

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21)

N° 80 17480

(54) Procédé microbiologique de préparation de L-lysine et L-lysine obtenue par ledit procédé.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). C 12 P 13/08.

(22) Date de dépôt..... 7 août 1980.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée :

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 6 du 12-2-1982.

(71) Déposant : INSTITUT MIKROBIOLOGII IMENI AVGUSTA KIRKHENSHTEINA AKADEMII NAUK
LATVIISKOI SSR, résidant en URSS.

(72) Invention de : A. K. Saxe, M. P. Ruklisha, U. E. Viestur, M. P. Leite, S. J. Klyavinya, J. E.
Shvinka, M. E. Beker et S. E. Selga.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Cabinet Z. Weinstein,
20, av. de Friedland, 75008 Paris.

La présente invention concerne l'industrie microbiologique et a notamment pour objet un procédé de préparation de L-lysine, qui trouve des applications en particulier dans l'industrie alimentaire et en tant qu'élément fourrager en agriculture.

On connaît déjà un procédé de préparation de L-lysine par fermentation en profondeur d'une souche productrice sur un milieu nutritif contenant une source de carbone, d'azote, des sels minéraux indispensables, des acides aminés et des vitamines, suivant lequel, pour augmenter le rendement en produit final au cours de la fermentation, à partir de la 16-e jusqu'à la 30-e heure, on dose la concentration en acide lactique ou on détermine l'activité de la lactate-déshydrogénase ou bien on détermine l'activité de l'isocitrate-déshydrogénase dans les cellules de la souche productrice et, compte tenu du résultat, on conduit l'ensemble du processus de culture. On effectue des additions périodiques complémentaires de sources de carbone telles que la mélasse, l'acide acétique, le saccharose, l'éthanol, le sel double de glucose, après avoir atteint une teneur en substances réductrices de la liqueur de culture égale à 5 à 6 %.

On connaît d'autre part un procédé de préparation de L-lysine par culture d'une souche productrice en profondeur sur un milieu nutritif contenant une source de carbone, d'azote, des sels minéraux indispensables, des acides aminés et des vitamines, suivant lequel, afin d'augmenter le rendement en L-lysine, on conduit la croissance de la souche productrice en ajoutant périodiquement une solution stérile de l'un des constituants du milieu nutritif, tel que la mélasse, qui permet de maintenir la teneur en substances réductrices de la liqueur de culture entre 2,5 et 3 %. Le rendement en L-lysine par rapport aux substances réductrices utilisées est de 40,2 % (certificat d'auteur de l'URSS n°498 940, 1973).

Toutefois, en cas d'additions périodiques multiples de mélasse au milieu de culture par les procédures indiquées, on introduit une quantité déterminée de L-thréonine contenue dans

la mélasse. La L-thréonine, de concert avec la L-lysine, entraîne une inhibition multivalente de l'activité de la β -aspartate-kinase, ce qui à son tour, réduit sensiblement l'activité de la culture dans la synthèse de la lysine et abaisse le rendement en produit final. L'inhibition multivalente de l'activité de la β -aspartate-kinase intervient dans des limites déterminées de l'activité de la décarboxylase de l'acide diaminopimélique. L'effet est particulièrement manifesté en cas de transformation de milieux nutritifs concentrés : la concentration initiale de substances réductrices est de 12 à 15 %. De pair avec l'accroissement de la teneur en L-lysine de la liqueur de culture au cours du processus de fermentation, l'activité de la décarboxylase de l'acide diaminopimélique baisse et l'addition de mélasse en fin de processus, lorsque la teneur en substances réductrices est de 2,5 à 5 %, abaisse le rendement en produit final.

On s'est donc proposé de résoudre le problème suivant : par régulation des conditions de culture et par introduction complémentaire orientée de certains constituants du milieu nutritif au cours de la culture, augmenter le rendement en L-lysine et rendre possible la transformation des milieux nutritifs concentrés par rapport aux substances réductrices.

Ce problème est résolu en ce que le procédé de préparation de L-lysine consistant à effectuer une culture en profondeur de ses souches productrices sur un milieu nutritif contenant des sources de carbone, d'azote, des sels minéraux, des substances biologiquement actives, dans des conditions aérobies, par addition des constituants du milieu nutritif au cours du processus de culture et isolement subséquent du milieu de culture du produit visé, est caractérisé suivant l'invention, en ce qu'au cours de la culture on détermine au sein des cellules de la souche productrice l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique ou les concentrations correspondantes de L-lysine, et après que son activité ait atteint une valeur de $12 \cdot 10^{-11}$ à $9 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine

par seconde et par milligramme de protéine, on ajoute au milieu de culture l'un des constituants du milieu nutritif contenant du carbone et des vitamines, tel que la mélasse que l'on introduit dans le milieu de culture au cours du processus de culture jusqu'à un abaissement de l'activité de la décarboxylase de l'acide diaminopimélique égale à 7.10^{-11} à 6.10^{-11} mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine.

Il est avantageux, pour augmenter le rendement en L-lysine, lorsque l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique atteint 7.10^{-11} à 6.10^{-11} mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, d'introduire additionnellement dans le milieu de culture une source de carbone et des vitamines que l'on introduit au cours du processus de culture de manière à abaisser l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique à une valeur égale à $2,5.10^{-11}$ à 2.10^{-11} mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine.

Il est préférable d'utiliser, à titre de source de carbone et de vitamines, le saccharose avec la biotine et de la thiamine ou le glucose avec de la biotine et de la thiamine.

On met en oeuvre le procédé proposé de la manière suivante.

On utilise comme agents producteurs de L-lysine des microorganismes du genre *Brevibacterium* ou *Micrococcus*.

Après avoir effectué la croissance de la culture dans un fermenteur à semences, on effectue la culture dans des ferments industriels sur un milieu nutritif de glucides, notamment sur un milieu de mélasse. Pendant la fermentation au cours de la croissance de l'agent producteur, on maintient l'aération au niveau de $pO_2 = 20$ à 25% du point de saturation. Le milieu nutritif contient, outre les sources de carbone, des acides aminés et des vitamines déficitaires pour l'agent producteur ainsi que des sels minéraux : sources d'azote et de phosphore. Au cours du processus de culture

on détermine (on dose) dans les cellules de l'agent producteur l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique. Le niveau d'aération au cours de la culture est abaissé jusqu'à $pO_2 = 10$ à 12% de la saturation, en maintenant
5 l'intensité d'agitation du système. Une fois que le niveau d'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique a atteint $12 \cdot 10^{-11}$ à $9 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, on commence à ajouter dans le fermenteur l'une des sources de carbone et de vitamines, à
10 savoir la mélasse stérile. On effectue l'addition de mélasse en continu ou bien par portions distinctes à des intervalles de 1 à 3 heures. On cesse l'admission de la mélasse quand le niveau d'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique atteint $7 \cdot 10^{-11}$ à $6 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde
15 et par milligramme de protéine. Au cours de la culture on maintient la température au niveau de $31 \pm 1^\circ C$, et le pH, de 7,4 à 7,8. Pour augmenter le rendement en L-lysine, une fois que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique a atteint $7 \cdot 10^{-11}$ à $6 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde
20 et par milligramme de protéine, on ajoute en outre au milieu de culture une source de carbone et des vitamines jusqu'à ce que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique devienne égale à $2,5 \cdot 10^{-11}$ à $2 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine. A titre de source
25 de carbone il est possible d'utiliser le saccharose, le glucose, le fructose, l'éthanol, l'acide acétique ou leurs associations. A titre de vitamines on utilise la thiamine et la biotine.

Après avoir additionné pour la dernière fois les ali-
30 ments d'appoint, on poursuit le processus pendant encore quelques heures jusqu'à ce que la concentration en substances réductrices devienne égale à 1 - 1,2 %. Au cours de la seconde moitié du processus on maintient le pH au niveau de 7,5 à 7,8 au moyen d'un corps azoté notamment avec de

l'ammoniaque. La culture terminée, on isole de la liqueur de culture la lysine par l'un des procédés connus, ou bien on obtient un concentré fourrager de L-lysine.

On détermine l'activité de la décarboxylase d'acide
5 diaminopimélique par la voie manométrique d'après la quantité de gaz carbonique formé lorsqu'on utilise comme substrat l'acide diaminopimélique. On détermine également l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique d'après la concentration en L-lysine de la liqueur de culture. Pour
10 chaque culture il est possible d'établir graphiquement une relation entre l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique et la concentration en L-lysine du milieu de culture (on construit une courbe de tarage de la relation entre ces deux grandeurs). Cela permet de conduire le processus de culture sous contrôle.
15

En fonction de la concentration en L-lysine au cours de la culture, on juge de l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique.

L'addition complémentaire des constituants du milieu nutritif (source de carbone et vitamines) au cours de la
20 culture permet d'augmenter le rendement en L-lysine. Le procédé revendiqué permet de contrôler le processus en fonction de l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique et d'élever le rendement en L-lysine par rapport aux
25 substances réductrices utilisées jusqu'à 43,5 % en garantissant par là même un rendement absolu en L-lysine jusqu'à 60 à 80,5 g/l dans les conditions industrielles.

L'un des avantages majeurs du procédé revendiqué est d'assurer la possibilité de transformer directement les milieux
30 concentrés à 12 - 15 % en substances réductrices, ce qui ne permet aucun des procédés existants

Les frais de fabrication suivant le procédé revendiqué n'augmentent pas, car le volume des liqueurs de fermentation du concentré réduit par évaporation et séché n'est pas modifié.
35

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention

seront mieux compris à la lecture de la description qui va suivre de plusieurs exemples concrets mais non limitatifs de mise en oeuvre du procédé proposé de préparation de L-lysine.

5 Exemple 1.

On utilise en tant qu'agent producteur (de L-lysine) *Brevibacterium flavium* 22 LD. On multiplie au début la culture initiale sur des géloses penchées, ensuite dans des ballons sur secoueurs et ensuite dans un fermenteur de semences d'une capacité de 400 l sur un mélange nutritif de mélasse. On continue la culture pendant 14 heures à une température de $31 \pm 1^\circ\text{C}$, sous une aération de 60 mg de $\text{O}_2/\text{l.m}$, on maintient le pH du milieu entre 7,4 et 7,8. On chasse sous pression la matière de semence dans un fermenteur d'une

10

15

mélasse 470 (à teneur en sucre de 46 % en poids)
 extrait de maïs 50 kg (à teneur en matières sèches de 50 %)

20 $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ 37 kg

$(\text{NH}_4)_2 \text{HPO}_4$ 0,75 kg

$\text{KH}_2 \text{PO}_4$ 0,75 kg

huile de tournesol 3 l

eau à concurrence de 1 300 l

25 Concentration initiale en substances réductrices 14 %, teneur en L-lysine 2,8 g/l après addition de la matière de semence.

Pendant la croissance de l'agent producteur, on maintient l'aération au niveau $\text{pO}_2 = 20$ à 25 % de la saturation; au bout de 8 à 10 heures de culture, le pH passe à 7,4 - 7,8 et on le maintient à ce niveau. A la 18-e heure de culture, l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique est de $9 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, la teneur en L-lysine est de 18 g/l,

30

35 la concentration en substances réductrices est de 8,8 %.

On introduit en continu dans le fermenteur, pendant trois heures, de la mélasse stérile fraîche à une vitesse de 1 % de substances réductrices par heure, jusqu'à l'abaissement de l'activité de la décarboxylase d'acide diamino-

5 pimélique à $6,8 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine. Par la suite on détermine l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique toutes les 2 à 3 heures.

Après l'introduction de l'aliment d'appoint on abaisse

10 le niveau d'aération jusqu'à 10 % de saturation. A la 37-e heure de culture, l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique est de $5 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, et on introduit dans le

15 milieu de culture des sources de carbone et des vitamines, A titre de sources de carbone on introduit du saccharose en deux portions avec une période de 2 heures jusqu'à ce que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique soit de $3,4 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milli-

20 gramme de protéine, la concentration en L-lysine à la 48-e heure après l'introduction de l'aliment d'appoint est de 48 l/g. Ensuite on poursuit la culture, à la 52-e heure on introduit de nouveau du saccharose avec des vitamines (la biotine et la thiamine) jusqu'à ce que l'activité de la dé-

25 carboxylase d'acide diaminopimélique soit de $2,2 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, la concentration en L-lysine étant alors de 58 g/l. Par la suite on continue la culture jusqu'à ce que la concentration en substances réductrices soit de 1,4 %. A la 63-e heure

30 de fermentation, la liqueur de culture contient 65 g/l de lysine, 24 g/l de matière cellulaire (biomasse) d'agent producteur. On traite la liqueur de culture par l'un des procédés connus en utilisant des résines échangeuses d'ions et on isole la L-lysine.

Le rendement en L-lysine par rapport aux substances

35 réductrices est de 43,6 %.

On maintient au cours du processus le pH du milieu à un niveau optimal en modifiant l'aération en fonction de l'activité de la lactate - déshydrogénase et de l'isocitrate-déshydrogénase. En fin de processus on règle le pH en additionnant de l'ammoniaque en tant que source d'azote.

Exemple 2.

On utilise en tant qu'agent producteur (de la L-lysine) une culture de *Brevibacterium flavum* RC-115. On prépare la matière d'ensemencement d'une manière analogue à celle décrite dans l'exemple 1. Ensuite on poursuit la fermentation dans un fermenteur pilote sur un milieu de composition suivante :

	mélasse 1,65 kg (pour une teneur en sucres de 46 %)
	extrait de maïs 0,52 kg (pour une teneur en matières sèches de 50 %)
15	
	(NH ₄) ₂ SO ₄ 150 g
	KH ₂ PO ₄ 2,5 g
	K ₂ HPO ₄ 2,5 g
	CaCO ₃ 25 g
20	huile de tournesol 30 g
	eau 4,6 l.

La quantité de matière d'ensemencement est de 8 %.

Pendant la croissance de l'agent producteur on maintient l'aération à un niveau pO₂ = 20 à 25 % de la saturation. L'agitation se fait à la vitesse de 600 tr/mn. A la 8-e - 10-e heure de fermentation, le pH augmente jusqu'à une valeur de 7,6 - 7,8 et on le maintient à ce niveau.

A la 14-e heure de culture, pour une activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique de $12 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, on introduit dans le milieu de culture avec une période de 2 heures de la mélasse stérile fraîche avec une consommation de substances réductrices de 1 % en 2 heures. Dans ce cas, entre chaque addition d'aliments d'appoint on mesure l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique. On effectue

l'introduction de l'aliment d'appoint suivant la baisse de l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique jusqu'à $7,5 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine. Cette activité est atteinte à la 22-e

5 heure de culture, la concentration en L-lysine étant alors de 26 g/l. A la 25-e heure, le niveau d'aération est abaissé jusqu'à 12 % de saturation. A la 30-e heure de culture, l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique est de $5 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de pro-

10 téine. La concentration en L-lysine est de 35 g/l ; on introduit en continu dans le milieu de culture du saccharose et un mélange de vitamines B₁ et de biotine. Lorsque la teneur en L-lysine est égale à 60 g/l et que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique est égale à $2,1 \cdot 10^{-11}$ mole

15 de lysine par seconde et par milligramme de protéine, on arrête l'introduction de l'aliment d'appoint. Au cours de la fermentation on règle le pH d'une manière analogue à celle indiquée dans l'exemple 1. A la 58-e heure de fermentation, la teneur en L-lysine est de 80,5 g/l, celle en matière cel-

20 lulaire (biomasse) d'agent producteur est de 24 g/l, la teneur en substances réductrices résiduelles est de 1,4 %. Le rendement en L-lysine par rapport aux substances réductrices utilisées est de 43,5 %.

Exemple 3.

25 On utilise en tant qu'agent producteur de L-lysine une culture de *Micrococcus glutamicus* T-3.

On conduit la culture sur un milieu nutritif analogue à celui de l'exemple 1.

30 En tant que source des facteurs biologiques de croissance on utilise un produit d'hydrolyse d'un concentré vitamines-protéines.

A la 22-e heure de fermentation, l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique est de $9,2 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine. La

35 concentration en L-lysine est de 17 g/l. On introduit en

continu dans le milieu de la mélasse stérile jusqu'à ce que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique soit de $6,6 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine. Pareille activité est atteinte à la 32-e heure de culture, la concentration en L-lysine de la liqueur de culture est de 28 g/l. Ensuite on abaisse le niveau d'aération de sa valeur initiale,,qui est de 18 à 25 % de saturation, jusqu'à 10 - 12 % de saturation. A la 48-e heure de culture l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique est de $4 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, on introduit dans le milieu de culture des portions de glucose et de vitamines (thiamine et biotine) jusqu'à ce que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique soit abaissée jusqu'au niveau de $2,5 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine. Au cours de la fermentation on règle le pH d'une manière analogue à celle indiquée dans l'exemple 1. Ensuite on poursuit la fermentation jusqu'à une concentration en substances réductrices de 1,4 %. A la 65-e heure de fermentation la liqueur de culture contient de la L-lysine à raison de 48,5 g/l, la matière cellulaire (biomasse) d'agent producteur à raison de 23 g/l. Le rendement en L-lysine est de 43,1 % par rapport aux substances réductrices.

Exemple 4.

On utilise comme agent producteur une culture de *Brevibacterium flavum* RC-115. On prépare la matière d'ensemencement d'une façon analogue à celle décrite dans l'exemple 1. On poursuit la fermentation dans un fermenteur pilote sur un milieu nutritif de composition suivante :

mélasse	1,72 kg (pour une teneur en sucres de 46 %)
extrait de maïs	0,52 kg (pour une teneur en substances sèches de 50 %)

	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	150 g
	KH_2PO_4	2,5 g
	K_2HPO_4	2,5 g
	MgSO_4	1,0 g
5	CaCO_3	25 g
	huile de tournesol	30 g
	eau à concurrence de	4,6 l.

La quantité de matières d'ensemencement est de 8 %.

Teneur en substances réductrices au début du processus : 15 %.

10 Pendant la croissance de l'agent producteur on maintient l'aération à un niveau de $\text{pO}_2 = 20$ à 25 % de la saturation. L'agitation se fait à la vitesse de 600 tr/mn. A la 8-e - 10-e heure de fermentation le pH augmente jusqu'à 7,8 et on le maintient à ce niveau.

15 A la 20-e heure de culture, pour une activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique de $9,7 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, on introduit dans le milieu de culture avec une période de 2 heures de la mélasse stérile de façon que l'utilisation des
20 substances réductrices soit de 1 % en 2 heures.

Entre chaque addition de l'aliment d'appoint on mesure l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique. On conduit l'introduction de l'aliment d'appoint jusqu'à ce que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique soit
25 réduite à $6,4 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, ensuite on cesse cette alimentation. Cette activité est atteinte à la 28-e heure de fermentation, la concentration en L-lysine dans ce cas se chiffre par 35 g/l.

On poursuit la fermentation jusqu'à une teneur en
30 substances réductrices résiduelles de 1,6 %. On maintient le pH au cours du processus en modifiant l'aération en fonction de l'activité de la lactate-déshydrogénase et de l'isocitrate-déshydrogénase. A la fin du processus on règle le pH avec une substance azotée telle que l'ammoniaque.

35 A la fin du processus, à la 69-e heure de fermentation,

la liqueur de culture contient 76,4 g/l de L-lysine, 27g/l de matière cellulaire (biomasse). Le rendement en L-lysine par rapport aux substances réductrices utilisées est de 43,5 %.

5 Exemple 5.

On utilise à titre d'agent producteur (de la L-lysine) une culture de *Brevibacterium flavum* RC-115.

On fait croître la matière d'ensemencement et on prépare le milieu nutritif d'une manière analogue à celle décrite dans l'exemple 1. Jusqu'à la 18-e heure de fermentation on conduit le processus d'une manière analogue à celle de l'exemple 1. Pour une concentration en L-lysine de 18,6 g/l, ce qui correspond à une activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique de $9,1 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, on ajoute périodiquement à la liqueur de culture (avec une période de deux heures) de la mélasse stérile. Entre chaque addition d'aliment d'appoint on détermine la concentration en L-lysine et on juge, d'après cette concentration, de l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique. On arrête l'addition d'aliment d'appoint lorsque la teneur en L-lysine de la liqueur de culture est de 30 g/l, ce qui correspond à une activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique de $7 \cdot 10^{-11}$ mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine.

25 On poursuit la fermentation jusqu'à ce que la teneur en substances réductrices de la liqueur de culture soit abaissée jusqu'à 1,4 %, on maintient le pH pendant la fermentation en modifiant l'aération en fonction de l'activité de la lactate-déshydrogénase et de l'isocitrate-déshydrogénase. A la fin du processus on règle le pH avec une substance azotée telle que l'ammoniaque.

30 A la fin du processus, à la 60-e heure de culture, la liqueur de culture contient 65,6 g/l de L-lysine, 24,7 g/l de matière cellulaire (biomasse). Le rendement en L-lysine par rapport aux substances réductrices utilisées est égal à 43,7%.

Bien entendu, l'invention n'est nullement limitée aux modes de réalisation décrits et représentés qui n'ont été donnés qu'à titre d'exemple. En particulier, elle comprend tous les moyens constituant des équivalents techniques des moyens
5 décrits, ainsi que leurs combinaisons, si celles-ci sont exécutées suivant son esprit et mises en oeuvre dans le cadre de la protection comme revendiquée.

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation de L-lysine par culture en profondeur d'agents producteurs de celle-ci sur un milieu nutritif contenant des sources de carbone, de l'azote, des sels minéraux, des substances biologiquement actives, dans
5 des conditions aérobies avec addition de constituants du milieu nutritif au cours de la culture, et avec séparation, subséquente du produit final d'avec le milieu de culture, caractérisé en ce qu'au cours de la culture on détermine dans les cellules de l'agent producteur l'activité de la
10 décarboxylase d'acide diaminopimélique ou les concentrations correspondantes de L-lysine, et quand l'activité de ladite décarboxylase atteint 12.10^{-11} - 9.10^{-11} mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, on introduit dans le milieu de culture l'un des constituants du milieu nutritif qui contiennent du carbone et des vitamines, tel que la
15 mélasse, que l'on introduit dans le milieu de culture au cours du processus de culture jusqu'à ce que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique ait baissé à 7.10^{-11} - 6.10^{-11} mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine.

2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que, une fois que l'activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique a baissé à 7.10^{-11} - 6.10^{-11} mole de lysine par seconde et par milligramme de protéine, on introduit
25 additionnellement dans le milieu de culture une source de carbone et des vitamines, que l'on introduit tout au long du processus de culture jusqu'à ce que soit atteinte une activité de la décarboxylase d'acide diaminopimélique égale à $2,5.10^{-11}$ - 2.10^{-11} mole de lysine par seconde et par mil-
30 ligramme de protéine.

3. Procédé suivant l'une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'à titre de source de carbone et de vitamines on utilise le saccharose avec de la biotine et de la thiamine ou le glucose avec de la biotine et de la thiamine.

4. La L-lysine caractérisée en ce qu'elle est obtenue par le procédé faisant l'objet de l'une des revendications 1,2 et 3.