

# Bioraffinerie et biologie de synthèse

*Ingénieur en microbiologie industrielle et appliquée, docteur en microbiologie, Gilles Ravot est Directeur Général de la société PIVERT<sup>1</sup>, dont l'ambition est d'accompagner les industriels dans le développement de procédés compétitifs et respectueux de l'environnement. Jérôme Le Nôtre est docteur en chimie et est Responsable Recherche&Développement de la société PIVERT.*

Le concept de bioraffinerie joue un rôle clé dans les travaux conduits au sein de la SAS PIVERT (**Figure 1**), qui se veut être un acteur de référence de la transition énergétique. L'objectif de ce chapitre est de présenter et d'illustrer, à travers l'exemple de la fabrication de lubrifiants, l'intérêt de combiner la biologie de synthèse et la chimie en vue de produire une molécule d'intérêt industriel (**Figure 2**). La SAS PIVERT est une entreprise née dans le cadre du « Programme Investissements d'Avenir<sup>2</sup> » pour porter l'ITE

éponyme, qui a pour ambition de participer à la diversification des usages des produits agricoles ainsi qu'à



**Figure 1**

*L'Institut pour la Transition Énergétique (ITE) P.I.V.E.R.T., pour « Picardie Innovations Végétales, Enseignements et Recherches Technologiques », a été sélectionné dans le cadre du Programme Investissements d'Avenir en juin 2011 et bénéficie d'un financement de l'État pouvant atteindre 64 M€. La Région Hauts-de-France ainsi que l'Agglomération de la Région de Compiègne (ARC) soutiennent également l'ITE P.I.V.E.R.T. dans ses projets.*

Source : SAS PIVERT.

1. [www.sas-pivert.com](http://www.sas-pivert.com)

2. Programme Investissements d'Avenir : programme d'investissement de l'État français favorisant l'excellence, l'innovation et la coopération.



Figure 2

La société PIVERT a pour finalité le développement d'une filière française compétitive (innovation et industrialisation) dans le domaine de la chimie du végétal à partir de biomasse oléagineuse.

Source : SAS PIVERT.

Figure 3

La SAS PIVERT est un acteur de la transition énergétique. À l'interface entre la recherche et l'industrie, PIVERT développe et commercialise de nouveaux produits à base de carbone renouvelable et de procédés innovants, économiquement compétitifs et respectueux de l'environnement.

Source : iStock.



Figure 4

La société PIVERT est une société innovante du domaine de la bioéconomie, créée en 2012. Cette société est implantée au Parc Technologique des Rives de l'Oise à Compiègne.

Source : Vertical Photo.

l'incorporation de davantage de carbone renouvelable<sup>3</sup> dans l'industrie (Figure 3).

Le simple fait d'introduire du carbone renouvelable ne suffit pas au succès de la biologie de

synthèse ou de la chimie verte dans le monde industriel, il faut aussi que les procédés et produits qui en résultent soient techniquement et économiquement performants.

Dans ce but, la SAS PIVERT développe, avec ses partenaires, des solutions innovantes, propriétaires, à vocation industrielle, à base de matières premières renouvelables (Figure 4).

3. Carbone renouvelable : se dit d'une substance chimique issue de matière première biosourcée (c'est-à-dire de la biomasse). Ce terme est en opposition avec les produits chimiques issus de la pétrochimie (pétrosourcés).

## 1 Le BIOGIS Center : de la matière première aux bioproduits

Le BIOGIS Center est une plateforme technologique dédiée à l'industrialisation de la chimie du végétal en particulier dans les domaines de la chimie, de la protection des plantes et de l'alimentation animale (Figure 5).

Dans le domaine de la chimie, nous nous intéressons plus particulièrement au domaine des additifs industriels en utilisant les huiles végétales comme matières premières de prédilection. Ces additifs se retrouvent le plus souvent dans des milieux dispersés<sup>4</sup>, par nature hétérogènes, du fait de la présence de plusieurs phases, le plus souvent eau-dans-huile ou huile-dans-eau. Les marchés visés, pour n'en citer que quelques-uns, sont ceux de la cosmétique (un produit cosmétique est notamment composé d'eau, d'huile et d'air), les marchés des lubrifiants ou encore du « Oil&Gas » (c'est-à-dire forage et extraction pétrolière).

Dans le domaine de la protection des végétaux, nous utilisons les micro-organismes et les extraits naturels pour concevoir des produits de biocontrôle<sup>5</sup>. Le remplacement

des produits phytosanitaires<sup>6</sup> conventionnels issus de la pétrochimie est plus que présent. C'est aujourd'hui une réalité notamment dans les collectivités territoriales où leur usage n'est plus autorisé. Depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2018, nous n'avons plus le droit d'utiliser ces mêmes produits phytosanitaires de synthèse chez le particulier (pour ce que l'on nomme « Home and Garden »).

Dans l'agriculture, il y a non seulement une forte incitation, mais aussi des mesures coercitives pour sortir petit à petit de l'usage conventionnel des produits phytosanitaires et proposer des solutions biosourcées<sup>7</sup>, dites de biocontrôle (quand il s'agit de lutter contre un bioagresseur), ou de biostimulation<sup>8</sup> (quand il s'agit

6. Produit phytosanitaire : produit contenant une ou plusieurs substances actives ayant pour but de protéger les végétaux contre les nuisibles, d'assurer la conservation des végétaux ou d'exercer une action sur les processus vitaux des végétaux. Les produits phytosanitaires sont, avec les engrais, les deux principales sources de pollution des eaux superficielles et souterraines par le secteur agricole.

7. Biosourcé : se dit d'une substance créée à partir de matière première renouvelable. Ces substances sont obtenues après transformation de la biomasse : oléoprotéagineux (colza...), plantes amidonnées (maïs, blé...) et sucrières (betterave...), plantes à fibres (lin, chanvre), micro-algues et macro-algues...

8. Biostimulation : méthode de traitement utilisant une substance naturelle ou un micro-organisme vivant non pathogène pour induire (ou préparer à induire) des réponses de défense chez une plante qui conduisent à une meilleure résistance de la plante face à des stress abiotiques et biotiques.



Figure 5

Chimie, protection des plantes, alimentation animale : trois domaines d'application sur lesquels la SAS PIVERT se concentre.

Source : SAS PIVERT.

4. Milieu dispersé : suspension d'une ou plusieurs substances, dispersées régulièrement dans une autre substance, formant un système à deux phases séparées.

5. Biocontrôle : ensemble de méthodes de protection des cultures basées sur le recours à des organismes vivants ou des substances naturelles.

d'aider la plante à se développer ou à résister à des stress abiotiques). Un des enjeux majeurs est de maintenir les rendements, grâce aux technologies de remplacement sans augmenter les coûts de traitement, et ainsi maintenir le revenu des agriculteurs.

Le troisième domaine d'application dans lequel la SAS PIVERT est active est celui de l'alimentation animale où nous développons des solutions innovantes en particulier sous la forme d'additifs.

Le point commun à ces trois domaines est la matière première « oléo-protéagineuse » (colza et tournesol, en particulier en France). Une plante oléagineuse<sup>9</sup> contient de l'huile qui permet de nous diriger vers les différentes applications. Cette huile permet de fabriquer des produits chimiques, mais elle peut éventuellement avoir des applications alimentaires dans un concept de bioraffinerie.

Lors du pressage de la graine est extrait un coproduit riche en protéines, appelé « tourteau », qui sert à l'alimentation animale. Dans une logique de bioraffinerie, nous nous servons aussi de la matière première lignocellulosique<sup>10</sup>

9. Plante oléagineuse : plante dont les graines ou les fruits sont riches en lipides. Ces plantes sont cultivées afin de produire des huiles et des corps gras à usage alimentaire ou industriel.

10. Lignocellulose : constituant principal de la paroi cellulaire des plantes. Elle est la source de carbone renouvelable la plus abondante de la planète. Elle est constituée majoritairement de cellulose, d'hémicellulose et de lignine.

comme brique de départ pour faire de la chimie.

Comme pour beaucoup de sociétés innovantes, souvent regroupées sous le terme générique de « start-up », notre modèle de développement est un modèle de type « partenariat » (Figure 6), notre ambition étant de développer, avec des partenaires industriels, des solutions dans les trois domaines d'application précités.

Dans ce contexte, nous avons un positionnement un peu particulier (Figure 6). Notre porte d'entrée chez nos partenaires industriels est la propriété intellectuelle, qui nous permet de proposer des solutions originales et donc de les intéresser à s'investir à nos côtés dans un partenariat.

Notre seconde caractéristique est que notre société n'est pas positionnée de manière exclusive sur la recherche mais plutôt sur le passage de la recherche à l'application industrielle. Nous focalisons nos efforts sur le passage du laboratoire à l'industrie, ce qui correspond souvent à une étape cruciale nécessitant beaucoup d'investissement. La SAS PIVERT est capable de mener cette étape de montée en échelle en lien avec le partenaire industriel et donc de limiter de manière significative l'investissement industriel du changement d'échelle.

Le troisième élément de différenciation par rapport à la start-up traditionnelle concerne notre réseau scientifique et le fait que nous ayons été capables de nouer un accord de collaboration structurel fort avec plus de



**Figure 6**

La SAS PIVERT propose des solutions innovantes et durables. Le passage de la preuve de concept à la démonstration industrielle est une phase clé du transfert de technologies (innovation, industrialisation, propriété intellectuelle). Le fonctionnement de la société repose sur un écosystème impliquant plus de soixante laboratoires académiques, centres techniques partenaires et des partenaires industriels.

Source : SAS PIVERT.

soixante laboratoires académiques. Cette collaboration nous permet de lever des verrous scientifiques en particulier dans le domaine de la biologie de synthèse. Sur ce point, la difficulté au niveau de la SAS PIVERT est de savoir comment traduire un verrou qui constitue une limite au développement d'une application industrielle en une question scientifique pour les chercheurs. Cette collaboration entre la recherche académique et la recherche industrielle est très fructueuse, et l'exemple qui sera présenté a été réalisé dans ce cadre.

La SAS PIVERT s'investit donc aussi au niveau du développement industriel, et c'est dans ce cadre qu'a été construit le BIOGIS Center, véritable démonstrateur de la bioraffinerie et trait d'union entre recherche et industrie (Figure 7).

L'échelle à laquelle nous travaillons est intermédiaire entre l'échelle d'un laboratoire de recherche et celle d'un atelier de fabrication industrielle : nous commençons sur quelques litres à quelques dizaines de litres et nous nous arrêtons à l'échelle de quelques mètres cubes.

À partir du moment où le procédé à cette échelle est au point, du point de vue technique et économique, la SAS PIVERT est en mesure de rédiger des documents de type « technical package », qui permettent de réellement envisager une exploitation industrielle des résultats.

Dans ce contexte, la biologie de synthèse n'est autre qu'un outil de plus pour transformer de manière efficace un substrat en produit. Mais c'est un outil particulier, avec des complexités et des temps de développement qui lui sont propres.



Figure 7

Le BIOGIS Center est une plateforme technologique de 6 000 m<sup>2</sup> entièrement dédiée à l'extrapolation vers l'échelle industrielle des procédés mis au point en laboratoire. Ce bâtiment a été conçu pour accélérer le développement des technologies de valorisation de la biomasse (notamment oléagineuse) destinées à la fabrication de bioproduits.

Source : Vertical Photo, SAS PIVERT.

Nous travaillons souvent sur des produits dont les valeurs ajoutées sont relativement moyennes, même lorsque qu'il s'agit de spécialités, nous ne sommes pas dans le domaine pharmaceutique, il faut donc également prendre cela en compte dans l'intérêt économique du procédé.

## 2 La bioraffinerie

Une bioraffinerie, par analogie avec une raffinerie pétrolière, est un lieu où la biomasse est transformée de manière durable par un processus de traitement en un éventail de produits biosourcés (carburants, produits chimiques, matériaux, alimentation humaine et animale). C'est à ce niveau que la biologie de synthèse peut avoir un intérêt particulier.

Ces produits biosourcés trouvent des applications diverses et variées, mais la bioénergie reste un des principaux vecteurs économiques de la bioraffinerie (tout au

moins telle qu'elle a été imaginée il y a quelques dizaines d'années) (Figure 8).

Il existe deux types de bioraffineries :

- les bioraffineries « portuaires » : analogues aux raffineries pétrolières, elles se caractérisent généralement par le fait qu'elles ne transforment qu'une seule biomasse arrivant de loin, transportée par bateau. Ces bioraffineries ne produisent, en général, qu'un voire deux produits. Elles sont souvent concernées par des applications énergétiques ;
- les bioraffineries « territoriales » : elles traitent des matières premières plus diversifiées venant d'un horizon géographique beaucoup plus restreint (à proximité du site de transformation, en général à 50-100 km autour de la bioraffinerie). Ce sont des petites unités industrielles se caractérisant par leur capacité à traiter plusieurs types de matières premières pour délivrer plusieurs produits.

Ces deux types de bioraffineries ne sont pas opposés,

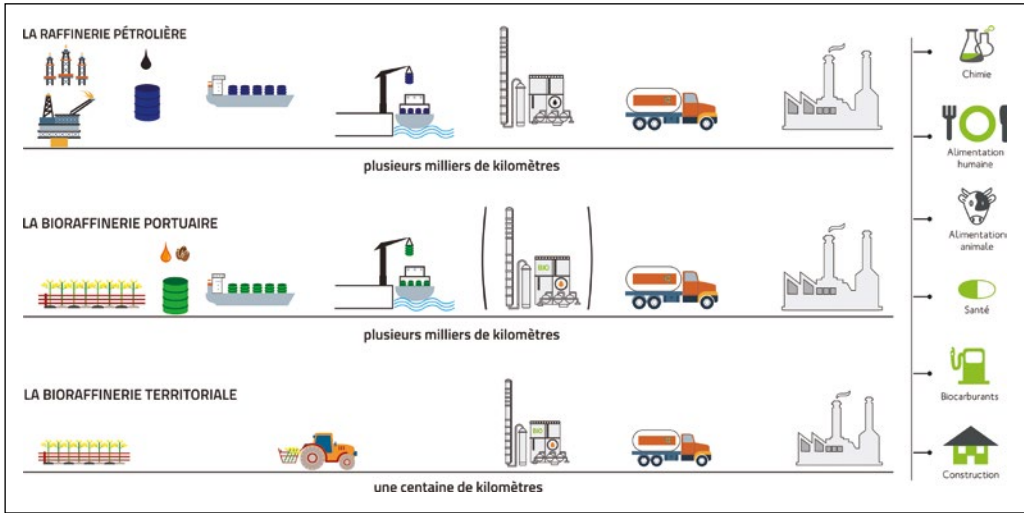


Figure 8

Une bioraffinerie est un complexe industriel permettant de valoriser la biomasse pour produire principalement des molécules chimiques et de l'énergie. En fonction du type de bioraffinerie (portuaire ou territoriale), les applications sont différentes.

Source : SAS PIVERT.

elles ont toutes deux leur intérêt. Elles ne permettent pas de générer les mêmes revenus, ne s'adressent pas aux mêmes producteurs ni aux mêmes consommateurs.

### La bioraffinerie des oléagineux

L'utilisation de la biologie de synthèse est intéressante pour la transformation des oléagineux au sein de la bioraffinerie (Figure 9). La plante oléagineuse en tant que matière première permet de disposer d'une graine – contenant de l'huile et des protéines – et de biomasse lignocellulosique. Cette matière lignocellulosique est souvent associée à la tige ou à la paille. Tout un ensemble de processus permet ensuite d'aboutir aux bioproduits et aux biomatériaux (Figure 9).

Prenons l'exemple du tournesol pour illustrer la valorisation des différentes fractions : la coque qui entoure la graine est séparée sur la bioraffinerie avant l'étape de pressage. Cette coque est ensuite brûlée. Elle possède donc une valeur : sa valeur énergétique. De l'autre côté, l'amande est triturée (pressage et optimisation de la récupération d'huile), afin d'obtenir de l'huile et un tourteau, riche en protéines.

Jusqu'à présent, l'objectif était plutôt d'optimiser la récupération de l'huile quitte à dégrader la valeur nutritionnelle du tourteau. Aujourd'hui le choix a tendance à s'inverser du fait de l'accroissement de la valeur de la protéine du tourteau, ce qui implique de repenser le mode de traitement de ces deux matières au niveau de la trituration.

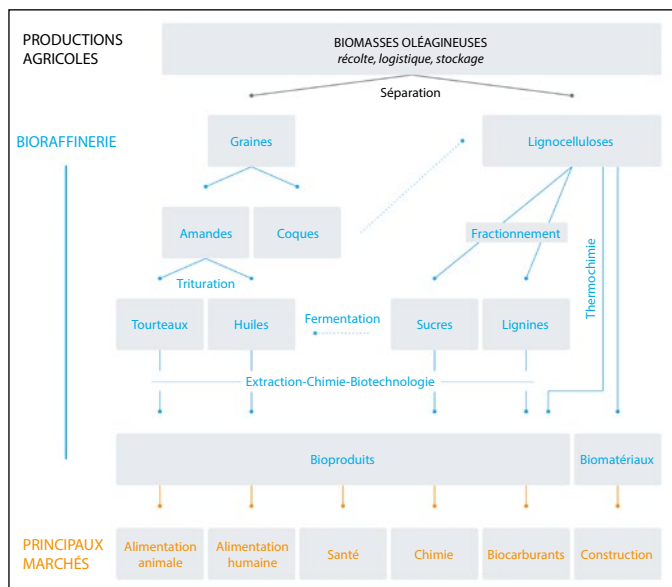


Figure 9

La bioraffinerie oléagineuse permet de valoriser la biomasse oléagineuse (colza, tournesol, soja, moutarde ou cameline). Grâce à un processus dont les grandes étapes sont la séparation (des graines et de la lignocellulose), le fractionnement, la trituration, la fermentation et l'extraction, des matières biosourcées et durables sont produites.

Source : SAS PIVERT.

Pour appliquer la biologie de synthèse au niveau de la bioraffinerie, nous disposons au minimum de deux sources de matières premières d'intérêt pour faire de la biotechnologie (en particulier de la fermentation<sup>11</sup>). La première source réside dans les sucres issus du fractionnement de la lignocellulose, appelés sucres de seconde génération. Ils peuvent être utilisés dans de nombreuses applications, y compris pour faire des huiles. La seconde source de matière première réside

11. Fermentation : dégradation de la matière organique par des micro-organismes associés industriellement à la production d'une ou plusieurs molécules d'intérêt.

dans la partie huile. L'huile est composée d'acides gras et de glycérol (propane-1,2,3-triol). Ce dernier est un substrat qui a été très travaillé pendant de nombreuses années pour faire de la fermentation car le glycérol était considéré comme un co-produit bon marché de la fabrication du biodiesel. Cependant, avec le recul des ventes de véhicules diesel d'une part et le développement d'autres voies de valorisation d'autre part, le glycérol est aujourd'hui moins compétitif qu'il ne l'était, probablement moins compétitif que le sucre.

### 3 Ingénierie métabolique et biologie de synthèse

La biologie de synthèse est utilisée, au sein de la SAS PIVERT, pour faire de l'ingénierie métabolique et concevoir des micro-organismes capables de produire, principalement par voies fermentaires, des composés chimiques à partir des deux matières premières renouvelables disponibles précédemment citées : les sucres et le glycérol.

Elle est également utilisée pour faire un peu de bioconversion<sup>12</sup>, ainsi que de la biocatalyse<sup>13</sup>.

Dans tous les cas, la biologie de synthèse concerne la production de composés chimiques à

12. Bioconversion : transformation d'une substance organique en une autre à l'aide d'une cellule vivante.

13. Biocatalyse : processus visant à utiliser des catalyseurs naturels (par exemple une enzyme) dans une réaction de synthèse organique. Ce type de catalyse est effectué dans des conditions douces.



partir de matières premières renouvelables. Pour produire de manière compétitive à l'aide d'un micro-organisme, il est important de s'intéresser au minimum à trois caractéristiques de la production : le rendement, le titre final et la productivité :

- le rendement correspond au pourcentage de carbone du substrat qui va se retrouver dans le produit, caractère qui va évidemment impacter l'économie du procédé ;
- le titre final est la concentration en produit. Plus le produit est dilué plus nous aurons besoin de manipuler des volumes importants et plus il sera difficile à récupérer, donc plus cela sera coûteux ;
- la productivité est la capacité qu'a une souche à produire par unité de temps et unité de volume une quantité de produits déterminée.

Ces trois facteurs sont indispensables à prendre en compte dans la conception des procédés.

Au moins deux de ces trois paramètres sont davantage liés au châssis qu'à la voie de synthèse. C'est particulièrement vrai pour le titre final : si pour produire un solvant on utilise une souche sensible à ce solvant, on va être très vite limité. C'est assez simple à comprendre mais souvent occulté car on a tendance à ne regarder que la disponibilité de l'outil génétique<sup>14</sup>. Il est certes important de disposer d'outils génétiques, mais

14. Outil génétique : outil permettant de modifier le génome et l'expression des gènes au sein d'une cellule.

il est encore plus important de comprendre comment le châssis (la souche) va pouvoir apporter des réponses à la problématique du titre final et de la productivité.

### 3.1. L'exemple de la production d'acides gras cyclopropaniques<sup>15</sup>

L'exemple concerne la production des CFA, des acides gras cyclopropaniques<sup>16</sup> (**Figure 10**). Ces acides gras sont synthétisés naturellement par divers organismes : des micro-algues, des levures, de nombreuses plantes à fruits (**Figure 11**), mais en très faibles quantités. Ils sont potentiellement accessibles chimiquement à partir d'acides gras insaturés mais par des voies de cyclopropanation (formation d'un cycle à trois carbones, comme représenté sur la **Figure 10**) employant des réactifs dangereux et non biosourcés. La production fermentaire des CFA apparaît donc plus avantageuse sur plusieurs points.

15. La majeure partie des résultats présentés succinctement ci-après ont été obtenus dans le cadre des deux projets « MetaLipPro » financés par la SAS PIVERT et réalisés en collaboration avec plusieurs laboratoires dont ceux de Brigitte Thomasset de l'Université de Technologie de Compiègne et Jean-Marc Nicaud de l'INRA. Ces projets ont bénéficié d'une aide de l'État au titre du Programme d'Investissements d'Avenir portant la référence ANR-001-01.

16. Acides gras cyclopropaniques ou CFA (« *Cyclopropanoic Fatty Acids* ») : molécules entrant dans la composition des huiles de graines de certaines plantes (appartenant généralement à l'ordre des Malvales et des Sapindales).

Figure 10

Acide gras insaturé  
cyclopropanique.

Source : SAS PIVERT.

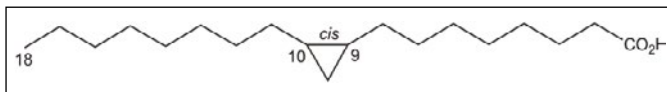


Figure 11

Les CFA entrent dans la composition de lipides des micro-organismes (microalgue, levure) et des huiles de graines de certaines plantes (litchi, coton, arbre caca).

Suite à une production par le biais de la biologie de synthèse, l'utilisation de la chimie, par une étape d'hydrogénation<sup>17</sup>, permet de transformer les CFA en acides gras ramifiés<sup>18</sup>, ayant des propriétés intéressantes en matière de résistance à l'oxydation, notamment si on les compare à des acides gras non ramifiés insaturés<sup>19</sup>. Ils possèdent également des propriétés intéressantes en

matière de viscosité à basse température. Pour toutes ces raisons, ce sont des composés intéressants d'un point de vue industriel, notamment comme lubrifiants.

#### Choix du châssis : la levure *Yarrowia lipolytica*

Il existe des levures oléagineuses, qui, dans certaines conditions, ont naturellement la capacité d'accumuler de l'huile en quantité importante. C'est le cas de la levure *Yarrowia lipolytica* (Figure 12), sur laquelle nous avons beaucoup travaillé. Son génome est complètement séquencé, et beaucoup d'outils génétiques permettent de travailler avec cette levure. De plus, le métabolisme des triglycérides<sup>20</sup> est connu et cette levure est assez facile à cultiver industriellement.

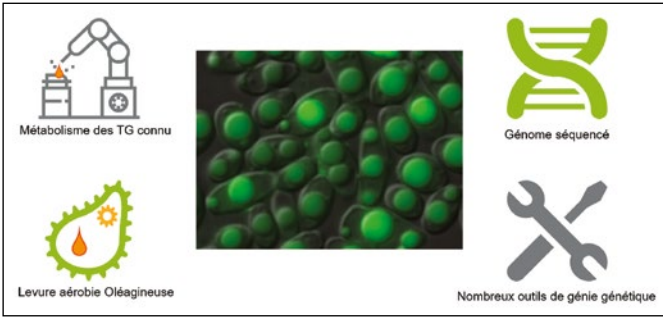
Cette souche est donc potentiellement très intéressante pour la production d'huile microbienne à partir de sucres ou à partir de glycérol. Dans

17. Hydrogénation : réaction chimique qui consiste en l'addition d'une molécule de dihydrogène au niveau d'un autre composé chimique. L'hydrogénation est une réaction souvent appliquée aux acides gras insaturés afin de rendre solide, semi-solide ou plastique une matière grasse liquide à température ambiante, ou encore pour diminuer les réactions d'oxydation et de dégradation de la matière grasse.

18. Acide gras ramifié : acide gras qui possède une ou plusieurs ramifications au sein de sa structure. Cela signifie que sur la chaîne principale, des substituants sont greffés.

19. Acide gras insaturé : acide gras qui possède une ou plusieurs liaisons doubles dans la chaîne carbonée (par exemple l'acide oléique, l'acide linoléique, l'acide arachidonique). Un acide gras est une molécule de la famille des lipides, formée d'une chaîne carbonée possédant un groupement acide carboxylique -COOH terminal.

20. Triglycéride : constituant principal des graisses animales et de l'huile végétale. La structure chimique repose sur l'estérification de trois groupes hydroxyle du glycérol par des acides gras.



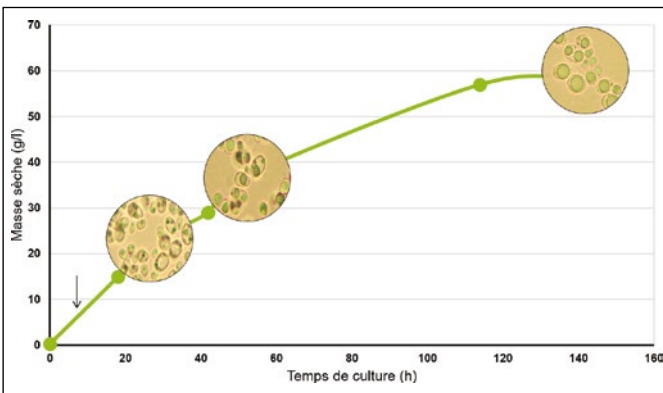
**Figure 12**

Les avantages de la levure *Yarrowia lipolytica* pour la production d'huile microbienne à partir de sucres ou de glycérol.  
Source : SAS PIVERT.

le cas de la production des CFA, le travail de recherche a principalement consisté à modifier la souche pour lui permettre d'accumuler un maximum d'huile et à introduire un gène codant pour une enzyme permettant d'insérer un cyclopropane dans un acide gras. Dans un second temps, l'autre partie du travail a consisté en l'optimisation des conditions de fermentation. Il a en effet porté sur la variation de la composition du milieu de culture et de la nature des matières premières utilisées, mais aussi sur les durées des différentes phases de la fermentation. De plus, une transposition à des

échelles supérieures de plusieurs dizaines de litres s'est effectuée en parallèle.

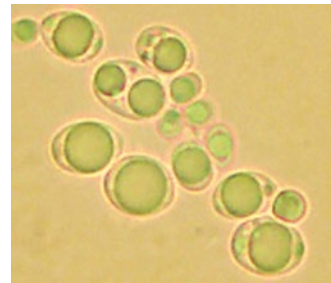
Sur la **Figure 13** nous pouvons voir que cette souche, après ingénierie métabolique et optimisation fermentaire, permet d'atteindre des titres en biomasse relativement intéressants, de l'ordre de 60 grammes par litre. La souche accumule également des quantités d'huile relativement importantes tout au long de sa croissance au sein des cellules. En fin de culture, la quasi-totalité de l'espace intracellulaire est occupée par l'huile sous forme de gouttelettes appelées corps lipidiques (**Figure 14**).



**Figure 13**

Résultats de la fermentation de la levure *Yarrowia lipolytica*. Au cours de la fermentation des levures, la teneur en huile (ramenée au poids sec des cellules) augmente de manière très significative. Après 180 heures de culture, la majorité de l'espace intracellulaire est occupée par l'huile.

Source : SAS PIVERT.



**Figure 14**

Après plusieurs heures de fermentation, les corps lipidiques occupent la quasi-totalité de l'espace intracellulaire illustrant le remarquable potentiel d'accumulation lipidique de *Yarrowia lipolytica*.

Source : SAS PIVERT.



**Figure 15**

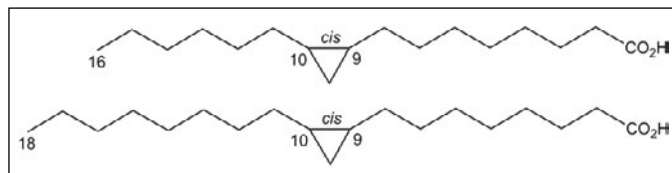
Séparation spontanée des phases aqueuses et lipidiques. La phase lipidique d'intérêt est à la surface.  
Source : SAS PIVERT.

En fin de fermentation, le moût<sup>21</sup> est récupéré. Du fait de l'accumulation d'huile, la levure ne sédimente pas comme tout micro-organisme mais flotte (Figure 15). L'huile représente environ 70 % de la biomasse sèche. Les CFA contenus dans l'huile représentent 20 à 30 % des acides gras totaux.

Pour de nombreuses applications industrielles, il n'est pas nécessaire d'avoir une molécule pure, une huile enrichie en CFA peut donc être valorisée sans extraction préalable des CFA pour autant que les performances attendues soient vérifiées. On peut voir sur la Figure 16 que la souche produit en réalité non pas un mais deux CFA : un à partir de l'acide oléique et un à partir de l'acide palmitoléique.

Dans cet exemple de fermentation nous avons recherché la performance applicative et cela ne pose aucun problème d'obtenir un mélange : les deux molécules sont ensuite hydrogénées pour obtenir les

21. Moût de fermentation : produit de la fermentation contenant les cellules et le milieu de culture fermenté.



**Figure 16**

Deux acides gras cyclopropaniques sont produits au cours de la fermentation (un à partir de l'acide oléique et un à partir de l'acide palmitoléique). Les structures moléculaires sont très proches mais différentes de par leur nombre d'atomes de carbone de la chaîne grasse.

Source : SAS PIVERT.

molécules d'intérêt aux propriétés lubrifiantes.

Nous pourrions cependant imaginer, en développant un autre volet de l'ingénierie métabolique, en l'occurrence l'ingénierie enzymatique, modifier l'enzyme qui permet la synthèse des CFA pour la rendre plus spécifique de l'un ou de l'autre des deux substrats.

### 3.2. Industrialisation de la production de CFA : extraction des produits d'intérêt

On pourrait logiquement penser que pour extraire la matière huileuse (les triglycérides et les CFA), il faille sécher et presser les cellules, comme on le fait par analogie avec les graines végétales. Cependant, l'étape de séchage demeure encore un verrou technique à lever pour envisager l'industrialisation de la production d'huile microbienne.

Une voie alternative consiste à lyser<sup>22</sup> les cellules à l'aide d'un homogénéisateur pour réaliser une émulsion avant d'effectuer une extraction liquide-liquide<sup>23</sup> avec un solvant. Cette dernière étape permet de récupérer les molécules d'intérêt.

Aujourd'hui, au-delà de la « performance produit », cette

22. La lyse est la destruction de la membrane d'une cellule par un agent physique, chimique ou biologique, provoquant sa mort.

23. Extraction liquide-liquide : méthode de séparation consistant à extraire une substance par transfert entre deux phases liquides non miscibles.

problématique d'extraction reste encore un sujet de développement devant être traité pour pouvoir envisager une

industrialisation de la production de CFA et des molécules qui en dérivent pour les applications envisagées.

## Les défis de l'utilisation de la biologie de synthèse dans le bioraffinage

Pour utiliser la biologie de synthèse dans les bioraffineries et passer de l'idée au produit industriel, il demeure au minimum trois défis importants (**Figure 17**). Nous avons beaucoup parlé du système de production, c'est-à-dire de l'assemblage entre le châssis et la voie métabolique, c'est évidemment important. La récupération du produit et son développement à l'échelle industrielle ne doit pas être découplée mais traitée en même temps que la problématique de production. Enfin, il convient de toujours considérer l'application finale et les contraintes qui en résultent afin de s'assurer que les performances techniques et économiques du produit seront optimales.



**Figure 17**

*Le développement d'une idée jusqu'à son industrialisation est un travail complexe en biologie de synthèse qui repose sur trois paramètres importants : le système de production (à gauche), la problématique de séparation des produits d'intérêt (au milieu) et l'application industrielle (à droite).*

Source : SAS PIVERT.