



MOOC AGRORESSOURCES ET AGRO-INDUSTRIES DURABLES

SEMAINE 4 : Génie biochimique

Auteur : Stéphane GUILLOUET

A partir de la connaissance du métabolisme cellulaire, il est possible par ingénierie métabolique de construire des souches microbiennes améliorées pour la production d'une molécule donnée.

De manière à tirer le meilleur de ces souches, le génie biochimique se focalise sur la mise en œuvre des microorganismes au sein de système productif que sont les Bioréacteurs. A partir des connaissances de cinétiques microbiennes, ce domaine scientifique étudie l'impact de l'environnement cellulaire sur le comportement des microorganismes tels que la température, le pH, la salinité du milieu mais aussi l'approvisionnement des nutriments par le mélange et l'aération.

Cette connaissance permet de définir des stratégies de conduite de fermentation permettant d'atteindre les meilleures performances de production en termes de concentration, de productivité et de rendement.

Les bases de la cinétique démarrent par la cinétique de croissance cellulaire. Un microorganisme croît par duplication cellulaire, c'est-à-dire qu'une cellule mère va se diviser en 2 cellules filles.

Dans un environnement optimal où le microorganisme trouve tous les éléments nutritifs nécessaires à sa croissance, le temps de génération, c.à.d. le temps nécessaire à une cellule de se diviser, est constant.

L'augmentation du nombre de cellules suit une fonction puissance où le nombre de cellules au bout de n générations est égale au nombre initial au temps de référence 0 multiplié par 2 puissance n . Ceci se traduit par une augmentation exponentielle du nombre de cellules par rapport au temps comme montré sur ce graphe. L'augmentation de la concentration cellulaire suit donc une fonction exponentielle par rapport au temps

On peut observer plusieurs phases au cours de la croissance du microorganisme. La phase de latence se caractérise par une non-croissance cellulaire en début de culture. Elle correspond à la phase d'adaptation du microorganisme à son nouvel environnement. La phase d'accélération traduit le démarrage de la croissance qui a lieu avant d'atteindre la croissance maximale du microorganisme lors de la phase exponentielle de croissance. Lorsque le



MOOC AGRORESSOURCES ET AGRO-INDUSTRIES DURABLES

substrat carboné vient à s'épuiser dans le milieu, le microorganisme passe en phase de décélération puis en phase stationnaire quand sa croissance s'arrête par manque de substrat carboné dans le milieu. Si cette situation persiste on peut observer une phase de décès cellulaire pouvant jusqu'à une lyse cellulaire.

La vitesse de croissance peut être calculée à partir du calcul de la dérivée de l'évolution de la concentration cellulaire par rapport au temps. Elle traduit la vitesse de croissance de l'ensemble de la population microbienne au sein du réacteur.

Elle permet d'accéder à la détermination de la vitesse spécifique de croissance, appelée aussi taux de croissance (et noté μ), en divisant la vitesse de croissance par la concentration cellulaire en chaque point. Le taux de croissance traduit la vitesse à laquelle se divise le microorganisme.

Il est maximal pendant la phase exponentiel de croissance, on le nomme alors μ_{max} .

Le taux de croissance permet de remonter au temps de génération d'une cellule, c.à.d. au temps nécessaire à une cellule de se diviser, soit de passer d'une concentration X_0 à $2 \times X_0$. Ce taux de croissance permet de caractériser la croissance des microorganismes.

Les taux de croissance les plus élevés rencontrés chez les bactéries sont de l'ordre de $2h^{-1}$ soit un TG de 20 minutes (c'est le cas des souches d'E.coli pathogènes). Par comparaison, les taux de croissance les plus élevés rencontrés chez les levures sont de $0.5 h^{-1}$ soit un TG d'1h20.

Ce temps de génération s'allonge encore chez les champignons, les cellules animales et végétales ou les micro algues en croissance autotrophe

Le taux de croissance d'un microorganisme est impacté par son environnement, des paramètres physico-chimiques tels que la température et le pH influe sur le taux de croissance. L'environnement nutritif influe également sur le taux de croissance, la concentration en substrat carboné impacte directement le taux de croissance à faible concentration et peut même inhiber la croissance à forte concentration selon sa nature. La molécule produite par le microorganisme peut également inhiber la croissance microbienne selon sa nature.

La connaissance des paramètres environnementaux qui impacte la croissance microbienne et sa physiologie permet alors de définir les stratégies conduites de fermentation appropriées pour intensifier les performances de production du microorganisme.



MOOC AGRORESSOURCES ET AGRO-INDUSTRIES DURABLES

Ainsi une stratégie de conduite de fermentation en mode fed-batch ou semi-continu alimenté permettra de maîtriser les phénomènes d'inhibition de croissance par excès de substrat et de travailler à forte concentration cellulaire maximisant la productivité.

Les stratégies de fermentation extractive in situ ou externe seront préférables afin de contrôler les problèmes d'inhibition par le produit de fermentation et de travailler à forte concentration cellulaire maximisant la productivité.

Ici vous avez l'exemple de la production de bioéthanol pour la levure *Saccharomyces*. L'éthanol produit par la levure inhibe la croissance microbienne à partir d'une certaine concentration.

Ainsi le mode fed-batch permet de prolonger l'apport de sucre et donc d'augmenter le titre final en alcool et ainsi d'augmenter la productivité par un facteur 6. La fermentation extractive en utilisant un réacteur à membrane séparant par filtration les cellules et l'éthanol permet de mieux gérer l'inhibition par l'éthanol et d'augmenter encore la productivité d'un facteur 10.

Sur cet exemple s'achève la séquence de formation sur le génie microbien. Au cours de la séquence suivante du génie des bioprocédés vous pourrez suivre plus en détail une formation sur le fonctionnement de ces types de bioréacteurs.