

La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis

Par J.-P. Cadoret¹ et O. Bernard²

¹PBA, IFREMER, BP 21105, 44311 Nantes Cedex 03, Tel: 02 40 37 40 66, email: jean.paul.cadoret@ifremer.fr

²COMORE, INRIA, BP93, 06902 Sophia-Antipolis Cedex, Tel: 04 92 38 77 85, email: olivier.bernard@inria.fr

RESUME :

Les microalgues peuvent accumuler des acides gras jusqu'à 80% de leur poids sec (Chisti 2007) permettant d'envisager des rendements à l'hectare supérieurs d'un facteur 30 aux espèces oléagineuses terrestres. La biodiversité des microalgues est énorme puisqu'on estime qu'il y a entre 200 000 et plusieurs millions d'espèces. Une telle diversité non exploitée constitue un réel potentiel pour la recherche et l'industrie. Comparativement aux espèces oléagineuses terrestres, ces microalgues répondent à de nombreux problèmes environnementaux, avec des rendements de croissance et par conséquent des productions d'huile à l'hectare supérieures aux espèces oléagineuses terrestres. Les microalgues suscitent actuellement un vif engouement et de nombreuses start-up investissent ce créneau. Néanmoins, il reste encore des verrous à lever, via des recherches amont, avant que les rendements et les coûts espérés soient effectivement atteints et que ces technologies ne puissent voir le jour à grande échelle.

Mots-clés : biocarburant, microalgues, cyanobactéries, lipides, biodiesel.

ABSTRACT : Lipid biofuel production with microalgae: potential and challenges

Microalgae can accumulate fatty acids up to 80% of their dry weight (Chisti 2007). As a consequence the yield per hectare could be higher by a factor of 30 compared to terrestrial oleaginous species. Biodiversity of microalgae is enormous. It is estimated that there are between 200000 and several million species. Such diversity is an unexplored potential for research and industry. In comparison to terrestrial oleaginous species, microalgae have many characteristics addressing environmental problems with a drastically enhanced oil production. Microalgae are currently generating mediatic enthusiasm, and many start-ups are investing this niche. Nevertheless there are still locks to undo via upstream search, before the expected returns and costs are met and before these technologies can be developed at a large scale.

Keywords : biofuel, microalgae, cyanobacteria, oil, biodiesel.

INTRODUCTION

Les microalgues et les cyanobactéries sont des organismes qui utilisent la lumière comme source d'énergie pour fixer le dioxyde de carbone (CO₂). Ces microorganismes (rassemblés par la suite sous l'appellation abusive « microalgues ») dont la taille varie du micron à la centaine de microns se trouvent en abondance dans les milieux aquatiques (océans, rivières, lacs, etc.). Comme chez les végétaux terrestres, certaines espèces peuvent accumuler, dans certaines circonstances, le carbone absorbé sous forme de lipides (principalement triglycérides), ce qui permet d'envisager d'utiliser ces microorganismes pour produire des biocarburants. Des travaux en ce sens ont été initiés à la suite du choc pétrolier de 1973 par le National Renewable Energy Laboratory (NREL), et ont été arrêtés en 1996 (Sheehan *et al.* 1998). Les conclusions qui avaient été énoncées à l'époque pour expliquer la fermeture du programme ne se justifient plus dans le contexte actuel : à l'époque les chercheurs estimaient que la production de biocarburant à partir de microalgues ne pourrait être rentable que pour un baril de pétrole trois fois plus cher. Le baril de pétrole était alors à 20\$, il va probablement durablement rester au-dessus de la barre des 100\$. Ces nouvelles données, combinées à une prise de conscience de plus en plus forte des conséquences de l'effet de serre, ont relancé à travers le monde les recherches visant à produire un nouveau type de biocarburant utilisant des microorganismes photosynthétiques (Huntley & Redalje, 2006, Chisti, 2007). L'objectif de cet article est de faire un bilan sur l'état des connaissances et les techniques et d'identifier les principaux verrous pour arriver à une production d'huile algale économiquement viable.

DES ORGANISMES PHOTOSYNTHETIQUES A FORT RENDEMENT DE CROISSANCE

On estime entre 200 000 et plusieurs millions le nombre d'espèces d'algues existantes, ce qui est très supérieur aux 250 000 espèces de plantes supérieures recensées ; une telle diversité non exploitée constitue un réel potentiel pour la recherche et l'industrie. Deux supergroupes de microalgues se distinguent :

Les Plantae qui contiennent les algues rouges et les algues vertes, apparaissent il y a deux milliards d'années. De ce groupe émergeront TOUTES les plantes terrestres il y a 500 millions d'années.

Les Chromalvéolates issues d'un croisement d'une microalgue rouge et d'un organisme unicellulaire hétérotrophe apparaissent il y a un milliard d'années (Keeling *et al.* 1999, Hedger *et al.* 2004, Teyssède 2006) et contiennent :

- Les dinophyta, contributeurs principaux à la bioluminescence marine et aux efflorescences toxiques
- les chrysophyta appelées encore algues dorées avec environ 1000 espèces connues
- les prymnesiophyta (appelées aussi haptophyta) avec 500 représentants et dont quelques espèces sont toxiques
- les xanthophyta avec très peu de membres marins
- les eustigmatophyta avec l'une des plus petites espèces connues
- les raphidophyta qui peuvent produire des efflorescences massives mettant les élevages de poissons en péril
- les phaeophyta ou algues brunes
- les bacillaryophyta appelées encore diatomées tiennent une place importante dans l'équilibre naturel mondial.. D'une couleur dorée ou brune, on compte 100 000 espèces décrites. Elles sont responsables de 20 % de la production carbonée océanique (Kroth et al. 2008). Leur carapace de silicium et leur diploïdie distinguent des diatomées des autres espèces (Figure 1).

Les microalgues et cyanobactéries peuvent être autotrophes au carbone (elles ont alors comme seule source de carbone du carbone inorganique -principalement CO₂ et bicarbonate- et puisent leur énergie des photons reçus) ou bien hétérotrophes au carbone (elles utilisent alors également du carbone organique comme source de carbone et d'énergie). Cette distinction est capitale lorsqu'on envisage une valorisation de l'énergie piégée dans les microalgues : dans le cas de l'hétérotrophie, il faut avoir produit préalablement la source d'énergie. Par la suite nous considérerons principalement les espèces autotrophes.

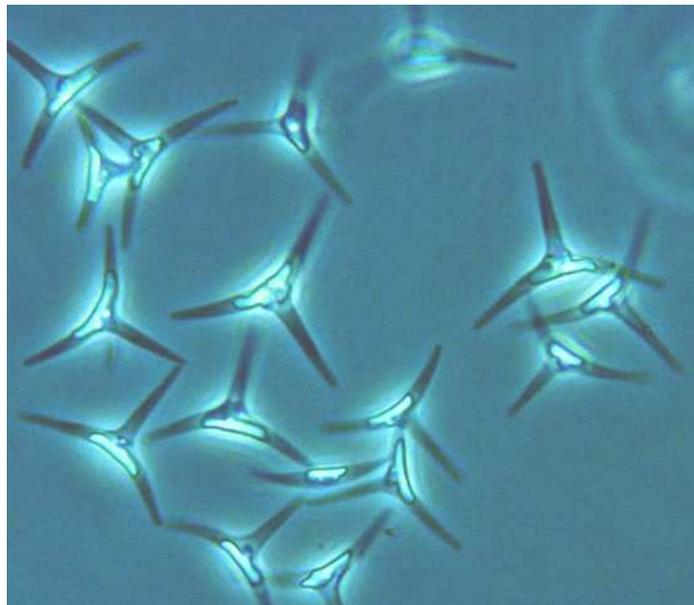


Figure 1 : Cellules de *Phaeodactylum tricorneratum*

Un des éléments marquants qui caractérise les microalgues est leur rendement photosynthétique très élevé. Ce rendement est le rapport entre l'énergie lumineuse

incidente et l'énergie stockée dans la plante. Dans les conditions optimales, des études au laboratoire estiment qu'il faut 10 moles de photons pour fixer une mole de CO₂ (Benemann, 1997). La théorie de la photosynthèse voudrait que 8 moles de photons soient nécessaires pour activer successivement les deux photosystèmes ; Les deux moles de photons supplémentaires s'expliquent par les besoins minimums de la cellule en énergie et les différentes pertes inévitables. Si l'on considère qu'en moyenne, une mole de carbone dans la cellule correspond à une énergie de 475 kJ, et qu'une mole de photon (dans les longueurs d'onde captables par les antennes des photosystèmes) a une énergie moyenne de 217 kJ, le rendement moyen théorique est de 22%. Seulement 45 % du spectre solaire est exploitable par les photosystèmes (principalement dans le rouge et le bleu). Le rendement maximal de la photosynthèse par rapport à lumière solaire est donc au mieux de 9.9%.

	Taux de croissance maximum (J ⁻¹)	Temps de doublement (Jour)
<i>Botryococcus braunii</i>	0.2	3.4
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	3.8	0.18
<i>Chlorella vulgaris</i>	1.84	0.37
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	3.5	0.2
<i>Isochrysis galbana</i>	2.0	0.34
<i>Navicula muralis</i>	2.63	0.26
<i>Pleurochrysis carterae</i>	0.65	1.1
<i>Rhodomonas salina</i>	0.6	1.15
<i>Spirulina platensis</i>	0.5	1.38
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	2.48	0.27

Tableau 1 : taux de croissance de diverses espèces de microalgues et cyanobactéries et temps de doublement correspondant (valeurs obtenues dans des conditions diverses).

Ces rendements théoriques ne diffèrent pas fondamentalement des rendements optimaux des végétaux supérieurs (6.6% pour les plantes en C3 (Keoleian & Volk 2005) et 13.4% pour les plantes en C4 (Muchow *et al.* 1994)), mais il est plus facile de s'en rapprocher, pour des microorganismes notamment, parce que les conditions de croissance, en phase liquide, peuvent être beaucoup plus facilement optimisées, en particulier pour que le CO₂ ne soit jamais limitant. Par ailleurs, chez les végétaux terrestres, une grande partie du CO₂ est dévoyé vers des molécules lignocellulosiques, qui –pour l'instant- ne peuvent pas directement être utilisés comme source de carburant. Par opposition, chez les algues, la fraction de la biomasse directement utilisable est bien plus élevée.

Ces rendements importants ont pour premier effet visible des taux de croissance cellulaires très élevés, et donc de fortes productivités à l'hectare (voir Figure 2) . Dans les conditions optimales, certaines espèces peuvent atteindre des taux de croissance de l'ordre de 3.8 jour⁻¹, ce qui correspond à des temps de doublement de l'ordre de 4.3 heures (cf. tableau 1). En extérieur, ces taux de croissance sont plus faibles, mais des taux de croissance de 1.46 jour⁻¹ (pour *Chaetoceros*, Sheehan *et al.* 1998) ont été obtenus (soit plus de 2 doublements par jour).

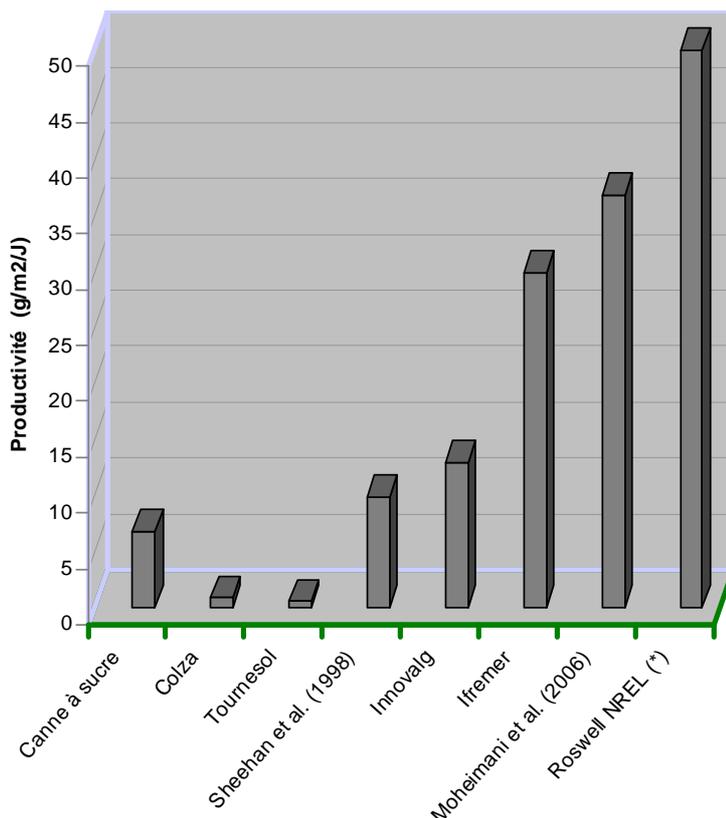


Figure 2. Estimation des productivités obtenues (en $g.m^{-2}.J^{-1}$) dans diverses études avec des microalgues et comparaison avec la canne à sucre, le colza et le tournesol. (*Obtenu ponctuellement, Sheehan et al. 1998).

LA SYNTHÈSE DE LIPIDES

Les microalgues et cyanobactéries contiennent, comme tous les organismes vivants, une fraction de lipides. En condition normale, ces teneurs restent faibles, et les lipides sont principalement constitués de phospholipides et de glycolipides difficilement utilisables dans un biocarburant. L'étude menée par le NREL (Sheehan *et al.* 1998) sur près de 3000 espèces marines (principalement des diatomées et des algues vertes) a permis de dégager des candidats à la production de lipides. Chez certaines espèces, il est possible d'augmenter significativement la production de lipides par un stress. Les stress identifiés peuvent être de différentes natures (Sheehan *et al.*, 1998).

Les conditions de carence en azote sont connues pour stimuler la production de lipides. Pour les diatomées, une limitation par la silice conduit également à la production de lipides. L'augmentation soudaine de l'intensité lumineuse produit un effet similaire. Enfin, un choc thermique, de même qu'un choc osmotique stimule également la production de lipides (Takagi *et al.*, 2006), mais il semble que ces deux derniers stress favorisent davantage les lipides polaires (phospholipides et glycolipides) associés aux membranes cellulaires.

Les teneurs en lipides (qui seront alors principalement constituées de triglycérides) sont considérablement accrues (voir tableau 2) et peuvent atteindre 80% de la matière sèche (Metting, 1996). Ces conditions de fortes productivités ne peuvent toutefois pas être maintenues pendant de longues durées : elles conduisent le plus

souvent à un arrêt de la croissance, puis, après un laps de temps, à la reconsommation des réserves lipidiques ainsi produites. L'optimisation de la productivité en lipide doit donc passer par un compromis entre croissance (donc sans carence) et production d'huile (avec un stress ralentissant la croissance). Huntley & Redalje (2006), proposent une manière d'optimiser la production de lipides chez *Haematococcus pluvialis* en deux étapes : une croissance en photobioréacteurs (PBR) permet d'atteindre des rendements élevés et de limiter les sources de contaminations de la culture. Cette phase de croissance est suivie par 2 jours de carence en étang dans lequel les microalgues sont limitées par l'azote. Cette ultime étape de maturation permet d'obtenir des contenus en lipide de l'ordre de 25% pour *Haematococcus pluvialis*.

	Contenu maximum en lipides (% poids sec)
<i>Botryococcus braunii</i>	29-75
<i>Chlorella protothecoides</i>	15-55 ¹
<i>Cyclotella DI-35</i>	42
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	71.4 ²
<i>Hantzschia DI-160</i>	66
<i>Isochrysis sp.</i>	7-33
<i>Nannochloris</i>	6-63
<i>Nannochloropsis</i>	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp</i>	45-50
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	31
<i>Pleurochrysis carterae</i>	32-35 ³
<i>Scenedesmus TR-84</i>	45
<i>Stichococcus</i>	9-59
<i>Tetraselmis suecica</i>	15-32
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	21-31 ⁴

Tableau 2. Contenu lipidique de diverses espèces, d'après Sheehan *et al.* 1998 (sauf pour ¹Xu *et al.* (2006), ² Takagi *et al.* (2006), ³ Moheimani & Borowitzka (2006), ⁴ Brown *et al.* (1996))

LA FIXATION DU CO₂

La capacité à fixer le CO₂ de manière contrôlée a récemment mis les microorganismes autotrophes en lice pour la course vers des systèmes de captation du CO₂. Un kg de biomasse représente, en moyenne, 1.8 kg de CO₂ fixé (Chisti, 2007). Il est important de garder à l'esprit que fixer le CO₂ ne veut pas dire le piéger. Il faut ensuite réutiliser, voire piéger ce carbone devenu organique, avant que la biomasse se décompose ce qui produirait CO₂ et méthane, et induirait donc des rendements en terme de gaz à effet de serre négatifs à l'échelle du mois (le méthane a un effet de serre estimé à 23 fois celui du CO₂ sur un horizon temporel de un siècle). Fixer le CO₂ industriel implique donc une production de carbone organique dans les mêmes volumes qui doivent donc être réutilisés ou enfouis. La valorisation énergétique de la biomasse est bien évidemment une voie privilégiée au cours de laquelle le CO₂ fixé sera finalement réémis (ce procédé sera donc neutre par rapport aux gaz à effet de serre) après avoir restitué une partie de l'énergie solaire accumulée.

Rendement unité	CO2 fixé	CO2 fixé	Poids sec	Poids sec	Huile 60%	Huile 30%	Huile 60%	Huile 30%
	9.9%	3%	9.9%	3%	9.9%	9.9%	3%	3%
	g/m ² /J	g/m ² /J	g/m ² /J	g/m ² /J	T/ha/an	T/ha/an	T/ha/an	T/ha/an
Almeria	198.7	60.2	108.6	32.9	237.8	118.9	72.1	36.0
Amsterdam	108.9	33.0	59.5	18.0	130.4	65.2	39.5	19.8
Atacama	237.7	72.0	129.9	39.4	284.5	142.2	86.2	43.1
Florence	150.2	45.5	82.1	24.9	179.7	89.9	54.5	27.2
Honolulu	191.6	58.1	104.7	31.7	229.3	114.7	69.5	34.7
Lisbonne	181.9	55.1	99.4	30.1	217.7	108.8	66.0	33.0
Madrid	172.9	52.4	94.5	28.6	206.9	103.4	62.7	31.3
Negev	197.3	59.8	107.8	32.7	236.2	118.1	71.6	35.8
Nice	163.9	49.7	89.5	27.1	196.1	98.1	59.4	29.7
Paris	121.6	36.8	66.4	20.1	145.5	72.7	44.1	22.0
Perth	216.1	65.5	118.1	35.8	258.6	129.3	78.4	39.2
Prague	111.7	33.8	61.0	18.5	133.6	66.8	40.5	20.2
Rome	150.4	45.6	82.2	24.9	179.9	90.0	54.5	27.3
Sahara	224.7	68.1	122.8	37.2	269.0	134.5	81.5	40.8

Tableau 3. Potentiel de captation de CO₂ et de production d'huile en fonction de la localisation, du rendement (limite théorique : 9.9% ou rendement réaliste 3%) et de la teneur en lipides (30% ou 60%)

Avant que le CO₂ puisse être consommé au cours de la photosynthèse, il doit être solubilisé dans le milieu de culture, principalement sous forme de bicarbonate et de CO₂ dissous. Cette étape de transfert de la phase liquide vers la phase gazeuse doit être optimisée pour limiter les pertes de CO₂ dans l'atmosphère. Les systèmes clos sont plus performants pour assurer, grâce à des surfaces d'échanges supérieures, le transfert. Doucha *et al.* (2005) estiment que 51% du CO₂ est perdu dans cette étape de transfert. Des photobioréacteurs plus sophistiqués permettent d'assurer de meilleurs taux de transfert au prix de dimensionnement supérieurs.

Il est important d'apporter le CO₂ de manière à rester dans des gammes de pH non inhibantes pour la croissance des cellules (Olaizola, 2003), c'est-à-dire en pratique en régulant le pH. Les rendements de photosynthèse présentés précédemment induisent directement les valeurs maximales des flux de CO₂ qui peuvent être fixés. La valeur théorique limite, correspondant à un rendement photosynthétique de 9.9%, conduit aux taux de fixation présentés dans le tableau 3 en fonction de l'insolation moyenne reçue à différentes latitudes. Dans le Sud de la France, la limite théorique maximale est 328 T/ha/an de matière sèche. Cette limite passe à 456 T/ha/an sous les tropiques.

Les rendements qui ont pu être obtenus expérimentalement sont bien en dessous de ces rendements théoriques. Le tableau 4 présente différentes études publiées, normalisées par la production optimale (sous l'hypothèse d'un rendement de 9.9%) correspondant l'intensité lumineuse (calculée en fonction de la localisation). Il apparaît que les rendements obtenus (en poids sec) restent plutôt dans la gamme de 5 à 60 T.ha⁻¹.an⁻¹, et les productivités actuellement obtenues pour des systèmes commerciaux vont de 10 à 30 T.ha⁻¹.an⁻¹ (Sheehan *et al.* 1998; Pulz 2001; Huntley & Redalje 2007), ce qui reste optimiste compte tenu du fait que la majorité des études ont été conduites sur des périodes relativement courtes, et que, souvent, seuls les meilleurs résultats obtenus sont rapportés. Il faut également noter que les productions en photobioréacteurs ne tiennent

pas toujours leurs promesses et ne conduisent pas nécessairement à des productivités significativement supérieures (voir Tableau 4.).

Type de culture	Espèce	Pays	Volume L	Produ- ctivité g/m ² /J	rendement réel %	Réf.
PBR air lift	<i>Nannochloropsis sp.</i>	Italie	140	1.9-3.8	0.2-0.4	1
PBR Plan incliné	<i>Chorella sp.</i>	R. Tchèque	2000	11.1	1.8	2
PBR Plan incliné	<i>Chorella sp.</i>	Grèce	2000	18.1	1.6	2
PBR Tub. incliné	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Espagne	200	32	2.9	3
Raceway	<i>Spirulina platensis</i>	Italie	282	14.5	1.7	1
Raceway	<i>Anabeana sp.</i>	Espagne	300	9.4-23.5	0.8-2.1	4
Raceway	<i>Spirulina sp.</i>	Espagne	135000	2-17	0.2-1.6	5
Raceway	<i>Spirulina platensis</i>	Israël	750	15-27	1.4-2.5	6
Raceway	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Hawaii	4150	2.4-11.3	0.2-1.1	7
Raceway	<i>Pleurochrysis carterae</i>	Australie	160	16-33.5	1.3-2.8	8
Raceway	<i>Dunaliella Salina</i>	Australie	110	20-37	1.7-3.1	8

Tableau 4. Rendements réels obtenus sur des cultures de plus de 100L en extérieur (1 : Zittelli *et al.* (2003), 2 : Doucha *et al.* (2006), 3 : Molina *et al.* (2001), 4 : Moreno *et al.* (2003), 5 : Jimenez *et al.* (2003), 6 : Richmond *et al.* (1990), 7 : Laws *et al.* (1983), 8 : Moheimanni & Borowitska (2006))

LA CULTURE DES MICROALGUES DANS LE MONDE

La production de microalgues et cyanobactéries est en forte augmentation à travers le monde. Elle est passée de 5000 tonnes par an à plus de 10000 en l'espace de 5 ans (van Harmelen & Oonk 2006). Les cultures à grande échelle de biomasse riches en protéines, en vitamines, sels minéraux, pigments, antioxydants, acides gras polyinsaturés à longue chaîne etc (Pulz, 2004, Spolaore, 2006) sont principalement dédiées à l'industrie cosmétiques et des compléments alimentaires. La spiruline (*Arthrospira platensis*) et les espèces de type *Chlorella* sont les principales espèces cultivées dans ce but. D'autres espèces sont cultivées en aquacultures pour produire du zooplancton, nourrir les larves de poissons, des bivalves, etc.

Il y a deux manières de produire des microalgues suivant que le dispositif de culture est ouvert (type étang) ou fermé dans une enceinte transparente. Les cultures à grande échelle se font pour l'instant principalement à l'aide d'étangs à haut rendement de type « champ de course » (raceway, voir Figure 3), pour une profondeur de quelques dizaines de centimètres. Ce système de culture, qui contribue très majoritairement à la production mondiale de biomasse (van Harmelen & Oonk 2006) est relativement standardisée. Le milieu de culture circule grâce à des roues à aubes. Les éléments nutritifs sont apportés de manière à garantir, dans les conditions standard, une croissance optimale des algues. Un bullage assure l'apport en CO₂, mais le transfert du CO₂ dans la phase liquide est souvent médiocre compte tenu de la faible profondeur des bassins. Ces systèmes, de part leur caractère ouvert, sont très sensibles à la contamination, soit par des espèces locales qui y trouvent les conditions idéales pour se développer et finalement supplanter l'espèce cultivée, soit par des prédateurs (daphnies, copépodes, ...) qui broutent une partie importante de la biomasse.



Figure 3 : Système de culture en extérieur du type Raceway (Société Inovalg (85))

Jusqu'à présent, pour éviter ces problèmes, seules des espèces extrémophiles poussant dans des milieux très alcalins (*Spiruline*), des milieux hypersalins (*Dunaliella salina*) ou à pH très bas sont cultivées en plein air (Lee 2001). Les rendements atteints en cultures ouvertes sont plus faibles et les besoins en eau pour compenser l'évaporation peuvent être importants. Les autres espèces sont cultivées en photobioréacteurs, qui limitent les risques de contamination.

Les photobioréacteurs (Figure 4) peuvent compenser un coût bien plus élevé par des productivités optimisées. Alors que les étangs à haut rendement ont souvent des designs assez proches, les technologies de design des photobioréacteurs sont très variables et dépendent fortement de l'ingénieur qui les a conçus et de l'espèce à cultiver. En effet, il faut établir des conditions d'agitation et de turbulence compatibles avec la biologie des espèces. Certaines cellules qui ont un flagelle particulièrement fragile sont extrêmement sensibles à de fortes contraintes de cisaillements. Les photobioréacteurs permettent de garantir des conditions d'accès aux ressources nutritives non limitantes et un transfert du CO₂ de la phase gazeuse vers la phase liquide optimisé. En contrepartie, ils peuvent souffrir de valeurs trop élevées de dioxygène qui, avec les rayonnements UV, peuvent former des radicaux libres extrêmement toxiques pour la biomasse et inhiber la photosynthèse. Enfin, il faut le plus souvent concevoir un système pour limiter l'élévation de température accentuée par l'effet de serre pour la culture en plein soleil et absolument éviter d'atteindre des températures létales. L'art de concevoir un photobioréacteur consiste à trouver des conditions qui optimisent la croissance en garantissant un accès optimal aux éléments nutritifs et à la lumière, au CO₂ tout en minimisant l'accumulation d'oxygène. Dans le cas d'un photobioréacteur dont l'objectif est la production d'énergie, il est clair qu'il faut minimiser les besoins en énergie du système de culture.

Dans le cas de la production d'huile telle que réalisée par Huntley & Redalje (2006), c'est une combinaison de ces deux systèmes qui est utilisée. La production de

Haematococcus pluvialis est faite en photobioréacteur, dont la température est régulée grâce à un système de pompage d'eau de mer, puis le milieu est déversé dans un étang où la phase de carence est réalisée. Les algues ne restent pas plus de deux jours pendant lesquelles les contaminations (limitées par l'absence d'azote) ont un impact réduit.



Figure 4 : Photobioréacteur pilote IFREMER avec éclairage artificiel.

LA RECOLTE ET LA PURIFICATION

Récolter des cellules de quelques microns de diamètre qui ont une densité proche de l'eau n'est pas une tâche aisée. Cette étape clé est trop souvent passée sous silence et constitue une réelle étape limitante dans une optique de production de biocarburants. Certaines espèces peuvent se récolter simplement par filtration sur des soies (spiruline), après décantation (*Odontella aurita*) ou par filtration membranaire (Rossignol *et al.* 2000) voire séparation ultrasonique (Bosma *et al.* 2003). Pour beaucoup d'espèces il est nécessaire, après une étape de préconcentration, de centrifuger (Heasman *et al.* 2000) l'échantillon pour diminuer son taux d'humidité. Des méthodes de floculation (Poelman *et al.* 1997; Knuckey *et al.* 2006) peuvent également être envisagées. Suivant les sous-produits à récupérer, il peut être nécessaire de sécher le produit obtenu. Les étapes associées à la récolte et au séchage peuvent être fortement

demandeuses d'énergies. Les techniques classiques pour récupérer les lipides des microalgues consistent à utiliser un solvant (type hexane). Des méthodes alternatives (CO_2sc) qui offrent des bilans globaux intéressants sont à l'étude (Crampon *et al.* soumis). Les techniques classiques de transestérification développées pour les plantes oléagineuses terrestres peuvent alors être appliquées pour la production d'ester méthylique d'huile végétale (biodiesel).

Des méthodes alternatives de conversion thermochimique utilisent une plus grande fraction de la biomasse pour la convertir en un mélange d'hydrocarbures et de gaz, en l'absence d'oxygène, et à haute température (350°C - 530°C). La liquéfaction thermochimique semble être plus intéressante que la pyrolyse flash (Carlsson *et al.* 2007) dans la mesure où elle ne nécessite pas de séchage préalable de la biomasse, qui peut avoir un taux d'humidité de 60%. Ces techniques doivent avoir recours à un dispositif de piégeage, entre autres pour les oxydes d'azote qui pourraient être émis compte tenu de la forte proportion d'azote dans la biomasse (entre 10 et 20% de la biomasse).

LE COUT

A l'heure actuelle le coût de cultures de microalgues reste relativement élevé. Les différentes études qui ont pu être menées ne peuvent néanmoins pas donner une idée précise du coût de cultures à grande échelle. En effet, la majorité des procédés étudiés ont pour objectif la production de composés à haute valeur ajoutée (c.a.d pour des valeurs supérieures à 10\$ par kg). Par ailleurs, l'extrapolation de quelques mètres carrés à des hectares est loin d'être simple. Il faut donc prendre les données de la littérature avec la plus grande prudence. Les chiffres les plus communément admis se situent toutefois dans une fourchette de 5 à 70 dollars par kg de matière sèche (Moore 2001; Molina Grima *et al.* 2003; Olaizola 2003, Reith *et al.* 2006). Les étangs permettent d'obtenir les coûts les plus faibles, alors que les photobioréacteurs requièrent des coûts d'investissement d'un facteur 10 fois supérieur (Hallenbeck & Benemann 2002). Le tableau 5, repris de Chisti (2007) présente deux scénarii de production de lipides avec des microalgues, sur la base de deux contenus en lipides envisagés (30% ou 70%). Les productivités annoncées (qui n'ont encore jamais été obtenues dans des systèmes en extérieur) et des hypothèses basées sur les économies d'échelles pour des cultures sur des grandes surfaces conduisent à des coûts minimums de $\text{US\$ } 2.85 \text{ kg}^{-1}$.

La récolte représente un poste important de 20 à 30% du coût de la biomasse algale (Molina Grima *et al.* 2003). Ce coût est plus important pour des cultures en étang moins concentrées (inférieures au g/l).

Ces données démontrent que la production de biocarburants par des microalgues ne peut être économiquement viable qu'associée à un système de dépollution (consommation de nitrate, ammonium et phosphate, ainsi que de CO_2) et/ou à la production de composés valorisables dérivés de la biomasse (Carlsson *et al.* 2007).

	Photobioréacteur	Raceway
Production annuelle (kg)	100 000	100 000
Productivité volumétrique ($\text{kg.m}^{-3}.\text{jour}^{-1}$)	1.535	0.117
Pructivité surfacique ($\text{kg.m}^{-3}.\text{jour}^{-1}$)	0.048	0.035
Biomasse (g.l^{-1})	4.0	0.14
Taux de dilution(jour^{-1})	0.384	0.25
Surface nécessaire (m^2)	5681	7828
Productivité en huile si 70% (T.ha^{-1})	123.2	89.5
Productivité en huile si 30% (T.ha^{-1})	58.7	42.6
Productivité en masse sèche (T.ha^{-1})	176	127.8
Fixation annuelle de CO_2 (T)	165	165

Tableau 5 : comparaison de la production de lipides en photobioréacteur (6 unités de 132 tubes de 80m de long et 6cm de diamètre) et en raceway (8 étangs de 978 m², 12 m de large, 82 m long et 30cm de profondeur). Deux scenarii sont considérés : un contenu en lipide moyen de 30% ou bien de 70% (d'après Chisti, 2007).

CONCLUSIONS : LES VEROUS A LEVER

La production de biocarburant lipidique par les microalgues n'a de sens que si elle utilise au maximum l'énergie solaire et un minimum de main d'œuvre. Des analyses contradictoires doivent être conduites pour tester les productivités régionales liées à l'éclaircissement. Quelles sont les surfaces disponibles? Comment concilier la proximité de station d'épuration, de centrales émettrices de CO₂ et de lagunes ou de bassins de culture d'eau de mer ou d'eau douce? Comment mesurer en cas de succès, l'impact de milliers d'hectares de culture d'algues sur la géographie des zones humides?

Les microalgues sont très sensibles aux fortes illuminations, et les rendements décroissent rapidement avec l'intensité lumineuse, si bien qu'en pratique il est très difficile d'atteindre les rendements théoriques (voir Tableau 4). Des recherches sont nécessaires pour placer et maintenir les organismes dans des conditions optimales, en utilisant notamment des systèmes de régulation et de contrôle automatisés, sur le même principe que ceux qui peuvent exister pour des serres.

Les expériences rapportées par exemple au Nouveau Mexique (Sheehan *et al.* 1998) montrent aussi l'impact du froid nocturne et les conséquences des fortes températures et de l'évaporation diurne dans les déserts. Ces éléments tempèrent les déclarations sur les pays à fort ensoleillement, candidats à l'indépendance énergétique. Les cultures en hiver ont des rendements très faibles qui peuvent tomber à 2g/m²/J. A l'échelle de l'année, une solution pourra consister à prévoir des productions successives d'espèces dont les optima de cultures seront adaptés à des conditions saisonnières différentes.

Les microalgues retenues devront présenter de fortes teneurs en lipides tout en maintenant des flux de CO₂ entrant dans la cellule élevés et stables. De nombreuses recherches visent à trouver un compromis durable entre la synthèse de lipides et la croissance. La réponse à ces questions passera également par la modélisation du procédé de production, de manière à pouvoir en optimiser le fonctionnement.

Les apports en oligoéléments et vitamines sont souvent négligés dans la plupart des études et doivent être quantifiés de même que l'ajout et le devenir de la silice dans le métabolisme des diatomées. Ce point aura un impact décisif sur les coûts de production. De même, de part les proportions très élevées d'azote et de phosphore dans la biomasse, il faut pouvoir recycler et/ou valoriser l'azote et le phosphore organiques (qui ne se retrouvent pas dans l'huile biocarburant), faute de quoi le bilan pourrait être lourd tant en terme environnemental que budgétaire.

La procédure de récolte des microalgues et d'extraction de l'huile est un point crucial sur lequel un effort important doit encore être porté. Contrairement aux espèces terrestres où il suffit de presser, extraire l'huile contenue dans les organismes de quelques microns et un réel défi et dépend donc des avancées techniques en ultrafiltration et autres techniques du génie des procédés. L'alternative à la centrifugation consiste à choisir une algue floculant ou sédimentant facilement. Ce type d'algue, à l'inverse, nécessitera le recours à un procédé pour la maintenir en suspension et donc de l'énergie.

Il n'y a pas d'avantage clair entre algue d'eau douce et algue d'eau de mer. Chaque type algue a ses avantages et ses inconvénients et sera plus adapté à certaines régions. Si les cultures doivent être effectuées en eau douce, des conflits sur l'usage de l'eau peuvent apparaître. D'un autre côté, les couplages avec des sources de CO₂ ne seront pas systématiquement possibles en bord de mer ou devront à tout le moins être planifiés.

Le risque de contamination est élevé en milieu ouvert, que ce soit par l'invasion d'espèces de microalgues locales mieux adaptées ou de prédateurs zooplanctoniques. Ces problèmes, de nature écologique, sont dans les faits une forte limitation à la pérennité des cultures.

La plupart des points évoqués précédemment sont fortement liés à l'espèce considérée. La quête d'espèces puis de souches offrant un bon compromis entre croissance rapide, contenu en huile, facilité de récolte, faible demande énergétique, etc. mobilise de nombreuses équipes dans le monde. Certaines équipes ont fait le choix de modifications génétiques pour améliorer l'efficacité photosynthétique, limiter la photo inhibition, stimuler la production de lipides, augmenter les concentrations de biomasse ou encore résister à des pesticides. Outre le fait que les OGM nécessiteraient impérativement des cultures en photobioréacteurs, plus onéreux, ces organismes manquent souvent de robustesse sur le long terme et sont rarement utilisés pour des produits à faible valeur ajoutée.

Enfin des études économiques sérieuses et un écobilan basé sur des analyses en cycles de vie, doivent être menés, à l'instar des ceux disponibles sur les biocarburants terrestres. Cet aspect est capital car les fortes productivités attendues sont à mettre en regard des besoins en eau, en azote et en phosphore ainsi que des investissements importants nécessaires.

Grâce à l'importante somme de connaissances déjà publiée sur le sujet, il est possible de mesurer la place évidente dont disposent les microalgues dans le domaine de l'énergie renouvelable et du stockage du CO₂. Même si des chiffres enthousiastes sont

avancés, souvent par des start-up à la recherche de financeurs (chiffres qui dépassent régulièrement les valeurs théoriques limites telles que présentées dans le tableau 3), les avantages des microalgues sont réels. Il est clair que –au moins dans la décennie à venir- les chiffres de 100 à 150 tonnes d’huile par hectare et par an doivent certainement être divisés par 5 ou 10. Des études en extérieur associées à des analyses effectuées par des économistes seront des priorités pour mieux mesurer l’impact des différents facteurs sur la productivité et le coût. En France, le projet Shamash, réunit 8 équipes financées par le Programme National de Recherche sur les Bioénergies (PNRB) de l’ANR afin de lever certains des verrous qui ont été présentés et de chiffrer de façon plus réaliste les productivités atteignables et les coûts associés.

Remerciements : les auteurs bénéficient du soutien du Programme National de Recherche sur les Bioénergies (PNRB) de l’ANR, dans le cadre du projet Shamash,

BIBLIOGRAPHIE

- Benemann J, Oswald WJ (1996) Systems et economic analysis of microalgae ponds for conversion of CO₂ to biomass. US DOE, Pittsburgh Energy Technology Centre.
- Benemann JR (1997) CO₂ mitigation with microalgae systems. *Energy Conversion et Management* 38: S475-S479 Benemann J, (1997) Feasibility analysis of photobiological hydrogen production. *Int. J. Hydrogen Energy* 22 :. 979-987
- Borowitzka MA (1999) Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes et fermenters. *Journal of Biotechnology* 70: 313-321
- Bosma R, van Spronsen WA, Tramper J, Wijffels RH (2003) Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae. *Journal of Applied Phycology* 15: 143-153
- Brown MR, Dunstan GA, Norwood SJ, Miller KA (1996) Effects of harvested stage et light on the biochemical composition of the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *Journal of Phycology* 32: 64-73
- Carvalho AP, Meireles LA, Malcata FX (2006) Microalgal reactors: A review of enclosed system designs et performances. *Biotechnology Progress* 22: 1490- 1506
- Carlsson A.S., van Beilen J. B, Möller R. et Clayton D., *Micro- and Macro-algae: utility for industrial applications*, in “EPOBIO: Realising the Economic Potential of Sustainable Resources – Bioproducts from Non-food Crops”, CPL Press, Berks, 2007.
- Chisti Y (2007) Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances* 25: 294-306
- Choi SL, Suh IS, Lee CG (2003) Lumostatic operation of bubble column photobioreactors for *Haematococcus pluvialis* cultures using a specific light uptake rate as a control parameter. *Enzyme et Microbial Technology* 33: 403- 409
- Crampon C., Boutin O et Badens E. Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Molecules of Interest from Microalgae and Seaweed, *Journal of Supercritical Fluids*, soumis.
- Doucha J, Straka F, Livansky K Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thinlayer photobioreactor. *J. Appl. Phycol.* 2005 17: 403–412.
- Doucha J, Livansky K, Productivity, CO₂/O₂ exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. *J. Appl. Phycol.* 2006 18 : 811-826.
- Haesman M, Diemar J, O'Connor W, Soushames T, Foulkes L (2000) Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs - a summary. *Aquaculture Research* 31: 637-659

- Hallenbeck PC, Benemann JR (2002) Biological hydrogen production; fundamentals et limiting processes. *International Journal of Hydrogen Energy* 27: 1185-1193
- Hedges, S. B., Blair, J. E., Venturi, M. L. et Shoe, J. L. (2004). "A molecular timescale of eukaryote evolution and the rise of complex multicellular life." *BMC Evolutionary Biology*, <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/4/2> 4: 2.
- Hu Q, Zhang C, Sommerfeld M (2006) Biodiesel from algae: Lessons learned over the past 60 years et future perspectives. *Journal of Phycology* 42: 12
- Huntley M, Redalje DG (2007) CO₂ Mitigation et Renewable Oil from Photosynthetic Microbes: A New Appraisal. *Mitigation et Adaptation Strategies for Global Change* 12: 573-608
- Jimenez C, Cossio BR, Labella D, Niell FX (2003) The Feasibility of industrial production of *Spirulina* (*Arthrospira*) in Southern Spain. *Aquaculture* 217: 179- 190
- Keoleian GA, Volk TA (2005) Renewable energy from willow biomass crops: life cycle energy, environmental et economic performance. *Critical Reviews in Plant Sciences* 24: 385-406
- Keeling, P. J., Deane, J. A., Hink-Schauer, C., Douglas, S. E., Maier, U.-G. et McFadden, G. I. (1999). "The secondary endosymbiont of the cryptomonad *Guillardia theta* contains Alpha-, Beta-, and Gamma-tubulin Genes." *Mol. Biol. Evol.* 16: 1308-1313.
- Knuckey RM, Brown MR, Robert R, Frampton DMF (2006) Production of microalgal concentrates by flocculation et their assessment as aquaculture feeds. *Aquacultural Engineering* 35: 300-313
- Kroth, P. G., Chiovitti, A., Gruber, A., Martin-Jezequel, V., Mock, T., Parker, M. S., Stanley, M. S., Kaplan, A., Caron, L., Weber, T., Maheswari, U., Armbrust, E. V. et Bowler, C. (2008). A Model for Carbohydrate Metabolism in the Diatom *Phaeodactylum tricornutum* Deduced from Comparative Whole Genome Analysis. *PLoS ONE* 3 (1): e1426.
- Laws E.A. Taguchi S, Hirata J., Pang, L., Mass culture optimization studies with four marine microalgae. *Biomass* (1988) 6 :19-32
- Lee YK (2001) Microalgal mass culture systems et methods: Their limitation et potential. *Journal of Applied Phycology* 13: 307-315
- Metting FB (1996) Biodiversity et application of microalgae. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 17: 477-489
- Miao X, Wu Q (2004) High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. *Journal of Biotechnology* 110: 85-93
- Miao X, Wu Q, Yang CY (2004) Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. *Journal of Analytical et Applied Pyrolysis* 71: 855-863
- Moheimani NR, Borowitzka MA (2006) The long-term culture of the coccolithophore *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) in outdoor raceway ponds. *Journal of Applied Phycology* 18: 703-712
- Molina Grima EM, Perez JAS, Camacho FG, Sevilla JMF, Fernandez FGA (1994) Effect of Growth-Rate on the Eicosapentaenoic Acid et Docosahexaenoic Acid Content of *Isochrysis-Galbana* in Chemostat Culture. *Applied Microbiology et Biotechnology* 41: 23-27
- Molina E., Frenandez, E. Acien, F.G ; and Chisti, Y., Tubular photobioreactor design for algal cultures, *Journal of Biotechnology* 2001 92 :113-131
- Molina Grima EM, Belarbi EH, Fernandez FGA, Medina AR, Chisti Y (2003) Recovery of microalgal biomass et metabolites: process options et economics. *Biotechnology Advances* 20: 491-515
- Moore A (2001) Blooming prospects? *EMBO reports* 2: 462-464 Moreno, J., Vargas, M.A., Rodriguez, H., Rivas, J., Guerrero, M.G., Outdoor cultivation of a nitrogen-fixing marine cyanobacterium *Anabaena* sp. ATCC 33047. *Biomol. Eng.* 2003 20, 191-197.
- Muchow RC, Spillman MF, Wood AW, Thomas MR (1994) Radiation interception et biomass accumulation in a sugarcane crop grown under irrigated tropical conditions. *Australian Journal of Agricultural Research* 45: 37-49
- Olaizola M (2003) Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. *Biomolecular Engineering* 20: 459-466
- Poelman E, DePauw N, Jeurissen B (1997) Potential of electrolytic flocculation for recovery of microalgae. *Resources Conservation et Recycling* 19: 1-10
- Pulz O (2001) Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Applied Microbiology et Biotechnology* 57: 287-293
- Pulz O, Gross W (2004) Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology et Biotechnology* 65: 635-648

- Qi B, Fraser T, Mugford S, Dobson G, Sayanova O, Butler J, Napier JA, Stobart AK, Lazarus CM (2004) Production of very long chain polyunsaturated omega-3 et omega-6 fatty acids in plants. *Nature Biotechnology* 22: 739-745
- Radmer RJ (1996) Algal diversity et commercial algal products. *Bioscience* 46: 263-270
- Reith JH, Steketeer J, Brandeburg W, Sijtsma L (2006) Platform Groene Grondstoffen. Werkgroep 1: duurzame productie en ontwikkeling van biomassa. Deelpad: aquatische biomassa.
- Richmond A, Lichtenberg E, Stahl B, Vonshak A Quantitative assessment of the major limitations on productivity of *Spirulina platensis* in open raceways. *J Appl Phycol* (1990) 2: 195-206
- Richmond A (2000) Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: A personal view. *Journal of Applied Phycology* 12: 441-451
- Richmond A (2004) Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. *Hydrobiologia* 512: 33-37
- Rossignol N, Lebeau T, Jaouen P, Robert JM (2000) Comparison of two membrane - photobioreactors, with free or immobilized cells, for the production of pigments by a marine diatom. *Bioprocess Engineering* 23: 495-501
- Scragg AH, Morrison J, Shales SW (2003) The use of a fuel containing *Chlorella vulgaris* in a diesel engine. *Enzyme et Microbial Technology* 33: 884-889
- Sheehan J, Dunahay T, Benemann J, Roessler P (1998) A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program—biodiesel from algae. NREL/TP-580-24190. U.S. Department of Energy's Office of Fuels Development.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A (2006) Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience et Bioengineering* 101: 87-96
- Takagi, M., Karseno, Yoshida T. Effect of salt concentration on intracellular accumulation of lipids and triacylglyceride in marine microalgae *Dunaliella* cell. *J Biosci Bioeng.* 2006 Mar ;101 (3):223-226
- Teyssèdre, B. (2006). "Are the green algae (phylum Viridiplantae) two billion years old ?" *Notebooks on Geology* A03: 1-15.
- van Harmelen T, Oonk H (2006) Microalgae biofixation processes: applications et potential contributions to greenhouse gas mitigation options. Apeldoorn, TNO Built Environment Geosciences
- Xu H, Miao XL, Wu Q (2006) High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *Journal of Biotechnology* 126: 499-507
- Zittelli GC, Rodolfi L, Biondi N, Tredici MR (2006) Productivity et photosynthetic efficiency of outdoor cultures of *Tetraselmis suecica* in annular columns. *Aquaculture* 261: 932-943