ORDRE DES INGÉNIEURS DU QUÉBEC

SESSION DE NOVEMBRE 2018

- Toute documentation permise
- Calculatrice : modèles autorisés seulement
- Durée de l'examen : 3 heures
- Quatre (4) feuilles millimétrées requises

16-CH-A7 Génie biochimique (total: 100 points)

QUESTION 1 (5+5+5+5+5+5 = 30 points): Comparaison de différentes méthodes pour déterminer les paramètres cinétiques d'une enzyme (papier millimétré requis)

Des vitesses de réaction enzymatique (r, en mM/min) ont été mesurées pour différentes concentrations en substrat limitant (S, en mM) par des expériences de taux initiaux. Les résultats de ces expériences sont montrés ci-dessous.

S (mM)	r (mM/min)
10	129
21	201
98,0	240
206,0	318
1040	375
1900	519
8200	531

En supposant que cette enzyme obéit à une cinétique de type Michaelis-Menten, évaluez aussi précisément que possible les deux paramètres de cette relation cinétique par trois méthodes différentes:

a) Lineweaver-Burke.

b) Eadie-Hofstee.

c) Hanes-Woolf.

d) À partir de ces résultats, ainsi que vos connaissances générales sur le sujet, identifiez la méthode qui donne les résultats les plus précis et justifiez votre réponse.

e) Pourriez-vous suggérer une autre méthode d'estimation des paramètres cinétiques et si oui laquelle? Justifiez votre réponse.

f) Si la concentration enzymatique durant ces expériences était de 10 µM, quel serait la valeur de l'activité de cette enzyme?

QUESTION 2 (10 + 10 + 10 = 30 points): Cinétique enzymatique à 2 substrats limitants (papier millimétré requis)

Une enzyme est sujette à l'effet de 2 substrats limitants, S_1 et S_2. La cinétique supposée de cette enzyme est du type Michaelis-Menten combiné :

$$r = \frac{r_{\max} S_1 S_2}{(K_1 + S_1)(K_2 + S_2)}$$

Par des expériences de taux initiaux, la vitesse de réaction r (mM/min) a été mesurée pour des séries d'expériences où, tour à tour, les concentrations en S_1 (mM) et en S_2 (mM) ont été conservées constantes. L'ensemble des résultats obtenus est tabulé ci-dessous :

S_1 (mM)	S_2 (mM)	r (mM/min)
1	50	0,56
2	50	0,95
5	50	1,67
10	50	2,22
25	50	2,78
10	5	0,56
10	10	0,95
10	25	1,67
10	100	2,67

À partir de ces résultats, déterminez toutes les constantes cinétiques (r_{max}, K_1, K_2)

a) À partir des résultats obtenus lorsque S_2 est constante, déterminez K_1

b) À partir de tous les résultats obtenus lorsque S_1 est constante, déterminez K_2

c) Expliquez, développement mathématique à l'appui, la méthode par laquelle vous allez déterminer r_{max} et obtenez la valeur de ce paramètre.

QUESTION 3 (4+8+4+4+4 = 24 points): Fermentation en continu (papier millimétré requis)

Un procédé de fermentation est mené en réacteur continu parfaitement agité (continuous stirred tank reactor, CSTR), à différents taux de dilution (D, h^{-1}). Pour chaque taux de dilution, un temps suffisamment grand est laissé à la fermentation pour atteindre le régime permanent, puis un échantillon est prélevé et les concentrations en substrat résiduel (S, g/L) et en micro-organisme (X, g/L) à la sortie du bioréacteur sont mesurées. Les valeurs obtenues, pour différentes valeurs de D, et une valeur de S à l'entrée du bioréacteur, S_{in} = 50 g/L, sont :

D (h^{-1})	S (g/L)	X(g/L)
0,00	0	15
0,20	2,5	14
0,40	6,7	13
0,60	15	11
0,80	40	3

À partir de ces résultats, déterminez:

a) Le type de cinétique de croissance du micro-organisme.

b) Les paramètres de ce modèle cinétique.

c) Le coefficient de rendement biomasse sur substrat ($Y_{X/S}$).

d) Le taux de dilution de lavage ($D_{washout}$)

e) Dans le cas où le micro-organisme formerait un biofilm sur les parois du bioréacteur, esquissez l'effet que ce phénomène aurait sur la courbe de X et S en fonction de D.

QUESTION 4 (2 + 3 + 3 + 3 + 5 = 16 points): Fermentation en cuvée (papier millimétré requis)

On vous fournit les données suivantes pour l'évolution en fonction du temps des concentrations en microorganismes, en substrat limitant et en produit, issues d'une fermentation en cuvée (batch) d'un microorganisme qui produit une molécule prometteuse :

t (h)	X (g/L)	S (g/L)	P (g/L)
0	0,1	60	0,0
1	0,1	60	0,0
4,3	3,1	54	0,9
5,0	6,1	48	1,8
5,7	12,1	36	3,6
6,2	18,1	24	5,4
6,7	24,1	12	7,2
7,6	29,8	0,6	8,9

À partir de ces données, en supposant que la cinétique de ce microorganisme respecte une relation de Monod et que l'on peut négliger la mortalité cellulaire ainsi que l'énergie utilisée pour la maintenance cellulaire, calculez la valeur des paramètres de base suivant :

a) La durée de la phase de latence (t_L, h)

b) Le coefficient de rendement microorganisme/substrat ($Y_{X/S}$)

c) Le coefficient de rendement produit/microorganisme ($Y_{P/X}$)

d) Les concentrations en microorganisme et en produit maximales qui pourront être obtenues lors de cette fermentation

e) La vitesse de croissance spécifique maximale (μ_{max}, h^{-1})