

- Importance des organismes en
- intérêt de l'utilisation :
  - ① - Coût plus faible que les procédés par voie chimique (Catalyse enzymatique)
  - ② Faisabilité :
    - a) Synthèse et biotransformations :  
Certains molécules ne peuvent se faire que par voie microbienne
    - b) spécificité de la réaction
    - c) stéréospécificité :
  - ③ Sécurité accrue
    - absence de virus

Pour évaluer

### Produits microbien d'intérêt Industriel

- Une fois le mois recherche obtenu, la formation des produits désirés dépend de la mise en culture du moque.
- L'utilisation du moque en biotechnologie est donc basé sur les principes de la culture en masse ⇒

1. - la gestion des procédés de culture microbienne
2. - la connaissance des facteurs limitants la croissance microbienne.

### Quelques produits microbiens d'intérêt industriel

- Dextranes → dérivé du glucose produits naturellement par les microbes vivant en sol
- Alginate → polysaccharides → à partir d'une famille d'algues - les Lécus.
- Productions d'Antibiotiques
- Produits excrétés (enzymes, exotoxines, acides organiques...)
- Lipides → Triglycérides, sphingolipides
- par clonage de gènes étrangers
  - Insuline
  - hormone de croissance humaine
  - Interférons glycoprotéines (Rôle de défense contre les virus)
  - Cortisone Hormone glucocorticoïde naturelle. Antiallergique et Anti-inflammatoire
- par synthèse :
  - Vitamines
  - acides aminés essentiels
  - Enzymes intracellulaires
- Biotransformations
  - réactions chimiques catalysées par une enzyme microbienne

↓

## Théorie de culture & d'iso fait

CB 2018

### ① Accessibilité des substrats:

- le sbs doit pénétrer ou être sécrété  
à l'extérieur pour qu'il soit utilisable  
par la cellule.

### - les mécanismes de pénétration sont multiples

- ① - phagocytose ou mécanismes voisins pour les grosses molécules.
- ② diffusion passif dans l'eau, les gaz et qdq petites molécules.
- ③ transport spécifique actif ou passif (ATP-dépendant ou non) → avec la participation de protéines de transport (pompes, permeases...)
- le type de transport varie d'une espèce à l'autre.

\* le métabolisme énergétique prend en considération les types trophiques.

### ① - phototrophie, chimiotrophie

### ② les types respiratoires:

## 2 - Besoins nutritifs.

### 2.1 - Eléments de constitution.

- C, O, H, N, P et S éléments majeurs
- Éléments de constitution des molécules biologiques (protéines, glucides, acides nucléiques, ...) liés entre eux par des liaisons covalentes.
- formule chimique de la biomasse bactérienne :
- $C_5H_7O_2 NP_{0,03}$
- ou encore ( $C_5H_7O_2 N_{0,75} P_{0,05} S_{0,025}$ )
- Besoins nutritifs essentiels en C, N et P = 3 éléments essentiels et nécessaire en grande quantité pour les cellules afin d'assurer la formation de nouvelles structures cellulaires

#### - Formes assimilables des éléments majeurs : C, N, P, S

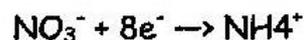
( Les besoins en O et H sont satisfaits en général avec la source de carbone (ex : glucose =  $C_6H_{12}O_6$  ), par l'eau ou la source d'azote).

#### • Carbone :

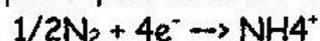
- Le carbone = besoin fondamental, constituant de base de toute structure organique
- Environ 50% de la masse cellulaire sèche = carbone.
- Organismes hétérotrophes: besoin en carbone organique : Glucose, Acides aminés, acétate, fructose, lipides, protéines, polysaccharides, glycérol,...
- (autotrophes: carbone inorganique :  $CO_2$ ,  $HCO_3^-$ )

#### • Azote : Principalement incorporé sous trois formes:

- $NH_4^+$  (ammonium) : Forme principale d'assimilation de l'azote. Peut aussi l'être sous forme d'acides aminés. Toutes les bactéries sont en principe capables d'assimiler l'azote sous cette forme. Mais attention aux effets répresseurs des formes facilement assimilables sur la synthèse d'antibiotiques, d'enzymes...
- $NO_3^-$ ,  $NO_2^-$  (nitrate, nitrite) : Concerne un nombre plus restreint de microorganismes. Forme + oxydée donc plus coûteuse à assimiler ( nécessite une dépense d'électrons pour réduire cette forme en ammonium). Toxicité des nitrites.



- $N_2$  (azote moléculaire) : Assimilation exclusivement connue chez les bactéries. Source inépuisable d'azote mais très coûteuse en énergie. Concerne des groupes très spécifiques de micro-organismes ( Rhizobium,....).



Demande une énergie d'activation très élevée.

- Besoins en N : environ 14% de la masse cellulaire sèche = azote

- **Phosphore** : essentiellement sous forme de phosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ;  $\text{HPO}_4^{2-}$ ;  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ;  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) ou polyphosphates.

- Besoins en P : 1 - 3% de la masse cellulaire sèche = phosphore.

- **Soufre** :

- Sous forme réduite,  $-\text{SH}$  ou  $-\text{S}-$  apporté par les AA soufrés (cystéine et méthionine) et les vitamines soufrés (biotine) = source préférentielle d'assimilation du soufre.

-  $\text{H}_2\text{S}$ , dans les environnements réducteurs (milieux anaérobies).

-  $\text{SO}_4^{2-}$ , sulfates. Forme coûteuse en énergie mais la plus abondante.

- Besoins en S : < 1% de la masse cellulaire sèche = soufre

- **Éléments « mineurs » et oligoéléments**

• Essentiellement des cations, ne sont pas liés aux autres molécules par des liaisons covalentes (l. électrostatiques,...).

•  $\text{K}^+$  (principal cation, cofacteur),  $\text{Fe}^{2+}$  (cytochromes),  $\text{Ca}^{2+}$  et  $\text{Mg}^{2+}$  (thermorésistance, cofacteurs, stabilité membranaire,...),  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  (pour vitamine B12),  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Mo}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^+$ , ...

• besoins:

- classiquement du ng au mg / L mais les besoins peuvent être spécifiques pour la synthèse d'antibiotiques (10 à 100 fois les besoins en Fe et Mn et Zn requis pour la croissance)

- **Facteurs de croissance**

→ Constituants indispensables à la croissance en très faible dose (0,1 - 1 mg/L). Souvent les microorganismes possèdent les voies métaboliques permettant leur synthèse = prototrophes (ex : *Escherichia coli*).

- Acides aminés essentiels (Glu, Lys, Arg, Trp, Tyr)

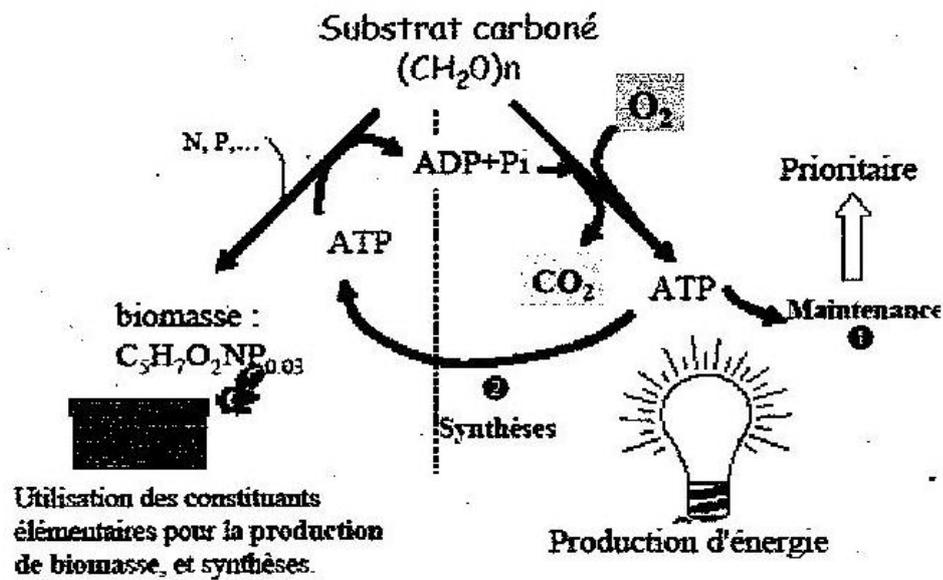
- Bases puriques et pyrimidiques

- Vitamines (en général : cofacteur ou précurseur de cofacteurs enzymatiques).

→ Leur présence dans le milieu facilite la croissance des microorganismes prototrophes, elles est indispensable pour les auxotrophes.

éléments sous forme de traces

## - Métabolisme aérobie.



## - Respirations et fermentations

- Rendement ATP: fermentations  $\ll$  respirations
- A production égale d'ATP, plus de substrat est métabolisé lors des fermentations que lors de la respiration.
- Selon les conditions environnementales la respiration ou la fermentation est empruntée.
- Levures, *E. coli*,...possèdent les deux voies
- *Bacillus*,... uniquement fermentation
- *Pseudomonas*: uniquement respiration
- (NB : respiration peut être aérobie ou anaérobie, ex. respiration des nitrates)

## 2.3. Milieux de culture industriels

- La bonne formulation du milieu repose sur le choix de la source de carbone, d'azote, de vitamines ou d'oligoéléments, mais surtout leur équilibre.
- L'accumulation des produits spécifiques à de nombreuses fermentations est contrôlée par des paramètres nutritifs : concentration en vitamines, la disponibilité en nutriments azotés ou carbonés ou encore par l'état de croissance de la culture,... ce qui impose donc une connaissance parfaite de ces interactions pour optimiser le procédé.
- Contraintes légales (interdiction d'utiliser des produits animaux par principe de précaution, flux d'oxygène limités,...)
- La matière brute du milieu de culture, par son coût, influence la compétitivité économique du procédé.
- ...

## ✧ **Matières brutes couramment utilisées :**

- Sources de carbone et d'énergie:
  - mélasses
  - grains de céréales
  - petit lait
  - déchets agricoles,...
- Sources d'azote
  - farine de soja
  - vinasses
  - déchets d'abattoir
  - ammoniac et sels d'ammoniac,...
- Vitamines
  - préparations brutes de produits végétaux et animaux,...
- Fer et oligoéléments
- dérivés chimiques inorganiques bruts,...
- Antimousses
  - alcools supérieurs
  - esters naturels
  - silicones
  - saindoux et huiles végétales,...
- Tampons de pH
  - craie, carbonates bruts
  - phosphates pour engrais

## ✧ **2.4. Environnement physique**

Contrôle précis :

- de l'agitation
- de l'oxygénation
  - critique en culture aérobie, tenir compte des coefficients de transferts gaz, liquide, de la viscosité du milieu (milieu visqueux souvent observé en croissance mycélienne,...)
  - croissance floconneuse des mycètes qui modifie l'efficacité du transfert
- de la température
- du pH