

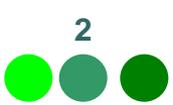
# Coupler séparation et bioconversion/fermentation: vers l'amélioration des performances en biotechnologies

**Marwen Moussa**\*<sup>1</sup>, Claire Saulou-Bérion<sup>1</sup>, Ioan-Cristan Trelea<sup>1</sup>,  
Henry-Eric Spinnler<sup>1</sup>, Isabelle Meynial-Salles<sup>2</sup>, Violaine Athès<sup>1</sup>

**1 GMPA UMR 782 INRA-AgroParisTech**

**2 LISBP UMR 792 INRA-INSA**

[marwen.moussa@agroparistech.fr](mailto:marwen.moussa@agroparistech.fr)



2

# Stratégie de récupération *in situ* de molécules produites par voie microbienne

## Couplage de procédés upstream-downstream : des avantages à saisir...

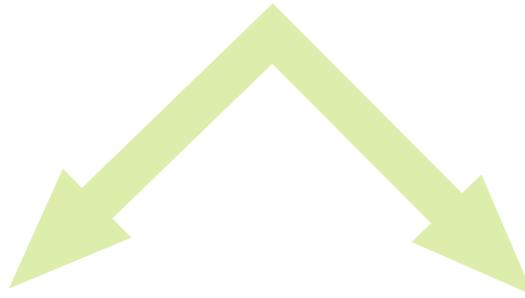
- **Lever des inhibitions dues aux molécules produites par les micro-organismes :**
  - ↗ productivités, ↗ rendements
  - ↘ volumes d'effluents à traiter, ↘ coûts downstream
- **ISPR** appliquée avec succès pour la production de composés d'arôme, acides organiques, bioalcools, etc... avec diverses technologies (littérature abondante)
- **ISPR** considérée comme technologie de rupture en Biotechnologie Industrielle à l'horizon 2021\*

\* *Smither & Rapra (2011)*

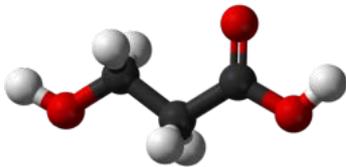
## ...et des verrous à lever

- **Encore peu de données sur efficacité, maturité et coûts**
- Mise en balance avec la **complexité d'un procédé couplé** et le coût d'équipements spécifiques
- **Verrous technologiques** : freins à l'implantation industrielle de certains procédés

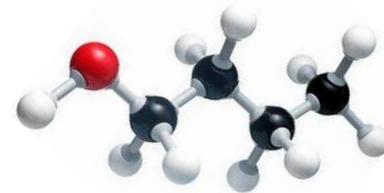
## Deux illustrations (travaux en cours)



Couplage 1 : bioconversion  
et extraction réactive pour  
la production d'un  
**acide organique**

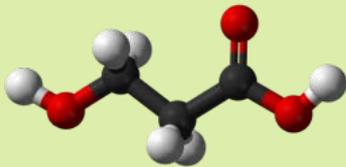


Couplage 2 : fermentation et  
pervaporation pour la  
production d'un  
**bialcool**



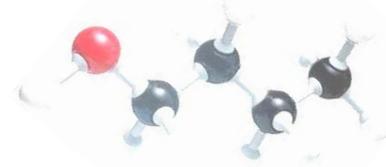
## Deux illustrations (travaux en cours)

Couplage 1 : bioconversion et extraction réactive pour la production de  
**l'acide 3-hydroxypropionique**



Thèse G. Burgé (2013-2016)  
Thèse F. Chemarin (2014-2017)

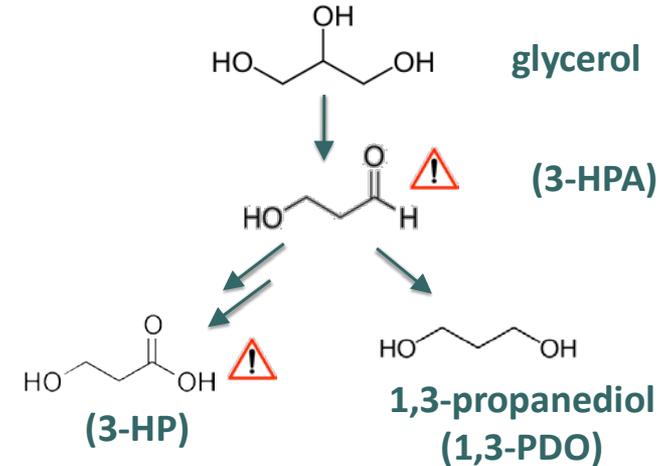
Couplage 2 : fermentation et pervaporation pour la production d'un  
**bialcool**



# Production du 3-HP par bioconversion du glycérol :

## Verrous actuels

- *Lactobacillus* - *L. reuteri* – producteur naturel de 3-HP à partir de glycérol, mais à faible productivité (Dishisha *et al*, 2014; Burgé *et al*, 2015)
- 3-HP et son intermédiaire métabolique, le 3-hydroxypropionaldehyde (3-HPA) : inhibiteurs de *L. reuteri* (Burgé *et al*, 2015)

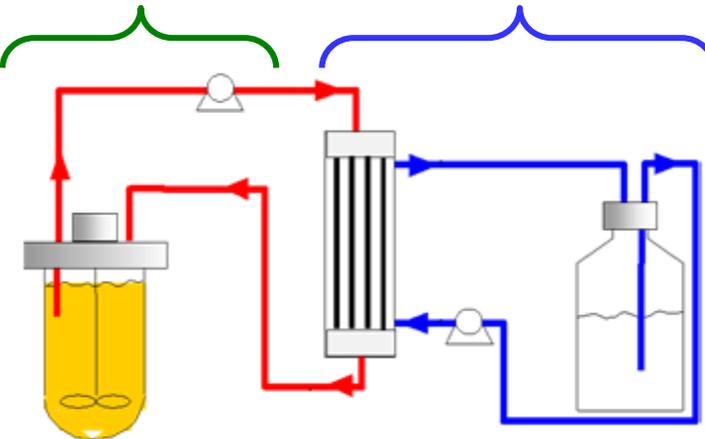


## ISPR

Stratégie pour lever l'inhibition, améliorer les performances de la bioconversion et extraire l'acide 3-HP

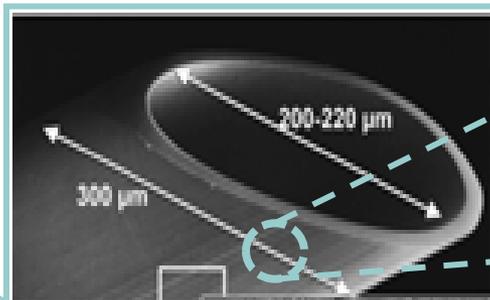
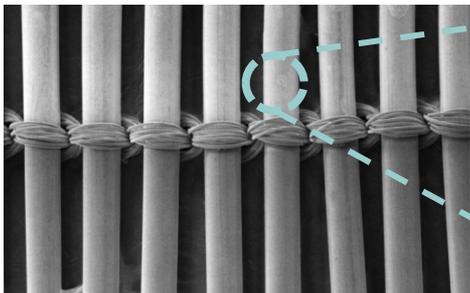
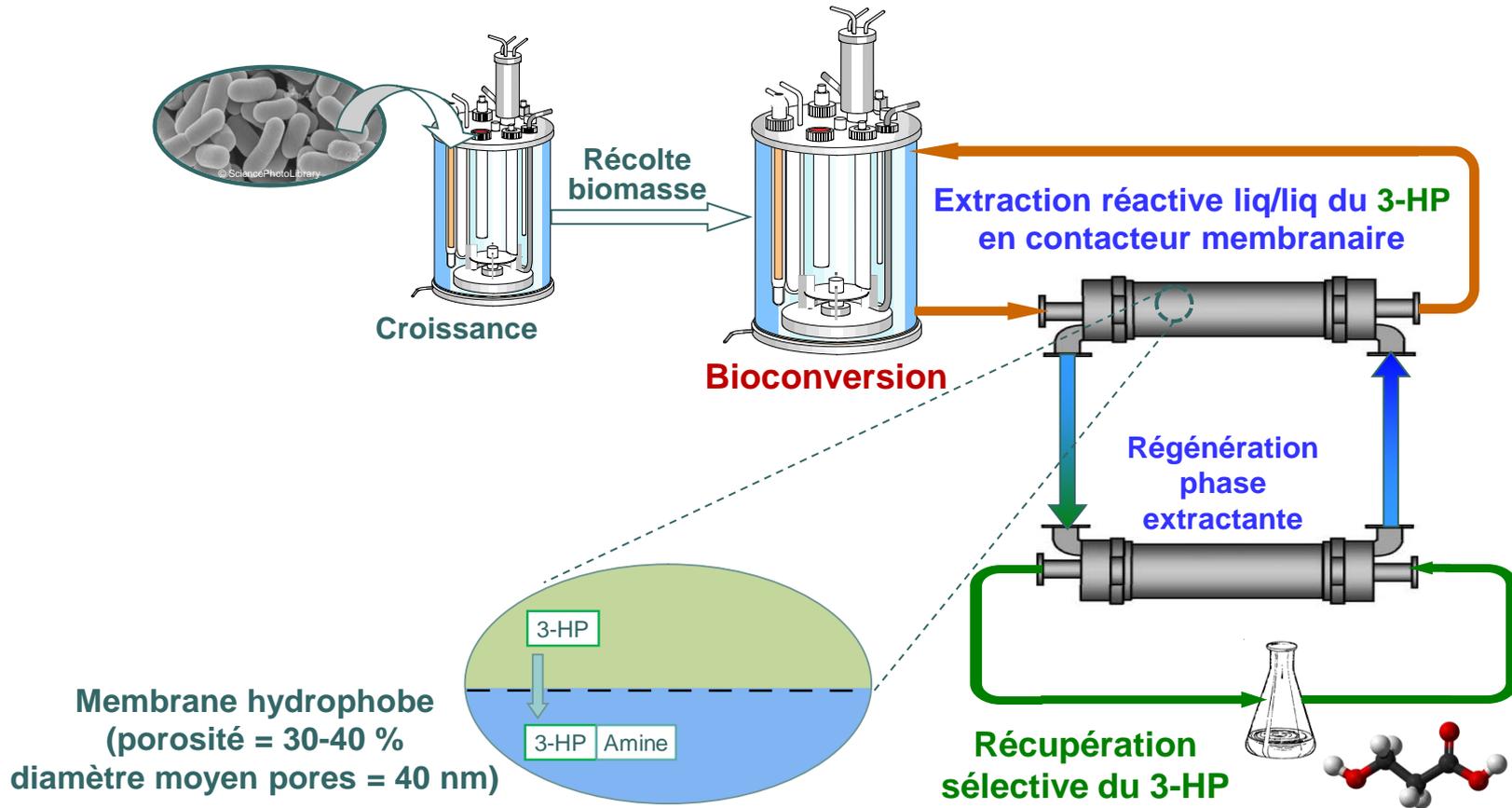
**Intensification du bioprocédé**

## Bioconversion & Extraction réactive



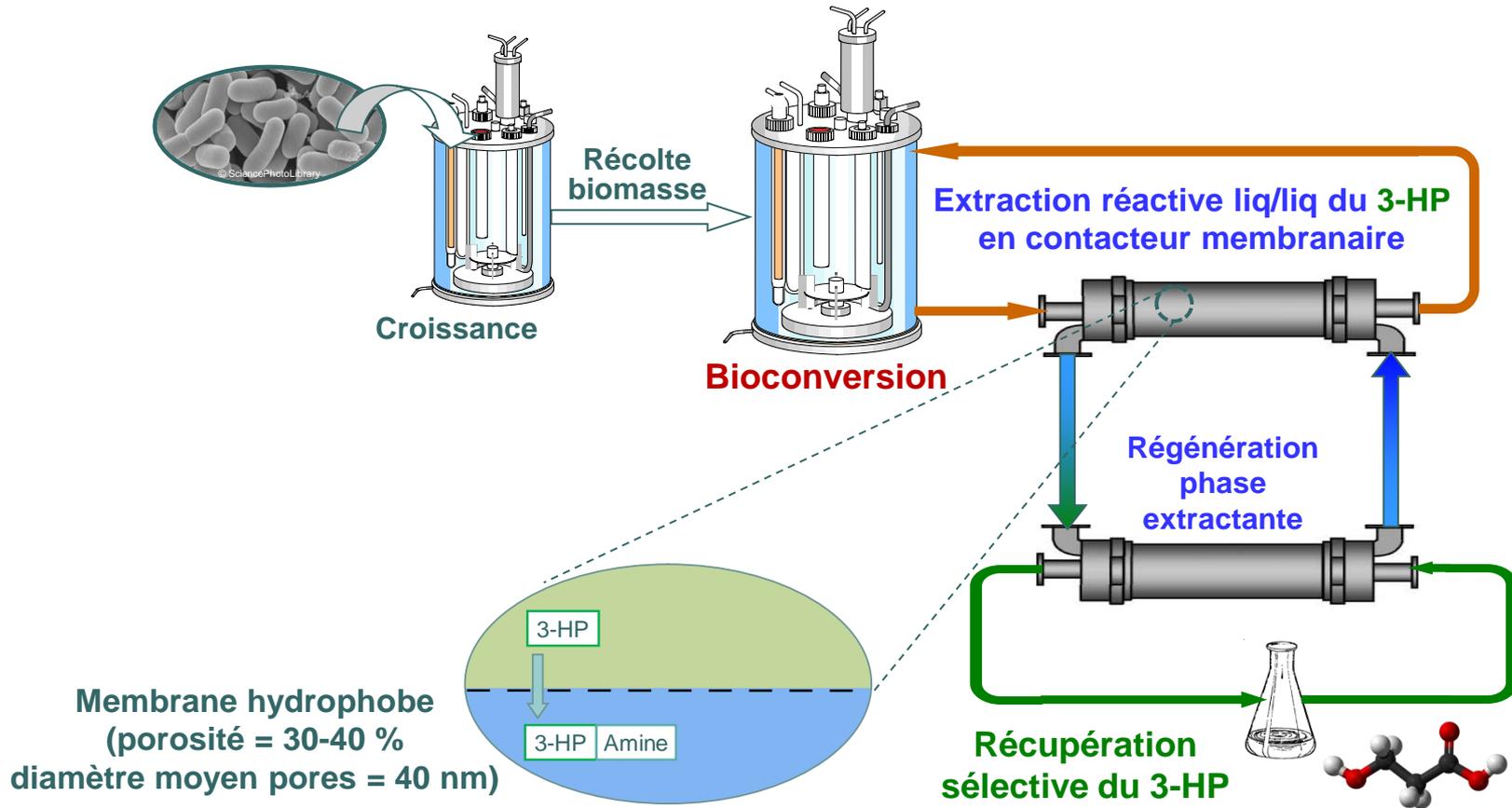
# Production du 3-HP par bioconversion du glycérol :

## *Schéma de principe du procédé intégré*

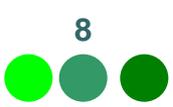


# Production du 3-HP par bioconversion du glycérol :

## Schéma de principe du procédé intégré



- Comment améliorer les **performances de bioconversion** par la conduite du procédé?
- Quelle incidence du procédé intégré sur l'**état physiologique** des microorganismes?
- Quels sont les **mécanismes** de l'extraction réactive du 3-HP en **milieu complexe** de bioconversion?
- Comment **prédire** ses performances (modélisation des équilibres **réactifs** et phénomènes **cinétiques**)?

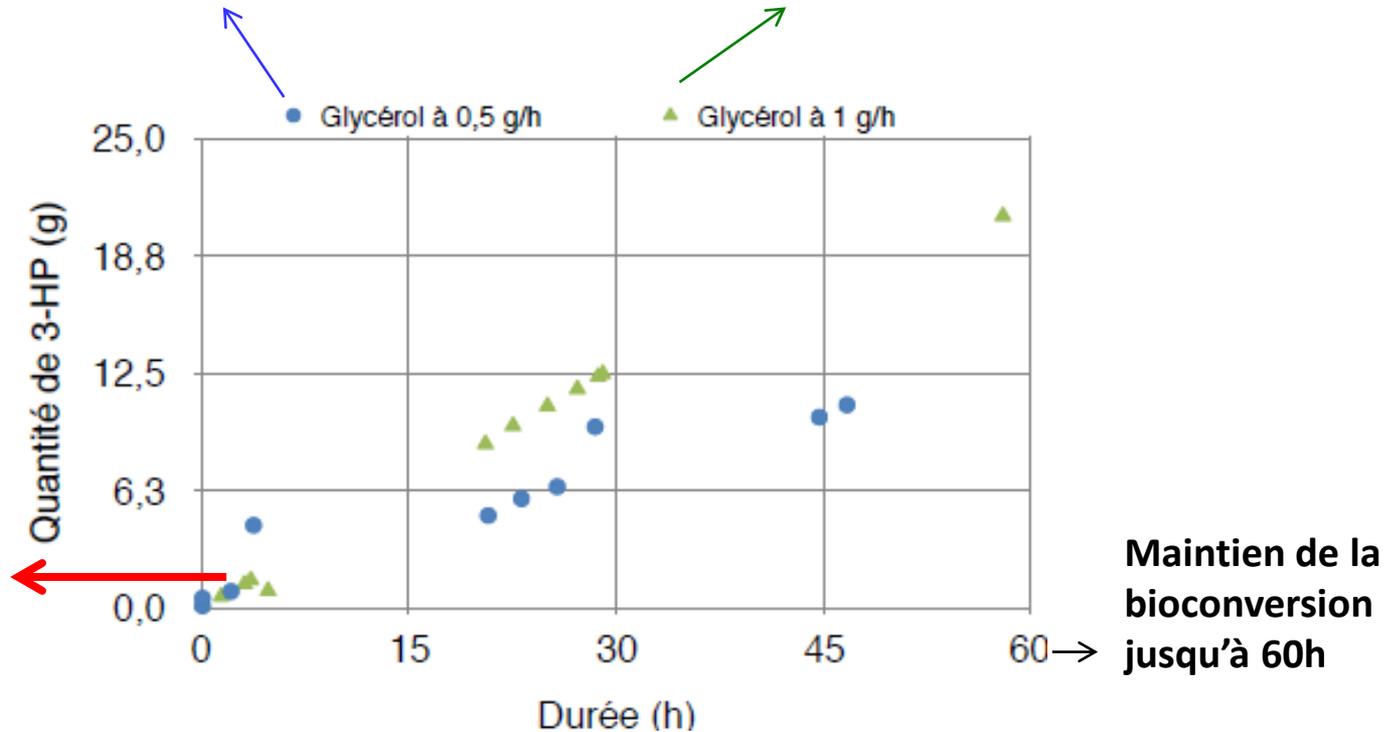


# Production du 3-HP par bioconversion du glycérol :

*Bioconversion en mode fed-batch: des performances prometteuses*

$m_{3HP} = 12 \text{ g}$ , soit  $8 \text{ g/L}$

$m_{3HP} = 20 \text{ g}$ , soit  $12 \text{ g/L}$



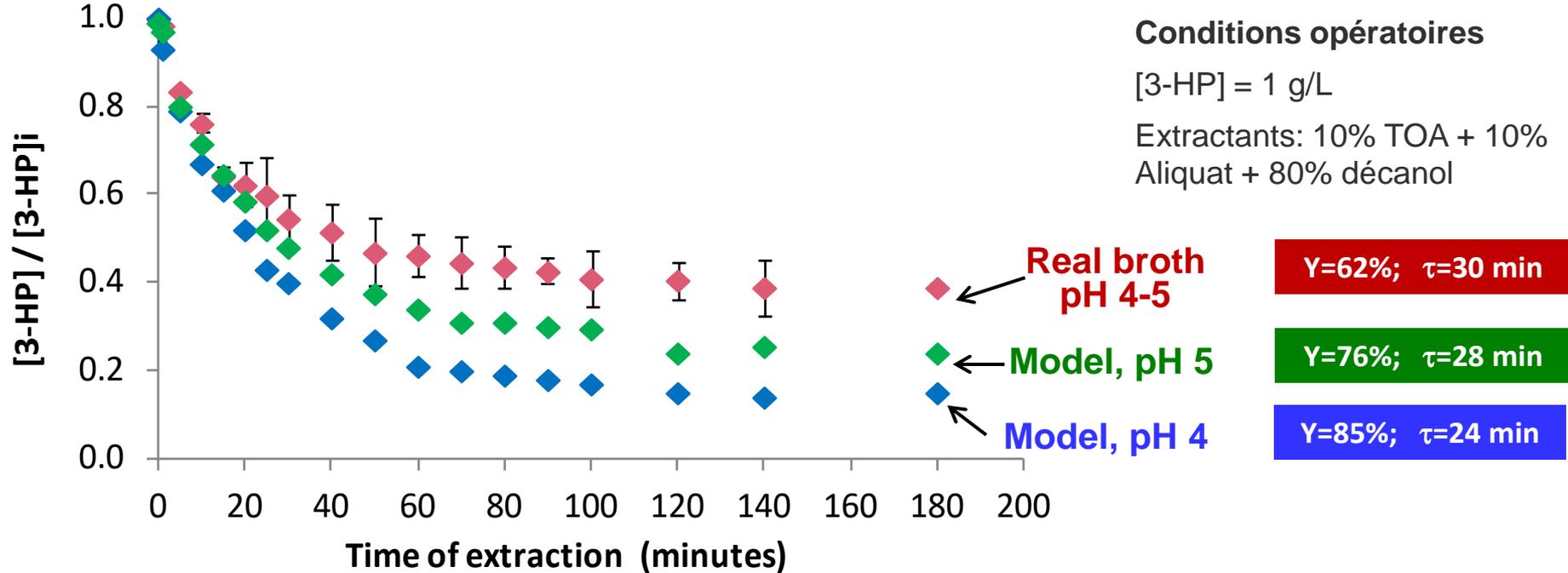
- Le mode fed-batch réduit l'accumulation de 3-HPA (<CMI)



Amélioration notable des performances fed-batch vs. batch

# Production du 3-HP par bioconversion du glycérol :

## *Extraction réactive : milieu modèle vs. milieu de bioconversion*



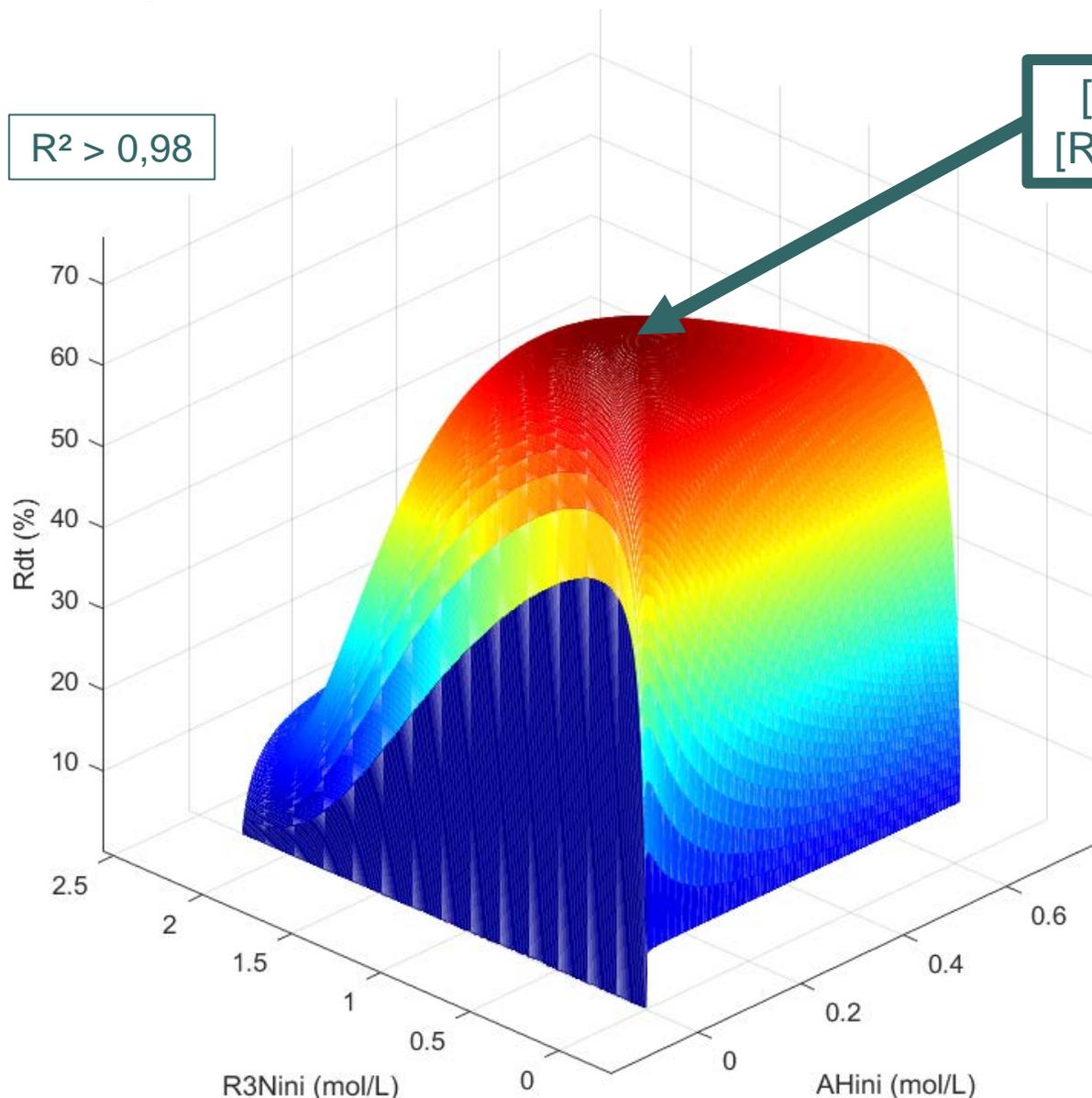
Burgé et al (2016); Moussa et al (2016)

→ Cinétique plus rapide et rendement plus élevé de l'extraction pour le milieu modèle vs. milieu réel.

Rôle des constituants du milieu de bioconversion: protéines, acides aminés, anions or biosurfactants → **compétition vis-à-vis de l'extraction du 3-HP** et adsorption à l'interface entre phases aq. et org.

# Production du 3-HP par bioconversion du glycérol :

## Extraction réactive : modélisation



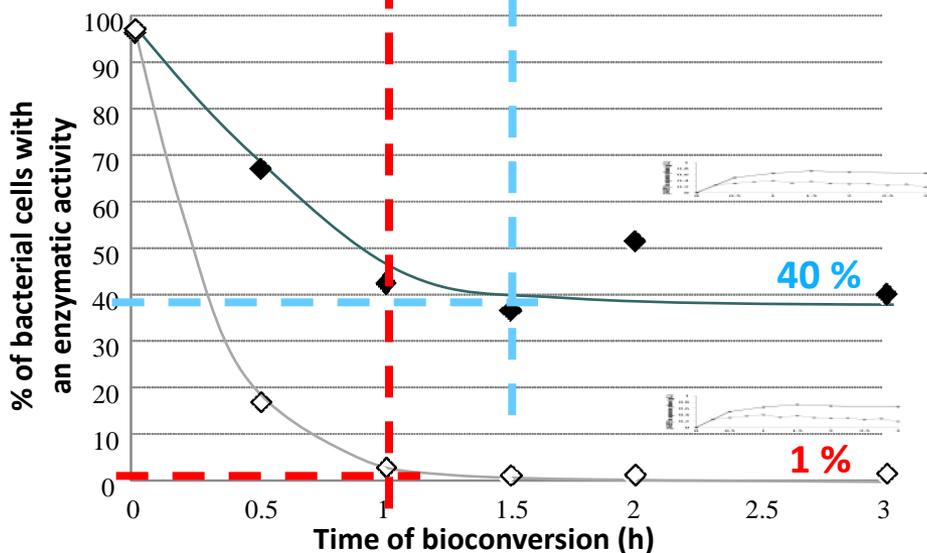
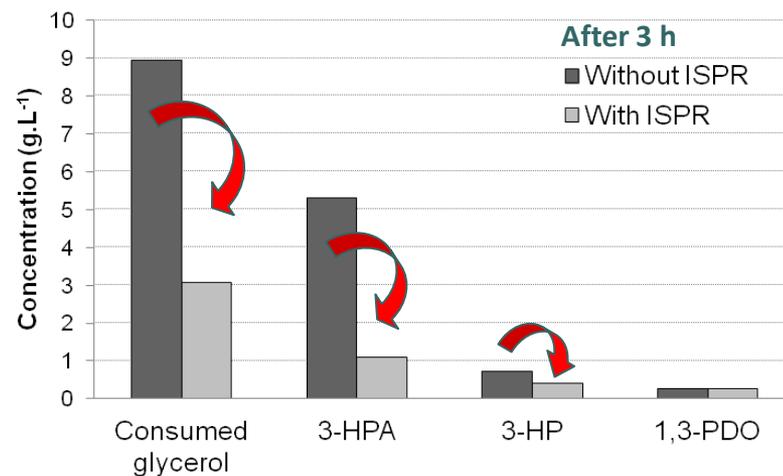
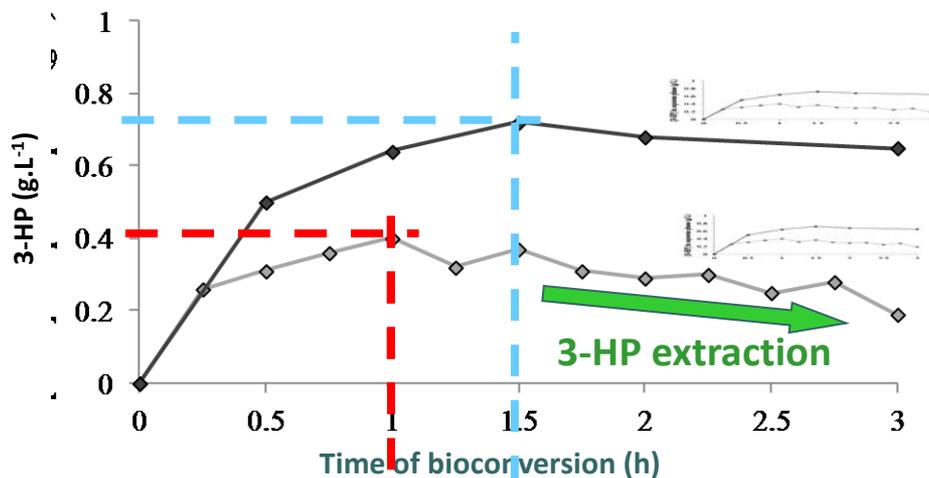
Modèle rend bien compte des variations non monotones

Modèle permet de prédire correctement le rendement d'extraction

Modèle donne des valeurs de constantes d'équilibre pour les cinétiques

# Production du 3-HP par bioconversion du glycérol :

## Bioconversion extractive : premiers résultats



### Hypothèses explorées:

Effet cumulé de plusieurs types de stress physiologique

→ nécessité de les identifier et découpler leurs contribution

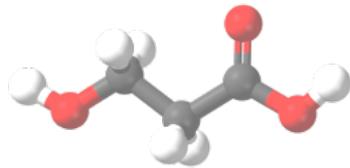
Comment les limiter?

→ Améliorer la biocompatibilité

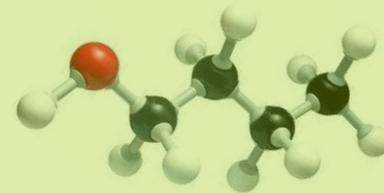
## Deux illustrations (travaux en cours)



Couplage 1 : bioconversion et extraction réactive pour la production de l'acide 3-hydroxypropionique



Couplage 2 : fermentation et pervaporation pour la production du ***n*-butanol**



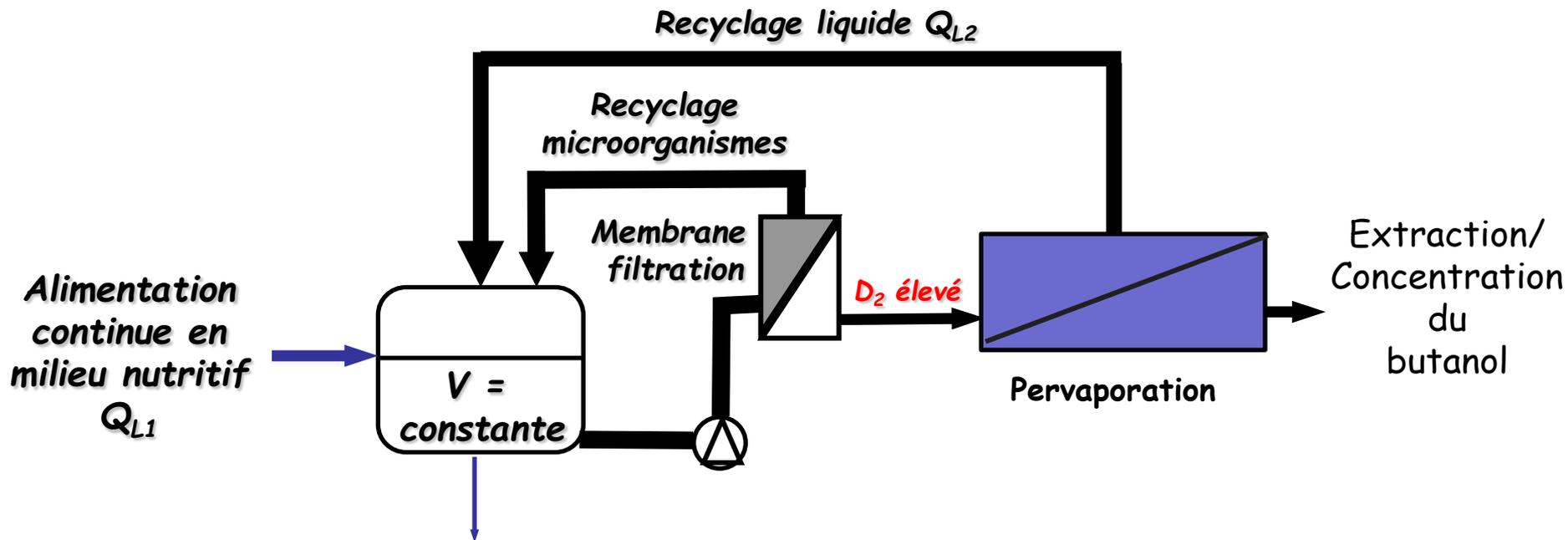
Projet ButExt (2016-2018)

Développement d'un procédé intégré continu de fermentation/extraction pour la production anaérobie de *n*-butanol à hauts titre, rendement et productivité

UMR LISBP-UMR GMPA  
Financement 3BCAR

# Couplage fermentation et pervaporation pour la production du *n*-butanol

## Schéma du procédé intégré



- Quelle **conduite du bioréacteur à membrane**?
- Quelles **membranes de pervaporation** sont compatibles et performantes?
- Quelle **conduite du procédé intégré**?

# Couplage fermentation et pervaporation pour la production du *n*-butanol

*BRM avec recyclage de cellules: premiers résultats*

## Culture continue en chemostat

$$r_{\text{butanol moyenne}} = 0,18 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$$

$$q_{\text{Glucose moyenne}} = 0,49 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$$

$$v_{\text{ButOH moyenne}} = 0,17 \text{ h}^{-1}$$

## Culture continue avec recyclage des cellules (BRM)

$$r_{\text{butanol moyenne}} = 0,36 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$$

$$q_{\text{Glucose moyenne}} = 1,4 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$$

$$v_{\text{ButOH moyenne}} = 0,19 \text{ h}^{-1}$$

↗ Vitesse de production de butanol (+50%)

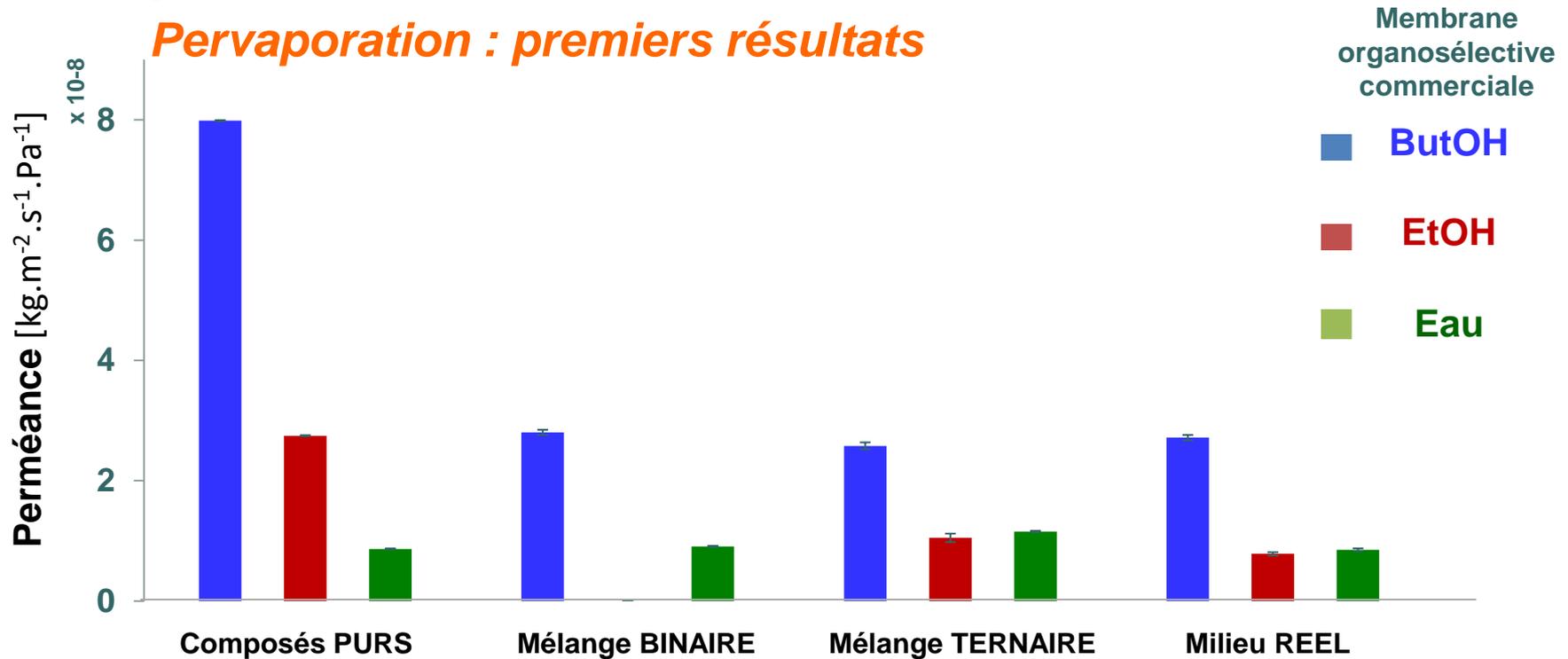
↗ Vitesse de consommation de glucose (+85%)

Vitesse spécifique de production de butanol: équivalente pour les deux configurations

*Tests à refaire en modifiant la membrane de filtration*

# Couplage fermentation et pervaporation pour la production du *n*-butanol

## Pervaporation : premiers résultats



→ **Etude des mécanismes de transfert** : caractérisation des propriétés intrinsèques de **7 membranes** de pervaporation étudiées sur des milieux **modèles** et **réels** (complexes).

- Mise en évidence de phénomènes **d'interactions** intermoléculaires; molécules-membrane
- Identification de membranes aux performances prometteuses (**conservées en milieu réel de fermentation**).

→ Poursuite des travaux :

- Etudier la stabilité des performances membranaires sur le **long terme**
- **Couplage** fermentation-pervaporation

# Conclusion et perspectives

## Innovation en Biotech

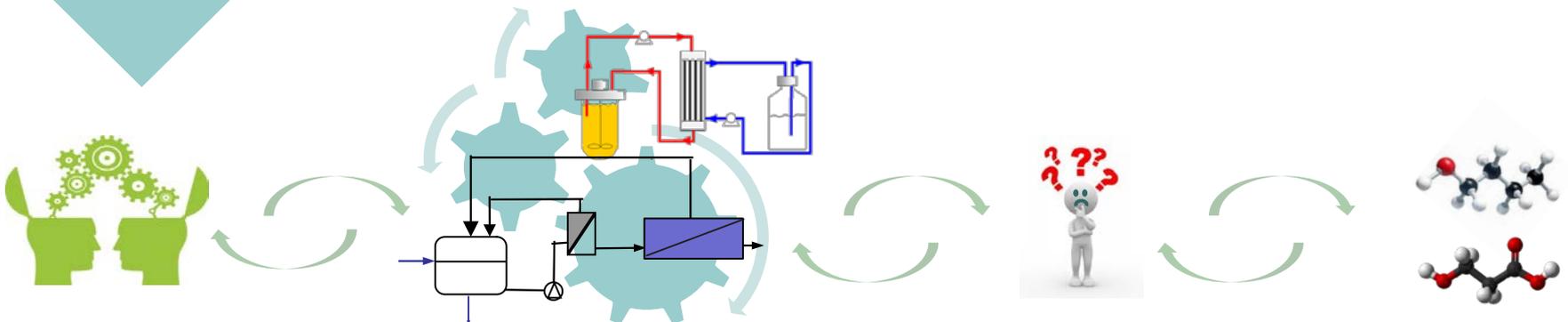
- **Intégration de procédés upstream-downstream : stratégie porteuse d'opportunités**
- **De nombreuses questions scientifiques nouvelles**
- **De nombreux verrous techniques sont à résoudre**

## Approche holistique

- **Vers l'optimisation multi-objectifs**
- **Vers une approche intégrée multi-échelles**

## Empreinte environnementale

- **Quelles méthodologies sont adaptées?**
- **Quelles sont les données pertinentes à collecter?**
- **Généricité des données?**

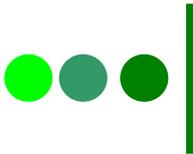


# Merci de votre attention



Equipe BioMiP





# Références bibliographiques

- Burgé G., Moussa M., Saulou-Bérion C., Chemarin F., Kniest M., Allais F., Spinnler H.E., Athès V. (2017). Towards an extractive bioconversion of 3-hydroxypropionic acid: Study of inhibition phenomena. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. DOI: 10.1002/jctb.5253
- Burgé G., Chemarin F., Moussa M., Saulou-Bérion C., Allais F., Spinnler H.E., Athès V., (2016). Reactive extraction of bio-based 3-hydroxypropionic acid assisted by hollow-fiber membrane contactor using TOA and Aliquat 336 in n-decanol. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 91: 2705–2712
- Chemarin F., Moussa M., Chadni M., Pollet B., Lieben P., Allais F., Trelea I.C., Athès V. (2017). New insights in reactive extraction mechanisms of organic acids: an experimental approach for 3-hydroxypropionic acid extraction with tri-n-octylamine. *Separation and Purification Technology* (179) 523–532
- Chemarin F., Moussa M., Allais F., Athès V., Trelea I.C. (In Pres). Complexation and solvation modeling to predict equilibrium states for reactive extraction of organic acids with amines: comparison of 2 mechanistic models in the case 3-hydroxypropionic acid
- Moussa M., Burgé G., Chemarin F., Bounader R., Saulou-Bérion C., Allais F., Spinnler H.E., Athès V. (2016). Reactive extraction of 3-hydroxypropionic acid from model aqueous solutions and real bioconversion media. Comparison with its isomer 2-hydroxypropionic (lactic) acid. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 91: 2276-2285.
- Smithers-Rapra, Ten-Year Forecast of Disruptive Technologies in Industrial Biotechnology to 2021 (2011).