



POLYTECHNIQUE  
MONTRÉAL

LE GÉNIE  
EN PREMIÈRE CLASSE



Analyse et critique de l'article :

# Bioconversion of Butyric Acid to Butanol by *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* NI-4 (ATCC 13564) in a Limited Nutrient Medium

Najeeb & al. 2011

Ale Samba FALL

# Plan

- Présentation de l'article
- Objectif de l'article
- Cadre de l'étude
- Procédure
- Résultat majeur
- Résultats secondaires
- Qualité d'analyse des résultats
- Points forts & Points faibles
- Validité de la conclusion
- Recommandations

# Présentation de l'article

- Rédigé par Najeeb & al.\* 2011
  - Chercheurs en Biotechnologie à Malaysia
- ABE fermentation

Production de butanol par de l'acide butyrique

- Acide Butyrique + Glucose
- Amélioration la rentabilité

# Objectif de l'article

- Trouver une combinaison spécifique de glucose /acide butyrique
  - production maximale de butanol
  - Batch fermentation
  - *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* NI-4 (ATCC 13564)
  - Milieu sans source de nitrogène
  - Croissance des cellules non favorisée (non-growing cells)

# Cadre de l'étude

- Butanol
  - importante alternative aux combustibles fossiles
- ABE fermentation
  - pas économiquement compétitive
    - Coût des substrat
    - Rendement faible en butanol
- Cette étude introduit une méthode de production de butanol
  - Rentable à l'échelle industrielle
    - Concentration butanol élevé

# Procédure

- Inoculum
  - Culture des cellules (growing cells)
  - Tryptone–yeast extract–acetate medium (TYA)
- Séries de combinaisons
  - Glucose : 0, 5, 10, 15 et 20 g/L
  - Acide butyrique : 0, 1, 5, 10, et 15 g/L
- Phosphate-free nitrogen medium (10% v/v inoculum)

---

## TYA medium

---

Components	(g/L)
------------	-------

---

Glucose	20–40
---------	-------

Yeast extract	2
---------------	---

Tryptone	6
----------	---

CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	3
------------------------------------	---

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.3
---------------------------------	-----

MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.3
--------------------------------------	-----

FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.01
--------------------------------------	------

Distilled water	1 L
-----------------	-----

---

## Phosphate-free nitrogen medium

---

Components	(g/L)
------------	-------

---

Glucose	0–20
---------	------

Butyric acid	0–15
--------------	------

KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0.5
---------------------------------	-----

FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.01
--------------------------------------	------

Distilled water	1 L
-----------------	-----

# Résultat majeur

- Production optimale de Butanol
  - **12,99 g/L**
  - 10 g/L acide butyrique + 20 g/L glucose (G/B=20/10)
- ***Le principal facteur déterminant la production de butanol est la combinaison de glucose et d'acide butyrique et non l'augmentation de la densité des cellules dans le milieu.***

# Résultats secondaires

- 0 g/L glucose → Pas Acétone et Ethanol

---

G/B.A ratio	Combinaison symbol	Final pH	Production		
			Acetone (g/L)	Butanol (g/L)	Ethanol (g/L)
0/0	1 G	4.26	0.00	0.28	0.00
0/1	2 G	4.81	0.00	0.80	0.00
0/5	3 G	5.05	0.00	0.75	0.00
0/10	4 G	5.69	0.00	0.70	0.00
0/15	5 G	5.58	0.00	0.77	0.00

---



# Résultats secondaires

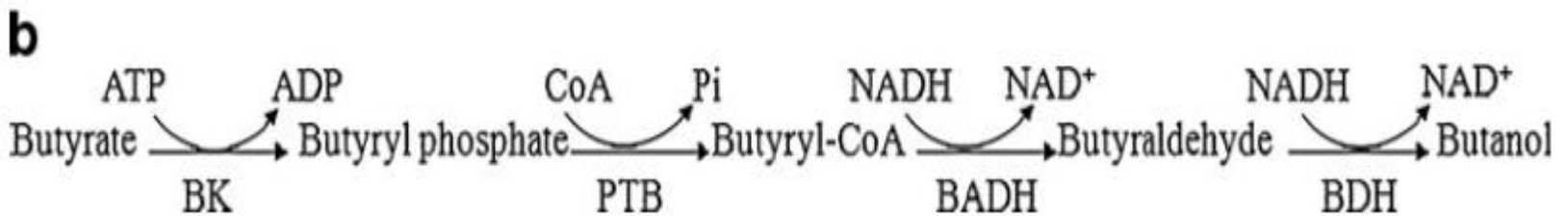
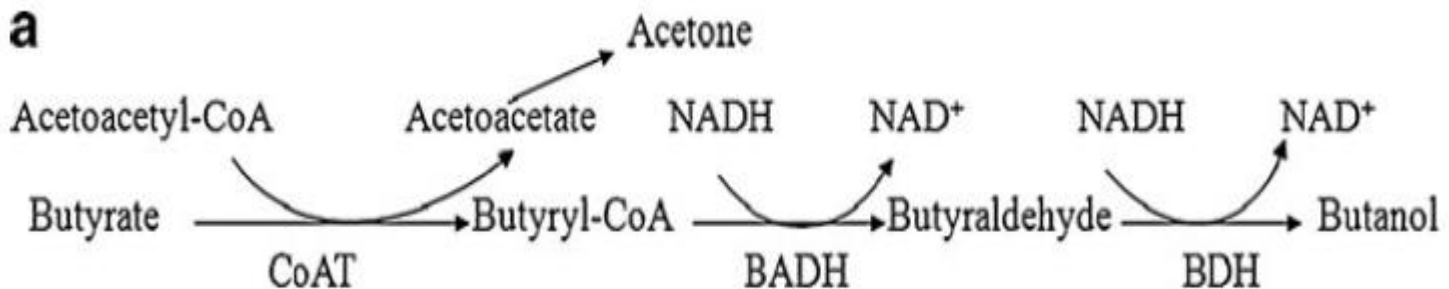
- Glucose est nécessaire pour une production prononcée de butanol

---

G/B.A ratio	Combinaison symbol	Final pH	Production		
			Acetone (g/L)	Butanol (g/L)	Ethanol (g/L)
0/10	4 G	5.69	0.00	0.70	0.00
5/10	9 G	5.06	0.03	2.06	0.00
10/10	14 G	5.00	0.04	2.39	1.02
15/10	19 G	5.03	0.47	7.95	0.84
20/10	24 G	5.41	1.47	12.99	0.94

# Résultats secondaires

- La présence de glucose favorise la production de butanol à travers le CoA pathway (a)



# Qualité d'analyse des résultats

- Analyse critique des résultats
  - Accent mis sur les saillants et critiques
  - Interprétation basé sur
    - Conditions et mode d'opération
    - Métabolisme
- Analyse comparative
  - Résultats d'études antérieures
  - Discussion sur les différences ou les concordances notées

# Points forts & Points faibles

- Points forts
  - Valorisation de l'acide butyrique
    - Considéré comme inhibiteur de l'ABE fermentation
  - Méthode de stimuler le solventogenesis
    - Favoriser la production de ABE
- Points faibles
  - Concentration de cellules
    - De l'inoculum
    - Dans la culture
    - Justifier de la différence avec l'étude de Tashiro & al.
  - Justification du choix du ATCC 13564

# Validité de la conclusion

- Caractère innovateur
  - Milieu à faible densité de cellules
    - Seule différence de celle de Tashiro & al. 2007 [1]
- Article vs littérature

		Najeeb & al. 2011	Tashiro & al. 2007	Tashiro & al. 2004
<b>Mode de culture</b>		Batch	Batch	Fed-batch
<b>Butanol (g/L)</b>	<b>G/B = 0/10</b>	0,7	0,28	<b>16</b> <b>(B/G = 1,4)</b>
	<b>G/B = 20/10</b>	<b>13</b>	7,5	
<b>pH</b>		5,41	6,5	5,5
<b>Cells concentration</b>		low	high	-

# Validité de la conclusion

- Acide Butyrique /croissance cellules /Butanol
  - Monot & al. 1982
    - Ammonium acetate > 2,2 g/L → acide butyrique↑
    - Inhibition de la croissance cellulaire
  - Tashiro & al. 2004
    - Faible pH (feeding Acide Butyrique) → butanol↑
- Acide Butyrique → --(énergie) --→ butanol
  - Glycolyse du glucose → NADH
  - Metabolisme (CoA pathway) utilise NADH \*

\* Shinto & al. 2007, Tashiro & al. 2007

# Recommandations

- Production de butanol en continu \*
- Densité de cellules élevée
- Recyclage des cellules
- Methyl viologen (electron carrier)
  - Butanol 9,40 g/L
  - Productivité 7,99 g/L/h butanol (vs 0,321 g/L/h ABE)
- Suggestions
  - Réaliser un procédé continu
    - Rapport Glucose/Acide butyrique trouvé
    - → Productivité plus élevée
  - Utiliser Methyl viologen (batch)
    - Augmenter la rentabilité

\* Baba & al. 2012



**Merci de votre attention!!**

**Questions??**



# Références

- Tashiro Y., Takeda k., Kobayashi G., Sonomoto K., Ishizaki A., Yoshino S., *High Butanol Production by Clostridium saccharoperbutylacetonicum NI-4 in Fed-Batch Culture with pH-Stat Continuous Butyric Acid and Glucose Feeding Method.* Journal of bioscience and bioengineering. Vol. 98, No. 4, 263–268. 2004
- Frédéric Monot, Jean-René Martin, Henri Petitdemange and Robert Gay. *Acetone and Butanol Production by Clostridium acetobutylicum in a Synthetic Medium.* Appl. Environ. Microbiol. 1982, 44(6):1318.
- Yukihiro Tashiro, Hideaki Shinto, Miki Hayashi, Shun-ichi Baba, Genta Kobayashi, and Kenji Sonomoto. *Novel High-Efficient Butanol Production from Butyrate by Non-Growing Clostridium saccharoperbutylacetonicum NI-4 (ATCC 13564) with Methyl Viologen.* . Journal of bioscience and bioengineering. Vol. 104, No. 3, 238–240. 2007
- Shun-ichi Baba, Yukihiro Tashiro, Hideaki Shinto, Kenji Sonomoto. *Development of high-speed and highly efficient butanol production systems from butyric acid with high density of living cells of Clostridium saccharoperbutylacetonicum.* Journal of Biotechnology 157 (2012) 605–612