

Production par voie microbienne et extraction in situ d'acide 3-hydroxypropionique : vers un procédés intégré couplant procédés "upstream" et "downstream"

Grégoire Burgé, Claire Saulou-Berion, Marwen Moussa, Florent Allais, Violaine Athes-Dutour, Henry-Eric Spinnler

▶ **To cite this version:**

Grégoire Burgé, Claire Saulou-Berion, Marwen Moussa, Florent Allais, Violaine Athes-Dutour, et al.. Production par voie microbienne et extraction in situ d'acide 3-hydroxypropionique : vers un procédés intégré couplant procédés "upstream" et "downstream". 11ème congrès national de la Société Française de Microbiologie (SFM 11), Mar 2015, Paris, France. 2015. hal-01565094

HAL Id: hal-01565094
https://agroparistech.hal.science/hal-01565094

Submitted on 19 Oct 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Production par voie microbienne et extraction *in situ* d'acide 3-hydroxypropionique : Vers un procédé intégré couplant procédés upstream et downstream



Grégoire BURGÉ[1,2], Claire SAULOU-BÉRION[2], Marwen MOUSSA[2], Florent ALLAIS[1,2], Violaine ATHES[2], Henry-Éric SPINNLER[2]

1 : Chaire Agro-Biotechnologies Industrielles (ABI) - AgroParisTech, 51100 Reims, France

2 : INRA-AgroParisTech, UMR 782 Génie et Microbiologie des Procédés Alimentaires, 78850 Thiverval-Grignon, France

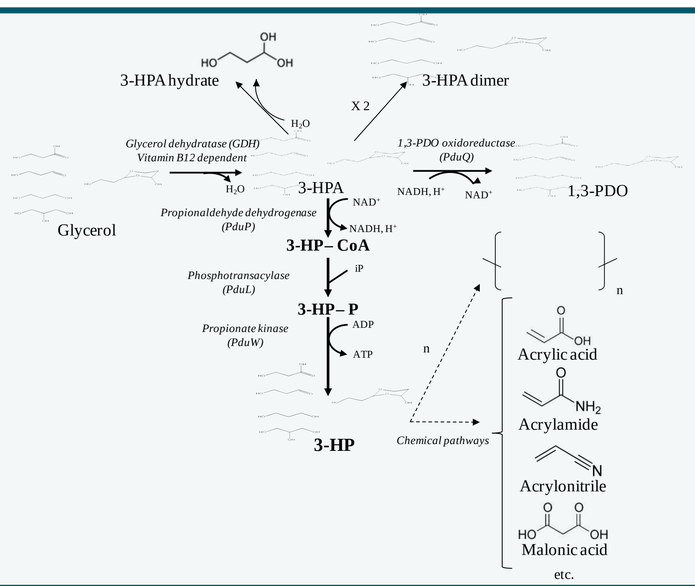
gregoire.burge@grignon.inra.fr

Introduction et contexte

- Contexte actuel de diminution des réserves de ressources fossiles : intérêt majeur porté à l'obtention de "synthons", par transformation de matières premières renouvelables
- Voie biotechnologique utilisant des micro-organismes constitue une approche pertinente
- Mais certains verrous récurrents (inhibition de l'activité métabolique, problème de stabilité des micro-organismes, performances insuffisantes des cinétiques réactionnelles, rendements de production faibles)

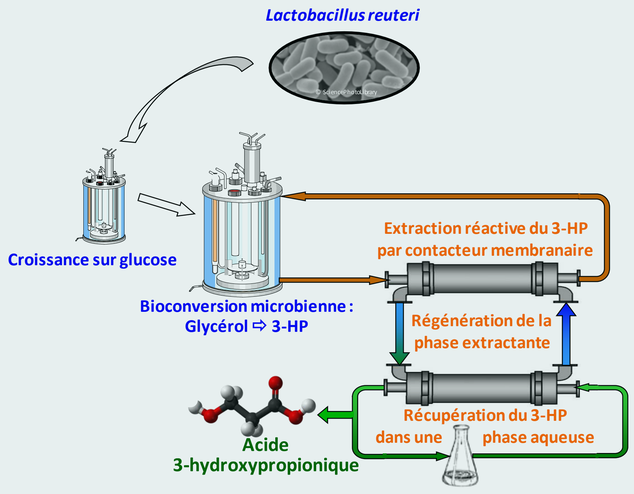
➔Pour lever ces verrous, une des stratégies envisageables, appelée "*In Situ* Product Recovery" (ISPR), consiste à coupler les opérations de production par voie microbienne et d'extraction *in situ* de la molécule d'intérêt

➔ Le projet vise à produire de l'acide 3-hydroxypropionique (ou 3-HP, un des 12 synthons d'intérêt ciblés par le DOE), par voie biotechnologique en utilisant la bactérie lactique *Lactobacillus reuteri* et à le récupérer directement par un procédé d'extraction liquide-liquide réactive assistée par contacteur à membrane



Matériel et Méthodes

Schéma du procédé couplé



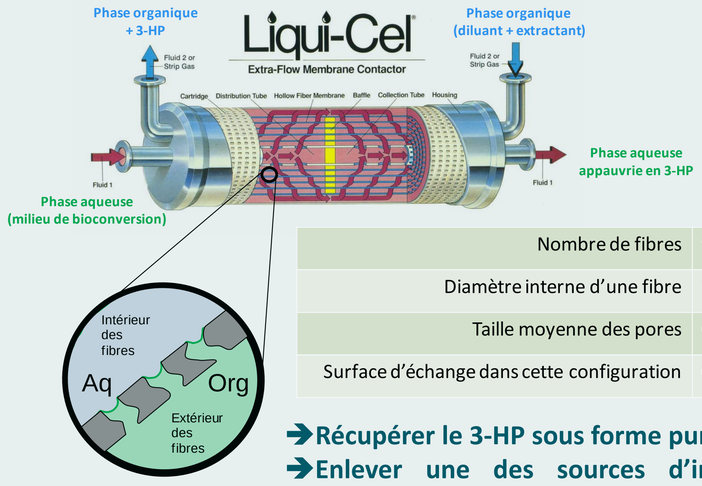
- Croissance de *L. reuteri*
5 L de MRS + 20 g/L of glucose, 37°C, anaérobie, pH 6 régulé avec KOH 10 N

- Récolte et lavage des cellules
Centrifugation 10 min, 5000 g, 4°C, dans tampon potassium-phosphate, pH 6.5

- Bioconversion du glycérol en 3-HP
2.5 L d'eau + glycérol (18 g/L), 37°C, anaérobie, 10^{10} CFU/mL, pH libre ou régulé avec KOH 10 N et HCl 5 N

- Extraction *in situ* du 3-HP
Extraction liquide-liquide réactive assistée par un contacteur à membrane dans une phase organique extractante de décanol 80 % v/v et 20 % v/v amines (TOA et/ou Aliquat 336), 25 °C

Principe de l'extraction réactive par contacteur à membrane



Nombre de fibres	9800
Diamètre interne d'une fibre	200 µm
Taille moyenne des pores	0,03 µm
Surface d'échange dans cette configuration	0,36 m^2

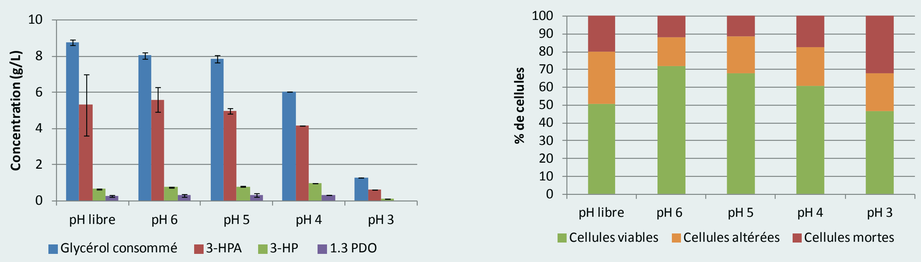
- **Avantages :**
- Extraction non dispersive
- Pas d'émulsion
- Interfaces stabilisées
- Procédé biocompatible
- Grande surface d'échange
- Module compact
- Technique peu coûteuse

➔Récupérer le 3-HP sous forme purifiée
➔Enlever une des sources d'inhibition et donc potentiellement améliorer les rendements de production

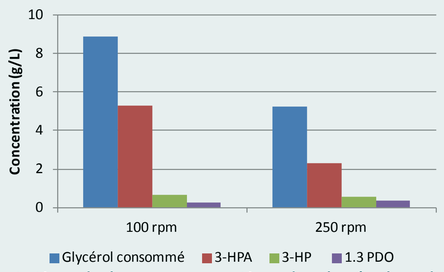
Résultats et discussion

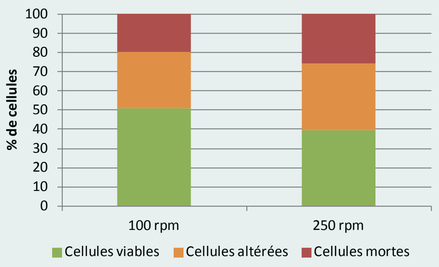
Optimisation de la bioconversion du glycérol en 3-HP

Etude de l'impact du pH du milieu de bioconversion sur les performances de production de 3-HP par *L. reuteri* (T = 2 h)



Etude de l'impact de la vitesse d'agitation du milieu sur les performances de production de 3-HP par *L. reuteri* (T = 2 h)

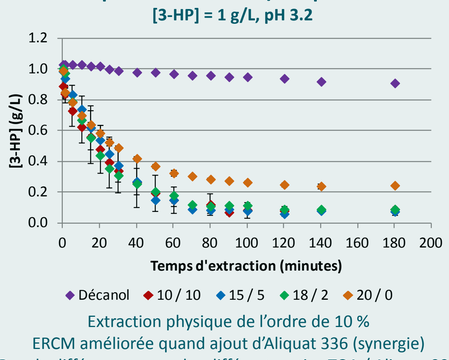




- Augmentation de la consommation du glycérol et de la production des métabolites lorsque le pH augmente
- Etat physiologique préservé lorsque le pH augmente et très affecté à pH libre
- Diminution de la consommation du glycérol et de la production des métabolites lorsque la vitesse d'agitation du milieu augmente mais meilleur rendement de production pour le 3-HP
- Pas d'impact significatif de la vitesse d'agitation sur l'état physiologique de *L. reuteri*

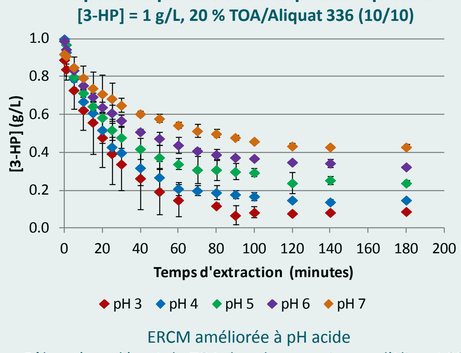
Optimisation de l'extraction réactive du 3-HP

Impact du ratio TOA / Aliquat 336
[3-HP] = 1 g/L, pH 3.2



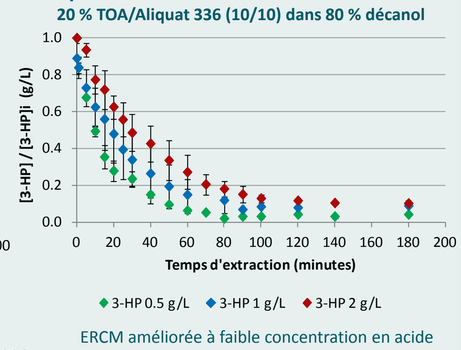
Extraction physique de l'ordre de 10 %
ERCM améliorée quand ajout d'Aliquat 336 (synergie)
Peu de différences entre les différents ratios TOA / Aliquat 336

Impact du pH initial de la phase aqueuse
[3-HP] = 1 g/L, 20 % TOA/Aliquat 336 (10/10)



ERCM améliorée à pH acide
Rôle prépondérant du TOA dans la synergie avec l'Aliquat 336

Impact de la concentration initiale en 3-HP
20 % TOA/Aliquat 336 (10/10) dans 80 % décanol



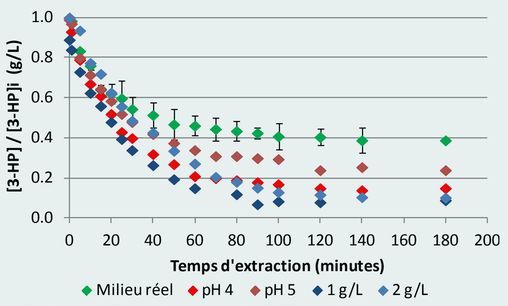
ERCM améliorée à faible concentration en acide
Extraction du 3-HP même à faible concentration

ISPR du 3-HP en milieu réel de bioconversion

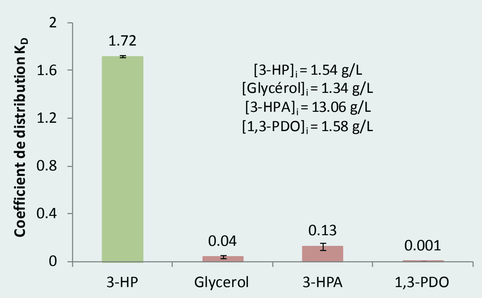
Conditions expérimentales :

- Augmentation de la viscosité de la phase organique en augmentant le part d'Aliquat 336
- Aliquat 336 potentiellement toxique pour les cellules en cas de contact
- pH initial du milieu réel = 4.5
- $[3\text{-HP}]_i$ = 1.54 g/L

➔ 18 % de TOA + 2 % Aliquat 336 dans 80 % décanol (v/v)



Seulement 61 % d'extraction du 3-HP en phase organique
Résistance au transfert dû aux macromolécules présentes dans le milieu



Diminution du KD obtenu par rapport aux tests sur milieu modèle
Sélectivité de l'ERCM

Conclusions et perspectives

Optimisation de la bioconversion
→ pH | Agitation | Concentration cellulaire
→ pH nr – 100 rpm – DO 12
Faibles rendements de production et inhibition rapide

Optimisation de l'ERCM du 3-HP
→ pH | [3-HP] | Composition phase extractante
→ pH faible – ratio TOA/Aliquat (18/2)
ERCM rapide, efficace et sélective

Résistance aux stress liés au procédé couplé
→ Métabolites | Phase organique | Contraintes mécaniques
→ Pas d'effet des contraintes mécaniques, effets du 3-HP et du 3-HPA
TOA seul peu toxique dans décanol

Premiers tests de couplage production – extraction
Bioconversion à pH non régulé, 100 rpm, DO 12
ERCM avec TOA 20 % (v/v) + décanol 80 % (v/v)