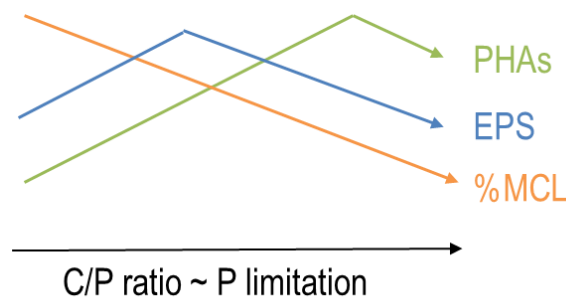


## Livable Action 4. Production de PHAs.

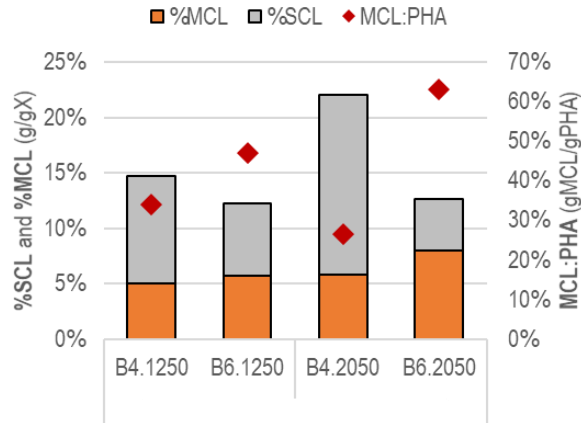
**Identification du mode de culture qui maximise la production de PHAs à partir de substrats modèles et conditions de production de PHAs avec des substrats réels.**

Ce livrable concerne la détermination du mode de culture en bioréacteur qui permet la sélection de microorganismes producteurs de mcl-PHA. Ce livrable a deux aspects, d'une part l'identification des conditions de culture utilisant un substrat modèle (ici, de l'acide oléique) puis l'utilisation de substrats réels issus de résidus agricoles (têtes de tournesol et déchets de la transformation animale). Les travaux réalisés par TBI, en bioréacteur en mode fed-batch pour la production de bioplastiques, ont permis de déterminer la manière d'apporter le nutriment limitant (P) qui contrôle l'accumulation des mcl-PHA mais également la croissance microbienne. Ainsi, il a été mis en évidence qu'un ratio croissant en C/P permettait d'accumuler plus de PHA, mais à partir d'un niveau de limitation la production de mcl-PHA diminue en faveur de la production de sclPHA (PHB) et d'exopolysaccharides (EPS), ce qui n'est pas souhaitable dans notre cas. La relation observée est illustrée dans la figure 1.



**Figure 1 - Relation entre le ratio C/P et la production de PHAs.**

D'autre part, nous avons comparé le mode d'alimentation de P en mode pulse et en continu, afin de déterminer quelle est la meilleure méthode pour alimenter les bioréacteurs, qui favorise l'accumulation de mcl-PHA (Figure 2).



**2 - Impact du mode d'alimentation en P sur la production de mcl-PHA. B4 : mode pulse. B6. Mode continu. Les résultats montrent que l'alimentation en continue favorise l'accumulation des PHA d'intérêt.**

Sur la base de ces résultats, des cultures en continu ont été réalisées pour sélectionner un consortium microbien producteur de mcl-PHA. Dans cette étape, on est principalement intéressé par la sélection microbienne alors que l'accumulation de mcl-PHA est étudiée dans des bioréacteurs fed-batches dits « d'accumulation » réalisés avec le consortium microbien sélectionné. Ainsi, en culture continue à un taux de dilution et à un ratio C/P précis, il a été possible de sélectionner un consortium microbien capable de produire des PHB, lors de la phase de sélection. Cette sélection a ensuite été testée en conditions d'accumulation à différents niveaux de limitation nutritionnelle (Figure 3).



**Figure 3 - Impact du niveau de limitation en P sur la production de mcl-PHA par le consortium sélectionné.**

Les résultats présentés dans la figure 3 montrent qu'il a été possible d'identifier la meilleure condition de culture permettant l'accumulation de mcl-PHA. Ces résultats constituent le principal livrable de ce rapport. Les expériences prévues sur les substrats réels, issus des déchets, auraient dû être réalisées courant mars-mai 2020. Les activités étant stoppées à cause de la crise Covid-19, ces expériences seront réalisées dans les prochains mois (juin – septembre). Néanmoins, à partir des résultats obtenus précédemment, un modèle mathématique cinétique est en train d'être validé. Il nous permettra de prédire l'accumulation de mcl-PHA selon les conditions de culture imposées. Il facilitera donc la détermination des conditions de culture pour produire de mcl-PHA à partir des substrats réels. Le personnel CDD impliqué dans le projet BIOPLAST est en contrat jusqu'à la fin du projet, ce qui garantit de compléter ce dernier livrable très prochainement.