4.3 Les moisissures	29
1.4.4 Les microalgues	30

1.4.5	Le choix des espèces utilisées dans les bioprocédés	30
1.5	Les étapes d'un bioprocédé industriel	31
1.5.1	La formulation du milieu de culture	32
1.5.2	La stérilisation des milieux de culture, du bioréacteur et de ses composantes	32
1.5.3	L'inoculum.	33
1.5.4	Le bioréacteur de production	33
1.5.5	La séparation, la récupération et la purification des produits . . .	33
1.5.6	Le traitement des effluents et des résidus	34
	Questions de révision	34
	CHAPITRE 2 Éléments de physiologie cellulaire.	37
	INTRODUCTION.	38
2.1	Une vue d'ensemble du vivant	39
2.1.1	Les cellules procaryotes et eucaryotes.	39
2.1.2	Les organismes autotrophes et hétérotrophes	39
2.1.3	La classification des êtres unicellulaires et pluricellulaires	40
2.1.3.1	Les eubactéries	40
2.1.3.2	Les archéobactéries	41
2.1.3.3	Les eucaryotes	41
2.2	La base biochimique du métabolisme	42
2.2.1	Les concepts fondamentaux.	42
2.2.1.1	Les enzymes	42
2.2.1.2	La régulation métabolique	43
	A. La régulation allostérique.	44
	B. La régulation génétique	45
2.2.2	Le métabolisme énergétique	46
2.2.2.1	Une revue du métabolisme.	46
2.2.2.2	Le transfert d'énergie et l'oxydoréduction	47
2.2.2.3	La respiration aérobie	48
	A. La glycolyse	50
	B. Le cycle de Krebs	50
	C. La chaîne de transport d'électrons	50
2.2.2.4	La respiration anaérobie	51
2.2.2.5	La fermentation	52
	A. La diversité des voies de fermentation	54
	I. La fermentation alcoolique	56
	II. La fermentation lactique.	56
	III. Les autres voies de fermentation.	56
2.2.2.6	Les autres voies cataboliques.	58
2.2.3	Les voies anaboliques.	60
	Questions de révision	61

PARTIE 2 PROCÉDÉS DE FERMENTATION	66
CHAPITRE 3 Milieux de culture industriels	67
INTRODUCTION.....	68
3.1 Les besoins nutritionnels des microorganismes	69
3.1.1 Les sources de carbone et d'énergie.....	69
3.1.2 Les sources d'azote	71
3.1.3 Les minéraux	72
3.1.3.1 Les macroéléments	72
3.1.3.2 Les oligo-éléments.....	73
3.1.4 Les facteurs de croissance	74
3.1.5 L'eau	74
3.1.6 Les précurseurs, inhibiteurs et inducteurs.....	74
3.1.6.1 Les précurseurs	75
3.1.6.2 Les inhibiteurs.....	75
3.1.6.3 Les inducteurs.....	76
3.1.7 Les agents chélateurs	79
3.1.8 Des considérations concernant la pression osmotique	79
3.2 La formulation des milieux de culture industriels	80
3.2.1 Les milieux de culture complexes.....	82
3.2.1.1 Les substrats carbonés	82
3.2.1.2 L'influence de la source de carbone sur la production de biomolécules	86
3.2.1.3 L'azote organique	86
3.2.1.4 L'azote inorganique.....	88
3.2.1.5 Les minéraux et les facteurs de croissance.....	88
3.2.2 Les milieux de culture synthétiques et semi-synthétiques	89
3.3 L'optimisation des milieux de culture industriels	91
3.3.1 La méthode stœchiométrique	91
3.3.2 L'approche expérimentale empirique améliorée.....	92
Questions de révision	98
CHAPITRE 4 Cinétique microbienne de croissance et de production.....	105
INTRODUCTION.....	106
4.1 Les méthodes de mesure de la croissance	107
4.1.1 Le décompte cellulaire.....	108
4.1.1.1 Le comptage en gélose	108
4.1.1.2 La chambre de comptage.....	109
4.1.1.3 Le compteur de particules	110
4.1.1.4 Le comptage indirect.....	110
4.1.2 Les méthodes de mesure de la biomasse	111

4.1.2.1	La biomasse sèche	111
4.1.2.2	L'analyse spectrophotométrique	112
4.1.3	Les autres méthodes	114
4.1.3.1	Le dosage de l'ATP	114
4.1.3.2	La consommation en substrats	115
4.1.3.3	La formation de produits	115
4.2	La cinétique de croissance microbienne.	115
4.2.1	Les phases de croissance microbienne	115
4.2.1.1	La phase de latence	116
4.2.1.2	La phase d'accélération	116
4.2.1.3	La phase de croissance exponentielle	116
4.2.1.4	La phase de ralentissement.	116
4.2.1.5	La phase stationnaire	116
4.2.1.6	La phase de déclin.	117
4.2.2	Le modèle cinétique et la courbe de croissance microbienne	117
4.2.2.1	Le taux de croissance spécifique	119
4.2.2.2	Le temps de dédoublement ou de génération	120
4.3	L'utilisation du substrat	120
4.4	La formation de produits.	121
4.4.1	Les produits dépendants de la croissance.	122
4.4.2	Les produits partiellement dépendants de la croissance	122
4.4.3	Les produits indépendants de la croissance	122
4.5	La performance d'un bioprocédé	124
4.5.1	Le rendement	124
4.5.1.1	Le rendement en biomasse.	124
4.5.1.2	Le rendement en produit	124
4.5.1.3	La signification métabolique des rendements	125
4.5.1.4	Le rendement en produit par rapport à la biomasse et le taux de production spécifique	127
4.5.2	La productivité.	128
4.5.2.1	La productivité en biomasse	128
4.5.2.2	La productivité maximale en biomasse.	129
4.5.2.3	La productivité totale en biomasse.	129
4.5.2.4	La productivité en produit	130
4.6	Un exemple d'évaluation de la performance d'une fermentation.	132
	Questions de révision	136
	CHAPITRE 5 Paramètres de fermentation	143
	INTRODUCTION.	144
5.1	La température	145
5.2	Le pH	146

5.3	La concentration en substrat	148
5.4	L'oxygénation	151
5.4.1	Le taux respiratoire spécifique	154
5.4.2	La demande en oxygène	154
5.4.3	La concentration critique en oxygène	155
5.4.4	L'évolution de la consommation d'oxygène au cours de la croissance microbienne	157
5.4.5	Le transfert d'oxygène	158
5.4.5.1	Le taux de transfert d'oxygène et le $K_L a$	159
5.4.5.2	Le transfert d'oxygène pendant une fermentation	161
5.4.5.3	Les facteurs influençant le transfert d'oxygène	161
	A. L'effet de l'aération	161
	B. L'effet de l'agitation	162
	C. Les autres facteurs	163
5.4.5.4	La mesure du $K_L a$	163
	A. La méthode de désoxygénation statique	163
	B. La méthode de désoxygénation dynamique	164
	C. La méthode d'oxydation du sulfite de sodium	166
	D. La méthode du bilan gazeux	167
5.5	L'agitation	168
5.5.1	Le principe et les modes d'agitation	168
5.5.2	L'effet d'inondation des turbines	169
5.5.3	L'effet de la vitesse d'agitation sur le taux de transfert d'oxygène	170
5.5.4	L'effet de la viscosité du milieu sur l'agitation et le taux de transfert d'oxygène	171
5.6	Le contrôle antimousse	172
5.7	La stérilisation	173
5.7.1	La cinétique de la stérilisation à la chaleur humide	174
5.7.2	La détermination du temps de stérilisation requis	176
5.7.3	La prise en considération du temps de chauffage et de refroidissement	179
5.7.4	L'altération des milieux de culture par la chaleur humide	180
5.7.4.1	La caramélisation des sucres (réaction de Maillard)	180
5.7.4.2	La dégradation des composés thermolabiles	181
5.7.4.3	La variation du pH	181
5.7.4.4	La précipitation de certains sels inorganiques	182
5.7.5	D'autres méthodes de stérilisation	183
	Questions de révision	184

CHAPITRE 6 Technologie des bioréacteurs	191
INTRODUCTION.	192
6.1 La conception générale des bioréacteurs	193
6.1.1 Les exigences de base	193
6.1.2 Le confinement et la biosécurité.	195
6.1.3 Le design et la construction des bioréacteurs	196
6.1.3.1 Les bioréacteurs à l'échelle laboratoire	197
6.1.3.2 Les bioréacteurs à l'échelle pilote et industrielle.	199
6.1.3.3 Le couvercle de la cuve (plaque de tête ou platine)	202
6.1.3.4 Le système d'échantillonnage	205
6.2 Les systèmes de contrôle d'un bioréacteur	207
6.2.1 Le contrôle de la température	207
6.2.2 Le contrôle du pH	208
6.2.3 Le contrôle de l'oxygénation	209
6.2.3.1 L'aération.	210
6.2.3.2 La stérilisation de l'air et des gaz d'échappement	213
6.2.3.3 La mesure de la concentration en oxygène dissous	215
6.2.4 L'agitation	215
6.2.4.1 Le joint mécanique	216
6.2.4.2 Le type d'agitation	218
6.2.4.3 Les déflecteurs ou contre-pales	219
6.2.4.4 Les autres systèmes d'agitation	221
6.2.5 Le contrôle antimousse	223
6.2.6 Les pompes péristaltiques	223
6.2.7 Les systèmes de régulation.	225
6.2.7.1 Les régulateurs à action tout ou rien	226
6.2.7.2 Les régulateurs à action tout ou rien modulée.	227
6.2.7.3 Les régulateurs à action proportionnelle.	227
6.2.7.4 Le système de contrôle PID.	228
6.2.8 La stérilisation du milieu et des équipements	228
6.2.8.1 La stérilisation du milieu.	228
A. La chaleur humide	229
B. La microfiltration	230
6.2.8.2 La stérilisation du réacteur et de ses périphériques.	231
6.2.9 Le système de valves d'un bioréacteur	234
6.3 La mise à l'échelle d'un bioprocédé de fermentation.	236
6.3.1 L'échelle laboratoire.	237
6.3.2 L'échelle pilote.	240
6.3.3 L'échelle industrielle.	243
Questions de révision	245

CHAPITRE 7 Modes de fermentation	251
INTRODUCTION.	252
7.1 La fermentation en mode discontinu.	253
7.2 La fermentation en mode discontinu alimenté.	254
7.2.1 La cinétique du mode discontinu alimenté à volume variable.	255
7.2.1.1 La fermentation discontinue à volume variable alimentée avec un débit fixe	255
7.2.1.2 La fermentation discontinue à volume variable alimentée avec une augmentation exponentielle du débit.	259
7.2.2 La cinétique du mode discontinu alimenté à volume fixe	265
7.2.3 Les techniques de contrôle du mode de fermentation discontinu alimenté	267
7.2.3.1 Le contrôle sans rétroaction	268
7.2.3.2 Le contrôle avec rétroaction	268
7.2.4 Les avantages du mode de fermentation discontinu alimenté	270
7.2.5 Les désavantages du mode de fermentation discontinu alimenté.	273
7.2.6 Des exemples d'application du mode discontinu alimenté.	273
7.2.6.1 La production de pénicilline	273
7.2.6.2 La production de levures de boulangerie	275
7.2.6.3 La production de protéines recombinantes.	275
7.3 La fermentation en mode continu	276
7.3.1 Le mode continu sans recyclage de la biomasse.	276
7.3.1.1 La cinétique du mode continu	277
7.3.1.2 Le contrôle du taux de dilution: le chémostat, le turbidostat, l'auxostat	281
7.3.1.3 Les avantages et les limites de la fermentation en mode continu	283
7.3.2 Le mode continu avec recyclage de la biomasse.	284
7.4 La technologie des cellules immobilisées	287
7.4.1 Les techniques d'immobilisation	288
7.4.1.1 L'adsorption	288
7.4.1.2 L'inclusion dans une matrice.	289
7.4.1.3 L'encapsulation.	289
7.4.1.4 La floculation	290
7.4.2 Les limites de l'usage des cellules immobilisées	290
Questions de révision	293
CHAPITRE 8 Technologies de récupération et de purification des produits	301
INTRODUCTION.	302
8.1 Le choix d'un procédé de récupération et de purification	303
8.2 Les techniques de séparation de la biomasse du milieu	304
8.2.1 La sédimentation	305

8.2.2	La filtration	305
8.2.2.1	La filtration membranaire	305
8.2.2.2	Le filtre rotatif	308
8.2.3	La centrifugation	309
8.3	Les techniques de récupération du produit	311
8.3.1	La lyse cellulaire	311
8.3.2	L'extraction chimique	314
8.3.2.1	L'efficacité et le rendement d'extraction	314
8.3.2.2	La sélectivité du solvant d'extraction	316
8.3.2.3	L'extraction à l'échelle industrielle	317
8.3.2.4	La stabilité du produit dans le solvant	318
8.3.3	La distillation	319
8.3.4	L'évaporation	320
8.3.5	La précipitation chimique	322
8.3.6	La nanofiltration et l'osmose inverse	323
8.3.7	La rétention sur résine	325
8.3.7.1	Les résines adsorbantes	326
8.3.7.2	Les résines échangeuses d'ions	326
8.4	Les techniques de purification du produit	328
8.4.1	La cristallisation	328
8.4.2	La chromatographie	329
8.5	Les étapes finales du procédé	335
8.5.1	La finition du produit	335
8.5.1.1	Le séchage	335
8.5.1.2	La formulation du produit	337
8.5.2	Le traitement des effluents	338
8.6	Quelques exemples de procédés industriels de récupération et de purification	338
	Questions de révision	340
	CHAPITRE 9 Isolement, conservation, contrôle et amélioration des souches microbiennes	347
	INTRODUCTION	348
9.1	L'isolement des microorganismes	349
9.1.1	Les collections de souches	349
9.1.2	L'isolement à partir de l'environnement	350
9.2	La conservation des souches	351
9.2.1	Les techniques de conservation	351
9.2.1.1	La préservation à l'état métaboliquement actif	352
	A. Le repiquage	352
	B. La gélose inclinée sous huile minérale	352
	C. La suspension dans une solution saline	352

9.2.1.2	La préservation à l'état métaboliquement inactif	353
A.	La congélation ou cryopréservation.	353
I.	La congélation des cellules	353
II.	Les agents cryoprotecteurs	354
III.	Le processus de congélation-décongélation	354
IV.	Les températures de congélation et de décongélation	356
B.	La dessiccation	357
C.	La lyophilisation	357
9.2.2	La production d'une souche-stock industrielle	358
9.3	Le contrôle des souches	358
9.3.1	Le contrôle de la viabilité	359
9.3.2	Le contrôle de la qualité et de la stabilité génétique.	359
9.3.3	Le contrôle de la pureté	360
9.4	L'amélioration des souches	360
	Questions de révision	363
	PARTIE 3 CULTURES DE CELLULES ANIMALES ET VÉGÉTALES	366
	CHAPITRE 10 Cultures industrielles de cellules animales et végétales	367
	INTRODUCTION.	368
10.1	La culture des cellules animales	369
10.1.1	L'établissement d'une lignée cellulaire	369
10.1.2	Les milieux de culture	371
10.1.3	Les paramètres de culture et le suivi de la croissance	372
10.1.4	La culture de cellules animales en bioréacteur	374
10.1.5	Les produits issus des cultures industrielles de cellules animales .	378
10.2	La culture des cellules végétales	379
10.2.1	L'établissement d'une culture en suspension	379
10.2.2	Les milieux et les paramètres de culture	380
10.2.3	La culture de cellules végétales en bioréacteur	380
10.2.4	Les produits issus des cultures industrielles de cellules végétales.	381
	Questions de révision	383
	PARTIE 4 APPLICATION DES BIOPROCÉDÉS ENVIRONNEMENTAUX	386
	CHAPITRE 11 Bioprocédés environnementaux	387
	INTRODUCTION.	388
11.1	La problématique de la pollution au Québec.	389
11.1.1	Les eaux usées municipales ou urbaines.	389
11.1.2	Les effluents industriels	390
11.1.3	Les résidus liquides agricoles (lisiers et purins)	391

11.2	La mesure de la pollution des eaux	394
11.2.1	La demande chimique en oxygène	394
11.2.2	La demande biochimique en oxygène	394
11.3	La digestion aérobie	396
11.3.1	Le principe de la bio-oxydation en discontinu	396
11.3.2	L'analyse des phases de la digestion aérobie	397
11.3.2.1	Les phases de latence et d'accélération	399
11.3.2.2	La phase de croissance exponentielle	401
11.3.2.3	La phase de ralentissement et la phase stationnaire	402
11.3.2.4	La phase de déclin	402
11.3.2.5	La phase de nitrification	403
11.3.3	Les facteurs influant sur la performance de la digestion aérobie .	404
11.3.3.1	La température	404
11.3.3.2	Le pH	405
11.3.3.3	La présence de substances toxiques et d'inhibiteurs	405
11.3.3.4	Les nutriments essentiels	405
11.3.3.5	L'oxygène dissous	405
11.3.3.6	Le potentiel d'oxydoréduction (redox)	405
11.3.4	Les technologies utilisées au Québec	406
11.3.4.1	Le bioréacteur à boues activées	406
11.3.4.2	Les lagunes ou étangs d'aération	406
11.3.4.3	Les étangs facultatifs	407
11.3.4.4	Les réacteurs biologiques séquentiels	408
11.4	La digestion anaérobie	409
11.4.1	Les principales réactions de la digestion anaérobie	411
11.4.1.1	L'hydrolyse de la matière organique	412
11.4.1.2	L'acidogénèse	413
11.4.1.3	L'acétogénèse	414
11.4.1.4	La méthanisation	414
11.4.2	L'influence des facteurs physico-chimiques sur la digestion anaérobie	416
11.4.2.1	La température	416
11.4.2.2	Le pH	416
11.4.2.3	Le potentiel d'oxydoréduction (redox)	416
11.4.2.4	La présence de substances toxiques et d'inhibiteurs	416
11.4.2.5	L'agitation	417
11.4.3	Les technologies de biométhanisation	417
11.4.3.1	Les technologies en mode discontinu	417
	A. La digestion anaérobie en mode discontinu	417
	B. Les étangs anaérobies	418

11.4.3.2	Les technologies en mode continu	418
A.	Le digesteur infiniment mélangé.	418
B.	Le digesteur contact anaérobie.	418
C.	La digestion à deux phases	419
D.	Le digesteur filtre anaérobie à cellules fixées.	420
E.	Le digesteur anaérobie à lit fluidisé	420
11.4.4	La récupération et la purification des biogaz	421
11.5	La biofiltration.	422
11.5.1	Les biofiltres ou lits bactériens	422
11.5.1.1	La formation des lits bactériens.	422
11.5.1.2	Le principe de fonctionnement des biofiltres.	424
11.5.2	Les disques rotatifs.	425
11.5.3	Les biofiltres à base de tourbe	428
11.5.3.1	Les propriétés de la tourbe comme agent dépolluant.	428
11.5.3.2	Les types de biofiltres à base de tourbe	428
11.5.3.3	Le biotraitement des odeurs	430
11.6	La technique du compostage	431
11.6.1	Le principe du compostage et les substrats utilisables	431
11.6.2	Les étapes du compostage.	433
11.6.3	Les facteurs physico-chimiques qui influent sur le compostage.	434
11.6.3.1	L'oxygénation.	434
11.6.3.2	L'humidité	434
11.6.3.3	La température	434
11.6.3.4	Le pH	434
11.6.3.5	Le rapport carbone/azote.	435
11.6.4	Les procédés de compostage	435
11.6.4.1	Le compostage en tas retournés	435
11.6.4.2	Le compostage à l'aide de piles statiques avec aération forcée	435
11.6.4.3	Le compostage en contenants modulaires et en tunnels fermés	436
11.6.4.4	Le compostage en silos horizontaux	436
11.6.4.5	Le lombricompostage	436
11.7	Le traitement biologique des sols contaminés	436
11.7.1	Les procédés biologiques <i>ex situ</i> (sol excavé)	439
11.7.1.1	L'épandage contrôlé	439
11.7.1.2	Les biopiles.	439
11.7.1.3	La bioventilation	440
11.7.1.4	Les bioréacteurs à boues activées.	441

11.7.2	Les procédés biologiques <i>in situ</i> (sans excavation)	442
11.7.2.1	La bioventilation de la zone non saturée en eau	442
11.7.2.2	La bioventilation de la zone saturée en eau	443
11.8	La biolixiviation des minerais	444
11.9	Les autres bioprocédés environnementaux	446
11.9.1	Le bioséchage	447
11.9.2	Les biopiles microbiennes	447
11.9.3	Les promoteurs biologiques de croissance végétale (biofertilisants)	448
11.9.4	La phycoremédiation	448
11.9.5	Le bioraffinage	449
11.9.5.1	Les bioraffineries de première génération	450
11.9.5.2	Les bioraffineries de deuxième génération	451
	A. Les composantes de la biomasse lignocellulosique	451
	B. Les biocarburants et produits biosourcés de deuxième génération	452
	Questions de révision	455
	RÉPONSES AUX QUESTIONS	462
	BIBLIOGRAPHIE	469
	INDEX	475