

ORDRE DES INGÉNIEURS DU QUÉBEC

SESSION DE MAI 2015

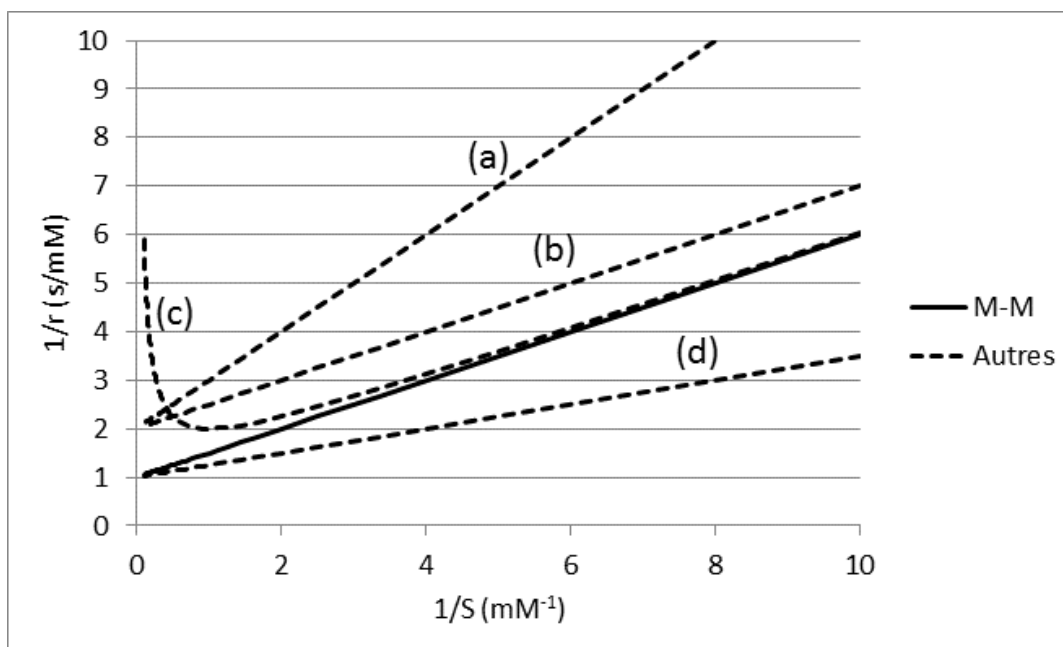
- Toute documentation permise
- Calculatrice: modèles autorisés seulement
- Durée de l'examen: 3 heures
- Une (1) feuille millimétrée requise

14-AL-B2 Génie biochimique

QUESTION 1 (4X5 = 20 points) Types de cinétique

Le graphe ci-dessous représente l'inverse de la vitesse de réaction (r) en fonction de l'inverse de la concentration en réactif (S) pour 5 types différents de cinétique enzymatique: Michaelis-Menten (M-M), inhibition compétitive (IC), inhibition non-compétitive (INC), inhibition incompétitive (II) et inhibition par le substrat (IS). La cinétique de Michaelis-Menten est représentée par un trait plein, les 4 autres cinétiques par des traits pointillés. Relier les courbes identifiées sur le graphe par les lettres (a) à (d) aux types de cinétiques: IC, INC, II et IS:

- a) _____
b) _____
c) _____
d) _____



Note: on supposera que les constantes r_{\max} et K_s de toutes ces cinétiques sont de valeurs identiques.

QUESTION 2 (5+5+5+5+5+5 = 30 points): Détermination de constantes cinétiques (feuille de papier millimétrée requise)

Des vitesses de réaction enzymatique (r) ont été mesurées pour différentes concentrations en réactifs (S) par des essais en taux initiaux. Les résultats de ces expériences sont tabulés ci-dessous.

S (mM)	r (mM/min)
1367	89
317	87
173	63
34	53
16	40
4	34
2	22

Supposant que cette enzyme se comporte selon une cinétique de type Michaelis-Menten, évaluer aussi précisément que possible les 2 constantes de cette relation par trois méthodes:

- Lineweaver-Burke.
- Eadie-Hofstee.
- Hanes-Woolf.
- Laquelle de ces méthodes donne la meilleure évaluation à votre avis et pourquoi?
- Pourriez-vous suggérer une meilleure méthode? Si oui, quelle serait-elle et pourquoi?
- Si la concentration enzymatique lors de ces essais était de 1 μM , quel serait le taux de renouvellement (turnover rate) de cette enzyme?

QUESTION 3 (5+10+10+5 = 30 points): Croissance en cuvée

Vous allez mener une fermentation avec un micro-organisme dont vous connaissez très bien le métabolisme. Ce micro-organisme croît avec une cinétique de type logistique, dont la constante de croissance, $k = 0,4 \text{ h}^{-1}$, et produit un antibiotique selon la relation de Luedeking-Piret dont les constantes sont: $\alpha = 0,1$ et $\beta = 0,04 \text{ h}^{-1}$. Vous savez également que les effets de latence, de maintenance et de mortalité peuvent être négligés pour la durée utile de la fermentation et donc que le rendement cellules/substrat est constant, $Y_{x/s} = 0,3$. Vous démarrez une fermentation cuvée dans un bioréacteur de 1000 L, avec des concentrations initiales de micro-organisme de 0,1 g/L et de substrat limitant de 20 g/L.

- Calculez la densité cellulaire maximale qui sera atteinte durant cette fermentation.
- Calculez les concentrations cellulaire et d'antibiotique qui seront atteintes après 12h, à mi-chemin de la fermentation.
- Calculez les concentrations cellulaire et d'antibiotique qui seront atteintes à la fin de la fermentation, soit après 24 h suivant l'inoculation.
- Combien de cuvées de 24 h devront être réalisées par année pour produire 1 tonne (1000 kg) d'antibiotique par an?

Note: La relation logistique: $dX/dt = k * X * (1 - X/X_{\max})$

La relation de Luedeking Piret: $dP/dt = \alpha * dX/dt + \beta * X$

Où t : temps; X et P : concentrations en micro-organismes et en antibiotique.

QUESTION 4 (5+5+5+5 = 20 points): Stérilisation d'un bioréacteur

Vous souhaitez amener la production décrite en (3) à l'échelle de 1000 m³. Pour ce faire, vous devez vous assurer d'un très haut niveau de stérilisation pour assurer un taux de contamination de vos cuvées minimal. Le contaminant biologique principal de ce procédé est l'endospore de la bactérie *B. stearothermophilus*, dont les coefficients de la loi d'Arrhénius pour leur stérilisation sont $A = 9,50E37 \text{ min}^{-1}$ et $E_a = 290 \text{ kJ/mole}$. La concentration naturelle de ces spores avant stérilisation est de l'ordre de $X_0 = 1E4 \text{ spores/L}$. On vous demande de réduire ce niveau pour que le risque de contamination de chaque cuvée soit inférieur à 1%.

a) Quel est le taux de stérilisation (X/X_0) requis pour atteindre l'objectif décrit?

En supposant que vous pouvez appliquer une température de stérilisation de 121 °C:

b) Quel serait la valeur de la constante cinétique de stérilisation (un phénomène du premier ordre) à cette température?

c) Quel serait le temps requis pour atteindre le taux de stérilisation demandé?

d) En supposant que le bioréacteur ne peut atteindre que 100 °C, quel serait alors le temps de stérilisation requis pour obtenir un taux de stérilisation identique?

Note:

- Cinétique de stérilisation: $dX/dt = -k_d \cdot X$
- Loi d'Arrhénius: $k_d = A \cdot e^{-E_a/(R \cdot T)}$
- 0 °C = 273,15 K
- $R = 8,314 \text{ J/(K} \cdot \text{mole)}$