

Première partie à traiter sur une copie séparée sur 10 points : M. Nava Saucedo

- I. Malgré toutes les précautions prises, un milieu de culture a été contaminé. Après analyse et identification du microorganisme contaminant (une bactérie), on a déterminé son temps de doublement ($t_d = 34$ min) et sa concentration finale dans le milieu ($3,4 \cdot 10^7$ bactéries par mL). Supposant que la contamination ait été amorcée par une bactérie par mL, on veut connaître : 1) le taux de croissance spécifique, 2) le temps de développement et 3) le nombre de générations nécessaires pour arriver à cette concentration finale.
 - II. Réaliser un 4) diagramme de blocs (diagramme de fabrication simplifié) du procédé de fermentation suivant : La pénicilline est produite dans un fermenteur classique. Après l'avoir rempli d'une macération de grain de maïs broyés préalablement stérilisée (corn-steep liquor), on ensemence avec une culture de *Penicillium chrysogenum*. Les moisissures se développent et produisent l'antibiotique. Quand la concentration d'antibiotique est maximale, la fermentation est arrêtée ; on vide alors le fermenteur. La récupération de la pénicilline est une longue opération réalisée en plusieurs étapes qui permettent de séparer l'antibiotique des autres composants, de le purifier et de le cristalliser. On commence par filtrer le liquide afin d'en retenir les éléments solides (i.e. les mycéliums). La fraction liquide est alors traitée : On procède d'abord à une extraction par absorption sur des colonnes échangeuses d'ions. Ensuite, la pénicilline est cristallisée. Éventuellement, on modifie le produit pur obtenu en fixant à la molécule par synthèse chimique un groupement fonctionnel qui amplifiera le pouvoir antimicrobien.
 - 5) Quelle taille (en m^3) peuvent avoir les fermenteurs industriels ? 6) Qu'est-ce que le « scale-up » ? Doit-on réaliser un « scale-up » pour passer à une production dans des grands bioréacteurs ? Pourquoi ? 7) La croissance mycélienne peut-elle poser des problèmes lors de la fermentation ? Pourquoi ? 8) Quel type de métabolite est le produit obtenu ? 9) Comment qualifie-t-on le procédé de transformation d'une molécule obtenue par fermentation et ensuite modifiée par une réaction chimique ?
 - III. Dans la production industrielle de pénicilline par *Penicillium chrysogenum*, lors d'une fermentation conventionnelle on connaît les paramètres suivants : nombre de générations = 4,32 ; taux de croissance spécifique = $0,11 \text{ h}^{-1}$; inoculum = $0,5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; la phase de latence est pratiquement inexistante ; la productivité est de $0,008 \text{ g de pénicilline g de biomasse}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ et la durée du procédé de fermentation est de 60 h.
- Sachant que la synthèse d'une molécule comme la pénicilline débute à la fin de phase exponentielle. 10) Calculer le temps nécessaire en heures pour que la synthèse de pénicilline commence, 11) la quantité de biomasse en $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ atteinte en phase stationnaire et 12) la quantité de pénicilline produite en $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. 13) Réaliser un graphique schématisant la cinétique de production. 14) Qu'est ce que l'idiophase ? 15) Qu'est ce que la trophophase ?

Deuxième partie à traiter sur une copie séparée sur 10 points : Mme Gosselin

Marinobacter hydrocarbonoclasticus est une bactérie découverte en mer Méditerranée près d'une raffinerie de pétrole. C'est un bacille à Gram négatif incapable de sporulation. En moyenne, cette bactérie mesure entre $0,3\text{-}0,6 \mu\text{m}$ de diamètre et $2\text{-}3 \mu\text{m}$ de long. Elle est halophile, psychrophile, oligotrophe et alcalophile.



Fig. *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* en microscopie électronique à balayage.

- 1) Définissez les termes halophile, psychrophile, oligotrophe et alcalophile. (2 points)
 - 2) D'après vos connaissances, comment un organisme psychrophile peut supporter de telles conditions environnementales ? Focalisez vos explications sur la membrane de la bactérie et sur la structure de ses protéines. (2 points)
 - 3) D'après vos connaissances, comment un organisme halophile peut supporter de telles conditions environnementales ? Focalisez vos explications sur le cytoplasme de la bactérie et sur la stabilité de ses protéines. (2 points)
- Marinobacter hydrocarbonoclasticus* est capable de dégrader les alcanes cycliques et non cycliques. Étant donné que les hydrocarbures pétroliers sont souvent des alcanes non cycliques, cette bactérie est capable de les dégrader et de les utiliser à la fois comme sources de carbone et d'énergie. Par conséquent, *M. hydrocarbonoclasticus* est un agent potentiel de bioremédiation.
- 4) Comment appelle-t-on une espèce utilisant des alcanes comme sources de carbone et d'énergie ? (1 point)
- Durant sa croissance sur les alcanes, *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* forme un biofilm à l'interface alcane/eau. La formation du biofilm serait un processus d'adaptation pour l'utilisation des alcanes à longue chaîne qui sont des composés particulièrement insolubles et hydrophobes.
- 5) Qu'est-ce qu'un biofilm ? De quoi est-il constitué ? Comment se développe-t-il ? En quoi est-ce un avantage en terme de bioremédiation des hydrocarbures pétroliers ? (3 points)