

BREVET DE TECHNICIEN SUPERIEUR
BIOTECHNOLOGIES

BIOLOGIE DES PROCARYOTES ET DES EUCARYOTES

U41 Sous épreuve de Microbiologie et génie fermentaire

SESSION 2023

DUREE DE L'EPREUVE : 2 h 00
COEFFICIENT : 1

Matériel autorisé :

- dictionnaire anglais/français.
- l'usage de la calculatrice avec mode examen actif est autorisé.
- l'usage d'une calculatrice sans mémoire, « type collègue » est autorisé.

Dès que ce sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.
Ce sujet comporte 8 pages numérotées de 1/8 à 8/8.

	Intitulé des capacités évaluées	points
C1	Maitrise des connaissances scientifiques et techniques	3
C2	Aptitude à organiser et à exposer les connaissances	5
C3	Qualité de l'analyse et du traitement des données fournies	8
C4	Pertinence et cohérence des solutions proposées	2
C5	Clarté et rigueur de l'expression écrite et de la composition	2

Recyclage des métaux de circuits imprimés usagés par biolixiviation

De nombreux déchets sont générés en fin de vie des équipements électriques et électroniques, en particulier des métaux d'intérêt entrant dans la composition des circuits imprimés.

Le recyclage des métaux par biolixiviation permettrait d'économiser des matières premières, de moins dépendre de pays tiers, de développer un circuit durable court et de créer de l'emploi. La biolixiviation est un processus permettant d'extraire des métaux lourds, par exemple l'or, le cuivre, le cobalt, le nickel, l'aluminium, à partir de minerais faiblement concentrés, par une communauté de bactéries, qualifiée de consortium bactérien.

L'optimisation du processus de biolixiviation nécessite une connaissance suffisante du métabolisme énergétique du consortium bactérien. Une étude du processus de biolixiviation constitue une étape préalable à la mise en œuvre du recyclage des circuits imprimés en bioréacteur.

1. Métabolisme énergétique des bactéries réalisant la biolixiviation

Un consortium de bactéries extrémophiles aérobies a été sélectionné pour sa capacité à réaliser une biolixiviation efficace. Les espèces majoritaires de ce consortium sont *Acidithiobacillus ferrooxidans* et *Sulfobacillus benefaciens*.

Acidithiobacillus (At) ferrooxidans est diazotrophe facultative. L'arbre phylogénétique du genre *Sulfobacillus* est présenté sur le **document 1**. La classification est fondée sur l'analyse de la séquence des gènes de l'ARN 16S.

1.1 Expliquer pourquoi l'analyse de la séquence des gènes de l'ARN 16S permet d'établir la classification des espèces de *Sulfobacillus*. (C1)

Les bactéries du consortium sont chimiolithotrophes, autotrophes, prototrophes, mésophiles et acidophiles. Elles cultivent dans des conditions et un milieu de culture particulier, présentés dans le **document 2**.

1.2 Etablir les relations entre les caractéristiques des bactéries présentées ci-dessus et les conditions ainsi que le milieu de culture utilisés. (C3)

1.3 Montrer que la diazotrophie de l'espèce *At. ferrooxidans* ne peut pas être mise en évidence par une culture en milieu 0Cm. (C3)

Le **document 3** présente la chaîne respiratoire d'*At. ferrooxidans*.

- 1.4 Justifier l'appartenance de *At. ferrooxidans* aux bactéries Gram négatives. (C1)
- 1.5 Reproduire les deux membranes et reporter sur la copie les lettres de A à C. Identifier les compartiments correspondants. Sur ce schéma, représenter l'ATP synthase et son mécanisme de production d'ATP. (C2)
- 1.6 Préciser le donneur et l'accepteur final d'électron. En déduire le type de respiration correspondant à cette voie. (C1)

2 Biolixiviation adaptée à l'extraction des métaux des circuits imprimés usagés

L'étude porte sur l'intérêt d'utiliser le consortium de bactéries pour dissoudre les métaux lourds des circuits imprimés (PCB : printed circuit board) usagés en vue de leur recyclage.

Le principe de la biolixiviation est schématisé dans le **document 4**.

- 2.1 Expliciter le rôle des bactéries dans le processus de biolixiviation. (C3)

Le milieu de base 0Cm est additionné de broyat de circuits imprimés usagés (PCB) pour tester la biolixiviation. Or, les métaux lourds cationiques à forte concentration sont toxiques pour les bactéries.

Une étude préliminaire est menée pour évaluer la toxicité des métaux lourds des PCBs sur les bactéries du consortium. Le **document 5** présente le protocole mis en œuvre et les résultats obtenus.

- 2.2 A partir du graphe A, comparer les résultats obtenus pour les trois concentrations de lixiviat. Estimer la durée du temps de latence, comparer visuellement les vitesses spécifiques de croissance en phase exponentielle. (C2)
- 2.3 Analyser les résultats du graphe B et les interpréter au regard du processus de biolixiviation. (C3)
- 2.4 A partir de l'analyse des deux graphes, argumenter l'absence d'effet toxique sur le consortium bactérien par les métaux lourds solubilisés. (C3)
- 2.5 Conclure quant à l'effet de la concentration en PCBs sur la biolixiviation. (C4)

3 Biolixiviation en bioréacteurs en procédé continu à deux étages

Pour optimiser la méthode de traitement des PCBs, un système à deux réacteurs en série en mode continu est testé avec un temps de séjour 3,2h pour le premier bioréacteur.

Le **document 6** présente ce montage.

- 3.1 Justifier l'appellation de procédé continu. (C1)
- 3.2 Identifier les rôles du bullage avec de l'air enrichi en CO₂ du premier bioréacteur. (C2)
- 3.3 Préciser la fonction du premier bioréacteur. (C2)
- 3.4 Montrer que le débit d'entrée/sortie du premier bioréacteur est de 46,9 mL.h⁻¹. (C3)

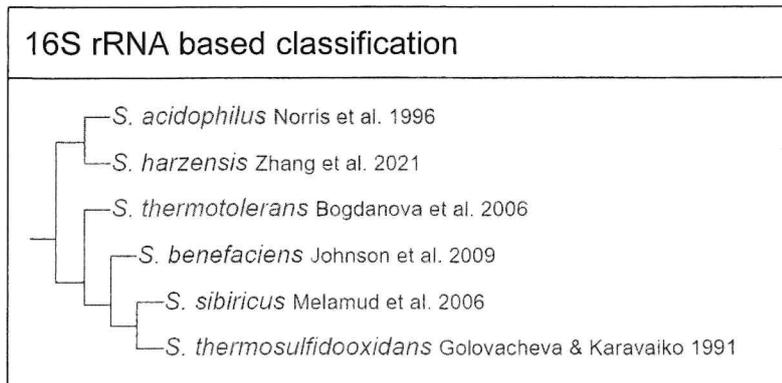
L'agitation du deuxième bioréacteur est optimisée par l'équipement d'un système d'agitation à deux mobiles superposés : un mobile Rushton en position inférieure et un mobile d'agitation à pales inclinées à 45° en position supérieure.

- 3.5 Schématiser le système d'agitation du deuxième bioréacteur avec les flux liquidiens associés. Préciser le rôle de chacun des deux mobiles. (C2, C4)
- 3.6 Déterminer la vitesse spécifique exponentielle de croissance moyenne ($Q_{X_{\text{expo}}}$) du consortium de bactéries dans le deuxième bioréacteur, sachant que ce chémostat est à l'équilibre dynamique. En déduire le temps de génération du consortium. (C3)

La capacité à dissoudre les différents métaux des PCBs a été testée en calculant les rendements de dissolution dans le bioréacteur à double étage. Les résultats sont représentés sur le **document 7**

- 3.7 Analyser les résultats et conclure quant à la possibilité de recycler les métaux testés des circuits imprimés (PCBs). (C3)

Document 1. Extrait d'un arbre phylogénétique du genre *Sulfobacillus*.



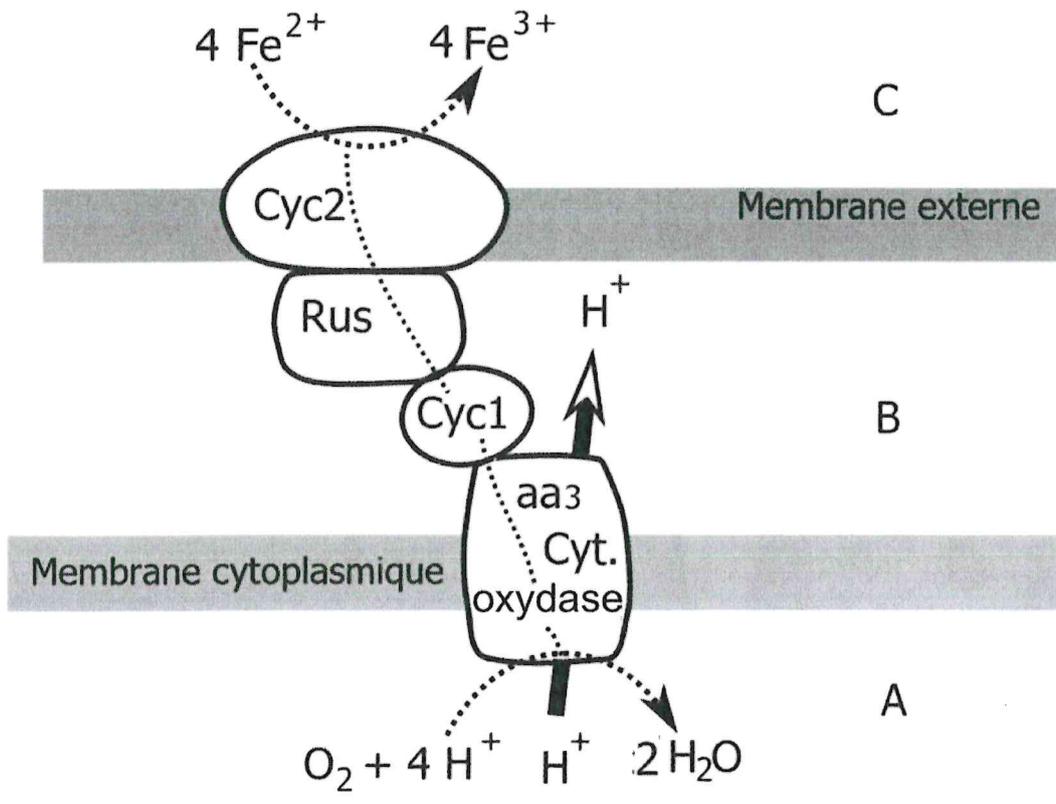
D'après **Videsh Ramsahai** — Travail personnel. In Wikipedia [en ligne], mis à jour le 22 septembre 2022 [consulté le 16 novembre 2022].

Document 2. Conditions de culture sur milieu 0Cm

The nutrient medium was denoted 0Cm and made up of 0.4 g.L⁻¹ (NH₄)₂SO₄, 0.81 g.L⁻¹ H₃PO₄ 85%, 0.48 g.L⁻¹ KOH and 0.52 g.L⁻¹ MgSO₄.7H₂O. Ferrous sulphate was added when needed as FeSO₄.7H₂O. Concentrated sulphuric acid was used to adjust the pH to 1.3.

The gas supply system was designed to accommodate air enriched with 1% CO₂ and the temperature was maintained at 36°C.

Document 3. Chaîne respiratoire et oxydation du Fe(II) chez *Acidithiobacillus*

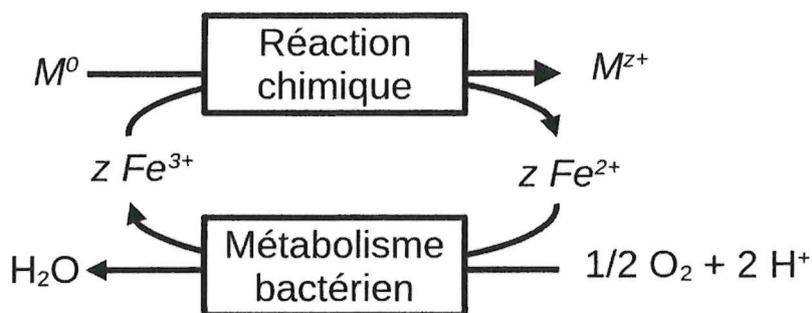


Cyc2, Rus, Cyc1 et aa3 cyt. oxydase = protéines transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire représentée.

Adapté de Zhang S *et al*, *Acidithiobacillus ferrooxidans* and its potential application. *Extremophiles*. 2018 Jul ; 22(4) :563-579.

Document 4. Processus de biolixiviation.

En milieu acide, le Fe (III) en excès, oxyde un métal solide M^0 pour le solubiliser en ion métallique M^{z+} . Le Fe (II) produit sert de donneur d'électrons pour le métabolisme énergétique microbien.



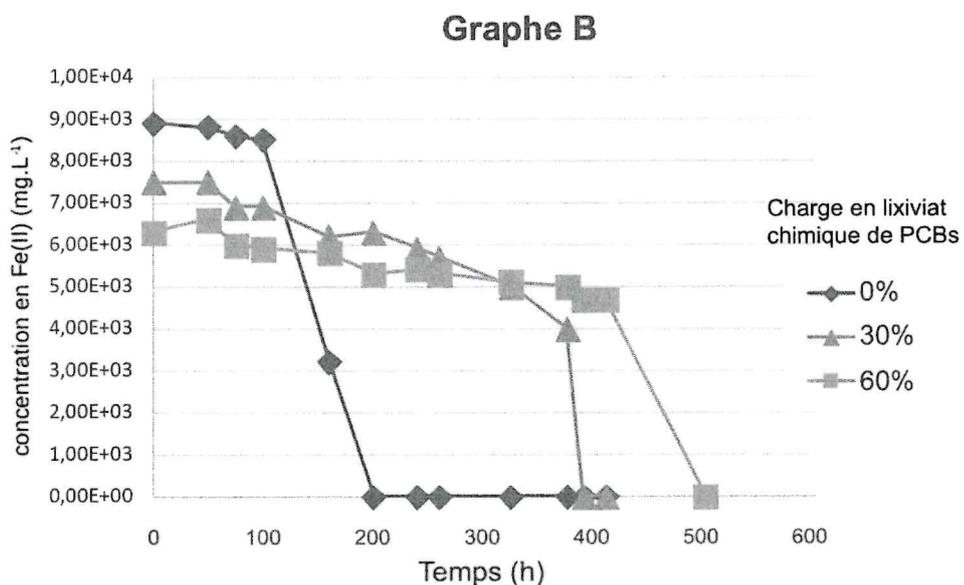
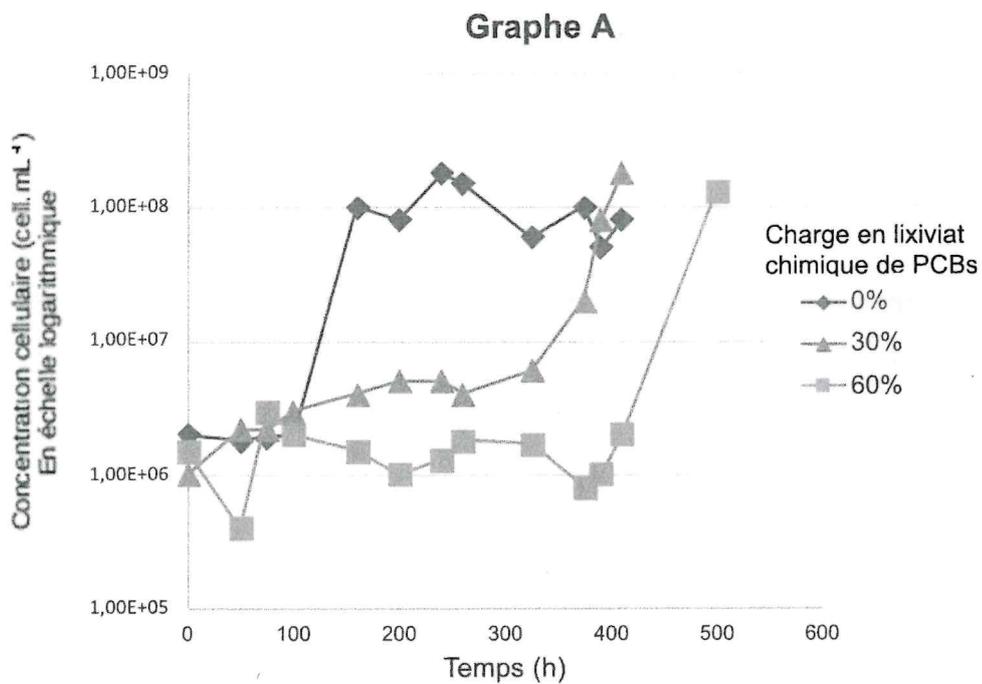
Document 5. Étude de la toxicité des métaux lourds sur le consortium bactérien

Des broyats de PCBS ont été traités selon un procédé chimique qui entraîne la libération des métaux lourds sous forme de cations solubles. La solution obtenue est appelée lixiviat chimique.

Pour étudier l'effet toxique du lixiviat chimique sur la croissance des bactéries et la capacité du consortium à oxyder le Fe (II), une croissance du consortium bactérien est mise en œuvre dans trois conditions de concentration du lixiviat chimique de PCBS.

Différentes concentrations de lixiviat chimique (0 % v/v, 30 % v/v et 60 % v/v) ont été testées. Chaque flacon a été inoculé avec 10 mL (10 % v/v) de préculture de consortium de bactéries contenant $1 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ de Fe(II) et 10^7 cellules $\cdot\text{mL}^{-1}$.

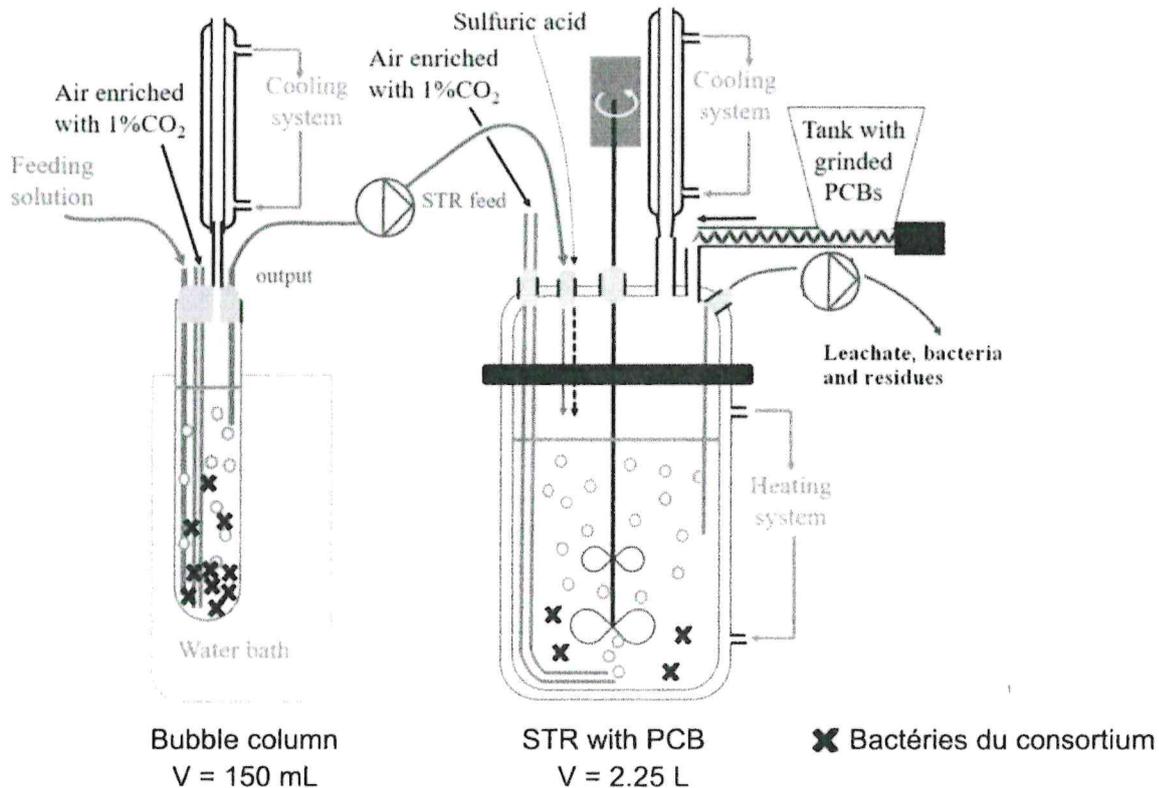
Les flacons ont été maintenus dans un incubateur à 40°C et agités à 107 rpm.



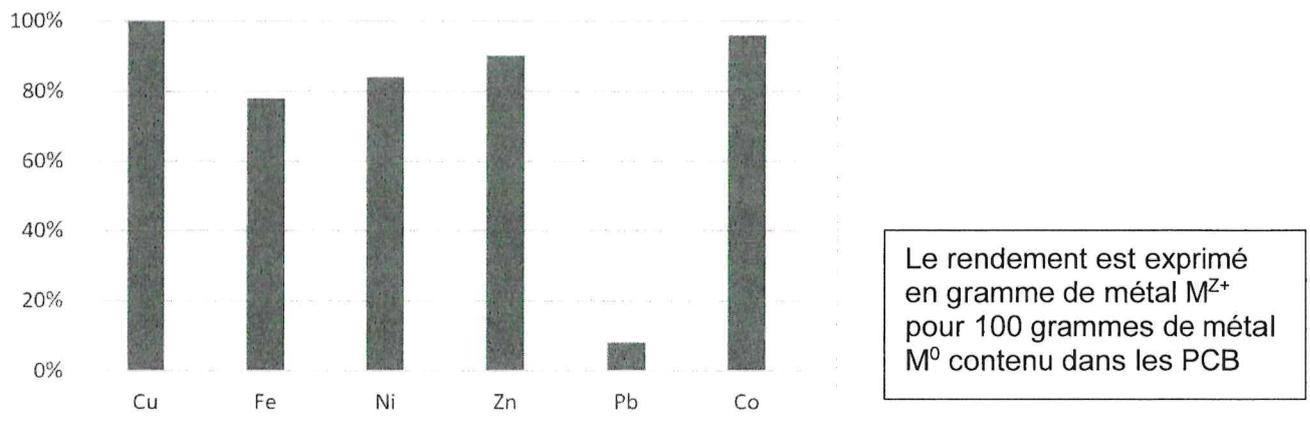
Document 6. Schéma du système en continu à double étage.

The bubble column contains 0Cm medium containing 1 g.L^{-1} ferrous sulphate.
 The leached bioreactor (STR with PCBs) is equipped with an agitator which is a dual impeller system (axial/radial) consisting of a standard Rushton turbine in combination with a 45° axial flow impeller.
 All experiments were performed without sterilisation to be as representative of industrial conditions as possible. The system enters a dynamic stationary equilibrium.

Donnée : leachate = lixiviat.



Document 7. Rendement de dissolution (%) du bioréacteur à double étage



Hubau A. *et al.*, Recovery of metals in a double stage continuous bioreactor for acidic bioleaching of printed circuit boards (PCBs). Separation and Purification Technology, Elsevier, 2020, 238, pp.116481.