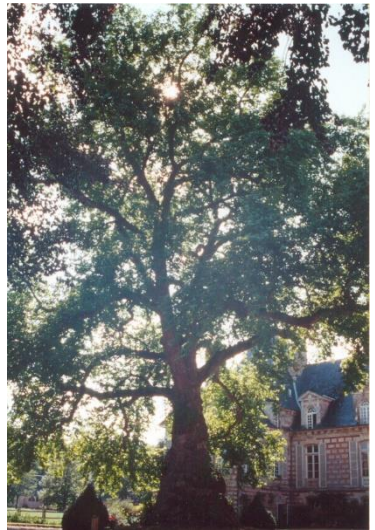
La production d'hydrogène biosourcés : le potentiel des microalgues

Y Meng, H Ben Gharbia, E Nicol,
Y Hardivillier, J Marchand et **B Schoefs**

Contexte

- Augmentation de la concentration en CO_2 → réchauffement climatique
- Réduction des ressources fossiles → nouvelle(s) source(s)
- Dépendance de l'approvisionnement en
- Energie propre = décarbonée
- Energie abondante et peu coûteuse =
- Disponible localement
- Organismes photosynthétiques
  - Pompent le CO_2 dans l'atmosphère
  - Fournissent en carbone les chaines trophiques
  - Disponible presque partout

WANTED

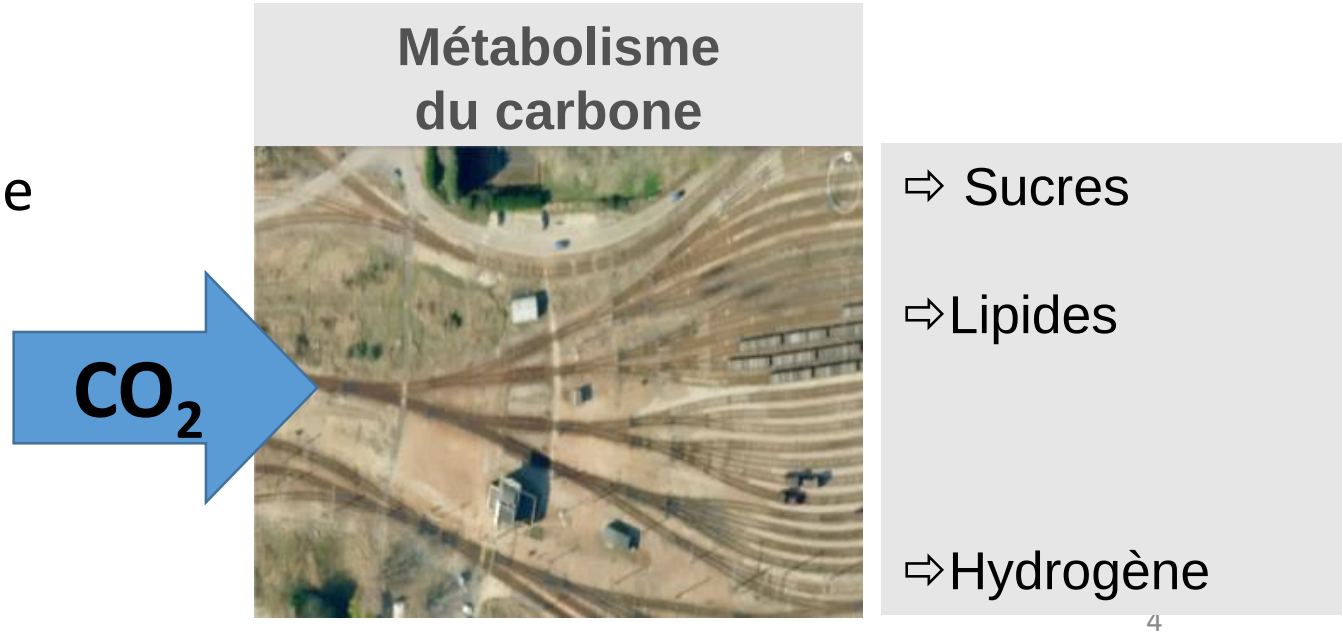


Les microalgues et nouvelles énergies

- Végétaux terrestres : biocarburants de 1ère et 2ème générations
- Microalgues : biocarburants de 3ème et 4ème générations
  - Organismes aquatiques
  - Biodiversité énorme : plus d'un million d'espèces (beaucoup restent à décrire)
  - Cultivable en masse sur surface réduite
  - Pas de compétition avec surface agricole

Les microalgues et nouvelles énergies

- Végétaux terrestres : biocarburants de 1ère et 2ème générations
- Microalgues : biocarburants de 3ème et 4ème générations
  - Organismes aquatiques
  - Biodiversité énorme : plus d'un million d'espèces (beaucoup restent à décrire)
  - Cultivable en masse sur surface réduite
  - Pas de compétition avec surface agricole
  - Métabolisme très flexible
    - Sucres → biogaz ou bioalcool
    - Lipides → biopétrole
    - Electrons et protons → hydrogène



Les productions d'hydrogène

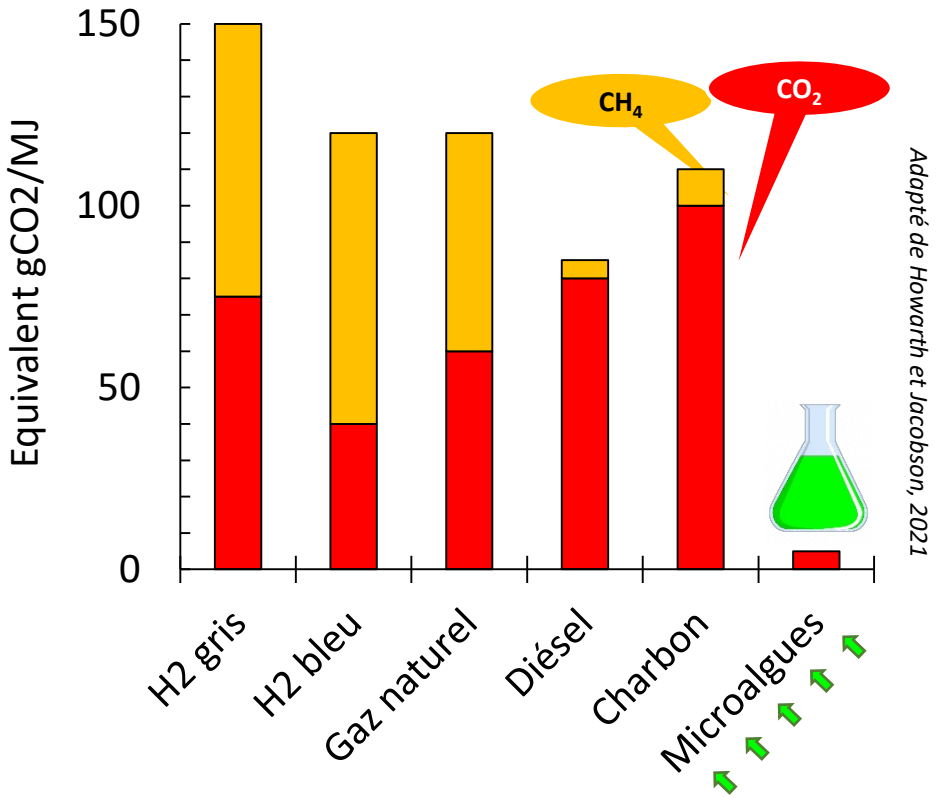
- <u>Plusieurs technologies de production</u>

  → ***un gaz écologiquement invisible ?…***

- H_2 ► gaz naturel = 75% de l'H_2 produit → **CO_2** 😠😠
- H_2 ► charbon → **CO_2** 😠😠
- H_2 ► charbon avec recapture partielle du **CO_2** 😠
- H_2 ► électrolyse → électricité renouvelable ? **CO_2** ? 😠
- H_2 ► nucléaire → électricité renouvelable ? **CO_2** ? 😠
- d'autres encore…

► Production d'H_2 ***décarbonée*** : rôle des microalgues !!! 🙂🙂🙂

→ ***Empreintes écologiques relatives des production d'H_2 et des énergies fossiles***



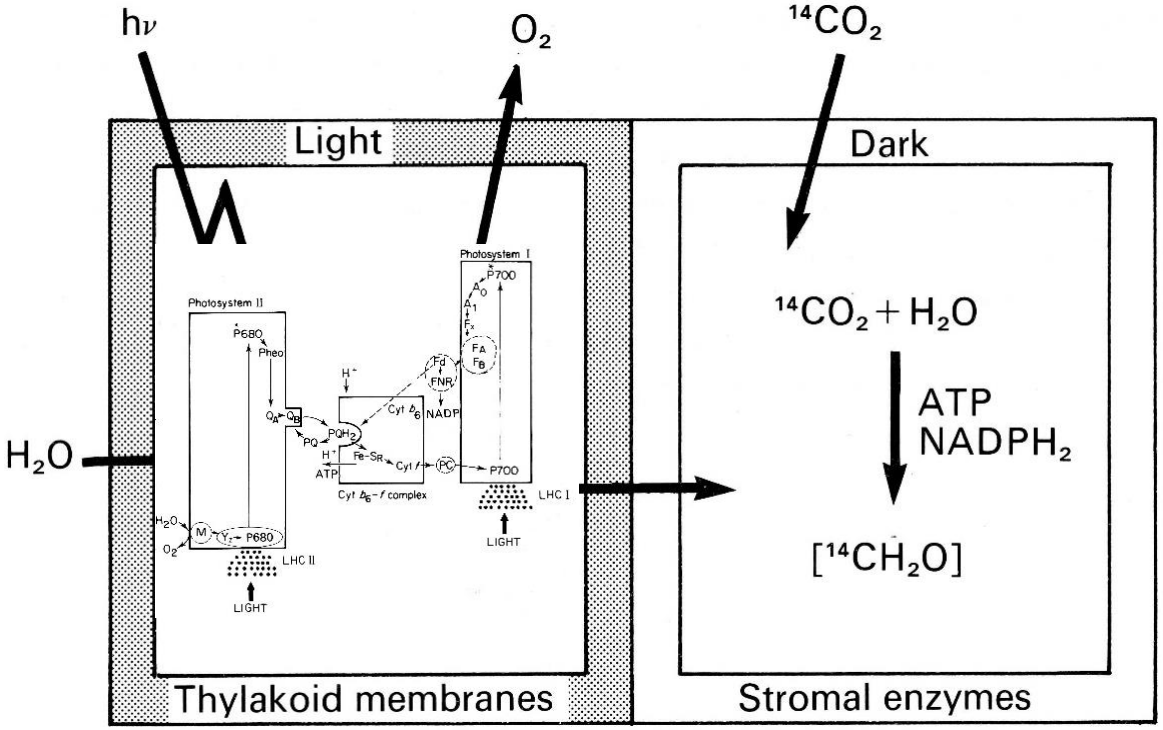
Microalgues : des usines cellulaires à bilan carbone négatif

- Fabriquer des biomolécules
  - Carbone : Réaction (bio)chimiques : substrat inorganique
  - Source d'énergie : le soleil = 3020 ZJ/an

	Nous /bactéries	Microalgues
Source de carbone	nourriture	dioxyde de carbone
Energie	respiration	respiration et photosynthèse

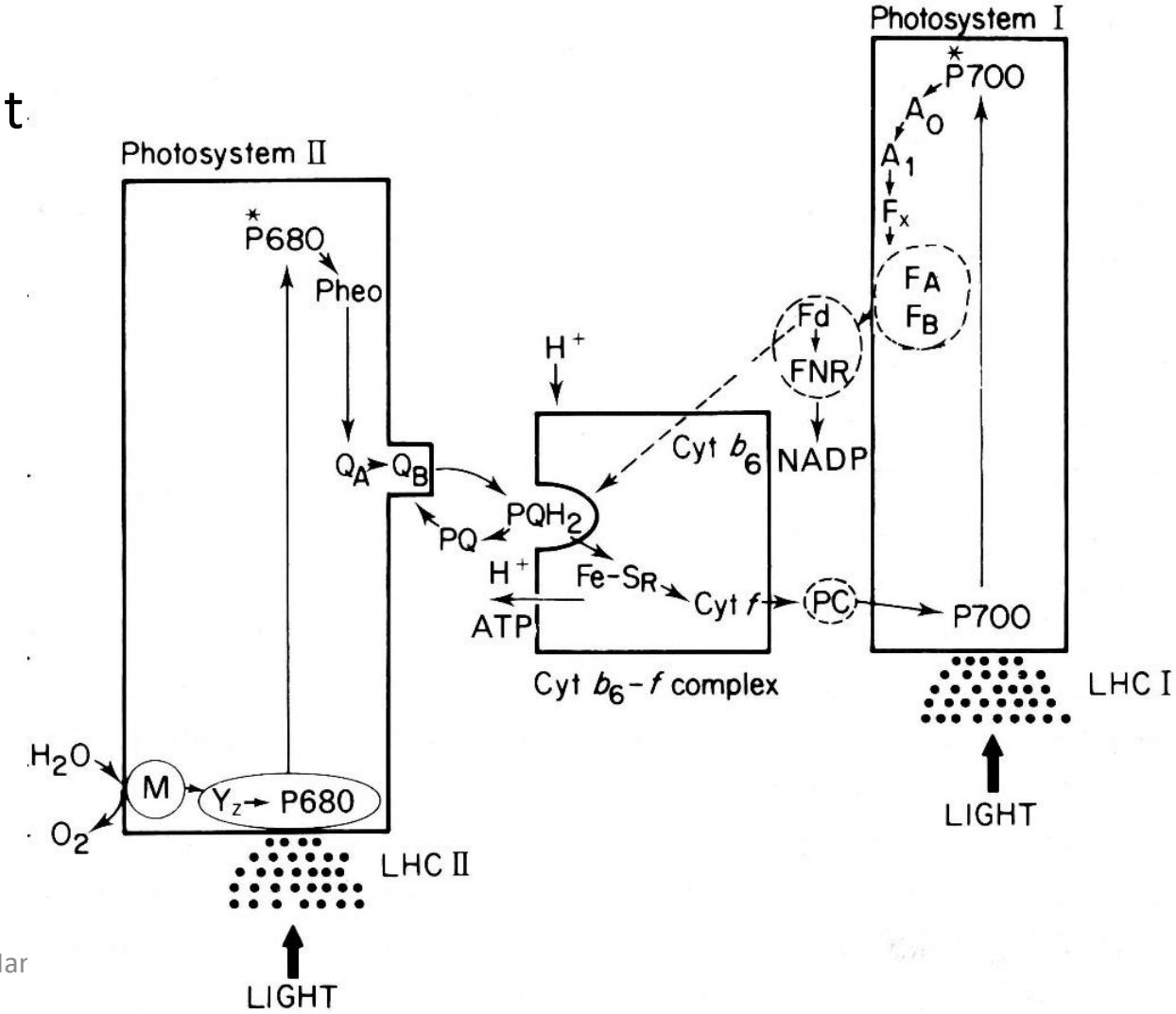
Microalgues : des usines cellulaires à bilan carbone négatif

- Fabriquer des biomolécules
  - Carbone : Réaction (bio)chimiques : substrat inorganique
  - Source d'énergie : le soleil = 3020 ZJ/an
- Mécanisme de la photosynthèse
  - Apparition : 3 milliards d'années
  - Energie lumineuse → énergie chimique → capturer CO2 et assembler atomes C
  - Deux phases
    - Photochimie (lumineuse)
    - Biochimique (pas de lumière)
    - Mécanismes



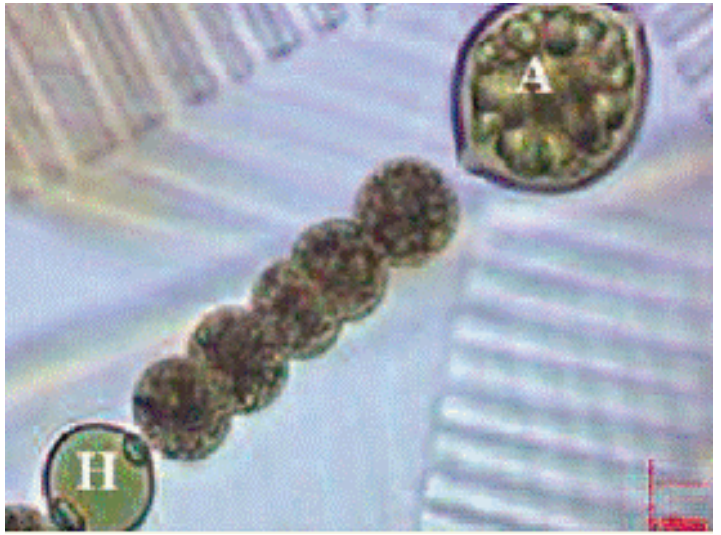
Microalgues : des usines cellulaires à bilan carbone négatif

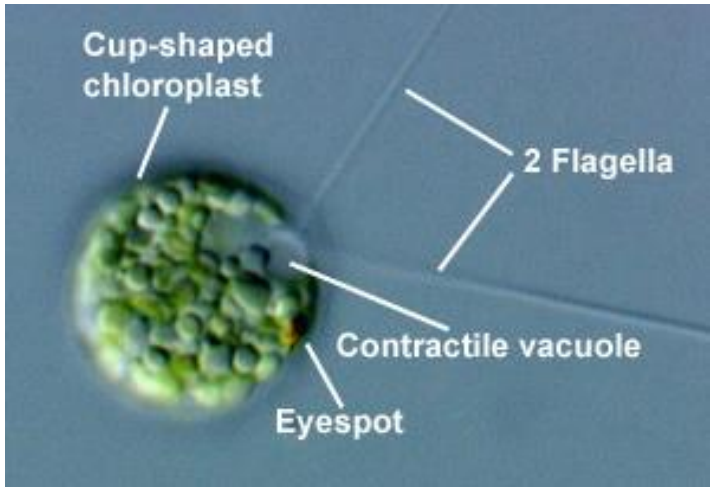
- Fabriquer des biomolécules
  - Carbone : Réaction (bio)chimiques : substrat inorganique
  - Source d'énergie : le soleil = 3020 ZJ/an
- Mécanisme de la photosynthèse
  - Apparition : 3 milliards d'années
  - Energie lumineuse → énergie chimique → capturer CO2 et assembler atomes C
  - Deux phases
    - Photochimie (lumineuse)
    - Biochimique (pas de lumière)
    - Mécanismes
    - Photosystème : LHC + RC
    - Chaine de transporteurs d'électrons
    - Membranes



Les microalgues et hydrogène

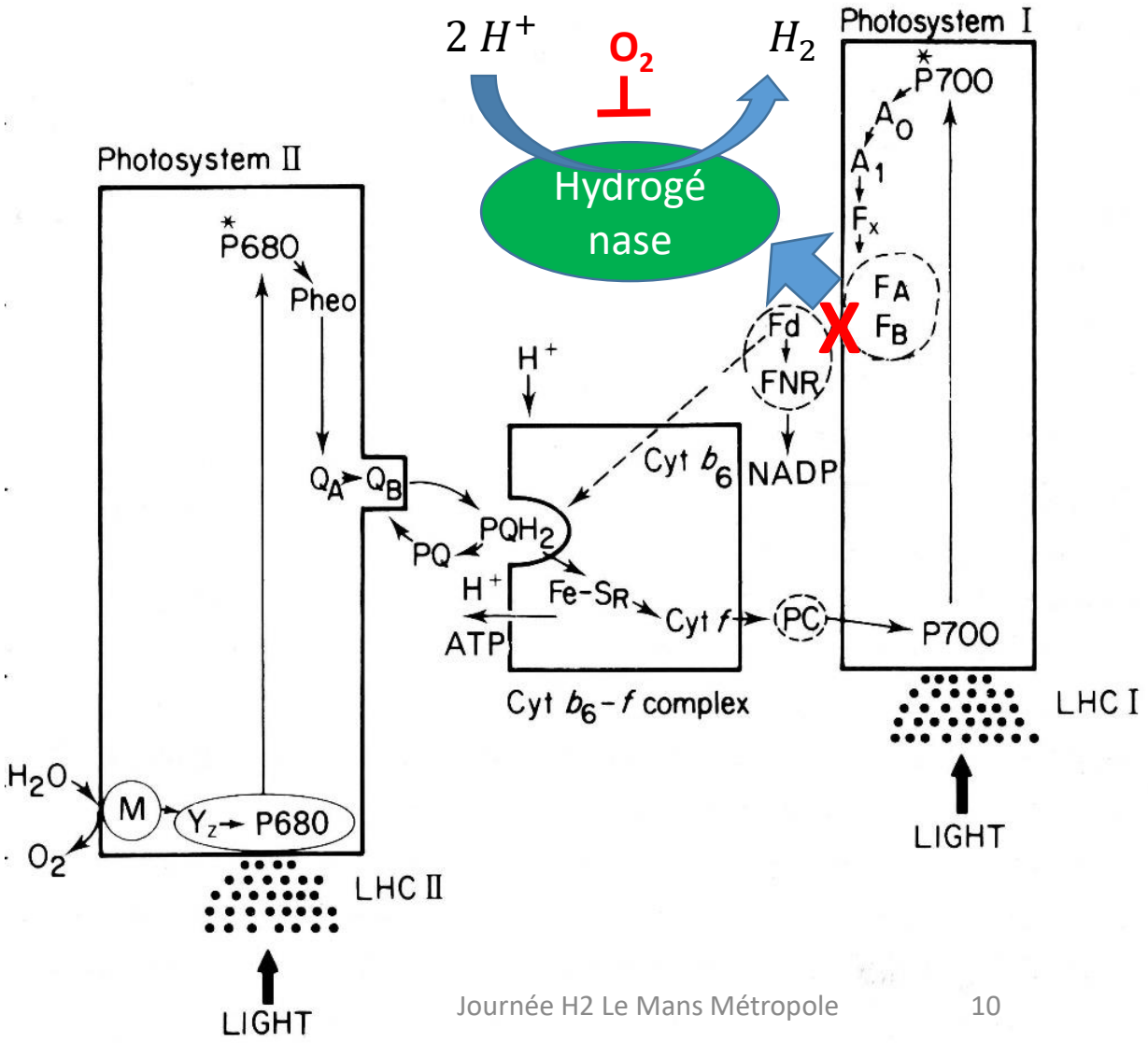
- Biomasse
  - Co-digestion anaérobie des microalgues
  - Co-fermentation des boues d'épuration et des microalgues
  - Gasification
- Observation initiale (Prof A Melis, USA – 1980, *Chlamydomonas reinhardtii*) : Stress inhibe la photosynthèse → consommation de l'oxygène cellulaire → anaérobie → production hydrogène
- Seulement quelques taxons
  - Cyanobacteries et algues vertes unicellulaire : hydrogénase





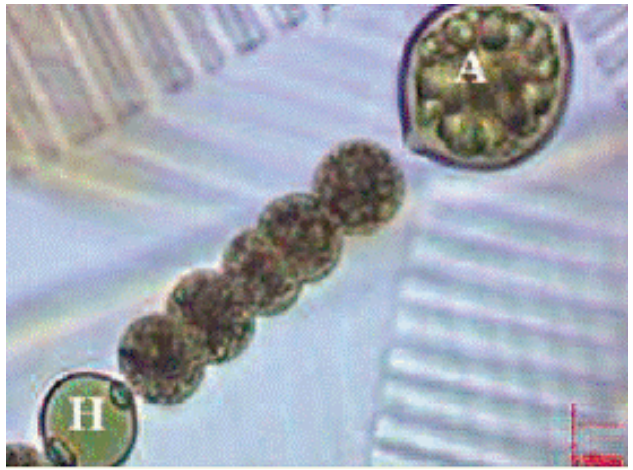
Les microalgues et hydrogène

- Biomasse
  - Co-digestion anaérobie des microalgues
  - Co-fermentation des boues d'épuration et des microalgues
  - Gasification
- Observation initiale (Prof A Melis, USA – 1980, *Chlamydomonas reinhardtii*) : Stress inhibe la photosynthèse → consommation de l'oxygène cellulaire → anaérobie → production hydrogène
- Seulement quelques taxons
  - Cyanobacteries et algues vertes unicellulaire : hydrogénase
  - A natural phenomenon
    - Accumulation de NADPH → plus d'électrons transférés vers PSI → risque oxydatif élevé
    - Flux d'électrons est dérouté vers hydrogénase (HYDA)
    - Sucres → électrons
  - Le problème : sensibilité à l'oxygène → **anaérobie**



Les microalgues et hydrogène

- Biomasse
  - Co-digestion anaérobie des microalgues
  - Co-fermentation des boues d'épuration et des microalgues
  - Gasification
- Observation initiale (Prof A Melis, USA – 1980, *Chlamydomonas reinhardtii*) :
  Stress inhibe la photosynthèse → consommation de l'oxygène cellulaire → anaérobie → production hydrogène
- Seulement
  - Cyanoba
    hydrogé
  - A natura
    - Accu
      PSI –
    - Flux
    - Sucres → électrons
  - Le problème : sensibilité à l'oxygène → **anaérobie**
  - Chez les cyanobactéries filamenteuses fixatrices N : hétérocystes

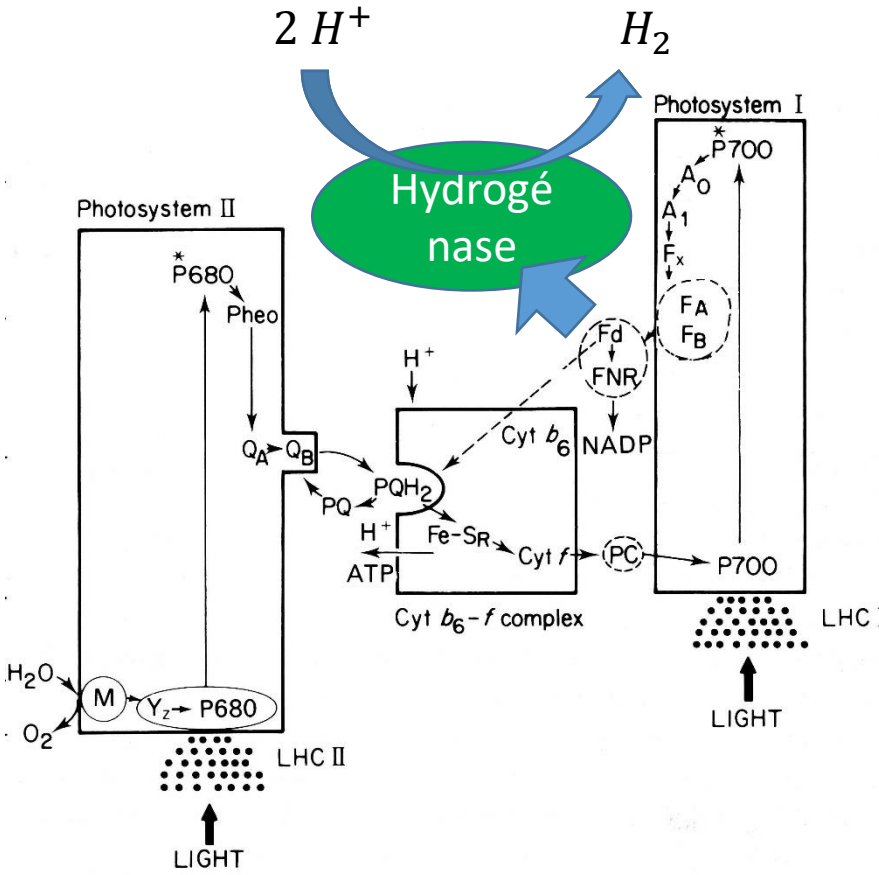


Résumé

- Organismes photosynthétiques : consommateurs de CO_2, producteur de molécules riches en énergie (sucres et lipides)
- Si anaérobie : produisent H_2 à partie des réserves → à reconstituer si épuisée → O_2

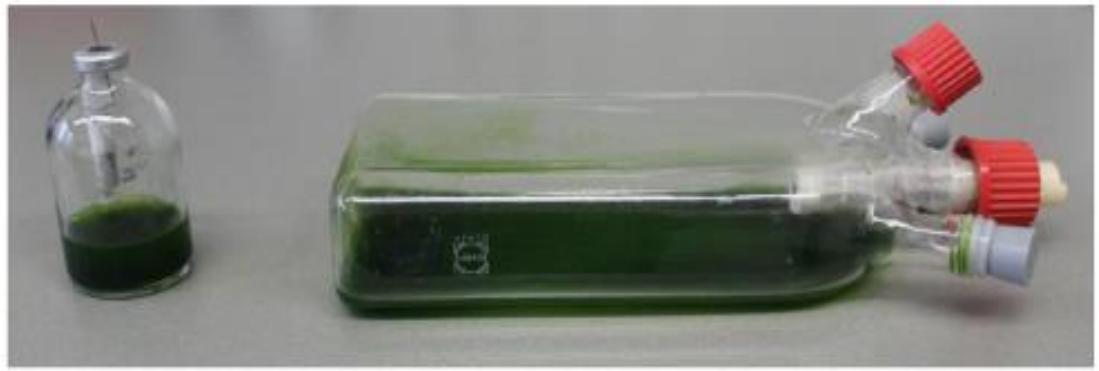
Le défi 1 : Réconcilier une réaction produisant de l'oxygène avec une réaction inhibée par l'oxygène

- Faciliter l'anoxie :
  - Bactéries photosynthétiques anaérobies
  - Retirer rapidement O_2
- Augmenter le flux d'électrons
  - Optimiser le flux d'électrons vers la ferrédoxine et hydrogénase
    - Bloquer le transport cyclique autour PSI
    - Inhibiteurs : antimycine A
    - Mutation ponctuelle dans la protéine ferrédoxine réduisant l'affinité pour les électrons
  - Créer usine cellulaire
    - Mutant contenant complexe ferrédoxine-hydrogénase pour réduire l'injection d'électrons dans d'autres processus



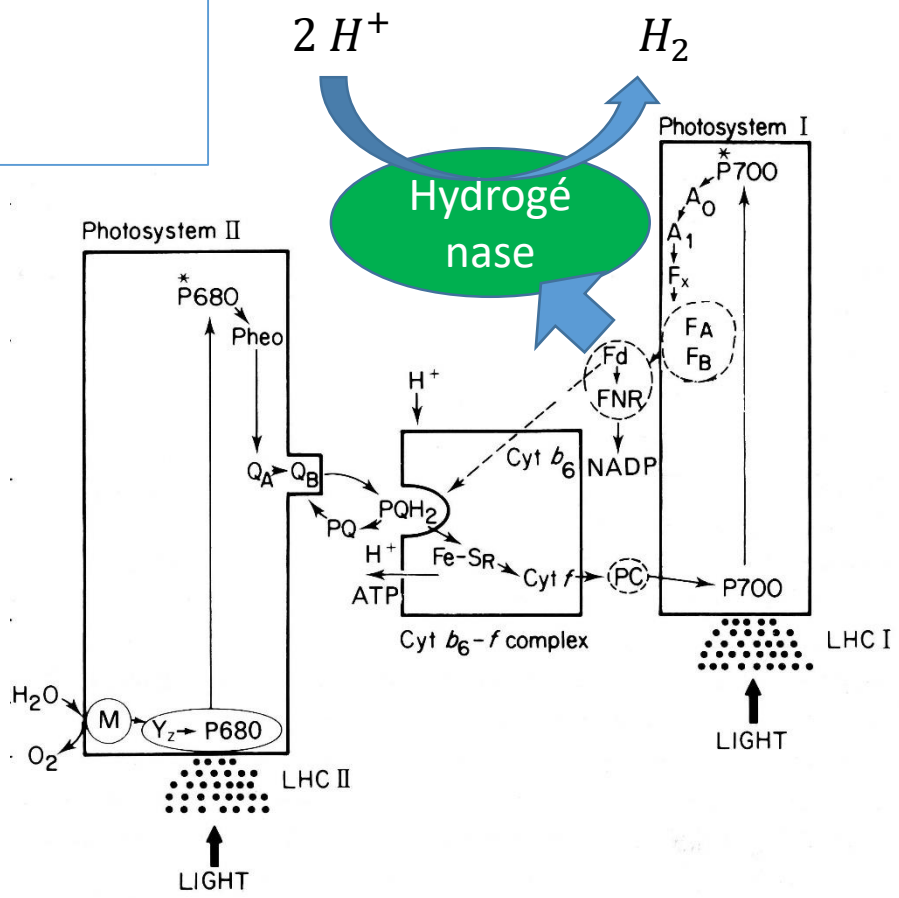
Le défi 2 : Créer et optimiser un procédé biotechnologique

- Le procédé naturel n'est pas adapté à la production en masse
  - dégradation de l'appareil photosynthtiéque limite production production H_2 dépend du carbone organique présent
- Faciliter l'anoxie :
  - Bactéries photosynthétiques anaérobies
  - Retirer rapidement O_2
  - Ombrage

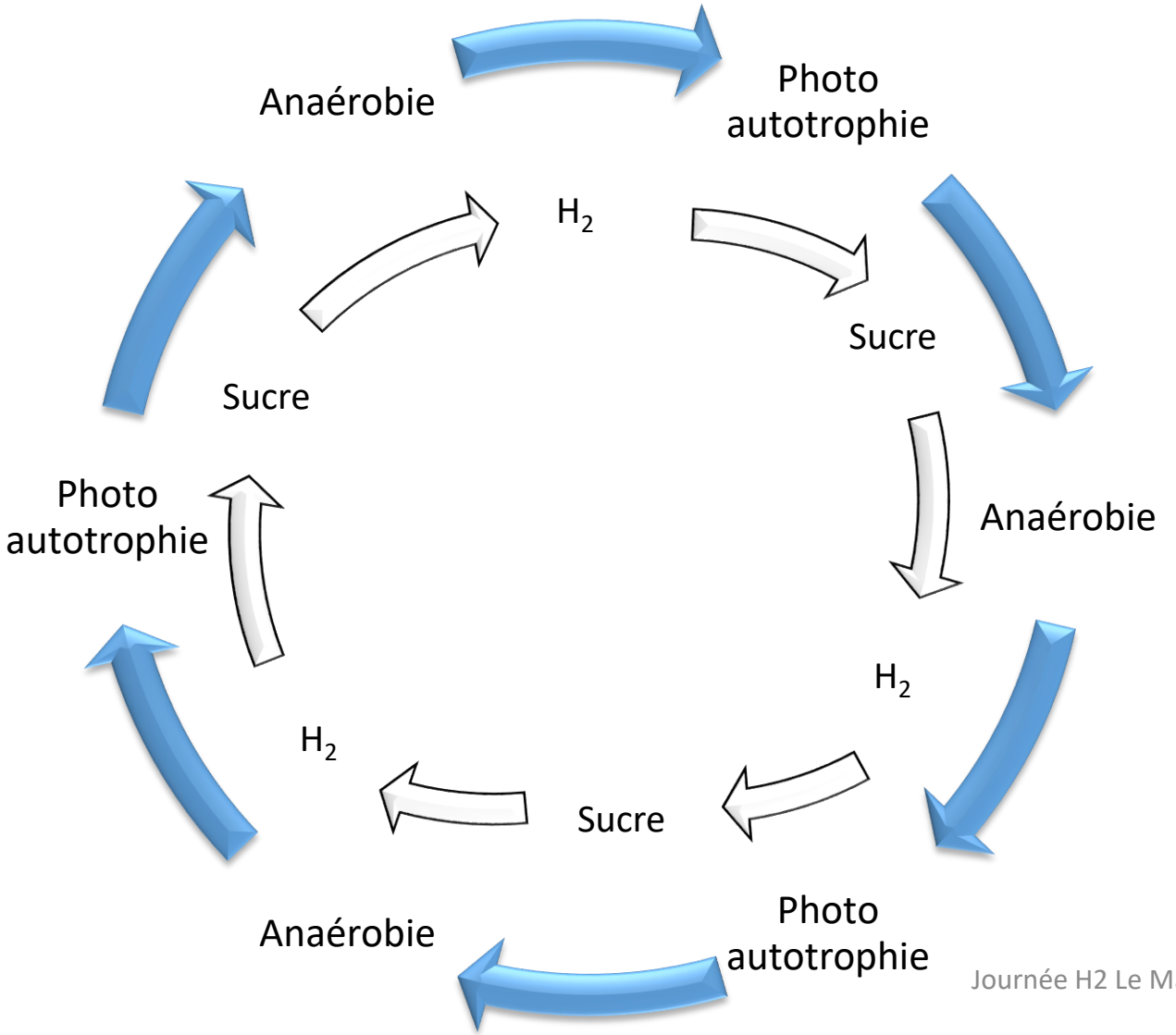


Le défi 2 : Créer et optimiser un procédé biotechnologique

- Le procédé naturel n'est pas adapté à la production en masse
  - dégradation de l'appareil photosynthtiéque limite production production H_2 dépend du carbone organique présent
- Faciliter l'anoxie :
  - Bactéries photosynthétiques anaérobies
  - Retirer rapidement O_2
  - Ombrage
  - Mélanger avec des bactéries
- Augmenter le flux d'électrons
  - Optimiser le flux d'électrons vers la ferrédoxine et hydrogénase = Bloquer le transport cyclique autour PSI
    - Inhibiteurs : antimycine A
    - Mutatation dans ferrédoxine réduisant l'affinité pour les élextrons
  - Créer usine cellulaire
    - Créer complexe ferrédoxin-hydrogénase réduisant l'injection d'électrons dans d'autres processus



A Le Mans Université

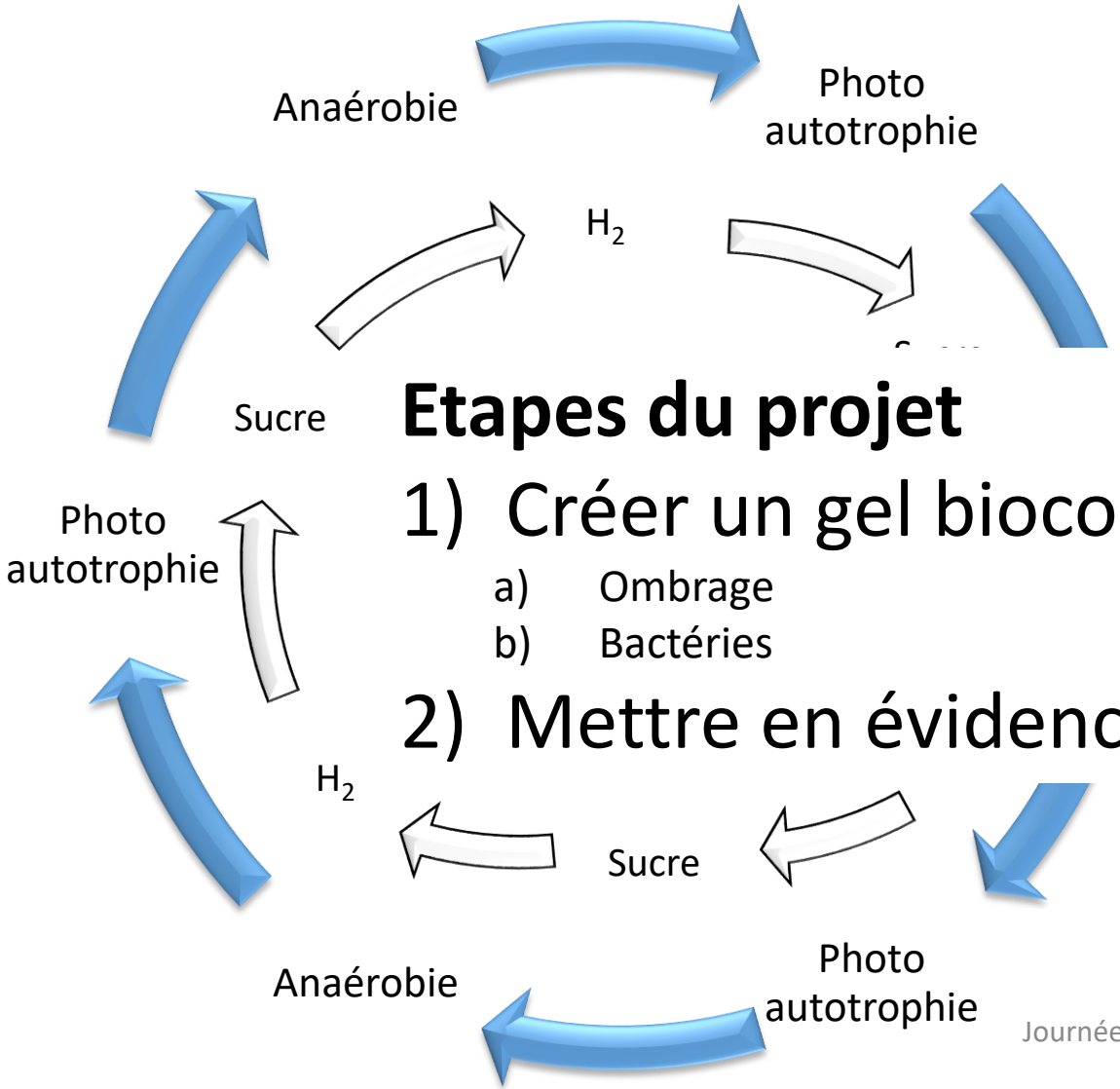


Polymères - IMMM

Métabolisme des microalgues - BiOSSE

Production d'H_2 par microalgues

A Le Mans Université



Polymères - IMMM

des microalgues - BiOSSE

Etapes du projet

1) Créer un gel biocompatible
   a) Ombrage
   b) Bactéries
2) Mettre en évidence le dégagement d'hydrogène

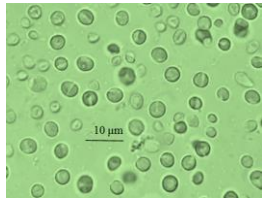
1 - Microalgues et polymère: préparation

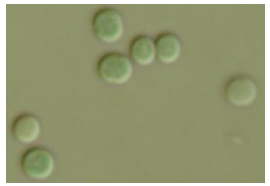
Microalgue verte

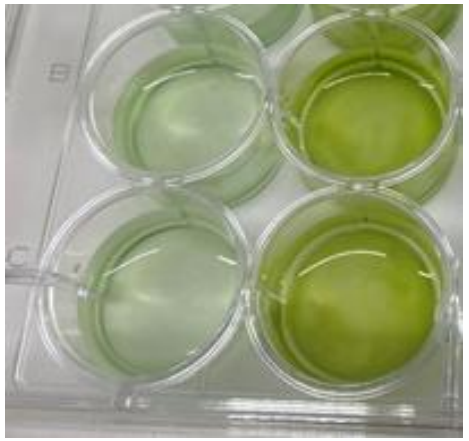
Cyanobactérie

Conditions de culture

Polymère







Microplaques (12 puits)

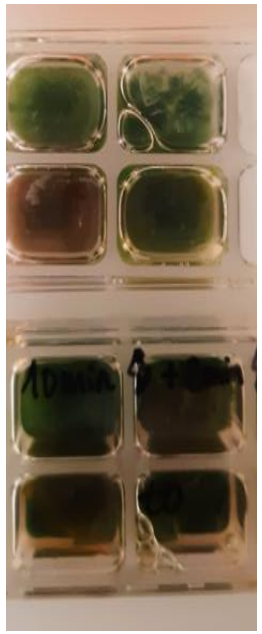
3000 x g; 10 min; 20°C

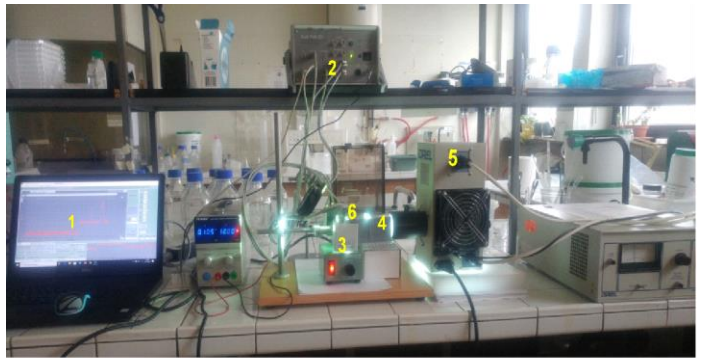
1 - Microalgues et polymère: viabilité

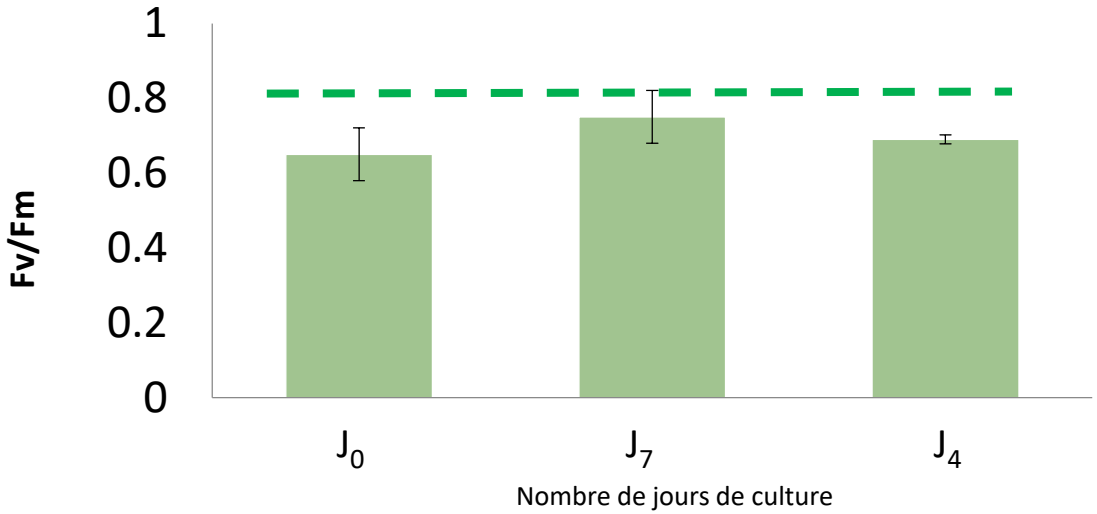
Réduction de l'oxygenation : Bactéries

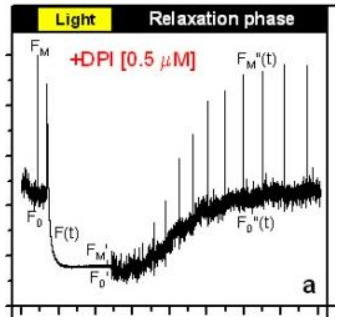
Microplaques (8 puits)

Viabilité : mesure non destructtive de la photosynthèse









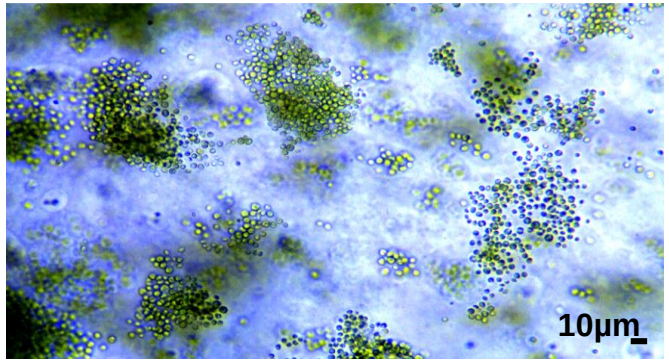
1 - Microalgues et polymère: biocompatibilité

Observations microscopies

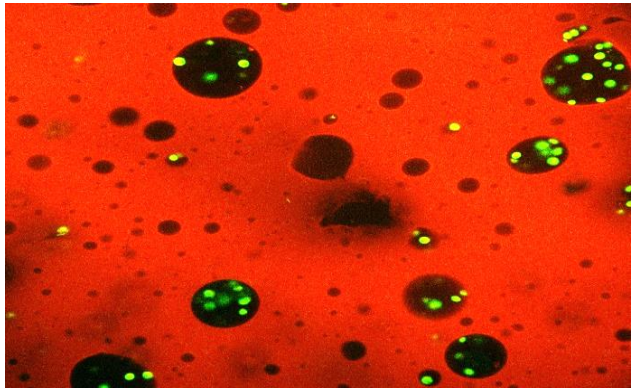
J0

Dans le polymère

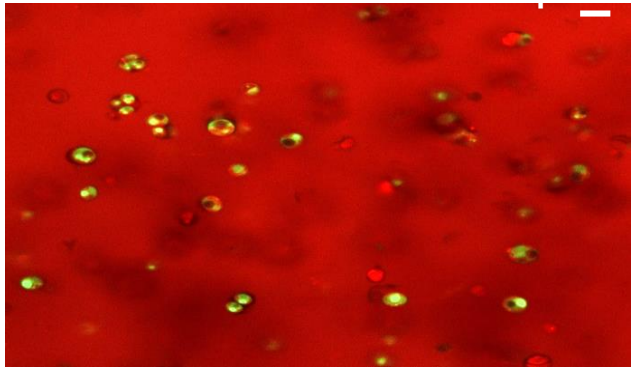
- Champs clair →



Fluorescéine diacétate



- Microscopie de fluorescence confocale
  - Fluorescéine diacétate (FDA) → viabilité



  - DAPI → bactéries
  - Autofluorescence chlorophylle → localisation des cellules
  - Rhodamine

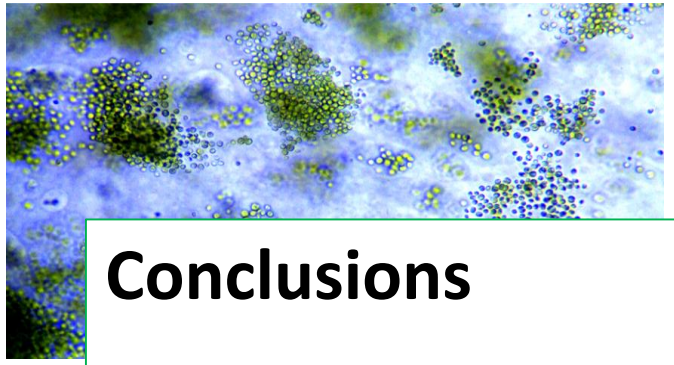
1 - Microalgues et polymère: biocompatibilité

Observations microscopies

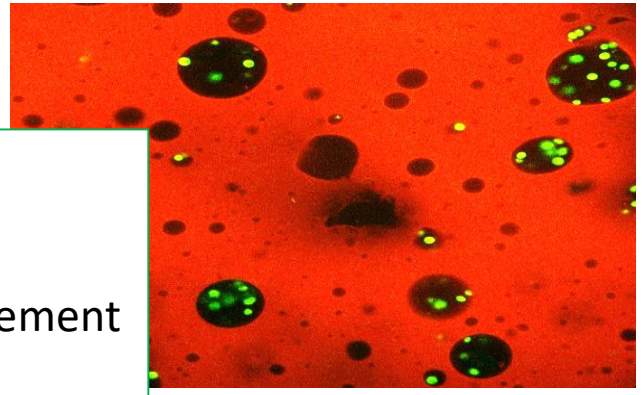
J0

Dans le polymère

- Champs clair →



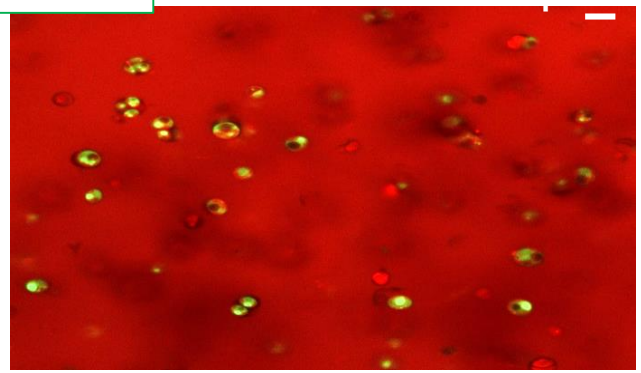
Fluorescéine diacétate



Conclusions

Polymère testé : un bon environnement
- Pour les microalgues
- Pour les bactéries

- Microscopie de fluorescence
  - Fluorescéine diacétate (FDA) → viabilité



  - DAPI → bactéries
  - Autofluorescence chlorophylle → localisation des cellules
  - Rhodamine

2 - Microalgues et polymère: production d'hydrogène

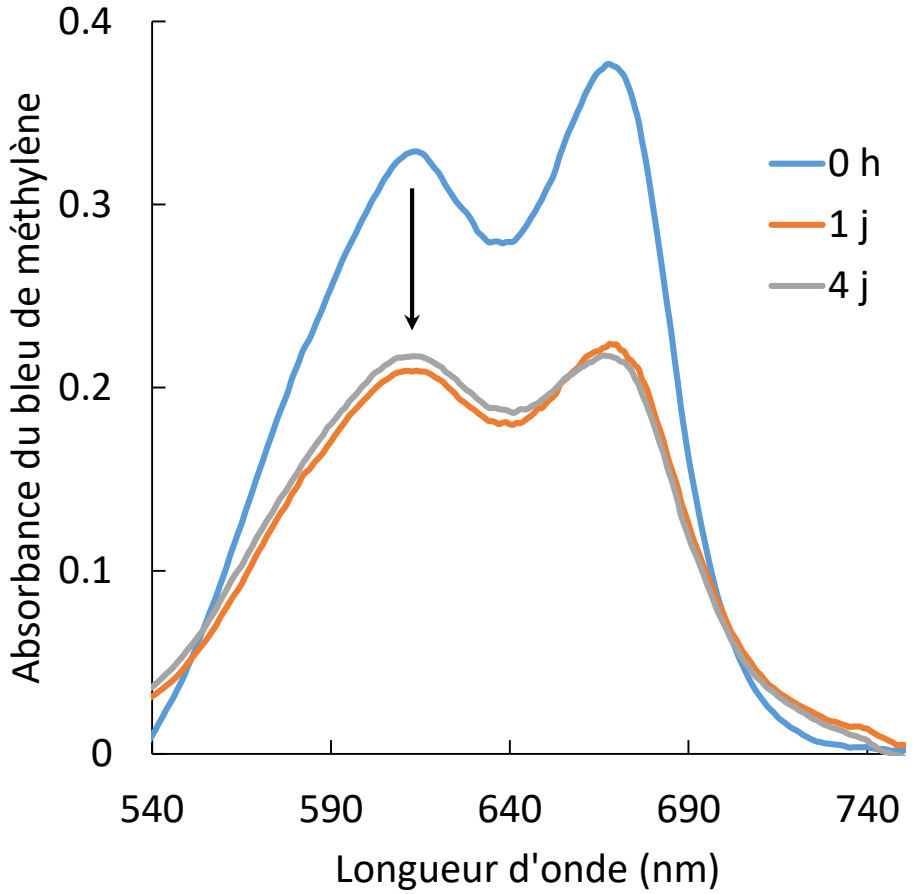
Microalgues placées à l'obscurité en condition d'anoxie

→ Production et dégagement d'H_2 suivi par détection colorimétrique

H_2 récupéré. Bleu de Méthylène + catalyseur de Wilkinson

***C. vulgaris* Produisant de l'H_2**

Evolution temporelle du spectre UV du colorant



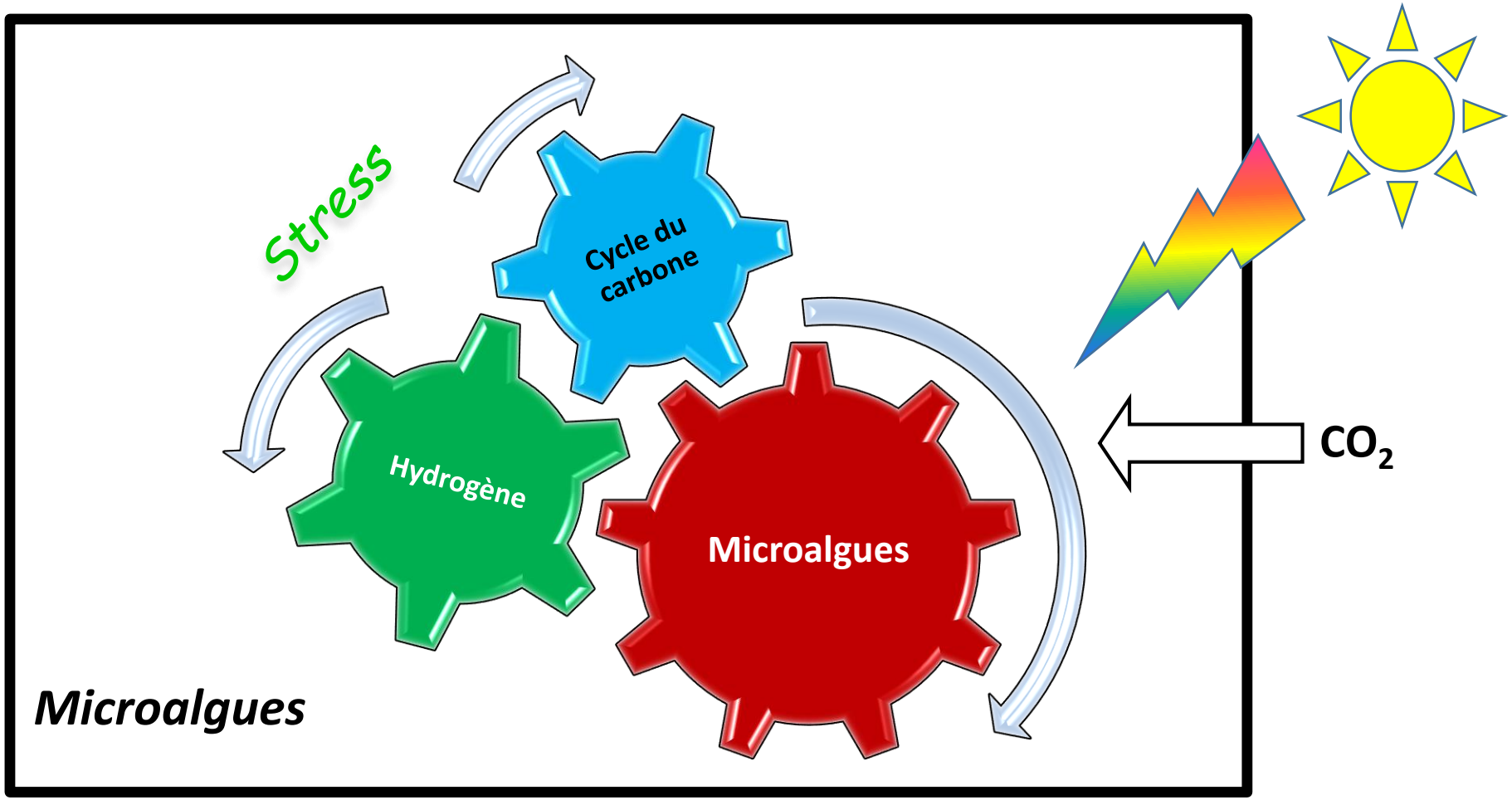
Diminution d'absorbance et modification du spectre UV

↳ production de H_2 par les microalgues

Améliorer la production

- Remplacer les expressions constitutive par expression conditionnelle
- Paramètres influençant la production H2
  - **Densité cellulaire**
  - **Concentration en O_2 = tolerance de l'hydrogénase à l'oxygène → biodiversité**
  - Qualité nutritive du milieu

Un procédé biotechnologique innovant à Le Mans ?

- Déjà obtenu : Copolymère stable biocompatible
- A obtenir : Découvrir des conditions permettant
  - Production continue d'H_2 à échelle du laboratoire
  - Influence des conditions environnementales
    - Gel
    - Milieu extérieur
  - Passage à l 'échelle
  - Viabilité économique du procédé
  - Couplage à d'autres productions biologiques/utilisation d'autres ressources

Merci de votre attention