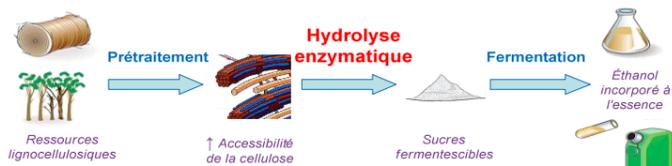


Modélisation cinétique de l'hydrolyse enzymatique de la cellulose

Marie CHAUVE^{1*}, Nicolas LOPES FERREIRA², Dominique CASANAVE¹, D. DA SILVA PEREZ³ & Serge PEREZ⁴
¹IFP Energies nouvelles, Dpt. Réactions & Modélisation Réacteurs - Solaize, ²IFP Energies nouvelles, Dpt. Biotechnologie - Rueil-Malmaison, ³FCBA Grenoble, ⁴ESRF, - Grenoble

CONTEXTE

Procédé de production d'éthanol 2G par voie biologique



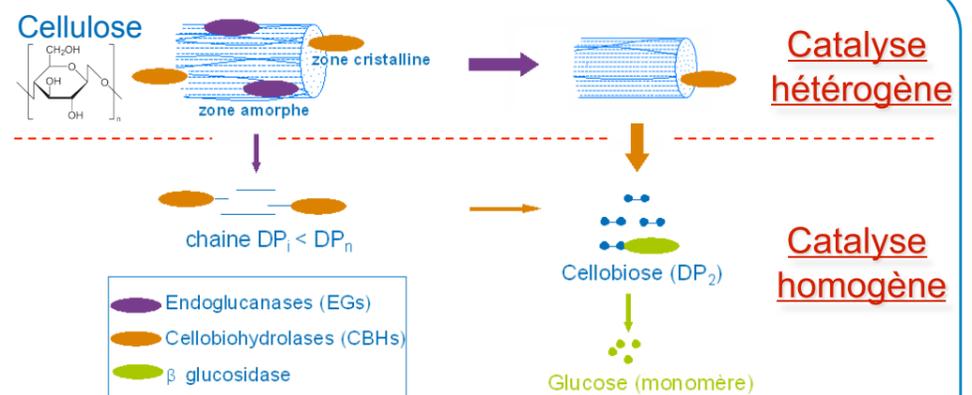
Etape limitante: Hydrolyse enzymatique

- Coût de production des enzymes (*T. reesei*) élevé et optimisable.
- Peu de données sur l'impact du substrat lors de la saccharification.

Développement d'un modèle cinétique intégrant :

- Les paramètres physico-chimiques et cinétiques des enzymes.
- Les contraintes morphologiques liées au substrat.

L'HYDROLYSE ENZYMATIQUE



- EGs et CBHs:** Adsorption & hydrolyse sur substrat solide [1]
 - Modèle cinétique d'adsorption type 'Langmuir'
- BGL:** Hydrolyse du cellobiose en glucose en milieu homogène [1]
 - Modèle cinétique de type 'Michaelis Menten'

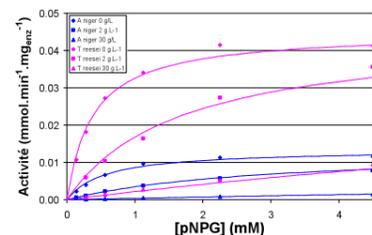
RESULTATS EXPERIMENTAUX

Phase 1 : Modèles enzymatiques

β- glucosidase (*A. niger* et *T. reesei*) / cellobiose et pNPG

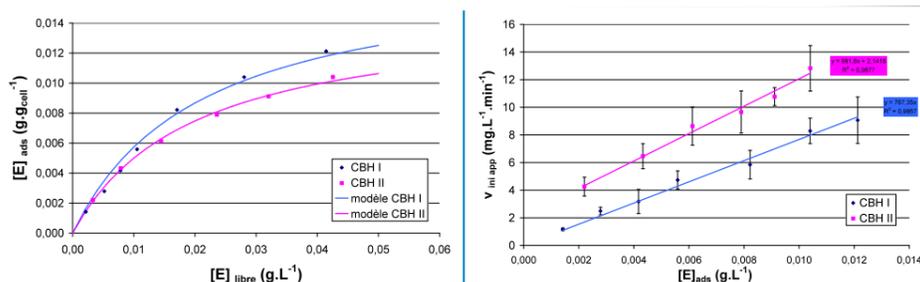
Michaelis-Menten + inhibition compétitive par le glucose²

- K_m pNPG < K_m Cellobiose**
- B_{gl1} *T. reesei* vs. *A. niger* :**
 - Meilleure activité spécifique
 - Meilleure tolérance au glucose



CBHI et CBHII (*T. reesei*) / cellulose Avicel PH 101

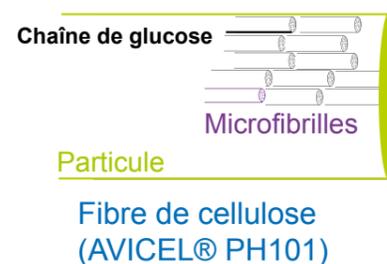
Modèle 'Langmuir' avec adsorption des enzymes puis hydrolyse³



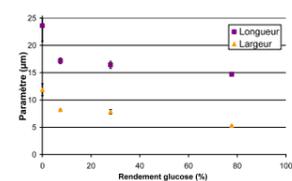
Adsorption CBHI > CBHII mais **Activité CBHI < CBHII**

Phase 2 : Evolution du substrat

Caractérisation de celluloses hydrolysés (R_{glucose} = 7, 28 et 78%)



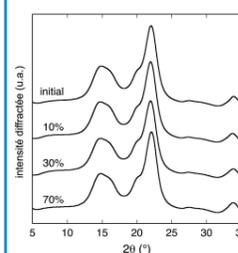
A l'échelle de la taille de particules
Analyse Flow Particules Image Analyser



Diminution de la taille des fibres

A l'échelle des microfibrilles

Mesure par WAXS (diffraction RX)



Indice de cristallinité constant

Étude du degré de polymérisation par viscosimétrie

	Contrôle	A7,4	A28	A77,7
DP	311	338	350	354

Pas d'évolution majeure du DP moyen

A l'échelle des nanopores (en cours..)

Mesure de la porosité par Small-Angle X-ray & Neutron Scattering (SAXS et SANS)

- Localisation des zones 'amorphes' / étude de la capacité de gonflement
- Détermination de la taille des pores (teneur en eau libre et en eau liée)

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

- Obtention des paramètres cinétiques des enzymes CBHs et βgl1
- Principale modification du substrat : ↘ de la taille des fibres
- Perspectives :

Aspect enzymes: Etude paramétriques des EG et intégration des synergies

Aspect substrat: Analyse SAXS et SANS, impact de chaque enzyme.

Etude d'un nouveau substrat (longueur de fibre + grande)

Références

- Lynd LR, Weimer PJ, van Zyl WH, Pretorius IS: **Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology.** *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2002, **66**: 506-560.
- Chauve M, Mathis H, Huc D, Casanave D, Monot F, Lopes Ferreira N: **Comparative kinetic analysis of two fungal beta-glucosidases.** *Biotechnology for Biofuels* 2010, **3**: 3.
- Chauve M, Lopes Ferreira N, Casanave D, Da Silva Perez D, Perez S: **Kinetic modeling of pure cellulases involved in enzymatic hydrolysis of cellulose.** *18th European Biomass Conference and Exhibition, 3-7 May 2010, Lyon, France, Proceedings 2010*, 1380-1387.

Contact :

marie.chauve@ifpenergiesnouvelles.fr

