

Faculté ENAC  
Institut des Sciences et Technologies de l'Environnement  
**Laboratoire de Biotechnologie Environnementale**

## **Microbiologie pour l'ingénieur**

Epreuve écrite du 28 novembre 2006

Nom de l'étudiant :

.....

**Remarques :**

- Il y a 7 questions et chaque question donne un maximum de 4 points
- Le nombre maximal de point est de 28
- Un total de 25 points est requis pour une note de 6.0
- La note se calcule de la manière suivante :

$$\text{Note} = 1 + (\text{nombre de point})/5$$

**Question 1 : (4 points)**

Un chercheur veut récolter par centrifugation des cellules bactériennes qui se trouvent en phase exponentielle de croissance. Il inocule un soir à 22h15 une fiole qui contient un milieu permettant la production maximale de  $7.5 \times 10^{10}$  cellules à la fin de la phase exponentielle. Comme inoculum, il utilise un volume de 10  $\mu$ l d'une culture qui contient  $10^9$  cellules/ml. Le chercheur estime que de revenir au laboratoire le lendemain à 07h00 est suffisant pour récolter ces cellules bactériennes en phase exponentielle. A-t-il raison ou non ? Sachez que les cellules inoculées commencent à croître après une phase de latence de 105 minutes, avec un temps de génération de 30 minutes.

**Réponses**

*Avec la formule  $\log N_t = \log N_0 + n \log 2$ , on peut calculer le nombre de générations pour produire  $7.5 \times 10^{10}$  cellules à partir de  $10^7$  cellules :*

$$n = (\log N_t - \log N_0) / \log 2 = (10,88 - 7) / 0.301 = 12,88 \text{ générations}$$

*Ceci correspond à  $12,88 \times 30 \text{ minutes} = 386 \text{ minutes}$ . Il faut ajouter à ça 105 minutes pour la phase de latence, ce qui donne un totale de 491 minutes = 8.19 heures ou 8 h et 11 min.*

*Il n'a donc pas raison. Il aurait du revenir avant 6h26 le matin pour pouvoir travailler avec des cellules en phase exponentielle et pas à 7h00.*

---

**Question 2 : (4 points)**

La vitesse d'une réaction chimique peut être accélérée soit en augmentant la température soit en ajoutant un catalyseur en gardant la température constante. Quelle est l'explication commune pour ces deux phénomènes ?

**Réponse**

*Dans les deux cas on augmente le nombre de molécules avec assez d'énergie pour surmonter l'énergie d'activation de la réaction. Comme il y a un plus grand nombre de molécules qui peuvent réagir on observe une réaction plus rapide. Dans le cas d'un catalyseur c'est la diminution de l'énergie d'activation qui augmente le nombre de molécules avec assez d'énergie.*

---

**Question 3 : (4 points)**

Le taux de croissance maximale d'une culture est de  $0,2 \text{ h}^{-1}$  et le rendement de croissance pour le substrat limitant est de  $0,4 \text{ g}_x/\text{g}_S$ .

- Calculez la vitesse spécifique de consommation du substrat  $q_S$  pour le substrat limitant dans la phase exponentielle de croissance.
- Est-ce que  $q_S$  va varier pendant cette phase exponentielle de croissance ?
- Peut-on travailler avec cette bactérie dans un chémostat où le temps de résidence hydraulique est de quatre heures ?

Expliquez vos réponses.

---

Nom de l'étudiant(e):

**Réponses**

-  $q_{S,max} = -\mu_{max} / Y = 0,2 / 0,4 = 0,5 \text{ gS gX}^{-1} \text{ h}^{-1}$

- Non, elle ne va pas varier comme elle dépend de deux paramètres qui sont constante pendant cette phase de croissance.
- Non, on ne peut pas travailler avec cette bactérie dans un chémostat avec un temps de résidence hydraulique de 4 h. La vitesse de dilution sous ces conditions est  $0,25 \text{ h}^{-1}$  ce qui est plus élevé que le  $\mu_{max}$  de la bactérie. La bactérie ne peut pas se maintenir dans le chémostat.

---

**Question 4 : (4 points)**

Une industrie qui produit différentes eaux usées, a mis en place un système qui traite ces différentes eaux séparément. Dans une eau usée qui est traitée biologiquement, un seul composé organique est présent et on n'arrive pas à atteindre la norme requise pour ce composé. Que pourrait-on faire pour obtenir des concentrations plus basses du composé en question dans l'effluent du procédé de traitement biologique ? Expliquez votre solution proposée.

**Réponse**

*On pourrait essayer de combiner plusieurs effluents et ainsi alimenter les bactéries avec plusieurs substrats. Il faut veiller que les concentrations restent basses pour que les bactéries consomment tous les composés en même temps. Avec un tel mélange de composés les bactéries arrivent de dégrader les composés individuels à des concentrations plus basses que dans le cas où ils sont présents seul dans l'affluent du biotraitement.*

---

**Question 5 (4 points)**

Les résultats suivants sont obtenus au cours d'une réaction enzymatique, (1) en absence et (2) en présence d'un inhibiteur à la concentration de 5 mM.  $[E_{tot}]$  est le même dans chaque expérience.

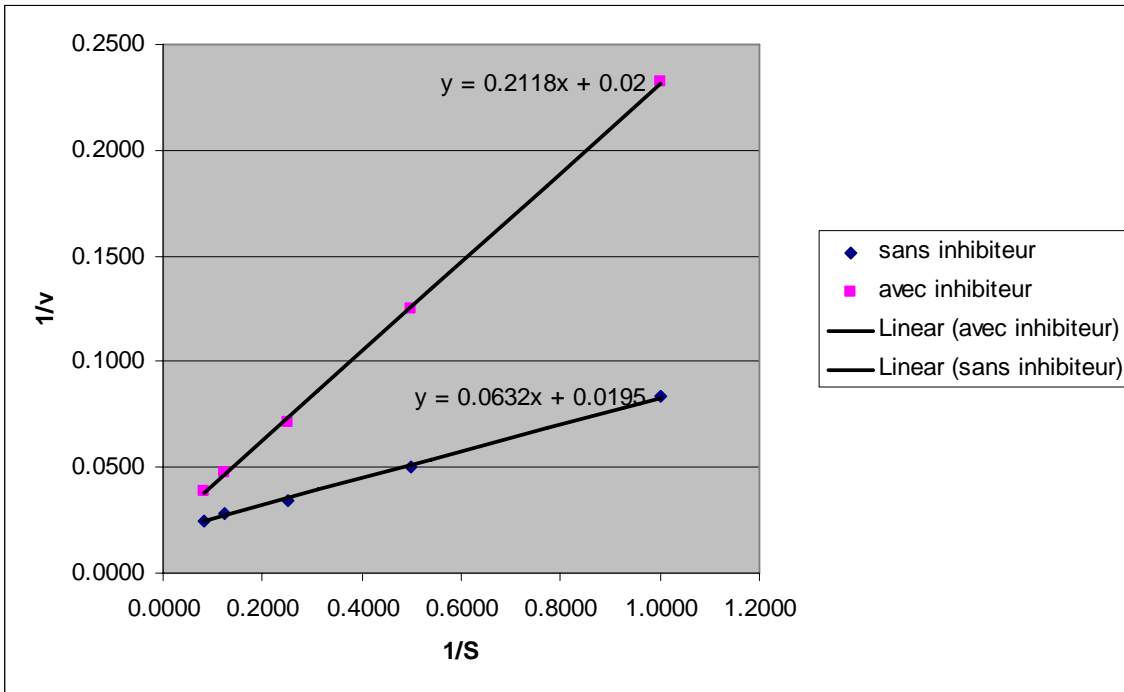
[S] (mM)	(1) $v$ ( $\mu\text{mol/ml/s}$ )	(2) $v$ ( $\mu\text{mol/ml/s}$ )
1	12	4.3
2	20	8
4	29	14
8	35	21
12	40	26

- a) Déterminez  $V_{max}$  et  $K_m$  de l'enzyme.
- b) Est-ce que l'inhibiteur a une certaine affinité pour le site actif de l'enzyme ou non ? Expliquez votre réponse.

**Réponses**

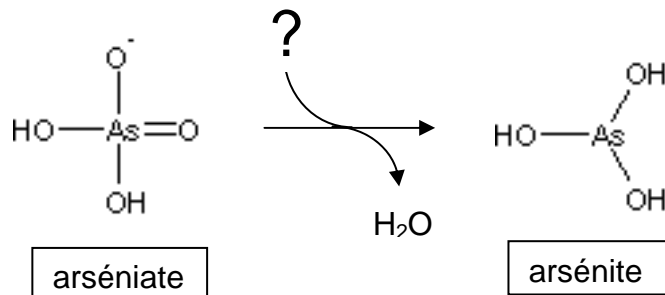
a)  $V_{max} = 51,3 \mu\text{mol ml}^{-1} \text{s}^{-1}$        $V'_{max} = 49,9 \mu\text{mol ml}^{-1} \text{s}^{-1}$   
 $K_m = 3,24 \text{ mM}$        $K'_m = 10,57 \text{ mM}$

b) L'analyse des données selon un Lineweaver-Burk plot montre que seulement le  $K_m$  change,  $V_{max}$  reste la même. L'inhibition dans ce cas est compétitive, l'inhibiteur est donc en compétition avec le substrat et a donc une assez grande affinité pour le site actif de l'enzyme.



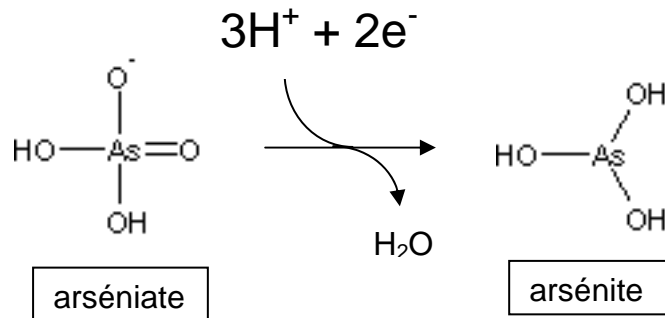
**Question 6 (4 points)**

Il existe des bactéries qui transforment l'arséniate en arsénite. De quel type de réaction chimique s'agit-il ? A quelle classe appartient l'enzyme qui catalyse cette réaction et quel pourrait être son nom ? Complétez aussi le schéma de réaction en indiquant ce qu'il faut mettre à la place du point d'interrogation.



**Réponse**

- Il s'agit d'une réduction
- L'enzyme appartient donc à la classe des oxidoréductase
- le nom pourrait être arséniate réductase
- il manque encore



**Question 7 (4 points)**

Au sein d'une station d'épuration d'eaux usées qui déverse son effluent dans une petite rivière on réalise un traitement de l'ammonium par nitrification (l'oxydation de l'ammonium en nitrate) pour éliminer toute la DBO (demande biochimique en oxygène) de l'eau usée. A certaines périodes, avec des concentrations élevées d'ammonium dans l'affluent, il y a des problèmes d'efficacité de ce processus microbien. Quel paramètre de l'eau devrait-on contrôler en sachant que les bactéries nitrifiantes sont sensibles à des baisses de pH ? Expliquez votre réponse.

**Réponse**

*On devrait vérifier l'alcalinité de l'eau ou la dureté de l'eau. La concentration en carbonate et bicarbonate détermine le pouvoir tampon de l'eau. La nitrification produit de l'acidité en forme de proton (voir l'équation ci-dessous). Si la concentration en ammonium est élevée et l'eau n'est pas assez tamponnée, l'activité nitrifiante peut induire une baisse du pH et donc auto-inhibé le processus de nitrification.*

