



PRODUCTION DE BIOHYDROGENE PAR DES MICROORGANISMES PHOTOSYNTHETIQUES

Sommaire

- 1 – Principe**
- 2 – Stratégie scientifique**
- 3 – Verrous scientifiques**
- 4 – Etat des recherches**
- 5 - Conclusion**

1 - Principe

Les organismes photosynthétiques, comme certaines algues vertes unicellulaires ou cyanobactéries, peuvent produire de l'hydrogène à partir de l'énergie solaire en utilisant l'eau comme donneur d'électrons et de protons sans le dégagement parallèle de gaz à effet de serre (CO₂) inhérent aux autres organismes hétérotrophes. Dans ce cas, un procédé totalement propre basé sur la photosynthèse peut être envisagé avec la plus importante source d'énergie: le soleil et la plus abondante ressource de notre planète: l'eau. Les procédés utilisent en général deux phases, une phase oxygénique de croissance de la biomasse et une phase anoxique de production d'hydrogène.

2 - Stratégie scientifique

Afin de mener à bien le développement d'un procédé de production de biohydrogène mettant en œuvre les capacités naturelles des microorganismes photosynthétiques, la démarche scientifique doit intégrer les problématiques biologiques et les procédés à chacune des étapes des recherches. C'est en effet en comprenant les phénomènes métaboliques entrant en jeu dans la production de biohydrogène et en définissant le réacteur adéquat fournissant à la culture de microalgues les conditions optimales qu'un tel procédé peut s'avérer comme potentiellement intéressant pour la production future d'énergie renouvelable de façon totalement propre.

3 - Verrous scientifiques

La découverte de la photoproduction d'hydrogène par les microalgues est assez ancienne (Gaffron, 1940). A la fin des années 1990, Anastasios Melis de l'Université de Californie à Berkeley met en évidence le fait que le problème majeur expliquant le faible développement industriel de ce type de production vient de la nature transitoire du phénomène en conditions naturelles. L'arrêt rapide du processus de dégagement de l'hydrogène est lié au fait que l'hydrogénase, l'enzyme responsable de la production d'hydrogène, est fortement sensible à l'oxygène dégagé en parallèle par la photosynthèse lors de la biophotolyse de l'eau. Toutefois, les avancées scientifiques récentes ont permis de mieux comprendre les mécanismes métaboliques et bioénergétiques impliqués dans la photoproduction d'hydrogène, et il apparaît ainsi intéressant de proposer des solutions techniques, basées notamment sur la flexibilité métabolique des algues, pour s'affranchir des limitations du processus.

4 - Etat des recherches

En France, les premiers travaux sur la production d'hydrogène à partir d'énergies renouvelables ont été menés dans le cadre du programme ENERGIE du CNRS. Ils se sont poursuivis dans le cadre des programmes successifs Bioénergie puis Bio-matières et énergies (Bio-ME) de l'ANR. L'objectif était de développer un procédé de photoproduction biologique d'hydrogène à partir de microorganismes à photosynthèse oxygénée.

L'hydrogène, en effet, est un substrat énergétique important pour la croissance de nombreux micro-organismes, le pouvoir réducteur libéré par son oxydation peut être utilisé pour diverses réactions cellulaires et générer de l'énergie sous forme d'adénosine triphosphate (qui par hydrolyse fournit l'énergie nécessaire aux réactions chimiques du métabolisme). A l'inverse, la fermentation en absence d'oxygène (anaérobie) de certains micro-organismes produisent de l'hydrogène pour évacuer le pouvoir réducteur libéré par l'oxydation de substrats carbonés, en d'autres termes, pour évacuer un excès d'électrons. Ce métabolisme repose sur des enzymes spécifiques : des hydrogénases, qui catalysent la réaction réversible : $H_2 \rightleftharpoons 2H^+ + 2e^-$ ou des nitrogénases qui libèrent de l'hydrogène lors de la réaction de fixation de l'azote atmosphérique. Ces enzymes sont également présents dans certaines souches de microorganismes photosynthétiques (microalgues, cyanobactéries ou bactéries pourpres notamment), leur conférant la capacité, dans des conditions environnementales favorables, de produire de l'hydrogène à partir d'énergie solaire.

L'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* a été retenue comme espèce d'étude, celle-ci possédant une hydrogénase à fer à forte activité couplée à la chaîne photosynthétique (Figure 1).

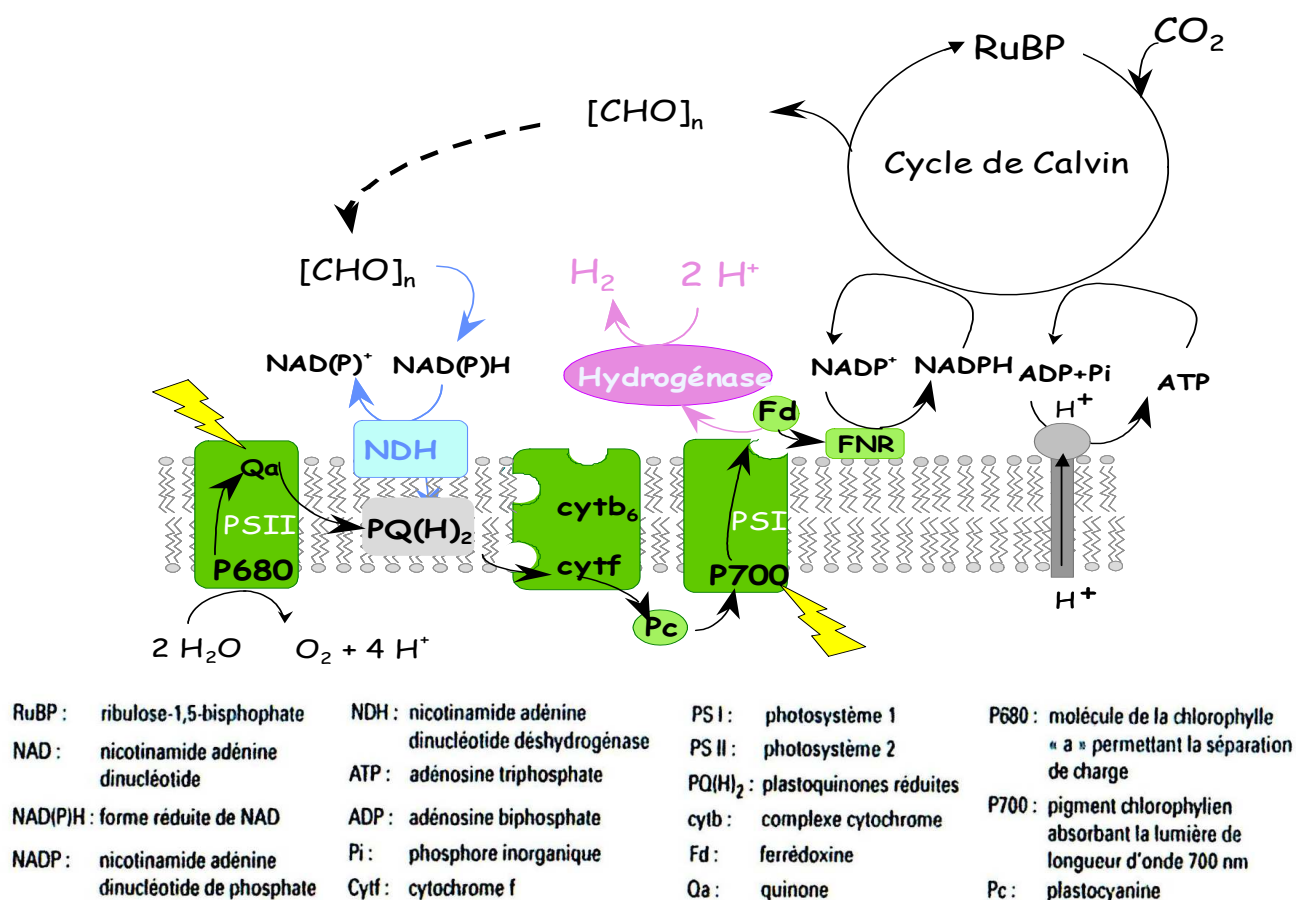


Figure 1 Production d'hydrogène par l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*

Lorsqu'elle est placée à la lumière en conditions anaérobies, cette algue produit transitoirement de l'hydrogène, en utilisant l'eau comme donneur d'électrons. Comme il a été dit plus haut, cette réaction s'arrête rapidement du fait de la production d'oxygène parallèle par photosynthèse et de la forte sensibilité de l'hydrogénase à ce gaz. Pour éviter ce problème, il est possible de tirer parti de la flexibilité métabolique de l'algue en alternant des phases aérobies de constitution de biomasse et des phases anaérobies de production d'hydrogène. Deux voies métaboliques de production d'hydrogène ont été identifiées:

- la première est totalement dépendante de l'activité photosynthétique,
- la seconde correspond au catabolisme des réserves d'amidon.

L'un des objectifs est l'optimisation de la constitution de réserves carbonées durant la phase de photosynthèse aérobie. Si l'amidon est essentiel pour la composante de la production d'hydrogène indépendante du photosystème II (PSII), il ne joue aucun rôle dans le processus de production d'hydrogène dépendant de ce photosystème II. Ce dernier processus est largement majoritaire lors du protocole de carence en soufre ou en azote qui est le protocole de référence utilisé par toutes les équipes mondiales travaillant sur la production biologique d'hydrogène à partir de microorganismes photosynthétiques.

Une voie d'amélioration de cette production d'hydrogène par des microorganismes photosynthétiques consiste à travailler sur le mécanisme des enzymes hydrogénases. Découvertes assez récemment, les hydrogénases d'algues (à centre [Fe-Fe]) sont, à ce jour, les moins étudiées. Le détail du mécanisme réactionnel qui aboutit à la réduction catalytique de deux protons par deux électrons de bas potentiel redox est donc mal connu, l'étude étant rendue difficile par la sensibilité importante à l'oxygène des hydrogénases à centre [Fe-Fe]. Diminuer cette sensibilité, voire rendre insensible l'enzyme hydrogénase à l'oxygène, constitue de façon évidente un axe majeur de recherche, la sensibilité à l'oxygène étant, comme cela a été dit, un important verrou à cette production d'hydrogène.

Une équipe de chercheurs¹ a étudié la possibilité de modifier le canal hydrophobe conduisant l'hydrogène au site actif de l'enzyme, l'objectif étant d'empêcher la diffusion de l'oxygène vers ce site sans pour autant bloquer le passage de l'hydrogène. Pour cela, en utilisant des mutants avec un canal rétréci près du site actif de l'enzyme, ils ont cependant montré que les changements de taux de diffusion ne correspondent pas entièrement à l'obstruction induite par la mutation et déduite des structures radiologiques. Un photobioréacteur d'étude (Figure 2) a spécialement été conçu pour permettre un suivi des conditions de culture et de la réponse associée de la culture. Les travaux ont porté sur la compréhension du métabolisme de croissance (que ce soit en autotrophie ou en photohétérotrophie) et sur la phase de production d'hydrogène proprement dite. Ceci a permis de mettre en évidence le rôle majeur, dans le protocole de référence, de l'acétate jusqu'alors relativement sous-estimé, mais également un second paramètre ignoré, à savoir la fraction éclairée dans le réacteur sur le comportement général obtenu (obtention de l'anoxie en particulier).

La modélisation de la relation entre les paramètres opératoires et le comportement de la culture a permis de proposer un nouveau protocole de production d'hydrogène totalement autotrophe, sans carence ou plutôt avec une si l'on veut accumuler l'amidon. Ce protocole relativement simple et ouvrant de nouvelles perspectives, notamment pour une application future à grande échelle (la culture en photohétérotrophie ayant le double inconvénient de rendre le milieu très sensible à la contamination bactérienne, et de mener à une production nette de carbone par dégradation de l'acétate), est basé sur un contrôle dynamique de la fraction éclairée au sein du photobioréacteur. Le procédé étudié actuellement au GEPEA comporte deux étapes : l'une dédiée à la production d'une biomasse enrichie en amidon (1er étage) en condition de limitation en azote, servant à alimenter un deuxième étage réalisant la production d'H₂ proprement dite en condition d'anoxie en jouant sur la fraction éclairée de manière à privilégier la respiration par rapport à la photosynthèse.

¹ Fanny Leroux, Sebastien Dementin, Bénédicte Burlat, Laurent Cournac, Anne Volbeda, Stéphanie Champ, Lydie Martin, Bruno Guigliarelli, Patrick Bertrand, Juan Fontecilla-Camps, Marc Rousset, Christophe Léger, « Experimental approaches to kinetics of gas diffusion in hydrogenase », **PNAS**, vol. 105, n°32, 11188-11193 (2008).



Figure 2 - Photobioréacteur d'étude pour la bioproduction d'hydrogène

Travaillant également sur la sensibilité de l'hydrogénase à l'oxygène produit par les microalgues lors de la photosynthèse, Nathan Nelson de l'Université de Tel-Aviv a cherché comment éviter ce processus qui bloque la production d'hydrogène. Les microalgues ont un métabolisme respiratoire qui consomme de l'oxygène mais en présence de lumière, la photosynthèse s'active et la production éclipse la consommation : il y a accumulation d'oxygène. Pour pallier à cela, l'équipe de Nelson a cherché des mutants dont l'activité photosynthétique serait sensible à la température. Elle a ainsi trouvé un mutant dont l'activité photosynthétique est complètement inhibée à 37°C, entraînant la baisse du taux d'oxygène jusqu'à épuisement. La production d'hydrogène se fait alors au détriment des réserves d'amidon. Les chercheurs ont ensuite conçu et imaginé un photo-bioréacteur en deux compartiments, permettant une production semi-continue d'hydrogène. Le principe est simple (cf. Figure 3).

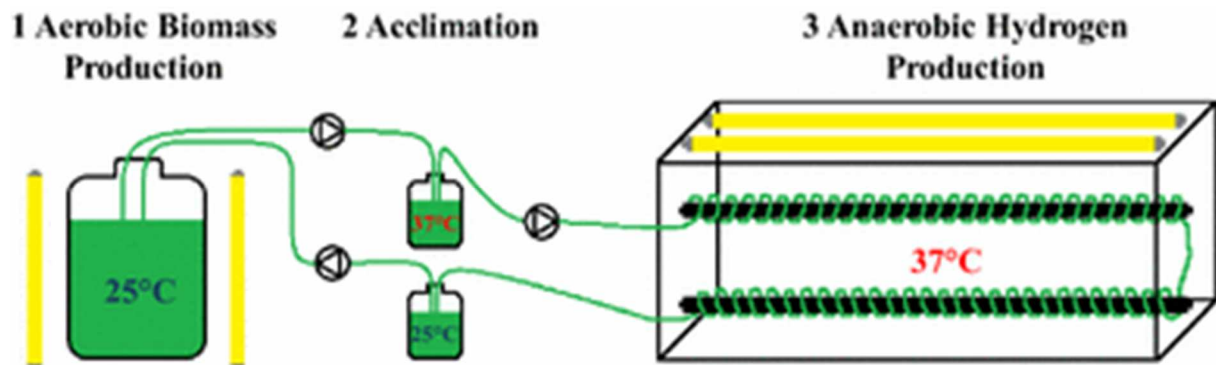


Figure 3 - Bioréacteur cyclique photosynthétique producteur d'hydrogène

Les microalgues poussent à 25°C sous lumière solaire et accumulent de l'amidon dans le réacteur n°1 (il faut une carence pour limiter le soufre et l'azote). Elles sont ensuite pompées vers le réacteur n°2, toujours sous lumière, dont la température avoisine les 37°C. L'activité photosynthétique des microalgues génétiquement modifiées s'arrête, le taux d'oxygène devient nul et les algues commencent à produire de l'hydrogène en captant l'énergie solaire. L'hydrogène ainsi produit infuse à travers les parois en silicium du réacteur n°2 et peut alors être récolté. Enfin, les algues, une fois « épuisées », sont renvoyées dans le réacteur n°1 pour se multiplier et régénérer leur réserve d'amidon.

Concernant le faible rendement de la production d'hydrogène Iftach Yacobi de la même Université de Tel-Aviv a montré qu'il était dû à des « déviations » du flux d'électrons tiré de l'énergie solaire, qui se dirige vers la production d'autres molécules. Or ces déviations proviennent de la différence d'affinité entre le complexe photosynthétique, à l'origine du flux d'électrons, et la protéine receveuse. Cette affinité est grande si c'est une FNP (Ferredoxin-NADP⁺-Reductase) alors qu'elle est faible dans le cas

d'une hydrogénase, la protéine responsable de la production d'hydrogène. Il a été montré que par une adaptation de ces hydrogénases par fusion avec un complexe protéique contenant du fer (ferredoxine), il était possible d'augmenter le flux d'électrons vers la production d'hydrogène. Les résultats, publiés en Août dernier dans *Biotechnology for Biofuels*, sont sans équivoque : le rendement a été multiplié par 4,5.

5 – Conclusion

Pour Anastasios Melis de l'Université de Californie à Berkeley « Une ferme d'algues de la taille du Texas produirait assez d'hydrogène pour pourvoir aux besoins mondiaux ». Séduisante perspective lorsque sera définitif et industriellement exploitable le procédé permettant à l'hydrogénases de remplir sans aucun blocage et avec un bon rendement sa fonction de production d'hydrogène. En d'autres termes, lorsque sera achevé le parcours complet allant de concluantes expériences de laboratoire à l'industrialisation après que de pertinentes validations du procédé de production aient été obtenues par des prototypes de développement.

Liens

Laboratoire Génie des Procédés Environnement et Agroalimentaire GEPEA :
<http://www.gepea.fr/projets-de-recherche-laboratoire-recherches-gepea.html>

Laboratoire de bioénergétique et biotechnologie des bactéries et microalgues (LB3M) :
<http://www-dsv.cea.fr/dsv/instituts/institut-de-biologie-environnementale-et-biotechnologie-ibeb/services-ibeb/service-de-biologie-vegetale-et-de-microbiologie-environnementales-umr-7265-cnrs-cea-aix-marseille-universite-sbvme/laboratoire-de-bioenergetique-et-biotechnologie-des-bacteries-et-microalgues-lb3m>

Agence Nationale pour la Recherche (ANR) :
<http://www.agence-nationale-recherche.fr/>

**École des sciences végétales et de la sécurité alimentaire, Faculté des sciences de la vie
George S. Wise, Université de Tel Aviv, Tel Aviv 69978, Israël**
<http://www.tau.ac.il/~iftachy/Welcome.html>

Pour en savoir plus

Hydrogène issu de la biomasse algale: revue du processus de production, **Archita Sharma et Shailendra Kumar Arya, *Biotechnology Reports*, 15**, pp 63-69 (sept. 2017).

Production d'hydrogène microalgal: perspectives d'une technologie essentielle pour une économie de l'énergie propre et durable, **Recherche en photosynthèse, 133**, Numéro 1–3, pp 49–62, (Septembre 2017). <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11120-017-0350-6>

PSII sensible à la température: une nouvelle approche pour une production d'hydrogène photosynthétique soutenue, Vinzenz Bayro-Kaiser et Nathan Nelson, **Recherche en photosynthèse, 130**, Numéro 1–3, pp 113–121 (déc. 2016)