

CO₂ et microalgues, pour une chimie renouvelable

Claude Gudin est ancien directeur des programmes à la British Petroleum, puis au CEA. Écrivain, essayiste et consultant scientifique.

1 Quand un monde invisible se manifeste à nous

Les microalgues sont des organismes végétaux microscopiques présents sur Terre depuis plus de 3,5 milliards d'années. Elles sont en permanence tout autour de nous. Lorsque les conditions deviennent favorables (présence d'une forte humidité et de lumière), elles prolifèrent et se rendent visibles par leurs couleurs comme il est possible de le voir sur les branches d'un arbre (**Figure 1**) ou dans les flaques d'eau lors d'une journée ensoleillée suivie de fortes pluies d'orage (**Figure 2**). Ces dernières algues qui ont la texture et la

couleur du sang sont appelées *Haematococcus pluvialis*. C'est un caroténoïde, l'astaxanthine, qui est responsable de cette coloration. Ces microalgues sont en réalité des algues vertes unicellulaires dotées de flagelles pour le déplacement ; comme elles supportent mal les excès de lumière, quand l'eau s'évapore, pour protéger leur chlorophylle qui est fragile, les algues se fabriquent un filtre solaire qui est ce pigment rouge, et c'est ainsi qu'elles passent du vert au rouge.

1.1. Un jardin médicinal de microalgues

Il existe dans la nature environ 30 000 espèces de

Figure 1

Prolifération de microalgues sur les branches d'un conifère.

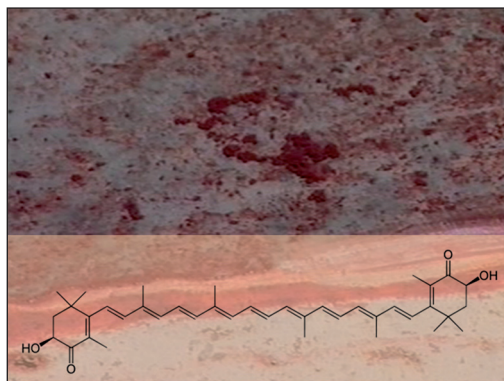


Figure 2

Prolifération d'Haematococcus pluvialis dans une flaque d'eau (à gauche). L'astaxanthine est le pigment qui lui donne sa couleur rouge sang.

microalgues et de cyanobactéries¹. Plus de 500 espèces sont clonées et conservées dans une collection de 7 000 cultures situées dans les locaux de la société Thallia Pharmaceuticals² à Tarbes. Les cultures sont conservées dans des tubes (**Figure 3A**) ou dans des flacons gélosés (**Figure 3B**), et sont repiquées régulièrement et soigneusement dans de bonnes conditions microbiologiques afin de garder leur pureté. C'est un véritable jardin botanique puisque les algues et les cyanobactéries

sont des microvégétaux. On peut aller puiser dans ce nouvel herbier microscopique pour y desceller parmi les molécules actives produites celles pouvant conduire à de nouveaux médicaments.

1.2. Exemples de microalgues productrices de substances chimiques d'intérêt pharmaceutique

1.2.1. *Haematococcus pluvialis*

Nous avons vu que la couleur rouge de l'*Haematococcus pluvialis* est due à un pigment caroténoïde appelé l'astaxanthine (Figure 4). Il joue le rôle de filtre solaire et protège la chlorophylle photosensible de l'algue unicellulaire (Figure 5A) lorsque celle-ci

1. Les cyanobactéries sont des bactéries procaryotes (sans organe intracellulaire) capables de photosynthèse.

2. www.thallia.fr

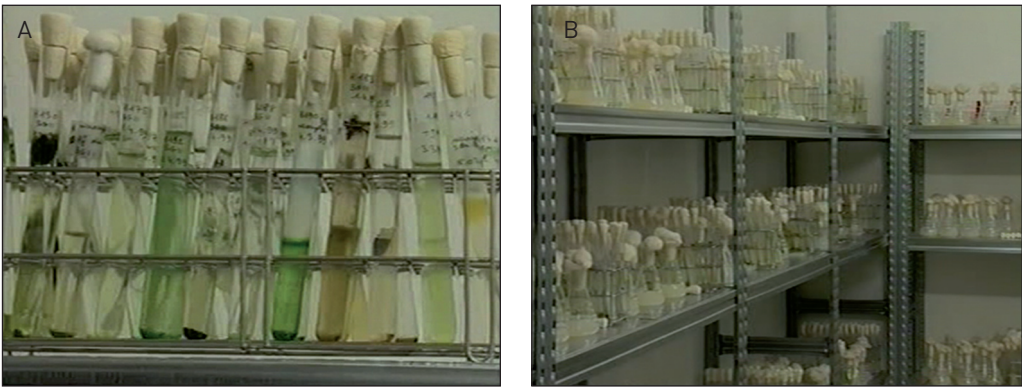


Figure 3

A. Tubes de conservation de cultures de microalgues. **B.** Flacons gélifiés pour la conservation de cultures de microalgues.

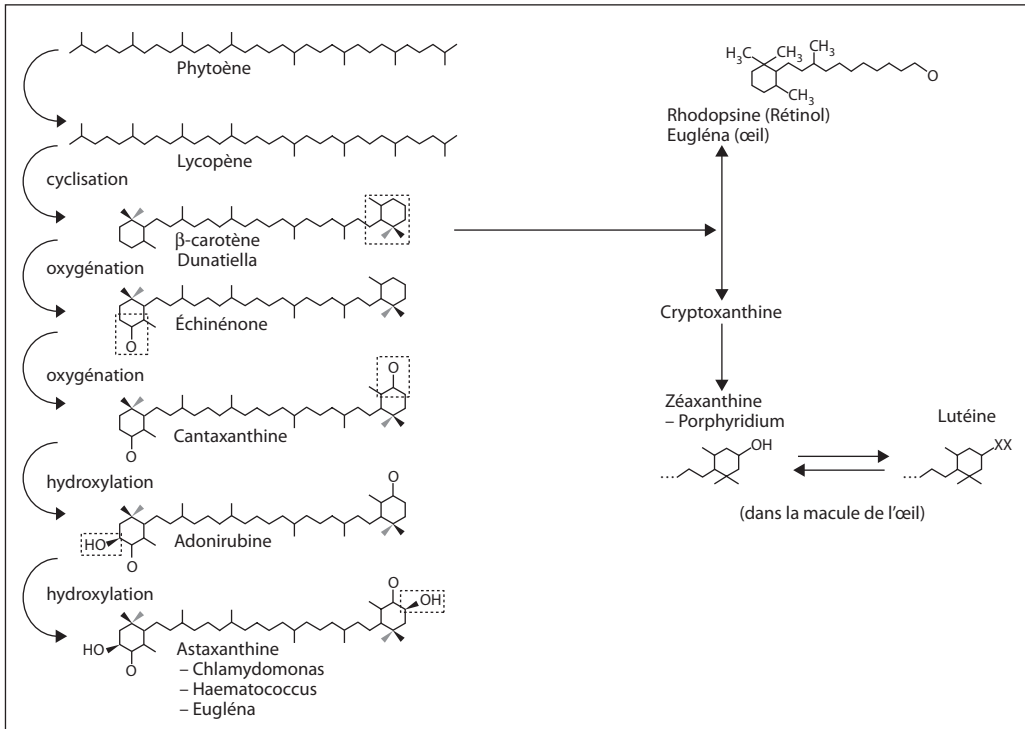


Figure 4

Les caroténoïdes des microalgues.

est fortement exposée au Soleil, notamment lorsque l'eau s'évapore et que les rayons lumineux sont peu filtrés (Figure 5B). La Figure 6 montre le schéma de la cellule d'*Haematococcus pluvialis*.

1.2.2. *Chlamydomonas*

À la base des flagelles des cellules ovoïdes de *Chlamydomonas* (Figure 7) se trouve un petit œil rouge : le stigma. Il est composé d'un caroténoïde appelé rhodopsine

Figure 5

A. *Haematococcus pluvialis* ayant peu produit d'astaxanthine, vu au microscope optique.

B. *Haematococcus pluvialis* ayant produit beaucoup d'astaxanthine, vu au microscope optique.

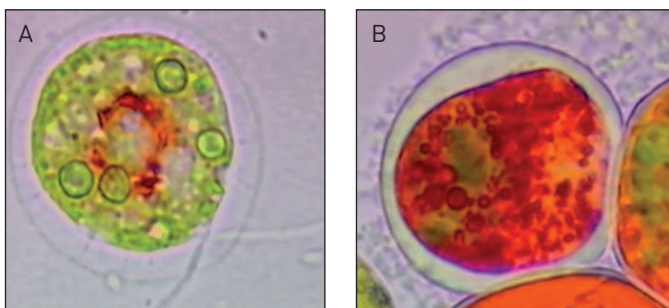
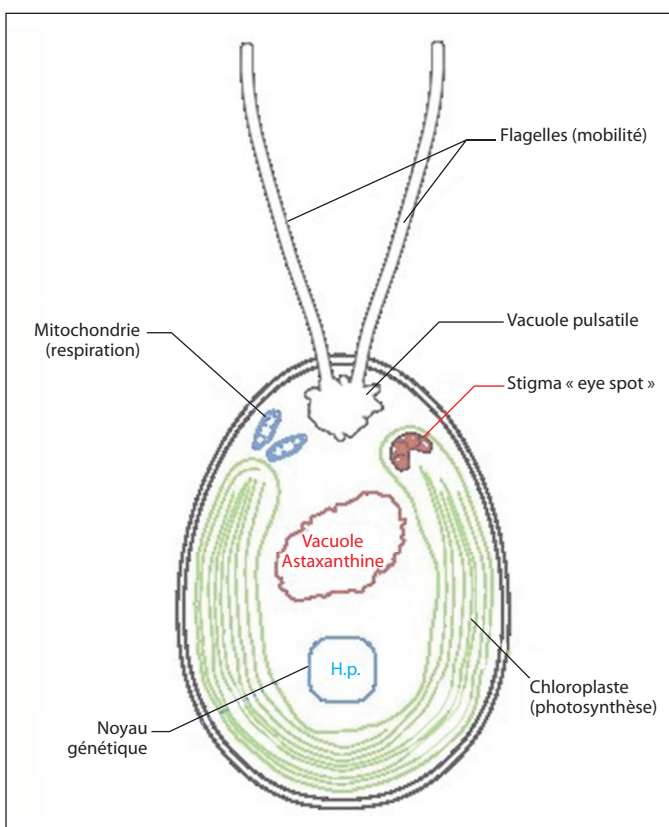


Figure 6

Schéma d'une cellule d'*Haematococcus pluvialis*.



(voir aussi la **Figure 4**), le même qui tapisse la rétine de notre œil (le rétinol) en formant la plaque photoréceptrice nous permettant d'enregistrer les images.

1.2.3. *Porphyridium cruentum*

Porphyridium cruentum est une algue rouge unicellu-

laire (ou rhodophycée) de 20 micromètres de diamètre (**Figure 8**). Son nom (du latin *cruentum* = couvert de sang) lui vient de sa présence dans les plaies sanguinolentes des statues de Christ des églises bretonnes. L'algue provient de l'eau de mer que les marins

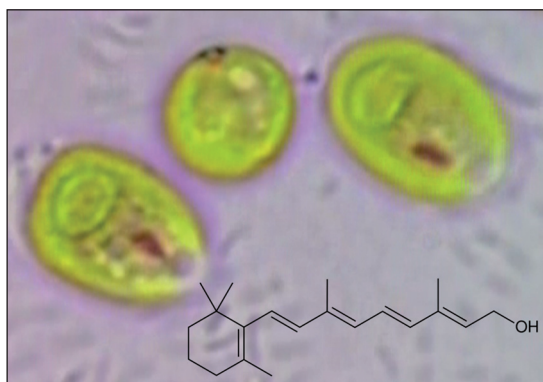


Figure 7

Chlamydomonas et son stigma de rhodopsine rouge.

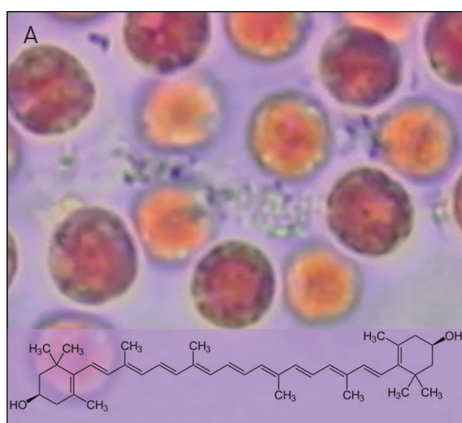
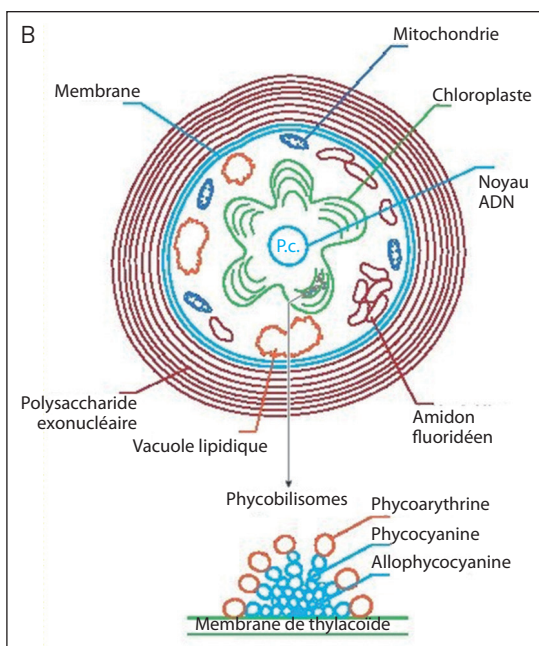


Figure 8

A. *Porphyridium cruentum* vu au microscope optique et structure de la molécule zéaxanthine.
B. Schéma d'une cellule de *Porphyridium cruentum*.



apportent avec eux, puis elle prolifère lorsque les vitreaux orientent la lumière vers les statues.

Elle produit un autre caroténoïde de couleur orange : la zéaxanthine (voir aussi la Figure 4). Ce composé, avec la lutéine, existe dans la rétine et permet la vision en couleur mais il est dégradé avec le temps. Cela

se traduit par des dégénérescences maculaires³ de la rétine et par une perte progressive de la vision pouvant aller jusqu'à la cécité. La zéaxanthine représente donc un composé chimique

3. Dégénérescence maculaire : détérioration liée à l'âge de la macula, zone de la rétine située au fond de l'œil d'où provient l'acuité visuelle.

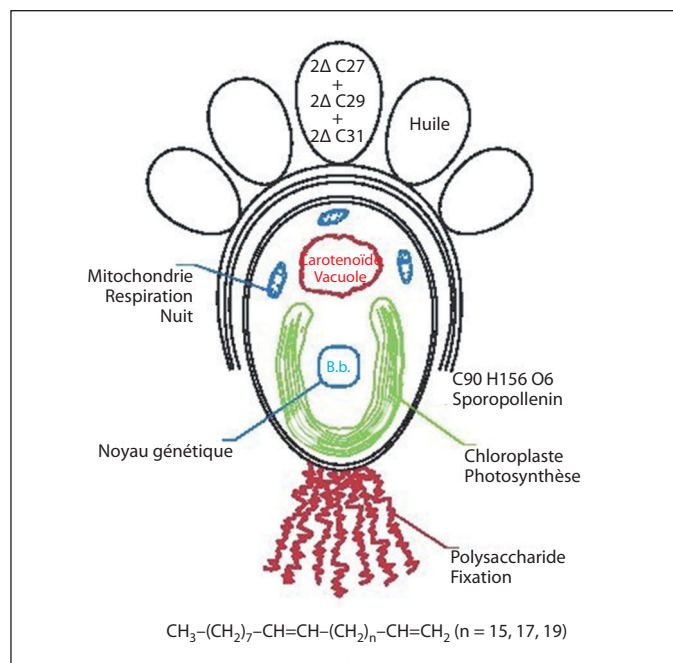
d'intérêt pharmaceutique puisqu'une alimentation enrichie en celui-ci permettrait sans doute de ralentir l'évolution de cette dégénérescence maculaire liée à l'âge (DMLA). Nous verrons plus loin un procédé mis au point pour produire du concentré de zéaxanthine à l'échelle industrielle ([paragraphe 2.1](#)).

1.2.4. *Botryococcus braunii* ([Figure 9](#))

Cette algue est la seule qui produise de vrais hydrocarbures à longues chaînes et doubles liaisons. Ces hydrocarbures diènes pourraient être utilisés dans la fabrication de nouveaux plastiques. Pourtant, les recherches ne privilégient actuellement pas la production de cette microalgue.

Figure 9

Schéma d'une cellule de *Botryococcus braunii*.



2 Exploitation de la culture des microalgues

2.1. Procédé bio solaire de préparation de la zéaxanthine

Il est possible de produire à l'échelle industrielle un concentré de zéaxanthine à partir d'un procédé qui permet de cultiver et d'optimiser la croissance de *Porphyridium currentum*, en reproduisant artificiellement ce qui se passe dans la nature. Le cœur du procédé est un capteur solaire tubulaire, le photoréacteur, qui permet de capter le maximum de lumière dont ont besoin les algues pour réaliser la photosynthèse, c'est-à-dire transformer le dioxyde de carbone CO_2 en matière organique (la biomasse) et libérer de l'oxygène ([Figure 10A](#)).

Dans ces 550 mètres de tubes de plexiglas circulent 2 500 litres de culture où se développent 25 kilogrammes de microalgues ; c'est-à-dire que, dans chaque millilitre de cette soupe rouge, se trouvent 10 millions de microalgues. L'espèce de mousse blanchâtre que l'on voit à la surface des tubes ([Figure 10B](#)) est due à l'émission par la microalgue d'une substance visqueuse qui est rejetée dans le milieu de culture et qui s'émulsionne avec l'oxygène dégagé lors de la photosynthèse. Tous les composés de la photosynthèse sont donc visibles sur cette [Figure 10B](#), sauf le dioxyde de carbone qui est injecté dans le milieu de culture dans lequel il est dissous.

L'originalité de ce réacteur est le principe de la culture

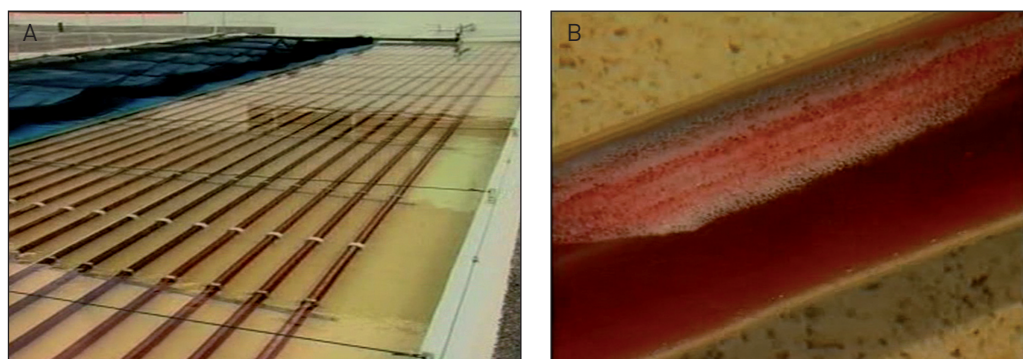


Figure 10

A. Le photoréacteur tubulaire dans lequel circule la solution de culture de *Porphyridium cruentum*.
B. Le phénomène de photosynthèse visible à la surface du tube.

en continu, c'est-à-dire que l'on ajoute en permanence une certaine quantité de solution d'engrais liquide, tandis qu'on soutire en permanence la même quantité de culture, le réglage du débit permettant ainsi de contrôler les temps de séjour des microalgues dans le réacteur de culture dont dépendra l'âge moyen des cellules.

Le photoréacteur tubulaire est intégré dans un ensemble automatisé d'appareils constituant une boucle fermée que *Porphyridium* met 35 minutes à parcourir. Il est relié à une colonne « air lift⁴ » qui injecte l'air permettant de pulser le liquide tout au long des tubes du photoréacteur et également le dioxyde de carbone indispensable à la photosynthèse. Sur la **Figure 10A**, on voit à la périphérie la cuve d'alimentation en milieu minéral, solution d'engrais stérile

qui est ajoutée en continu à la culture de *Porphyridium cruentum*, alors qu'on soutire dans le même temps une quantité équivalente de culture qui est stockée dans une cuve de récolte avant de subir une centrifugation tubulaire permettant de séparer la pâte de microalgues et d'en extraire la boue rouge, qui est le produit final. La zéaxanthine est récupérée sous forme de poudre rouge ou sous forme de pastilles comprimées après dessiccation de la boue rouge.

Les paramètres tels que le pH, la température, le débit de CO₂ et la qualité des sels minéraux composant l'engrais des microalgues sont régulés en permanence dans le but de contrôler la pureté microbiologique de la culture et le temps de séjour.

Ce procédé préfigure ce que l'industrie pharmaceutique pourrait obtenir à partir des microalgues et donne l'exemple de ce que pourrait être l'exploitation des quelque 30 000 espèces qui ont été dénombrées.

4. Une colonne air lift est un système d'injection d'air comprimé dans une colonne verticale pour entraîner le liquide qui s'y trouve.

2.2. Autres exemples d'exploitations de microalgues

Actuellement, la plupart des cultures de microalgues sont encore réalisées en discontinu. Le procédé en continu précédent présente l'intérêt de pouvoir maîtriser l'âge et finalement la biochimie de la cellule car les cellules jeunes ne fabriquent pas les mêmes produits que les cellules âgées.

Par ailleurs, il existe d'autres modes d'exploitation que celle basée sur la photosynthèse. Cependant, l'avantage de la photosynthèse est que la biomasse ainsi produite est riche en antioxydants, car les microalgues unicellulaires sont constamment balayées par le courant d'oxygène et secrètent ainsi de grandes quantités de radicaux libres⁵ (*Figure 11*). Les antioxydants sont des molécules très recherchées comme la vitamine C, la vitamine D, les tocophérols (vitamine E), l'ergostérol, le glutathion peroxydase, ou encore la superoxyde dismutase (SOD), qui auparavant ne pouvait être extraite que du sang humain ou du sang de bœuf ; les problèmes liés au VIH ou à la maladie de la vache folle ont conduit les chercheurs à valoriser celle d'origine végétale, produite par *Porphyridium cruentum*.

Cependant, les cultures par photosynthèse ont pour in-

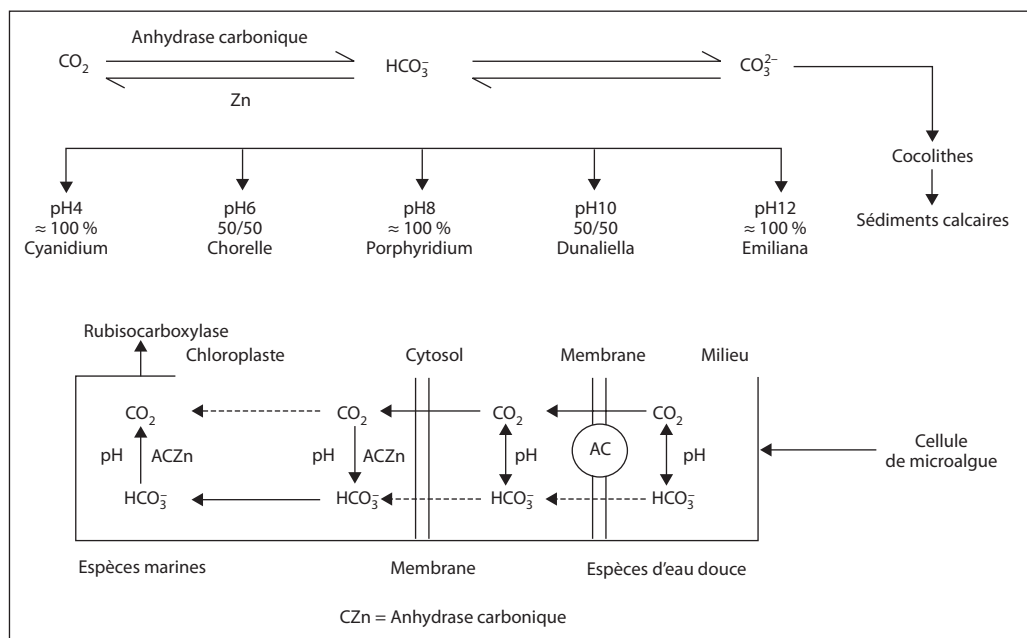
convénient les faibles concentrations en biomasse qui ne peuvent pas dépasser 3 g/L, et utilisent donc des quantités d'eau considérables. Il a été récemment découvert (prix de l'Innovation Pierre Potier, obtenu par la société Fermentalg⁶ en 2012) que les microalgues étaient capables de fonctionner dans l'obscurité totale, en *hétérotrophie* (sans CO₂), c'est-à-dire de produire de la matière organique à partir de carbone organique uniquement issu de la biosynthèse végétale. Dans ce cas, on peut travailler avec des concentrations cellulaires de 100 g/L ; mais l'inconvénient est que les systèmes hétérotrophiques consomment de l'oxygène et produisent du dioxyde de carbone. Il faut donc envisager de les coupler avec un système *phototrophique* (par photosynthèse) et de recycler les gaz.

Entre ces deux alternatives, la photosynthèse ou l'hétérotrophie, on peut aussi utiliser des solutions intermédiaires que l'on appelle la *mixotrophie*⁷, qui consiste par exemple à rajouter du sucre dans un photoréacteur, ce qui permet d'augmenter la concentration de la biomasse jusqu'à 30 g/L. L'autre solution est de rajouter de la lumière dans un réacteur obscur, ce qui permet de monter à des concentrations cellulaires assez fortes.

5. Un antioxydant est une molécule qui empêche ou diminue l'oxydation d'autres molécules, en particulier celle provoquée par les radicaux libres, ces composés produits lors des réactions d'oxydo-réductions ayant lieu dans les cellules (ex : O₂^{•-}, HO[•], NO[•]...).

6. Voir : R. Messal (2012). La chimie innovante récompensée. Les lauréats des prix Pierre Potier et ChemStart'Up. *L'Act. Chim.*, 369 : 45-46.

7. Mixotrophie : capacité à utiliser plusieurs sources de carbone par phototrophie (à partir de l'énergie lumineuse) et hétérotrophie.



Mais dans tous les cas, le problème majeur est de réduire la consommation d'eau. Pour cela, nous avons développé avec le professeur Daniel Thomas, de l'université de Compiègne, une technique qui consiste à immobiliser les microalgues sur un support spongieux en polyuréthane. Si l'on prive les microalgues d'azote à basse température, elles se développent à l'intérieur des alvéoles et colonisent l'éponge. Cette technique peut être appliquée quand le produit chimique fabriqué par la microalgue est exocellulaire, c'est-à-dire produit à l'extérieur de la cellule ; il est alors facilement récupérable. C'est le cas avec la microalgue *Porphyridium cruentum*, qui, utilisée dans ces conditions quand on la prive d'azote, produit un polysaccharide sulfaté exocellulaire très utilisé dans des

domaines aussi variés que la cosmétologie ou la récupération assistée du pétrole. Un autre exemple intéressant de microalgue cultivable et pouvant être utilisée en immobilisation est *Botryococcus braunii* : c'est la seule algue microscopique qui produit de vrais hydrocarbures à longues chaînes avec deux doubles liaisons. Ces hydrocarbures diènes seraient extrêmement intéressants comme matière première de base d'une nouvelle plastochimie.

2.3. L'héliosynthèse : base d'une nouvelle chimie renouvelable

La photosynthèse est basée sur le captage de l'énergie solaire, c'est pourquoi elle peut être appelée héliosynthèse (du dieu grec *Hélios*, personnification du

Figure 11

Détoxification des radicaux libres dans le thylacoïde (membrane des chloroplastes).

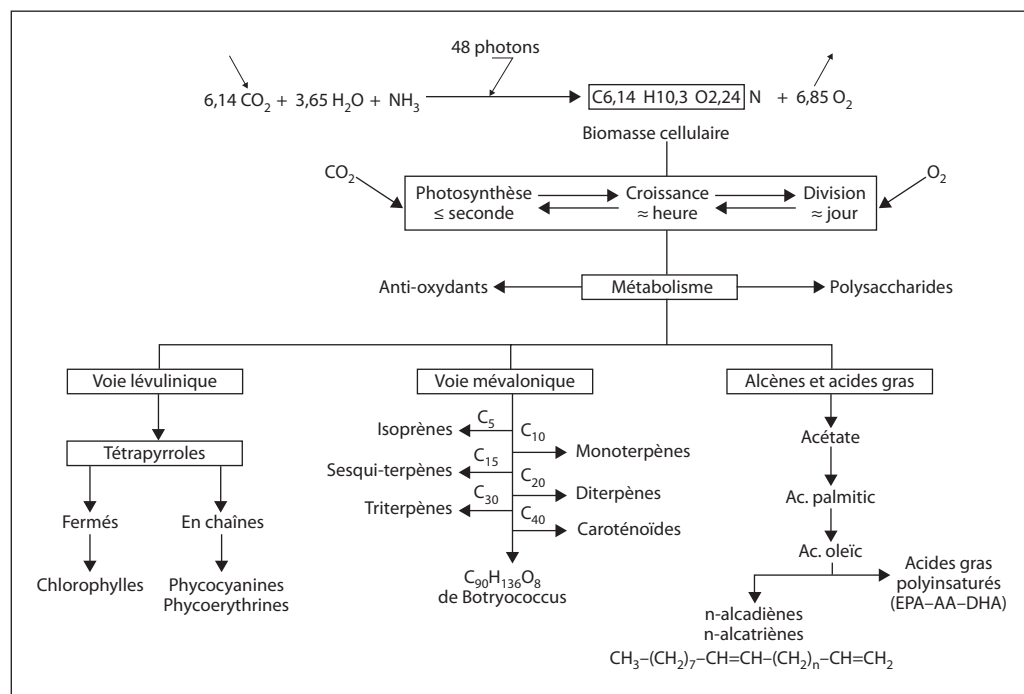


Figure 12

Photosynthèse ou héliosynthèse végétale.

Soleil] (Figure 12). C'est une réaction rapide, de vitesse inférieure à la seconde, qui a lieu dans le chloroplaste de la cellule. Avec 48 photons, la cellule produit sept molécules de biomasse et émet de l'oxygène. Grâce à cette biomasse, la cellule grandit et grossit : ce phénomène du « grandissement cellulaire » est de l'ordre de l'heure. C'est-à-dire qu'en dix à douze heures, en partant d'une petite algue, on en fabrique une plus grosse. Le phénomène de division cellulaire a lieu la nuit, une fois que le grandissement cellulaire est achevé et que la cellule a atteint sa taille définitive.

Lorsque le procédé de culture de microalgues n'est pas continu et bien maîtrisé, il y a alors un mélange d'accroissement cellulaire, lié au grandissement cellulaire, et de

division cellulaire, qui conduit au taux de dilution⁸.

De plus, nous avons vu que les microalgues pouvaient tout aussi bien être des organismes photosynthétiques, hétérotroques ou mixotroques. Tous ces paramètres et processus biologiques sont à maîtriser si l'on veut maîtriser la culture des microalgues. Pour cela, le procédé de culture en continu est le mieux adapté.

La Figure 12 montre que les produits issus des microalgues résultent de trois principaux métabolismes.

2.3.1. La voie lévulinique

La voie lévulinique conduit à la production de tétra pyrroles. La chlorophylle, le capteur

8. Le taux de dilution est le rapport du débit d'entrée dans le réacteur sur le volume de celui-ci.

solaire de la cellule, est un tétra pyrrole fermé. Les autres tétra pyrroles restent ouverts et sont en chaînes. Cette famille de molécules conduit aux structures protéiques suivantes : les phycocyanines (tétra pyrroles bleus) et les phycoérythrines (tétra pyrroles rouges). Ces structures protéiques sont extrêmement utiles, particulièrement en cosmétologie. Les Japonaises utilisent par exemple les phycocyanines pour le maquillage des paupières, et les phycoérythrines pour celui des joues. D'autres utilisations sont possibles.

Ces tétra pyrroles sont des pièges optiques très efficaces. La chlorophylle est verte, cela s'explique par le fait qu'elle absorbe les rayonnements rouges et bleus. À l'inverse, la phycoérythrine est rouge et la phycocyanine est bleue, ce qui signifie qu'elles absorbent toutes les couleurs autres que respectivement le rouge et le bleu. Lorsque les algues se trouvent à des profondeurs océaniques que la lumière rouge n'atteint pas, la chlorophylle ne peut pas absorber le rayonnement. Mais la phycoérythrine peut capturer ces photons verts, ce qui provoque une fluorescence de la molécule permettant le renvoi de photons à la phycocyanine, qui fluoresce à son tour et renvoie à la chlorophylle des photons dans la gamme des longueurs d'ondes du rouge. Cela permet le bon fonctionnement du système.

2.3.2. La voie mévalonique

À partir du CO₂, la cellule est capable de produire un certain nombre de polymères :

des isoprènes⁹, des monoterpènes, des sesquiterpènes, des diterpènes, des triterpènes et des caroténoïdes. Ces molécules ont un squelette stérol que l'on retrouve dans le monde animal (cholestérol, hormones stéroïdiennes...). Au bout de cette voie métabolique, on trouve un polymère à 30 atomes de carbone. Il s'agit d'une structure tri-lamellaire qui entoure *Botryococcus braunii* (l'algue à hydrocarbures) dont on a retrouvé des traces dans des empreintes fossiles datant de plus d'un milliard d'années. Il serait donc envisageable d'utiliser ce polymère pour enrober de façon efficace les déchets nucléaires.

2.3.3. La voie des alcènes et des acides gras

Ce dernier grand courant métabolique est celui qui conduit à la production de lipides insaturés comme les oméga-3 que l'on retrouve certaines margarines achetées dans le commerce. Le DHA (acide docosahexaénoïque), qui permet nos connexions neuronales, est un oméga-3 extrêmement important qui peut nous être fourni par les microalgues via la chaîne alimentaire. Seules les microalgues le synthétisent, c'est pourquoi nos grands-mères nous faisaient boire de l'huile de foie de morue : la morue mange des microcrustacés, qui eux-mêmes avaient mangé des microalgues.

9. Au sujet des terpènes, voir *La chimie et la nature*, chapitre de M. Rohmer, coordonné par M.-T. Dinh-Audouin, D. Olivier et P. Rigny, EDP Sciences, 2012.

L'avenir de la chimie des microalgues

Tous ces exemples montrent que les possibilités offertes par la culture des microalgues vont au-delà de la production de carburant dont on parle beaucoup actuellement.

Dans les procédés de culture hétérotropes, où l'on monte à des concentrations cellulaires assez fortes de l'ordre de 100-150 g/L, si l'on prive les microalgues d'azote, elles se mettent à accumuler des lipides jusqu'à 30 % de leur poids. Cela permet donc de produire en continu 30 g/L d'huile de microalgue qui peut être, après une réaction chimique d'acétylation, transformée pour les moteurs diesel. Cette application semble cependant moins prometteuse que celle d'une nouvelle chimie renouvelable.

Alors qu'environ 30 000 espèces de microalgues sont connues, leur biodiversité est quasiment inconnue et peu de personnes savent actuellement correctement les exploiter. Seule une trentaine d'espèces faciles à cultiver sont actuellement étudiées.

Les microalgues intéressantes pour de nouveaux produits dorment encore dans la nature et sont à découvrir¹⁰.

10. Voir C. Gudín, *Une histoire naturelle de la séduction*, Seuil, 2007 ; C. Gudín, *Une histoire naturelle des microalgues*, Odile Jacob, mai 2013 ; C. Gudín, *La Culture de l'invisible*, Ovia, juin 2013 ; O. Bernard, *Le rêve porté par les microalgues*, Ovia, juin 2013.