

# Le potentiel des microalgues pour la production de biodiesel et de biohydrogène

Gilles Peltier  
CEA Cadarache



*CEA Commissariat à l'Énergie Atomique  
et aux Energies Alternatives*

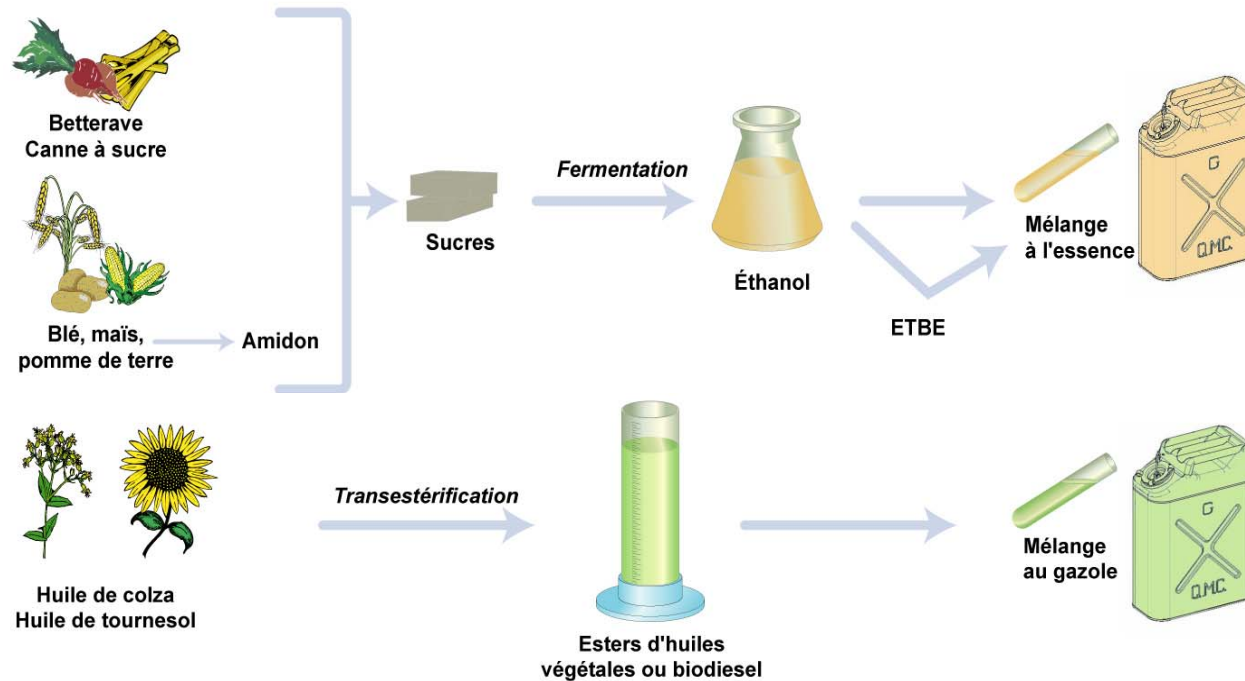


*CNRS Centre National de la Recherche Scientifique*



*Aix-Marseille Université*

# Les biocarburants de 1<sup>ère</sup> génération : les limites

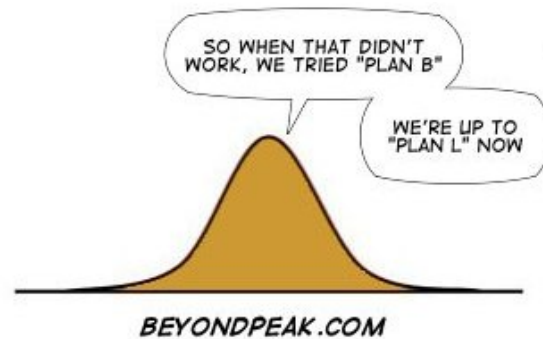
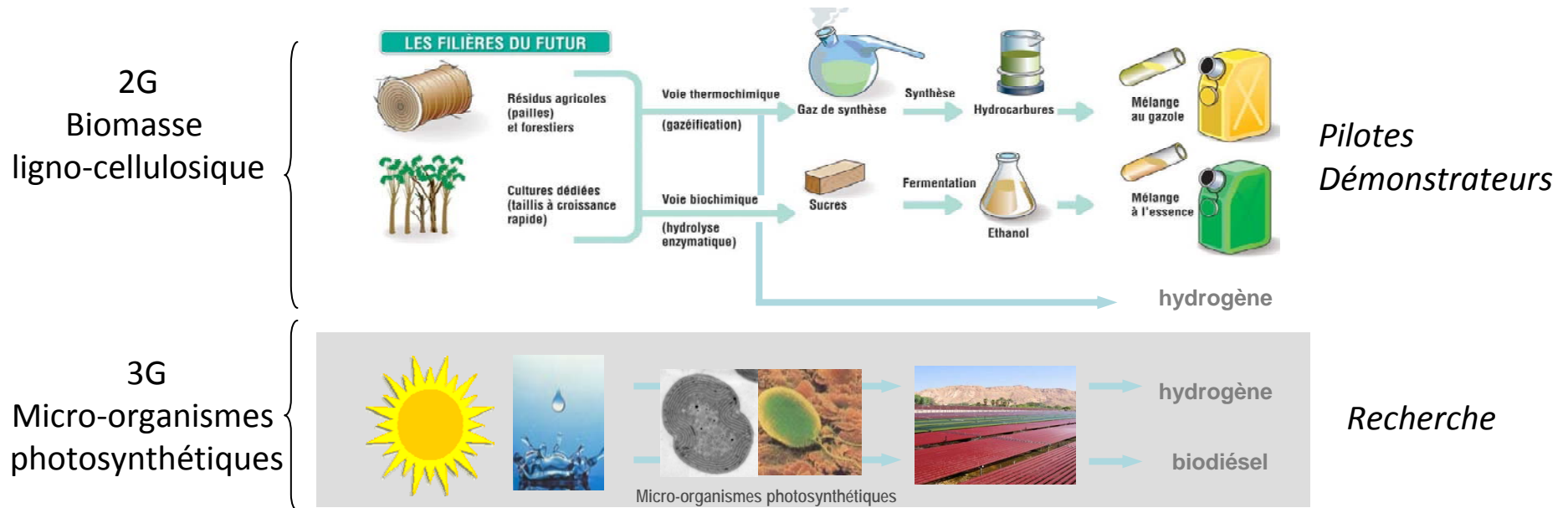


- Bilan énergétique peu favorable
- Coût environnemental élevé
- Compétition avec la production alimentaire
- Compétition avec les ressources en eau
- Bilan positif sur l'effet de serre remis en cause ( $N_2O$ )

# Les biocarburants de 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> générations



Un enjeu pour la société et pour la recherche

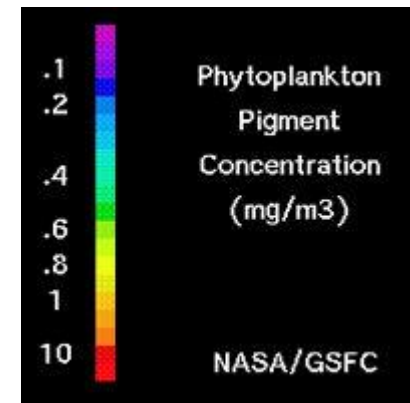
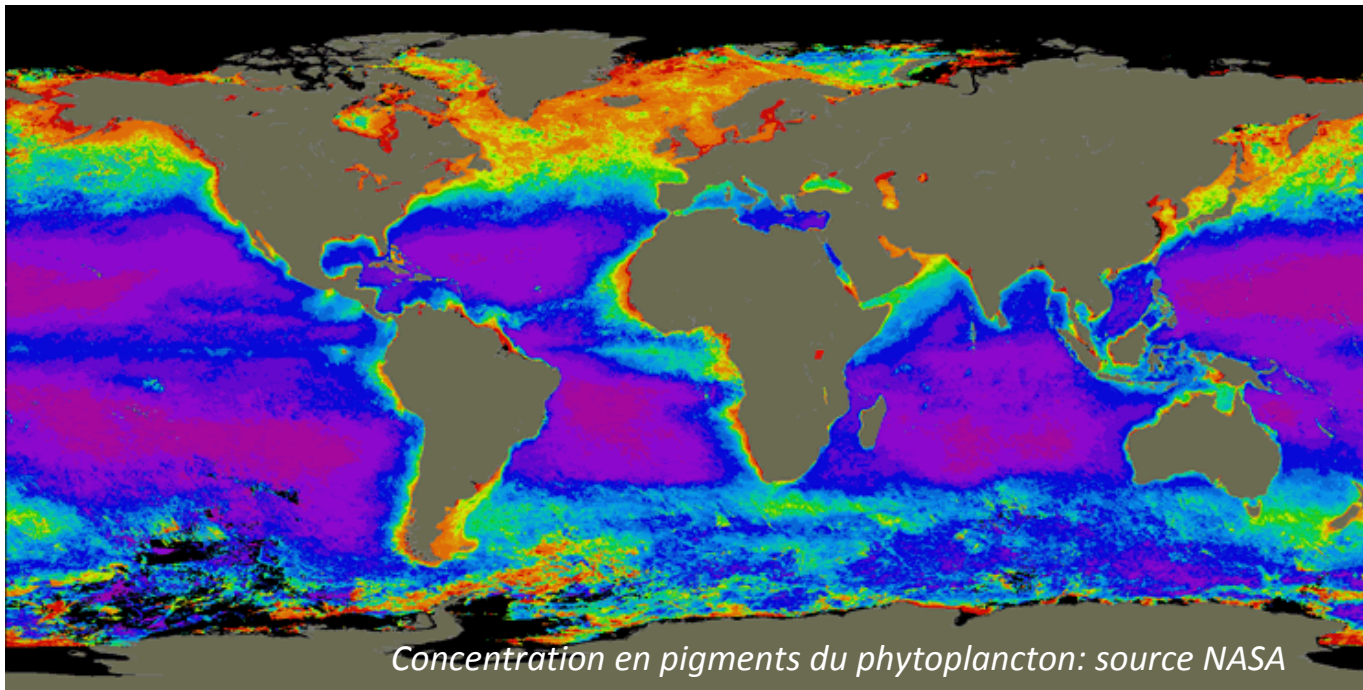


Des microalgues pour la production d'énergie ? Saclay, 18/03/2013

# Les micro-algues et les cyanobactéries



... une biodiversité à peine explorée :  
30 000 espèces décrites  
200 000 à 1 million estimées

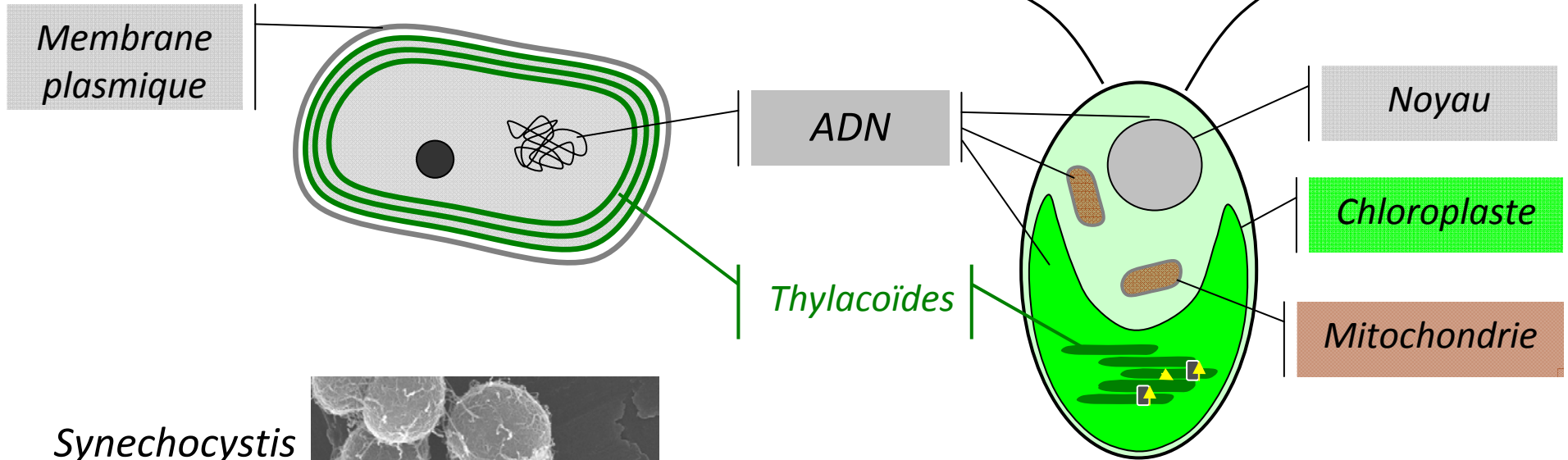


40 à 50% de la photosynthèse, 1% de la biomasse terrestre  
À l'origine de la formation du pétrole

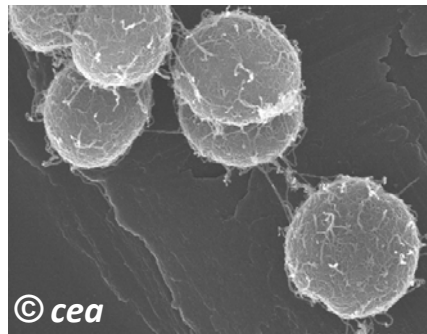


## Les cyanobactéries cellules procaryotes

## Les microalgues: cellules eucaryotes



*Synechocystis*

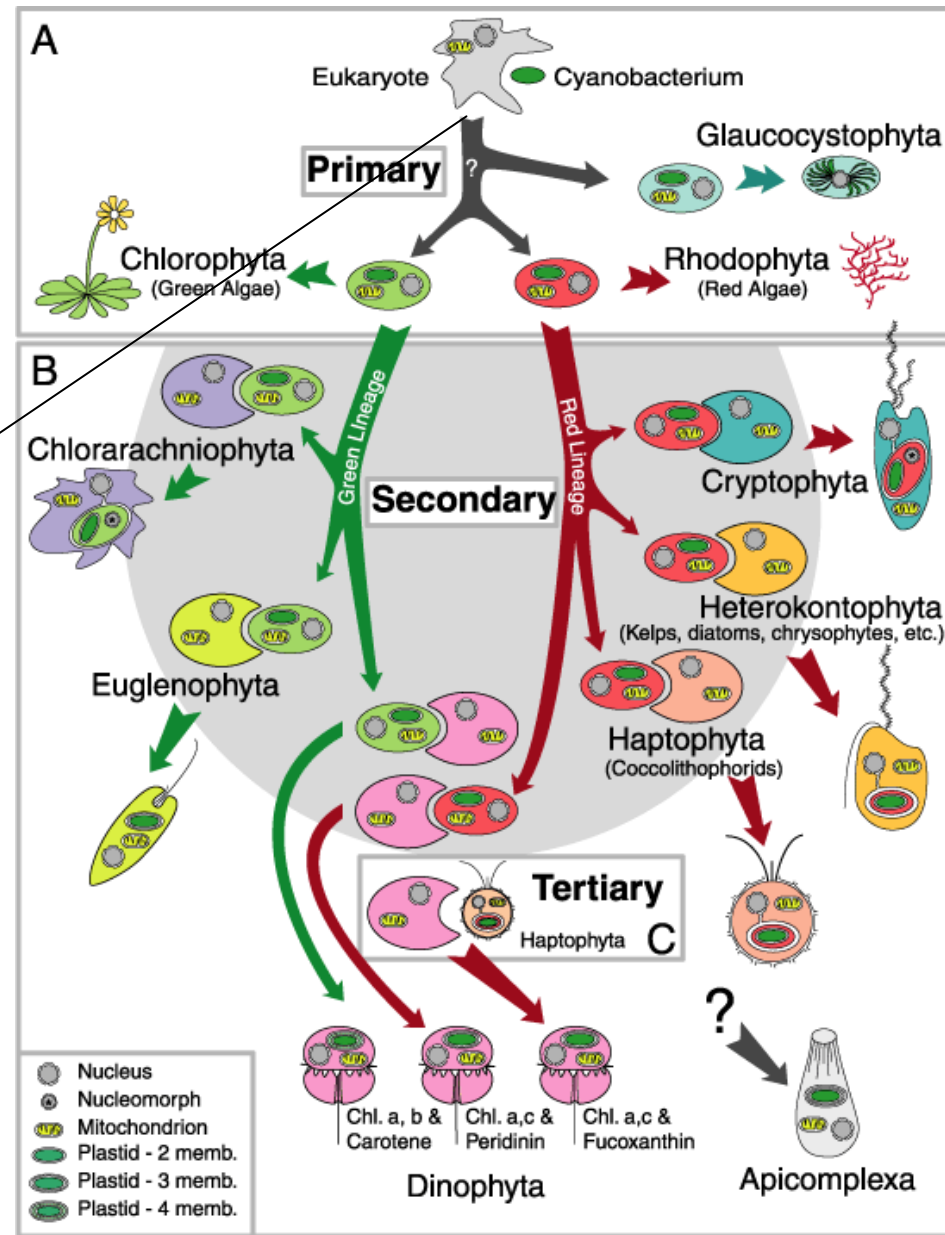


*Chlamydomonas  
reinhardtii*

# Les microalgues: une histoire évolutive complexe



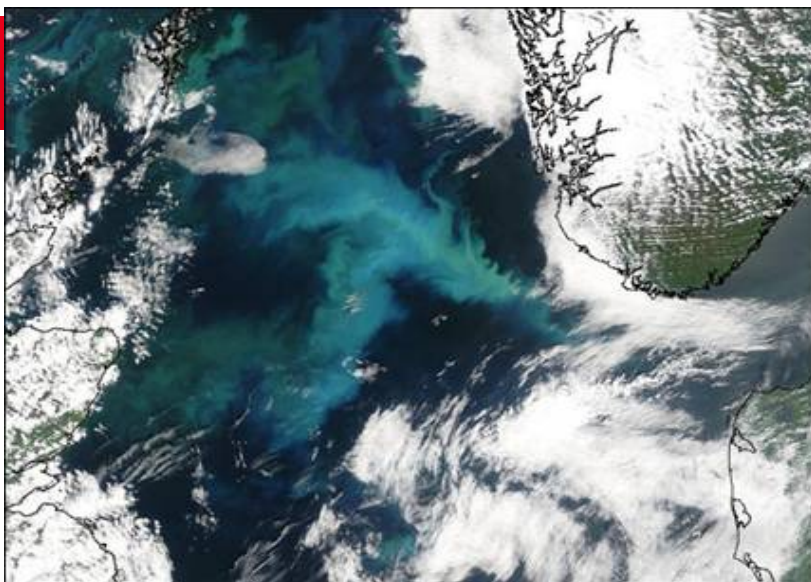
Les cyanobactéries à l'origine des chloroplastes:  
Endosymbiose 1<sup>ère</sup>



Modified from Delwiche, C.F. 1999. Tracing the thread of plastid diversity through the tapestry of life. Am. Nat. 154:S164-S177.

...dans tous types d'environnements

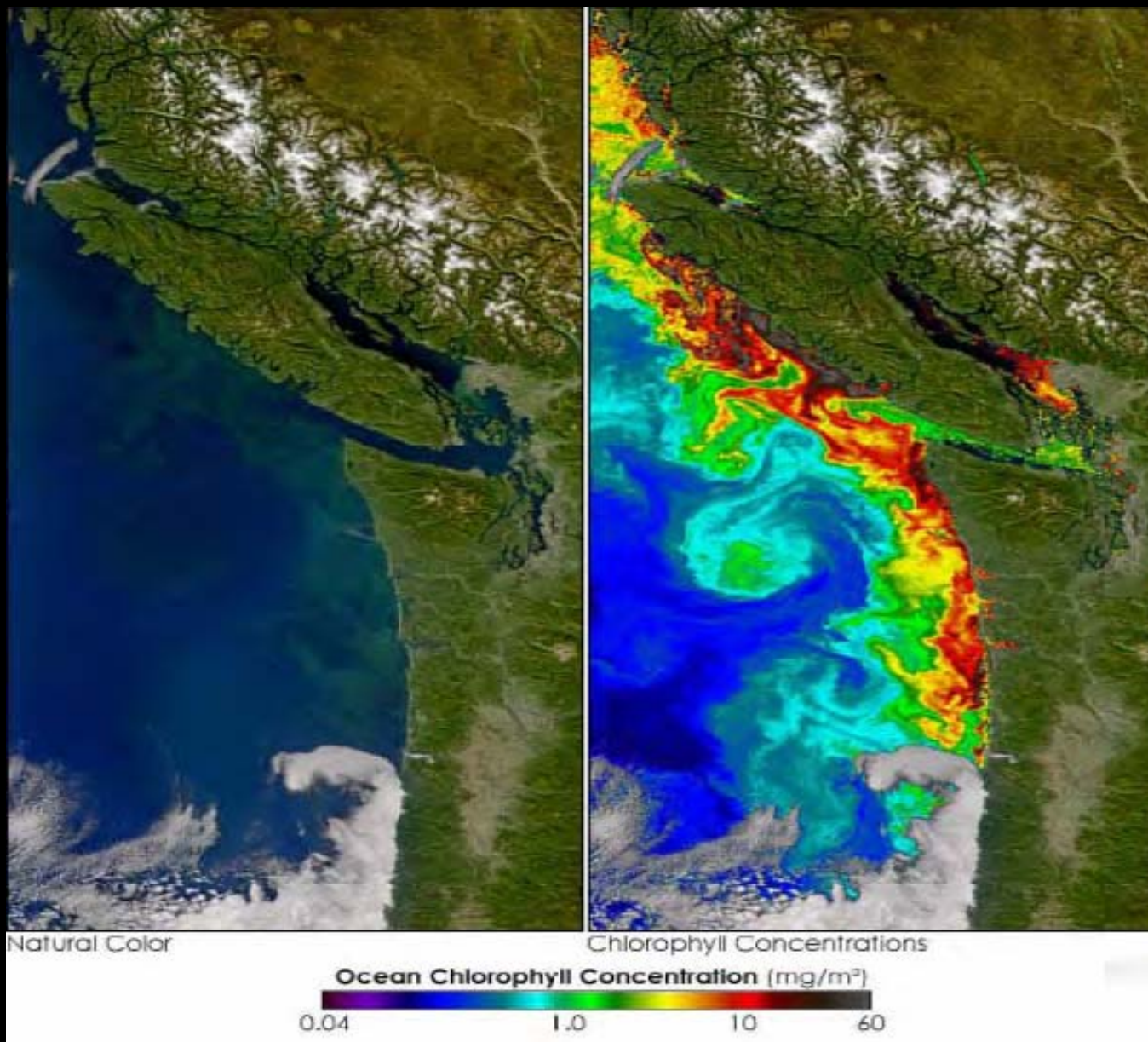
---



éne

*Bloom algal*

*Washington Coast 2004 (Satellite and Chlorophyll View)*





# Des composés d'intérêt pour notre alimentation



*Récolte de Spiruline ("dihé") sur les rives du lac Tchad*



# Culture en bassins ouverts : raceway ponds



*Earthrise Algae Farm,  
Calipatria, California, USA,  
Culture en bassins ouverts  
sur 22 ha*

*Des microalgues pour la production d'énergie ? Saclay, 18/03/2013*

# Des composés d'intérêt pour notre alimentation



*Les bienfaits de manger du poisson,  
de l'huile de foie de morue*



*Les huiles poisson sont riches  
en acides gras poly-insaturés*



*Les poissons se nourrissent de microalgues*

*Les microalgues trouvées dans la biodiversité marine  
produisent des acides gras poly-insaturés (DHA, EPA)*

# La culture de microalgues dans le monde



Product	Species	Status
Health food and feed supplements	<i>Arthrospira</i> (3000 t) <i>Chlorella</i> (2000 t) <i>Dunaliella</i> (1200 t) <i>Aphanizomenon</i> (500 t) <i>Haematococcus</i> (300 t)	Commercial (Raceway ponds, circular ponds, lagoons, PBR)
Pigments (carotenoids, phycobiliproteins)	<i>Dunaliella</i> <i>Arthrospira</i> <i>Haematococcus</i>	Commercial (as above)
$\omega$ 3 PUFA (DHA)	<i>Schyzochitrium</i> (10 t oil) <i>Cryptocodiniun</i> (240 t oil)	Commercial (10-100 m <sup>3</sup> fermenters)
Fluorescent diagnostics Labeled compounds (stable isotopes) Restriction enzymes	<i>Arthrospira</i> <i>Anabaena</i> <i>Anacystis</i>	Commercial (small PBR)
Aquaculture feeds	Various spp. (1000 t)	Commercial (cylinders, bags, tanks)
Polysaccharides		Research
Biofertilizers		Research
Bioactive molecules (biopesticides, probiotics, pharmaceuticals, biosensors, cosmetics)		Research
Bioremediation (xenobiotics, heavy metals)		Research
CO <sub>2</sub> biofixation		
Energy (biodiesel, H <sub>2</sub> )		

Algae commercial applications (2006)  
**< 10,000 tons**

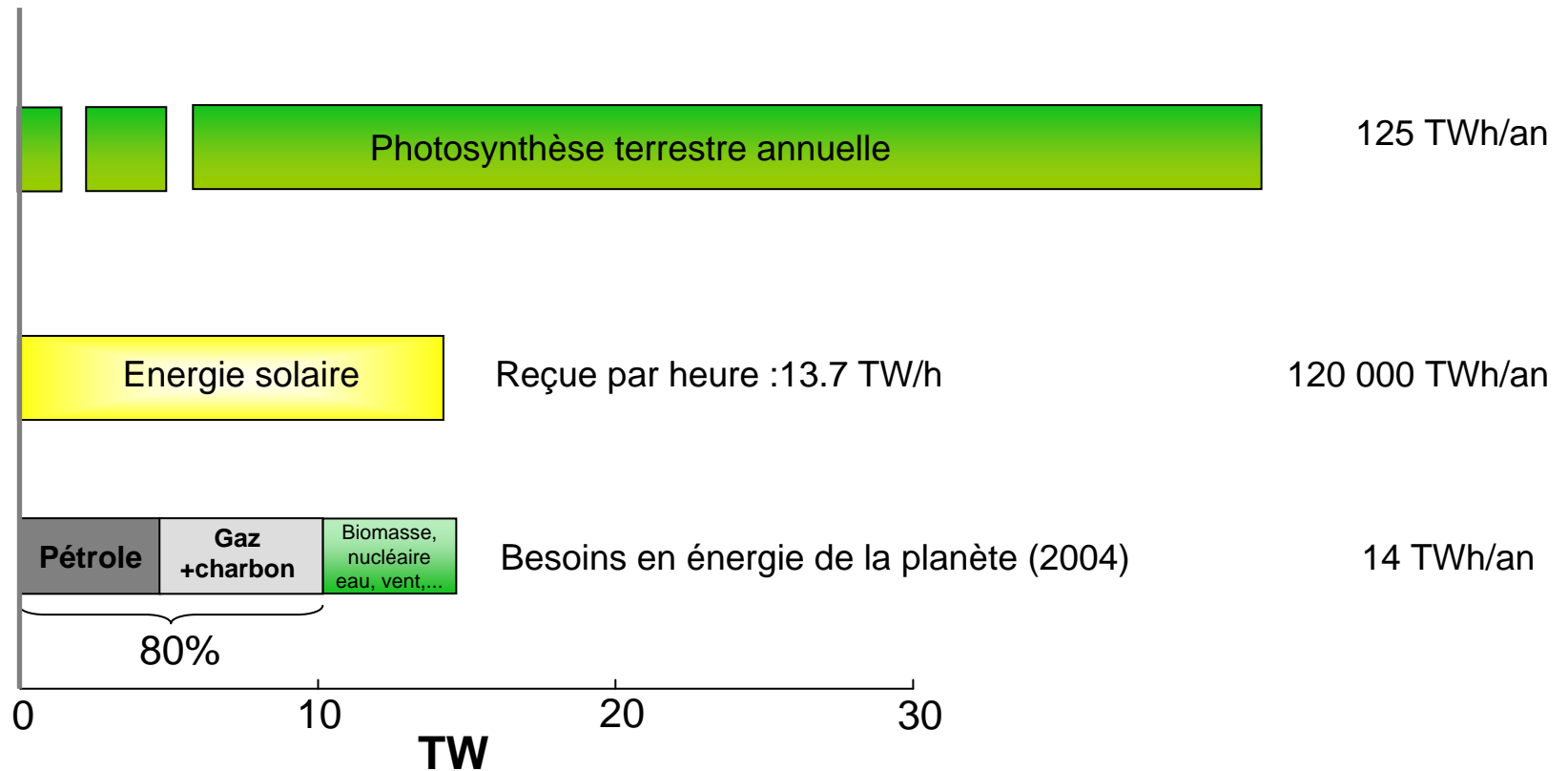
Une technologie de niche !

D'après M. Tredici, EABA Meeting, Florence, 2009

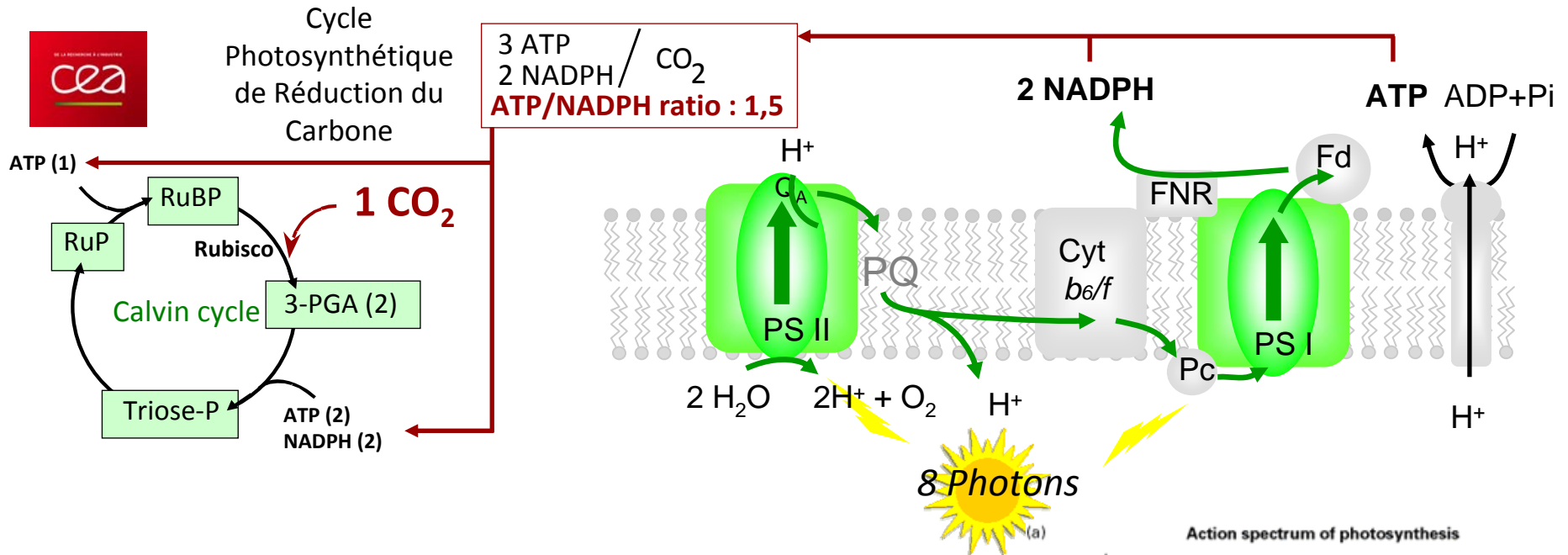
# Des marchés de niche aux marchés de l'énergie



# L'énergie solaire, un gisement d'énergie considérable

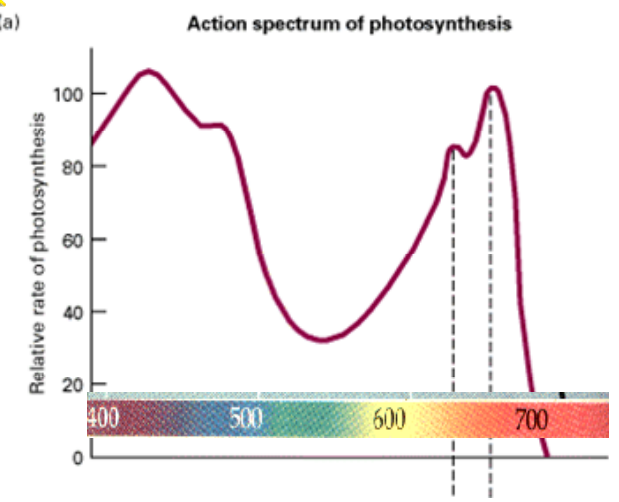


# Rendement de la photosynthèse



1 mole fixed CO<sub>2</sub> est équivalent à 475 kJ (1/6 mole glucose)  
 Photons PAR 217 kJ. mole<sup>-1</sup> en moyenne  
 PAR (Photosynthetic Active Radiation) : ~ 45% de l'énergie solaire

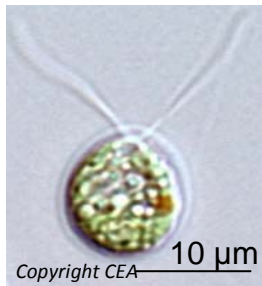
Conversion théorique maximale du PAR en énergie chimique (biomasse) : 475 kJ / (217kJ x 8 photons) = 27%  
 Conversion photosynthétique maximale : 27% x 45% = 12 %



# Des microalgues pour la production de biomasse



Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Productivité surfacique élevée</li> <li>- Composition de la biomasse flexible accumulent des lipides</li> <li>- Compétition limitée avec la production alimentaire ou les ressources en eau</li> <li>- Recyclage possible (eaux résiduelles, CO<sub>2</sub>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Espèces non encore domestiquées</li> <li>- Systèmes de cultures et de récolte coûteux</li> </ul>



	Microalgues	Plantes C4	Plantes C3
Productivité max. (T.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup> ) <b>%photosynthétique</b>	150-180 ~ 6 - 7.5 %	60 ~ 2.5 %	30 ~1.25 %
Productivité obs. (T.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup> )	50-70	10-30	10-15



*150 T.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> = 40 g. m<sup>-2</sup>. j<sup>-1</sup> (sur 365 jours)*

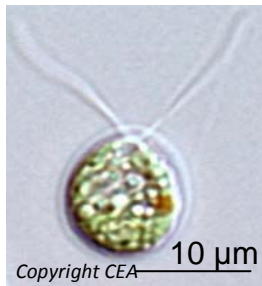
*D'après « EPOBIO project » University of York – Sept 2007*



# Des microalgues pour la production de biomasse



Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Productivité surfacique élevée</li> <li>- Composition de la biomasse flexible accumulent des lipides</li> <li>- Compétition limitée avec la production alimentaire ou les ressources en eau</li> <li>- Recyclage possible (eaux résiduelles, CO<sub>2</sub>)</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Espèces non encore domestiquées</li> <li>- Systèmes de cultures et de récolte coûteux</li> </ul>



	Microalgues	Plantes C4	Plantes C3
Productivité max. (T.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup> ) <b>%photosynthétique</b>	150-180 ~ 6 - 7.5 %	60 ~ 2.5 %	30 ~1.25 %
Productivité obs. (T.ha <sup>-1</sup> .an <sup>-1</sup> )	50-70	10-30	10-15

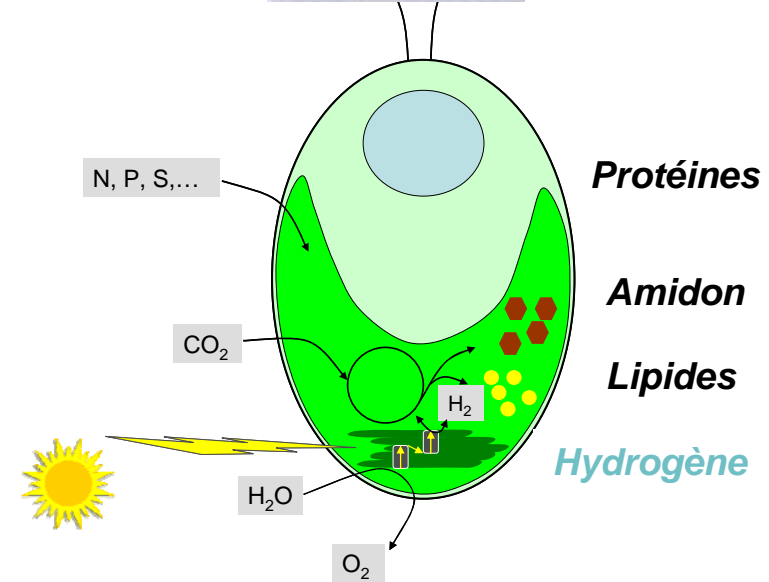
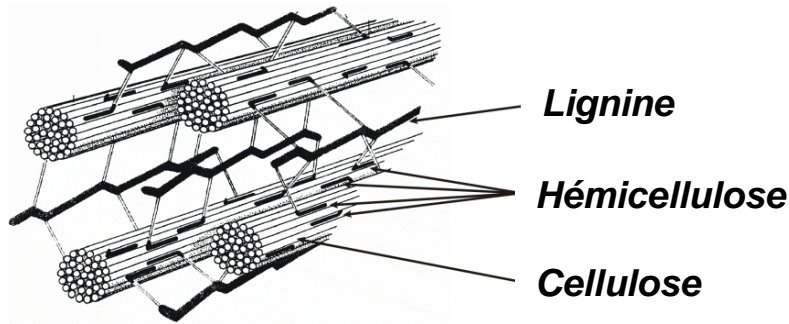
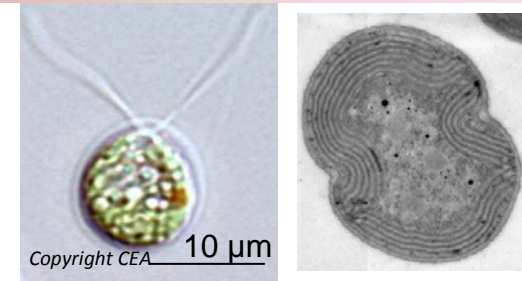


*150 T.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup> = 40 g. m<sup>-2</sup>. j<sup>-1</sup> (sur 365 jours)*

*D'après « EPOBIO project » University of York – Sept 2007*

*Des microalgues pour la production d'énergie ? Saclay, 18/03/2013*

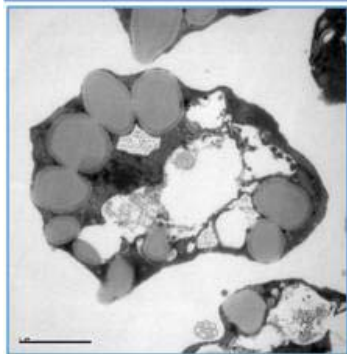
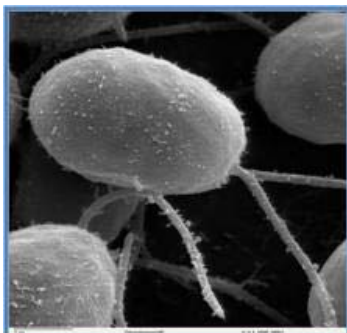
# Biomasse plantes supérieures v biomasse algale



Biomasse	Lignine (%)	Cellulose (%)	Hémicellulose (%)
Bois tendre	27-30	35-40	25-30
Bois dur	20-25	45-50	20-25
Paille de blé	15-20	33-43	20-25

Algue (% poids sec)	Protéines	Carbohydrates	Lipides	ARN / ADN
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5

# Des microalgues pour la production de biodiesel

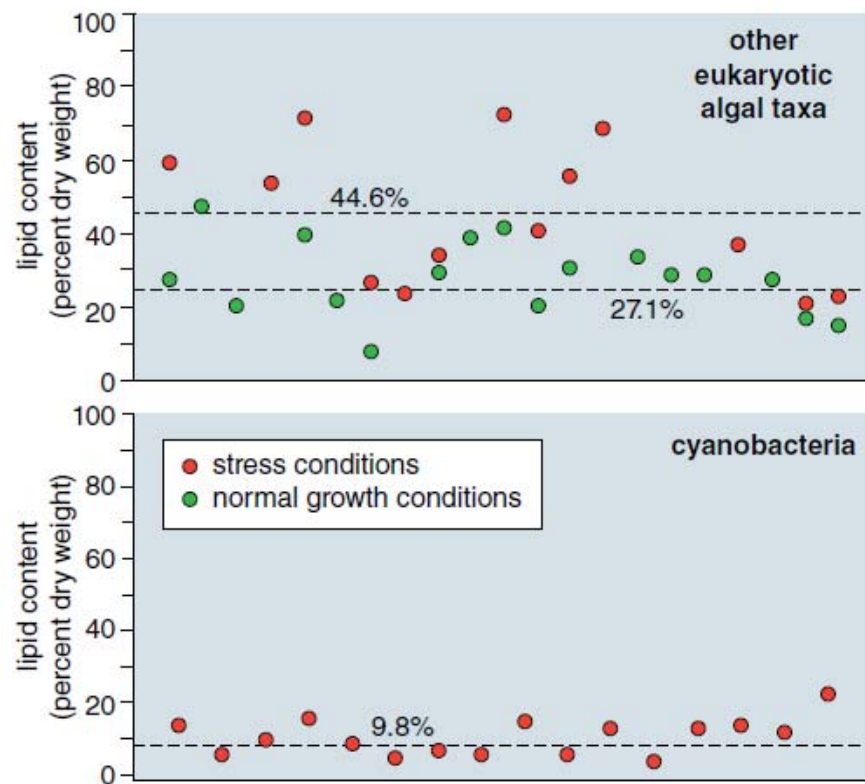
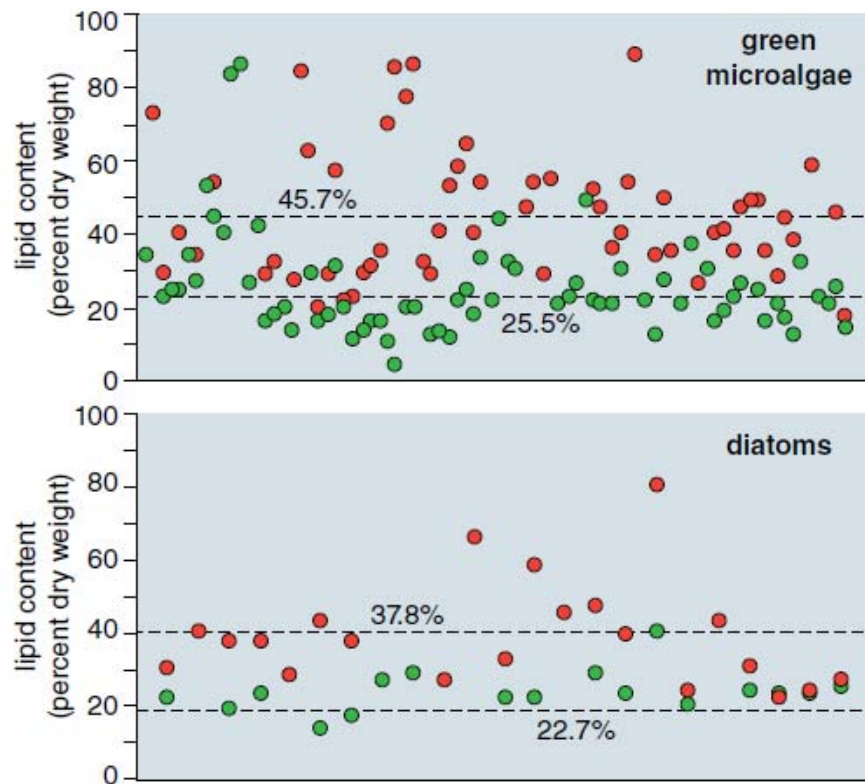


## Oil content of some microalgae

Microalga	Oil content (% dry wt)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella</i> sp.	28–32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca</i> sp.	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis</i> sp.	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris</i> sp.	20–35
<i>Nannochloropsis</i> sp.	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–54
<i>Nitzschia</i> sp.	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium</i> sp.	50–77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15–23

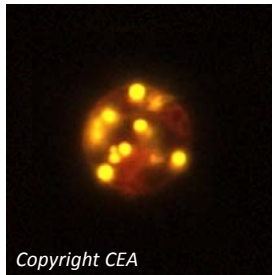
*Une souche de C. reinhardtii accumule jusqu'à 50% de lipides*

# Des microalgues pour la production de biodiesel



Pienkos et al. (2011) American Scientist

# Certaines microalgues accumulent 60% de lipides



Copyright CEA

*Chlamydomonas reinhardtii*

Un verrou: l'accumulation de lipides de réserve (TAGs) nécessite une carence (N)



Copyright CEA

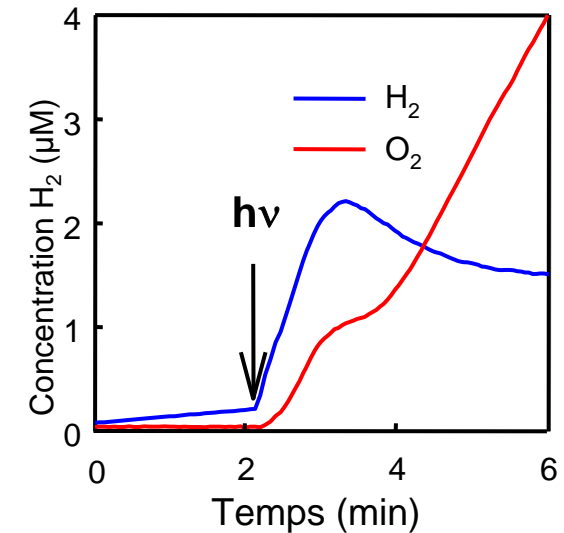
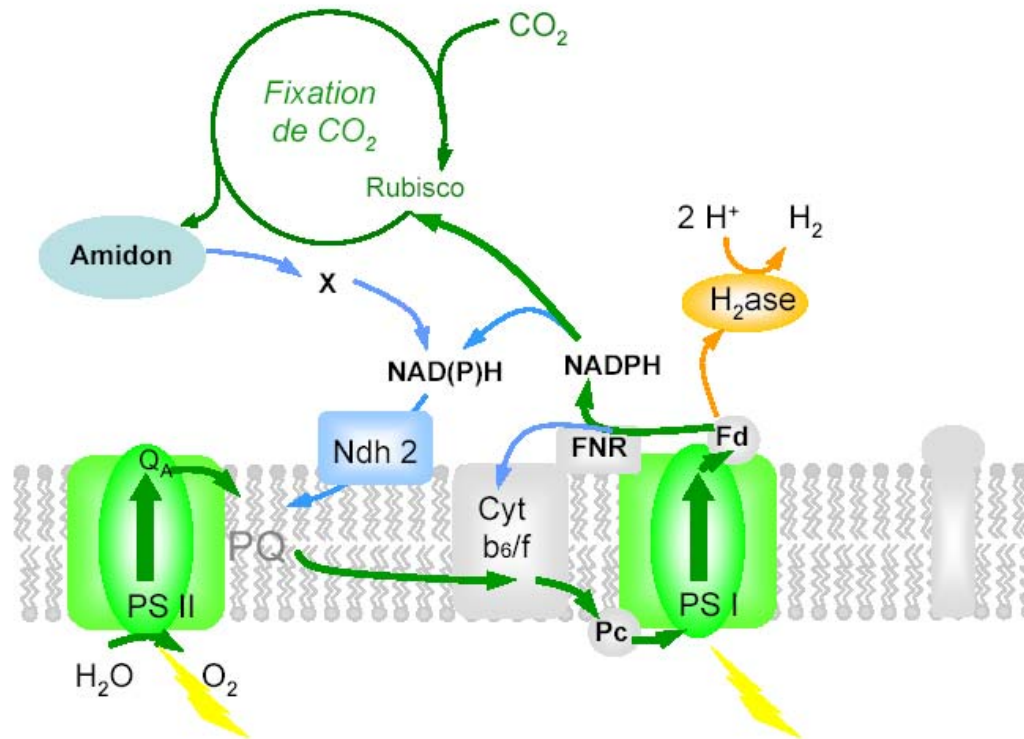
	Microalgues	Plantes C4	Plantes C3
<b>Productivité maximale (T.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>)</b> Rendement photosynthétique	<b>150-180</b> ~ 6 - 7.5 %	<b>60</b> ~ 2.5 %	<b>30</b> ~ 1.25 %
<b>Productivité observée (T.ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>)</b>	<b>50-70</b>	<b>10-30</b>	<b>10-15</b>
<b>Productivité en lipides potentielle (T. ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>)</b>	<b>75-90</b>		
<b>Productivité en lipides observée (T. ha<sup>-1</sup>.an<sup>-1</sup>)</b>	<b>15-20</b>	<b>3</b>	<b>1.5</b>
<b>Coûts de production (\$.kg<sup>-1</sup>)</b>	<b>0.4 - 40</b>	<b>0.04</b>	<b>0.04</b>

*Verrous  
Biologiques*

*Verrous  
Technologiques*

Challenge: accroître la productivité en TAGs

# Production d'hydrogène par les microalgues



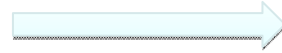
- Un processus efficace, mais transitoire
- Perte énergétique
- Evacuation du pouvoir réducteur en excès

Challenge: accroître le flux d'électrons vers l'hydrogénase

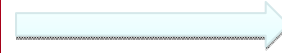
# Domestication des espèces sauvages



Téosinte



7,000 à 10,000 ans



Maïs



énergie ? Saclay, 1

# Vers une domestication des microalgues

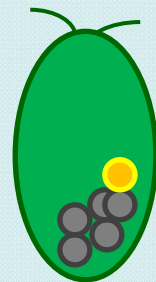


Téosite

7,000 à 10,000 ans

Maïs

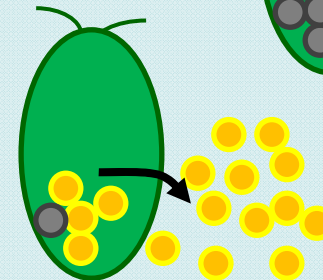
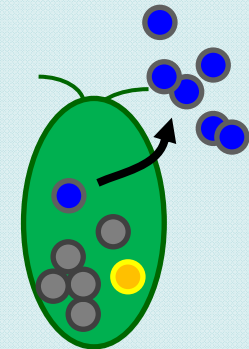
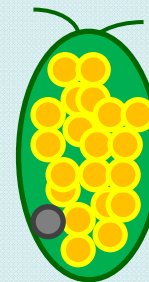
- Huile ●
- Amidon ●
- Hydrogène ●



Génomique, génétique



Biotechnologie  
20-30 ans ?

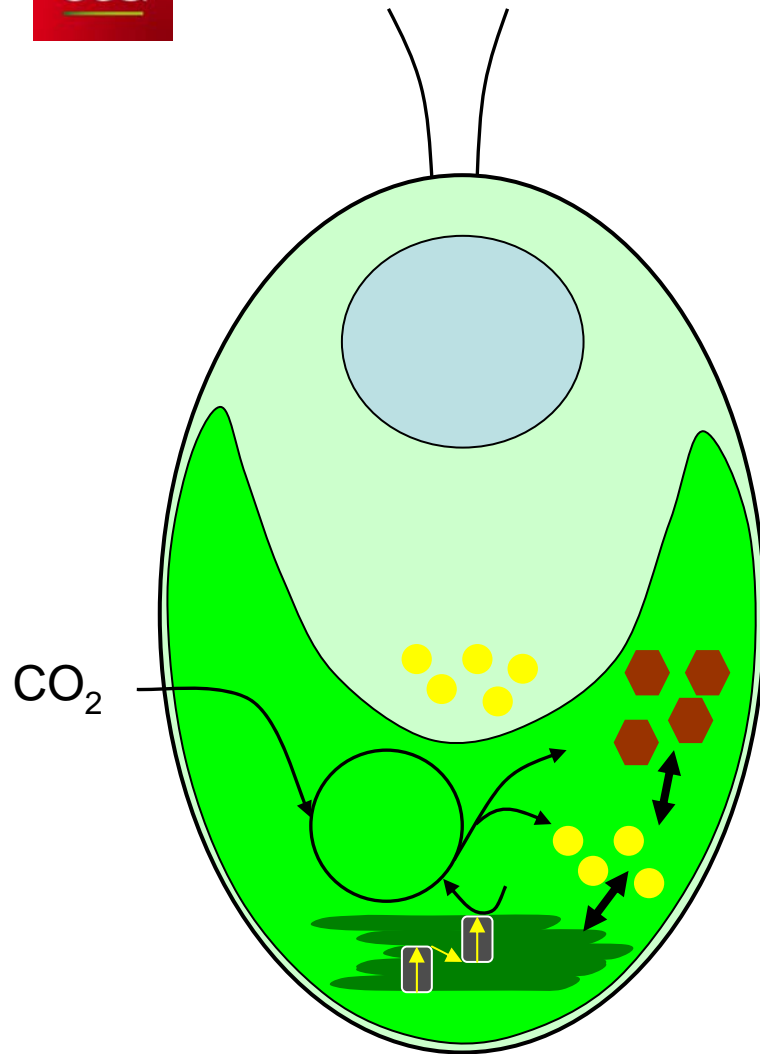




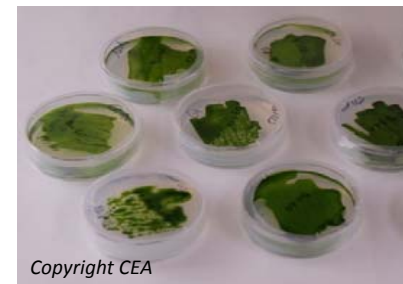
# Un modèle d'étude privilégié



*Chlamydomonas reinhardtii*



- Unicellulaire, division rapide (8h)
- Génome séquencé
- Stade végétatif haploïde
- Outils génétiques et moléculaires
- Collections d'ESTs et de mutants
- Produit de l'hydrogène
- Accumule jusqu'à 50% de lipides



# Plateforme biotechnologique HélioBotec



Inaugurated October 25<sup>th</sup> 2011

- Mass spectrometry for isotope gas analysis
- Instrumented photobioreactors, controlled chambers
- High-throughput screening devices (flow cytometry, imaging...),
- Biophysical techniques, quantitative PCR
- Analytical techniques for lipidomics (GC-MS, HP-TLC, LC-MS-MS)
- Facility for strain cryo-conservation...

ALGOMICS, DIVHYDO,  
SHAMASH, ALGO-H2,  
DIESALG,...



FERMENTALG



SOLAR-H2, BIOLIPOL...

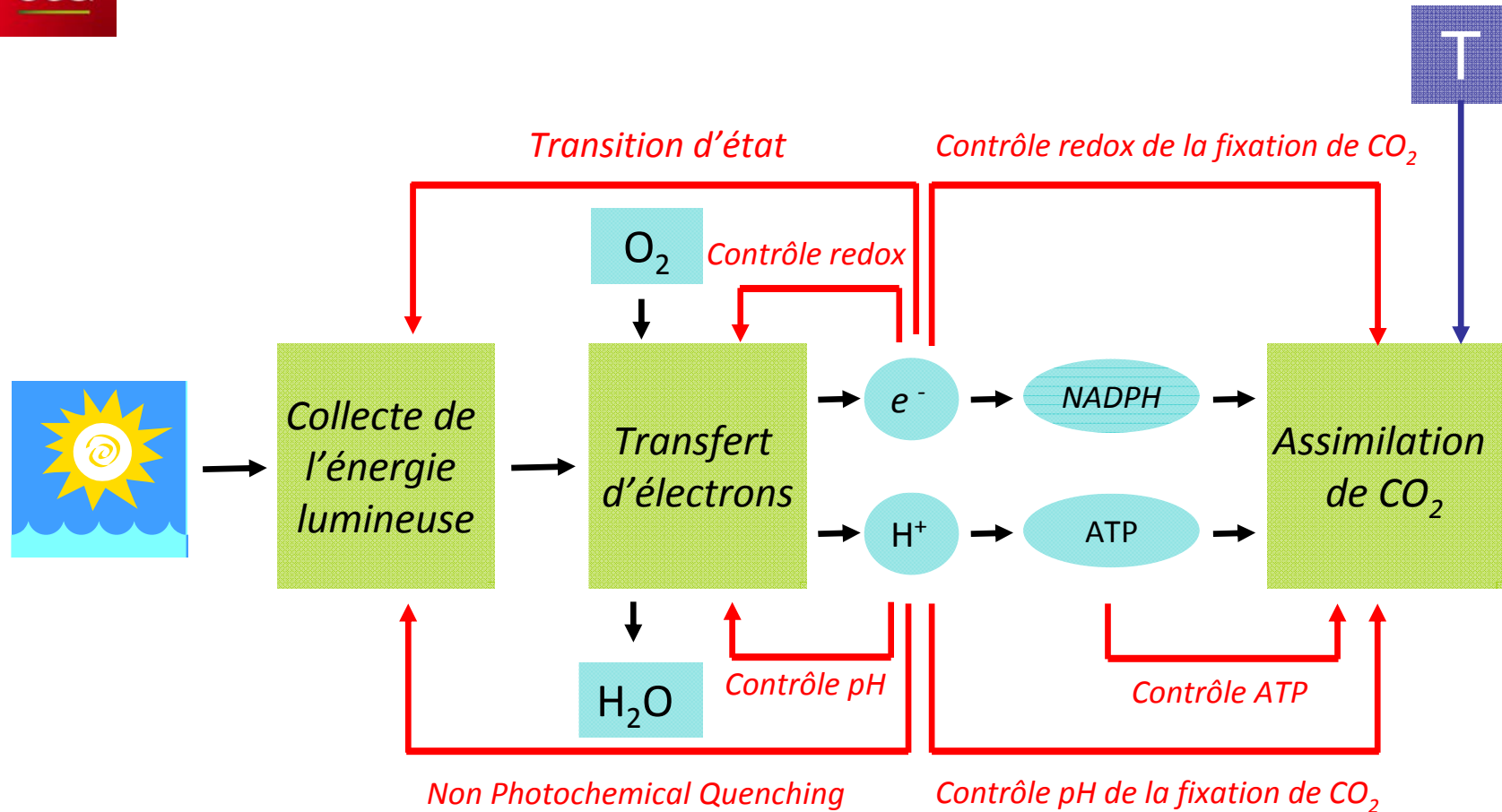


GREEN STARS

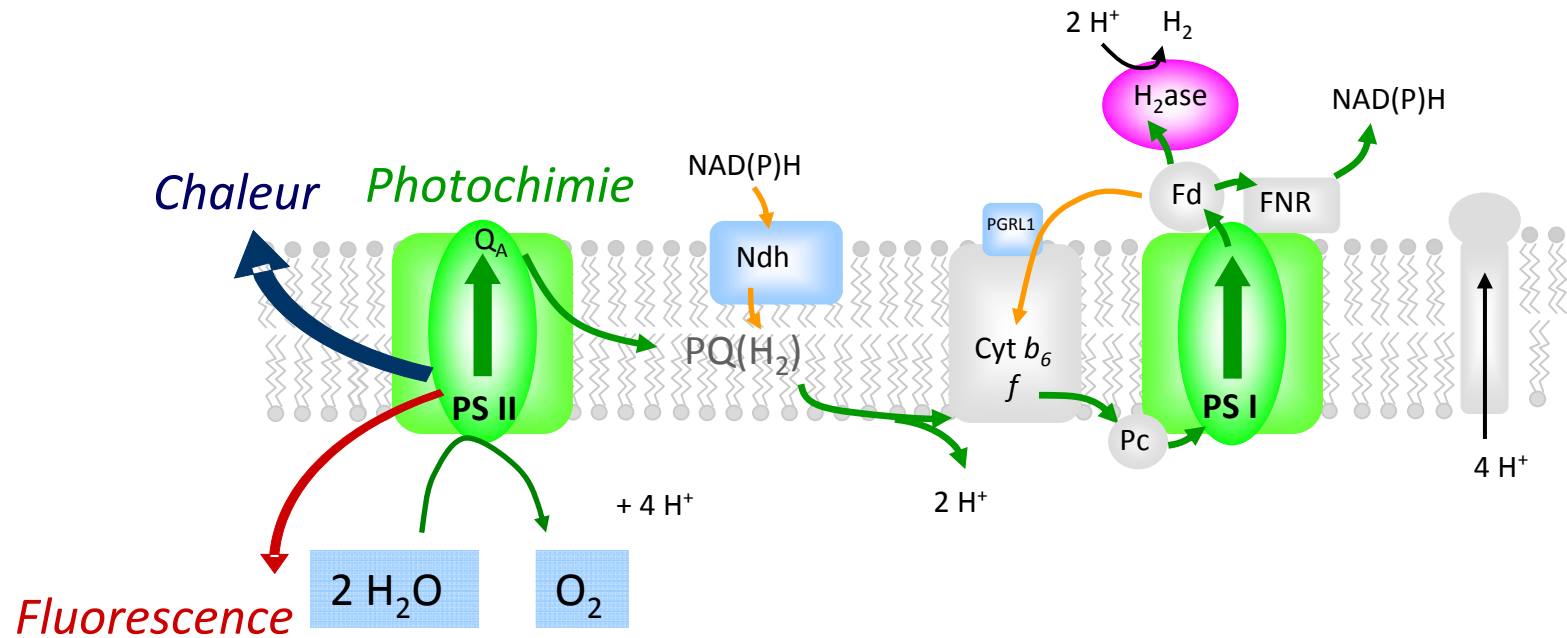


# Des régulations complexes de la photosynthèse

Mais nécessaires pour l'adaptation à des environnements fluctuants



# Recherche de mutants à photosynthèse dérégulée



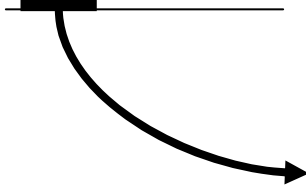
*Crible génétique basé sur la fluorescence de la chlorophylle*

*Recherche de mutants affectés dans les mécanismes de régulation de la photosynthèse*

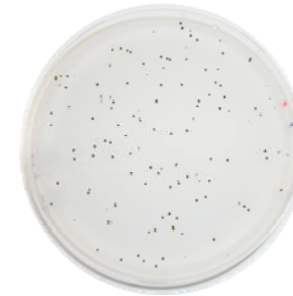
# Criblage de mutants par imagerie de fluorescence



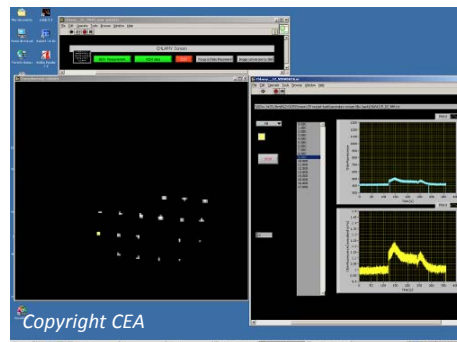
AphVIII



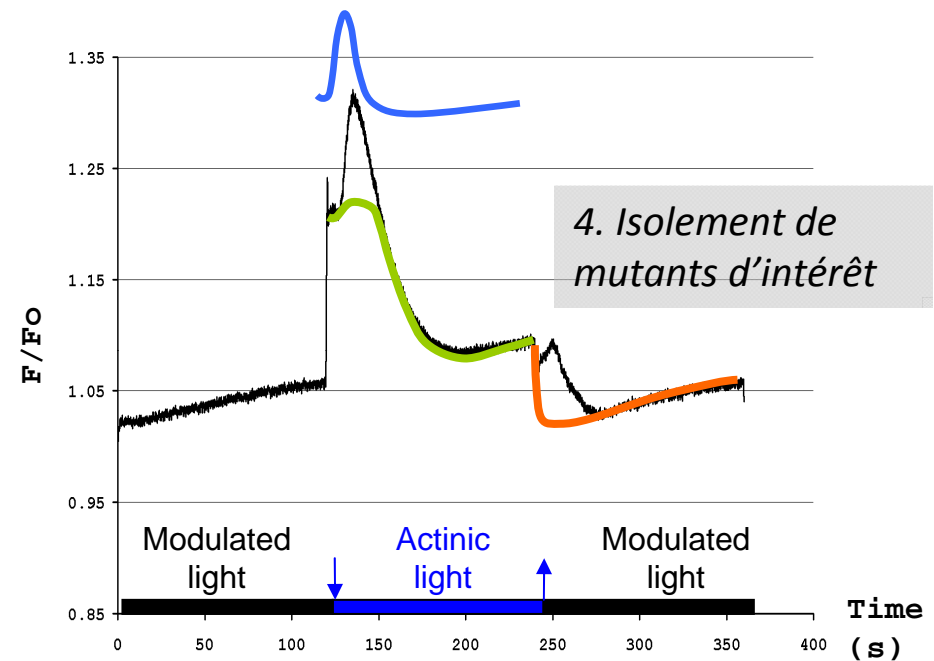
1. Création d'une banque de mutants d'insertion (15 000 mutants)



2. Croissance sur milieu sélectif

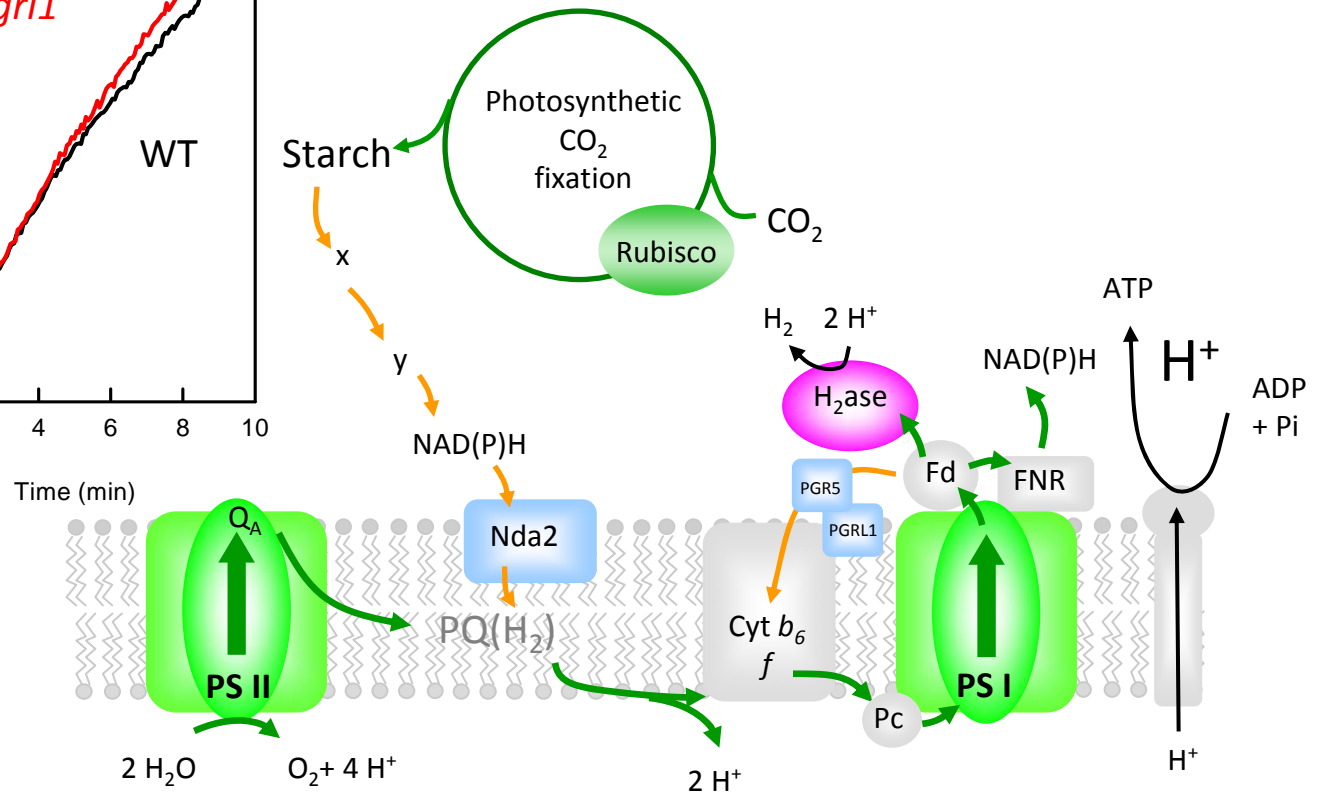
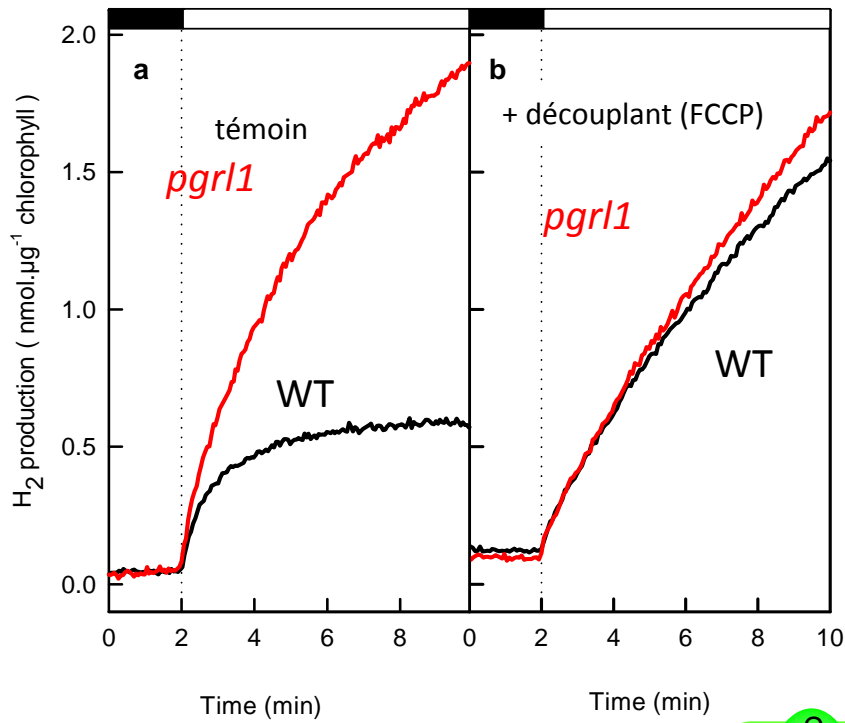


3. Analyse des transitoires de fluorescence sur des colonies isolées



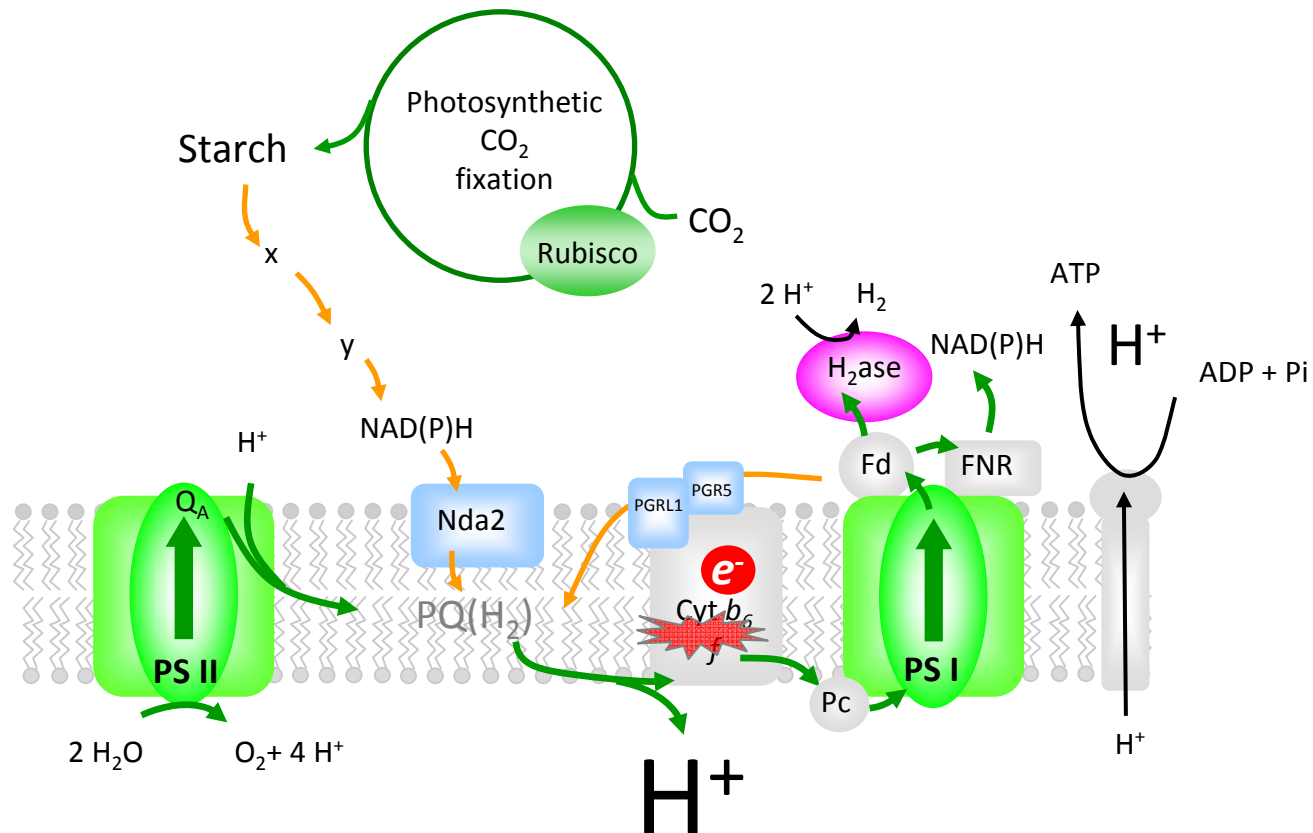
4. Isolement de mutants d'intérêt

# Isolement d'un mutant sur-producteur d'H<sub>2</sub>

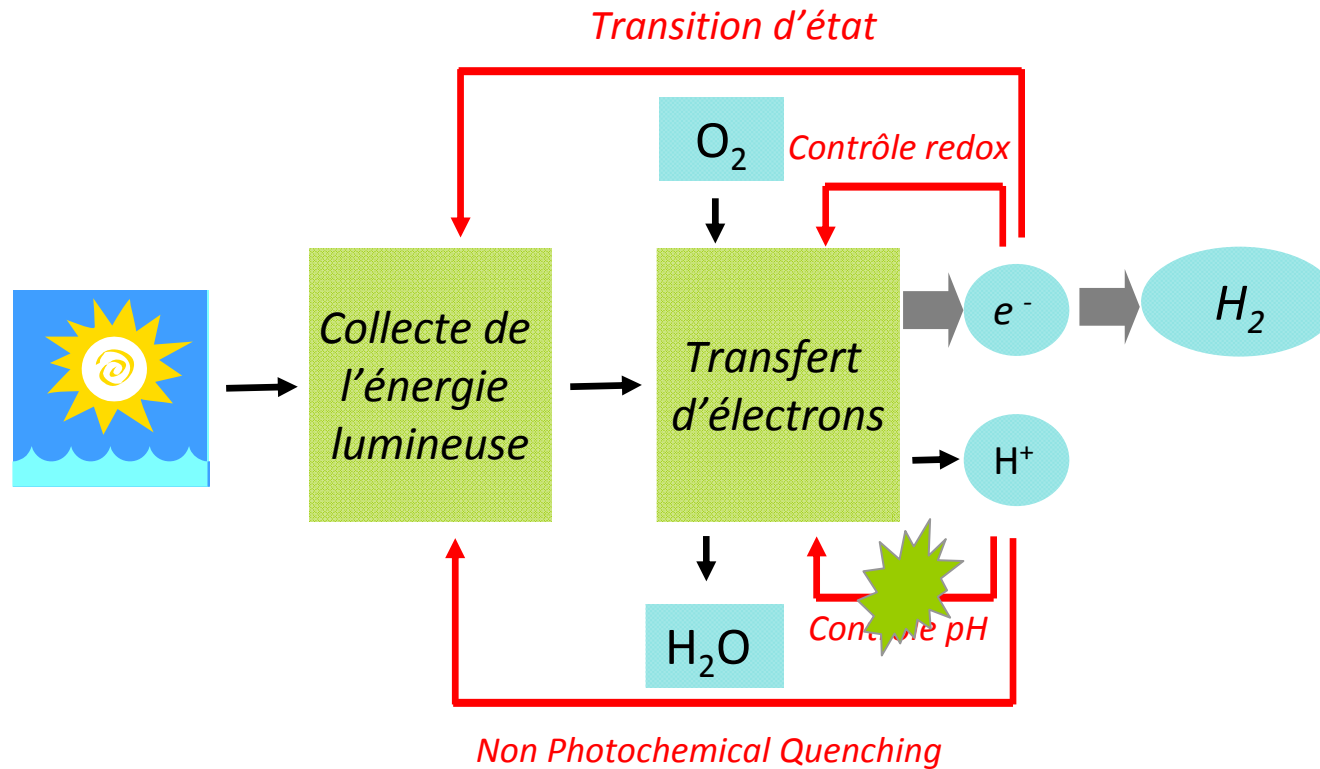


Le gradient de protons généré par le transfert cyclique des électrons limite la fourniture d'électrons vers l'hydrogénase (Tolleter *et al.* 2011 *Plant Cell*)

# La suppression du flux cyclique stimule la production d' H<sub>2</sub>



# Régulation de la photosynthèse et photoproduction d' $H_2$

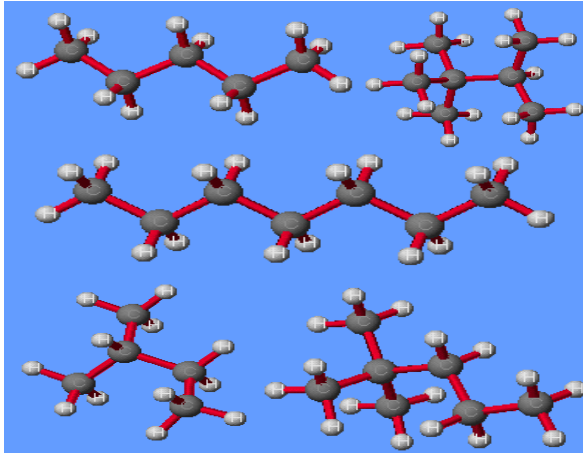




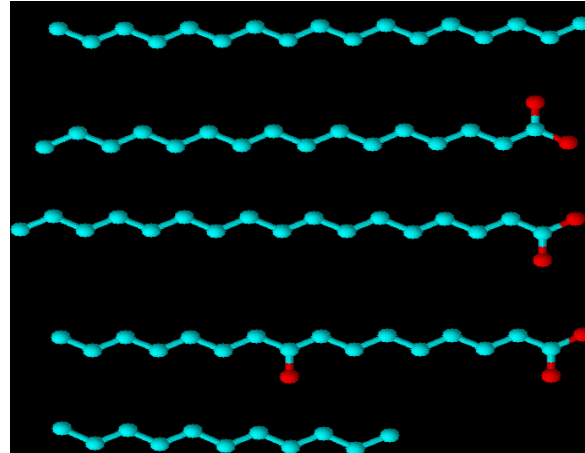
# Accumulation d'huile lors d'une carence en azote



Carburants fossiles

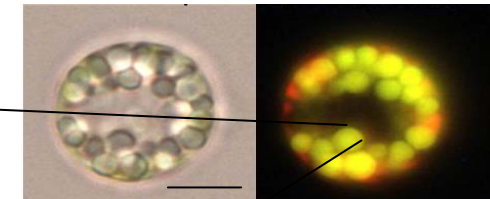
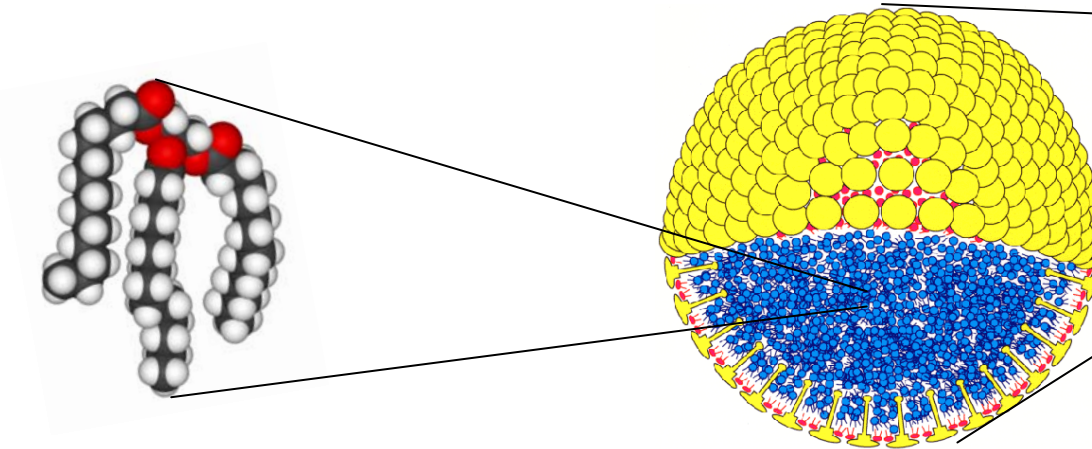


Lipides biologiques (algues)



Copyright CEA

Les lipides de réserve: TAGs (Tri Acyl Glycérols)

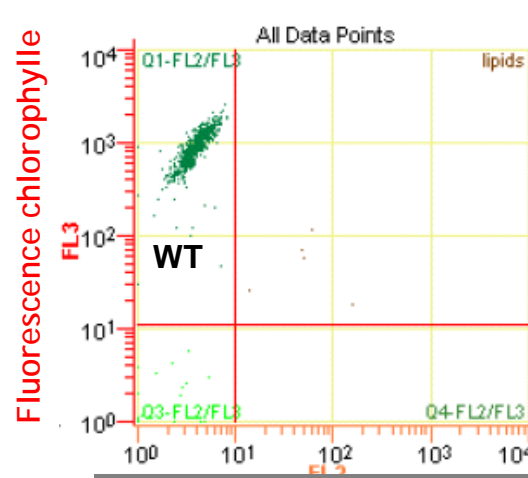


Coloration Nile red

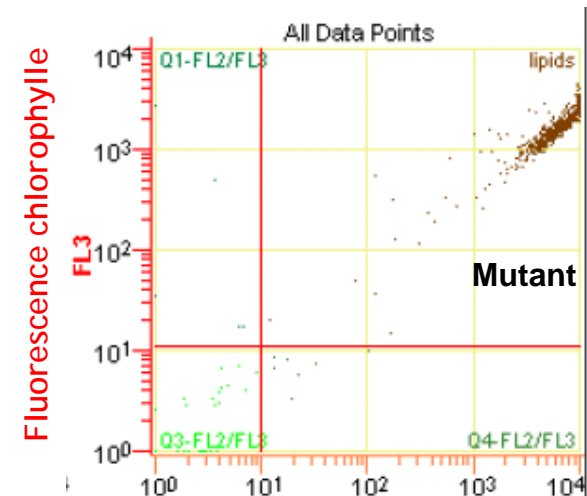
# Isolement d'un mutant d'accumulation d'huile



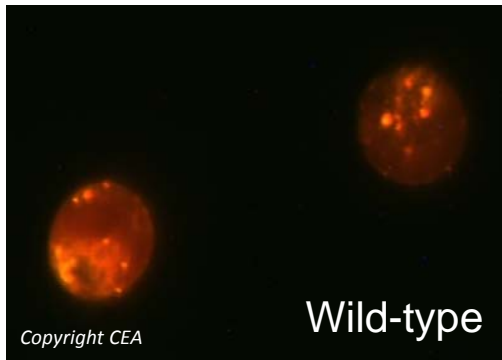
Criblage d'une banque de mutants (5 000 mutants)



Fluorescence Nile red

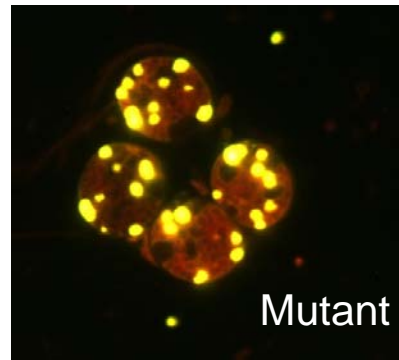


Fluorescence Nile red

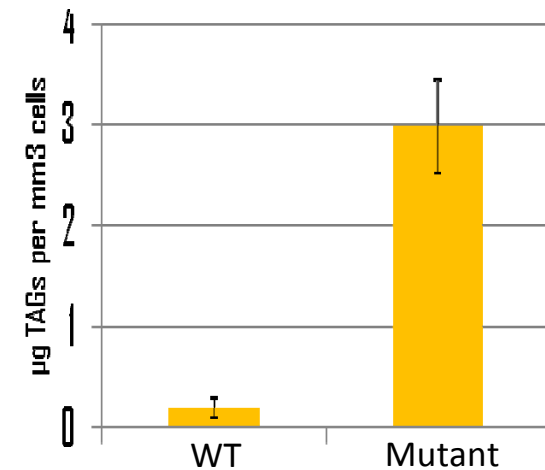


Wild-type

Copyright CEA



Mutant



Accumulation d'huile chez le mutant en conditions de croissance normale

# Vers une domestication des microalgues

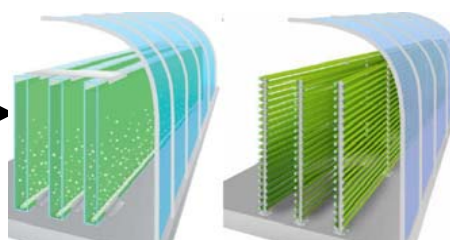
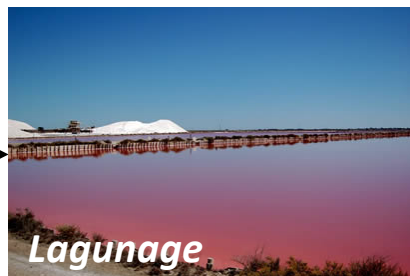


Technologie et domestication

## Domestication

- Exploration des la biodiversité
- Criblage haut-débit
- Génomique, métabolomique, protéomique
- Mécanismes biologiques et régulations
- Génie génétique et métabolique
- Modélisation prédictive...

## Systèmes de culture



## Récolte

- Centrifugation
- Filtration
- Flocculation
- Décantation
- ....

## Extraction

- Solvants
- Techniques séparatives
- Valorisation de la biomasse
- Recyclage de nutriments
- Remédiation du CO<sub>2</sub>

## Analyses technico-économiques

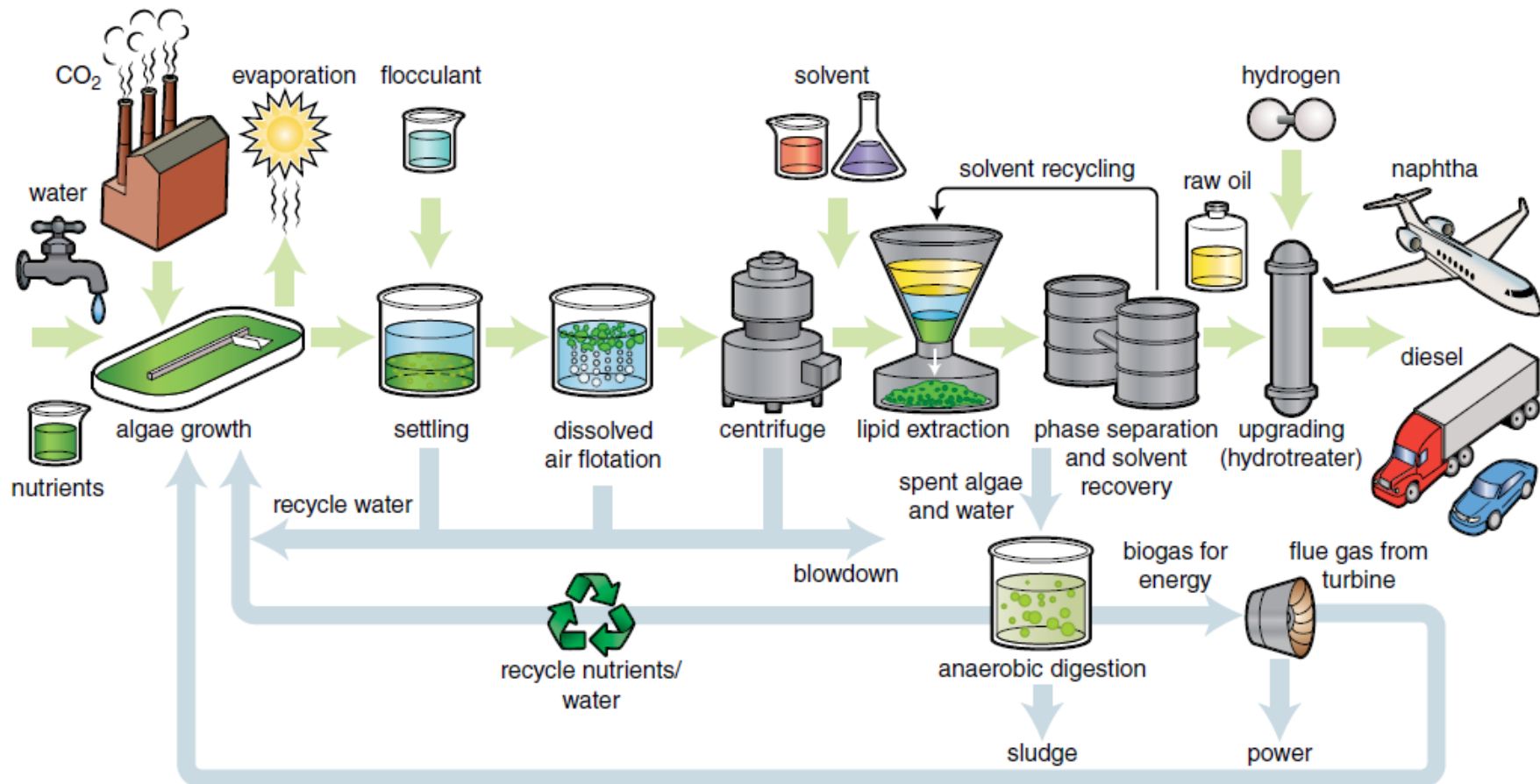
(Analyses de cycles de vie, émissions de GES...)

Biologie, biotechnologie



Technologie, génie des procédés

# Vers un concept de bioraffinerie



Pienkos et al. (2011) American Scientist

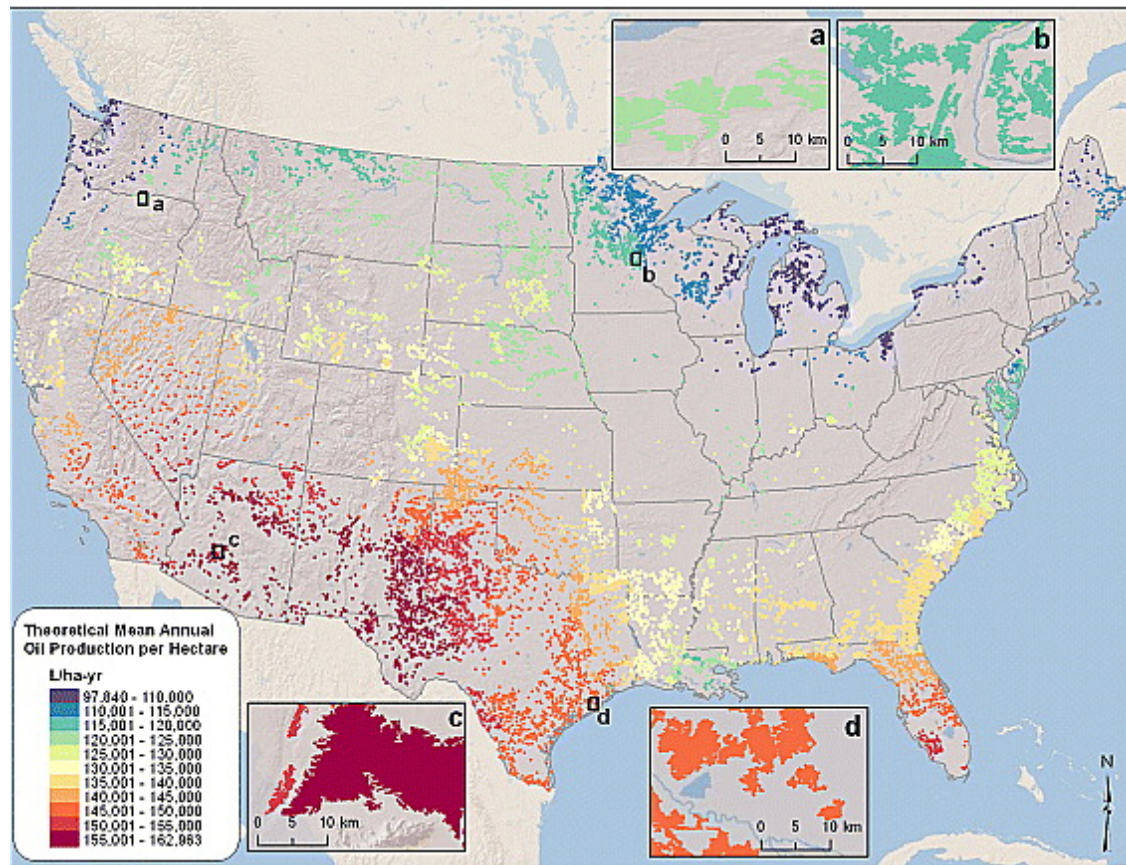
# Potentiel des USA pour la production d'algocarburants



220 10<sup>9</sup> L/an (48% des importations de pétrole pour les transports)

5% de la surface du territoire

3 fois plus de besoin en eau que l'irrigation pour agriculture (1400L/L huile)



Wigmosta et al. 2011 Water Resources Research, 47

# Des microalgues pour la production de biocarburants ?

---



## Conclusions

- Les microalgues ont un bon potentiel pour la production de biocarburants (productivité, compétition avec l'alimentation...)
- Rentabilité économique validée pour des production à HVA
- Des progrès importants doivent être réalisés pour une production de biocarburants économiquement viable et préservant l'environnement
- Leur avenir dépendra de l'évolution de la demande sociétale, des progrès de la recherche et de l'évolution du prix du pétrole !
- Ne remplaceront jamais le pétrole, serviront en priorité à des marchés spécifiques (aéronautique, chimie verte...)