

Production par voie microbienne de l'acide 3-hydroxypropionique couplée à son extraction réactive *in situ* par contacteur membranaire : Impact sur l'état physiologique de *Lactobacillus reuteri*

Grégoire Burgé* (1, 2, 3), Claire Saulou-Bérion (2, 3), Marwen Moussa (2, 3), Florent Allais (1, 2, 3),
Violaine Athès-Dutour (2, 3), Henry-Eric Spinnler (2, 3)

(1) Chaire ABI - AgroParisTech, 247 rue Paul Vaillant Couturier, F-51100 Reims, France

(2) AgroParisTech, UMR 782 GMPA, 1 avenue Lucien Brétignières, F-78850 Thiverval-Grignon, France

(3) INRA, UMR 782 GMPA, 1 avenue Lucien Brétignières, F-78850 Thiverval-Grignon, France

* gregoire.burge@agroparistech.fr

Mots clefs : acide 3-hydroxypropionique, *In Situ* Product Recovery, *Lactobacillus reuteri*, état physiologique

Un intérêt majeur est actuellement porté à la substitution des produits d'origine pétrochimique par des bioproduits issus de la transformation de matières premières renouvelables. L'acide 3-hydroxypropionique (ou 3-HP) constitue ainsi l'un des 10 synthons d'intérêt ciblé par le Department Of Energy américain¹, tant pour son utilisation comme molécule de départ pour de nombreux dérivés chimiques (acide acrylique, acide malonique, acrylamide...) que pour son incorporation dans des polymères bio-sourcés.

La bactérie lactique *Lactobacillus reuteri*, connue pour son caractère probiotique, a été identifiée comme productrice naturelle de 3-HP à partir de glycérol (co-produit de la fabrication de biodiesel), mais avec de faibles résultats en termes de productivité et de rendement, dus aux effets inhibiteurs provoqués par la molécule et son intermédiaire métabolique le 3-hydroxypropionaldéhyde (ou 3-HPA) ainsi qu'à la formation de 1,3-propanediol (ou 1,3-PDO) comme co-produit². Pour lever ces verrous et récupérer la molécule d'intérêt dans le milieu, la stratégie appelée "*In Situ* Product Recovery" (ISPR) vise à coupler les opérations de production par voie microbienne et d'extraction *in situ*³.

Pour cela, l'extraction réactive du 3-HP par des amines tertiaires (Trioctylamine ou TOA) et quaternaires (Aliquat 336) diluées dans du décanol, assistée par contacteur membranaire, a été mise au point. L'étude de la toxicité générée par le procédé d'extraction a montré un impact important de l'Aliquat 336 sur l'état physiologique des bactéries en comparaison à l'utilisation de décanol et TOA ou de décanol seul. De même, l'inhibition provoquée par le 3-HP et le 3-HPA sur *L. reuteri* a été caractérisée par cytométrie en flux (double marquage cFDA-IP). En parallèle, l'influence de différents paramètres opératoires (pH, vitesse d'agitation du milieu, concentration cellulaire) sur les performances de bioconversion du glycérol a été étudiée. Afin d'éviter l'accumulation de 3-HPA, un apport de glycérol en mode fed-batch a également été proposé.

¹ Bozell JJ and Petersen GR (2010) Technology development for the production of biobased products from biorefinery carbohydrates—the US Department of Energy's "Top 10" revisited. *Green Chemistry*, 12:539-554

² Dishisha T, Pereyra L, Pyo S, Britton R, Hatti-Kaul R (2014) Flux analysis of the *Lactobacillus reuteri* propanediol-utilization pathway for production of 3-hydroxypropionaldehyde, 3-hydroxypropionic acid and 1,3 propanediol from glycerol. *Microbial Cell Factories*, 13:76-85.

³ Woodley JM, Bisschops M, Straathof AJJ, Ottens M (2008) Future directions for *in-situ* product removal (ISPR). *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 83:121-123