

# L'actualité chimique

Le journal de la Société Chimique de France  
Juin-Juillet-Août 2013 - N° 375-376

## Biotechnologies et chimie : nouveaux développements

**Dossier : la chimie contre le diabète**  
**L'avenir des polymères biosourcés**  
**TP : l'archéologie au labo**



Société Chimique de France



Fondation de la Maison de la Chimie



**FedEx**<sup>®</sup>  
Express

# L'EUROPE PLUS PROCHE AVEC FEDEX

Express ou moins urgents, du plus lourd au plus léger, comptez sur l'expertise FedEx pour vos échanges en Europe.

Nous étendons continuellement notre réseau pour vous offrir une large gamme de services rapides et fiables. Nous avons ouvert cette année plus de 75 agences en Europe, étoffé nos équipes de plus de 1000 collaborateurs et déployé plus de 600 connexions aériennes ou terrestres.

Vous pouvez compter sur l'engagement et le professionnalisme des équipes FedEx pour vous accompagner en Europe et livrer vos expéditions comme vos destinataires les attendent.

Pour en savoir plus, rendez-vous sur [fedex.com/fr](http://fedex.com/fr) ou contactez-nous au **0820 123 800**.

**Faites de l'Europe une réelle opportunité avec FedEx.**

### RÉDACTION

**Rédactrice en chef :** Rose Agnès Jacquesy

**Rédactrice en chef adjointe :**

Séverine Bléneau-Serdel

**Secrétaire de rédaction :** Roselyne Messal

**Chef de rubrique, Collection « L'Actualité Chimique - Livres » :** Minh-Thu Dinh-Audouin

**Secrétariat :** Martine Maman

**Stagiaire :** Alexane Roupioz

**Webmestre :** Jérémie Meyer de Ville

### Comité des rubriques :

Recherche et développement : Rose Agnès Jacquesy, Industrie : Gilbert Schorsch, Enseignement et formation : Katia Fajerweg, TP : Xavier Bataille, Histoire de la chimie : Marika Blondel-Mégrelis, Comment ça marche ? : Véronique Nardello-Rataj, Un point sur : Jean-Pierre Foulon, Chimie des aliments et du goût : Hervé This, En bref : Séverine Bléneau-Serdel et Roselyne Messal, Actualités de la SCF et Agenda : Roselyne Messal, Livres et médias : Yves Dubosc

### Comité de rédaction :

P. Arpino, J. Belloni, E. Bordes-Richard, J. Buendia, C. Cartier dit Moulin, R.-E. Eastes, J. Fournier, P. Massiani, M.-T. Ménager, C. Monneret, N. Moreau, J.-M. Paris, P. Pichat, A. Picot, M. Quarton, J. Rangapanaiken, F. Rocquet, H. Toulhoat, L. Valade, M. Verdagner

**Partenariat :** CNRS, Fondation Internationale de la Maison de la Chimie

Publication analysée ou indexée par :

Chemical Abstracts, base de données PASCAL

**ÉDITION :** Société Chimique de France

250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris

**Rédaction :** 28 rue Saint-Dominique, 75007 Paris

Tél. : 01 40 46 71 64 - Fax : 01 40 46 71 63

redaction@lactualitechimique.org

www.lactualitechimique.org

**Directeur de la publication :** Olivier Homolle,

président de la Société Chimique de France

**Imprimerie :** SPEI, BP 26, 54425 Pulnoy

**Maquette articles :** e-Press, Casablanca

Technopark, Route de Nouaceur, Casablanca (Maroc)

**Maquette hors articles :** Mag Design

www.magdesign.info

**ISSN** version papier 0151 9093

**ISSN** version électronique 2105 2409

### PUBLICITÉ

EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges

Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort

Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00

edition@edif.fr, www.edif.fr

Index des annonceurs : p. 2

© SCF 2013 - Tous droits réservés

Dépôt légal : juin 2013

Toute représentation ou reproduction, intégrale ou partielle, fait sans le consentement de l'auteur, ou des ayants droits, ou ayant cause, est illicite (loi du 11 mars 1957, alinéa 1<sup>er</sup> de l'article 40). Cette représentation ou reproduction, par quelque procédé que ce soit, constituerait une contrefaçon sanctionnée par les articles 425 et suivants du Code pénal. La loi du 11 mars 1957 n'autorise, aux termes des alinéas 2 et 3 de l'article 41, que les copies et les reproductions strictement réservées à l'usage privé du copiste et non destinées à une utilisation collective d'une part, et, d'autre part, que les analyses et les courtes citations dans un but d'exemple et d'illustration.

### TARIFS 2013 - L'ACTUALITÉ CHIMIQUE

(11 numéros par an)

Abonnement papier + électronique

**Particuliers :** France 95 € - Étranger 100 €

**Institutions :** France 195 € - Étranger 205 €

**Lycées :** France 110 € - Étranger 130 €

Abonnement électronique seul (France/Étranger)

**Particuliers :** 55 € - **Institutions :** 155 € - **Lycées :** 70 €

**Membres de la SCF :** abonnement inclus

dans la cotisation ou à tarif préférentiel

**Abonnement :** SCF, Nadine Colliot

250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris

Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61

adhesion@societechimiquedefrance.fr

Prix de vente au numéro : 32 € (port inclus)

## L'ambition de la chimie

**A**u cours du temps, l'image de notre discipline a beaucoup varié. La chimie a été synonyme de richesse pour les populations là où elle s'implantait au début de l'ère industrielle, puis quelques accidents ont commencé à altérer cette perception. Les procès d'intention se sont ensuite succédé jusqu'à ce que, malgré une réalité économique tangible et des progrès constants au bénéfice de la société, la chimie et les chimistes soient considérés responsables de bien de ses maux. Or, dans une société, notamment en crise, la chimie est un partenaire économique majeur. En France, c'est le second bassin d'emplois. Il fallait le rappeler fortement.

Chaque composante de la chimie, académique comme industrielle, a d'abord réagi spécifiquement quand on lui en donnait l'occasion, sans grand effet, avouons-le ! La multiplication des attaques nécessitait une réaction globale. Que fallait-il faire ? L'idée en est venue en 2008. Avec l'aval du Premier Ministre, François Fillon, nous avons officiellement créé en mai 2009, à la Maison de la Chimie, une structure de réflexion, au départ informelle, pour tenter d'inverser la tendance, en présentant en particulier un front uni pour parler d'une seule voix lorsque la chimie serait en question. Nous l'avons nommée « le Comité Ambition Chimie » et désignée par son acronyme : le CAC.

Les sept membres fondateurs en ont été l'Académie des sciences, l'Institut de chimie du CNRS, l'Union des Industries Chimiques (UIC), la Société Chimique de France (SCF), la Fondation internationale de la Maison de la Chimie, la Fédération Française des sciences de la Chimie (FFC) et la Fédération Gay-Lussac (FGL). Leurs représentants, du plus haut niveau de responsabilité, se réunissent mensuellement depuis 2008 pour élaborer dans le temps une stratégie de promotion de notre discipline et de reconnaissance par les diverses tutelles. Nous avons assorti cette création d'une charte éthique qui nous lie tous pour l'affirmation d'une chimie vertueuse au service de tous. Elle exprime notre volonté commune de :

- partager toujours davantage savoirs et savoir-faire pour relever, ensemble, les grands défis sociétaux économiques et

environnementaux, en multipliant les interactions entre les partenaires, et proposer à tous les niveaux une formation scientifique adaptée aux nouvelles attentes de la société ;

- promouvoir l'innovation dans ses dimensions fondamentale et appliquée, ainsi que l'innovation technologique, et agir de manière responsable pour évaluer, maîtriser et minimiser la part de risque que comporte toute innovation ;

- améliorer constamment la connaissance de l'impact des substances chimiques sur la santé et l'environnement, et améliorer simultanément l'information des utilisateurs et consommateurs sur les risques éventuels et sur les bonnes pratiques d'utilisation (au travers par exemple d'initiatives telles que la réglementation européenne REACH) ;

- rechercher toujours davantage le dialogue : permettre à tous de participer aux débats sur les enjeux scientifiques économiques et sociétaux de ces recherches en développant des lieux, des structures et des actions visant à favoriser les échanges avec les citoyens et leurs représentants (pouvoirs publics, associations, ONG...), pour mieux répondre à leurs questionnements et à leurs nouvelles exigences ;

- contribuer au développement de la France et de l'Europe comme le fer de lance du développement durable, en étant un acteur majeur de la recherche scientifique, des nouvelles technologies et de l'industrie ; mettre en œuvre les actions nécessaires en cohérence avec les conclusions de la Commission européenne de la chimie.



Les sept membres fondateurs lors de la journée de lancement du CAC le 18 mai 2009 (de gauche à droite) : Olivier Homolle (président de la SCF), Gérard Férey (représentant l'Académie des sciences), Bernard Bigot (président de la Fondation de la Maison de la Chimie), Gilberte Chambaud (directrice de l'Institut de chimie du CNRS), Bernard Chambon (président de l'UIC), Joël Moreau (président de la FGL) et Maurice Leroy (président de la FFC).

En cinq ans, notre reconnaissance par les tutelles et les instances gouvernementales est devenue patente. Nous sommes désormais régulièrement consultés, et au plus haut niveau, lorsque la chimie et son avenir sont en question. De plus, nous avons maintenant une structure légale, depuis que le CAC est une des deux composantes du Comité National de la Chimie (CNC), émanation reconnue d'utilité publique de l'Académie des sciences pour ses relations avec l'IUPAC, – l'Union internationale de chimie pure et appliquée –, ce qui accroît encore notre lisibilité.

Une structure est une chose, ses actions auprès des jeunes et du grand public en sont une autre. Un premier bilan s'impose pour justifier notre action. Elle a pu être globale, ou parfois laissée à l'initiative d'une seule composante du CAC, dans un but spécifique, mais avec l'accord de tous. De ce point de vue, nous sommes très heureux que la Société Chimique de France nous ouvre les pages de son journal pour mieux vous informer.

Grâce à cette solidarité et avec l'aide de vous tous, le Comité Ambition Chimie a pu organiser et financer au plan national de nombreuses manifestations de l'Année internationale de la chimie en 2011, sur toute l'année et sur tout le territoire en 2011, avec le succès que l'on sait : sous les auspices de la Commission Chimie & Société, les expositions « Chimie et Terroir » attirent chaque fois des milliers de visiteurs ; nous avons pu organiser des conférences, des débats avec les lycéens comme avec le public adulte. L'exposition « Regards sur la chimie » circule depuis plus d'un an dans toutes les villes de France : chaque poster, sous forme de trois images, montre le continuum qui existe entre un produit, un chercheur et sa réalisation industrielle dans les domaines dont se soucie actuellement notre société. Nous avons pu participer en 2012 à la célébration à Lyon, Nancy et Toulouse, du

centenaire du prix Nobel de chimie de Victor Grignard et Paul Sabatier. La Fondation de la Maison de la Chimie, en liaison avec l'UIC, a mis en place le site Mediachimie.org, médiathèque qui s'adresse aux élèves et aux étudiants du collège à l'université, aux parents, aux enseignants. L'Union des Industries Chimiques, outre les expositions de rue qu'elle avait créées simultanément à Paris, Lille, Lyon et Marseille, a lancé avec la Fondation de la Maison de la Chimie les « Chemical World Tour » 1 et 2, qui ont permis à cinq jeunes chimistes de réaliser en France ou à l'étranger des reportages sur des thèmes d'actualité ; leurs reportages, visibles en ligne, ont eu et ont toujours un très grand succès. Des actions sont actuellement en cours pour rapprocher les enseignants de chimie du secondaire et du supérieur.

Vos initiatives locales et individuelles, ajoutées à ces quelques actions, ont reçu un accueil très favorable des publics concernés. Cela démontre à l'environnement qu'en œuvrant ensemble, nous sommes sur le chemin de la reconquête de l'opinion. Ce sera certes une entreprise de longue haleine, mais elle est l'affaire de tous, la vôtre comme la nôtre. Toutes vos initiatives – locales, régionales ou nationales – seront les bienvenues ; tenez-nous en informés, afin que nous aidions et diffusions les efforts ainsi déployés pour promouvoir la chimie dans un souci de juste appréciation, et jamais pour la défendre... Il y va de l'avenir de la chimie française. C'est votre responsabilité, à tous les échelons ! Et n'oubliez pas : **sans chimie, il n'y a pas d'avenir pour la planète !**

#### Les membres du Comité Ambition Chimie

Gilberte Chambaud (représentant l'Institut de chimie du CNRS), Michel Dirant (FGL), Henri Dugert (secrétaire général de la Fondation de la Maison de la Chimie), Gérard Férey (Académie des sciences), Philippe Goebel (président de l'UIC), Robert Guillaumont (président du CNC), Olivier Homolle (président de la SCF) et Maurice Leroy (président de la FFC).



#### Le mot de la rédactrice en chef

*L'Actualité Chimique*, revue de la Société Chimique de France, est le journal de tous les chimistes. Il est donc attendu, et important, qu'elle accueille dans ses colonnes leurs réflexions, leurs contributions, et se fasse l'écho de leurs souhaits et de leurs ambitions.

C'est ainsi que l'éditorial de ce numéro double relate la genèse et les actions du Comité Ambition Chimie, et qu'il est signé de ses membres.

Ce numéro est consacré pour l'essentiel aux biotechnologies, notamment blanches, dont on oublie trop souvent ce que la chimie leur a apporté et continue de leur apporter. Coordonné par nos collègues Jean Buendia et Jean-Marc Paris, il fait la part belle aux récents développements aussi bien industriels que conceptuels.

Mais on y parle aussi de diabète de type 2 et comment se construit et sur quels critères la synthèse industrielle d'un médicament, et s'y insère l'usage de micro-organisme(s) optimisé(s).

D'autres articles et chroniques vous attendent... et nous vous attendons pour instaurer un dialogue constructif avec l'équipe de rédaction.

**Rose Agnès Jacquesy**

#### Index des annonceurs

Alfa Aesar	p. 23	ICMUB	p. 9	OrigaLys ElectroChem	p. 6
BASF	4 <sup>e</sup> de couv.	ICPEES	p. 14	Pôle Chimie Balard	p. 3
Bayer	3 <sup>e</sup> de couv.	LCS ENSICAEN	p. 12	Vacuubrand	p. 55, 109
BioCIS	p. 13	Matériaux 2014	p. 41		
FedEx	2 <sup>e</sup> de couv.	Oméga Cat System	p. 5		



Régie publicitaire : EDIF, Le Clemenceau, 102 avenue Georges Clemenceau, 94700 Maisons-Alfort  
Tél. : 01 43 53 64 00 - Fax : 01 43 53 48 00 - edition@edif.fr - http://www.edif.fr



# PÔLE CHIMIE BALARD

## Une chimie au service de l'homme et de son environnement.

Les Universités Montpellier 1 et 2, l'Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Montpellier, le CNRS et le CEA unissent leurs compétences et savoir-faire en Formation, Recherche, et Transfert de technologies au sein du Pôle chimie Balard et autour de trois axes de développement :

- Énergie, matériaux et vecteurs,
- Valorisation des ressources naturelles et procédés de la chimie durable,
- Santé et protection de l'homme.

Une offre de formation variée tournée vers la recherche, l'innovation et les entreprises : Universités, Ecoles d'Ingénieurs, Ecole Doctorale.

Une recherche développant les outils d'une chimie nouvelle, durable, économe en atomes et en énergie : Fédération de Recherche CNRS 3105, Institut des Biomolécules Max Mousseron (IBMM), Institut Charles Gerhardt de Montpellier (ICGM), Institut Européen des Membranes (IEM) et Institut de Chimie Séparative de Marcoule (ICSM).

Une pratique forte du partenariat industriel au bénéfice de la Société : Institut Carnot CED2 (Chimie, Environnement et Développement Durable), et ChemSuD (Chemistry for a Sustainable Development).



### Pôle chimie Balard

ENSCM Villa Balard  
8, rue de l'Ecole Normale  
34296 Montpellier cedex 5

Tel : +33 (0)4 67 14 72 70

[contact@polechimie-balard.fr](mailto:contact@polechimie-balard.fr)

### Chiffres clés

- 300 chercheurs et enseignants-chercheurs, 150 ingénieurs et techniciens, plus de 300 visiteurs, post doctorants et doctorants
- 1 700 étudiants (LMD)
- Fédération de Recherche CNRS - FR 3105
- 600 publications de rang A / an
- 30 brevets internationaux / an
- Contrats partenariaux : 8 millions d'euros / an
- Fondation Universitaire
- LabEx CheMISys
- Institut Carnot CED2
- Plateau d'analyse et de caractérisation

# [www.polechimie-balard.fr](http://www.polechimie-balard.fr)

Pôle d'Excellence de l'Université Montpellier Sud de France



<b>Éditorial</b>	<b>1</b>
L'ambition de la chimie, par <b>le Comité Ambition Chimie</b>	1
<b>Clin d'œil étymologique</b>	<b>7</b>
À propos de la fuchsine, par <b>P. Avenas</b>	7
<b>Chroniques</b>	<b>8</b>
Les algocarburants, de nouveaux diesels miracles ?, par <b>J.-C. Bernier</b>	8
<b>À propos de</b>	<b>10</b>
Le réseau fédératif des laboratoires de RMN à très hauts champs : une initiative qui porte ses fruits, par <b>R.A. Jacquesy</b>	10
<b>Biotechnologies et chimie : nouveaux développements</b>	<b>13-73</b>
<b>Recherche et développement</b>	<b>74</b>
<i>Le dossier</i> - Dipeptidyl peptidase-4 et Januvia® : un duo gagnant contre le diabète de type 2, par <b>W. Erb</b> et <b>N. Abermil</b>	74
Les polymères biodégradables et biosourcés : des matériaux pour un futur durable, par <b>L. Avérous</b>	83
La recherche de mécanismes en chimie théorique, par <b>N. Chéron, J.-F. Le Maréchal</b> et <b>P. Fleurat-Lessard</b>	91
<b>Enseignement et formation</b>	<b>98</b>
<i>Les travaux pratiques</i> Un champ de fouille dans un laboratoire... : initiation à la chimie du patrimoine, par <b>X. Bataille, C. Bazot, R. Galera</b> et <b>M. Regert</b>	98
<b>Histoire de la chimie</b>	<b>104</b>
Le développement des idées sur la combustion catalytique sans flamme au XIX <sup>e</sup> siècle, par <b>H. Batis</b>	104
Gustave Vavon (1884-1953) : la catalyse par le noir de platine en 1913 et les facteurs stériques en chimie organique, par <b>J. Fournier</b>	110
<b>Chimie et société</b>	<b>114</b>
La chimie part à la rencontre des collégiens : quelques exemples en Midi-Pyrénées, par <b>A. Roupioz</b>	114
<b>En bref</b>	<b>116</b>
<b>Livres et médias</b>	<b>120</b>
<b>Agenda</b>	<b>123</b>
<b>Actualités de la SCF</b>	<b>124</b>
<b>Un point sur</b>	<b>127</b>
Électronique imprimée grandes surfaces, par <b>D. Chaussy</b> et <b>D. Beneventi</b>	127



## Biotechnologies et chimie : nouveaux développements

13-73

Coordinateurs : Jean Buendia et Jean-Marc Paris

### Couverture :

En fond : *Fungus Ashbya* ; de haut en bas : le champignon *Aspergillus*, une « usine vivante » ; bactéries ; usine pilote de biotechnologies blanches, © BASF ; bioréacteur, © LISBP/Christelle Labruyere ; baies *in vitro* dans un laboratoire de biochimie, © Luigi Guarino/Wikimedia-CC-BY-2.0.

Conception graphique Mag Design - www.magdesign.info.

### Introduction

15

Les biotechnologies industrielles : résultats récents et perspectives, par **J. Buendia** et **J.-M. Paris**

15

Les biotechnologies blanches : révolution... ou évolution ?, par **P. Monsan**

17

### Biotechnologies industrielles et applications

24

L'ingénierie combinatoire des génomes : une clé pour la création de voies biosynthétiques artificielles, par **D. Pompon**, **T. Lautier**, **G. Truan** et **P. Urban**

24

La conception rationnelle de ferments biologiques : comment concevoir un micro-organisme pour produire un composé chimique spécifique, par **C. Pauthenier**, **P. Carbonell** et **J.-L. Faulon**

30

Industrial biotechnology at BASF: where chemistry and biology meet, par **M. Budde**, **M. Breuer** et **C. Petigny**

37

Biotechnologies et médicaments, par **A. Tartar**

42

### Bioraffineries et chimie du végétal

46

Introduction aux bioraffineries, par **D. Thomas** et **S. Octave**

46

La bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle, une plate-forme d'innovation ouverte au cœur d'un complexe agro-industriel, par **J.-M. Chauvet**, **F. Allais**, **Y. Le Hénaff**, **P.-A. Schieb** et **M.-A. Théoleyre**

49

La chimie du végétal et les nouveaux synthons accessibles par les biotechnologies, par **P. Colonna**

56

Déchets et biotechnologies, par **P. Pichat**

65

### Perspectives

68

Industrial biotechnology driving industrial competitiveness and sustainability: initiatives from the European Union, par **A. Aguilar**

68



**Solutions to improve your Olefin Metathesis**

11 allée de Beaulieu - CS 50 837  
35708 Rennes cedex 7  
contact@omcat-system.com  
Tél. 02 99 38 85 60

Innovation for a sustainable Olefin Metathesis

-  Innovation for a sustainable Olefin Metathesis
-  Library of Ru-Catalysts
-  Fast-Initiation Ru-Catalysts
-  Reusable Supported Ru-Catalysts
-  Fundamental or Applied Research Projects
-  Professional training



www.omega-cat-system.com

Origalys a été fondé il y a 3 ans à Lyon, par 4 ingénieurs issus de la R&D d'un constructeur français réputé de Potentiostat, Galvanostat et Impédancemètre (EIS). Le but de l'entreprise est de proposer au client des produits "design" sans compromis sur les performances, à un prix abordable avec un haut niveau de qualité et de service. Venez découvrir : **OrigaFlex**, une gamme complète d'innovants potentiostats multivoies (+/-20V, 100mA, 500mA, 1A, 5A) incluant un module d'impédance (EIS) 100µHz/5MHz et **OrigaStat** OGS080/100/200 avec son contrôleur de vitesse pour électrode tournante (RDE). N'hésitez pas à demander une démonstration pour découvrir la puissance et la flexibilité de nos logiciels PC "OrigaMaster" et "OrigaViewer (dédié aux multivoies et architecturé autour d'une base de données)". Origalys produit aussi des électrodes tournantes et des embouts ainsi qu'une gamme complète d'accessoires, d'électrodes de verre et de cellules d'analyse. **Visitez notre site web : [www.origalys.com](http://www.origalys.com)**

**IDEAL pour le LABORATOIRE**



**OrigaStat : OGS080/100/200**  
**Potentiostat/Galvanostat/FRA**  
**100mA & 17.5V / 2A & 35V**

**Construisez votre**  
**MultiVoies** suivant vos  
**BESOINS**



**OrigaFlex**  
**OGF100/500/01A/05A/5MHz(EIS)**  
**Potentiostat/Galvanostat/FRA**

**IDEAL pour le TERRAIN**

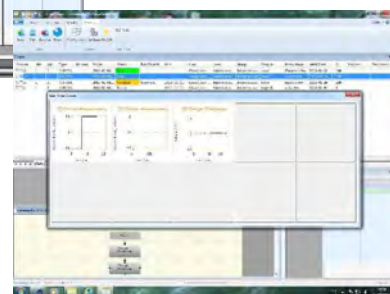


**LandStat : 1 ou 2 voies**  
**avec ou sans FRA 5MHz**  
**100mA & 17.5V**

**FACILE A UTILISER**  
**LOGICIELS PC**  
**OrigaMaster & OrigaViewer**



**OrigaMaster :**  
**Monovoie**



**OrigaViewer :**  
**Multivoies**

**Origalys ElectroChem SAS**

**Une démonstration ?**  
**Une question ?**

**Contactez Mme Tekaya**  
**notre ingénieur Cial**  
 ☎ **+33 (0)6 11 90 10 65**

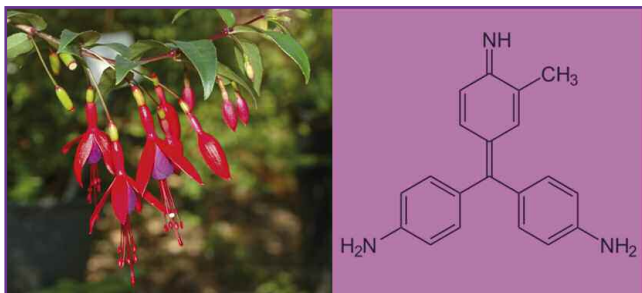
**Pépinière CAP NORD**  
**28, avenue Gal Leclerc**  
**69140 RILLIEUX-la-PAPE**  
**LYON - FRANCE**  
 ☎ **+33 (0)9 54 17 56 03**  
 📠 **+33 (0)9 59 17 56 03**





## À propos de la fuchsine

L'histoire de ce colorant industriel [1] commence avec les travaux du chimiste lyonnais François Verguin (1806-1865), qui dépose en 1858 un premier brevet pour la fabrication d'une matière colorante violette par oxydation au bichromate d'un mélange d'aniline et d'autres composés aminés. Mais Verguin vend rapidement son brevet aux frères Renard, teinturiers à Lyon, qui modifient le procédé avec le chlorure d'étain comme oxydant et déposent le brevet du 8 avril 1859 pour la « *Préparation et emploi de la Fuchsine, nouvelle matière colorante rouge* ». Le nom *fuchsine* apparaît donc pour la première fois dans ce brevet, où les auteurs précisent : « *Nous désignons cette matière sous le nom de Fuchsine à cause de sa ressemblance à la couleur de la fleur du Fuchsia* ».



Flleurs de *fuchsia* et molécule de fuchsine sur fond de couleur fuchsia.  
Flleurs de *fuchsia* : © André Karwath aka/Wikimedia-CC-BY-SA-2.5.

On ne peut pas être plus clair. Il est même rare que l'on dispose d'une preuve aussi explicite de l'origine d'un nom, et malgré cela, un certain nombre d'ouvrages présentent l'étymologie de *fuchsine* comme incertaine.

### Une double origine ?

On lit dans la dernière édition du *Dictionnaire de l'Académie française* que *fuchsine* vient probablement de *fuchsia*, et dans le *Trésor de la Langue Française* que *fuchsine* vient soit de *fuchsia*, soit de *Fuchs*, le nom des frères Renard en allemand. Pourtant, à la lecture du brevet de 1859, dont tous les mots ont sûrement été pesés, il apparaît bien que *fuchsine* dérive de manière certaine de *fuchsia*. Cependant, il est non moins certain que les frères Renard n'ont pas pu envisager, puis décider, d'adopter ce nom commercial de *fuchsine* sans penser à un moment ou à un autre au rapprochement que l'on ne manquerait pas de faire avec leur propre nom en allemand, d'autant plus que la chimie allemande occupait déjà à cette époque une place de premier plan.

En conclusion, le nom *fuchsine* découle explicitement de *fuchsia*, mais il rappelle aussi, implicitement, le nom des détenteurs du brevet. On peut se demander en effet si les frères Renard n'ont pas cherché, par le choix de *fuchsine*, même motivé par la couleur, une manière de marquer en même temps leur propriété sur une innovation issue des travaux de Verguin.

### Renard y es-tu ?

Le nom de cet animal est sous-jacent dans *fuchsia*, nom créé en 1703 en l'honneur de l'illustre botaniste allemand Leonhart *Fuchs*, dont le patronyme rappelle quelque lointain ancêtre, comparé pour une raison ou une autre à un renard. On s'explique de la même façon l'existence des noms de familles *Fox* (« renard » en anglais) et *Vos* (« renard » en néerlandais), ou *Devos*, qui signifie « le renard ». En revanche, et cela semble paradoxal, le plus probable est que le nom des frères *Renard* ne provienne pas du nom de l'animal.

En effet, l'équivalent de *Fuchs*, *Fox* ou *Devos* dans les noms français est plutôt *Goupil*, ou *Legoupil*, où l'on reconnaît *goupil* (du latin *vulpiculus*, diminutif de *vulpes* « renard »), le nom du renard en ancien français, qui prévalait dans la période où se formaient les premiers noms de famille. C'est seulement à la suite de l'immense



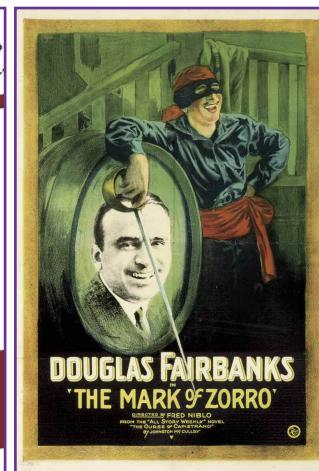
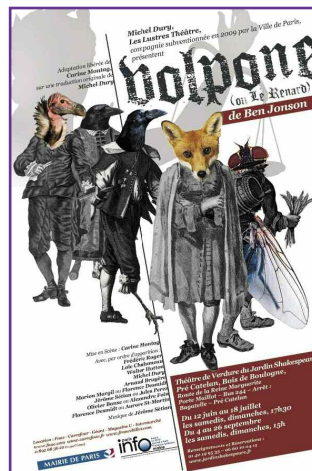
Renard, jadis un *goupil*, est devenu un *renard*.  
©Frithjof Spangenberg/  
Wikimedia-CC-BY-SA-2.5.

succès populaire du *Roman de Renart* au XII<sup>e</sup> siècle que le nom *renart*, puis *renard* a supplanté progressivement *goupil* dans la langue française.

Il en résulte que *Renard*, encore présent parmi les cent noms de famille les plus fréquents en France, est le plus souvent le nom qui existait avant le XII<sup>e</sup> siècle, et plus rarement le nom de l'animal, pour des noms de famille de formation plus récente. Autrement dit, c'est le nom que portaient les frères Renard qui aurait été donné à l'animal, plutôt que l'inverse !

### Un nom prometteur

L'étymologie consistant à remonter le plus loin possible dans l'histoire des mots, on peut s'interroger maintenant sur l'origine du nom *Renard* lui-même : il fait partie de tous ces noms français d'origine germanique (souvent franque) qui ont été des noms de baptême fréquents à partir du IX<sup>e</sup> siècle. Ces noms sont en général formés sur deux racines germaniques : ainsi *Renard*, en latin médiéval *Raginardus*, est formé sur les racines *ragin* « conseil, avis » et *hard* « dur, fort » (cf. les noms en *-ard*, évoquant la force, d'un *ours* pour *Bernard*, d'un *sanglier* pour *Evrard*, d'un *lion* pour *Léonard*...). *Renard* évoque donc « fort en conseil », c'est-à-dire fûté, astucieux, et il n'est pas étonnant que les auteurs du *Roman de Renart* aient nommé ainsi leur héros, le goupil. C'est par la démarche inverse que, beaucoup plus tard, on donnera à *Volpone* le nom du vieux renard en italien et à *Zorro* le nom du renard en espagnol [2].



*Volpone*, créé en 1606 par Ben Jonson, et *Zorro*, créé en 1919 par Johnston McCulley, avec le renard dans leurs noms, sont les successeurs lointains du héros du *Roman de Renart*.

En conclusion, le nom de la *fuchsine* est lié avec certitude à la couleur du *fuchsia*, et il rappelle sans doute aussi le nom de ses inventeurs, *Renard*, qui, si l'on va jusqu'au bout de l'étymologie, évoque en outre toute l'astuce et l'ingéniosité qu'il a fallu déployer pour mettre au point et développer ce produit, utilisé aujourd'hui principalement comme réactif coloré en biologie.

[1] Chastrette M., La découverte de la fuchsine, *L'Act. Chim.*, 2009, 333, p. 48.

[2] Walter H., Avenas P., *L'étonnante histoire des noms des mammifères, de la musaraigne étrusque à la baleine bleue*, Robert Laffont, 2003.



**Pierre Avenas** a été directeur de la R & D dans l'industrie chimique.  
Courriel : pier.avenas@orange.fr

## Les algocarburants, de nouveaux diesels miracles ?

Depuis quelques mois, les milieux financiers américains bruissent de rumeurs invitant l'investissement sur un nouvel « or vert » : les biocarburants de 3<sup>e</sup> génération, des huiles obtenues grâce aux microalgues. Les compagnies Sapphire Energy et Greenfuel Technologies ont ainsi attiré près d'une centaine de millions de dollars. L'espagnol BFS (Bio Fuel Systems) développe ses photoréacteurs et de grandes sociétés telles que Schell, Total et Linde s'intéressent fortement à la filière ou prennent des participations dans les sociétés de bio-ingénierie. La Navy, après un essai réussi, envisage d'utiliser des centaines de milliers de litres d'« algae fuels » et Boeing a déjà programmé des vols d'essais.

### De quoi s'agit-il exactement ?

Les microalgues ont une biodiversité très large, des cyanobactéries aux algues vertes ou chlorophyllées. La biosynthèse s'effectue d'abord dans les chloroplastes ; lorsque les cellules rencontrent des conditions de culture difficiles, elles accumulent des réserves comme des lipides formées à partir de sucres grâce à la photosynthèse. Après modification, trois acides gras se combinent avec le glycérol pour former des triglycérides qui sont stockés dans le cytoplasme et le chloroplaste (figure 1). Le point important pour l'exploitation de ces huiles comme biodiesel est la longueur des chaînes carbonées et le nombre de doubles liaisons C=C ; d'où une sélection très pointue parmi les 200 000 à 1 million d'algues existant sur la planète pour trouver l'espèce qui fournit des huiles *ad hoc* sans avoir recours à une carence nutritive qui en diminue la productivité. C'est donc la recherche de souches pouvant être

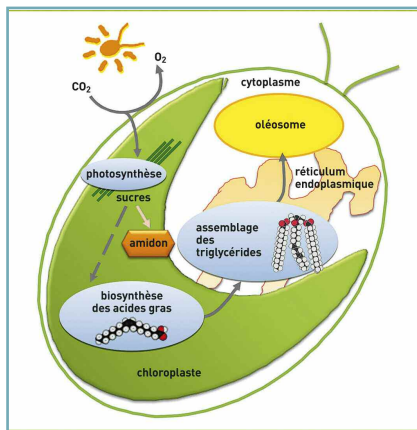


Figure 1 - Cellule de microalgue.  
© Clefs CEA n° 61, printemps 2013, p. 50.  
[www.cea.fr/energie/les-energies-bas-carbone](http://www.cea.fr/energie/les-energies-bas-carbone)

cultivées industriellement, par des campagnes de prélèvements lors de missions océanographiques, puis leur sélection en laboratoire par criblage à haut débit ou séquençage et mutations génétiques pour optimiser la production lipidique et la reproduction cellulaire.

Le concept de départ est très séduisant : on sait que le phytoplancton fixe près de la moitié du CO<sub>2</sub> sur la planète.

Le rendement, bien que restant dépendant de la photosynthèse, est nettement supérieur à celui des plantes terrestres. De plus, certains de ces micro-organismes se multiplient par mitose toutes les 24 heures et forment de la biomasse rien qu'avec de la lumière, de l'eau et du CO<sub>2</sub>. Dans l'eau de mer, la concentration cellulaire est de 100 à 300 cellules par mL ; en milieu d'élevage, on peut atteindre quelques centaines de millions par mL, d'où un rendement espéré qui fait rêver, à défaut du cœur, tous les portefeuilles des pétroliers !

Pour passer du rêve à la réalité, il existe deux procédés principaux à l'échelle industrielle :

- La culture en bassin ouvert – « Raceway » en anglais, car les bassins ont la forme d'un champ de course en boucle, ouvert sur l'extérieur –, où les algues en culture circulent sous l'action d'une roue à aubes. Ces structures sont peu coûteuses, mais les fortes variations d'intensité lumineuse (la nuit par exemple) ont un impact négatif sur la croissance des cellules, provoquant l'autoconsommation des lipides, et le CO<sub>2</sub> de l'atmosphère reste à une faible concentration.

- La culture en bioréacteurs, où les algues circulent entre un réservoir et un réseau de tubes transparents (en polycarbonate) qui laissent entrer la lumière. Un flux turbulent est maintenu dans le circuit par une pompe, ce qui évite la sédimentation des algues, et on peut y injecter du CO<sub>2</sub> de façon contrôlée, maîtriser la température, le pH et la concentration, et dégazer l'oxygène formé.

Dans les deux procédés, il faut récupérer la biomasse, la sécher, puis en extraire les huiles. Diverses méthodes sont employées :

- la floculation, ou la flottation en bassin, ou la filtration en milieu réacteur ;
- le séchage par pression ou centrifugation, puis traitement par air sec ;
- l'extraction des huiles par sonification, pressage, ou par solvants tels que

l'hexane ou des fluides supercritiques comme le CO<sub>2</sub>.

Suivant les espèces d'algues sélectionnées, les huiles obtenues ne sont pas utilisables telles quelles comme carburant selon les normes européennes ou américaines pour être mélangées au gasoil. Il faut donc leur faire subir des transformations chimiques bien connues : une transestérification avec le méthanol, ou une hydrogénation catalytique.

### Quel avenir pour ces biocarburants de 3<sup>e</sup> génération ?

Il y a d'incontestables points positifs à la production d'huiles par les microalgues :

- elle ne fait pas concurrence aux cultures vivrières comme celles de 1<sup>ère</sup> génération ;
- le rendement en biomasse est 20 à 60 fois supérieur à celui de la culture des oléagineux et demande donc bien moins de surface d'emprise ;
- les installations de photobioréacteurs peuvent être implantées près de centrales à charbon ou de cimenteries pour transformer les fumées en biomasse avec un rendement honorable (1 kg biomasse/1,8 kg CO<sub>2</sub>) ;
- on peut alimenter les bassins en eau de mer ou même en eaux usées riches en nutriments pour les algues ;
- les résidus après extraction de l'huile peuvent être valorisés pour l'alimentation du bétail ou les cosmétiques et contiennent même parfois des « oméga 3 ».

Ce tableau idyllique dressé par les start-up ou instituts en mal de financement cache cependant quelques problèmes. L'extrapolation industrielle de la culture de souches sélectionnées en laboratoire n'est pas un long fleuve tranquille. Pour la culture en bassin ouvert, seules les zones et pays disposant d'un fort ensoleillement et d'une température moyenne comprise entre 20 et 30 °C peuvent être candidats, avec cependant un bémol, celui d'une forte baisse de rendement inévitable la nuit. L'implantation dans les zones désertiques doit faire face à une forte évaporation et au manque de sources de CO<sub>2</sub> de proximité. L'implantation de plates-formes avec des photobioréacteurs résout partiellement ces problèmes, à condition d'avoir un éclairage additionnel la nuit et une régulation de température qui, avec la circulation du milieu

de culture par pompe accélératrice, dépendent de l'énergie. Le séchage de la biomasse, le pressage, l'extraction par solvants et la transformation par réactions chimiques nécessitent également pas mal d'énergie. Une étude de 2010 du Lawrence Berkeley National Laboratory chiffrait entre 200 et 300 \$ le baril d'huile issu de la filière des microalgues. Des évaluations plus récentes menées sur des installations à plus grandes échelles chiffrent le litre entre 2 et 3 €.

Cela n'empêche pas qu'à la suite de Sapphire qui a installé une grande ferme sur 12 ha dans le désert du Nouveau Mexique (figure 2), de nouveaux investisseurs bâtissent d'autres fermes en Australie, en Israël, en Californie et en Floride. En Espagne, BFS développe des prototypes de plates-formes de photobioréacteurs près des sources industrielles de CO<sub>2</sub>. Et en France, que se passe-t-il ? Dès les années 1980, le CEA avait initié ces recherches et les poursuit en biologie et génie des procédés. Le programme national Shamash a regroupé de 2006 à 2009 plusieurs laboratoires du CNRS

et d'Ifremer sous l'égide de l'INRIA, avec comme partenaires PSA et EADS. Le projet Salinalgue, qui vise à utiliser les anciens marais salants près de Narbonne, regroupe un consortium, avec GDF Suez et Air Liquide notamment. De jeunes sociétés exploitent des modèles de photobioréacteurs : Fermentalg à Libourne, qui vise plutôt des molécules à haute valeur ajoutée, et Acta Alga près de Nantes qui, avec le support d'Ifremer, exploite un brevet original de photoréacteur disposant de panneaux photovoltaïques, sources d'éclairage des algues la nuit.

Il est clair qu'avant de passer de la plage à la pompe, plusieurs défis restent à surmonter : des souches de microalgues robustes, des conditions de cultures industrielles optimisées, des procédés de séparation eau/biomasse économes en énergie, la valorisation des coproduits, et enfin, comme ce sera une industrie capitaliste : la recherche de gros investisseurs !

Les experts voient déboucher des biodiesels issus de cette filière vers les années 2020-2030. Ce qui est super



Figure 2 - Ferme de culture de microalgues à Columbus, Nouveau Mexique (© Sapphire Energy).

rapide pour que les protozoaires sauvent à nouveau la planète quant on sait qu'il a fallu environ 100 millions d'années aux cyanobactéries (aidées par la précipitation des carbonates) pour passer d'une atmosphère de CO<sub>2</sub> à la valeur actuelle de notre bonne vieille Terre.



Jean-Claude Bernier,  
le 15 mai 2013



## Institut de Chimie Moléculaire de l'Université de Bourgogne - CNRS UMR 5260

### UNE INGÉNIERIE MOLÉCULAIRE

Synthèse organique – Chimie organométallique – Chimie de coordination – Catalyse et chimie fine – Chimie des gaz – Matériaux hybrides – Polymères – Electrochimie

### DES ENJEUX SOCIÉTAUX

#### ■ CHIMIE POUR UN DÉVELOPPEMENT DURABLE

Procédés catalytiques – Synthèses économiques en atomes – Décontamination de milieux pollués – Détection, purification, stockage de gaz

#### ■ SANTÉ, IMAGERIE MÉDICALE, THÉRAPIE

Agents organométalliques anticancéreux – Capteurs biomédicaux – Marquage de vecteurs biologiques – Imagerie multimodale – Théranostiques

### NOTRE PLATEFORME TECHNOLOGIQUE CERTIFIÉE

#### Pôle Chimie Moléculaire



**Welience**  
Innovate, c'est notre métier  
www.welience.com



Conseils - Expertises techniques - Partenariats - Sous-traitances  
RMN - Masse - IR - Raman - CHN - RX - Essais catalytiques  
Déterminations structurales - Analyses Physico-Chimiques

9 Avenue Alain Savary - BP 47870 - 21078 Dijon Cedex  
icmub.dir@u-bourgogne.fr - www.icmub.fr

ICMUB UMR 5260

# Le réseau fédératif des laboratoires de RMN à très hauts champs

## Une initiative qui porte ses fruits

Rose Agnès Jacquesy

**D**ominique Massiot (voir *encadré*) vient d'être nommé directeur de l'Institut de chimie du CNRS, occasion de revenir sur la Fédération des laboratoires de RMN à très hauts champs (TGIR-RMN-THC) dont il a été à l'origine et qu'il a dirigé.



© CNRS/Service audiovisuel PMA.

Directeur de recherche au CNRS depuis 1996, **Dominique Massiot** était jusqu'ici délégué scientifique en charge de l'interdisciplinarité à l'Institut de chimie du CNRS. Après l'École normale supérieure et une thèse en géochimie, il intègre le Centre de recherches sur les matériaux à hautes températures (CR-MHT) du CNRS à Orléans en 1984, où il crée l'activité RMN solide et haute température. En 2008, il fusionne ce laboratoire avec le Centre d'études et de recherches par irradiation (CERI) pour fonder le laboratoire Conditions extrêmes et matériaux : haute température et irradiation (CEMHTI) du CNRS, qu'il dirige depuis.

Il conduit des développements à la fois expérimentaux et méthodologiques : nouvelles méthodes de RMN solide, logiciels de traitement de spectres de RMN, valorisation de cette expertise dans des applications à des problématiques académiques et industrielles sur une très large gamme de matériaux (verres et liquides silicatés, céramiques, sels fondus, hybrides, nanomatériaux, matériaux sol-gel, biomatériaux et matériaux biocompatibles, matériaux pour l'énergie).

En 2007, il participe à la création de la Fédération des laboratoires de RMN à très hauts champs (TGIR-RMN-THC), qu'il dirige ensuite jusqu'à sa nomination comme directeur de l'Institut de chimie du CNRS cette année.

Dominique Massiot est co-auteur de 235 publications et à l'origine de quatre brevets. Il a reçu la Médaille d'argent du CNRS en 2003.

Cette structure originale, qui entre dans le cadre des « Très Grandes Infrastructures de Recherche » (TGIR) du CNRS et du Ministère de la Recherche, a pour objectif de mutualiser RMN et compétences associées. Ouvert à la communauté scientifique sur appel à projets, il héberge les appareils aux champs les plus élevés actuellement disponibles commercialement. Rappelons que *L'Actualité Chimique* avait pris l'initiative de publier un numéro double en juin-juillet-août 2012 sur la RMN en chimie, dans lequel on trouve d'ailleurs un article cosigné par Dominique Massiot [1].

Le TGIR (Fédération de Recherche FR 3050 [2]) est décentralisé sur six sites – CBMN-IECB (Bordeaux), CEMHT

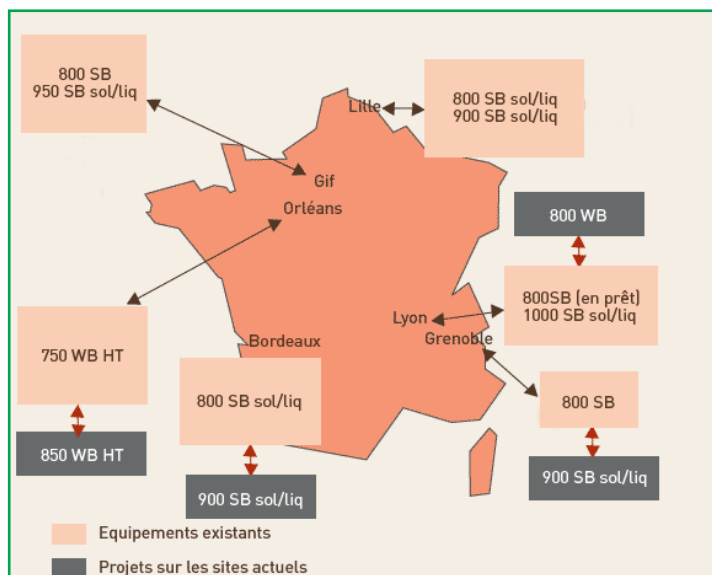
(Orléans), IBS (Grenoble), ICSN (Gif-sur-Yvette), ISA (Lyon), et UCCS et UGSF (Lille) –, auxquels s'est ajouté tout récemment un septième site, dit de la montagne Sainte-Geneviève (ENS Paris) (voir *tableau* et *carte*). L'utilisation de champs magnétiques de plus en plus intenses (jusqu'à 1 GHz et plus) et de vitesses de rotation à l'angle magique de plus en plus élevées ouvre des perspectives originales en recherche, voire permet d'aborder de nouveaux domaines d'investigation.

Les thèmes abordés sont multiples :

- caractérisation de petites molécules en solution, permettant notamment une approche nouvelle des mécanismes de la réaction chimique ;
- détermination de la structure et de la dynamique des protéines et des macromolécules en solution, et ses développements en biologie structurale ;
- développement de l'imagerie par RMN à très hauts champs et ses applications en diagnostic ;
- structure et dynamique des membranes biologiques, comme la fluidité membranaire, y compris sur des systèmes « vivants » (ex : croissance et division cellulaire) ;
- analyse et diagnostics structuraux des milieux désordonnés (verres, amorphes, gels) ou mal cristallisés, nanomatériaux et matériaux hybrides ;
- caractérisation de surfaces et d'interfaces, et ses applications en termes de réactivité, de catalyse, de greffage ;

• structure des milieux fondus à haute température (jusqu'à 2 000 °C et plus) pour l'étude des matériaux de grande diffusion et les filières énergétiques nouvelles.

Dans le courant de cette année, le réseau s'enrichira d'un 800 MHz au LBM-ENS – spectroscopie, imagerie, polarisation dynamique nucléaire (DNP) – et l'IBS à Grenoble sera doté d'un 950 MHz. De plus, le 800 MHz de l'ISA à Lyon sera équipé d'un gyrotron à 527 MHz, l'un des tous premiers au monde, afin de réaliser des études de DNP à très haut champ sur des matériaux et des composés biologiques (biologie structurale en phase solide).



### Laboratoires du très grand équipement (TGE).

Cette carte présente la répartition géographique des sites du TGE. Seuls les spectromètres dont la fréquence est supérieure ou égale à 750 MHz entrent dans le TGE. © CNRS.

Qualité des équipes, toutes reconnues internationalement, et qualité exceptionnelle des équipements sont heureusement corrélées. Dans le cadre de la campagne de projets « Investissements d'avenir » **Equipex 2010**, toutes les propositions soutenues par le réseau ont été financées. Un projet commun de RMN à 1,2 GHz, présenté en 2011, n'a pas été retenu mais reste un projet phare qui continuera à être porté par le TGIR-RMN-THC : avec 20 % de gain en champ sur l'existant, il ouvrira des perspectives tout à fait



Le spectromètre RMN à 1 GHz (aimant de 23,5 T), déjà installé à Lyon, est unique au monde.

Cet aimant de 12 t, haut de 4,5 m, est utilisé par la communauté française et internationale pour étudier des échantillons millimétriques à l'aide de détecteurs cryogéniques. L'instrumentation est spectaculaire, mais les enjeux aussi (voir l'article de Dimitrios Sakellariou dans le numéro spécial RMN, *L'Act. Chim.*, 2012, 364-365, p. 117). © CRMN.

nouvelles en recherche et implique le développement d'aimants hybrides mettant en œuvre des supraconducteurs à haute température critique. À noter qu'actuellement en Europe, et inspirés par la France, cinq projets de ce type sont nés en Allemagne (2), Italie, Suisse, Royaume-Uni et Pays-Bas.

### Les équipes de la Fédération et les équipements existants.

\* coordonnées sur le site [www.tgermn.cnrs-orleans.fr](http://www.tgermn.cnrs-orleans.fr)

DNP : polarisation dynamique nucléaire ; HRMAS : « high-resolution magic-angle spinning », haute résolution sous rotation à l'angle magique ; SB : « standard bore » ; WB : « wide bore ».

Source : [www.tgermn.cnrs-orleans.fr](http://www.tgermn.cnrs-orleans.fr)

Laboratoire		Spectromètre	Responsable Correspondant*
<b>CBMN-IECB</b> (Chimie et biologie des membranes et des nanoobjets-Institut européen de chimie et biologie)	Bordeaux	<b>Liquide/Solide orienté</b> 800 MHz SB [liquide, accessoire solide]	Erick Dufourc Axelle Grélard
<b>CEMHTI</b> (Conditions extrêmes et matériaux : haute température et irradiation)	Orléans	<b>Matériaux/Chimie du solide</b> 750 MHz WB [solide, température, imagerie] 850 MHz WB [solide]	Franck Fayon Pierre Florian
<b>CRMN, ISA-RMN</b> (Centre de résonance magnétique nucléaire à très hauts champs, Institut des sciences analytiques)	Lyon	<b>Solide/Liquide</b> 1 GHz SB [liquide, solide] 800 MHz SB [liquide, solide] [DNP] courant 2013	Lyndon Emsley Bénédicte Elena
<b>IBS</b> (Institut de biologie structurale)	Grenoble	<b>Liquide</b> 800 MHz SB [liquide] 950 MHz courant 2013	Bernhard Brutscher Adrien Favier
<b>ICSN</b> (Institut de chimie des substances naturelles)	Gif-sur-Yvette	<b>Liquide</b> 950 MHz SB [liquide-cryosonde]	Éric Guittet Nelly Morellet
<b>LBM-ENS</b> (Laboratoire des biomolécules-École normale supérieure)	Paris	800 MHz [liquide, imagerie, DNP] courant 2013	Geoffroy Bodenhausen
<b>UCCS-UGSF</b> (Unité de catalyse et chimie du solide-Unité de glycobiologie structurale et fonctionnelle)	Lille	<b>Liquide/Solide/HRMAS</b> 900 MHz SB [liquide-cryosonde, solide] 800 MHz SB [liquide, HRMAS, solide]	Guy Lippens Julien Trébosc

### Le mode de fonctionnement du réseau

La gouvernance de l'infrastructure se compose d'un comité de pilotage (Copil), d'un comité de direction et d'un conseil scientifique, présidé par Michel van der Rest. Les projets soumis sont examinés par un comité d'experts. Les demandes d'expérience sont déposées électroniquement et traitées immédiatement. Pour cela, il est possible de prendre contact avec les correspondants des laboratoires pour plus d'information et/ou pour une aide à la mise au point des propositions d'expériences. Une fiche standard est téléchargeable sur le site [2].

Soit directement, soit au travers de leurs partenariats académiques, au premier rang desquels on trouve le CNRS, suivi du CEA puis de l'INSERM et de l'INRA, des Universités et des Grandes écoles, les structures industrielles peuvent bénéficier des opportunités offertes par le réseau. Des relations existent d'ailleurs avec plusieurs pôles de compétitivité, des structures de valorisation et divers industriels. Plusieurs brevets sont issus de cette valorisation.

Les acteurs du TGIR-RMN-THC jouent un rôle important dans les actions de formation (écoles thématiques notamment) comme d'animation scientifique, et de nombreuses thèses ont été et sont soutenues dans les laboratoires du réseau.

L'équilibre entre chimie et biologie-médecine est assez bien respecté, sauf à l'ICSN qui affiche 3 % de chimie (mais qui doit considérer comme biologie l'essentiel de son activité de recherche !) et Orléans qui ne déclare que 6 % de biologie (les matériaux et la géologie sont comptés à part entière dans la chimie).

Cette initiative de l'Institut de chimie du CNRS est en tout point exemplaire : elle a permis de structurer une communauté de compétences, remarquables mais dispersées en termes de domaines de recherche et d'applications, et de lui donner une visibilité qui place la France au premier rang mondial. Elle a permis de justifier la mise en place d'un ensemble d'équipements de tout premier ordre, en attendant la conception et l'installation d'un 1,2 MHz, le Graal (actuel) des RMNistes. La recherche, chimique bien sûr, mais également biologique, géologique, et les domaines connexes comme la physique et les mathématiques, en est grandie par la vision qu'elle donne non plus d'un « PoP » (« *publish or perish* ») justifiant tous les égocentristes, voire tous des dérapages, mais d'une approche privilégiant un « *Tast* » (« *Tous au service de tous* »). Philosophie dont la science a grand besoin en ces périodes récriminatoires !

- [1] Babonneau F. *et coll.*, Les spins nucléaires : des espions pour explorer la structure des matériaux, *L'Act. Chim.*, **2012**, 364-365, N° spécial « Danses avec les spins – La résonance magnétique nucléaire en chimie », L. Emsley, S. Caldarelli, J.-N. Dumez (coord.), p. 73.  
[2] [www.tgir-rmn.org](http://www.tgir-rmn.org)



**Rose Agnès Jacquesy**

est rédactrice en chef de *L'Actualité Chimique*\*.

\* Courriel : [redac-chef@lactualitechimique.org](mailto:redac-chef@lactualitechimique.org)



Laboratoire Catalyse  
et Spectrochimie

[www-lcs.ensicaen.fr](http://www-lcs.ensicaen.fr)

Le Laboratoire Catalyse et Spectrochimie prépare, étudie et évalue des catalyseurs hétérogènes dans le domaine de l'environnement et du développement durable. Le LCS est réputé pour la spectroscopie operando du catalyseur et pour la conception et la préparation des nanomatériaux poreux. Avec un pôle très fort en spectroscopie infrarouge (*in situ et operando*, avec des résolutions spatiale et temporelle inégalées), mais aussi en RMN et en spectroscopie Raman, le LCS occupe une place unique dans les domaines de la dépollution automobile (catalyseurs d'échappement), de la production d'énergie (raffinage, biocarburants) et des bio-ressources. A travers la cellule de prestations Valoris, le LCS fournit des solutions aux entreprises.

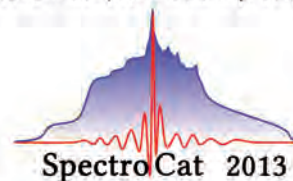
### SPECTROCAT2013 à Caen du 9 au 13 septembre 2013

Ecole de formation par le leader mondial du domaine

Analyse par spectroscopie vibrationnelle des solides divisés pour identifier et quantifier les sites de surface et leurs fonctionnalités.

Apprendre l'état de l'art des connaissances, l'approche méthodologique unique du LCS et les développements les plus récents.

Cours théoriques le matin, formations pratiques l'après midi.



*Les méthodes spectroscopiques sont des outils essentiels pour la compréhension du fonctionnement des catalyseurs à l'échelle moléculaire et le développement de nouveaux matériaux, plus performants et durables. Des développements récents, comme la caractérisation durant la réaction (operando), le couplage multi-techniques, la création de nouvelles cellules-réacteurs et l'apport du génie chimique aux calculs de l'écoulement des gaz dans les milieux ont conduit à des avancées significatives dans le domaine de la catalyse et de l'adsorption (capteurs, membranes,..).*

Implantée dans l'une des meilleures universités scientifiques françaises et forte de ses 90 titulaires et contractuels, l'unité BioCIS (UMR CNRS 8076) possède une expertise de recherche dans le domaine de l'innovation thérapeutique. Ses axes de recherche reposent sur un savoir-faire internationalement reconnu en chimie des substances naturelles, pharmacochimie et méthodologie de synthèse, dans un contexte de chimie éco-respectueuse.

**Laboratoire BioCIS - UMR 8076**

Dr Bruno FIGADÈRE - Directeur de l'UMR

Faculté de pharmacie

5, rue J.-B. Clément

92290 CHÂTENAY-MALABRY

Tél. : +33 (0)1 46 83 55 90

Fax : +33 (0)1 46 83 53 99

http://www.biocis.u-psud.fr

**DES ÉQUIPES D'ACCUEIL**

Unité support pour le Master

Chimie Pharmaceutique

de l'Université Paris-Sud

Plus de 30 doctorants,

stagiaires de masters ou

licences accueillis chaque année

**DES SERVICES D'ANALYSE**

Appareils de RMN,

CLHP couplées UV, DEDL,

SM, SMHR, SM-SMHR

Chromatographie préparative

(CLHP, CPC)

**Modélisation moléculaire**

**Chimiothèque**

**Chimie non conventionnelle**

(ultra-haute pression, micro-ondes)

**DES COLLABORATIONS**

**NATIONALES ET INTERNATIONALES**

Institut Galien, ICSN, ESPCI, ECOFOG

Institut Pasteur, Univ. Paris 5,

Univ. Rennes, Univ. Strasbourg ...

États-Unis, Côte d'Ivoire, Inde

Italie, Allemagne, Espagne, Brésil ...

Création d'un laboratoire

international (LIA) avec la

Chinese University

of Hong Kong (CUHK)

**MEMBRE DE L'IFR 141-IPSIT**

**ET DU LABEX LERMIT**

**Accès à des plateformes**

**technologiques**

Imagerie cellulaire

Transcriptomique - Protéomique

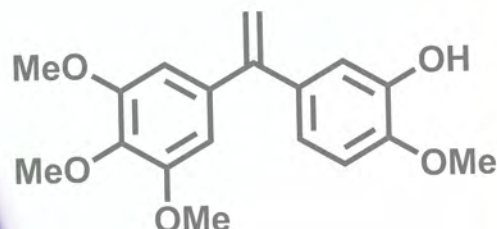
Spectrométrie de masse

Criblage moléculaire ...

**Pharmacognosie  
Chimie des  
substances naturelles**

Substances naturelles  
d'origine végétale,  
d'invertébrés marins,  
d'insectes

...

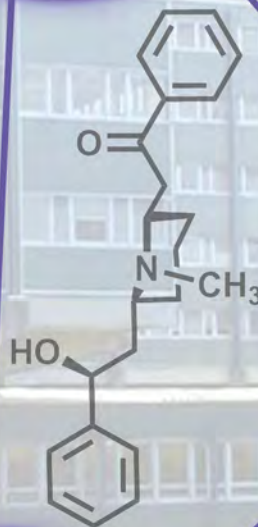
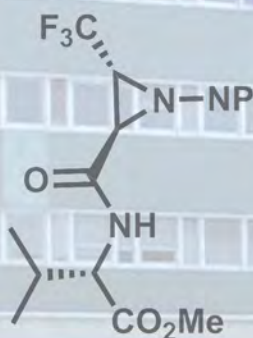


**DES THÉMATIQUES  
DE RECHERCHE  
EN POINTE**

**Pharmacochimie**

Anti-infectieux  
Antiparasitaires  
Antitumoraux  
Agents anti-MDR  
Neuroprotecteurs

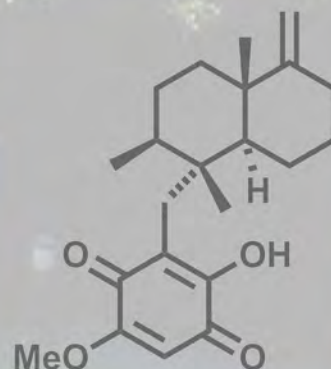
...



**Chimie  
Méthodologie de synthèse**

Synthèse asymétrique  
Stratégies biomimétiques  
Chimie organométallique  
Chimie du fluor  
Chimie «économique»

...



Financements : ANR, Medicen, AP-HP, Industries ...

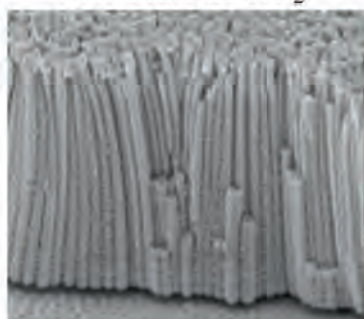
**Institut de Chimie et Procédés pour l'Énergie, l'Environnement et la Santé,  
UMR 7515 CNRS/Université de Strasbourg (<http://icpees.unistra.fr>)**

**Direction: Cuong PHAM-HUU, Dominique BEGIN, Guy SCHLATTER, Agnès ORB**  
Effectif: 37 C/EC, 22 ITA/BIATOS, 98 étudiants et CDD

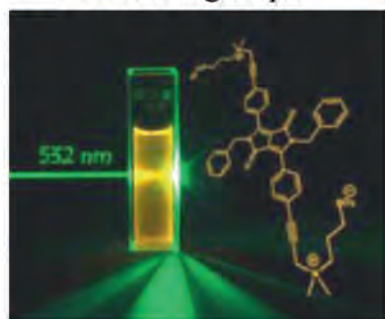
A la pointe des nouvelles technologies portant sur l'élaboration des matériaux et nano-matériaux innovants, l'Institut développe trois grands axes de recherche : le premier a trait à la chimie fonctionnelle, la spectroscopie et la réactivité, le deuxième concerne l'ingénierie des polymères et le troisième axe se focalise sur la catalyse et les procédés. La transversalité des équipes constituant l'Institut permet de traiter des problématiques globales allant de la synthèse des molécules à l'élaboration de l'objet final en fonction des applications visées, à savoir l'énergie, l'environnement et la santé. Dans le domaine de l'énergie, les recherches se concentrent sur la valorisation de la biomasse, la production de carburants synthétiques, la mise au point de piles à combustibles, l'élaboration de cellules photovoltaïques ou encore la production d'hydrogène. Les recherches portant sur les problèmes environnementaux concernent l'élaboration de biopolymères directement extraits des plantes ou synthétisés par voie enzymatique à partir de la biomasse permet, d'obtenir de nouveaux biomatériaux. Des matériaux (photo)catalytiques développés interviendront également dans les processus de combustion et de dépollution des effluents. Ces processus sont couplés avec les analyses fines des polluants dans l'atmosphère et leur impact sur la qualité de l'air intérieur mais aussi dans certains écosystèmes. Dans le domaine de la santé, les recherches portent sur le développement des matériaux hybrides pour la réparation des tissus vivants, la vectorisation de médicaments, les dispositifs implantables pour l'élaboration de rétines artificielles ou encore la mise au point de systèmes de détection pour le diagnostic avancé de certains cancers.

**Tutelles CNRS : Institut de Chimie (INC) (tutelle principale),  
Institut Ecologie et Environnement (INEE)**

Nanotubes de TiO<sub>2</sub>



Colorant organique





# Les biotechnologies industrielles

## Résultats récents et perspectives

Jean Buendia et Jean-Marc Paris, *coordinateurs du numéro*

Les applications industrielles des biotechnologies – fermentations et biotransformations – se sont très largement développées dans la seconde moitié du XX<sup>e</sup> siècle, mais l'utilisation des procédés biotechnologiques remonte en fait à la nuit des temps. Dès le néolithique, avec la naissance de l'agriculture, les hommes ont employé des bioprocédés utilisant des micro-organismes entiers (fermentations) pour leurs besoins en aliments et boissons (vin, bière...), vêtements (lin...) et colorants (indigo). Pendant des millénaires, l'Homme a continué à utiliser les biotechnologies de façon empirique, et ce n'est qu'au XIX<sup>e</sup> siècle que tout se précise, avec en 1833 l'isolement par Anselme Payen de la première diastase (ancienne dénomination des enzymes). Puis dans la seconde moitié du XIX<sup>e</sup> siècle, Louis Pasteur va démontrer que la fermentation est provoquée par des organismes microscopiques et établir la première distinction entre les ferments organisés (micro-organismes) et les ferments solubles (enzymes). Cela va conduire au début du XX<sup>e</sup> siècle à quelques succès dans les bioconversions et les fermentations, avec notamment la production de vitamine C et de quelques acides aminés, mais les progrès sont lents.

Il faudra attendre les années 1950 pour que le développement s'accélère avec l'obtention par fermentation des antibiotiques  $\beta$ -lactamiques (pénicillines et céphalosporines) et l'utilisation des bioconversions dans la synthèse de certains stéroïdes. Les développements industriels les plus importants en tonnages concernent la préparation d'acides aminés par fermentation pour les besoins alimentaires et d'isoglucoses comme édulcorant à partir d'amidon de maïs.

Le numéro spécial de *L'Actualité Chimique* de juillet-août 2002 consacré à la catalyse enzymatique présentait les avantages des biotechnologies industrielles (ou biotechnologies « blanches ») : sélectivité, économie d'énergie, diminution des déchets et polluants, et souvent réaction dans l'eau. Ce numéro reportait aussi plusieurs d'exemples d'applications à grande échelle.

Ce nouveau numéro spécial a pour objectif de présenter les avancées récentes dans le domaine des biotechnologies industrielles, grâce au développement du génie génétique qui a pris son essor dans les années 1980, et la prise en compte des contraintes imposées par la mise en œuvre de la politique du développement durable. L'une des caractéristiques des biotechnologies en général, qu'elles soient blanches (industrielles), rouges (appliquées à la santé) ou vertes (végétal), est que leur développement s'effectue par sauts successifs basés sur des avancées scientifiques ou technologiques, comme la mutagenèse dirigée ou aléatoire, ou le brassage de gènes modifiés (« DNA shuffling ») (voir les articles de P. Monsan, D. Pompon *et coll.* et P. Colonna). Les sauts technologiques peuvent aussi être liés à l'émergence de nouveaux concepts innovants, comme celui des bioraffineries, capables de transformer des matières premières végétales ou renouvelables n'entrant pas en compétition avec les usages alimentaires en des produits finis ou intermédiaires industriels.

Un autre concept récent est celui de la biologie de synthèse, qui est définie par l'OCDE comme « *l'ingénierie des composants*



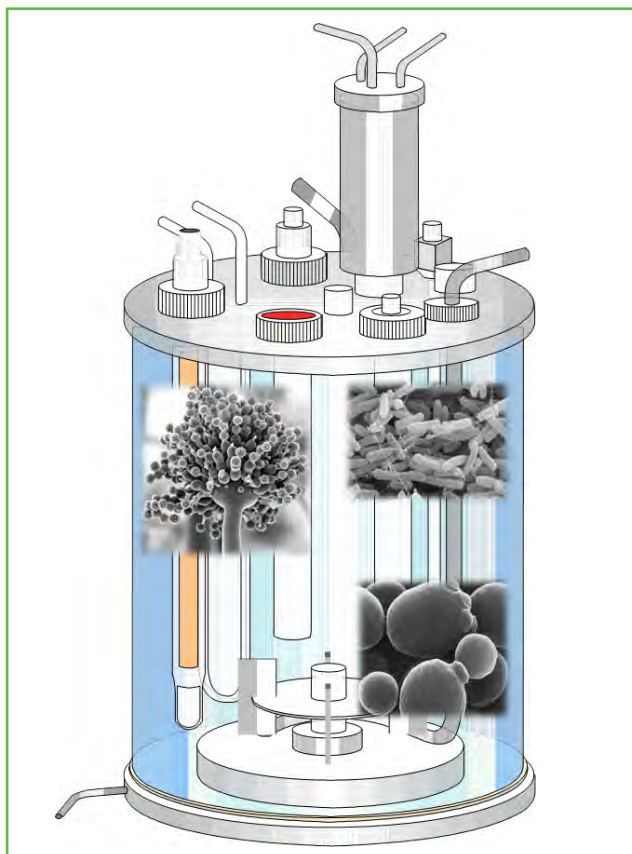
© photo-dave/Fotolia.com

et systèmes biologiques qui n'existent pas dans la nature » ; elle doit permettre, à partir de molécules sources identifiées dans le métabolisme du micro-organisme, de biosynthétiser le produit d'intérêt selon une voie métabolique nouvelle.

La première partie de ce numéro s'intéresse à l'ingénierie enzymatique métabolique. Celle-ci s'appuie sur les avancées des connaissances en biologie des systèmes, en modélisation informatique, sur les progrès des nouvelles techniques du génie génétique en « omiques » : métagénomique fonctionnelle, ingénierie enzymatique, mutagène dirigée ou aléatoire. À partir de ces techniques, il est possible d'améliorer les propriétés des enzymes ou de « fabriquer » des activités enzymatiques catalysant des réactions qui n'existent pas dans la Nature (cf. réaction d'élimination de Kemp, voir P. Monsan).

L'application de l'ingénierie métabolique a permis avec succès le transfert historique de la voie complexe de biosynthèse de l'hydrocortisone dans la levure de boulanger (D. Pompon *et coll.*).

À côté de cette approche manuelle classique d'ingénierie métabolique, la biologie de synthèse, de concept et développement plus récents, conduit à une étude plus exhaustive des différentes possibilités dans le but de choisir de manière efficace parmi celles-ci la voie métabolique la plus performante possible. La méthode s'appuie sur la modélisation informatique couplée aux méthodes de criblage à haut débit ; elle nécessite un nombre



Un fermenteur, pour mettre en œuvre de manière confinée et contrôlée des micro-organismes pour la synthèse de molécules par culture microbienne (Monsan P., Valorisation biologique des agro-ressources, dans *La chimie et la nature*, M.T. Dinh-Audouin, D. Olivier, P. Rigny (coord.), 2012, EDP Sciences).

considérable de données, dont beaucoup sont maintenant disponibles dans des bases dédiées, et peuvent être traitées par le calcul informatique à l'aide de logiciels appropriés (J.-L. Faulon *et coll.*).

Dans le domaine de la santé, les biotechnologies rouges ont profondément imprimé leur marque. Dans les années 1980, les cibles étaient des protéines naturelles aux propriétés connues, comme l'insuline par exemple. Dans un deuxième temps, ont été visées des molécules dont le potentiel thérapeutique n'était pas encore évalué car accessibles en trop petites quantités ; puis la recherche s'est orientée vers les anticorps monoclonaux comme médicaments ou vecteurs de molécules actives. Parallèlement à cette recherche, un autre volet s'est largement développé, qui a consisté à utiliser les méthodes dérivées de l'ADN recombinant pour découvrir des principes actifs non biotechnologiques et pour mettre au point de nouveaux outils de diagnostic. Le dernier développement de ce domaine est celui de la pharmacogénomique, qui permet la mise au point de thérapies ciblées, et la « théranostique », qui associe la thérapie à un test de diagnostic pour identifier les patients répondeurs (A. Tartar).

La deuxième partie illustre le développement des bioraffineries et de la chimie du végétal. Une bioraffinerie est un ensemble industriel localisé sur un même site, qui transforme la biomasse agricole ou forestière en une diversité de produits biosourcés et/ou en bioénergie dans le cadre d'une stratégie de développement durable.

Les bioraffineries fractionnent la biomasse en récupérant les principaux constituants ; leur but est de transformer des produits à faibles valeurs ajoutées en produits à fortes valeurs ajoutées. Elles doivent pour cela relever plusieurs défis, tant au niveau technologique qu'au niveau de la diversité des produits traités. En Europe, dans le cadre du 7<sup>e</sup> Programme cadre (FP7), l'Union européenne a mis en place une action pour aider au développement des bioraffineries (D. Thomas *et coll.*).

La bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle traitée en exemple (J.-M. Chauvet *et coll.*) est implantée au cœur d'une grande région agricole (blé, orge, betterave à sucre...) ; elle combine un complexe industriel et un pôle d'innovation. La bioraffinerie est un écosystème multi-entreprises qui transforme le blé et les betteraves pour élaborer des produits destinés principalement aux industries alimentaires à côté de produits à valeurs ajoutées plus faibles.

La chimie du végétal et les biotechnologies du végétal sont devenues un enjeu important ; le carbone d'origine végétal est amené à être une des solutions pour la transition énergétique et le développement de la bioéconomie (P. Colonna). Actuellement, les ressources végétales mobilisables sont celles des plantes de grandes cultures et des forêts. La surface limitée des terres arables conduit à rechercher des plantes susceptibles de croître sur des sols pollués ou non adaptés à l'agriculture alimentaire. L'amélioration des plantes supérieures par ingénierie métabolique est complexe et les méthodes de sélection classiques sont toujours nécessaires, mais les progrès récents de la génomique ouvrent de nouvelles perspectives.

Les progrès dans les biotechnologies vertes et blanches viennent modifier la vision historique du carbone renouvelable, avec ses étapes de production de la biomasse, le passage par les bioraffineries et les conversions en produits plus fonctionnels.

Au niveau de l'Union européenne, les biotechnologies industrielles sont considérées comme le noyau dur des biotechnologies et un levier pour la bioéconomie : elles sont l'une des priorités du FP7 (A. Aguilar).

L'influence des biotechnologies s'est largement étendue de la pharmacie et de l'agroalimentaire à d'autres secteurs comme la chimie fine, la chimie de commodité, le papier et le textile.

Le nouveau paradigme qui, il y a quelques années, a conduit au concept de bioraffineries pour la production à grande échelle de carburants, est amené dans les prochaines années à se développer dans d'autres secteurs et conduira au développement de nouveaux procédés et stratégies industrielles.



J. Buendia

**Jean Buendia**

est président d'honneur du Comité Adebiotech\*.

**Jean-Marc Paris**

est professeur bénévole à l'ENSCP\*\* et consultant auprès de sociétés chimiques et pharmaceutiques et à l'OMS.



J.-M. Paris

\* Adebiotech, FFC, 28 rue Saint-Dominique, F-75007 Paris.  
Courriel : jean.buendia@laposte.net  
www.adebiotech.org/home

\*\* Courriel : jean-marc.paris@chimie-paristech.fr

# Les biotechnologies blanches : révolution... ou évolution ?

Pierre Monsan

**Résumé** La double conjonction des contraintes environnementales et de l'épuisement annoncé des sources de carbone fossile, d'une part, et de l'accroissement des connaissances scientifiques concernant le fonctionnement du vivant et des outils méthodologiques disponibles, d'autre part, permet la construction de véritables « usines cellulaires » pour la transformation de ressources carbonées renouvelables en produits d'intérêt pour les secteurs de la chimie, des matériaux et de l'énergie. Ces biotechnologies industrielles, ou « biotechnologies blanches », connaissent à l'heure actuelle un développement très important. Elles permettent de revisiter de nombreux procédés industriels et d'en créer de nouveaux, dans la continuité des acquis du génie biochimique au cours des cinquante dernières années.

**Mots-clés** **Biotechnologies, biologie de synthèse, carbone renouvelable, chimie verte.**

**Abstract** **White biotechnology: revolution... or evolution?**

The joint effect of environmental constraints and of the announced depletion of fossil resources on one side, and the improved scientific understanding of living systems functioning and available methodological tools on the other side, has resulted on the ability to design "cell factories" which can efficiently transform renewable carbon sources into products of interest for the fields of chemistry, materials and energy. Industrial biotechnology, also named "white biotechnology", is a fast-growing domain. It allows to develop more eco-friendly both existing and innovative industrial processes, in the direct streamline of the biochemical engineering processes implemented during the past fifty years.

**Keywords** **Biotechnology, synthetic biology, renewable carbon, green chemistry.**



© LISBP/Christelle Labruyère.

années 2000, afin d'attirer les investisseurs financiers vers ce domaine, en les distinguant, de manière un peu simpliste, des applications dans le secteur de la santé (biotechnologies « rouges ») et dans le secteur végétal (biotechnologies « vertes »). Effectivement, les investissements, notamment en capital-risque, étaient jusque-là focalisés sur la production de biomédicaments, du fait des retours financiers conséquents envisageables dans le domaine pharmaceutique. Les produits correspondants (insuline, érythropoïétine, anticorps thérapeutiques...) ne posent aucun problème d'acceptation par le public, contrairement à ceux obtenus par transgénèse végétale (« OGM »), du moins en Europe et en France en particulier. D'où l'intérêt de développer des applications de micro-organismes

## Le contexte

Les applications industrielles des biocatalyseurs enzymatiques et microbiens se sont largement développées après la Seconde Guerre mondiale pour la production d'antibiotiques, d'acides organiques, d'acides aminés, d'édulcorants et d'intermédiaires pour la chimie (tableau I p. 18). Ces biotechnologies industrielles ont été rebaptisées « blanches » au milieu des

génétiqument modifiés par ingénierie métabolique, **utilisés en milieu confiné**, donc sans relargage volontaire dans l'environnement, pour produire des composés d'intérêt industriel. Dans un contexte double de pénurie annoncée de carbone fossile (« peak oil » : quand ?) et de prise de conscience de plus en plus marquée des problèmes environnementaux (production de gaz à effet de serre et réchauffement climatique), il devenait important de promouvoir le

Tableau I - Les principaux produits de biotechnologies industrielles.

Source : W. Soetaert, Université de Gand.

Produit	Quantité (Mt/an)
Bioéthanol	90
Isoglucose	15
Glutamate	2
Acide citrique	1
Acide lactique	0,3
Acrylamide	0,2
Antibiotiques	0,03

développement des applications industrielles des biotechnologies en attirant les investisseurs. Les biotechnologies blanches reposent en effet sur l'utilisation prioritaire de carbone renouvelable et non pas de carbone fossile. Elles permettent de développer des procédés de transformation biologique plus compatibles avec les économies d'énergie et la préservation de l'environnement, en réduisant significativement l'empreinte carbone, constituant ainsi la base d'une nouvelle bioéconomie [1].

L'objectif est donc de développer de véritables « usines cellulaires » capables de transformer des matières premières renouvelables, aussi peu en compétition que possible avec des usages alimentaires, en produits d'intérêt pour les domaines de la chimie (intermédiaires de synthèse), des matériaux (biopolymères) et de l'énergie (biocarburants). En effet, les matières premières renouvelables les plus facilement accessibles aujourd'hui, de manière économiquement fiable et viable, sont des glucides (amidon, glucose, saccharose), et des lipides (huiles végétales : colza, palme...) et leurs dérivés (glycérine, glycérol). Leur utilisation massive pour la production de biocarburants de première génération est cependant accusée d'en faire flamber les cours et d'être à l'origine de déforestations massives. Le développement à très grande échelle des biotechnologies industrielles passe donc obligatoirement par une valorisation des biomasses lignocellulosiques ne présentant pas d'usage alimentaire (produits de deuxième génération) : coproduits de l'agriculture (raffes de maïs, bagasse de canne à sucre, pulpes de betterave, son et paille de blé...) et de l'industrie agroalimentaire (drèches de brasserie...), forêts et coproduits de l'industrie du bois, cultures dédiées (miscanthus, jujoba...)

produites sur des terres impropres à un usage agricole. À terme, les cultures de microalgues en conditions auxotrophes (utilisation de l'énergie lumineuse et du dioxyde de carbone) devraient prendre le relais pour une troisième génération de produits biosourcés.

## L'usine cellulaire

Le concept d'usine cellulaire n'est pas nouveau. Depuis le fond des temps, les micro-organismes et leurs catalyseurs enzymatiques ont été utilisés, de manière totalement empirique, pour transformer les matières premières d'origines végétale et animale en boissons et aliments plus facilement conservables et présentant des propriétés organoleptiques intéressantes. C'est ainsi que virent le jour la production de bière, de vin, de fromage, de pain... L'isolement et la caractérisation de plus en plus fine des souches microbiennes et des enzymes impliquées dans ces transformations ont conduit, comme indiqué en introduction (*tableau I*), à partir du milieu du XX<sup>e</sup> siècle, au développement d'une véritable industrie de la fermentation et de la biocatalyse. La production annuelle de 90 millions de tonnes de bioéthanol et de 15 millions de tonnes d'isoglucose en est la meilleure illustration. Le concept d'usine cellulaire a été renouvelé dans les années 1980 par l'apport du génie génétique, qui a permis d'exprimer de nouveaux gènes dans des micro-organismes industriels et d'en contrôler l'expression. La production de L-thréonine par Ajinomoto à l'aide de souches recombinantes d'*Escherichia coli* depuis le début des années 90 en est un exemple. Actuellement, environ 95 % des enzymes industrielles (protéases, amylases, pectinases, phytases, cellulases...) sont produites à l'aide de micro-organismes génétiquement modifiés.

Qu'est-ce qui permet aujourd'hui de renouveler ce concept d'usine cellulaire et de lui donner une nouvelle vigueur ?

La possibilité de franchir une nouvelle étape dans le domaine du génie biochimique est liée au développement simultané des connaissances fondamentales sur le fonctionnement des systèmes biologiques et leurs mécanismes de régulation (« biologie des systèmes »), et à l'extraordinaire amélioration des méthodologies d'analyse et de synthèse (voir ci-dessous).

## Lecture et écriture de l'ADN

L'efficacité des méthodes de lecture de l'ADN augmente à une vitesse supérieure à la loi de Moore pour l'informatique

### Lois de Moore

Les lois de Moore sont des lois empiriques qui ont trait à l'évolution de la puissance des ordinateurs et de la complexité du matériel informatique. Il existe en fait trois « lois » de Moore, deux authentiques (au sens où elles furent émises par Gordon E. Moore), et une série de « lois » qui ont en commun de se prétendre « loi de Moore », mais qui n'en sont que des simplifications inexactes.

1. La loi de Moore a été exprimée en 1965 dans *Electronics Magazine* par Gordon E. Moore, ingénieur de Fairchild Semiconductor, l'un des trois fondateurs d'Intel. Constatant que la complexité des semi-conducteurs proposés en entrée de gamme doublait tous les ans à coût constant depuis 1959, date de leur invention, il postulait la poursuite de cette croissance (en 1965, le circuit le plus performant comportait 64 transistors). Cette augmentation exponentielle fut rapidement nommée *loi de Moore* ou, compte tenu de l'ajustement ultérieur, *première loi de Moore*.

2. En 1975, Moore réévalua sa prédiction en posant que le nombre de transistors des microprocesseurs (et non plus de simples circuits intégrés moins complexes car formés de composants *indépendants*) sur une puce de silicium double tous les deux ans. Bien qu'il ne s'agisse pas d'une loi physique mais juste d'une extrapolation empirique, cette prédiction s'est révélée étonnamment exacte. Entre 1971 et 2001, la densité des transistors a doublé chaque 1,96 année. En conséquence, les machines électroniques sont devenues de moins en moins coûteuses et de plus en plus puissantes.

3. Une version commune, variable et sans lien avec les énoncés réels de Moore, est : « quelque chose » double tous les dix-huit mois, cette chose étant « la puissance », « la capacité », « la vitesse », « la fréquence d'horloge » et bien d'autres variantes, mais très rarement la densité des transistors sur une puce. Ces pseudo lois de Moore sont celles le plus souvent diffusées, car elles fleurissent dans des publications grand public et sur de nombreux sites Internet. Leur seul point commun est donc ce nombre de dix-huit mois, qu'on ne trouve pourtant dans aucun des deux énoncés de Moore.

## Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque\* dans l'article sont définis ci-dessous.

**Cosmide** : vecteur artificiel constitué d'un plasmide (molécule d'ADN surnuméraire distincte de l'ADN chromosomique, capable de réplication autonome et non essentielle à la survie de la cellule) auquel a été ajouté le site COS du bactériophage (virus n'infectant que des bactéries) lambda, nécessaire à l'encapsulation (empaquetage de matériel génétique à l'intérieur de la capsid virale). Il a été décrit pour la première fois par Collins et Hohn en 1978. Les séquences COS sont des séquences d'ADN simple brin, qui ont été séparées de la molécule mère par une enzyme de restriction spécifique de telle manière que les extrémités ont une affinité spécifique l'une et l'autre, et ainsi sont reconnues comme bouts cohésifs. L'intérêt des cosmides réside dans le fait qu'ils permettent le clonage de fragments d'ADN de grande taille ; ils peuvent accepter jusqu'à 45 kb (kilobase) contre 10 à 15 kb pour les plasmides normaux et sont souvent utilisés pour stocker l'ADN génomique. Une fois introduit dans la bactérie cible, ce type de vecteur se comporte comme un plasmide, c'est-à-dire qu'il ne l'infecte pas.

« **DNA shuffling** » : le « brassage » de gènes permet de générer une très grande diversité de gènes à partir d'une famille de gènes portant différentes mutations. Pour cela, les gènes sont découpés en fragments de 50 à 100 paires de bases de longueur, puis ces fragments sont mélangés par réaction d'amplification génique (PCR : « polymerase chain reaction »). Cette méthode permet de réaliser, en particulier lorsqu'elle est couplée à un criblage à haut débit, une « évolution dirigée » d'une protéine, c'est-à-dire de réaliser dans un temps limité ce que l'évolution a pu faire de manière aléatoire. Il s'agit, par exemple, d'obtenir une enzyme présentant une résistance accrue à la dénaturation thermique, ou une sensibilité différente à l'effet du pH sur son activité.

**Fluxomique** : mesure des vitesses réelles des réactions métaboliques dans le système biologique intègre (flux intracellulaires, intratissulaires). Il n'existe pas de méthode directe permettant de mesurer des flux dans une cellule ou un tissu intègre. L'approche indirecte la plus pertinente est basée sur des stratégies de marquage isotopique ( $^{13}\text{C}$ ) couplées à l'analyse fine (mesure des « isotopomères ») de l'incorporation isotopique dans les métabolites, réalisée soit par spectrométrie de masse, soit par RMN. Elle aboutit à l'obtention de cartes de flux qui représentent la distribution quantitative des flux (ici carbonés) dans le réseau métabolique du système biologique étudié.

**Fosmide** : cosmide\* contenant un réplicon (molécule d'ADN ou d'ARN pouvant se répliquer à partir d'une seule origine de réplication) d'*E. coli* (séquence FOS : facteur F).

**Homéostasie** : capacité d'un organisme vivant à maintenir à un niveau constant certaines caractéristiques internes de son corps (température, concentration des substances, composition des liquides interstitiel et intracellulaire, etc.).

**Métagénomique fonctionnelle** : méthode consistant à faire exprimer des fragments d'ADN métagénomique, c'est-à-dire issus de l'extraction de l'ADN total d'un échantillon provenant d'un environnement complexe (sol, intestin, océan, air...) par un vecteur hôte (généralement des banques de clones de l'espèce bactérienne *E. coli*). C'est à ce niveau que sont utilisés les cosmides\* ou fosmides\* comme vecteurs des fragments d'ADN. Le but de cette approche est de découvrir de nouvelles enzymes ou de nouvelles molécules sécrétées dans l'environnement d'où est issu l'échantillon. Lorsque la présence de la fonctionnalité est repérée dans un clone, on procède au séquençage du vecteur utilisé pour identifier le ou les gènes d'intérêt. Elle permet, en particulier, d'accéder à une fraction de la biodiversité microbienne nettement plus grande que les approches de microbiologie classique (culture directe de micro-organismes). Une illustration est la recherche d'enzymes permettant de dégrader la cellulose à partir d'un extrait d'ADN d'intestin de termites.

**Modélisation moléculaire in silico** : ensemble de méthodes à la frontière de la biologie structurale et de la bioinformatique, qui consiste à effectuer des calculs informatiques pour reconstruire les structures, effectuer des prédictions structurales ou analyser des propriétés dynamiques de macromolécules. Elle repose souvent sur l'utilisation d'une description des forces moléculaires qui agissent sur les atomes pour simuler des mouvements ou trouver des conformations d'énergie minimale. Les données sur les structures des macromolécules biologiques, obtenues essentiellement à partir de la diffraction des rayons X par leurs cristaux, sont aujourd'hui déposées sur une base de données publique, la « Protein Data Bank » (PDB). Cette base contient, sous un format standardisé, les données structurales sur les coordonnées des atomes de plus de 80 000 macromolécules ou complexes. Les données sont accessibles librement en ligne et les structures peuvent être visualisées au moyen de divers outils logiciels interactifs, dont un grand nombre sont gratuits pour un usage académique.

**Opéron** : unité d'ADN fonctionnelle regroupant des gènes sous le contrôle d'un signal moléculaire régulateur. Les gènes sont transcrits en ARN messager ensemble et concourent à la réalisation d'une même fonction physiologique. Ainsi, les gènes d'un opéron sont soit transcrits tous ensemble, soit aucun n'est transcrit puisqu'ils sont tous sous le contrôle du même régulateur.

(voir encadré p. 18) : le coût du séquençage d'un génome est passé en dix ans de 0,250 \$ à 0,317 x 10<sup>-5</sup> \$ par paire de bases [2]. En conséquence, le séquençage d'un génome bactérien est devenu tout à fait accessible pour un laboratoire académique. C'est une source fabuleuse d'informations et permet de découvrir non seulement de nouveaux gènes, mais également des voies métaboliques devenues silencieuses. Il devient plus simple de re-séquencer un fragment d'ADN plutôt que de stocker les données correspondantes !

Parallèlement, le coût de la synthèse de séquences d'ADN s'est effondré. Il est passé en dix ans de 25 \$ à 0,35 \$ par base [2]. Là aussi, il est devenu plus simple de commander une séquence d'ADN synthétique (un gène contenant des mutations ponctuelles, par exemple), plutôt que de la produire par construction en utilisant les méthodes de biologie moléculaire. Au passage, on pourra toujours élaborer sur le fait que l'emploi d'un tel gène « synthétique » relève plus de la « biologie de synthèse » que celui d'un gène obtenu par biologie moléculaire seule. On peut rappeler que le couplage de telles méthodes de synthèse à des méthodes d'amplification et d'assemblage *in vivo* a permis à l'équipe de Craig Venter de construire le génome de *Mycobacterium*

*mycoides*, soit 1,08 millions de paires de bases, sans oublier d'y apposer sa signature (avec une erreur !), qui a été introduit dans une cellule de *M. capricolum* pour la transformer finalement en bactérie « synthétique » (on peut discuter le terme, puisque toute la machinerie moléculaire de la cellule préexistait) de *M. mycoides* [3].

### Métagénomique fonctionnelle

L'extraction de l'ADN à partir de biotopes microbiens (sols, intestin humain, rumen...), suivie du clonage de grands fragments de 40 à 70 000 paires de bases dans des cosmides\* ou des fosmides\* et leur expression dans des hôtes tels que *E. coli*, a fortement renouvelé et élargi les possibilités d'accès à la biodiversité microbienne. En effet, les méthodes de microbiologie classique (culture de souches isolées) ne permettent d'isoler qu'une fraction limitée (0,1 % à quelques %) des espèces présentes. La caractérisation et la compréhension du fonctionnement du microbiote intestinal humain, dont le rôle dans l'homéostasie\* est très important, en sont l'un des meilleurs exemples : le corps humain contient dix fois plus de cellules microbiennes (10<sup>14</sup>) que de cellules humaines (10<sup>13</sup>).

En particulier, la métagenomique fonctionnelle\* a pour objet la recherche d'une fonctionnalité particulière, telle que la dégradation de la cellulose, par exemple, dans un biotope donné. Cette approche permet d'aller au-delà de la simple annotation putative de gènes, en étant certain que le fragment d'ADN isolé, cloné et exprimé contient effectivement un ou plusieurs gènes codant l'activité enzymatique recherchée [4]. Il est ainsi également possible, du fait de la taille élevée des fragments d'ADN clonés, d'isoler de nouvelles voies métaboliques impliquant plusieurs gènes présents au sein d'un opéron\*.

### Ingénierie enzymatique moléculaire

Jusqu'au début des années 1980, seules les enzymes provenant de sources « naturelles », animales, végétales ou microbiennes (dans ce dernier cas, améliorées éventuellement par mutagenèse des souches productrices), étaient disponibles. La conjonction des données structurales obtenues par diffraction des rayons X par les cristaux d'enzymes et des possibilités offertes par le génie génétique a conduit à l'amélioration des biocatalyseurs par mutagenèse dirigée, c'est-à-dire par le remplacement d'un acide aminé par un autre dans la séquence correspondante. Un exemple est l'amélioration de la résistance des enzymes utilisées dans les lessives (subtilisine) aux agents chimiques oxydants par la société Genencor dans les années 80. Dans les années 90, ont été mises au point des méthodes de mutagenèse aléatoire, par exemple par copie et amplification à erreur des gènes correspondants (« error prone polymerase chain reaction ») et de brassage des fragments de gènes modifiés (« DNA shuffling »\*), couplées à des méthodes de clonage, d'expression et de criblage à haut débit des gènes ainsi mutés. Il est ainsi possible, en procédant à des cycles successifs de mutagenèse couplés à une sélection/criblage à haut débit sous pression déterminée (par exemple, la résistance à la dénaturation thermique) d'obtenir une « évolution dirigée » des propriétés d'un catalyseur enzymatique. Une telle approche mime, en fait, ce qu'a réalisé le processus d'évolution au cours des millénaires. Ceci a débouché sur la mise à disposition d'enzymes de plus en plus performantes. Aujourd'hui, la combinaison des méthodes de modélisation moléculaire *in silico*\* basées sur les données structurales, de dynamique moléculaire, de mutagenèse dirigée massive (remplacement d'un acide aminé par les 19 autres) et de criblage à haut débit, permet de créer de nouvelles activités enzymatiques non décrites dans la nature, telles que le greffage régiospécifique d'une unité  $\alpha$ -D-glucopyranose sur le carbone C3 d'un méthyl-rhamnoside pour la synthèse chimio-enzymatique d'oligosaccharides antigéniques [5] (figure 1). L'équipe de David Baker (Université de Washington, Seattle) a réussi à créer *ex nihilo* des activités enzymatiques catalysant des réactions n'existant pas dans le métabolisme cellulaire (réactions d'élimination de Kemp, de

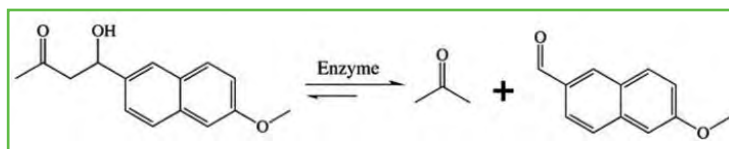


Figure 2 - Réaction de rétro-aldolisation [6].

rétro-aldolisation et de Diels-Alder), par modélisation moléculaire à partir de l'état de transition des réactions chimiques correspondantes [6] (figure 2).

### Métabolomique et fluxomique\*

La conjonction des améliorations de disponibilité et de performance des techniques analytiques permettant d'identifier et de quantifier les molécules présentes au temps  $t$  dans une cellule (chromatographie liquide, spectrométrie de masse, RMN...) a abouti à la possibilité de déterminer avec précision le profil métabolique d'une cellule cultivée dans des conditions données, ainsi que les différents flux correspondants. Cette approche est essentielle, en lien étroit avec la modélisation mathématique de ces flux (il n'existe pas de modèle mathématique particulier), notamment pour optimiser la construction d'une souche destinée à produire une molécule d'intérêt, en obtenant le taux de conversion du carbone le plus élevé possible. De plus, grâce à la précision des méthodes de spectrométrie de masse, il est possible d'élucider une voie métabolique en utilisant des molécules marquées à l'aide d'isotopes froids (isotopes stables non radioactifs :  $^{13}\text{C}$ , D,  $^{15}\text{N}$ ).

### Biologie de synthèse

La biologie de synthèse est définie par l'OCDE comme « l'ingénierie de composants et de systèmes biologiques qui n'existent pas dans la nature et la ré-ingénierie d'éléments biologiques existants ; elle porte sur la conception intentionnelle de systèmes biologiques artificiels. » Elle est le résultat de avancées des connaissances en biologie des systèmes et des progrès en capacités de modélisation informatique et moyens de calcul, couplés aux possibilités de criblage à haut débit issues notamment des nanotechnologies et de la microfluidique. La frontière avec l'ingénierie métabolique n'est pas toujours évidente dans les exemples qui sont décrits. Le rapport du groupe de travail « Biologie de synthèse » du Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche (MESR) distingue deux approches de ce nouveau domaine [7] :

- la construction de systèmes métaboliques minimaux, de dispositifs ou de systèmes artificiels biochimiques, ou biomécaniques ayant un comportement spécifié, par l'assemblage de « briques » réutilisables et standardisées ;
- la synthèse de génomes minimaux afin de mieux appréhender le fonctionnement des cellules, et afin de créer des cellules-hôtes (châssis) capables d'une bioproduction efficace ou de fonctions simples prédéterminées.

Il est évident qu'une réflexion éthique doit accompagner le développement de ces approches pouvant être perçues comme une « artificialisation » du vivant. C'est ce qui a conduit à la mise en place d'un « Observatoire de la biologie de synthèse » dans le cadre du Conservatoire national des arts et métiers (Cnam), sous l'égide du MESR, afin de rassembler et de mettre à la disposition des citoyens l'ensemble des informations disponibles sur ce domaine [8].

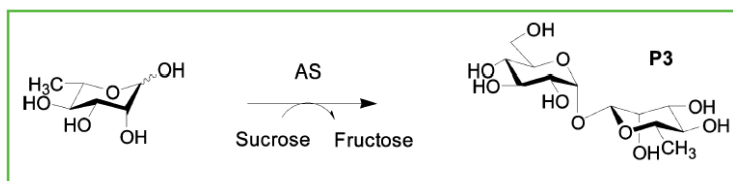


Figure 1 - Greffage régiospécifique d'un  $\alpha$ -D-glucopyranose sur le C3 d'un méthyl-rhamnoside pour la synthèse d'oligosaccharides antigéniques [5].

## Les applications industrielles

Les principaux procédés qui ont atteint ou sont en cours de passage à l'échelle industrielle sont décrits ci-après.

### 1,3-PDO à partir de glucose (DuPont Tate & Lyle BioProducts)

Les travaux d'ingénierie métabolique réalisés par Genencor entre 1995 et 2002 pour DuPont ont abouti à la construction d'une souche d'*E. coli* produisant le propane-1,3-diol (1,3-PDO) à partir de D-glucose. La voie métabolique implémentée implique une enzyme du type glycérol déshydratase utilisant la vitamine B12 comme cofacteur. Ces travaux ont mobilisé 200 ETP (éq. temps plein) pour un coût total de construction de la souche microbienne de 40 M\$. Une usine ayant une capacité de production de 50 kt/an fonctionne depuis novembre 2006 à Loudon (Tennessee). La concentration finale de PDO est de 135 g/L, avec un rendement de 51 g de PDO/g de glucose (pour un rendement théorique maximal de 54 g/g), avec une productivité de 3,5 g/L.h [9]. L'association de DuPont à Tate & Lyle permet de sécuriser l'apport de matière première, le glucose provenant de l'hydrolyse de l'amidon de maïs.

Ce bioprocédé permet d'économiser environ 40 % d'énergie par rapport au procédé de synthèse du 1,3-PDO par voie chimique.

Les applications du Bio-PDO<sup>®</sup> se situent notamment au niveau de la production de fibres textiles polyester (Sorona<sup>®</sup>), de résines polyester insaturées (Susterra<sup>®</sup>) et de formulations cosmétiques et détergentes, en remplacement du propylène et du butylène glycol (Zemea<sup>®</sup>).

### 1,3-PDO à partir de glycérol (Metabolic Explorer)

Ce procédé utilise le glycérol comme point de départ pour une biotransformation par une bactérie anaérobie, *Clostridium acetobutylicum*, impliquant une glycérol déshydratase non-vitamine B12 dépendante. La construction de la souche microbienne a mobilisé 32 ETP de 1997 à 2012. Une usine ayant une capacité de production de 8 kt/an est en cours de construction en Malaisie afin de disposer, comme matière première, de la glycérine (glycérol brut) provenant de la production de biodiesel à partir d'huile de palme. Le retard du démarrage de cette unité a obligé MetEx à supprimer 35 postes en décembre 2012, pour revenir à un effectif de 76 personnes.

### PLA (Cargill)

Depuis 2002, NatureWorks LLC, filiale de Cargill, produit, à partir d'acide lactique provenant de la fermentation du D-glucose du PLA, un polylactide dans son usine de Blair (Nebraska) dont la capacité est de 140 kt/an. L'acide lactique est transformé par voie chimique en lactides, dont la polymérisation conduit au PLA (Ingeo<sup>®</sup>). Un point essentiel du procédé est la purification du mélange de lactides par distillation. En 2003, Cargill a construit la plus grande capacité mondiale de fermentation lactique au monde pour approvisionner la production de PLA. En octobre 2012, un co-investissement de 150 M\$ de PTT Global Chemical a été annoncé pour construire une deuxième unité de production en Thaïlande.

Les applications du PLA vont des fibres textiles aux emballages. On peut noter un avantage très significatif au

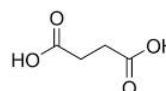
plan environnemental du PLA par rapport au PET (polyéthylène téréphthalate) (tableau II).

Tableau II - Comparaison des éco-profilés du PLA (Ingeo<sup>®</sup>) et du PET.  
\*1G : 1<sup>ère</sup> génération ; 2G : 2<sup>e</sup> génération.  
Source : <http://natureworksllc.com>.

Produit	Émission CO <sub>2</sub> équivalent (kg CO <sub>2</sub> éq./kg polymère)	Consommation d'énergie non renouvelable (MJ/kg polymère)
PET	3,2	80,3
PLA 1G*	2,0	50,2
PLA 2G*	1,3	42,2

### Acide succinique

L'acide succinique est un acide dicarboxylique tétracarboné :



Il est utilisé directement comme agent aromatisant ou comme intermédiaire dans la synthèse de nombreux produits chimiques, notamment de fibres polyesters.

Deux projets de production d'acide succinique biosourcé sont en cours de passage à l'échelle industrielle :

#### • BioAmber

À l'origine partenariat entre DNP Green Technology et ARD, BioAmber a développé la production d'acide succinique par biotransformation du D-glucose par voie bactérienne initialement, puis par levure (collaboration avec Cargill). En effet, la levure ayant un pH optimal plus bas, il est possible d'obtenir directement la forme acide et non pas le sel, ce qui est le cas à pH neutre. DNP Green Technology a obtenu un financement de 12 M\$ en 2009 et est devenue BioAmber Inc. en 2010. Une usine est en cours de construction à Sarnia (Ontario), en collaboration avec Mitsui pour la production de 17 kt/an d'acide succinique biosourcé à partir de 2013. Elle devrait produire à terme 34 kt/an d'acide succinique et 23 kt/an de butane-1,4-diol (BDO), obtenu par hydrogénation de l'acide succinique (technologie DuPont). Deux autres usines sont envisagées, l'une en Thaïlande et l'autre au Brésil, ayant chacune une capacité de production de 65 kt/an d'acide succinique et de 50 kt/an de butanediol.

#### • Roquette/DSM (Reverdia)

Depuis 2008, Roquette Frères a développé avec DSM une voie de production d'acide succinique à l'aide de levure (Biosuccinium<sup>®</sup>) opérant à bas pH. Cette association 50/50 a donné naissance à la société Reverdia. Une unité de production de 10 kt/an de capacité a été implémentée sur le site de Roquette à Cassano Spinola (Italie). Elle a démarré sa production fin 2012.

### Farnésane (Amyris)

La société Amyris Biotechnologies a été fondée en 2003 par Jay D. Keasling (Université de Berkeley) et quatre de ses étudiants postdoctoraux. Son premier projet a été la production de l'acide artémisinique, précurseur de l'artémisinine, un

antipaludéen produit par l'armoise, grâce à un financement de la fondation Bill et Melinda Gates à hauteur de 2,4 M\$. Pour cela, il a fallu réussir à cloner la voie du mévalonate (figure 3), aboutissant à l'isopentényl-pyrophosphate, chez *E. coli*, puis chez *Saccharomyces cerevisiae*. Ce produit a été licencié à Sanofi, qui en développe la production industrielle en Italie. Forte de ce succès, Amyris a recruté comme PDG John Melo, ancien PDG de BP USA, et a installé une division au Brésil pour produire un « drop-in » biodiesel, le farnésane, c'est-à-dire un produit directement substituable au diesel. Le remplacement des trois dernières étapes de la synthèse de l'acide artémisinique par une seule étape catalysée par une farnésène synthase (figure 3) conduit en effet au trimère insaturé de l'isoprène, le farnésène (Biofene®). Sa réduction par hydrogénation mène directement au farnésane. L'objectif était la construction de deux usines ayant chacune une capacité de production de 150 ML/an de farnésène, avec un point d'étape correspondant à la production de 40 à 50 Mt en 2012. Ce résultat n'ayant pas été atteint, la sanction du marché a été une perte de 90 % de la valeur de l'action en mai 2012. Total, qui détient 21 % du capital d'Amyris, va débloquer 82 M\$ sur trois ans pour poursuivre le projet.

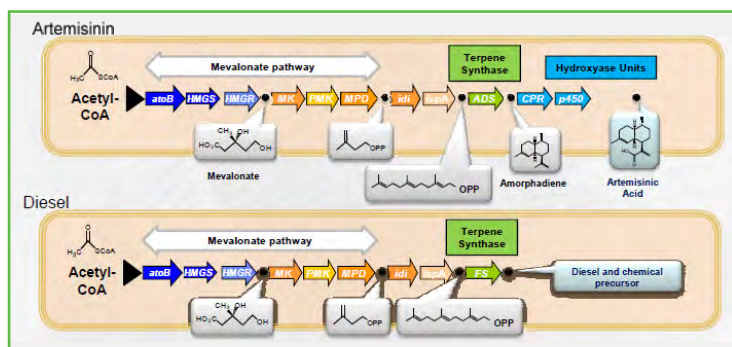
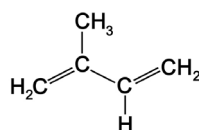


Figure 3 - Voies de synthèse de l'acide artémisinique et du farnésène.  
Source : www.amyris.com.

Ceci montre à la fois la possibilité de mettre en œuvre des approches d'ingénierie métabolique semblables pour les domaines des biotechnologies rouges (santé) et des biotechnologies blanches, et la marge de manœuvre nettement plus étroite lorsque l'on vise des produits de commodité pour lesquels le rendement, le titre final et la productivité sont essentiels.

### Isoprène (GoodYear/Genencor)

La firme de pneumatiques GoodYear a lancé en 2007 un partenariat avec Genencor pour produire de l'isoprène à partir de D-glucose à l'aide de souches d'*E. coli* modifiées génétiquement par clonage de l'isoprène synthase. L'isoprène est le monomère de base pour l'obtention du latex :



Initialement prévue en 2013, l'industrialisation de ce procédé a été retardée du fait de l'acquisition de Danisco et sa filiale Genencor par DuPont en 2011. Elle est actuellement en attente de décision d'investissement.

### Commentaire

On constate que les entreprises qui ont fait le choix de devenir des producteurs industriels ont connu des difficultés significatives et des retards importants à l'industrialisation, soit du fait de performances insuffisantes pour atteindre les seuils de rentabilité (Amyris, Gevo) lors du passage du pilote à l'usine, soit de problèmes de construction de telles usines (Metabolic Explorer). Ceci souligne le caractère incontournable de l'expérience industrielle, sous tous ses aspects.

### Et demain ?

Il est évident que la vitesse et l'étendue du développement des biotechnologies blanches seront intimement liées à la viabilité économique des procédés correspondants, et seulement à cette viabilité. Les arguments concernant l'origine « biosourcée » des matières premières utilisées, le caractère renouvelable du carbone, les économies d'énergie réalisées, ne valent que si le prix de revient final du produit est inférieur à celui du produit obtenu par les procédés traditionnels à partir de carbone fossile dans des installations industrielles largement amorties.

Pourra-t-on longtemps assister à la promotion en Europe d'emballages en PET « biosourcé », produits en Inde à partir d'éthylène fabriqué au Brésil à partir de bioéthanol provenant de la fermentation de sucre de canne ?

L'avenir des biotechnologies industrielles dépend donc de plusieurs paramètres :

- La disponibilité de carbone renouvelable de manière fiable et à un prix compétitif et stable par rapport au carbone fossile : aujourd'hui, seules les matières premières de première génération (glucose, saccharose, huiles végétales, glycérol) sont effectivement disponibles à l'échelle industrielle. Le débat sur leurs conditions de production (huile de palme, sucre brésilien) et sur la compétition entre usages alimentaires et usages non alimentaires oblige à rechercher des solutions du côté de la biomasse lignocellulosique, même si aucune solution simple n'existe à l'heure actuelle. Faut-il privilégier la dégradation thermo-chimique ou bien l'attaque chimique ou chimio-enzymatique ? Faut-il utiliser les coproduits de l'agriculture (bagasse, rafles de maïs, son...) ou la filière forestière (la seule qui soit à peu près organisée), plutôt que des cultures dédiées (quelle rémunération pour les agriculteurs) ? On observe, par exemple, que la société Coskata, qui avait basé ses bioprocédés sur l'utilisation de gaz de synthèse produits par gazéification de biomasse, a récemment décidé d'utiliser le gaz de schistes abondamment disponibles aux États-Unis, et de faire ainsi l'économie de l'étape de gazéification [10].
  - La capacité de développer des biocatalyseurs (enzymes, micro-organismes, consortia microbiens) performants permettant d'atteindre des rendements, des productivités et des concentrations finales de produit assurant la compétitivité des procédés correspondants : c'est l'objectif du démonstrateur préindustriel Toulouse White Biotechnology, financé en 2011 par l'ANR dans le cadre des Investissements d'avenir [11]. L'utilisation conjointe d'approches d'ingénierie enzymatique, d'ingénierie métabolique, de biologie de synthèse et de génie biochimique, de plus en plus performantes, permettra d'atteindre cet objectif.
- Il s'agit donc, pour l'instant, d'une évolution de l'existant, grâce à des connaissances fondamentales de plus en plus approfondies, des méthodologies de plus en plus performantes, un contexte favorable lié à une prise de conscience



des contraintes environnementales et de la raréfaction des ressources fossiles.

La véritable révolution des biotechnologies industrielles passera par la capacité des chercheurs et des ingénieurs non seulement à produire plus efficacement les composés aujourd'hui issus du carbone fossile, mais surtout, à créer de nouveaux produits dont les fonctionnalités justifient le coût de production, en intégrant de manière de plus en plus étroite des étapes biologiques dans des procédés chimiques. Cette révolution implique également la formation de chercheurs et d'ingénieurs ayant une appréhension plus large des outils disponibles, afin de trouver les solutions optimales.

## Références

- [1] OECD, *Biotechnology for Sustainable Growth and Development*, 2004.
- [2] Carlson R., The changing economics of DNA synthesis, *Nature Biotechnol.*, **2009**, 27(12), p. 1091.
- [3] Gibson D.G. *et al.*, Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome, *Science*, **2010**, 359, p. 52.
- [4] Tasse L., Bercovici J., Pizzut-Serin S., Robe P., Tap J., Klopp C., Cantarel B.L., Coutinho P.M., Henrissat B., Leclerc M., Doré J., Monsan P., Remaud-Siméon M., Potocki-Véronèse G., Functional metagenomics to mine the human gut microbiome for dietary fiber catabolic enzymes, *Genome Res.*, **2010**, 20, p. 1605.
- [5] Champion E., André I., Moulis C., Boutet J., Descroix K., Morel S., Monsan P., Mulard L., Remaud-Siméon M., Design of  $\alpha$ -transglucosidases of controlled specificities for programmed chemo-enzymatic

synthesis of antigenic oligosaccharides, *J. Amer. Chem. Soc.*, **2009**, 131, p. 7379.

- [6] Rothlisberger D., Khersonsky O., Wollacott A.M., Jiang L., De Chancie J., Betker J., Gallaher J., Althoff E.A., Zanghellini A, Dym O., Albeck S., Houk K.N., Tawfik D.S., Baker D., Kemp elimination catalysts by computational enzyme design, *Nature*, **2008**, 453, p.190.
- [7] SNRI, « Biologie de synthèse : développements, potentialités et défis », Rapport du Groupe de travail « Biologie de synthèse », **2011**.
- [8] <http://biologie-synthese.cnam.fr>
- [9] Soucaille P., communication personnelle, **2012**.
- [10] [www.biofuelsdigest.com/bdigest/2012/07/20/coskata-switches-from-biomass-to-natural-gas-to-raise-100m-in-natgas-oriented-private-placement](http://www.biofuelsdigest.com/bdigest/2012/07/20/coskata-switches-from-biomass-to-natural-gas-to-raise-100m-in-natgas-oriented-private-placement)
- [11] [www.toulouse-white-biotechnology.com](http://www.toulouse-white-biotechnology.com)

© Gilles Cattiau/Inra



### Pierre Monsan

est professeur à l'INSA Toulouse et Mines ParisTech et directeur de Toulouse White Biotechnology\*

\* Toulouse White Biotechnology, UMS INRA 1337, UMS CNRS 3582, 135 avenue de Rangueil, F-31077 Toulouse Cedex 4.  
Courriel : Pierre.Monsan@insa-toulouse.fr



## Mise à jour du catalogue plus de 8 000 nouveaux produits

Alfa Aesar, a Johnson Matthey Company, annonce la sortie de son catalogue 2013-2015 de produits chimiques, métaux et matériaux pour la recherche. Ce nouveau catalogue inclut plus de 8000 nouveaux produits parmi lesquels :

- des benzène sulfonamides,
- des benzamides,
- des catalyseurs homogènes à base de métaux précieux,
- des ligands chiraux,
- des thiourées,
- des composés hétérocycliques,
- des réactifs de click chemistry,
- des chlorures de sulfonyle,
- des acides carboxyliques,
- des acides boroniques,
- des organofluorés,
- des réactifs de Grignard,
- et bien d'autres encore.



Un grand nombre de ces nouveaux produits sont uniques et disponibles exclusivement auprès d'Alfa Aesar.

**Demandez votre catalogue [www.alfa.com](http://www.alfa.com)**

[www.alfa.com](http://www.alfa.com)

**Alfa Aesar**<sup>®</sup>  
A Johnson Matthey Company

# L'ingénierie combinatoire des génomes

## Une clé pour la création de voies biosynthétiques artificielles

Denis Pompon, Thomas Lautier, Gilles Truan et Philippe Urban

**Résumé** Les méthodes combinatoires d'ingénierie métabolique, contrairement aux approches classiques de reconstruction et d'optimisation par essai-erreur, visent à générer en une seule étape une large gamme de combinaisons alternatives de biocatalyseurs, tant au niveau de leurs natures que de leurs niveaux d'expression. Ces combinaisons sont alors sélectionnées pour la production par le micro-organisme de la molécule d'intérêt. Cet article décrit comment de nouvelles approches de reconstruction et d'ingénierie des génomes rendent maintenant possible la mise en place de procédures d'ingénierie combinatoire permettant de créer soit une diversité moléculaire autour d'une plateforme structurale, soit d'accélérer considérablement la construction de voies de biosynthèses artificielles ciblant des molécules d'intérêt industriel.

**Mots-clés** Ingénierie des génomes, approches combinatoires, ingénierie métabolique, biologie de synthèse, biotechnologies.

**Abstract** **Combinatorial genome engineering: a key stone to build artificial biosynthetic pathways** Combinatorial approaches of metabolic engineering, in contrast to conventional methods of reconstruction and optimization by trial and error, aim to generate single-pot combination of a wide range of alternative biocatalysts, differing both in their natures as in their expression levels. These combinations are then selected for production by the microorganism of the product of interest. This article describes how the development of new approaches of reconstruction and genome engineering now makes possible the implementation of combinatorial engineering procedures to create molecular diversity around a structural platform or greatly accelerate the construction of artificial biosynthetic pathways targeting molecule of industrial interest.

**Keywords** Genome engineering, combinatorial methods, metabolic engineering, synthetic biology, biotechnology.

### Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque\* sont définis ci-dessous.

**Exonucléase T5** : enzyme capable de dégrader un ADN de manière processive à partir de ses extrémités. Il existe grand nombre d'exonucléases qui se distinguent par leurs propriétés (sens de dégradation 3'-5' ou inverse, simple ou double brin, etc.).

**Hybridation** : réaction par laquelle deux brins d'ADN complémentaires s'apparient de manière antiparallèle par une série de liaisons hydrogène entre bases.

**Ligases** : enzymes capables de suturer deux fragments d'ADN en formant une liaison covalente entre l'extrémité 5'-phosphate d'un brin d'ADN et l'extrémité 3'-(désoxyribose) d'un autre brin.

**Métagénomes** : ensemble des séquences d'ADN contenu dans un échantillon naturel de matière hétérogène provenant d'un environnement spécifique. L'ADN provient des organismes contenus dans l'échantillon sans que l'on sache *a priori* associer une séquence de la collection à un organisme spécifique.

**Polymérases** : enzymes capables de synthétiser un ADN à partir de nucléotides triphosphates en utilisant comme matrice un ADN ou un ARN complémentaire. Les polymérases utilisées pour la PCR (réaction de polymérisation en chaîne) sont thermostables.

**Recombinaison** : mécanisme biologique complexe capable de fusionner ensemble deux ADN double brin au niveau de séquences identiques ou très semblables. Un double événement de recombinaison est impliqué dans les processus de réparation de l'ADN à la manière dont on réparerait un trou dans du tissu par une pièce en respectant la concordance des motifs sur les bords.

**Rétrosynthèse** : approche pour créer un schéma de synthèse d'une molécule complexe consistant à partir de la molécule cible à la décomposer de manière virtuelle en sous-ensembles de plus en plus petits jusqu'à rejoindre des molécules disponibles. La décomposition est effectuée de manière à ce que la recombinaison soit possible par des mécanismes chimiques ou des activités enzymatiques connues.

**XNA** : abréviation formée par analogie avec DNA (ADN) et caractérisant une structure moléculaire comportant de l'information génétique codée par des bases non naturelles. La lettre X rappelle le caractère non naturel.

L'ingénierie métabolique des micro-organismes représente une alternative innovante et durable pour la synthèse d'une large gamme de molécules d'intérêt industriel. Une telle ingénierie implique l'expression simultanée d'une série de biocatalyseurs, souvent issus de la biodiversité naturelle, voire d'ingénierie associée à la surexpression ou, à l'inverse, à l'atténuation de gènes endogènes.

L'ingénierie des biocatalyseurs s'est considérablement développée au cours des vingt dernières années, tant à un niveau conceptuel, au travers des approches *in silico*, qu'à un niveau de l'accès à la biodiversité au travers de l'accumulation des séquences de génomes et de métagénomes\* [1]. L'ingénierie par évolution dirigée des protéines a aussi joué un rôle majeur en permettant la génération d'activités non naturelles ou l'adaptation, souvent décisive, de biocatalyseurs à des conditions industrielles. La variable d'ajustement est alors la nature des acides aminés au sein de la séquence des biocatalyseurs, le principe étant de générer de la diversité, puis de sélectionner et recombiner les changements les plus favorables à une activité donnée [2]. Cet enjeu a donné lieu à de très nombreuses solutions, tant autour de la manière rationnelle ou semi-rationnelle de choisir la combinatoire initiale, que des solutions technologiques pour construire les banques ou redistribuer les solutions gagnantes entre les séquences. Le concept est maintenant de remplacer l'unité « acide aminé » par l'unité « gène » et l'optimisation d'une activité enzymatique isolée par la recherche d'une voie biosynthétique optimale intégrée au

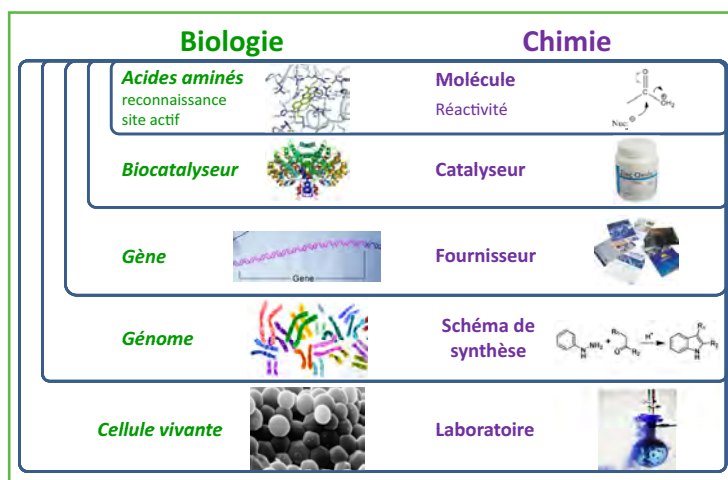


Figure 1 - Biologie et chimie : un parallèle aux différentes échelles des approches synthétiques.

#### Encadré 1

##### Notion d'organismes donneurs et accepteurs

Lors de la reconstruction d'une voie métabolique, on distingue « l'organisme accepteur », qui est celui dans lequel la voie métabolique artificielle va être reconstruite, du ou des « organismes donneurs », qui sont les espèces qui vont servir de sources pour les gènes à assembler. Ces sources peuvent être quelconques puisque le transfert d'un gène entre le donneur et l'accepteur n'est en général pas direct et fait l'objet d'un recodage qui permet de rendre compatibles les informations transférées ou d'en modifier certaines parties (niveau d'expression ou régulation par exemple). Il est donc possible d'assembler dans un même « organisme accepteur » des gènes d'origines très différentes issus de génomes, de métagénomes, voire partiellement ou totalement artificiels. Le choix de l'organisme accepteur est critique en fonction de l'application ciblée. En effet, celui-ci va fournir tout l'environnement de la biosynthèse, y compris les différentes molécules énergétiques nécessaires. Il faudra aussi éviter que le métabolisme propre de « l'accepteur » perturbe de manière incontrôlée la voie biosynthétique artificielle.

sein d'un organisme (*figure 1*). En d'autres termes, il s'agit de transposer les techniques éprouvées d'évolution dirigée des protéines à la création, par des approches combinatoires, de voies métaboliques artificielles au sein d'un organisme hôte.

## Comment concevoir une voie biosynthétique artificielle

La première approche à laquelle on pense est de copier la Nature – le « magasin du Bon Dieu » comme aimait à dire Pierre Potier – qui met à notre disposition un nombre incroyable d'exemples au travers des voies de biosynthèse naturelles. La taille accessible de ce « magasin » a littéralement explosé au cours des dernières années avec le développement des approches de séquençage à très haut débit des génomes et des métagénomes (génomes de mélanges d'organismes non définis) associées à la mise en place de plateformes performantes d'analyse des fonctions enzymatiques correspondantes [3]. Dans le schéma le plus simple, une voie artificielle de biosynthèse va constituer la copie presque conforme d'une voie naturelle, et n'en différer que par les optimisations permettant de cibler la molécule d'intérêt avec des rendements en matière et en énergie optimisés. Souvent, il va s'agir d'une transposition entre un organisme « donneur » qui sait faire, mais est mal adapté à un procédé industriel, et un organisme « accepteur », qui ne sait pas faire

naturellement ou fait mal, mais qui est bien adapté aux contraintes industrielles (voir *encadré 1*). Cette transposition peut néanmoins poser de nombreux problèmes, en particulier de connexion et d'interférences entre le métabolisme artificiel et le métabolisme naturel de « l'hôte » d'accueil.

Un second cas plus complexe est celui où une espèce « source » produisant la molécule d'intérêt est connue, mais où la voie de biosynthèse sous-jacente est partiellement voire totalement inconnue. Le cas extrême est celui où aucun organisme connu ne produit la molécule d'intérêt. S'ouvre alors une démarche centrale à la biologie de synthèse : tenter de copier la voie métabolique ou la reconcevoir. En effet la logique de la Nature n'est pas celle de l'ingénieur. Les voies naturelles de biosynthèse font partie d'un « système » qui ne vise qu'un objectif, la survie et l'avantage compétitif de l'espèce. À l'inverse, une voie biosynthétique artificielle cible une molécule ou une famille de molécules *a priori* sans intérêt spécifique pour l'organisme hôte. En d'autres termes, le biotechnologiste peut avoir tout intérêt à s'éloigner de la logique de la Nature, dans une démarche se rapprochant alors de celle du chimiste. La première étape est de constituer un catalogue des réactions possibles au travers d'un ensemble de bases de données [4] ; la seconde étape est de mettre en place une approche de rétrosynthèse\* partant de la molécule cible pour rejoindre, aux travers de biocatalyseurs connus (ou possibles à construire), une molécule du métabolisme d'un organisme hôte utilisable pour un bioprocédé. Explorer les chemins possibles est maintenant réalisable grâce à différentes approches bioinformatiques basées sur l'analyse de flux métaboliques et de bilans matière et énergie [5]. Une telle approche dégage deux types de contraintes :

- l'une relative à la collection de biocatalyseurs nécessaires (spécifiques et non plus seulement génériques), qu'il faudra alors identifier dans la biodiversité ou créer ;
- l'autre au niveau du couplage avec le métabolisme de l'hôte, qui doit bien sûr être rendu non limitant.

Une constante de ce type d'approche est malheureusement de générer la plupart du temps de nombreuses solutions potentielles difficiles à documenter sans aller à un niveau expérimental. À ce stade, deux solutions : soit faire un pari en privilégiant une solution et la tester puis tenter de l'optimiser, soit s'en remettre au hasard en mettant en place une stratégie combinatoire capable d'explorer en parallèle un grand nombre de solutions alternatives (*figure 2*).

## Des gènes synthétiques : la boîte à outils

La construction d'une voie métabolique synthétique passe par l'assemblage des gènes qui codent pour les différentes étapes enzymatiques impliquées (*figure 3*). Chacun de ces gènes est caractérisé par deux éléments principaux : un élément dit « promoteur », qui contrôle dans quelles conditions et à quel niveau un gène va s'exprimer, et un élément dit « codant », qui définit la séquence en acides aminés et, par conséquent, l'activité du biocatalyseur et d'autres aspects annexes comme sa localisation dans la cellule. L'ingénierie de promoteurs synthétiques [6] permet de générer une large gamme de niveaux d'expression dont l'ajustement (voire la régulation) est critique pour l'équilibre de la voie de biosynthèse artificielle. La plupart du temps, pour chaque étape de la biosynthèse, plusieurs choix d'enzymes naturels ou modifiés sont aussi possibles. Le développement commercial de la synthèse chimique d'ADN permet actuellement d'accéder rapidement et à bas coût (~ 0,30 € la paire

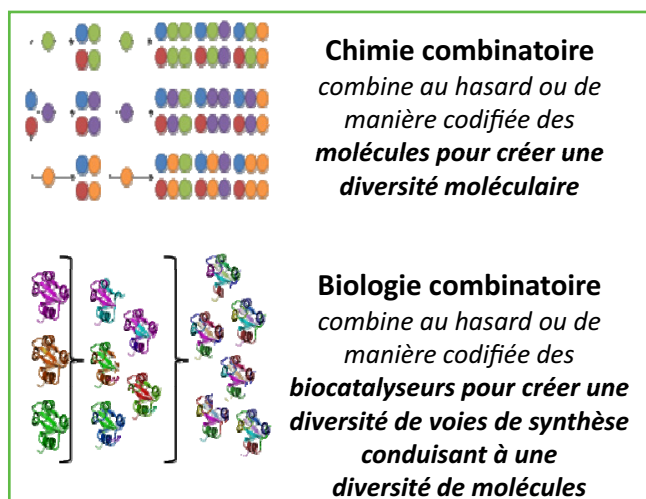


Figure 2 - La combinatoire des molécules à l'organisme.

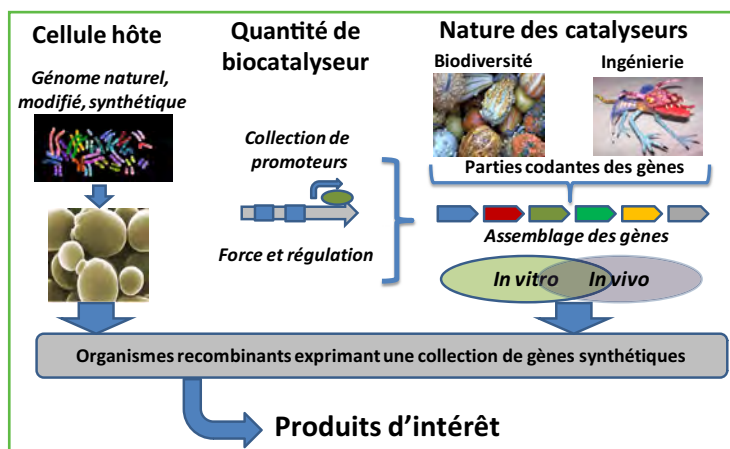


Figure 3 - Nature, quantité et environnement des biocatalyseurs s'assemblent pour former l'usine biologique.

de base) à n'importe quelle partie codante d'ADN à partir de sa simple séquence informatique, qu'elle soit naturelle ou artificielle. Les fragments d'ADN promoteurs, parties codantes et annexes sont alors facilement assemblés par ligation ou recombinaison\* enzymatique (voir encadré 2). Du fait des relations non linéaires entre le niveau de transcription, le niveau de la synthèse des protéines et l'activité enzymatique dans le contexte d'un micro-organisme, seule l'expérience peut à ce point valider les constructions optimales qui dépendent largement de la protéine considérée, même pour des montages génétiques comparables.

## De l'ingénierie individuelle à l'ingénierie collective des gènes

Dans l'approche classique de reconstruction métabolique (figure 4), celle-ci est menée étape par étape, les paramètres de chaque étape étant ajustés par essai-erreur. Le problème est que les mécanismes de couplage entre les étapes et les interactions parasites entre le métabolisme synthétique et le métabolisme de l'hôte sont souvent peu prévisibles, conduisant fréquemment à la nécessité d'importants retours en arrière pour aboutir à une optimisation globale. L'ensemble du processus est donc particulièrement long et mène souvent à une solution optimale en condition de laboratoire, mais qui doit être largement retravaillée lorsque le transfert en conditions industrielles est considéré. Les approches combinatoires, qui font l'objet de travaux récents [7-8], consistent au

### Encadré 2

#### Quelques techniques innovantes pour l'assemblage de gènes

##### Une synthèse en phase solide pour l'assemblage de modules

Cette approche [18] est plus adaptée à l'association de petits fragments d'ADN et consiste à élonger séquentiellement un ADN amorce attaché par une extrémité sur un support solide. L'élongation est effectuée au travers de cycles d'hybridation et de ligation de petits oligonucléotides chevauchants. L'astuce consiste à débiter chaque étape d'élongation n par une étape de blocage par un excès d'un oligonucléotide spécifique de l'étape n-1. Ce dernier est choisi pour bloquer toute possibilité d'élongation ultérieure en cas d'échec d'une des étapes de couplage au cycle précédent. L'opération peut être facilement automatisée sur un robot. Une étape finale d'amplification par PCR (« polymerase chain reaction », réaction de polymérisation en chaîne) permet de n'amplifier que les fragments totalement élongés et de s'affranchir du support. Les fragments obtenus sont alors fusionnés entre eux par d'autres méthodes. De fait, cette approche est une transposition à l'échelle de l'assemblage de fragments d'ADN, de la méthode de synthèse en phase solide par voie chimique des oligonucléotides à partir de bases protégées. Par cette approche, des banques combinatoires de gènes ont pu être créées en quelques heures.

##### La méthode de Gibson

Cette approche [13], applicable à des fragments d'ADN de  $10^2$  à  $10^4$  paires de base, est fondée sur la génération d'extrémités cohésives entre fragments et permet d'assembler de manière spécifique plusieurs segments d'ADN en une seule étape. Elle consiste à dégrader partiellement les extrémités 5' de chaque fragment par l'exonucléase T5\*. Les brins complémentaires des segments d'ADN ainsi dénudés vont alors se reconnaître spécifiquement par hybridation\*. L'astuce consiste à introduire dans le même mélange une polymérase\* et une ligase\* thermostables et à faire la réaction à une température où seule l'exonucléase est instable. Dès qu'un hybride est formé entre fragments, la polymérase étend les extrémités 3' libres, alors que l'exonucléase cesse progressivement de dégrader les côtés 5-. Les trous initiaux se rebouchent donc et la ligase achève alors le travail de réparation en recollant les extrémités 3' et 5' libres, faisant disparaître toute trace de la fusion. Par cette approche, de nombreux fragments d'ADN peuvent être fusionnés dans un ordre parfaitement défini jusqu'à des tailles de l'ordre de  $10^4$  paires de base, voire au-delà. Ces fragments longs peuvent être alors associés entre eux par des méthodes de recombinaison *in vivo*.

##### La méthode GoldenBraid

Cette approche [19] est plus spécifiquement dédiée à l'assemblage contrôlé ou combinatoire de gènes complets. Dans une première étape, les gènes individuels sont assemblés sous forme de cassettes standardisées dont les extrémités comportent des sites convergents pour l'enzyme de restriction BsaI. Ces sites de coupure double brin sont particuliers car, bien que la séquence reconnue par l'enzyme soit présente aux extrémités de tous les gènes à assembler, la coupure s'effectue à une distance fixe du site de reconnaissance dans une zone où la séquence peut être quelconque. Les extrémités « simple brin » résultant de la coupure ne seront donc hybridables que pour les fragments présentant des extrémités aux séquences complémentaires. Il en résulte des règles d'association spécifiques qui permettent de contrôler à volonté, après réparation par ligation, le mode d'assemblage des différents gènes ou combinaison de gènes.

contraire à générer dès le départ une bibliothèque explorant le maximum de facteurs prévisibles (notamment la nature et les niveaux d'expression des enzymes) susceptibles d'influencer la biosynthèse ciblée. Chaque micro-organisme dans la bibliothèque obtenue va exprimer une combinaison différente de variants des gènes d'intérêt, voire des jeux de gènes partiellement différents si l'on recherche la génération de biodiversité moléculaire. Une étape de sélection fonctionnelle permet d'extraire de la population un sous-ensemble de gagnants (figure 4). Néanmoins, une solution optimale est rarement obtenue à ce stade pour deux raisons :

- le caractère généralement incomplet de la combinatoire initiale ;
- la présence d'interférences non optimales (souvent délétères) avec le métabolisme propre de l'hôte.

Afin de corriger le premier point, les solutions gagnantes sont alors mélangées au niveau génétique, générant une nouvelle bibliothèque (voir encadré 3). Par ailleurs, de nouveaux gènes « nourriciers » de l'hôte peuvent être surexprimés, détruits ou atténués à ce stade. Le processus de tri fonctionnel est alors recommencé jusqu'à convergence vers une ou plusieurs solutions optimales. Un intérêt de cette

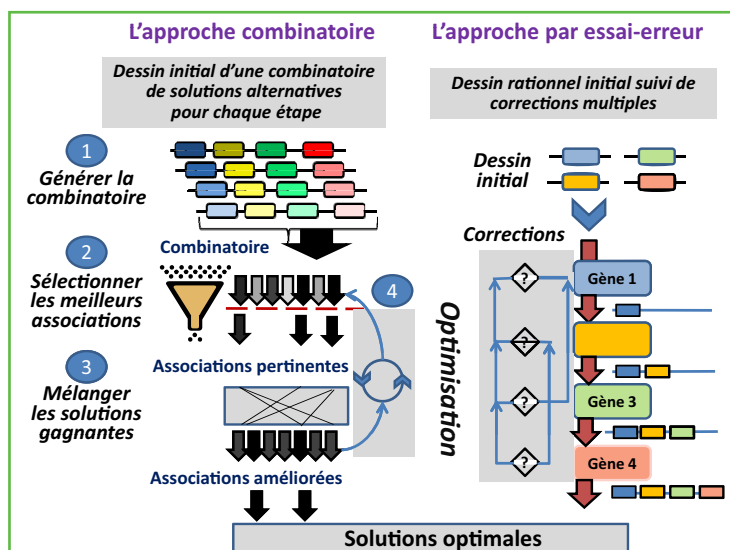


Figure 4 - Approches combinatoires et séquentielles de l'ingénierie métabolique.

### Encadré 3

#### Quand un parasite de plantes vient au secours de l'ingénieur

La réparation des cassures et des dommages de l'ADN est un mécanisme critique pour la vie. Lorsque cette cassure n'implique qu'un seul des brins de l'ADN, la réparation peut facilement être effectuée par les enzymes de maintien tels que les exonucléases\*, les polymérase\* et les ligases\* en utilisant l'information de l'autre brin pour reconstruire les séquences détériorées. Si la cassure et les dégâts impliquent les deux brins simultanément, ce mécanisme est inopérant et une « réparation d'urgence » par simple ligation conduit souvent à de la perte ou à des erreurs d'information. Un second mécanisme, la recombinaison homologue, peut alors prendre le relais. Dans ce mécanisme, la cellule va chercher « quelque part » une séquence ressemblant à celles présentes sur les deux bords de la cassure et tenter de copier ailleurs un fragment de séquence permettant de réparer, non seulement la cassure, mais aussi de reconstruire l'information qui aurait pu être perdue autour. Ce mécanisme avait été de longue date détourné par les biotechnologues comme outil d'assemblage de fragments multiples d'ADN ou pour modifier les génomes en créant des insertions et des délétions. Néanmoins, dans ce dernier cas, le processus naturel restait peu efficace, rendant son utilisation difficilement automatisable. Le problème restait de déclencher à volonté ce mécanisme. L'idée simple est de contrôler son facteur déclenchant : la formation d'une cassure double brin de l'ADN au bon moment et au bon endroit. Mais alors, comment faire dans un génome comportant des millions, voire des milliards de bases ? Une solution extrêmement performante est venue d'une bactérie parasite des plantes (*Xanthomonas*) qui fabrique des domaines protéiques modulaires (appelés TALE pour « transcription activator-like effector ») capables de reconnaître spécifiquement n'importe quelle séquence d'ADN d'un génome selon la nature et l'ordre d'assemblage de modules structuraux reconnaissant chacun une seule base d'ADN cible selon des règles tout à fait prévisibles. De nombreuses méthodes d'ingénierie de génomes basées sur les TALE [20] ou d'autres domaines synthétiques de reconnaissance [21] se sont donc développées autour de ce principe, mettant en œuvre une fusion entre de tels domaines et un domaine de nucléase rendue ainsi spécifique. Cette approche est applicable à l'ADN génomique et a donné lieu à plusieurs méthodes d'assemblage récurrentes de gènes facilement automatisables.

approche, outre la rapidité et le gain en ressource liés à l'analyse en parallèle des solutions, est que les contraintes industrielles peuvent facilement être introduites dans les derniers cycles combinatoires d'optimisation. Néanmoins, les difficultés techniques de ces approches combinatoires limitent encore à quelques démonstrateurs les exemples pratiques de leur mise en œuvre sur des problèmes industriels.

### Du gène au marché : quelques exemples

Un des exemples historiques de reconstruction réussie de voie complexe de biosynthèse à un niveau compétitif

avec la chimie a été le transfert, chez la levure de boulangerie, de la biosynthèse de l'hydrocortisone, un anti-inflammatoire (ou précurseur) important dont le marché mondial se chiffre autour de la centaine de tonnes/an. Ce projet, fruit d'une collaboration entre le CNRS et des industries pharmaceutiques, a débuté au début des années 1990 à une époque « pré-génomique » pour conduire au début des années 2000 à une preuve de concept préindustrielle [9]. Les modifications génomiques introduites, environ une quinzaine, correspondaient à l'introduction de gènes de mammifères, de plantes ou de micro-organismes et à la suppression de certains gènes de levure. Les optimisations réalisées (variation des niveaux d'expression des gènes, adressage des activités enzymatiques dans des compartiments cellulaires différents de ceux de leur organisme d'origine, et délétion de certaines activités endogènes perturbatrices) ont été réalisées par une approche séquentielle d'essai-erreur couvrant une large gamme de solutions alternatives. Il est à noter que, dans ce cas, la gestion des relations entre métabolisme synthétique et métabolisme de l'hôte et les problèmes de compartimentation des réactions ont constitué les difficultés majeures. Il est très probable que dans le contexte post-génomique actuel et avec la mise en œuvre d'approches combinatoires, une réduction de deux à trois fois du temps nécessaire serait possible pour une ingénierie de même type.

Un second exemple concerne l'introduction réussie en 2006 chez la levure de la voie de biosynthèse de l'acide artémisinique, un précurseur de l'artémisinine (l'un des principaux médicaments antimalarial actuel) [10]. L'extraction de l'artémisinine à partir de sa source naturelle, une plante, était relativement coûteuse et sa synthèse chimique publiée en 1985 trop complexe pour être rentable. Après un travail remarquable de *design* génétique pour optimiser le taux de production du précurseur terpénique naturel, une souche de levure recombinante, qui produit suffisamment d'acide artémisinique pour envisager une production industrielle, a été obtenue. Les modifications introduites dans la levure, une quinzaine dans ce cas aussi, correspondaient à la fois en l'introduction de trois gènes provenant de la plante produisant l'artémisinine (*Artemisia annua*) et à la modification dirigée des niveaux d'expression d'une douzaine de gènes de la levure. Cette fois, grâce aux progrès réalisés dans les domaines de la génomique, ce travail d'optimisation a duré un peu plus de cinq années. La demande mondiale en artémisinine prévue pour 2013 est aussi de l'ordre de la centaine de tonnes, dont 10 % pourraient provenir de la voie recombinante.

Un autre exemple concerne la biosynthèse de caroténoïdes, une famille comptant plus de sept cents molécules différentes à la base d'un nombre important d'applications en nutrition animale ou humaine et en pharmacologie. La reconstitution des voies de biosynthèse de certains caroténoïdes dans des micro-organismes (levures et bactéries) a été largement explorée et est à l'heure actuelle une alternative extrêmement sérieuse à la chimie de synthèse. Différentes stratégies de changement de niveaux d'expression des voies synthétiques ont été développées chez la levure et *E. coli* pour améliorer la production de certains caroténoïdes jusqu'à des niveaux comparables aux meilleurs sources naturelles [11]. L'approche s'étend maintenant aux dérivés du  $\beta$ -carotène, notamment la synthèse de zéaxanthine et d'astaxanthine (figure 5). Par ailleurs, bien que la combinatoire naturelle soit déjà extrêmement riche, une combinatoire synthétique a permis à des chercheurs du groupe de F. Arnold [12] de produire des molécules contenant 35 carbones, alors que les caroténoïdes naturels sont plutôt des C30 ou C40. Ces

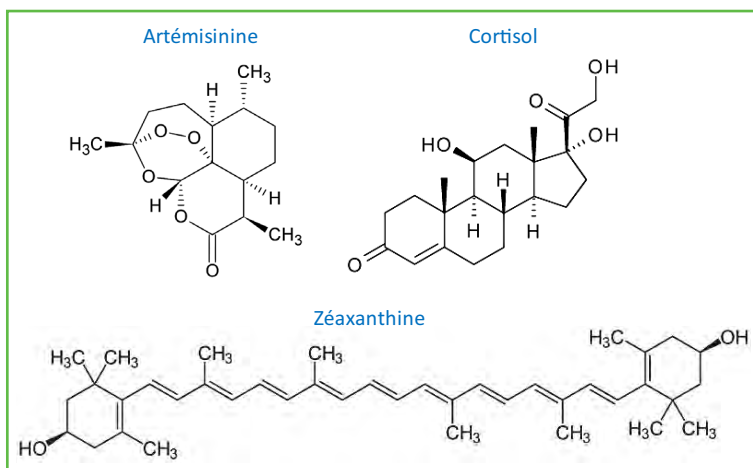


Figure 5 - Quelques formules.

premiers résultats montrent que la juxtaposition d'approches combinatoires en ingénierie des protéines et ingénierie génomique permettra non seulement de reconstruire des voies de biosynthèse, mais également de générer toute une gamme de molécules non naturel les d'intérêt.

## De nouveaux outils pour l'ingénierie des génomes

Les techniques d'ingénierie de séquences et de modifications ciblées des génomes (insertion, mutation, délétion de gènes) ont considérablement évolué au cours de la dernière décennie au travers du développement rapide de l'utilisation d'ADN synthétique et de procédures d'assemblage automatisables. La première révolution doit finalement beaucoup à la chimie et résulte de la baisse majeure des coûts de synthèse des oligonucléotides. Néanmoins, ce progrès initialement incrémentiel a permis une vraie révolution avec la possibilité d'étendre la taille des séquences pouvant être synthétisées de plusieurs ordres de grandeur (jusqu'au million de paires de base et même au-delà). Ceci a été rendu possible par l'association de différentes technologies complémentaires où des séquences courtes (quelques dizaines de nucléotides) synthétisées chimiquement sont d'abord assemblées *in vitro* jusqu'à des tailles atteignant la dizaine de kilobases, puis les blocs résultant assemblés par recombinaison chez la levure pour atteindre la mégabase [13]. Néanmoins, même si cette échelle est adaptée aux génomes bactériens, elle reste encore de deux à trois ordres de grandeurs trop faible pour la synthèse des génomes eucaryotes de plantes ou d'animaux.

La seconde évolution majeure provient du développement alternatif de stratégies d'édition massive beaucoup plus simples que la synthèse totale et mieux adaptées aux grands génomes. Il ne s'agit pas dans ce cas de la resynthèse complète d'un génome, mais d'y apporter un très grand nombre de modifications définies et ciblées (voir encadré 3). L'approche développée dans plusieurs articles récents [14] associe des techniques robotisées de mutagenèse dirigée à des méthodes de recombinaison permettant de combiner ensemble des groupes de mutations générés séparément. De telles approches ont été utilisées pour créer par exemple des souches de la bactérie *E. coli* dans le génome duquel un des codons de terminaison de la synthèse protéique a été systématiquement changé en un autre. Il en résulte un « codon libre » dans le code génétique qui peut être reprogrammé

pour coder pour un acide aminé non naturel, étendant ainsi le code génétique et la gamme des acides aminés utilisables dans les biocatalyseurs. Un autre exemple d'édition massive est la création de souches bactériennes « minimales » au sein desquelles un très grand nombre de gènes non essentiels ont été retirés. Le concept est alors de créer des « usines biologiques » minimales pouvant être reprogrammées plus efficacement pour des fonctions d'intérêt.

## L'assemblage combinatoire de gènes reste encore à maîtriser

Les approches permettant d'associer ensemble dans un organisme un grand nombre de gènes synthétiques constituent un élément clé de toute ingénierie métabolique. Ces dernières années ont vu le développement de nouvelles approches rapides et automatisables. Certaines, permettent par ailleurs de ne pas cibler une combinaison unique de gènes d'intérêt, mais de générer des bibliothèques combinatoires, créant ainsi des combinaisons variables de voies métaboliques synthétiques. Dans la pratique, deux classes complémentaires de solutions ont été développées. Les approches *in vitro* sont dérivées soit d'approches classiques de ligation enzymatique de mélange de gènes, soit d'approches plus originales dérivées des mêmes techniques que celles utilisées pour reconstruire des génomes synthétiques. L'une des plus performantes, développée par Gibson *et coll.* [13], permet d'assembler en une seule étape un grand nombre de fragments d'ADN (voir encadré 2). Les approches *in vivo* visent, elles, à construire directement au sein d'un micro-organisme d'intérêt l'assemblage combinatoire de gènes conduisant à la bibliothèque de voie métabolique. Plusieurs solutions techniques ont été publiées pour automatiser le procédé en résolvant en particulier le problème des marqueurs et des réactions parasites [15-16]. Néanmoins, ces solutions présentent généralement la limitation commune de conduire à l'assemblage d'un cluster de gènes synthétiques très délicat à modifier une fois formé. D'autres approches évitant cette limitation, grâce à des intégrations dispersées dans le génome, ont au contraire l'inconvénient d'être difficilement automatisables ou de conduire à des combinatoires biaisées.

## Le mélange de génomes

Mélanger deux génomes, c'est ce que font deux parents pour faire un enfant. Chez la plupart des organismes eucaryotes, ce processus conduit à une redistribution aléatoire des gènes parentaux au cours de la méiose notamment. Chez les micro-organismes tels que les levures, la méiose est un moyen simple pour redistribuer des caractères biotechnologiques d'intérêt, qu'ils soient naturels ou synthétiques. Une condition cependant : le processus n'est efficace que si les gènes à mélanger ne sont pas trop proches (> 100 kilobases) sur les chromosomes. Dans le cas d'une ingénierie impliquant des gènes synthétiques et/ou modifiés, ceux-ci doivent donc être relativement dispersés dans le génome, ce qui est peu compatible avec la majorité des méthodes d'ingénierie combinatoires déjà discutées. L'autre problème est que la méiose va mélanger au hasard, non seulement les gènes d'intérêt, mais aussi de nombreux autres dont l'effet est souvent inconnu. Ce phénomène va « brouiller » la combinatoire et rendre difficile l'utilisation pratique du mélange de génomes comme outil d'optimisation de voies métaboliques synthétiques. La solution, qui fait l'objet de recherches

actives, consiste d'une part à développer des techniques pour créer des banques combinatoires de qualité dispersées dans le génome et non plus localisées, d'autre part à une ingénierie de la machinerie de recombinaison méiotique elle-même, afin de contrôler quels gènes ou zones du génome seront autorisés ou non à s'échanger [17] (voir encadré 3).

## Biologie synthétique et biologie des systèmes : comprendre la Nature pour mieux l'employer

Bien connaître le fonctionnement métabolique de la cellule receveuse, châssis sur lequel se greffe la voie synthétique, est essentiel pour que la voie s'y intègre harmonieusement. La biologie des systèmes étudie des systèmes biologiques complexes comme un tout intégré, en utilisant des outils de modélisation, de simulation, et en les confrontant aux résultats expérimentaux. Elle s'appuie sur la quantité colossale de données issues des approches en « omiques » (génomique, protéomique, métabolomique, fluxomique, etc.). Traiter cette masse de données nécessite des techniques computationnelles basées sur la fusion de concepts de disciplines différentes, incluant la biologie, l'informatique, les mathématiques appliquées, la physique et les sciences de l'ingénieur. La biologie synthétique se nourrit de la biologie des systèmes par la prise en compte de la logique du vivant où l'on doit réaliser l'équation complexe de « respecter » un minimum l'hôte, si on veut qu'il travaille pour nous, tout en l'exploitant au maximum. L'ingénierie associée à la biologie synthétique va perturber de manière profonde le système hôte. Comprendre au travers d'approches de biologie des systèmes comment l'hôte va accommoder ces bouleversements représente aussi un enjeu majeur pour aboutir à des ingénieries plus efficaces ; « *La vie est une interaction entre molécules et non la propriété d'une seule* » (Linus Pauling). La biologie de synthèse construit des systèmes complexes en assemblant des briques biologiques sans trop se soucier de la logique du vivant (voir encadré 4). Mais couplée aux approches quantitatives, prédictives et dynamiques de la biologie des systèmes, elle permet d'appréhender le maillage essentiel des réseaux qui gouverne la stabilité du vivant, tant aux niveaux moléculaire que cellulaire. La biologie de synthèse nous place en tant qu'acteur sur cette scène. Il est donc essentiel pour gagner de découvrir les « règles du jeu » qualitatives et quantitatives qui gouvernent le comportement et la plasticité des systèmes biologiques.

## Références

- [1] Godzik A., Metagenomics and the protein universe, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **2011**, 21(3), p. 398.
- [2] Brustad E.M., Arnold F.H., Optimizing non natural protein function with directed evolution, *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **2011**, 15(2), p. 201.
- [3] Ekkers D.M. *et al.*, The great screen anomaly: a new frontier in product discovery through functional metagenomics, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2012**, 93, p. 1005.
- [4] Wishart D.S., Computational approaches to metabolomics, *Methods Mol. Biol.*, **2010**, 593, p. 283.
- [5] Carbonell P. *et al.*, Enumerating metabolic pathways for the production of heterologous target chemicals in chassis organisms, *B.M.C. Syst. Biol.*, **2012**, 6, p. 10.
- [6] Cox R. *et al.*, Programming gene expression with combinatorial promoters, *Mol. Syst. Biol.*, **2007**, 3, p. 145.
- [7] Sandoval N. *et al.*, Strategy for directing combinatorial genome engineering in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2012**, 109, p. 10540.
- [8] Church G.M., Programming cells by multiplex genome engineering and accelerated evolution, *Nature*, **2009**, 460, p. 894.
- [9] Szczebara F. *et al.*, Total biosynthesis of hydrocortisone from a simple carbon source in yeast, *Nat. Biotechnol.*, **2003**, 21, p. 143.
- [10] Ro D.-K. *et al.*, Production of the antimalarial drug precursor artemisinic acid in engineered yeast, *Nature*, **2006**, 440, p. 940.

### Encadré 4

#### La biologie orthogonale

Un système orthogonal d'information génétique vise à créer un code génétique synthétique ne pouvant être interprété par les organismes naturels avec deux avantages potentiels : limiter les possibilités de dispersion dans l'environnement de l'information génétique artificielle et donner accès à un code génétique étendu pouvant être codé sur plus de quatre bases par exemple. Cette approche est basée sur le développement d'acides xéno-nucléiques (XNA\*) qui contiennent soit des bases non naturelles, soit un squelette s'éloignant du motif poly-désoxyribose phosphate [22]. Les limitations actuelles viennent d'une part de la nécessité de créer des processus de synthèse biologique de ces bases modifiées, d'autre part d'apprendre à l'organisme à répliquer de manière stable et à exprimer ce matériel génétique alternatif. Les acides aminés non naturels constituent une extension de cette approche. La combinatoire de la vingtaine d'acides aminés naturels reste limitée au niveau des fonctionnalités chimiques exploitables par les biocatalyseurs. La synthèse chimique en phase solide de peptides, les systèmes de traduction *in vitro* ou le développement de nouveaux aminoacyl-ARNt et de leur synthétase ont déjà permis de tester la fonctionnalité d'une centaine d'acides aminés non naturels, comportant une réactivité chimique, une fluorescence ou des possibilités de modification particulières. Toutefois, l'utilisation dans des systèmes vivants de ces analogues reste délicate et conduit à des biocatalyseurs souvent instables. Ces limitations pourront être atténuées par approches semi-rationnelles d'évolution dirigée et de modélisation [2].

- [11] Harada H., Misawa N., Novel approaches and achievements in biosynthesis of functional isoprenoids in *Escherichia coli*, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2009**, 86(6), p. 1021.
- [12] Umeno D., Arnold F.H., A C35 carotenoid biosynthetic pathway, *Appl. Environ. Microbiol.*, **2003**, 69, p. 3573.
- [13] Gibson D. *et al.*, Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome, *Science*, **2010**, 329, p. 52.
- [14] Isaacs F. *et al.*, Precise manipulation of chromosomes *in vivo* enables genome-wide codon replacement, *Science*, **2011**, 333, p. 348.
- [15] Winkler L. *et al.*, Reiterative recombination for the *in vivo* assembly of libraries of multigene pathways, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2011**, 108, p. 15135.
- [16] Shao Z., Zhao H., Zhao H., DNA assembler, an *in vivo* genetic method for rapid construction of biochemical pathways, *Nucleic Acids Res.*, **2009**, 37, p. e16.
- [17] Lichten M., de Massy B., The impressionistic landscape of meiotic recombination, *Cell*, **2011**, 147(2), p. 267.
- [18] Briggs A.W. *et al.*, Iterative capped assembly: rapid and scalable synthesis of repeat-module DNA such as TAL effectors from individual monomers, *Nucleic Acids Res.*, **2012**, p. e117.
- [19] Sarrion-Perdigones A. *et al.*, GoldenBraid: an iterative cloning system for standardized assembly of reusable genetic modules, *PLoS ONE*, **2011**, 6(7), p. e21622.
- [20] Li T. *et al.*, Modularly assembled designer TAL effector nucleases for targeted gene knockout and gene replacement in eukaryotes, *Nucleic Acids Res.*, **2011**, 39, p. 6315.
- [21] Arnould S. *et al.*, The I-Crel meganuclease and its engineered derivatives: applications from cell modification to gene therapy, *Protein Eng. Des. Sel.*, **2011**, 24(1-2), p. 27.
- [22] Chaput J.C. *et al.*, The emerging world of synthetic genetics, *Chem. Biol.*, **2012**, 19(11), p. 1360.



D. Pompon



T. Lautier



G. Truan



P. Urban

Denis Pompon (auteur correspondant), Thomas Lautier, Gilles Truan et Philippe Urban sont chercheurs CNRS au Laboratoire d'ingénierie des systèmes biologiques et des procédés, LISBP-INSA, à Toulouse\*.

\* LISBP-INSA Toulouse, UMR INSA/CNRS 5504 - UMR INSA/INRA 792, 135 avenue de Ranguieu, F-31077 Toulouse Cedex 4.  
Courriel : denis.pompon@insa-toulouse.fr  
www.lisbp.fr

# La conception rationnelle de ferments biologiques

## Comment concevoir un micro-organisme pour produire un composé chimique spécifique

Cyrille Pauthenier, Pablo Carbonell et Jean-Loup Faulon

**Résumé** L'utilisation de micro-organismes pour produire des composés chimiques par fermentation à usage industriel est vue par la communauté comme une alternative durable à la chimie traditionnelle. Ces procédés ont entre autres l'avantage d'utiliser des sources de carbone renouvelables, de demander moins d'énergie et de ne pas produire de déchets polluants. L'ingénierie métabolique est une discipline qui vise à fabriquer artificiellement des organismes capables de produire un produit chimique voulu en les modifiant génétiquement. La tâche est ardue, mais à ce jour la production de plus d'une centaine de composés chimiques différents a été étudiée. Cet article décrit les concepts et les méthodes informatiques qui peuvent aider l'ingénieur à concevoir rationnellement des souches de micro-organismes et à maximiser les rendements. On peut penser que grâce à ces méthodes, les nouvelles générations de micro-organismes seront à la hauteur des attentes des industriels et de la société.

**Mots-clés** Ingénierie métabolique, micro-organismes modifiés, outils informatiques, conception automatique, production dirigée de composés chimiques.

**Abstract** Rational design of fermenting microorganisms: how to design microorganisms to produce a target compound

An alternative to traditional chemical production is to create the same compound through microbial fermentation. This process has several major advantages: it uses renewable carbon sources, is less energy-consuming and does not produce dangerous pollutants. Metabolic engineering aims at artificially building organisms capable of producing a chemical compound at will. Despite the difficulty of the task, up to now the preparation by fermentation of more than one hundred different compounds has been reported. This article describes the methodology and the computer tools that can help the engineer to conceive strains of organisms rationally and to boost the yields. With no doubt the new generation of microorganisms will match industry's expectations as well as social needs.

**Keywords** Metabolic engineering, modified microorganisms, computers tools, automotive conception, directed production of chemical compounds.

Le grand défi du XXI<sup>e</sup> siècle sera de réussir à inventer une chimie basée sur des ressources renouvelables et qui soit respectueuse de l'environnement. Dans cet objectif et en parallèle des développements de la chimie verte, l'ingénierie métabolique est une discipline qui vise à fabriquer des composés chimiques à usage industriel en utilisant la fermentation de micro-organismes génétiquement modifiés. Le principe consiste à construire de nouvelles voies métaboliques par des méthodes de génie génétique et à les intégrer au métabolisme de la cellule afin d'obtenir des rendements importants de transformation de la biomasse en composé fini. À ce jour, la fermentation de plus de 130 composés a été explorée selon cette méthode [1] et quelques dizaines d'entre eux sont en phase d'étude industrielle ou en production industrielle.

Il est possible de concevoir manuellement une voie métabolique de synthèse, mais comme nous allons le voir, il existe un grand nombre d'outils qui permettent au chercheur de

faire une étude plus approfondie et plus exhaustive, proposant ainsi des améliorations que l'on ne peut anticiper à partir d'une simple étude des cartes métaboliques. Dans cet article, nous replaçons l'ensemble des concepts, des méthodologies et des outils informatiques dans une sorte de feuille de route qui s'étend de la conception à l'optimisation finale de la souche. L'accent est porté sur ce que chacune des méthodes proposées peut ou ne peut pas apporter à l'étude.

Dans la première section de l'article, nous donnons les principes à appliquer pour identifier et construire une voie métabolique efficace. Dans la seconde, nous voyons comment il est possible de l'optimiser, et dans la troisième, nous introduisons la méthode d'analyse de flux qui permet d'intégrer la nouvelle voie métabolique au cœur du métabolisme de la cellule. Enfin, nous présentons les outils informatiques qui ont été développés pour identifier les meilleures voies métaboliques de manière automatique et plus exhaustive qu'une recherche manuelle.



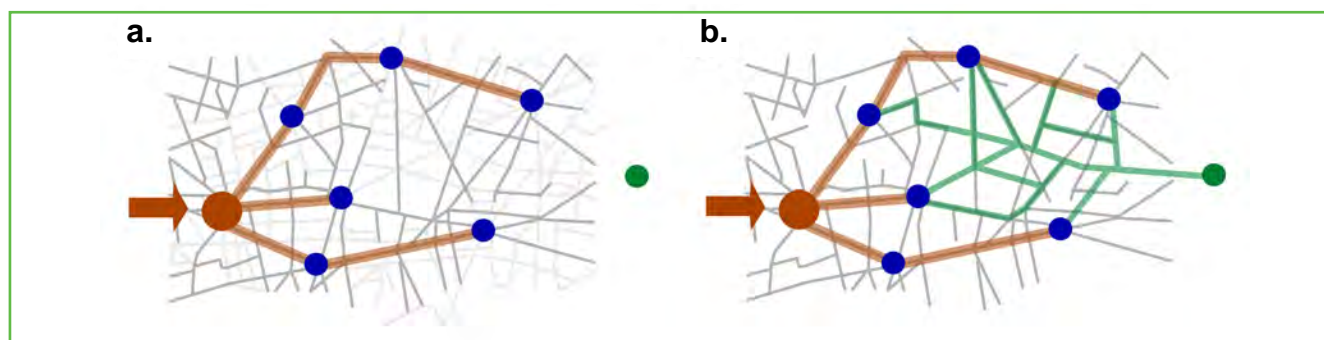


Figure 1 - Identification des réactions menant des sources au produit.

Nous utilisons ici une analogie entre le travail de l'ingénieur métabolique et celui de l'urbaniste. Est représenté sur cette figure en gris foncé l'ensemble des rues (voies métaboliques) existantes dans la ville (l'organisme hôte), et en gris clair les rues qu'il est possible de construire. L'objectif de l'urbaniste est d'obtenir une circulation fluide et optimisée du point rouge (source de carbone) au point vert (produit visé). Pour cela, (a) il identifie les routes ayant une forte capacité (en rouge) et les carrefours capables d'orienter un grand nombre de voitures (points bleus). Il va ensuite (b) voir les différentes routes qu'il peut construire (en vert), en privilégiant l'élargissement de voies existantes à la création de nouveaux axes. À l'issue de son étude, il énumère les différentes options et choisit celles qui lui semblent les plus pertinentes. Nous verrons dans la suite de l'article comment utiliser les outils informatiques pour optimiser la circulation (les flux) selon ces axes.

Aucune étude n'a jamais intégré l'ensemble de ces concepts à ce jour. Nous pensons cependant que l'application conjointe de toutes les méthodes présentées ici permettra de construire des organismes aux rendements beaucoup plus performants, à la hauteur des attentes de la communauté et des industriels.

## Concevoir une voie métabolique artificielle

Nous présentons ici les principes et les méthodes utilisées par les ingénieurs métaboliques pour concevoir une voie métabolique synthétique. Il s'agit d'abord d'identifier des suites de réactions menant du métabolisme central au produit, puis de rechercher les meilleures enzymes candidates, et enfin de choisir la meilleure solution possible, en estimant l'efficacité de la voie une fois introduite dans l'organisme hôte.

### Identifier les réactions menant des sources au produit

Lorsque l'on souhaite produire un composé dans un organisme hôte par ingénierie métabolique, la toute première étape consiste à identifier les réactions enzymatiques que l'on peut utiliser pour construire ou reconstruire des voies métaboliques dans un organisme hôte.

Tout d'abord, il faut explorer soit manuellement, soit à l'aide d'algorithmes d'énumération, les cartes métaboliques superposant l'ensemble des voies métaboliques des organismes caractérisés à celles de l'organisme hôte. Ce processus est illustré par une analogie dans la *figure 1*. Les informations sont disponibles dans des ouvrages ou bien en ligne dans les bases de données telles que KEGG [2] et MetaCyc [3]. En identifiant les différentes routes, on peut repérer les familles d'enzymes catalysant les réactions souhaitées.

Lorsque l'on identifie une réaction, on identifie aussi une enzyme capable de la catalyser. Cependant, cette enzyme ne constitue pas nécessairement le meilleur des candidats. En effet, le gène donné dans la base de données n'est pas forcément celui qui a été caractérisé expérimentalement ni le plus efficace. En effet, les annotations que l'on peut trouver pour une espèce donnée sont souvent propagées par analogie à partir de l'espèce dans laquelle l'enzyme a été caractérisée, ce qui ne tient pas compte d'une potentielle divergence évolutive du gène entre les deux espèces. Une autre base de données, BRENDA [4], regroupe une quantité beaucoup plus

importante d'informations sur chaque famille d'enzymes, grâce à des approches d'exploration automatique de la littérature. On trouve souvent dans cette base les constantes de Michaelis, les liens vers les structures cristallographiques et les références associées.

À partir des données extraites des bases de données, une longue étape de recherche bibliographique est nécessaire pour confirmer la qualité des informations trouvées, et dans quelle mesure les enzymes identifiées constituent de bonnes candidates pour construire la nouvelle voie métabolique. Le choix se basera sur de nombreux critères dont quelques exemples sont listés ci-dessous :

- longueur des séquences : plus le gène est petit, plus il sera efficacement exprimé ;
- modifications post-traductionnelles : il faut vérifier si des régulations ou modifications post-traductionnelles ont été reportées pour ce gène ou cette famille de gènes. Si c'est le cas, il faut penser à éliminer les acides aminés concernés pour empêcher ou au contraire mimer la modification post-traductionnelle, afin de découpler l'activité de l'enzyme du métabolisme de la cellule ;
- distance phylogénétique : plus l'organisme est proche dans l'arbre phylogénétique, et plus le gène identifié sera facilement transférable dans l'organisme hôte. En revanche, plus les gènes proviennent d'espèces proches, plus les activités résultantes auront de chance d'être modulées par les systèmes endogènes.

À la fin de cette étude, nous avons identifié une ou plusieurs façons alternatives de produire le composé voulu, avec au moins une enzyme identifiée pour chaque réaction. Nous allons maintenant voir comment trouver d'autres enzymes capables de catalyser les mêmes réactions, et ce de manière peut-être plus efficace que l'enzyme que nous venons d'identifier.

### Trouver des enzymes efficaces

Afin d'identifier de nouveaux gènes candidats, il est parfois nécessaire de rechercher des enzymes similaires dans d'autres organismes que celui dans lequel l'enzyme a été caractérisée. La méthode la plus simple est l'alignement génétique, en utilisant des outils comme BLAST sur des bases de données de gènes et de génomes comme celle de Ensembl [5] ou NCBI [6]. Si cette approche est très utile, son efficacité est souvent surévaluée.

En effet, la spécificité de substrat des enzymes évolue vite avec la duplication des gènes et l'évolution des espèces.

Le nombre d'acides aminés impliqués dans la catalyse et la sélectivité de substrats est très faible par rapport aux nombres d'acides aminés structurels. Or les algorithmes d'alignement cherchent à maximiser le nombre d'acides aminés identiques ou proches, et le critère de sélection est souvent basé sur la similarité entre les séquences et non sur la proximité catalytique recherchée. C'est pourquoi de nombreuses enzymes philogénétiquement proches peuvent avoir des spécificités de substrat radicalement différentes ou, au contraire, des enzymes philogénétiquement éloignées peuvent accepter le même substrat.

Une approche radicalement différente basée sur des méthodes d'apprentissage statistique est utilisée par le logiciel Promis [7-8]. Ce logiciel identifie les groupes d'acides aminés (signatures) impliqués dans la sélectivité et la catalyse des réactions et recherche les enzymes présentant les mêmes propriétés catalytiques dans l'ensemble des organismes vivants séquencés. Il est donc capable d'identifier des enzymes présentant des réactions similaires même si leur structure primaire est très dissemblable.

### Les constantes cinétiques

De nombreuses informations cinétiques sont disponibles dans les articles et dans les bases de données telles que BRENDA. Si ces chiffres peuvent donner une indication de l'activité de l'enzyme, ils ne sont pas nécessairement fiables. En effet, les enzymes ont le plus souvent été caractérisées *in vitro*, dans des tampons très différents. Enfin, il est difficile de quantifier précisément les données sur les enzymes, leur degré de maturité ou de dégradation, les éventuelles régulations post-traductionnelles liées à la phase de croissance où les enzymes ont été extraites, et les conditions dans lesquelles elles ont été exprimées.

Selon les conditions expérimentales, les activités mesurées peuvent varier de plusieurs ordres de grandeur, et une enzyme très rapide peut devenir très lente et inversement. Ces raisons rendent caduque toute approche qui viserait à modéliser l'activité d'une voie métabolique sur la base de données extraites d'études différentes. De notre expérience, il est nécessaire de caractériser *in vivo* systématiquement chaque enzyme que l'on souhaite utiliser, si possible directement, en utilisant des méthodes d'absorption de la lumière ou bien de spectrométrie de masse.

### Choisir la voie métabolique la plus quantitative possible

Pour intégrer une voie artificielle dans le métabolisme endogène, il est nécessaire de l'associer à une voie essentielle à la survie de la cellule. Lorsque la cellule dégrade sa source de carbone, elle génère une quantité d'énergie transportée sous forme de cofacteurs vers les autres parties du métabolisme cellulaire. Mais en situation de fermentation, la cellule génère plus de cofacteurs que son métabolisme n'en consomme. Pour conserver son équilibre redox, la cellule est donc contrainte d'utiliser des composés comme l'acétate, l'éthanol ou le glycérol pour régénérer les cofacteurs en excès.

Lorsqu'une nouvelle voie métabolique est insérée dans la cellule, elle est utilisée par celle-ci comme un mécanisme « poubelle » lui permettant de régénérer ses cofacteurs, à moins que celle-ci ne lui confère un avantage sélectif, ce qui n'est généralement pas le cas. Si la voie en elle-même génère un déséquilibre redox supplémentaire, elle ne sera que peu utilisée et il sera très difficile d'obtenir de bons

rendements. En effet, la voie générera plus de fermentation annexe et une partie de la source carbone sera perdue sous la forme de produits secondaires.

À partir du bilan des réactions et des cofacteurs, il est possible de trouver la meilleure souche et la meilleure source de carbone possibles, comme étant celles qui présentent un bilan massique le plus à l'équilibre possible. Pour obtenir de bons rendements, il est nécessaire que la nouvelle voie implantée emploie principalement les mêmes cofacteurs que ceux utilisés dans les principales voies métaboliques. Cette analyse de bilan permet de choisir le meilleur ensemble souche, source de carbone et voie métabolique. La processivité<sup>(1)</sup> des enzymes identifiées doit aussi être prise en compte.

Dans le cas où le bilan n'est pas facile à établir, l'utilisation d'outils d'analyse de flux permettra la sélection des solutions les plus efficaces.

## Optimiser la cinétique de la voie métabolique

### Le pouvoir et les limites des équations différentielles

Depuis les premières études d'enzymologie du début du XX<sup>e</sup> siècle, le modèle de Michaelis-Menten constitue une référence dans l'étude des réactions enzymatiques. Les développements des équations qui ont suivi ont permis d'adapter le modèle aux différents types de régulations de l'activité des enzymes identifiées par la suite.

Pour une suite de réactions enzymatiques, il est possible d'exprimer un jeu d'équations différentielles décrivant la voie métabolique d'intérêt, si les paramètres de chaque enzyme ont été correctement estimés. On peut donc en principe estimer le niveau d'expression relatif de chaque enzyme et le flux maximal théorique au travers de la voie :



équation de Michaelis-Menten

Il y a cependant plusieurs limites pratiques à cette approche. Tout d'abord, quantifier de manière absolue la concentration d'enzymes  $[E]$  dans la cellule est un problème expérimental majeur. Ensuite, la constante cinétique  $k_{cat}$  et la constante de Michaelis  $K_M$  sont des paramètres qu'il est difficile de mesurer de manière reproductible. Enfin, il est nécessaire d'obtenir aussi une estimation de la quantité de chaque substrat  $[S]$  disponible dans la cellule et de savoir si ces substrats sont générés selon un flux suffisamment important pour maintenir leur concentration dans la cellule au niveau adéquat, problème non résolu à ce jour.

### Optimiser les niveaux d'expression de chaque enzyme

L'estimation exacte ou approchée des valeurs (de chacun des paramètres de Michaelis-Menten) permet d'avoir une idée de la processivité de l'enzyme. Pour une quantité de substrat constante, l'ingénieur métabolique cherche à faire produire à la cellule le minimum d'enzyme capable de catalyser l'ensemble du substrat disponible. En effet, si la processivité est trop faible, le substrat va s'accumuler dans la cellule ; au contraire, si la vitesse de l'enzyme est trop grande, c'est le produit qui s'accumulera, faute d'être pris en

charge suffisamment rapidement par les enzymes suivantes. La production d'enzymes en surplus handicape inutilement la cellule en ralentissant sa croissance et donc la productivité de la voie métabolique.

Pour obtenir une voie métabolique efficace, l'ingénieur va donc chercher à moduler le niveau d'expression relatif des différentes enzymes, si possible de manière rationnelle. Pour ce faire, il peut utiliser une bibliothèque de promoteurs ou séquences Shine-Dalgarno caractérisés, ou bien concevoir ces derniers en utilisant une approche *ab initio* comme le « Salis RBS designer » [9]. Après optimisation, on obtient ainsi une voie métabolique où les accumulations de produits sont contrôlées et où la croissance de la cellule est optimale.

Si la quantification des intermédiaires est simple, l'optimisation peut être poussée plus avant en utilisant une approche combinatoire qui consiste à faire varier le niveau d'expression de chaque gène autour du rapport calculé, en utilisant par exemple le « Salis RBS library » [9-10]. La *figure 2* explicite au travers de notre métaphore l'intérêt et l'importance de l'optimisation des flux métaboliques.

### Analyser les enzymes et proposer des améliorations

Lorsque les enzymes sont trop lentes ou ne présentent pas une activité optimale pour le substrat que l'on souhaite utiliser, il est parfois possible de modifier l'enzyme afin d'en améliorer les performances. Même en ce qui concerne les réactions naturelles, les enzymes sont rarement à leur niveau de performance maximale, car trop de spécificité semble nuire à leur capacité d'évolution ultérieure. Deux approches ont été développées afin d'optimiser les enzymes : le design rationnel et l'évolution dirigée. Les plus grandes réussites dans le domaine de l'ingénierie des protéines se nourrissent souvent d'une combinaison des deux familles de techniques.

Il est nécessaire de posséder une structure cristallographique de l'enzyme ou celle d'une enzyme structurellement très proche pour pouvoir envisager une approche de conception rationnelle. On peut d'abord identifier les acides aminés impliqués directement et indirectement dans la réaction, et proposer des mutations sur la base de connaissances enzymologiques et thermodynamiques et l'existence de mutations analogues identifiées dans les arbres phylogénétiques. Des outils de calculs de densité électronique *ab initio* et de champs de force (« docking ») peuvent aussi se révéler très utiles pour comprendre les interactions entre l'enzyme et le substrat.

Pour les approches d'évolution dirigée, il est essentiel de posséder un moyen de criblage à haut débit des activités

enzymatiques, ce qui n'est pas toujours évident. Il existe des dizaines de méthodes pour identifier les meilleurs candidats, toutes n'ayant pas le même débit et la même sensibilité.

Tous les prérequis pour procéder à l'évolution d'enzymes ne sont pas toujours réunis pour permettre l'utilisation de l'une de ces méthodes. Il existe plusieurs variantes pour chacune d'entre elles, et l'objectif n'est pas de les détailler dans cette revue. Pour cela, nous recommandons d'autres articles pour le design rationnel [11-12] et pour l'évolution dirigée [13-15]. Les exemples d'optimisation réussis utilisent la plupart du temps une combinaison de ces deux grandes familles de méthodes.

## Implémenter la nouvelle voie au cœur du métabolisme cellulaire

### Le principe de l'analyse de flux

Comme nous l'avons vu précédemment, il est difficilement envisageable de modéliser l'ensemble des réactions métaboliques d'une cellule en combinant les équations de Michaelis-Menten. Une méthode faisant abstraction de la cinétique appelée analyse de flux (« flux balance analysis », FBA) permet d'envisager la façon dont le carbone est réparti dans le réseau métabolique de l'organisme. Mathématiquement, il s'agit d'écrire sous forme matricielle l'ensemble des coefficients stœchiométriques des réactions métaboliques, comme montré dans l'exemple de la *figure 3* p. 34.

De manière générale, les réactions métaboliques sont écrites sous la forme d'une combinaison linéaire de réactions pour chacun des produits. On combine ensuite l'ensemble de ces réactions sous forme matricielle en posant les vecteurs  $X$  et  $V$  :

$$\frac{dx_i}{dt} = \sum s_{ij} \cdot v_j \quad i = 1..m; \quad \frac{dX}{dt} = S \cdot V$$

$$V = (v_1, \dots, v_n)^t$$

$$X = (x_1, \dots, x_m)^t$$

où  $x_i$  est la concentration du métabolite  $x$ , et  $s_{ij}$  son coefficient stœchiométrique dans la réaction  $v_j$ . En faisant une approximation des états quasi stationnaires, on suppose que chaque métabolite est consommé à la même vitesse que celle avec laquelle il est produit. L'équation se réduit alors à trouver une combinaison de vecteurs qui annulent le produit matrice :

$$\frac{dX}{dt} = S \cdot V = 0$$

De manière générale, il existe plus de réactions que de métabolites. La matrice est donc rectangulaire et il y a une

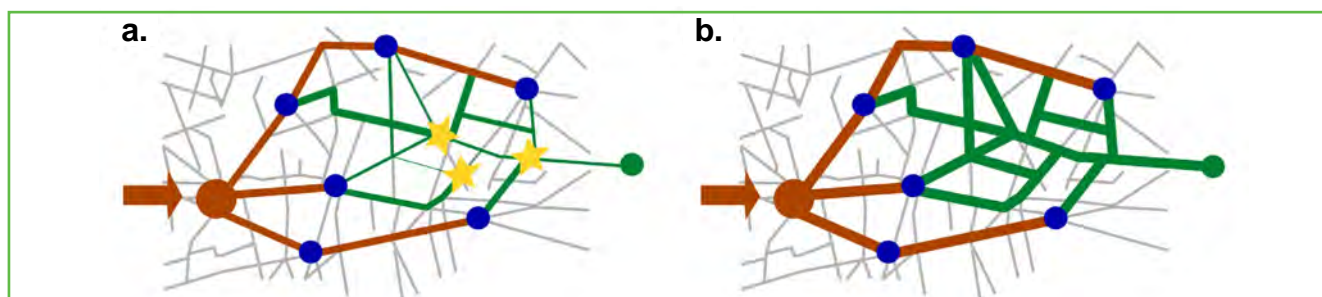


Figure 2 - Optimisation du niveau d'expression des enzymes.

Continuons notre exemple : (a) bien que les nouveaux axes soient tracés, la circulation n'est pas encore optimisée. La capacité des nouvelles routes n'est pas identique, et les rocades d'accès ne sont pas établies. Les voitures sont bloquées dans des embouteillages provoqués par l'incapacité du réseau à absorber le trafic généré. L'objectif de cette étape est de mesurer la capacité des routes pour les rendre équivalentes, afin que les véhicules circulent sans encombre (b). La stratégie consiste à élargir les voies étroites et ceci peut être réalisé en ajustant le niveau d'expression des enzymes ou en travaillant sur les enzymes elles-mêmes.

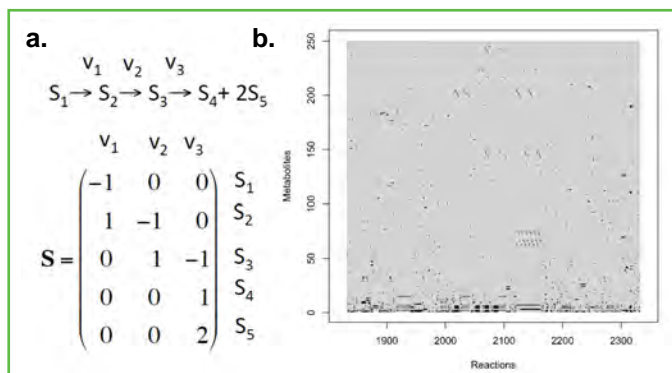


Figure 3 - La méthode d'analyse de flux : a) exemple d'écriture d'une suite de réactions sous forme matricielle ; b) matrice stœchiométrique d'un grand nombre de réactions métaboliques d'*E. coli*.

Un point noir signifie qu'il existe un coefficient stœchiométrique non nul au croisement de la réaction et du substrat ou du produit. Le réseau d'*E. coli* contient un total de 2 250 réactions et 1 805 métabolites, dont une sélection de 250 est représentée sur la figure (1 604 points).

infinité de solutions satisfaisant l'équation ci-dessus. On utilise alors une fonction objective<sup>(2)</sup> pour extraire de l'équation une solution pertinente du point de vue biologique. Le problème est donc transformé en un problème de programmation linéaire, qu'il est possible de résoudre algorithmiquement en utilisant par exemple la méthode du simplexe (voir note (2)) :

$$\begin{aligned} & \text{Maximise } C^T \cdot V \\ & \text{En prenant } S \cdot V = 0 \\ & \text{Et } \forall i \in \mathbb{N}, 0 \geq v_i \geq v_{\max} \end{aligned}$$

### Les outils d'analyse de flux

Il existe de nombreux logiciels capables de résoudre le système d'optimisation décrit ci-dessus : CobraToolbox [16] et CellNetAnalyzer [17] (inclus Metatool 5.x [18]) sous matlab, OptFlux [19] et CycSim [20] en exécutable autonome.

Le plus important n'est pas tant l'outil que le jeu de données sur lequel il travaille. Il existe peu de cartes à grande échelle du métabolisme disponibles gratuitement. L'analyse de flux nécessite en effet une carte parfaitement équilibrée stœchiométriquement dans laquelle tous les produits sont détruits par une réaction virtuelle. On peut citer par exemple les cartes disponibles sur BioModels pour *E. coli* [21].

Pour contourner le manque de précision de la fonction objective classique, d'autres approches ont été envisagées. Plusieurs travaux ont été menés afin de contraindre plus

précisément le processus d'optimisation. Certains travaux ont permis de réintroduire la quantité de protéines, d'ARN, les constantes catalytiques et les concentrations de différents métabolites observables. Il faut tout de même remarquer que ces quantités sont difficilement accessibles expérimentalement.

Le modèle le plus avancé construit jusqu'à présent est le « Resource Balance Analysis » [22]. Les auteurs ont construit une carte très précise du métabolisme, de la régulation génétique, de la production et de la dégradation des protéines, de la synthèse de molécules constitutives de la cellule et de la phase de croissance de *B. subtilis*, interconnectant ainsi les grandes fonctions de la régulation génétique et de l'autorégulation du métabolisme cellulaire. Ce programme n'est cependant pour l'instant pas disponible pour l'ensemble de la communauté scientifique.

### Utiliser l'optimisation de flux

Nous avons déjà discuté auparavant des critères permettant de choisir une voie métabolique performante et la façon de la substituer à une voie de fermentation existante. Une telle analyse n'est pas forcément aisée pour des voies métaboliques comportant de nombreuses réactions et pour un organisme utilisant une source de carbone non définie.

Les outils de FBA peuvent être appliqués à cette étape pour simuler le comportement de la cellule lorsque la voie métabolique a été introduite. Pour ce faire, il faut insérer dans la carte métabolique de l'organisme les nouvelles réactions de la voie métabolique que l'on vient de créer et utiliser les logiciels décrits précédemment. On peut alors observer la quantité de produit prédite dans le cas où la fonction objective est la croissance, et la quantité de produit maximale théorique en utilisant le produit comme seule fonction objective. Dans les deux cas, on prêtera une attention toute particulière aux concentrations des cofacteurs et des produits carbonés de fermentation, car ils témoignent du déséquilibre potentiellement créé par la voie métabolique dans la cellule et permettent de guider plus avant le processus d'optimisation des conditions de fermentation et de la souche.

En utilisant la fonction objective de croissance pour seule contrainte, on obtient une indication de la quantité de produit que l'on pourrait former comme seule conséquence de la croissance. C'est très probablement de l'ordre de grandeur de la quantité produite dans une souche naturelle, qui n'a aucun intérêt à consommer le produit que l'ingénieur lui impose. Il s'agit maintenant de rendre ce produit important pour la cellule, en forçant les processus naturels comme la

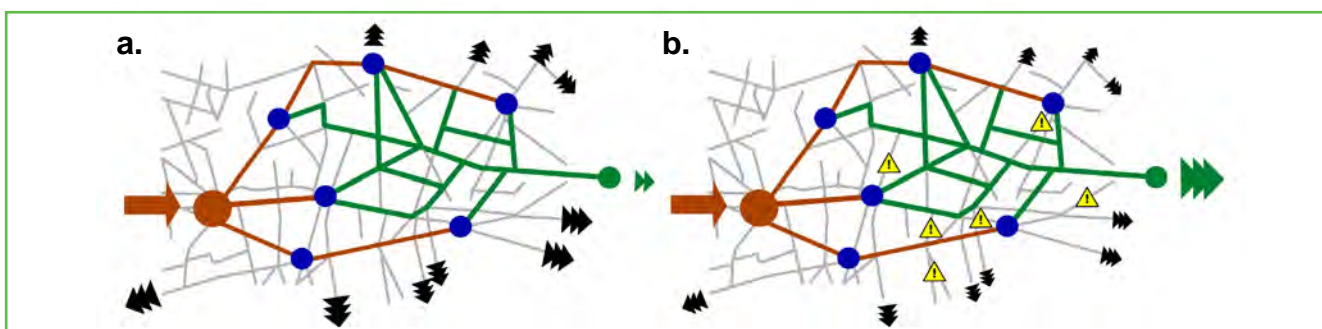


Figure 4 - Optimisation de flux.

Continuons notre exemple. Nous utilisons maintenant un algorithme d'optimisation pour comprendre comment les voitures circulent dans notre ville réarrangée. Nous indiquons à l'algorithme la ou les source(s) de voitures, et le pourcentage de voitures qui se rendent dans chaque grande destination. (a) Il est fort probable que peu de voitures emprunteront notre nouvelle route, car personne n'a encore d'intérêt à aller au nouvel endroit qui a été rendu accessible. Seuls la prendront les automobilistes perdus dans les travaux de notre nouvelle rocade d'autoroute. Pour forcer les utilisateurs à utiliser cette nouvelle voie, il va donc falloir couper les routes qu'ils utilisaient habituellement. Les usagers seront donc contraints d'aller là où vous voulez qu'ils aillent (b), mais gare au mécontentement : la cellule, comme les automobilistes, n'aime pas les restrictions !

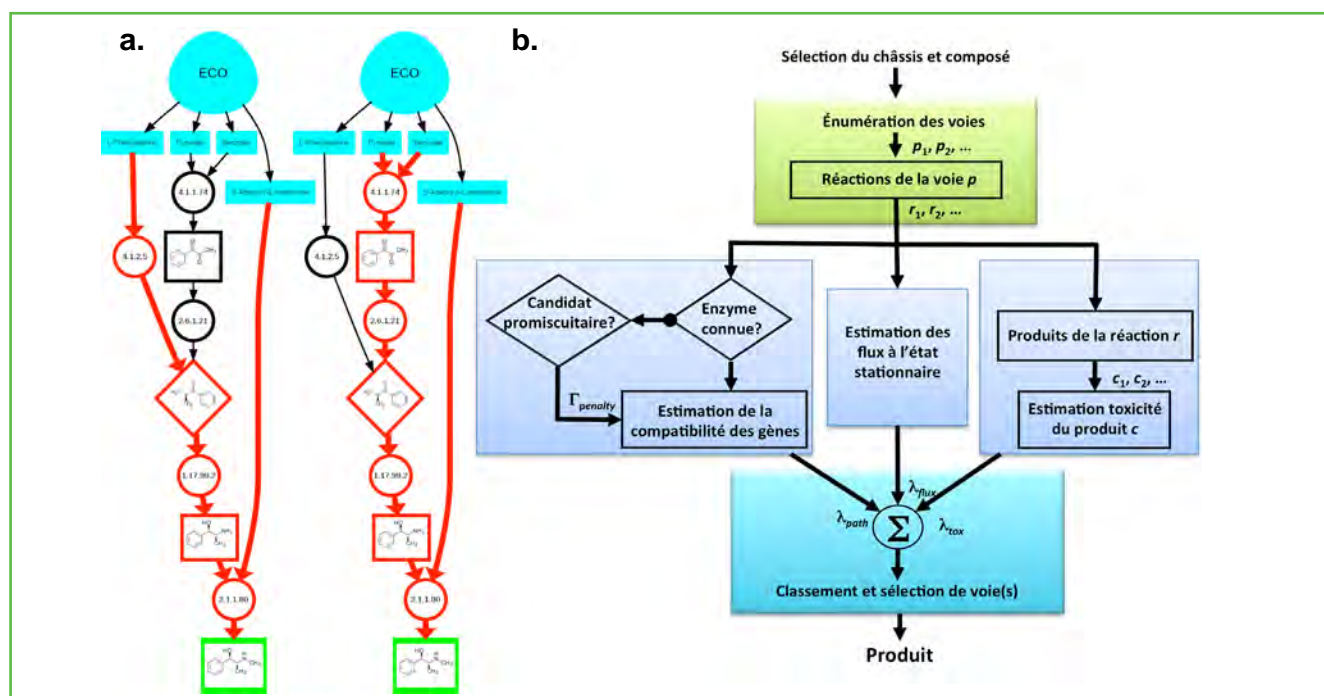


Figure 5 - Le logiciel RetroPath [30].

a) Sortie de RetroPath dans le cas simple de deux voies métaboliques calculé avec une signature de très haute spécificité ; b) algorithme de sélection des voies métaboliques. Les différentes possibilités sont classées en fonction de la capacité des enzymes à catalyser les réactions, de l'analyse de la distribution de flux, et de la toxicité potentielle des produits intermédiaires.

régénération de cofacteurs à passer par la nouvelle voie métabolique – processus illustré dans la figure 4.

On peut comprendre l'effet de la nouvelle voie sur le métabolisme en comparant les concentrations de cofacteurs et de produits de fermentation entre les simulations qui contiennent cette nouvelle voie métabolique et celles qui ne la contiennent pas. À l'utilisateur d'émettre des hypothèses, de vérifier expérimentalement la nature du déséquilibre et de proposer les délétions qui permettraient de rétablir l'équilibre. Il existe aussi une famille de programmes capable de proposer différentes délétions et de tester l'effet de la suppression de différentes voies sur le métabolisme et la production du produit d'intérêt. On peut par exemple citer le logiciel OptKnock [23], capable d'une telle optimisation, basé sur l'algorithme du MOMA (« minimization of metabolic adjustment ») [24].

## Les méthodes de conception automatique

### Énumération des voies métaboliques

La première étape de ce processus, décrite dans la première section de cet article, consistait à trouver dans la carte métabolique de tous les organismes superposés les voies métaboliques connectant le produit voulu au métabolisme primaire de la cellule. Cette étape est fastidieuse manuellement et il est difficile d'énumérer exhaustivement toutes les possibilités.

Il existe différents algorithmes d'énumération capables d'effectuer cette tâche automatiquement. Notre laboratoire a travaillé sur l'un d'entre eux [25]. Il existe aussi des alternatives sous forme de serveurs web comme FMM (« From metabolite to metabolite ») [26] ou Metabolic tinker [27] qui peuvent aider l'utilisateur à trouver les différents chemins entre deux métabolites d'une carte.

### La conception rétro-synthétique automatisée

Le processus décrit dans ce paragraphe est une phase dans laquelle l'homme a besoin de la machine, compte tenu de la quantité d'informations à traiter. Plusieurs laboratoires et entreprises, dont Genomatica, se sont intéressés à développer des solutions logicielles permettant de proposer de nouvelles voies métaboliques à construire pour chaque organisme hôte, et des enzymes pour chaque réaction. La finesse des modèles varie énormément et les solutions proposées sont plus ou moins exhaustives et pertinentes selon les logiciels. L'un des premiers est le logiciel BNICE [28], puis le logiciel SimPheny de Genomatica. Viennent ensuite les premiers outils capables d'utiliser des règles de réactions pour identifier les nouvelles réactions non listées dans les tables et classer sur des critères plus pratiques les différentes voies métaboliques. Il s'agit d'abord de la suite de librairie du groupe de Sang Yup Lee [29] et notre suite logicielle doublée d'une interface web RetroPath [30]. Cette méthode dispose en outre d'un algorithme permettant d'énumérer les voies et de proposer les meilleurs gènes en utilisant une méthode de classement des voies métaboliques décrite dans la figure 5. De plus, ce logiciel inclut comme critère une analyse automatique des flux et de la toxicité des voies métaboliques [31].

Les outils de conception automatique ne résolvent cependant pas tous les problèmes, et en particulier, ils ne permettent pas d'aborder le problème de la spécificité et de l'optimisation cinétique des enzymes.

Un certain nombre d'autres outils logiciels utiles à la conception de voies métaboliques de synthèse sont récapitulés dans un tableau accessible en annexe sur le site de L'Actualité Chimique (lien à partir de l'article dans le sommaire de ce numéro).

## Conclusion

Dans cet article, nous avons fait le point sur une grande partie des méthodes et technologies informatiques permettant d'aider l'ingénieur métabolique à concevoir et fabriquer une souche produisant spécifiquement un composé chimique d'intérêt dans un organisme vivant. À notre connaissance, il n'existe pas de projet ayant intégré l'ensemble des méthodes et des outils disponibles pour construire et optimiser les souches. Nous pensons que les nouvelles générations de souches construites par les chercheurs et les ingénieurs bénéficieront d'une conception et d'une technologie plus avancées et plus rationnelles amenant à de meilleurs rendements. Nous anticipons que l'ingénierie métabolique se révélera à la hauteur des attentes pour l'élaboration d'une chimie du XXI<sup>e</sup> siècle mieux acceptée par les citoyens et plus respectueuse de l'environnement.

Les auteurs remercient Genopole, l'ANR chaire d'excellence et le fonds AXA pour la recherche pour le financement de leurs travaux.

## Notes et références

- (1) La *processivité* d'une enzyme se définit comme le nombre de molécules de substrat qui peuvent être transformées par enzyme ou par unité d'enzyme par unité de temps. On parle couramment de « turnover ».
- (2) La *fonction objective* est exprimée comme une combinaison linéaire de flux ( $C.V$ ) censée représenter le mode de croissance de l'organisme. Dans la plupart des cas, on la construit sur l'hypothèse que la cellule a pour unique objectif de grandir le plus vite possible, et que l'ensemble de son métabolisme est dirigé vers la production d'acides aminés et de bases de l'ADN. Cette hypothèse permet à l'algorithme de proposer rapidement une solution à l'utilisateur avec un minimum de données en entrée. La pertinence de ce résultat est discutable dans le détail mais procure cependant des informations intéressantes sur l'état métabolique de la cellule.
- [1] Pauthenier C., Faulon J.-L., Les composés produits par ingénierie métabolique, *Techniques de l'Ingénieur*, **2013**, soumis.
- [2] Okuda S. *et al.*, KEGG Atlas mapping for global analysis of metabolic pathways, *Nucleic Acids Research*, **2008**, *36*, p. W423.
- [3] Caspi R. *et al.*, The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of pathway/genome databases, *Nucleic Acids Research*, **2012**, *40*, p. D742.
- [4] Schomburg I. *et al.*, BRENDA in 2013: integrated reactions, kinetic data, enzyme function data, improved disease classification: new options and contents in BRENDA, *Nucleic Acids Research*, **2013**, *41*, p. D764.
- [5] Flicek P. *et al.*, Ensembl 2013, *Nucleic Acids Research*, **2013**, *41*, p. D48.
- [6] NIH (National Center for Biotechnology Information), <https://ncbi.nlm.nih.gov/genbank>
- [7] Carbonell P., Faulon J.-L., Molecular signatures-based prediction of enzyme promiscuity, *Bioinformatics*, **2010**, *26*, p. 2012.
- [8] Faulon J.-L., Misra M., Martin S., Sale K., Sapra R., Genome scale enzyme-metabolite and drug-target interaction predictions using the signature molecular descriptor, *Bioinformatics*, **2008**, *24*, p. 225.
- [9] Salis H.M., Mirsky E.A., Voigt C.A., Automated design of synthetic ribosome binding sites to control protein expression, *Nature Biotechnology*, **2009**, *27*, p. 946.
- [10] Salis H.M., Salis RBS library calculator, Communication personnelle, <https://salis.psu.edu/software/RBSLibraryCalculatorSearchMode>
- [11] Steiner K., Schwab H., Recent advances in rational approaches for enzyme engineering, *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **2012**, *2*(3), p. e201209010.
- [12] Koga N., Tatsumi-Koga R., Liu G., Xiao R., Acton T.B., Montelione G.T., Baker D., Principles for designing ideal protein structures, *Nature*, **2012**, *491*, p. 222.
- [13] Cobb R.E., Si T., Zhao H., Directed evolution: an evolving and enabling synthetic biology tool, *Current Opinion in Chemical Biology*, **2012**, *16*(3-4), p. 285.
- [14] Lutz S., Beyond directed evolution semi-rational protein engineering and design, *Current Opinion in Biotechnology*, **2010**, *21*(6), p. 734.
- [15] Dougherty M.J., Arnold F.H., Directed evolution: new parts and optimized function, *Current Opinion in Biotechnology*, **2009**, *20*(4), p. 486.
- [16] Schellenberger J. *et al.*, Quantitative prediction of cellular metabolism with constraint-based models: the COBRA Toolbox v2.0, *Nature Protocols*, **2011**, *6*(9), p. 1290.
- [17] Klamt S., Saez-Rodriguez J., Gilles E.D., Structural and functional analysis of cellular networks with CellNetAnalyzer, *BMC Systems Biology*, **2007**, *1*, p. 2.
- [18] von Kamp A., Schuster S., Metatool 5.0: fast and flexible elementary modes analysis, *Bioinformatics*, **2006**, *22*(15), p. 1930.
- [19] Rocha I. *et al.*, OptFlux: an open-source software platform for *in silico* metabolic engineering, *BMC Systems Biology*, **2010**, *4*(45), p. 45.
- [20] Le Fèvre F., Smidtas S., Combe C., Durot M., d'Alché-Buc F., Schachter V., CycSim: an online tool for exploring and experimenting with genome-scale metabolic models, *Bioinformatics*, **2009**, *25*(15), p. 1987.
- [21] Li C. *et al.*, BioModels Database: An enhanced, curated and annotated resource for published quantitative kinetic models, *BMC Systems Biology*, **2010**, *4*(1), p. 92.
- [22] Goelzer A., Fromion V., Scorletti G., Cell design in bacteria as a convex optimization problem, *Automatica*, **2011**, *47*(6), p. 1210.
- [23] Burgard A.P., Pharkya P., Maranas C.D., OptKnock: a bilevel programming framework for identifying gene knockout strategies for microbial strain optimization, *Biotechnology and Bioengineering*, **2003**, *84*(6), p. 647.
- [24] Segre D., Vitkup D., Church G.M., Analysis of optimality in natural and perturbed metabolic networks, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2002**, *99*(23), p. 15112.
- [25] Carbonell P., Fichera D., Pandit S.B., Faulon J.-L., Enumerating metabolic pathways for the production of heterologous target chemicals in chassis organisms, *BMC Systems Biology*, **2012**, *6*, p. 10.
- [26] Chou C.-H., Chang W.-C., Chiu C.-M., Huang C.-C., Huang H.-D., FMM: a web server for metabolic pathway reconstruction and comparative analysis, *Nucleic Acids Research*, **2009**, *37*, p. W129.
- [27] McClymont K., Soyer O.S., Metabolic tinker: an online tool for guiding the design of synthetic metabolic pathways, *Nucleic Acids Research*, **2013**, sous presse.
- [28] Hatzimanikatis V., Li C., Ionita J., Henry C.S., Jankowski M.D., Broadbelt L.J., Exploring the diversity of complex metabolic networks, *Bioinformatics*, **2005**, *21*(8), p. 1603.
- [29] Cho A., Yun H., Park J.H., Lee S.Y., Park S., Prediction of novel synthetic pathways for the production of desired chemicals, *BMC Systems Biology*, **2010**, *4*(35), p. 1.
- [30] Carbonell P., Planson A.-G., Fichera D., Faulon J.-L., A retrosynthetic biology approach to metabolic pathway design for therapeutic production, *BMC Systems Biology*, **2011**, *5*(1), p. 122.
- [31] Planson A.-G., Carbonell P., Paillard E., Pollet N., Faulon J.-L., Compound toxicity screening and structure-activity relationship modeling in *Escherichia coli*, *Biotechnol. Bioeng.*, **2012**, *109*(3), p. 846.



De gauche à droite : P. Carbonell, C. Pauthenier et J.-L. Faulon.

Cyrille Pauthenier est doctorant, Pablo Carbonell, chercheur associé à l'Institut de Biologie Systémique et Synthétique, et Jean-Loup Faulon (auteur correspondant), directeur de cet Institut\*.

\* Institut de Biologie Synthétique et Systémique, FRE 3561 CNRS-Université d'Évry-Géopole, 5 rue Henri Desbryère, Géopole campus 1, Bâtiment Genavenir 6, F-91030 Évry Cedex.  
Courriels : cyrille.pauthenier@issb.genopole.fr ; pablo.carbonell@issb.genopole.fr ; jean-loup.faulon@issb.genopole.fr

# Industrial biotechnology at BASF

## Where chemistry and biology meet

Michael Budde, Michael Breuer and Caroline Petigny

### Résumé **Les biotechnologies industrielles chez BASF : quand la chimie rencontre la biologie**

Les biotechnologies industrielles, ou biotechnologies blanches, sont des technologies clés dans le développement de l'industrie chimique du XXI<sup>e</sup> siècle. BASF exploite depuis longtemps déjà les éléments de la nature afin de développer pour ses clients des solutions innovantes qui préservent les ressources. Quelques exemples de ces procédés biotechnologiques ainsi que des applications potentielles sont mis en avant dans cet article.

**Mots-clés** **Biotechnologie industrielle, biocatalyse, fermentation, intermédiaires optiquement actifs, enzymes, ingénierie métabolique et enzymatique.**

**Abstract** Industrial or white biotechnology is a key technology to augment the competencies of a modern chemical company in the 21<sup>st</sup> century. BASF has a long tradition of exploiting nature's synthetic tool box to develop innovative and resource-conserving solutions for its customers. Some examples of these biotechnological processes are highlighted in this article as well as potential future applications.

**Keywords** **Industrial biotechnology, biocatalysis, fermentation, optically active intermediates, enzymes as products, metabolic and enzyme engineering.**

White biotechnology, also named industrial biotechnology, uses living microorganisms or enzymes to produce a variety of chemical and biochemical products. It is a key technology at the chemical company BASF, complementing its wide-ranging chemical expertise. BASF investigates methods and processes for efficient and resource-conserving manufacture of chemical products in areas that include nutrition, agriculture, fine chemicals, and biopolymers. White biotechnology gives access to products which cannot be produced competitively by conventional chemical methods and reactions.

White biotechnology not only offers the opportunity to develop completely new products, but also contributes towards sustainable production as it allows a number of products to be manufactured with less consumption of energy and resources. Thanks to white biotechnology, both new and existing products might be manufactured using renewable resources such as sugars and vegetable oils. BASF has more than three decades of experience in this field with products such as vitamins, enzymes and chiral intermediates.

Within white biotechnology, a distinction is made between fermentative and enzymatic processes. In fermentation, the native metabolic functions of living microorganisms are utilized. The organisms are "fed" with a simple raw material such as sugar, and after a number of catalytic conversions, the final product is obtained. On the other hand, in biocatalytic processes, usually a single enzyme is used to catalyse a one-step chemical conversion. The enzymes employed here often originate from microorganisms while the reactants can be synthetic or natural compounds (*figure 1*).

White biotechnology *per se* has no inherent advantage; it has to be considered as one technology for chemical synthesis among several others. Consequently, the key performance parameters for a biotechnological process are

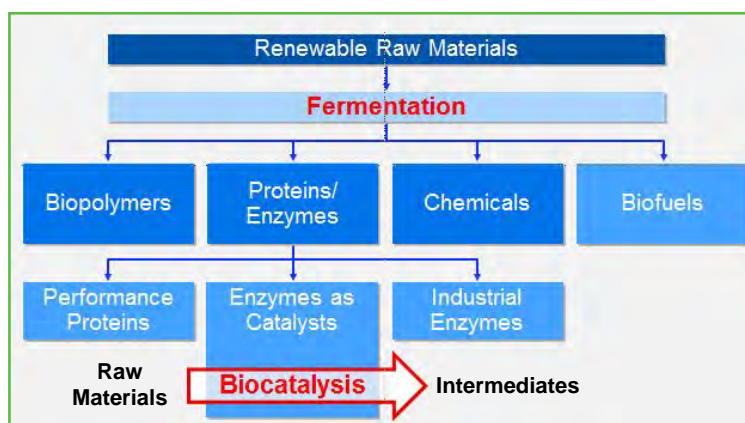


Figure 1 - White biotechnology comprises both whole cell conversions which are usually based on renewable raw materials as e.g. sugar as feedstock as well as biocatalysis. Here enzymes are used to catalyse single step chemical conversions.

identical to those of conventional chemistry: low manufacturing costs in combination with adequate product properties. In the past, these requirements predestined biocatalysts for the production of optically active fine chemicals as well natural products. Biocatalysis often outperforms classical chemistry due to its notorious selectivity. Generally the reaction conditions are much more benign than in classical chemistry, resulting in real savings with respect to energy and investment in equipment. This shows that white biotechnology can complement and even surpass classical chemistry in many cases, which do not need to be limited to fine chemicals. In essence BASF opts for a biotechnological solution wherever economic leverage becomes apparent.

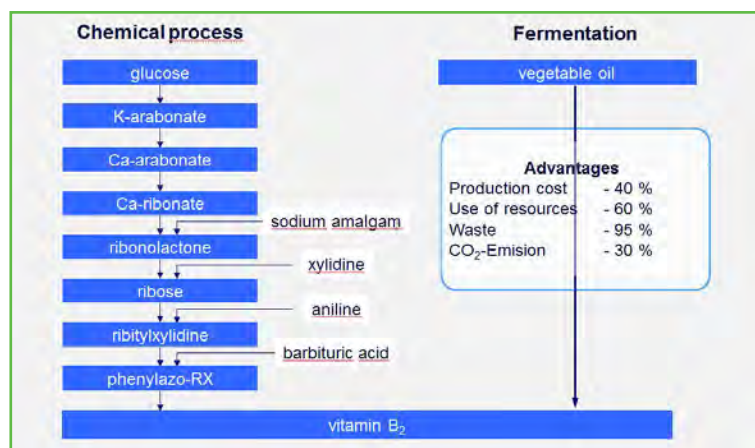


Figure 2 - Some significant advantages of white biotechnology become apparent when comparing the classical synthesis for the production of riboflavin (vitamin B2) to the fermentation process: less unit operations based on non hazardous chemicals give access to the same product in excellent quality.

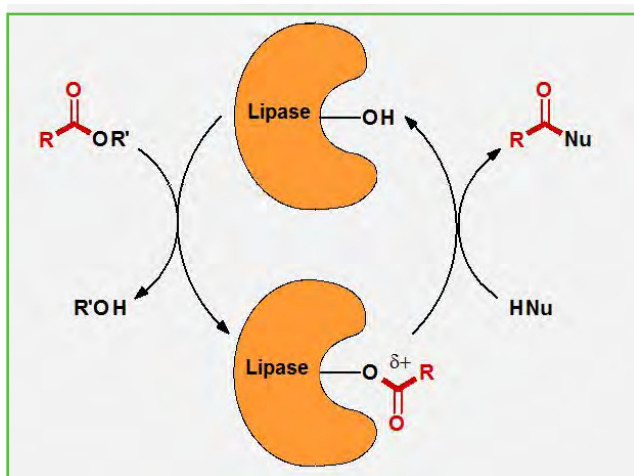


Figure 3 - Lipase acts as an acylation catalyst.

Depending on the presence of water, it either hydrolyses an ester bond or transfers the acyl moiety to another available nucleophile as e.g. an amine or alcohol.

## BASF activities in white biotechnology

### Fermentation processes

Microbes have been streamlined in such a fashion that they produce naturally occurring metabolites as e.g. an amino acid or vitamin in several thousand fold excess compared to their wild-type ancestors. This was illustrated quite nicely by BASF's riboflavin (vitamin B2) process (figure 2). This vitamin ensures health and performance in animal nutrition. BASF pioneered the biocatalytic production of vitamin B2 more than twenty years ago by substituting a chemical synthesis with biotechnology. Since then BASF produces vitamin B2 with the fungus *Ashbya gossypii*. Due to less unit operations, substitution of hazardous chemicals and successful R&D efforts, the biotechnological production of vitamin B2 is significantly favoured over the chemical synthesis.

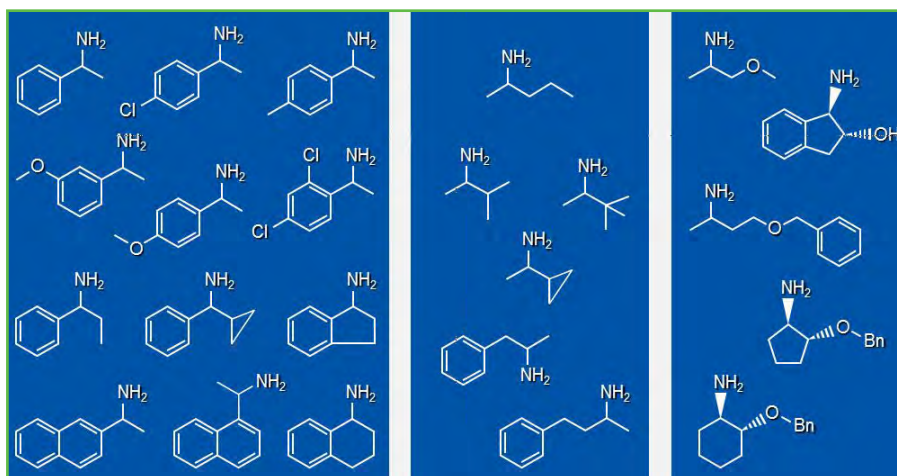


Figure 4 - Lipase as biocatalyst gives access to a very broad range of optically active amines and alcohols.

Although promiscuous in the substrate specificity, the enzymes generally show a very high enantioselectivity.

Another more recent example is the microbial production of succinic acid based on renewable resources. Succinic acid is a very promising building block for bio-based polymers and the demand of succinic acid is anticipated to grow strongly in the next years. Together with its R&D collaborators, BASF has isolated a novel microorganism capable of synthesising succinic acid from renewable resources. Strain improvement and process development resulted in an industrial process which was scaled up to supply BASF's in-house products. Now a production capacity of 25,000 tons per year is anticipated for 2013 to make large volumes of succinic acid available for external customers. Additionally a world-scale plant with a capacity of 50,000 tons per year is planned. The newly developed process combines high efficiency with the use of renewable substrates and the fixation of the greenhouse gas CO<sub>2</sub> during the production. This results in a positive eco-footprint and makes bio-based succinic acid an economically and ecologically attractive alternative to petrochemical substitutes.

### Biocatalysis

Not only entire metabolic pathways but also single enzymes may be exploited successfully for industrial applications.

A prime example for enzyme catalysis is certainly the BASF process for the resolution of racemic amines. Mechanistically lipases act as acyltransfer catalysts (figure 3): the enzyme cleaves an ester bond forming an intermediate enzyme-acyl-complex while liberating the alcohol moiety. The enzyme-acyl-complex then reacts with a nucleophile which is ultimately acylated. *In vivo*, the enzyme would transfer the acyl group to water as a strong nucleophile forming the carboxylic acid. Since lipase is highly stable in the presence of organic solvents as e.g. amines or alcohols, these compounds may serve as nucleophile as well and will thus be acylated by the lipase. A chiral molecule, lipase preferentially interacts with one enantiomer of a racemic mixture of nucleophiles, resulting in enormously different reaction velocities for each antipode. Most surprisingly, the high enantioselectivity of the lipases used by BASF is combined with a stupendous substrate spectrum. This gives access to a vast variety of different optically active amines and alcohols (figure 4).



Specialty Monomers		
Acrylates	Methacrylates	Amine Methacrylates
<ul style="list-style-type: none"> <li>Behenyl Acrylate 1822</li> <li>Behenyl Acrylate 1822 F</li> <li>iso-Butyl Acrylate</li> <li>tert-Butyl Acrylate</li> <li>n-Hexyl Acrylate</li> <li>iso-Decyl Acrylate</li> <li>Stearyl Acrylate 1618</li> <li>Stearyl Acrylate 18</li> <li>Lauryl Acrylate 12</li> <li>Lauryl Acrylate 1214</li> <li>Ethylidiglycol Acrylate</li> <li>Hydroxypropylcarbamate Acrylate</li> <li>2-Hydroxyethyl Acrylate</li> <li>Hydroxyethylcaprolactone Acrylate</li> <li>2-Hydroxypropyl Acrylate</li> <li>4-Hydroxybutyl Acrylate</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Allyl Methacrylate</li> <li>Behenyl Methacrylate 1822</li> <li>tert-Butyl Methacrylate</li> <li>tert-Butyl Methacrylate low acid</li> <li>Cyclohexyl Methacrylate</li> <li>iso-Decyl Methacrylate</li> <li>Lauryl Methacrylate 1214</li> <li>Stearyl Methacrylate 1618</li> <li>Stearyl Methacrylate 1618 F</li> <li>iso-Tridecyl Methacrylate</li> <li>Ureido Methacrylate</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>N,N-Dimethylaminoethyl Methacrylate</li> <li>N,N-Diethylaminoethyl Methacrylate</li> <li>tert-Butylaminoethyl Methacrylate</li> </ul>
		Others
		<ul style="list-style-type: none"> <li>N-Vinylformamide</li> </ul>

Figure 5 - Overview of acrylates commercialized by BASF.

As this and other examples from the ChiPros® portfolio show, enzyme catalysts are currently used predominantly for the production of optically active compounds. There are however also examples of non-chiral products prepared by enzyme catalysis due to a superior performance compared to a chemical route. When it comes to technical examples which have been realized recently, the new process for “specialty acrylates” implemented by BASF may illustrate the expansion of biocatalysis from “classical” chiral applications to specialty chemicals which – at the first sight – may appear to be less sophisticated than optically active intermediates.

BASF produces a vast variety of specialty (meth)acrylate esters which are employed in a range of polymer products such as coatings, flocculants or adhesives (figure 5).

Those specialty acrylates are bulk products usually produced via classical acid-catalyzed esterification. Competing with such processes appears to be challenging, as commercially successful biocatalytic reactions usually tackle enantiopure high-price chemicals such as the ChiPros® mentioned above. So, why to use enzymes in acrylation reactions? Once again, enzymes play out their typical strengths. Their ability to work at low temperatures and mild conditions reduces the amount of side products, which are in the case of acrylates mainly Michael-adducts, elimination or condensation products. The risk of uncontrolled polymerization is also drastically reduced with mild reaction conditions, thus allowing access to new classes of acrylate monomers which are not stable under classical chemical reaction conditions. Lower energy consumption in the process also helps to reduce the overall process costs. Additionally, enzymes are able to tolerate functional groups such as carbamates, which is an essential advantage exploited for the synthesis of hydroxyl propyl carbamate acrylate (HPCA). HPCA is a main component of a carbamate clearcoat, a protective coating usually used in automotive coating with high resistance towards mechanical, chemical, UV or weather exposure. As this monomer is not accessible by classical chemical synthesis, introduction of the carbamate functionality was traditionally realized in an unspecific transesterification step with methyl carbamate after

polymerization of hydroxyethyl methacrylate. In order to obtain a broader formulation flexibility of the polymers, a chemo-enzymatic process was developed which gives access to the monomer HPCA. This process is now fully integrated in the BASF-Verbund (see *info box*).

Starting from propylene carbonate, aminolysis leads to a mixture of 1- and 2-hydroxypropylcarbamate. Transesterification with ethyl acrylate, catalysed by lipase, gives a mixture of 1- and 2-HPCA (figure 6).

However, analysis of the acrylation reaction kinetics revealed that substrate conversion is slowing down at ~50% conversion. Detailed investigation of the catalyst has shown that the typical advantage of the enzyme, its high substrate specificity, turned out to be disadvantageous in this context. Molecular docking

experiments were employed to identify sites for mutagenesis of the lipase with the aim to reduce its substrate specificity. This was realized by increasing the size of the substrate binding pocket (figure 7 p. 40). Several mutants have been prepared and analysed leading to the identification of two mutants with reduced substrate specificity without loss of activity compared to the initial wild type enzyme. Hence, substrate conversion was substantially improved compared to the wild type within the same reaction time [1].

### BASF Verbund

Our Verbund is one of BASF's assets when it comes to efficient use of resources. Production plants at large sites are closely interlinked, creating efficient value chains that extend from basic chemicals right through to high-value-added products such as coatings and crop protection agents.

In addition, the by-products of one plant can be used as the starting materials of another. The system saves resources and energy, minimizes emissions, cuts logistics costs and utilizes infrastructural synergies. Our global production Verbund is the foundation for BASF's competitiveness in all regions.

With its six Verbund sites and some 385 production sites, BASF supports customers and partners in almost every country in the world. The Verbund is all about intelligent interlinking of production plants, energy flows, logistics and infrastructure. Chemical processes consume less energy, produce higher product yields and conserve resources.

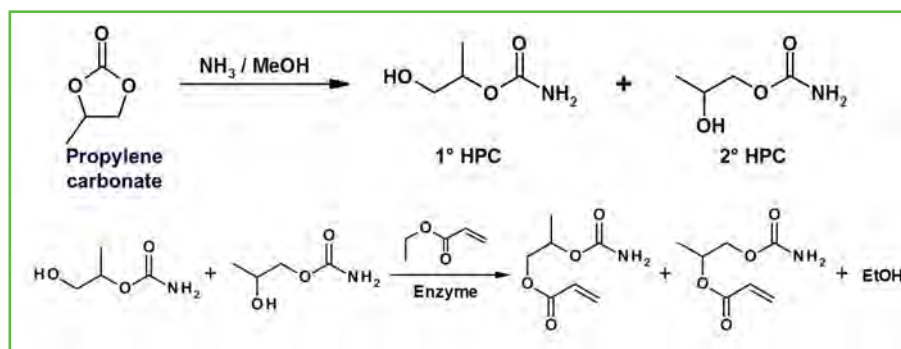


Figure 6 - Reaction scheme of the chemo-enzymatic approach to HPCA. Aminolysis of propylene carbonate gives a mixture of 1- and 2-HPC (top). Subsequent, enzyme catalysed acrylation yields the HPCA products (bottom).

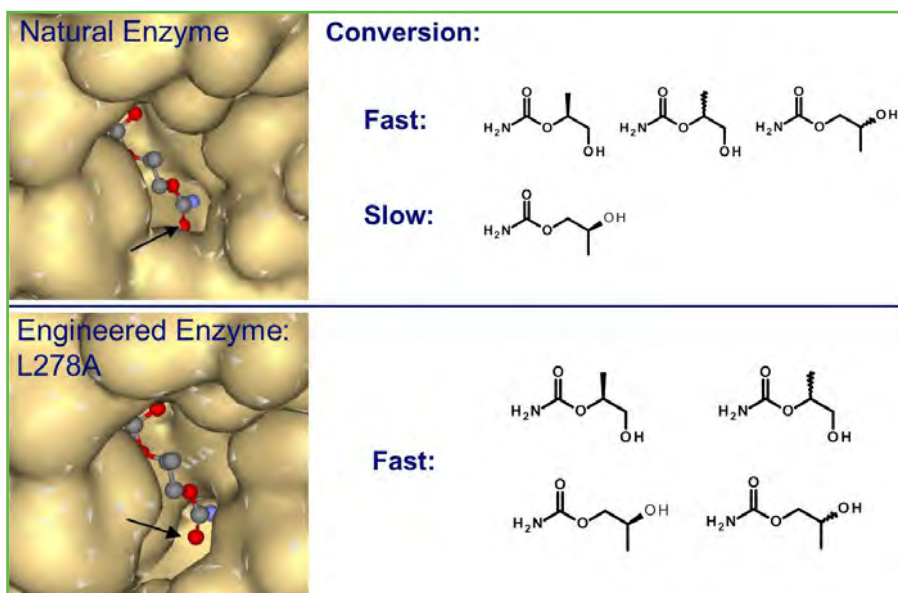


Figure 7 - Model of wild type lipase (top) and mutated lipase (bottom) with 2-HPC in the active site and trends for the respective conversion rates for all four substrate isomers.

The process was successfully scaled up and pilot scale quantities could be synthesized using the chemo-enzymatic approach. Commercial production started in 2010 using a technical set-up which is fully integrated into raw materials streams from acrylic ester plant. This set-up allows for maximum flexibility for the synthesis of additional products, so that the process is used as a platform technology for the manufacture of various other acrylate esters, e.g. those shown in figure 5.

Further attractive targets are glucoside acrylates, which are not accessible by classical chemical approaches as mixtures of isomers are formed, whereas an enzymatic approach allows selective acrylation at C6. Butanediol monovinyl ether acrylate (BuVEA) cannot be accessed by chemical approaches due to its low onset temperature for polymerisation and the high polymerization enthalpy of >1000 J/g.

Glycerol carbonate acrylate, an interesting crosslinking monomer decomposes under chemical esterification reactions, rendering the enzymatic approach ideal for production of this monomer. All above mentioned examples have in common that post-polymerization cross-linking is possible, e.g. via hydroxyl groups (glucoside acrylates), ring-opening with diamines (carbonates) or separate polymerization using a vinyl-function (BuVEA), which makes them versatile building blocks for polymer production.

### Enzymes as products

Besides catalysts for the production of chemicals enzymes are important products on their own. For more than two decades, phytase is used as feed additive in animal nutrition. Here, BASF was the first to introduce phytase into the market in the early 1990's. Used in diets for poultry and pigs, phytase dramatically minimises the amount phosphate excreted by the animal. The phosphorus load of manure is reduced by approx. 30%, leading to a significant decrease of the environmental burden in animal husbandry. In addition to the beneficial environmental impact, phytase also helps our customers to be more successful economically: Natuphos® cleaves phytate – the plant bound phosphorous storage

form – that is indigestible for poultry and pigs, and thereby minimizes the need of supplementation of inorganic phosphorous. In addition it releases other phytate-bound nutrients such as calcium, zinc, copper and magnesium but also amino acids. Finally it also allows animals to metabolize more energy out of the same amount of feed. Feed enzymes like phytase are produced by fermenting the filamentous fungus *Aspergillus*. Today Natuphos® is one of the most important feed additives and is used all over the world.

Another example from this area are glucanase and xylanase which are distributed by BASF under the brand name Naturgrain® TS. In feed Naturgrain® TS helps to increase digestibility and nutritional value by acting on feed components that contain non-starch polysaccharides that would be otherwise indigestible to poultry and pigs. Both enzyme products are characterised by a substantial thermo stability.

This is a crucial feature as modern animal feed needs to be treated at fairly high temperatures prior to feeding. Heat treatment serves to sanitize the forage. This would usually destroy non-thermo stable enzymes by protein denaturation. BASF was successful however to develop thermostable xylanase as well as glucanases which are now produced using *Aspergillus* strains (figure 8). Naturgrain® TS was introduced to European market in 2008; worldwide approval procedures are on the way.



Figure 8 - *Aspergillus niger* is capable to produce massive amounts of useful enzymes.

Phytase, glucanase and xylanase are examples from BASF's current enzyme portfolio. This figure shows fungal mycelium, an agglomeration of cell filaments with diameter of approx. 2-5 µm.

## Outlook

White biotechnology can help industrial chemistry by providing novel, selective catalysts and processes operating under ambient, energy conserving conditions. The synthesis of complex natural compounds based on renewable resources is possible.

In the future, modern tools of molecular biology, bioinformatics and analytics will continue to revolutionize industrial biotechnology. Screening for novel biocatalysts expands from classical screening of biodiversity to prospecting microbial ecosystems on the genome level. Sequence data are fed into rapidly growing databases, which then serve as platform for *in silico* screening.

Enzymes are optimised by mimicking evolution in the test tube; a simple trial-and-error approach can – in combination with powerful high throughput assays – lead to quickly evolved enzymes with significantly improved properties. In the future, we will see single enzymes designed from scratch to meet the needs of industrial chemists.

Wild type organisms have fine-tuned networks of different interdependent metabolic pathways which are perfectly adapted to the needs of the natural environment. Obviously, the needs of an industrial process are quite different. The more is known about the genetic and metabolic set-up of a given production organism, the more leverage exists to optimise this strain by rational approaches. Metabolic engineering has refined to such an extent that there are for the first time opportunities to dramatically alter the metabolism of a production strain both quantitatively as well as qualitatively in swift fashion. Tailor-made “designer strains” capable of producing non-natural chemicals are no longer fiction, but reality. Even though this field of research is still in its infancy, first encouraging examples have been published recently.

When scientific progress translates into broad technical applicability and economic benefit, we will see further increase in the importance of white biotechnology in the chemical industry. In this sense, BASF will continue its successful path of implementing this exciting and promising technology.

- [1] Liu D., Trodler P., Eiben S., Koschorreck K., Müller M., Pleiss J., Maurer S.C., Branney C., Schmid R.D., Hauer B., Rational design of *Pseudozyma antarctica* lipase B yielding a general esterification catalyst, *ChemBioChem*, 2010, 11, p. 789.



M. Budde



M. Breuer



C. Petigny

**Michael Budde et Michael Breuer**, Recherche Biocatalyse, BASF SE\*.  
**Caroline Petigny**, Relations scientifiques, BASF France\*\*.

\* BASF SE, Fine Chemicals and Biocatalysis Research, GVF/B – A030, D-67056 Ludwigshafen (Allemagne).

\*\* BASF France S.A.S., EUW, 49 avenue Georges Pompidou, F-92593 Levallois-Perret Cedex.  
Email: caroline.petigny@basf.com

**MATÉRIAUX** 2014  
24-28 nov.  
Montpellier

FÉDÉRATION FRANÇAISE DES MATÉRIAUX

[www.materiaux2014.net](http://www.materiaux2014.net)

Conception/Réalisation LOGICLIN - Mars 2013 - © A. Galarneau, M. Manko, D. Cot, F. Fajula – ICGM/EM © E. Secret, F. Curin, D. Cot – ICGM/EM © A. Galarneau, M. Manko, F. Fajula, D. Cot, F. Favier – ICGM/EM © A. Galarneau, T. Martin, F. Di Renzo, T. Cacciagara, D. Cot – ICGM/EM © A. Ayral, L. Naszalyi, D. Cot – IEM/CNRS © F. Favier, V. Fakhouri, J. Brügger – ICGM/LMIS1/CNRS © M. Fatnassi, B. Alonso, D. Cot, T. Cacciaguerra, J. M. Devoisselle, C. Tourne-Petieilh © CNRS / M. Hytch © A. Germain – ICGM © H. Glénat, P. Raynaud – PROMES/LAPLACE © H. Glénat, P. Raynaud – PROMES/LAPLACE © H. Glénat, S. Quoizola – PROMES © H. Glénat, S. Grillo – PROMES © Y. Cuminal – IES © J. Silva – PROMES © N. Guérin de Tourville – PROMES CNRS © G. Olalde – PROMES © Alliance Concept

### Secrétariat du Congrès

FFC - Pascale BRIDOU BUFFET  
[pascale.bridou@wanadoo.fr](mailto:pascale.bridou@wanadoo.fr)

Tél. : 01 53 59 02 18

### Contact Exposition

SFV - Gweltaz HIREL  
[gweltaz.hirel@vide.org](mailto:gweltaz.hirel@vide.org)

Tél. : 01 53 01 90 30

# Biotechnologies et médicaments

André Tartar

**Résumé** En l'espace d'une trentaine d'années, les biotechnologies sont devenues incontournables dans tous les domaines touchant au médicament. Utilisées initialement pour produire dans de meilleures conditions des protéines à usage thérapeutique, elles ont permis de viser des cibles moléculaires précises avec les générations successives d'anticorps monoclonaux. Elles se sont également imposées dans toutes les phases de découverte et de développement des médicaments « classiques », allant des tests de criblage à l'utilisation des caractéristiques génétiques associées aux pathologies pour stratifier des patients et ouvrir la voie à la médecine personnalisée.

**Mots-clés** **Biotechnologies, médicaments, anticorps monoclonaux, biotechs, pharmacogénomique.**

**Abstract** **Biotechnologies and pharmaceuticals**  
Within thirty years, biotechnologies have become essential for all areas of pharmaceuticals. Initially, they were used to produce more efficiently therapeutic proteins. A major step was the discovery and progressive humanization of monoclonal antibodies that provided a unique tool to interfere with specific biological targets. Biotechnologies are also involved in every step of the discovery and development of "small molecule" drugs. Initially involved in the early steps of high throughput screening, they now offer the possibility of using genomic analysis for the stratification of patient populations, leading the way to personalized medicine.

**Keywords** **Biotechnologies, pharmaceuticals, monoclonal antibodies, biotechs, genomic pharmacology.**

Dans le domaine de la santé, les différentes activités regroupées sous le terme générique de « biotechnologies » – qualifiées parfois de biotechnologies rouges – ont considérablement évolué au cours des dernières décennies. Lors d'une première période, que l'on peut situer approximativement dans les années 1980, leur périmètre, bien défini, recouvrait l'utilisation des technologies de l'ADN recombinant pour produire des protéines d'intérêt thérapeutique en insérant les gènes codant pour ces protéines dans des cellules hôtes. Les sociétés qui en sont issues, les premières « biotechs », se sont initialement développées au sein même des campus et des laboratoires académiques dont les travaux avaient permis l'émergence de cette toute nouvelle discipline.

## Les biotechs de première génération

Les premières protéines ciblées n'avaient rien d'original : leurs propriétés thérapeutiques étaient bien connues et utilisées depuis longtemps, seules leurs méthodes de production laissaient à désirer. Ainsi l'insuline, produite à partir du porc, différait par un acide aminé de l'insuline humaine (ce qui était corrigé à l'époque par une approche hémysynthétique). Par contre, elle nécessitait trois pancréas de porc pour une dose hebdomadaire. La production d'insuline humaine par des cellules génétiquement modifiées a permis de s'affranchir définitivement de cette limite. Un autre exemple a été celui de l'hormone de croissance : extraite à partir d'hypophyses prélevées sur des cadavres, elle fut à l'origine de la contamination de nombreux jeunes patients par l'agent responsable de la maladie de Creutzfeldt Jakob. La production par génie génétique dans des cellules procaryotes a permis de faire disparaître définitivement ce risque.

Une étape nouvelle fut franchie avec des protéines pour lesquelles les faibles quantités disponibles à partir des sources classiques n'avaient pas permis d'en évaluer le potentiel thérapeutique. Parmi ces protéines, les interférons (dont on savait qu'ils *interféraient* avec la répllication des virus dans les cellules hôtes) et l'érythropoïétine (capable de promouvoir la production de globules rouges) ont pu enfin être produites en quantités suffisantes pour faire l'objet d'essais cliniques puis être utilisées comme médicaments, comblant ainsi des besoins jusque là non satisfaits. Le vaccin contre les papillomavirus, responsables du cancer du col de l'utérus, est un exemple récent de l'apport des technologies de l'ADN recombinant : l'utilisation du virus tué comme atténué n'étant pas envisageable, les protéines de l'enveloppe virale ont été produites dans la levure, puis réassemblées pour créer des particules pseudo virales qui génèrent une immunité protectrice plus efficace que l'immunité naturelle, mais ne contiennent pas le matériel génétique du virus [1].

## Les anticorps monoclonaux

Une troisième vague sera celle des anticorps monoclonaux. Dans les deux cas précédents, il s'agissait d'obtenir par l'intermédiaire d'une cellule génétiquement modifiée des protéines identiques aux protéines endogènes connues et de les injecter pour corriger des pathologies associées à leur déficit ou des protéines à visée vaccinale. Cette fois, le but était de produire des anticorps monospécifiques capables de neutraliser, en s'y liant, une protéine particulière, et ainsi d'interférer directement et spécifiquement avec des mécanismes pathologiques. Les premiers anticorps monoclonaux ont été produits au Medical Research Council (MRC) en 1975

par Georges Köhler et César Milstein en fusionnant deux types de cellules : une cellule B produisant les anticorps et une cellule cancéreuse immortelle [2]. L'hybridome qui en résulte possède à la fois la capacité de produire des anticorps et celle de se reproduire indéfiniment. Si cette découverte valut à ses auteurs le prix Nobel de médecine en 1984, le MRC n'envisageant aucune application commerciale, décida de ne pas la breveter.

En 1986, plus de dix ans après cette publication, un premier anticorps monoclonal – le muromomab dirigé contre le CD3 (marqueur de lymphocytes T) – sera utilisé chez l'Homme pour lutter contre les rejets de greffe. Les succès suivants se feront attendre longtemps : d'origine murine, les premiers anticorps monoclonaux déclenchaient des réactions immunitaires graves. De plus, les espoirs de les utiliser pour traiter les cancers furent décevants car il devint rapidement clair que les véritables antigènes spécifiques de tumeurs étaient rares et souvent inaccessibles aux grosses molécules que sont les anticorps. Des efforts considérables furent alors entrepris pour palier à ces problèmes en remplaçant progressivement les séquences issues de la souris par leurs correspondants humains (figure 1), depuis la mise au point de monoclonaux chimériques souris/homme jusqu'à la production de véritables monoclonaux humains par des souris transgéniques dont le système immunitaire avait été « humanisé ». Il faudra cependant attendre près de dix ans pour voir apparaître un second anticorps monoclonal sur le marché : un antiagrégant plaquettaire (l'abciximab), dont la structure est une chimère souris/homme.

Depuis, les succès se sont multipliés avec l'approbation par l'Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (FDA) de 29 nouveaux anticorps monoclonaux au cours des quinze dernières années. Simultanément, les domaines thérapeutiques visés se sont considérablement élargis, touchant maintenant aussi bien le cancer que l'inflammation, l'auto-immunité ou les maladies infectieuses... En 2011, les ventes mondiales d'anticorps monoclonaux thérapeutiques atteignaient 56 milliards de dollars. Elles sont concentrées sur un petit nombre de produits puisque les ventes des dix premiers monoclonaux par chiffre d'affaires atteignaient à elles seules 47 milliards de dollars (soit plus de

5 % des ventes totales de médicaments au cours de la même période).

De manière intéressante, si on a très tôt cherché à utiliser des immunotoxines pour cibler des agents cytotoxiques sur des cellules tumorales au moyen de ces anticorps monoclonaux, ce n'est que très récemment que ces produits sont arrivés dans l'arsenal thérapeutique, avec en particulier un premier vrai succès avec la mise sur le marché en 2011 du brentuximab, un anticorps monoclonal anti-CD30 (un marqueur présent à la surface des lymphocytes) conjugué chimiquement à une puissante toxine, la monométhyl auristatine E (figure 2 p. 44). C'est le premier nouveau médicament depuis près de trente ans pour le traitement de patients adultes atteints d'un lymphome non hodgkinien réfractaire [3].

## L'aide à la découverte

Même si ces succès sont considérables, s'y arrêter serait oublier un autre volet, tout aussi important : l'apport des biotechnologies au domaine du médicament. Il est en effet apparu très rapidement que les méthodes dérivées de l'ADN recombinant pouvaient contribuer à la découverte et au développement des médicaments classiques, non biotechnologiques. Avec l'apparition des tests de criblage sur récepteurs, la pharmacologie moléculaire s'est considérablement développée. Avant l'arrivée des techniques de l'ADN recombinant, pour des raisons de disponibilité, ces essais étaient réalisés sur des membranes de cellules animales, dont bien souvent les récepteurs mimaient de manière imparfaite leurs homologues humains. La possibilité de transférer dans des cellules modèles ces récepteurs humains a permis de s'affranchir de ce risque et de tester les molécules sur les récepteurs humains, mais aussi sur ceux des espèces animales qui seront utilisées au cours des tests précliniques pharmacologiques comme toxicologiques. Une étape supplémentaire dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques a été franchie avec la production d'animaux transgéniques permettant de modéliser les pathologies humaines.

En parallèle, le séquençage du génome humain a donné accès à de nouvelles cibles thérapeutiques jusqu'alors inconnues que le génie génétique a permis d'exprimer sous

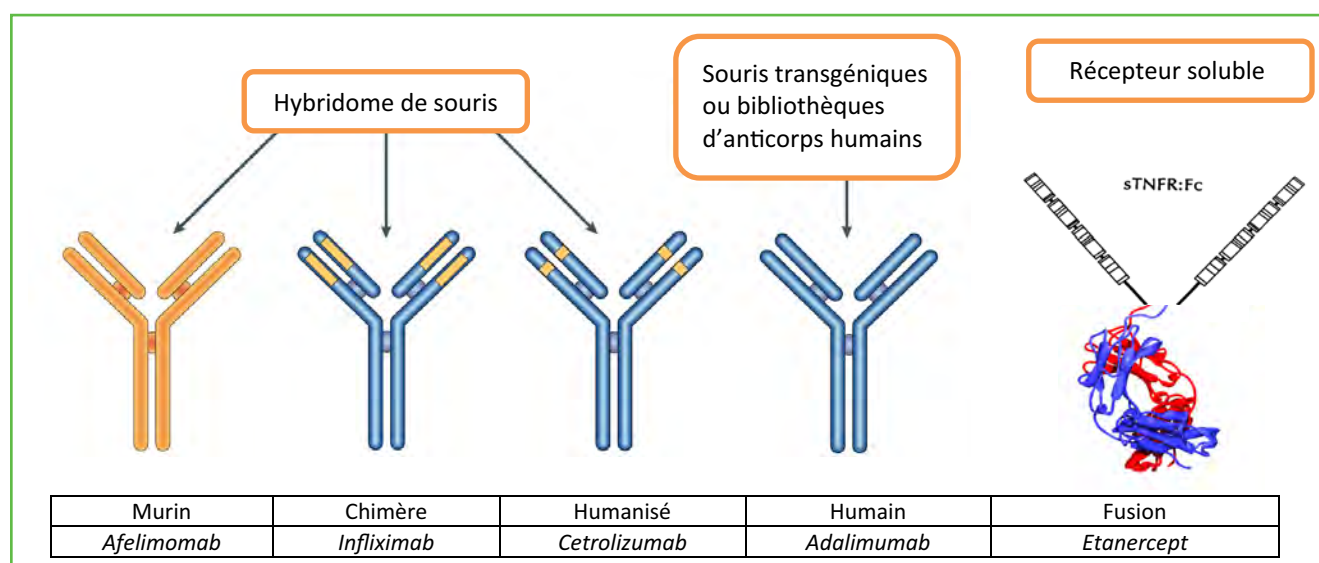


Figure 1 - Différentes génération d'anti « tumor necrosis factor » (TNF).

Les parties issues de la souris sont figurées en jaune. Limitées aux régions en contact avec l'antigène dans les chimères et les humanisés, elles disparaissent totalement dans les anticorps humains de dernière génération. Etanercept utilise le récepteur soluble du TNF greffé sur une partie constante d'immunoglobuline. Ces anticorps ont apporté des progrès considérables dans le traitement de pathologies auto-immunes particulièrement invalidantes, comme la maladie de Crohn ou la polyarthrite rhumatoïde.

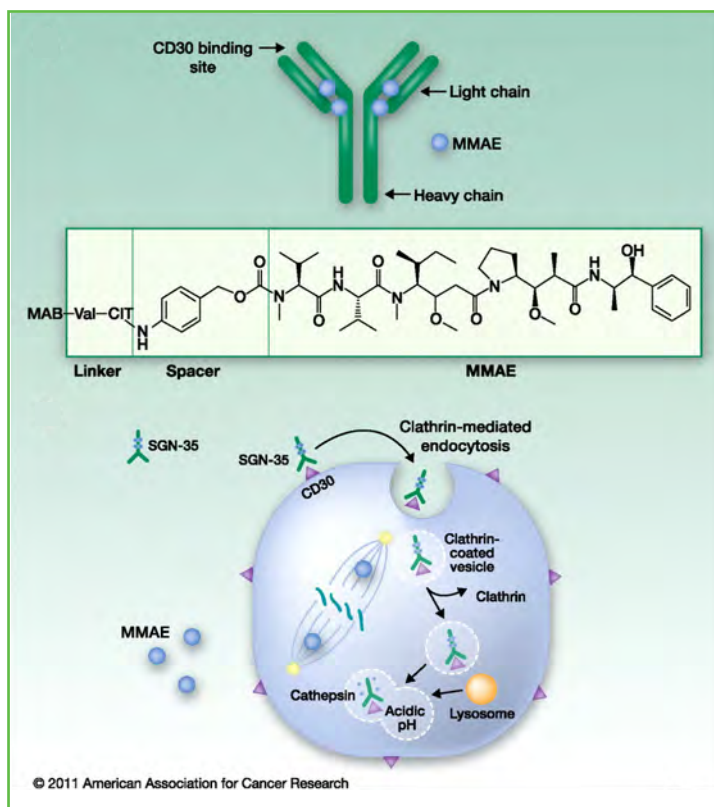


Figure 2 - Le brentuximab (SGN-35), un anticorps monoclonal dirigé contre un marqueur lymphocytaire, le CD30, a été conjugué chimiquement à un poison cytotoxique, la monométhyl auristatine E [3].

forme de protéines (enzymes, récepteurs, canaux ioniques...). Dès lors, le criblage à haut débit qui va permettre de tester des centaines de milliers, voire des millions de petites molécules sur ces cibles, s'est imposé comme une méthode incontournable dans les toutes premières étapes de la recherche. Ici, un apport des biotechnologies a été de s'affranchir de l'utilisation de traceurs radioactifs grâce à la mise en place de criblages fonctionnels faisant souvent appel à des protéines fluorescentes comme la GFP, la « green fluorescent protein »<sup>(1)</sup>. Issue d'une méduse, cette protéine est intrinsèquement fluorescente grâce à une

réaction non enzymo-catalysée (figure 3). Le gène codant pour la GFP est fusionné à celui de la protéine que l'on souhaite étudier. Le fonctionnement de cette dernière sera ainsi associé à l'apparition d'un signal de fluorescence facilement détectable. Les « leads » issus de ce criblage font alors l'objet d'un processus long et complexe d'optimisation au cours duquel on cherchera à améliorer l'activité vis-à-vis de la cible thérapeutique. Cette étape sera grandement facilitée si celle-ci peut être exprimée en quantité suffisante pour permettre des études structurales (RMN ou rayons X). Mais cette optimisation va beaucoup plus loin que la recherche d'une molécule plus active : elle concerne toutes les propriétés qui seront nécessaires pour en faire un médicament. Parmi celles-ci, on citera la sélectivité, l'absence de toxicité, la stabilité métabolique, la perméabilité membranaire, la biodisponibilité orale etc. Par le passé, ces paramètres étaient optimisés au moyen de tests sur des animaux. Ici encore, l'apport des biotechnologies a été capital. La perméabilité au travers de la barrière intestinale, par exemple, est désormais évaluée au moyen de cellules Caco-2<sup>(2)</sup> qui reproduisent cette membrane et permettent de mesurer le passage des molécules.

Un autre exemple est celui du métabolisme : après leur absorption, les médicaments passent au travers du foie où se trouvent de nombreuses enzymes qui vont le modifier et souvent lui faire perdre son activité. Certaines molécules sont ainsi entièrement métabolisées dès leur premier passage hépatique. Il est important de prédire ce métabolisme de manière à atteindre la demi-vie souhaitée pour le médicament. Le clonage des différentes enzymes impliquées de même que l'utilisation de microsomes hépatiques de différentes espèces (dont l'Homme) permettent actuellement d'optimiser la stabilité métabolique à partir de données *in vitro*, évitant ainsi les échecs, fréquents par le passé, lors des premiers essais chez l'Homme.

## La pharmacogénomique

L'un des derniers développements a été celui de la pharmacogénomique [4]. La compréhension des mécanismes cellulaires qui sous-tendent les processus de cancérisation avait permis le développement d'inhibiteurs sélectifs des voies de signalisation impliquées, souvent des kinases qui

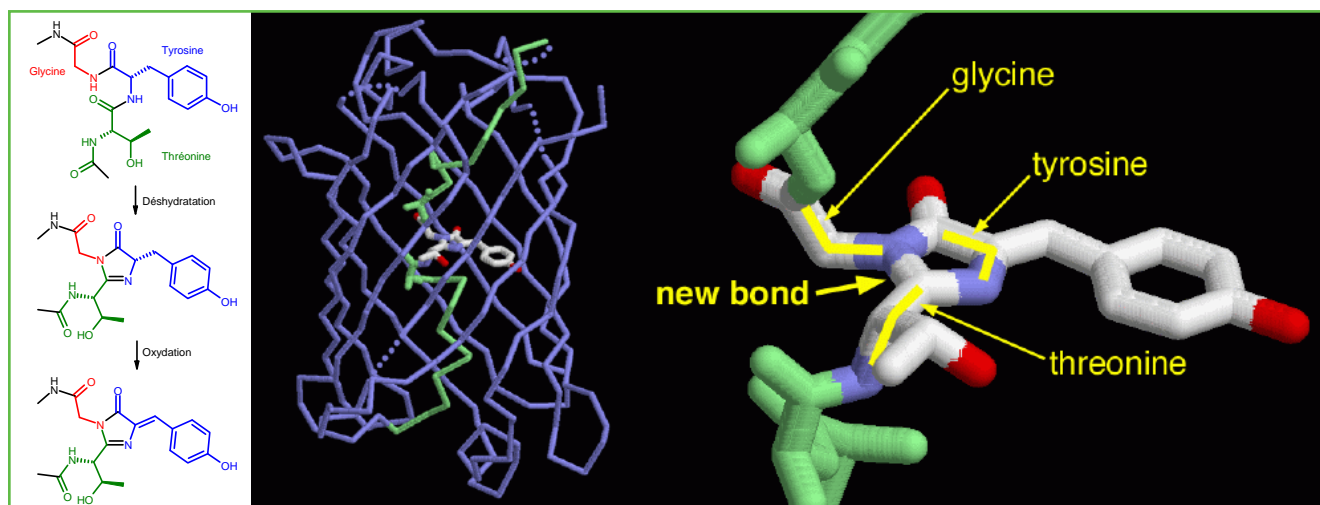


Figure 3 - Le fluorophore de la « green fluorescent protein » (GFP) est formé lors d'une réaction de cyclisation intramoléculaire spontanée mettant en jeu trois acides-aminés contigus (sérine, tyrosine, glycine).

À gauche : formation du site fluorescent de la GFP (la conformation imposée par le reste de la protéine favorise les réactions qui ne nécessitent aucune catalyse). À droite : Structure tridimensionnelle de la GFP (source : Protein Data Bank).

phosphorylent les protéines. Ces nouvelles thérapies ciblées constituent un progrès majeur par rapport aux agents cytotoxiques. Par contre, elles ne sont efficaces que dans la sous-population des patients qui portent la mutation responsable du processus de cancérisation. C'est ainsi que s'est développé le concept de théranostique<sup>(3)</sup>, qui associe une thérapie ciblée et un test de diagnostic pour identifier, par analyse de leur génome, les patients répondeurs. Mis en place dès le début des essais cliniques, ces tests permettent de réduire le nombre de patients enrôlés et d'éviter de traiter des non-répondeurs. Ces tests seront par la suite utilisés durant toute la durée de vie du médicament. Un exemple récent en est le vemurafenib qui a révolutionné la prise en charge du mélanome métastatique. Sa cible est la kinase BRAF, sous réserve qu'elle soit porteuse de la mutation V600E (la valine en position 600 est remplacée par un acide glutamique). Cette mutation, qui concerne environ 50 % des patients, est responsable de l'activation non contrôlée de la voie des MAPK (protéine kinase activée par mitogène). Les résultats sur les patients porteurs de la mutation sont spectaculaires pour une pathologie gravissime qui, jusqu'à présent, résistait aux traitements classiques [5].

## La « chemical biology » : la convergence...

Si on a souvent par le passé opposé chimie et biotechnologie, il est intéressant de constater que ces disciplines convergent de plus en plus au point de se recouvrir dans de nombreux domaines. La « chemical biology » est ainsi une discipline en plein essor possédant désormais ses propres revues scientifiques (figure 4). Les « facteurs », entités biologiques mal définies, sont tous devenus des macromolécules parfaitement connues à l'échelle atomique et accessibles à un large éventail de méthodes analytiques. La synthèse de véritables protéines contenant des acides aminés non naturels est devenue classique. Un « évènement » récent et passé inaperçu : dans le cadre de la mise en place de la législation sur les biosimilaires [6], la FDA a défini ce qu'elle considérait comme un peptide synthétique : tout peptide de moins de 40 acides aminés, qu'il soit produit par synthèse ou recombinant, tombe dans la catégorie « synthétique ». Par contre, au-dessus de 99 acides aminés, un peptide produit par synthèse totale sera considéré comme un recombinant ! Par cette démarche, le législateur prévoit clairement la possibilité que de véritables protéines puissent être produites par synthèse totale à une échelle industrielle et économiquement viable.

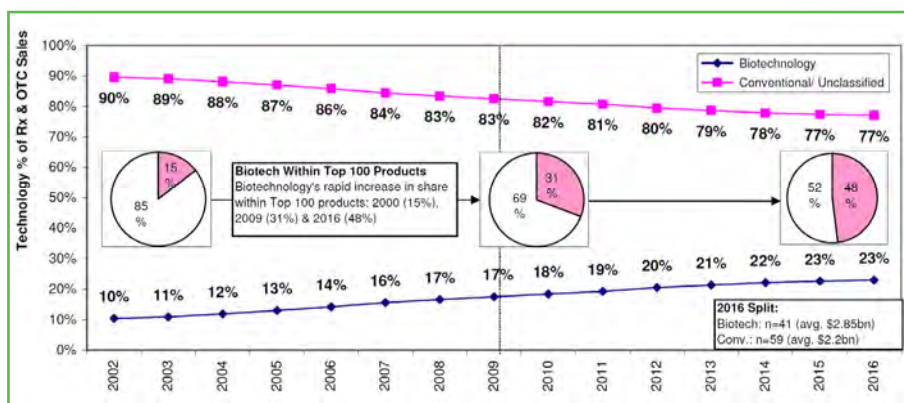


Figure 4 - Évolution des ventes mondiales de médicaments issus d'origine biotechnologique comparées à celle des ventes de médicaments d'origine chimique. À l'horizon 2016, parmi les 100 médicaments réalisant le plus gros chiffre d'affaires, on devrait en compter 48 d'origine biotechnologique.

Source : EvaluatePharma®, 2010.

## Notes et références

- (1) Isolée à partir d'une méduse, la « green fluorescent protein » (GFP, protéine fluorescente verte) comporte 238 acides aminés. Cette protéine présente la particularité de développer une fluorescence verte par cyclisation d'un tripeptide Ser-Tyr-Gly selon un mécanisme spontané indépendant de tout cofacteur. Elle est très utilisée comme gène rapporteur lors des tests de criblage.
- (2) *Cellules Caco-2* : lignée cellulaire humaine issue d'un carcinome du côlon qui présente la particularité de former des monocouches confluentes sur les membranes de culture cellulaire. Elle est utilisée comme modèle de perméabilité pour évaluer l'absorption intestinale des médicaments.
- (3) *Théranostique* : association d'un diagnostic et d'une thérapie. C'est la base de la médecine personnalisée : elle permet de sélectionner les patients répondeurs à un médicament ou d'éviter de l'administrer s'ils risquent de développer des effets secondaires.
- [1] Shi L. *et al.*, Gardasil: prophylactic human papillomavirus vaccine development. From bench top to bed-side, *Clin. Pharmacol Ther.*, **2007**, *81*, p. 259.
- [2] Köhler G., Milstein C., Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity, *Nature*, **1975**, *258*, p. 495.
- [3] Katz J., Janik J.E., Younes A., Brentuximab Vedotin (SGN-35), *Clin. Cancer Res.*, **2011**, *17*, p. 6428.
- [4] Feero G., Guttmacher A.E., Collins F.S., Genomic medicine - An updated primer, *New Engl. J. of Med.*, **2010**, *362*(21), p. 2011.
- [5] Chapman P.B. *et al.*, Improved survival with vemurafenib in melanoma with BRAF V600E mutation, *New Engl. J. of Med.*, **2011**, *364*, p. 2507.
- [6] [www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm271790.htm](http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm271790.htm)



### André Tartar

est professeur à la Faculté des Sciences pharmaceutiques et biologiques de Lille\*

\* Faculté des Sciences pharmaceutiques et biologiques, 3 rue du professeur Laguesse, F-59006 Lille.  
Courriel : andre.tartar@univ-lille2.fr

Connaissez-vous le site de l'AC ?

**lactualitechimique.org**

Alors, vite à votre souris !

# Introduction aux bioraffineries

Daniel Thomas et Stéphane Octave

**Résumé** Une bioraffinerie est un ensemble industriel, localisé sur un même site, qui transforme la biomasse agricole et forestière en une diversité de produits biosourcés et qui est à l'origine d'une nouvelle approche intégrée. Ses caractéristiques en termes de choix industriels (produits, procédés), de taille et d'environnement conditionnent la compétitivité de cette nouvelle bioéconomie.

**Mots-clés** **Bioraffinerie, biotechnologies, nouveaux procédés, optimisation des conditions de compétitivité, bioéconomie.**

**Abstract** **Introducing biorefineries**

A biorefinery is an industrial complex, located on the same site, which transforms the agricultural and forestry biomass into a variety of biobased products and is at the origin of a new integrated approach. Its characteristics in terms of industrial choices (products, processes), of size and environment are responsible of the competitiveness of this new bioeconomy.

**Keywords** **Biorefinery, biotechnology, new process, competitiveness optimization, bioeconomy.**



© Jean-Marc LISSE.

La bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle en Champagne-Ardenne.

Qu'entendons-nous par bioraffinerie ? C'est un ensemble industriel, localisé sur un même site, qui transforme la biomasse agricole et forestière en une diversité de produits biosourcés (alimentation humaine et animale, produits chimiques, matériaux, biomolécules, agromatériaux) et de bioénergie (biocarburants, électricité, chaleur) dans le cadre d'une stratégie de développement durable. C'est donc à la fois la transformation de la plante dans sa totalité, en valorisant tous ses constituants, et l'intégration des composantes d'un site industriel pour réaliser un véritable « métabolisme industriel ».

## État des lieux

À ce jour, il existe 35 bioraffineries en Europe, principalement situées dans le nord. Elles peuvent être décrites selon deux modèles que l'on retrouve à parts égales dans le monde entier, et se caractérisent par deux démarches différentes :

- la première consiste en des bioraffineries de grandes tailles, qui utilisent des biomasses peu différenciées en provenance du monde entier ; elles sont donc installées dans des ports comme aux Pays-Bas à Rotterdam ou à Gand (« Bioenergy Valley ») ;
- la seconde est représentée par des bioraffineries qui traitent quelques centaines de milliers de tonnes de biomasse par an ; elles sont installées en zone rurale, créant ainsi un fort lien avec les producteurs agricoles. Ces derniers sont donc associés à la répartition de la création de valeur en adaptant la plante à la stratégie de la bioraffinerie, proche de la production de la biomasse.

Le développement des bioraffineries ne saurait être ce qu'il est sans les nombreux projets et soutiens mis en place, que ce soit en Europe ou aux États-Unis. À ce sujet, il est couramment admis que le soutien à l'essor des bioraffineries est vingt fois

supérieur aux États-Unis qu'il ne l'est en Europe.

Aux États-Unis en effet, les pouvoirs publics affichent un soutien conséquent à la recherche et à l'innovation ainsi qu'à des démonstrations concrètes. Ainsi en 2009, ce ne sont pas moins de dix-neuf projets de démonstration qui ont été financés par le Département de l'Énergie (DOE), au titre du développement des bioraffineries pour les biocarburants avancés et les bioproduits. Ils ont représenté 1,3 milliard de dollars, dont près de six projets pilotes représentant chacun de 50 à 80 millions.

En Europe, le « Framework Programme 7 (2007-2013) », le 7<sup>e</sup> programme cadre pour la recherche et le développement technologique, est un outil de financement pour des projets de recherche et de développement collaboratifs. Dans ce cadre, l'Union européenne a mis en place une action sur les bioraffineries, action au sein de laquelle trois projets ont été retenus :

- Eurobioref, projet de 40 millions d'euros piloté par le CNRS (France) [1] ;
- Biocore, 20 millions d'euros, piloté par l'INRA (France) [2] ;



– Suprabio, 20 millions d'euros, piloté par Cambridge (Royaume-Uni) [3].

Parallèlement, cette action a soutenu un projet horizontal, « Star COLIBRI » [4], à l'origine de deux rapports sur la stratégie de bioraffineries :

- « Joint European Biorefinery Vision for 2030 » [5], pour une vision européenne à l'horizon 2030 ;
- « European Biorefinery Joint Strategic Research Roadmap » [6], un texte qui analyse et identifie les besoins tant d'un point de vue industriel que de celui de la recherche.

## Les principaux défis

Les bioraffineries fractionnent la biomasse en récupérant les principaux constituants de la plante : lipides, carbohydrates et protéines. Plusieurs technologies sont ensuite utilisées pour transformer ces matières premières. Mais l'innovation doit être au cœur des réflexions pour augmenter et diversifier la production de biomasse, car si transformer du sucre en éthanol est quelque chose de connu et de maîtrisé, transformer de la lignine en molécules pour la chimie fine l'est moins. Pourtant, c'est cet objectif technologique que les bioraffineries tentent d'atteindre. Le but est bien de transformer des produits à faible valeur ajoutée en produit(s) à haute valeur ajoutée. Pour y arriver, les bioraffineries doivent faire face à plusieurs défis qu'il est possible de résumer en cinq points :

- le développement de technologies efficaces et compétitives,
- l'intégration pour un « métabolisme industriel »,
- la diversification des produits,
- le dimensionnement de la bioraffinerie,
- la création et l'essor des clusters entre les acteurs.

## Développement des technologies

Les technologies utilisées aujourd'hui dans les bioraffineries n'ont pas encore atteint la maturité que peuvent revendiquer les technologies matures du raffinage du pétrole. En effet, développées il y a bien longtemps, ces dernières restent toujours efficaces aujourd'hui. En revanche, la jeunesse des biotechnologies industrielles leur confère une grande marge de progression, car elles doivent inventer leur propre technologie. De nombreuses approches sont actuellement testées dans le monde entier. Au Brésil par exemple, la production de bioéthanol a pu être considérablement améliorée et son efficacité a été multipliée par dix au cours des trente dernières années.

Des efforts de recherche et d'innovation sont donc absolument indispensables pour permettre l'essor de la stratégie des bioraffineries. Des développements sont nécessaires aussi bien en ce qui concerne le prétraitement que les procédés de production eux-mêmes.

En effet, pour ce qui concerne le prétraitement, la flexibilité des procédés de fractionnement de la biomasse semble impérative. L'objectif est de permettre par exemple de séparer les divers composants constitutifs de la lignocellulose (la cellulose, l'hémicellulose et la lignine), par des méthodes physiques, physico-chimiques ou enzymatiques.

En termes de production propre, plusieurs améliorations s'imposent. Une des premières priorités pourrait porter sur le développement de nouveaux biocatalyseurs (micro-organismes et enzymes) en tenant compte des contraintes industrielles et en tirant profit des progrès du génie métabolique (voir articles de D. Pompon *et coll.* p. 24 et de J.-L. Faulon *et coll.* p. 30). Des recherches devraient également aider à

perfectionner les procédés thermo-chimiques appliqués à la biomasse tout en améliorant la qualité des produits obtenus. On peut par exemple imaginer une amélioration de la pureté des gaz de synthèse, dits syngas, utilisés pour la conversion catalytique, ou de celle des huiles de pyrolyse. Parallèlement, de nouveaux catalyseurs devraient être développés pour permettre la transformation de la biomasse en milieux aqueux, y compris en utilisant le criblage à haut débit. La conversion des lipides, de la lignine et d'autres polymères naturels que les polysaccharides pourrait, quant à elle, être maximisée en associant la catalyse et la biocatalyse en milieux aqueux.

En ce qui concerne l'eau, l'optimisation de sa gestion devrait être accompagnée d'une attention toute particulière quant à son recyclage et sa réutilisation. Enfin, il ne faut en aucun cas négliger les avancées scientifiques réalisées aussi bien en biologie de synthèse qu'en biologie des systèmes pour créer et réguler des fonctions biologiques nouvelles utiles pour la bioraffinerie.

## Intégration pour un métabolisme industriel

L'intégration de différentes technologies et de l'ingénierie devrait amener à l'utilisation de la totalité des composants d'une plante sans qu'il n'y ait aucun déchet [7]. En d'autres termes, il s'agit de valoriser tous les composants de toutes les plantes traitées dans la bioraffinerie et d'éliminer les déchets et les sous-produits. Cette avancée passe par plusieurs optimisations de la situation actuelle :

- Les procédés doivent être découplés, ce qui permettra une intégration rationnelle basée sur la modélisation tout en prenant en compte aussi bien le recyclage que la gestion de l'eau. Cette démarche ouvre la voie à des bioraffineries intégrées et flexibles, en mesure d'utiliser de multiples sources de biomasse, à travers différents procédés pour générer des produits diversifiés.
- L'évaluation de la durabilité de la bioraffinerie intégrée doit être réalisée de manière rationnelle ; elle passe donc par le développement des analyses des cycles de vie en utilisant les méthodes reconnues.
- L'intégration de la bioraffinerie, c'est aussi son adaptation à et dans son territoire, une notion particulièrement importante pour les bioraffineries établies en milieu rural. Cette intégration s'étend à la région d'approvisionnement et aux relations avec le monde agricole, ce qui permettra d'optimiser les conditions d'accès à la biomasse. Il est donc indispensable d'analyser les impacts de l'intégration des systèmes agricoles dans les bioraffineries.
- Cette intégration ne saurait être réussie sans une recherche en sciences humaines et sociales afin de faciliter les coopérations de toutes les parties prenantes.

## Des produits diversifiés

La bioraffinerie ne prendra son essor que dans le cadre d'une grande diversité de produits. Cela implique donc une cohabitation entre des marchés de masse à faible valeur ajoutée et des marchés de niches générant des valeurs ajoutées élevées. Mais cette diversité a un impact direct sur la structure industrielle, ce qui n'est pas sans créer certaines difficultés selon les sociétés et notamment sur la régularité des approvisionnements. Par ailleurs, les sociétés cotées en bourse subissent bien souvent une pression des marchés qui les poussent à se concentrer sur un seul métier, un frein pour appréhender cette diversité des produits, des matières

premières et des procédés. Ainsi, il semblerait que la maîtrise d'une telle stratégie serait plus facile pour les entreprises familiales (Roquette, Cargill) et les groupes coopératifs (Siclaé, Sofiprotéol).

Cette diversité se traduit par un grand nombre de familles de produits et de marchés :

– *Les biomolécules* : parallèlement au remplacement des molécules carbonées fossiles par des molécules renouvelables et à la diminution de la production de gaz à effet de serre, l'évolution de la réglementation (REACH en particulier) provoque une demande industrielle pour les produits agrosourcés. L'intérêt se porte sur les synthons et molécules plateformes comme l'acide succinique, ou sur les molécules en fin de chaînes de production comme les biolubrifiants, les vernis, les bioplastifiants, les bioadhésifs, les solvants verts ou encore les tensioactifs.

– *Les biopolymères et les agromatériaux* : dans le domaine de la plasturgie et des composites, les fibres de carbone utilisées en renfort peuvent être remplacées par des fibres de lin ou de chanvre en utilisant un liant de biopolymères. Dans un autre domaine, l'habitat se construit également avec des bétons de chanvre ou de lin, des feutres biosourcés...

– *L'énergie* dont les biocarburants, que ce soit pour la production de chaleur et d'électricité à partir de biomasse (cogénération) ou pour la production de biocarburants de première génération (bioéthanol, biodiesel), de deuxième génération (éthanol à partir de lignocellulose), ou encore de troisième génération (par exemple à partir de microalgues).

– *Des ingrédients et actifs pour l'alimentation humaine et animale ou pour les cosmétiques.*

### Dimensionnement d'une bioraffinerie

L'efficacité d'une bioraffinerie ne saurait être atteinte sans une taille conséquente. Ainsi, leur augmentation d'échelle est un passage obligé pour une réelle compétitivité par rapport à la pétrochimie et à l'industrie chimique. Toutefois, ce point de vue doit être nuancé. En effet, la flexibilité demeure la priorité, et la taille dépendra non seulement de cette flexibilité voulue et obtenue, mais aussi de l'accès aux différents types de biomasse. Une approche que soutient la Commission de l'Union européenne, car on ne peut ignorer l'importance de la fiabilité de l'approvisionnement en matières premières. Par ailleurs, si cette matière première doit être transportée sur plusieurs milliers de kilomètres pour arriver à la bioraffinerie, toute l'énergie économisée serait perdue en transport.

Ainsi, il est possible d'obtenir un effet positif d'échelle en associant les activités alimentaires et non alimentaires sur les mêmes sites de bioraffineries.

### Création de clusters entre partenaires

Pour que les bioraffineries perdurent, la création de partenariats est essentielle. Ainsi, le concept de cluster s'applique tout particulièrement aux sites de bioraffineries. Il permet de réunir en un même lieu des industries pouvant être de natures différentes selon les procédés qu'elles mettent en œuvre et les produits qu'elles fabriquent. On parlera parfois d'écosystème industriel, les diverses entreprises présentes sur le site se fournissant de l'une à l'autre en produits semi transformés ou en énergie et mettant en commun des moyens de traitement des effluents. C'est notamment le cas du site de Rotterdam ou de Gand où six sociétés travaillent étroitement ensemble ou, en France, le site de Bazancourt-

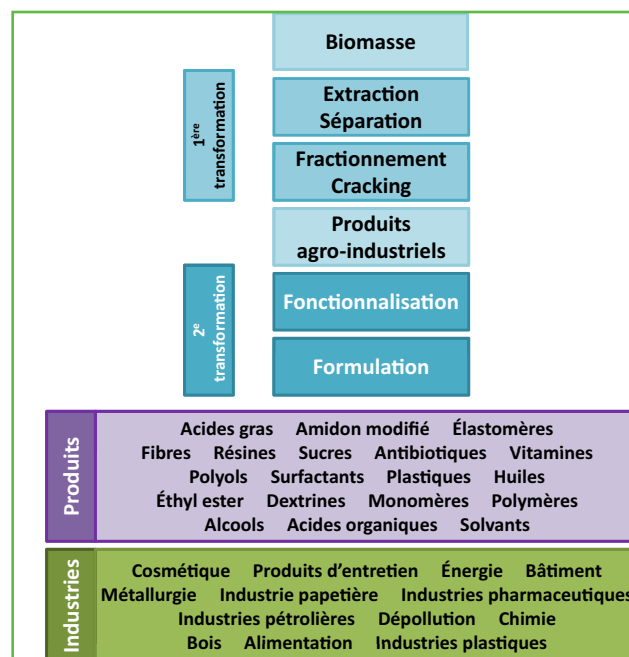


Schéma global de la bioraffinerie.

Pomacle situé en Champagne-Ardenne. Dans ce dernier exemple, développé dans l'article de Chauvet *et coll.* p. 49, la mise en réseau à l'échelle régionale, au travers du pôle de compétitivité « Industries et AgroRessources » [8], permet un essor remarquable des bioraffineries locales.

Ces défis et les réponses évoquées montrent la possibilité d'amélioration de cette jeune économie qu'est la bioéconomie. Les bioraffineries n'en sont qu'à leurs débuts mais confirment déjà la possibilité d'une économie durable.

### Références

- [1] <http://eurobioref.org>
- [2] [www.biocore-europe.org](http://www.biocore-europe.org)
- [3] [www.suprabio.eu](http://www.suprabio.eu)
- [4] [www.star-colibri.eu](http://www.star-colibri.eu)
- [5] The Star-COLIBRI project (Strategic Targets for 2020 – Collaboration Initiative on Biorefineries), "Joint European Biorefinery Vision for 2030", 2011.
- [6] The Star-COLIBRI project (Strategic Targets for 2020 – Collaboration Initiative on Biorefineries), "European Biorefinery Joint Strategic Research Roadmap", 2011.
- [7] Octave S., Thomas D., Biorefinery: toward an industrial metabolism, *Biochimie*, 2009, 91, p. 659.
- [8] [www.iar-pole.com](http://www.iar-pole.com)



D. Thomas

#### Daniel Thomas

est professeur au Laboratoire de Génie Enzymatique et Cellulaire (FRE CNRS 3580), et premier vice-président du pôle de compétitivité Industries et Agroressources (IAR), Université de Technologie de Compiègne\*.

#### Stéphane Octave

est ingénieur de recherche à la Direction à la Recherche, Coordination pôle IAR\*.



S. Octave

\* Université de Compiègne, Direction à la Recherche, Coordination UTC-Pôle IAR, BP 20529, F-60205 Compiègne Cedex.  
Courriels : [daniel.thomas@utc.fr](mailto:daniel.thomas@utc.fr) ; [stephane.octave@utc.fr](mailto:stephane.octave@utc.fr)

# La bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle

## Une plate-forme d'innovation ouverte au cœur d'un complexe agro-industriel

Jean-Marie Chauvet, Florent Allais, Yvon Le Hénaff, Pierre-Alain Schieb et Marc-André Théoleyre

**Résumé** Le complexe de Bazancourt-Pomacle, situé près de Reims (Marne), est considéré à ce jour comme l'une des bioraffineries les plus intégrées d'Europe. La particularité de ce site réside dans l'engagement des agriculteurs *via* leurs coopératives et dans le fait qu'il associe un pôle industriel et un pôle d'innovation ouverte. Cet article décrit cet écosystème et son métabolisme et met en perspective la place potentielle des bioraffineries dans la « nouvelle bioéconomie » qui se profile au niveau mondial.

**Mots-clés** **Bioéconomie, biotechnologies industrielles, bioraffinerie, produits biosourcés, biomasse, coopération agricole, compétitivité, pôle mondial, valorisation/fermentation des sucres, seconde génération, métabolisme industriel, démonstration.**

**Abstract** **The biorefinery of Bazancourt-Pomacle: an innovation platform inside an agro-industrial cluster**  
The complex of Bazancourt-Pomacle, located near Reims (France), is recognized as one of the most integrated biorefinery in Europe. The particularity of this site comes up from the commitment of farmers *via* their cooperatives and in the fact that it combines an industrial cluster and an innovation platform. This article describes this ecosystem with its metabolism and put into perspective the potential place of the biorefineries in the context of the "new biobased economy" emerging at global level.

**Keywords** **Bio(based)economy, industrial biotechnologies, biorefinery, biobased products, biomass, agri-cooperation, competitiveness, worldwide cluster, valorization/fermentation of sugars, second-generation, industrial metabolism, demonstration.**

### Un peu d'histoire

La bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle est située au Nord-Est de Reims (Marne), en plein cœur d'un espace agricole dédié aux « grandes cultures » que sont le blé, l'orge, la betterave à sucre, le pois protéagineux et la luzerne.

L'agriculture de cette région, considérée de nos jours comme « performante », doit son développement principalement à la détermination des hommes, à leur capacité à intégrer les progrès techniques (fertilisation, phytoprotection) et à se regrouper. Avec pour base un sous-sol crayeux, quasiment sans sol à proprement parler, les conditions de départ, en termes de fertilité, n'étaient pas des plus favorables. Depuis plus d'un siècle, l'agriculture régionale vit sous l'impulsion d'un fameux « faisons nos affaires nous-mêmes » prononcé par Gustave de Bohan, aïeul d'une lignée d'agriculteurs encore en responsabilité actuellement.

C'est sur la base de ce slogan que la dynamique de la coopération a pu se déployer et permettre d'atteindre le niveau de développement exceptionnel que nous connaissons aujourd'hui, tant sur le plan agricole que sur le plan de la transformation industrielle et de l'innovation.

Dans les régions Champagne-Ardenne et Picardie, les niveaux de rendement sont parmi les plus élevés d'Europe et

les efforts actuels portent sur le couplage entre la performance technique et le respect de l'environnement dans une logique d'agriculture raisonnée très poussée.

Dans son ensemble, le développement agro-industriel de la région a « naturellement » accompagné et prolongé son développement agricole. Le site de Bazancourt-Pomacle est en somme un symbole très fort de l'engagement des agriculteurs *via* leurs coopératives. Le but de cet article n'est certes pas de faire un cours d'histoire... Un récent ouvrage, *En Champagne-Ardenne, une agriculture forte de ses hommes et de ses innovations*, fait d'ailleurs un point très précis à ce sujet [1].

Le détour historique est cependant nécessaire, car si on n'intègre pas « le temps et la dynamique de coopération », on ne peut pas expliquer le développement actuel de la bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle.

Le véritable tournant pour le site se situe au début des années 1990. Jusque là existait une « simple sucrerie », dont l'histoire en elle-même est passionnante, mais elle était en fait une sucrerie parmi d'autres si l'on peut dire. La sucrerie a depuis été modernisée ; elle appartient au groupe coopératif Cristal Union et se situe dans le top des sucreries françaises en termes de capacité et de performance. Le « destin » du site a basculé avec la construction simultanée

de Chamtor (amidonnerie-glucoserie appartenant au groupe céréalière Sicalé) et d'ARD (Agro-industrie Recherches et Développement), un centre de recherche mutualisé entre « les céréaliers » et « les betteraviers ». Ce qu'il est important de souligner, c'est qu'à partir de ce moment-là, le site de Bazancourt-Pomacle devenait à la fois un complexe agro-industriel et un pôle d'innovation, la sucrerie étant le « centre organisateur » – pour emprunter un terme d'embryologie – du complexe industriel et ARD celui du pôle d'innovation.

C'est aussi à ce moment là que les collectivités locales et territoriales (le département de la Marne, puis la région Champagne-Ardenne et enfin Reims Métropole) sont « entrées dans le jeu » en apportant un soutien à l'innovation qui n'a jamais fait défaut depuis plus de vingt ans.

Le panorama actuel du site est en somme la résultante directe d'une interaction d'acteurs qui implique désormais des acteurs académiques, avec l'arrivée récente sur site d'écoles prestigieuses comme l'École Centrale Paris et AgroParisTech venues rejoindre les forces locales, Reims Management School et l'Université de Reims Champagne-Ardenne.

Aujourd'hui, la bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle (figure 1), c'est :

- un écosystème multi-entreprises, qui transforme principalement du blé et de la betterave pour élaborer des produits destinés aux industries alimentaires – une priorité –, mais aussi aux industries chimiques, cosmétiques, pharmaceutiques, à l'industrie de l'emballage et du conditionnement, des carburants et combustibles... ;
- et également un site qui héberge une plate-forme d'innovation permettant de couvrir un large champ d'investigations, depuis le stade de la recherche en laboratoire jusqu'à la démonstration industrielle.

Cette configuration, quasi unique en Europe, fait de ce site l'une des « vitrines » du pôle de compétitivité « Industries & Agroressources » qui est considéré en France comme le pôle de compétitivité dédié aux bioraffineries [2].

Avant même que l'on parle de l'émergence d'une « nouvelle bioéconomie », à la fois comme opportunité et comme nécessité, les agriculteurs de cette région ont pu et su démontrer une réelle capacité à s'organiser pour faire face à une demande en biomasse qui s'annonce croissante pour satisfaire des besoins de plus en plus nombreux et divers.

## À l'heure d'une « nouvelle bioéconomie »

Depuis quelques années, le terme de bioéconomie apparaît de plus en plus fréquemment dans les documents officiels des administrations américaines et européennes (voir encadré 1), et notamment depuis que l'OCDE a publié un certain nombre d'études à ce sujet [4]. Les États-Unis ont ainsi publié en avril 2012 une feuille de route dénommée « National Bioeconomy Blueprint » [5].

Pour ce qui est de l'Europe, la Commission européenne, dans le cadre de la déclinaison de sa stratégie 2020, a publié une communication spécifique sur le sujet : « Innovating for Sustainable Growth: A Bioeconomy for Europe » [6].

Réalisé dans le cadre du programme européen Beccets, le document de synthèse, « The European Bioeconomy in 2030 », a servi de cadre à cette communication et a permis de bien préciser les grands enjeux et défis auxquels la planète fait (et doit faire) face et pour lesquels la biomasse, agricole, forestière et marine peut apporter une contribution [7] (figure 2).

### La place des bioraffineries au cœur de la bioéconomie

Le travail réalisé dans le cadre du programme StarCOLIBRI, également européen, a permis d'insister sur la

#### Encadré 1

#### À propos de bioéconomie

EuropaBio (Association européenne des bioindustries) [3] définit la bioéconomie comme la production de ressources biologiques renouvelables et leur conversion en aliments (homme et animal), bioproduits et énergie, via des technologies innovantes et efficaces issues des biotechnologies industrielles.

Le but ultime de la bioéconomie est d'aider l'Europe à rester compétitive, innovante et prospère en fournissant des emplois et une croissance économique « soutenable, intelligente et inclusive », tout en assurant la protection de notre environnement et des ressources. Cela signifie une économie basée, en plus de l'alimentation humaine et animale, sur un accroissement de carburants dérivés de la biomasse, de produits chimiques et de matériaux produits et « sourcés » de façon « soutenable », comme une alternative à notre lourde dépendance vis-à-vis des ressources fossiles « finies ».

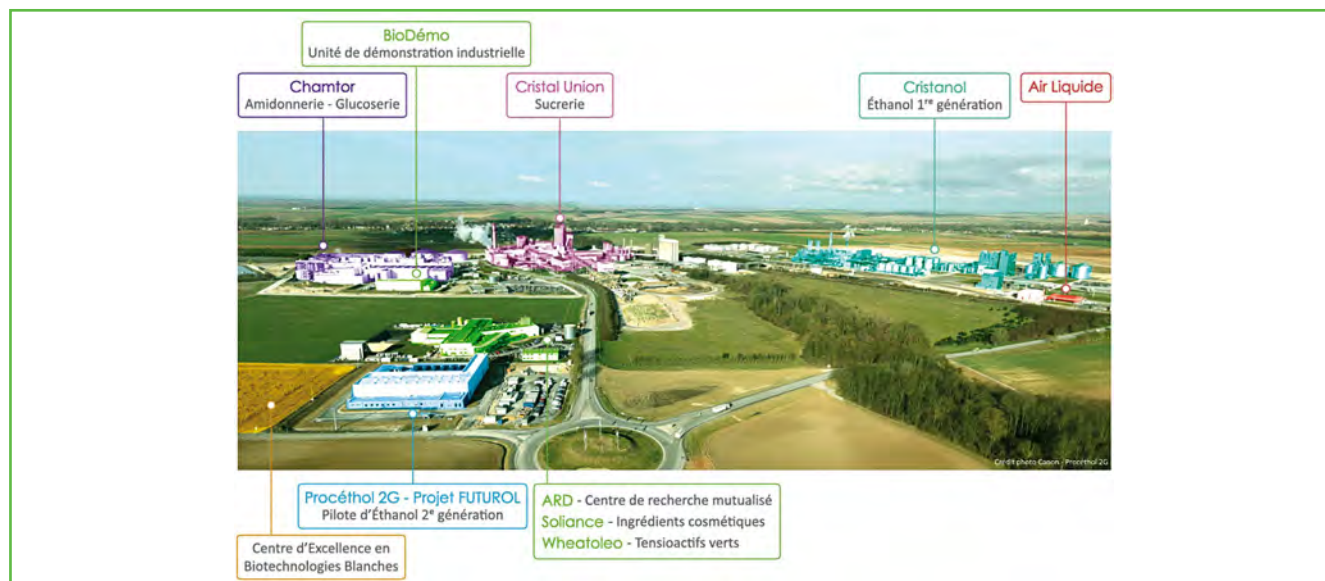


Figure 1.

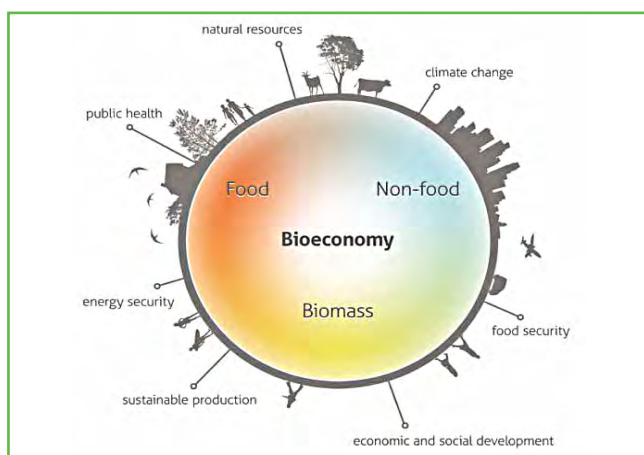


Figure 2.  
Source : Becoteps White Paper.

place et le rôle des bioraffineries dans cette « nouvelle bioéconomie », en proposant à la fois une vision de leur développement en 2030 et une « roadmap » pour 2020 [8].

Parallèlement à ces travaux, EuropaBio engageait en 2011 avec plusieurs de ses membres industriels – dont ARD – une étude dénommée « Biorefinery feasibility study » qui a également participé à fonder, dans la perspective d’Horizon 2020, une démarche européenne concertée entre industriels et Commission européenne sous forme d’un projet de PPP (partenariat public privé) dénommé BRIDGE 2020 [9]. Dans la vision du projet, qui vise à soutenir la revitalisation industrielle de l’Europe, les bioraffineries occupent une position charnière dans les chaînes de valeur entre l’amont (la production de biomasse) et l’aval (les marchés).

Parmi les différents marchés ciblés, au-delà de l’alimentaire – pour la biomasse agricole, il s’agit d’une priorité sans cesse rappelée à juste titre –, la bioraffinerie est une porte d’accès à de nombreuses applications, que ce soient des matériaux pour le bâtiment ou l’automobile, des molécules pour la chimie, et bien sûr de l’énergie (carburants et combustibles).

C’est d’ailleurs ce dernier secteur, celui des biocarburants, qui a mis en lumière ces dernières années le concept de bioraffinerie. Concernant le secteur de la chimie, on note depuis quelques années un mouvement vers le « bio-sourcing », une forme de « remontée » des chaînes de valeur. Ce mouvement a pour origine notamment une initiative américaine du DoE (Department of Energy) qui, à l’aide de ses chercheurs du Pacific Northwest National Laboratory (PNNL) et du National Renewable Energy Laboratory (NREL), a publié en 2004 une liste, désormais célèbre, de douze molécules considérées comme des « molécules portail » pour la chimie

#### Encadré 2

#### Le « top 12 » des building blocks

Liste établie par le Department of Energy en 2004 :

Acides succinique, fumarique et malique  
Acide 2,5-furane dicarboxylique  
Acide 3-hydroxypropionique  
Acide aspartique  
Acide glucarique  
Acide glutamique  
Acide itaconique  
Acide lévulinique  
3-hydroxybutyrolactone  
Glycérol  
Sorbitol  
Xylitol/arabinitol

biosourcée [10] (encadré 2). Depuis, on assiste à un foisonnement d’initiatives portées le plus souvent par des *consortia*, dont on peut suivre les développements lors des grands rassemblements internationaux comme International World Congress on Industrial Biotechnology organisé par BIO en Amérique du Nord, ou EFIB (European Forum on Industrial Biotechnology and Biobased Economy) en Europe. En France, l’Association Chimie du Végétal (ACDV)<sup>(1)</sup> a été mise en place à l’effet de promouvoir... la chimie du végétal [11] !

#### « Push-pull strategy »

Il semble bien que l’Europe soit aujourd’hui clairement mobilisée pour accompagner le déploiement de la bioéconomie, en agissant à la fois sur le développement technologique (push) et sur l’accès au marché (pull).

• **Côté « push »** : lancement du programme KETs (« Key Enabling Technologies »)

La Commission européenne a publié en juin 2012 une communication relative aux technologies clés : « A European strategy for Key Enabling Technologies – A bridge to growth and jobs » [12].

« Sur la base de résultats de recherche, d’analyses économiques de tendances de marché et de leur contribution à la résolution de défis sociétaux », la Commission a ainsi ciblé six technologies clés parmi lesquelles figurent les **biotechnologies industrielles**. Cela signifie que des moyens financiers conséquents devraient être affectés à ce type de technologies pour en favoriser la commercialisation. Les autres technologies retenues sont les micro-/nanoélectroniques, les nanotechnologies, la photonique, les matériaux avancés et les technologies de fabrication avancées.

• **Côté « pull »** : LMI (« Lead Market Initiative »)

Dans le cadre de sa politique industrielle, la Commission a également lancé des réflexions pour soutenir le développement d’un certain nombre de marchés porteurs, parmi lesquels figure notamment celui des produits « biosourcés » (« biobased products ») [13]. Les autres marchés identifiés étant la e-santé, la construction durable, les textiles intelligents, le recyclage et les énergies renouvelables.

Même si tout n’est pas encore arrêté dans le détail, un certain nombre de signaux émis depuis Bruxelles vont dans un sens assez clair pour conforter le secteur de la « nouvelle bioéconomie ».

#### Bioéconomie, bioraffinerie, biotechnologies industrielles, bioproduits, biomasse...

Ces différents mots et vocables ne peuvent pas être pris les uns pour les autres, mais des liens peuvent aisément être établis entre eux. Ainsi, la bioéconomie (dans sa signification inclusive) englobe-t-elle le concept industriel de bioraffinerie, qui lui-même intègre les progrès de la biotechnologie industrielle et de l’ingénierie métabolique...

De fait, la bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle permet d’illustrer parfaitement l’articulation de toutes ces notions.

#### La bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle

##### La bioraffinerie « côté industrie »

Le site de Bazancourt-Pomacle peut être décrit comme un écosystème industriel intégré dans son environnement

agricole, en interaction avec le monde de la recherche et les collectivités (figure 3). L'ensemble des synergies et des échanges de flux et de matières (eaux, énergie, coproduits, CO<sub>2</sub>, effluents...) déjà identifiés et mis en œuvre en font un sujet intéressant pour les spécialistes d'écologie industrielle qui étudient les métabolismes industriels. Pour certains d'entre eux, l'exemple de Bazancourt-Pomacle « rivaliserait » avec le célèbre exemple de Kalunborg au Danemark, connu pour son rôle pionnier en matière de « symbiose » industrielle et environnementale.

Au niveau de l'équipe environnement d'ARD, en lien avec les industriels du site, un travail plus systématique d'étude du site sous l'angle de « l'écologie industrielle » a été entrepris depuis quelques années. L'approche est double : il s'agit à la fois d'étudier le métabolisme à l'intérieur même du site, et également d'étudier les interactions du site de la bioraffinerie avec son environnement. Cela revient en somme à objectiver ce qui a été fait jusque là avec « le bon sens » qui caractérise le monde agricole.

**Un cas d'école pour l'écologie industrielle**

La bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle jouit d'une notoriété croissante en tant que bioraffinerie intégrée ; le tout nouveau cercle des bio-économistes mis en place par des hauts fonctionnaires du Conseil général de l'agriculture, de l'alimentation et des espaces ruraux (GGAAER) ne vient-il pas dans un ouvrage récent – *Les « triples A » de la bio-économie* – d'identifier le complexe de Bazancourt-Pomacle comme l'une des deux plates-formes exemplaires de bioraffinerie dont dispose la France [14] ?

Cette notoriété tient pour partie à l'existence de la plate-forme d'innovation animée par ARD, mais aussi pour une part à cette organisation industrielle intégrée.

La description de l'ensemble des synergies mises en place sur le site mériterait en soi tout un développement, qu'il s'agisse de ce qui concerne le site en lui-même ou l'interaction avec l'environnement immédiat. Comme évoqué plus haut, ce travail est actuellement en cours, dans le cadre d'une étude de cas qui prend précisément en compte cette problématique du « métabolisme industriel ».

Globalement, le site transforme annuellement près d'un million de tonnes de blé et deux millions de tonnes de betteraves. Ce sont aussi près de 1 000 emplois, dont environ 150 au niveau de la plate-forme d'innovation.

Les principaux échanges et synergies portent sur l'eau (réutilisation de l'eau issue des betteraves lors de l'extraction du sucre), la vapeur (secours réciproque), les produits (utilisation en distillerie de tous les coproduits présentant un potentiel fermentescible).

La capture du CO<sub>2</sub>, au niveau des fermenteurs de la distillerie, est une spécificité du site qui mérite également d'être soulignée, tout comme l'installation d'une chaudière de production de vapeur base biomasse, ainsi que celle d'un méthaniseur pour différents flux solides et liquides.

Les interactions portent aussi sur les relations avec l'agriculture au travers d'un suivi agronomique précis des épandages, de la valorisation agronomique de tout ce qui peut l'être (restitution des éléments fertilisants sur les sols agricoles), de l'utilisation des pulpes dans les élevages locaux...

Les interactions avec la population locale sont également prises en compte au travers d'une structure de dialogue portant sur les questions environnementales (odeurs, transport...).

**La bioraffinerie « côté recherche »**

**ARD : expression de l'implication des agriculteurs dans la recherche via leurs coopératives**

Comme cela a été évoqué un peu plus haut, le centre de recherche ARD s'est installé sur le site au début des années 1990. À cette époque, ARD avait déjà quelques années d'existence et disposait d'installations réparties sur différents sites industriels (Bétheniville dans la Marne, Vauciennes dans l'Oise) et universitaires (Université Technologique de Compiègne). Sa raison d'être n'a jamais changé : ouvrir le champ des possibles en termes de débouchés industriels pour les agroressources et valoriser la plante entière. Ses principaux actionnaires – Sicalé avec Vivescia en tête de file et Cristal Union – sont par ailleurs les principaux acteurs industriels de la bioraffinerie.

Courtesy of Vivescia.

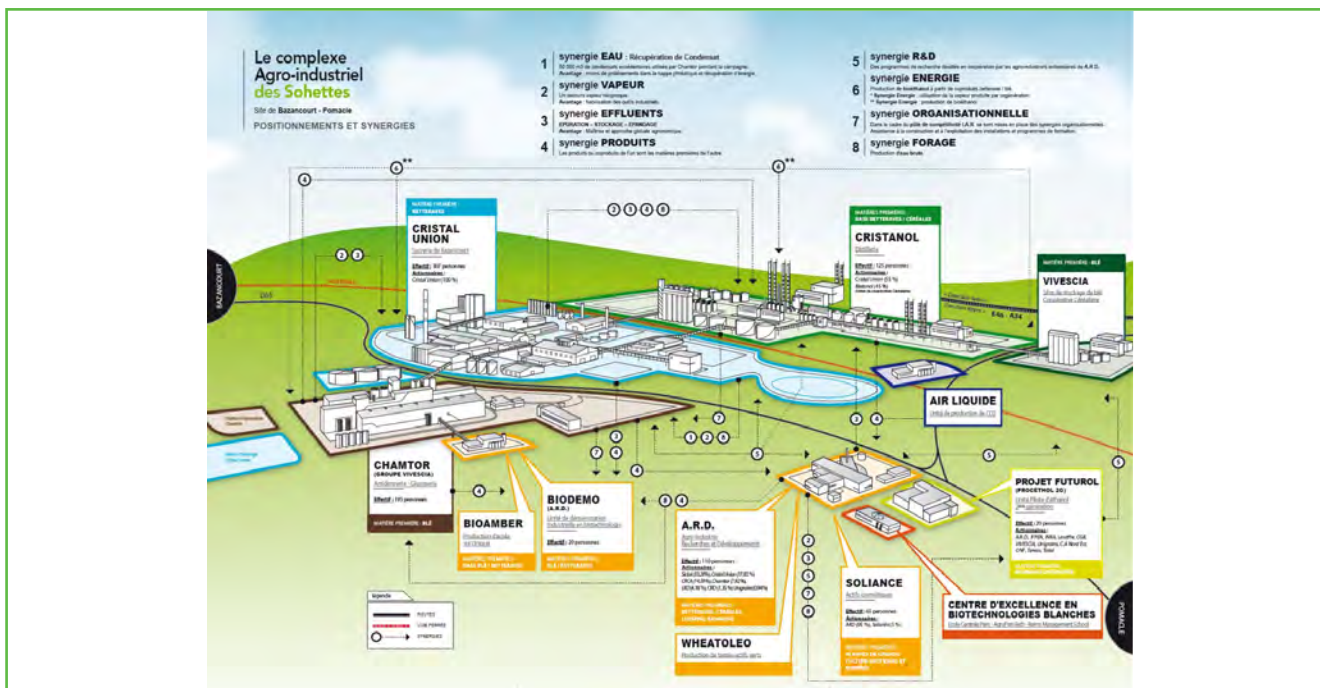


Figure 3.

Au fil des années et de la réalisation de programmes, portant principalement sur les céréales et les betteraves, un certain nombre de résultats ont permis d'envisager des développements industriels et commerciaux dans les domaines de l'énergie, de la cosmétique et de la détergence. La première et principale réussite est incontestablement la création et le développement de Soliance qui, sur la base de produits mis au point par ARD, a pu pérenniser une activité commerciale dans la cosmétique en devenant une référence pour les plus grands acteurs mondiaux du secteur.

Bioattitude est également une « spin-off » d'ARD ; cette entreprise intervient dans le domaine de la détergence industrielle avec des produits formulés à partir de tensioactifs mis au point par ARD. Récemment, ARD a créé sa propre filiale pour produire et commercialiser une gamme de tensioactifs obtenus soit par voie de greffage sucre/alcool gras, soit par fermentation. Wheatoléo est actuellement en phase de lancement.

D'autres réalisations peuvent être mises à l'actif des ingénieurs et techniciens d'ARD. C'est ainsi que ARD a activement participé à la création de BioAmber qui est aujourd'hui le seul producteur mondial d'acide succinique obtenu par fermentation. Dans sa phase initiale, BioAmber était le nom d'une joint venture entre ARD et DNP-Green Technology, une compagnie nord-américaine. Aujourd'hui, ARD fabrique dans son unité de démonstration (BioDémon) de l'acide succinique pour BioAmber sur la base du procédé mis au point dans le cadre de la joint venture.

#### **L'effet « pôle de compétitivité » avec la création de IAR**

Il est clair que les régions Champagne-Ardenne et Picardie n'auraient pas obtenu en 2005 la création du pôle de compétitivité IAR (Industries & Agroressources) si des structures « pionnières » comme ARD en Champagne-Ardenne et CVG en Picardie n'avaient pas préexisté, l'une et l'autre de ces structures pouvant être considérées dans sa région comme l'emblème de l'engagement des acteurs agricoles, industriels, universitaires et politiques dans la valorisation industrielle des agroressources. Aujourd'hui, alors que les pôles de compétitivité abordent la troisième phase de leur existence (phase 3.0), on peut dire que le « label pôle » a été profitable pour des structures comme ARD, par un effet « accélérateur d'initiatives ». C'est ainsi que depuis la création du pôle IAR en 2005, un certain nombre d'investissements majeurs ont été réalisés sur le site de Bazancourt-Pomacle. Côté industrie, on notera la construction de Cristanol pour la production d'éthanol (280 000 t), une usine dotée d'une centrale de production de vapeur base biomasse (30 t/heure) et d'une unité de capture de CO<sub>2</sub> (investissement Air Liquide). Côté plate-forme d'innovation, on notera la construction du pilote du projet FuturoI<sup>(2)</sup> (éthanol de deuxième génération, base lignocellulose, par la compagnie Procéthol 2G) [15] et celle de la plate-forme de démonstration BioDémon par ARD. Ce dernier investissement (22 M€ dont 5 M€ de fonds publics) place ARD dans le top des plates-formes européennes dédiées aux biotechnologies industrielles.

ARD et IAR ont en somme partie liée au niveau de l'espace européen. Ils sont tous deux membres fondateurs de la toute nouvelle association (de droit belge) BIC (« Bio-based Industries Consortium ») qui représente la partie « privée » du PPP BRIDGE 2020. La participation de ARD témoigne à la fois de l'implication de ses actionnaires majeurs (Siclaé/Vivescia et Cristal Union), mais aussi de sa capacité à se positionner comme plate-forme d'innovation ouverte pour participer à la réalisation des projets à venir.

#### **La création de BRI (Bioraffinerie Recherches et Innovations)**

BRI (Bioraffinerie Recherches et Innovations) marque une nouvelle étape dans la vie d'ARD. Il s'agit en somme d'une « phase d'ouverture » : une ouverture à la fois vers d'autres acteurs (hors du cercle des actionnaires) et au monde de la recherche académique. En fait, depuis sa création, ARD a développé une culture du partenariat, tant en amont, vers la recherche académique, qu'en aval, vers des industriels « utilisateurs ».

BRI répond aux critères de plate-forme d'innovation tels que définis par la Direction générale de la compétitivité, de l'industrie et des services (DGCIS) du Ministère en charge de l'Industrie, à savoir le Ministère du Redressement productif. Labellisée par le pôle IAR, BRI a été sélectionnée dans le cadre d'un appel d'offres organisé par la DGCIS et la Caisse des dépôts et consignations en 2008 dans le contexte de la phase 2.0 des pôles.

Sur la base des savoir-faire d'ARD, la plate-forme BRI met particulièrement en avant le fractionnement du végétal, les biotechnologies industrielles et la chimie du végétal, avec un focus particulier sur la valorisation des sucres par fermentation.

#### **Une plate-forme « sucres et biotechnologies industrielles »**

Le développement à grande échelle des fermentations industrielles est largement conditionné par l'accès à des sources de sucres (hydrates de carbone) à la fois abondantes et au meilleur coût. Alors même que des progrès considérables ont été réalisés dans les sciences du vivant (biologie de synthèse et ingénierie métabolique notamment) – des progrès tels que l'on peut aujourd'hui envisager de produire par fermentation de très nombreux produits chimiques de type « drop-in », c'est-à-dire directement injectables dans les circuits de la chimie base pétrole –, l'accès aux substrats demeure un facteur limitant.

Telle que positionnée, au cœur d'un grand bassin céréalier et betteravier, la plate-forme BRI offre un accès privilégié aux substrats dits de première génération (amidon, glucose, saccharose) et, par sa participation dans le projet FuturoI, ménage un avenir dans lequel pourraient être pris en compte des sucres « pariétaux », c'est-à-dire issus de l'hydrolyse de la biomasse lignocellulosique, de type C5 (xylose, arabinose...) et C6 (glucose, mannose...).

#### **Du laboratoire à la démonstration industrielle**

À ce jour, compte tenu des investissements structurants réalisés au niveau de la plate-forme, avec en particulier la mise en route de BioDémon, BRI permet d'envisager la conduite d'un projet depuis la phase laboratoire (quelques litres) jusqu'à la démonstration industrielle (quelques centaines de m<sup>3</sup>). Des accords de partenariats spécifiques *via* le pôle IAR permettent également d'envisager des liens avec des structures spécialisées dans la construction de souches innovantes. En France, les principaux pôles d'appui se trouvent à Toulouse (TWB) et à Evry (Genopole).

#### **Vers un campus d'un nouveau type**

Sur le plan académique, la plate-forme d'innovation BRI bénéficie de l'installation sur site (en cours) du CEBB (Centre d'excellence en biotechnologie blanche). L'arrivée des grandes écoles marque incontestablement une étape dans le déploiement du site et renforce son originalité.

## Les chaires du CEBB et leurs grandes lignes de force

Face au dynamisme de cet ensemble agro-industriel, dont ils ont accompagné le développement depuis son origine, les collectivités locales (la région Champagne-Ardenne, le département de la Marne et Reims Métropole) ont souhaité, en accord avec les opérateurs industriels, créer un pôle de recherche académique en biotechnologie au plus près des problématiques industrielles, et pouvant constituer sur ces sujets un pont entre l'industrie régionale et les grandes universités que sont l'Université de Reims Champagne-Ardenne (URCA) et l'Université de Technologie de Troyes (UTT).

L'École centrale Paris (ECP) et AgroParisTech ont en commun d'avoir développé des compétences reconnues internationalement en génie des procédés, science de l'ingénieur par excellence. Ce champ de recherche couvre la mise en œuvre des techniques les plus modernes ainsi que leur extrapolation industrielle, en passant par la modélisation multi-échelle. Il s'agit de répondre aux questions de science qui se posent lorsque l'on souhaite maîtriser au niveau industriel un phénomène mis en œuvre et contrôlé à l'échelle du laboratoire, et de développer des outils qui correspondent à l'attente des utilisateurs. Pour un laboratoire académique, l'opportunité de pouvoir travailler dans un contexte industriel n'est pas si fréquente ; il s'agissait là d'une opportunité rare pour des laboratoires de génie des procédés. Cette proximité avec les milieux industriels permet de comprendre les problèmes posés et d'en extraire les sujets qui vont nourrir l'activité de recherche et de formation des étudiants. Réciproquement, cette proximité doit permettre de fournir aux industriels les éléments de connaissances qui leur sont utiles.

En ce qui concerne l'ECP, une dizaine de chercheurs et de doctorants sont d'ores et déjà au travail dans des laboratoires provisoires mis à leur disposition par ARD. La totalité des travaux qui y sont conduits concernent des problématiques régionales ; la plupart le sont en collaboration avec un industriel ou l'URCA, voire les deux pour quelques projets. Un premier axe de recherche concerne la production de métabolites par fermentation, ou la culture de cellules végétales telle que la production de principes actifs d'intérêt cosmétique ou pharmaceutique par culture de cellules « souches » de vigne, en collaboration avec l'URCA. Le deuxième axe de recherche se concentre sur la mise en œuvre de technologies développées depuis longtemps à l'École centrale pour la purification des métabolites produits, la purification d'acides organiques, de sucres spéciaux, de gaz, d'effluents, etc.

Ces travaux impliquent une sollicitation importante des équipes du Laboratoire de Génie des Procédés et des Matériaux (LGPM) à Châtenay-Malabry. L'orientation de ce laboratoire vers les biotechnologies correspond à une évolution constante depuis une dizaine d'années. Aujourd'hui, plus de la moitié de ses travaux sont orientés vers l'environnement, les bioprocédés et les agromatériaux. La création de cette chaire spécialisée dans un contexte industriel est cohérente avec la mission de l'ECP qui est de former les « médecins des usines et des fabriques », suivant les mots d'Alphonse Lavallée, fondateur de l'École centrale des arts et manufactures. En parallèle à son activité de recherche, l'équipe de l'ECP a pris en charge l'enseignement du génie des procédés dans le cadre d'un master spécialisé de l'URCA.

Intégrée au département « Sciences et Procédés Alimentaires et des Bioproduits » (SPAB) d'AgroParisTech, la chaire

ABI (Agro-Biotechnologies Industrielles) se consacre au développement d'une expertise allant de la plante aux valeurs d'usage de matériaux et autres molécules d'intérêt biosourcés dans une approche intégrative. Partant des ressources en matières premières, cette chaire s'intéresse à la mise au point de nouveaux procédés de transformation durables (biotechnologies blanches, chimie verte et sciences séparatives), à la modélisation et à l'évaluation de l'impact économique de ces nouveaux systèmes de production.

Pour mener à bien ses missions, la chaire s'est dotée, à partir d'octobre 2012, d'une équipe pluridisciplinaire qui couvre des domaines d'expertise variés allant de la chimie organique au génie des procédés, en passant par la microbiologie, la chimie analytique et les matériaux. À terme, ce ne seront pas moins d'une vingtaine d'enseignants-chercheurs, doctorants et post-doctorants qui travailleront sur des projets dédiés à la valorisation de la biomasse.

Les activités de recherche actuellement en cours au sein de la chaire ABI s'intéressent aussi bien au développement de nouveaux matériaux/polymères biosourcés à partir de synthons issus de la biomasse lignocellulosique, qu'à la production de molécules d'intérêt par bioconversion de coproduits de la filière diester. De nouveaux projets impliquant les acteurs locaux privés (ARD, pôle de compétitivité IAR) et/ou publics (URCA, Inra) sont également en phase de lancement ou en cours de montage.

En matière de formation, AgroParisTech contribue déjà au développement régional de l'enseignement supérieur, notamment dans le cadre du master Masternova codirigé et coaccrédité par RMS. Afin de renforcer ce partenariat local, la chaire ABI a également pour vocation : i) de délocaliser certains modules d'enseignements d'AgroParisTech (cours, TP, TD) sur Reims et de les ouvrir aux étudiants locaux (notamment ceux de l'URCA), et ii) de créer, avec les établissements d'enseignement supérieur champardennais, de nouveaux enseignements dédiés aux agroressources et à leur valorisation.

La chaire RMS est destinée à promouvoir le concept de la bioéconomie car cette nouvelle vague de technologies de rupture que sont les biotechnologies blanches demande à être définie, conceptualisée, caractérisée, expliquée et popularisée dans tous les milieux. Bien sûr, faisant partie d'une grande école de management, il s'agit aussi de former les futurs gestionnaires, les ingénieurs, les chercheurs, qui soutiendront l'avènement de cette bioéconomie.

En tant que chaire du dispositif BRI, ses travaux sont une partie intégrale du processus d'élaboration d'une chaîne intégrée de l'économie de la connaissance : proposer aux deux autres chaires des pistes de marchés prometteurs, des modèles économiques favorables, tout comme répondre aux propositions d'innovations des autres chaires pour identifier des débouchés, des clients potentiels, mais aussi soulever des obstacles ou barrières qui rendront l'innovation difficilement rentable.

Les premières priorités de recherche et d'enseignement ont maintenant été définies par un Conseil stratégique comprenant des représentants des collectivités publiques territoriales et du secteur privé. Des premiers résultats sont attendus début 2014.

## Aller plus loin ?

Établi à partir d'une sucrerie coopérative construite en 1953 (elle-même sur la base d'une ancienne distillerie), le site



accueille désormais, soixante ans après, des étudiants et chercheurs académiques : que de chemin parcouru !

La bioraffinerie de Bazancourt-Pomacle peut maintenant être considérée comme un modèle à plusieurs titres et l'expression :

- d'une approche « bottom up », c'est-à-dire d'un processus de valorisation des ressources locales par des acteurs locaux, dans un contexte local ;
- d'initiatives plurigénérationnelles, puisque près de trois générations poursuivent une œuvre avec persistance et dans un temps long ;
- d'une expérience industrielle « aux champs » par opposition à des réalisations « sur l'eau », c'est-à-dire auprès des ports ou même à des réalisations péri-urbaines ;
- d'un esprit d'innovation, quels que soient les cycles économiques, politiques ou climatiques ;
- d'une complémentarité exemplaire entre les partenaires académiques, industriels et politiques.

Quelles sont les perspectives pour l'avenir ?

Toujours plus de coopérations... La coopération est dans les gènes du site. Dans la mesure où le site est amené à grossir, à se diversifier, à faire des émules et attirer les regards, la coopération pourrait s'étendre à d'autres acteurs :

- par une intégration plus poussée en aval, par exemple vers des applications en co-entreprises ;
- par des ouvertures de capital ou de propriété intellectuelle de plus en plus élaborées et diversifiées avec des acteurs nouveaux ;
- par le recours à des talents de plus en plus variés, tant géographiquement que professionnellement.

La plate-forme d'innovation bénéficie du support de la **Fondation d'entreprises Jacques de Bohan** dont la vocation est la promotion du concept de bioraffinerie comme source d'industrialisation et de revitalisation de l'espace rural. Siclaé et Cristal Union sont les deux entreprises porteuses de cette fondation.

## Notes et références

- (1) L'ACDV a pour vocation de réunir les acteurs économiques majeurs des agro-industries, de la chimie et de leurs industries clientes en aval, qui s'engagent dans le développement industriel de la chimie du végétal en France et en Europe [1]. Elle vise à favoriser le développement des intermédiaires chimiques d'origine végétale. Il s'agit des molécules chimiques d'origine végétale entrant dans la composition de produits chimiques finis.
- (2) Le projet Futurol vise à mettre sur le marché un procédé, des technologies et des produits (enzymes et levures) pour assurer la production de bioéthanol de deuxième génération à partir de plantes entières dédiées, mais aussi à partir de coproduits agricoles et forestiers, résidus verts et autre biomasse lignocellulosique [15].
- [1] *En Champagne-Ardenne, une agriculture forte de ses hommes et de ses innovations*, Farman Communication, 2012.
- [2] Les alternatives végétales aux ressources fossiles – Concept et enjeu territorial, Pôle Industries & Agro-ressources, B. Jarry, D. Thomas (eds), 2012.
- [3] [www.europabio.org/sites/default/files/facts/boosting-the-eu-bioeconomy.pdf](http://www.europabio.org/sites/default/files/facts/boosting-the-eu-bioeconomy.pdf)

- [4] *La bioéconomie à l'horizon 2030 : quel programme d'action*, OCDE, 2009.
- [5] [www.whitehouse.gov/sites/default/files/microsites/ostp/national\\_bioeconomy\\_blueprint\\_april\\_2012.pdf](http://www.whitehouse.gov/sites/default/files/microsites/ostp/national_bioeconomy_blueprint_april_2012.pdf)
- [6] [http://ec.europa.eu/research/bioeconomy/pdf/201202\\_innovating\\_sustainable\\_growth.pdf](http://ec.europa.eu/research/bioeconomy/pdf/201202_innovating_sustainable_growth.pdf)
- [7] [www.plantetp.org/images/stories/stories/documents\\_pdf/brochure\\_web.pdf](http://www.plantetp.org/images/stories/stories/documents_pdf/brochure_web.pdf)
- [8] *The Joint European Biorefinery Vision for 2030 and The European Biorefinery Joint Strategic Research Roadmap for 2020*, [www.star-colibri.eu/files/files/vision-web.pdf](http://www.star-colibri.eu/files/files/vision-web.pdf)
- [9] [www.europabio.org/sites/default/files/report/europabio\\_and\\_partners\\_biorefinery\\_feasibility\\_study.pdf](http://www.europabio.org/sites/default/files/report/europabio_and_partners_biorefinery_feasibility_study.pdf)
- [10] *Top value added chemicals from biomass, Vol. 1 - Results of screening for potential candidates from sugars and synthesis gas produced by staff at the Pacific Northwest National Laboratory (PNNL) and the National Renewable Energy Laboratory (NREL)*, 2004, [www1.eere.energy.gov/biomass/pdfs/35523.pdf](http://www1.eere.energy.gov/biomass/pdfs/35523.pdf).
- [11] [www.chimieduvegetal.com](http://www.chimieduvegetal.com)
- [12] [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/ict/key\\_technologies](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/ict/key_technologies)
- [13] <http://ec.europa.eu/enterprise/policies/innovation/policy/lead-market-initiative/#h2-3>
- [14] *Les triples A de la bio-économie. Efficacité, sobriété et diversité de la croissance verte*, Le Club des Bio-économistes, C. Roy (coord.), L'Harmattan, 2012.
- [15] <http://projet-futurol.com>



J.-M. Chauvet



F. Allais



Y. Le Hénaff



P.-A. Schieb



**Jean-Marie Chauvet** (auteur correspondant)

est directeur de projet et responsable de la promotion de la bioraffinerie de Pomacle-Bazancourt chez ARD (Agro-industrie Recherches et Développement) et coordinateur de la plate-forme d'innovation BRI (Bioraffinerie Recherches et Innovations)<sup>1</sup>.

**Allais Florent**

est professeur à AgroParisTech et directeur de la chaire « Agro-biotechnologies industrielles »<sup>2</sup>.

**M.-A. Théoleyre**

**Yvon Le Hénaff**

est directeur général d'ARD<sup>1</sup>.

**Pierre-Alain Schieb**

est professeur à la Reims Management School et directeur de la chaire de Bioéconomie industrielle<sup>3</sup>.

**Marc-André Théoleyre**

est professeur à l'École Centrale Paris, Centre d'excellence en biotechnologie blanche, Laboratoire Génie des Procédés et Matériaux<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> ARD, Route de Bazancourt, F-51110 Pomacle.

Courriels : [jm.chauvet@bioraffinerie-innovation.fr](mailto:jm.chauvet@bioraffinerie-innovation.fr) ; [y.lehenauff@a-r-d.fr](mailto:y.lehenauff@a-r-d.fr)

<sup>2</sup> Chaire ABI-AgroParisTech, 247 rue Paul Vaillant-Couturier, F-51100 Reims. Courriel : [florent.allais@agroparistech.fr](mailto:florent.allais@agroparistech.fr)

<sup>3</sup> Reims Management School, 59 rue Pierre Taittinger, BP 302, F-51061 Reims Cedex. Courriel : [pierre-alain.schieb@reims-ms.fr](mailto:pierre-alain.schieb@reims-ms.fr)

<sup>4</sup> Centre d'excellence en biotechnologie blanche, Laboratoire Génie des Procédés et Matériaux, Route de Bazancourt, F-51110 Pomacle. Courriel : [marc-andre.theoleyre@ecp.fr](mailto:marc-andre.theoleyre@ecp.fr)



### Filtrations sous vide accélérées

De nombreuses filtrations sont encore effectuées avec des trompes à eau. Dans les laboratoires où l'on filtre beaucoup, les coûts liés à la consommation d'eau et au temps passé sont très importants. En présence de substances volatiles dangereuses, ces produits peuvent se retrouver dans les eaux usées. Le fabricant Vacuubrand propose une large gamme de pompes à vide répondant aux exigences des différentes applications et respectueuses de l'environnement. Ces pompes à vide sèches, 100 % sans huile, se distinguent par un fonctionnement silencieux, une grande robustesse et des intervalles de maintenance très longs. Il existe également des versions « chimie » pour l'aspiration de gaz et vapeurs corrosifs.

Les pompes monoétagées, avec un vide jusqu'à 70 mbar, sont destinées à la filtration de fluides non chargés comme pour la filtration sur membrane en analyse microbiologique. Les pompes ME 1 avec vacuomètre et limitation du vide sont adaptées à l'énumération des staphylocoques dans l'eau potable. Pour la filtration multiposte, la gamme NT comporte des pompes puissantes pour les rampes 3 ou 6 postes. Les pompes à membrane à deux étages comme la MZ 2 NT accélèrent la filtration des fluides chargés grâce à son vide limite de 7 mbar. Elles sont aussi indiquées pour la filtration stérilisante des milieux de culture. Que ce soit en version aluminium ou PTFE, les pompes Vacuubrand disposent de technologies de membranes renforcées particulièrement résistantes.

\* Source : Vacuubrand, 08/05/13.

# La chimie du végétal et les nouveaux synthons accessibles par les biotechnologies

Paul Colonna

## Résumé

Le carbone d'origine biologique est invité à être l'une des solutions pour la transition énergétique en France, et plus généralement le développement de la bioéconomie dans le monde. La biomasse a différentes origines : produits d'origines agricole, algale et forestière, coproduits et effluents des industries de transformation des matières biologiques et autres déchets organiques. Un grand nombre de solutions, espèces et systèmes de cultures, ont été analysées dans l'atelier de réflexion prospective Véga (végétaux du futur). Le passage d'un carbone d'origine biologique à celui renouvelable impose de considérer les impacts environnementaux, économiques et sociaux sur le développement de la bioéconomie. Trois changements de paradigme sont clés pour accomplir ce basculement : les biotechnologies blanches et vertes, la conception de systèmes chimique et énergétique en articulation avec le système alimentaire. Les bioraffineries sont une opportunité de développement industriel au-delà des territoires et des systèmes culturels.

## Mots-clés

**Biomasse, biotechnologies vertes et industrielles, durabilité, système, bioraffinerie.**

## Abstract

### **Bio-based chemistry and new platform molecules from biotechnologies**

Biobased carbon is considered to be one of the solutions for the energy transition in France, and more generally the development of the bioeconomy in the world. Biomass could have different origins: agricultural products, algae and forestry, as well as co-products and by-products from industries processing of biological materials and other organic wastes. A large number of plants, algae, and cropping systems were analyzed in the foresight exercise Véga. Shift from a biobased carbon source to a strictly sustainable one requires considering the environmental, economic and social pillars of the bioeconomy. Three paradigm changes should help to realize this transition: white and green biotechnologies, design of chemical and energy systems in relation with the food system. Biorefineries represent an opportunity for industrial development beyond territories and cropping systems.

## Keywords

**Biomass, green and industrial biotechnologies, sustainability, system, biorefinery.**

La biomasse a joué un rôle important dans le développement des sociétés humaines. Dès le néolithique [1], les civilisations se sont développées, en particulier dans le croissant fertile et en Égypte, en modifiant leur environnement et en employant les ressources naturelles pour leurs besoins fondamentaux : l'alimentation (blé, seigle...), l'habillement (laine, coton, chanvre, lin, cuir...), l'habitation (bois, paille...), plus tard l'hygiène (savons végétaux) et avec l'aide d'une force motrice animale (bœuf, cheval...). Puis très rapidement, l'Homme a utilisé les biotechnologies pour transformer certaines matières : fermentation alcoolique, biotransformation du vin en vinaigre, rouissage du lin.

La particularité de cette époque pré-carbone fossile est que les matières biologiques étaient peu transformées.

Après une période où les produits dérivés du carbone fossile se sont imposés, la biomasse revient sur le devant de la scène. Elle est même considérée dans les douze règles d'Anastas et Warner [2] pour la chimie verte (règle 4 : « *Use renewable feedstock* »). Une nouvelle appellation plus rigoureuse sur le plan sémantique serait alors celle de « chimie verte du carbone renouvelable ».

Le débat national sur la transition énergétique est lancé en France. Or la chimie du végétal constitue l'un des piliers d'une transition globale, assurant le passage d'une économie basée sur les ressources fossiles à une économie du

renouvelable. En particulier, la valorisation de la biomasse constitue l'un des leviers les plus forts pour contribuer à la réalisation de l'objectif français de réduction des gaz à effet de serre et de maîtrise de l'approvisionnement énergétique.

Le potentiel de la bioéconomie a été reconnu aussi dans le cadre de la stratégie Europe 2020. À ce titre, limiter le travail de la Commission européenne à la recherche et à l'innovation s'est avéré insuffisant ; la promotion de l'utilisation des ressources renouvelables de la terre et de la mer afin de mettre en place une économie post-pétrolière en Europe recouvre l'ensemble de la recherche, du développement et de l'innovation.

## La biomasse

Dans ce paysage, les sources de biomasse se sont considérablement élargies depuis les plantes industrielles du début du XX<sup>e</sup> siècle. La biomasse est la source de matière organique carbonée produite par des organismes vivants ou par leur décomposition. Elle est essentiellement formée de carbone, d'hydrogène et d'oxygène, et à un moindre degré d'azote, provenant de divers types de ressources :

- les produits d'origine agricole, subdivisés d'une part entre les cultures traditionnelles de plantes annuelles (céréales, oléagineux), recherchées principalement pour leurs parties

Tableau I - Les solutions végétales pour les différentes familles biochimiques.

Famille biochimique	Plantes strictement lignocellulosiques	Plantes à réserve glucidique	Plantes à réserve lipidique
<b>lignocellulose</b>	ylviculture (peuplier, saule, pin, eucalyptus, robinier...), miscanthus, lin, chanvre, ramie, sorgho, triticale, macroalgues	tiges de canne à sucre, tiges et enveloppes des grains	tiges et enveloppes des graines
<b>amidon</b>		grains de céréales (blé, maïs, orge, riz, sorgho), graines de protéagineux	
<b>saccharose</b>		racines de betterave, tiges de canne à sucre	
<b>oligosaccharides</b>		graines de légumineuses, topinambour, chicorée (inuline), sons de seigle	
<b>lipides</b>			graines d'oléagineux : colza, tournesol, soja, ricin, coton, cameline, palmier, micro-algues
<b>protéines</b>		grains de céréales (gluten de blé, de maïs...)	graines d'oléagineux (tourteaux), microalgues

nobles (grains, graines et tubercules), et d'autre part les cultures dédiées à la bioraffinerie (*Miscanthus*, panic érigée, etc.), ainsi que les résidus de cultures (pailles, tiges, feuilles) et d'élevages ;

- les produits d'origine forestière : bûches, granulés, plaquettes et résidus de l'exploitation forestière ou de cultures sylvicoles spécifiques (taillis à courte ou à très courte rotation de peupliers et d'eucalyptus) ;
- les produits d'origine aquatique : algues, résidus de la pêche et de la pisciculture ;
- les coproduits et effluents des industries de transformation des matières biologiques : scieries, papeteries, industries agroalimentaires, élevages industriels ;
- les autres déchets organiques : déchets urbains, boues issues des stations d'épuration, ordures ménagères, déchets verts provenant de parcs et jardins.

Passer de la famille biochimique à la plante conduit à considérer alors l'organe cible. Les végétaux renferment une très grande diversité biochimique : au sein de chaque plante, entre les plantes d'une même espèce et entre les espèces. Toutefois, une classification simple peut être mise en place avec trois familles : les plantes lignocellulosiques, les végétaux à réserve glucidique et les végétaux à réserve lipidique (tableau I).

Pour toutes ces espèces, des analyses « menaces, opportunités, forces, faiblesses » ont été réalisées dans l'atelier de réflexion prospective Véga/végétaux du futur en 2010-2011 [3].

Quatre familles biochimiques principales sont identifiées :

- **L'amidon**, qui est un réservoir de deux polymères, l'amylose et l'amylopectine, eux-mêmes polymères de glucose (comme la cellulose). Le glucose peut ainsi être transformé en plusieurs molécules plateformes, chacune étant à l'origine d'une nouvelle famille de (macro)molécules.
- **Le saccharose**, qui joue le même rôle que le glucose.
- **Les biopolymères constitutifs des parois végétales**, qui peuvent être considérés de deux manières :
  - soit comme un réservoir de structures organisées, aux propriétés fonctionnelles avérées, que l'on souhaite utiliser en l'état (c'est le cas du bois massif et fragmenté, du bambou,

des fibres). Le bois-matériau a des propriétés liées d'une part à l'organisation multi-échelles des constituants élémentaires que sont les fibres, et d'autre part à l'architecture alvéolaire optimisée du matériau bois ; le bois en tant que tissu de soutien est conçu pour s'adapter aux conditions environnementales variées et aux agressions biologiques (insectes, champignons, etc.). En tant que matériau, le bois est remarquable pour la conjonction de ses propriétés : forte rigidité, fort module de rupture en compression et en traction, très faible retrait longitudinal, capacité de régulation hygroscopique, faible conductivité thermique, faible effusivité thermique, rôle esthétique, etc. Il devient ainsi incontournable pour la conception de maisons à basse consommation énergétique.

- soit comme un réservoir de polymères, d'oligomères, d'hexoses et de pentoses, qui peuvent servir directement ou après modification(s) dans diverses applications de la chimie, à l'instar de l'amidon et du saccharose.

- **Les lipides** : les acides carboxyliques (acides gras libres), produits actuellement à l'échelle industrielle à partir de matières premières renouvelables, ont des longueurs de chaîne bien définies (C18-C22 pour les produits d'origine de zone tempérée ; C8-C18 pour les dérivés des huiles de palme, palmiste et coprah d'origine tropicale), à nombre pair d'atomes de carbone. En réalité, cette famille biochimique recouvre une diversité moléculaire méconnue, où la présence de doubles liaisons, de fonctions époxydes sont des atouts à renforcer.

Outre ces quatre familles majeures, il faut mentionner les protéines végétales de réserve en tant que biopolymères, le caoutchouc naturel, qui est un biopolymère isoprénique, et les métabolites secondaires, ces derniers étant très nombreux (180 000 molécules déjà décrites et environ 4 000 nouvelles répertoriées chaque année). Ils présentent une variété structurale extraordinaire, répartie en trois classes : les terpénoïdes, les composés aromatiques (phénoliques), les composés azotés ou alcaloïdes.

Ces biomasses végétales, qu'elles soient issues de graines, de tubercules, de racines ou de tiges, comportent différentes échelles d'organisation, ce qui induit des propriétés

d'intérêt (bois par exemple), mais peut aussi constituer un verrou pour la bioraffinerie (lignocellulose difficile à dégrader). Une particularité consiste en l'existence de plusieurs niveaux d'organisation. La structure de chaque niveau et ses propriétés constituent des propriétés émergentes (figure 1). Les propriétés mécaniques sont fortement déterminées par les organisations intermoléculaires et ne sont pas déductibles de la seule composition biochimique.

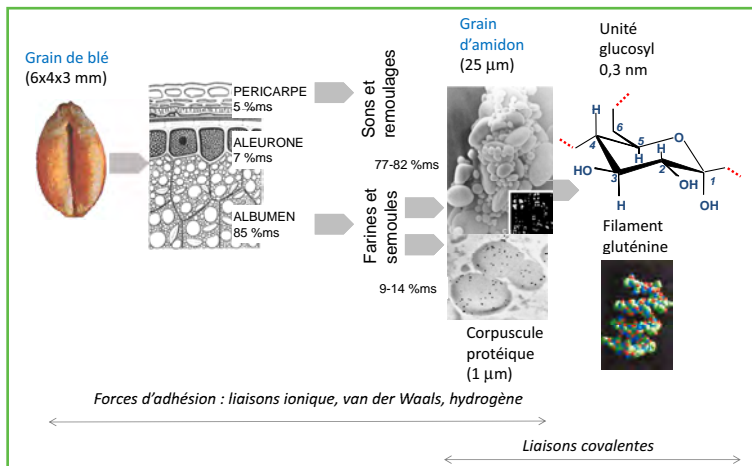


Figure 1 - Niveaux structuraux du blé. Les structures et interactions à une échelle déterminent les propriétés et comportements à l'échelle supérieure.

De ce point de vue, l'hétérogénéité compositionnelle des matières premières végétales peut être considérée comme un atout pour donner à la fois des produits à forte valeur ajoutée sur des segments à faible volume (chimie fine), des produits de masse à faible valeur ajoutée (carburants), des produits intermédiaires en termes de volume et de prix (polymères, tensioactifs, etc.), et enfin des résidus qui peuvent répondre aux besoins énergétiques des bioraffineries.

Chimiquement, la différence majeure entre les molécules issues des carbones fossiles et des carbones biologiques réside dans le degré d'oxydation plus élevé dans celles d'origine biologique. C'est l'une des faiblesses des biocarburants, dont le pouvoir calorifique supérieur (PCS) est encore inférieur à celui des carburants fossiles.

Les polysaccharides ont une formule générale  $[C_6(HOH)_5]_n$ , la lignine  $[C_{10}H_{12}O_3]_n$ , les lipides à base de glycérol  $(C_nH_mO_6)$  avec n entre 50 et 60, à la différence du méthane  $CH_4$  et du pétrole  $[CH_2]_n$ .

### Les enzymes : premier volet des biotechnologies blanches

L'origine biologique des molécules considérées repose sur l'action d'enzymes, adaptées à chacune des familles précitées, actives dans le métabolisme des êtres vivants. Les biotechnologies blanches consistent à adapter l'activité de ces enzymes pour élargir la palette des molécules issues du vivant (tableau II).

La biocatalyse présente plusieurs avantages :

- des conditions douces de réaction (température et solvant) en raison de la nature protéique des enzymes. Dans les textiles, le remplacement des traitements alcalins à chaud par des enzymes a permis de réaliser des gains importants sur les besoins en énergie et en termes de pollution de l'eau ;
- l'usage d'un solvant –l'eau– qui peut être plus éco-compatible que les solvants organiques ;
- des activités de catalyse élevées ;

Tableau II - Principales enzymes mises en œuvre pour des synthèses moléculaires.

Réactions	Enzymes
Hydrolyse	hydrolases
Isomérisation, addition, élimination	isomérase, lyases, hydratases
Création de liaison C-N	transaminases
Formation d'esters sulfate	sulfotransférases
Formation et hydrolyse d'ester phosphate	phosphorylases, phosphatases
Formation d'ester ATP-dépendant	kinases
Formation de liaison glucoside	glycosyltransférases, glucosidases
Formation de liaison C-C	aldolases, transcétolases
Oxydation	oxydases, peroxydases
Oxydoréduction des alcools et des cétones	déshydrogénases
Liaison amide	amidases (protéases, acylases)
Liaison ester	estérase, lipase

- des régio-, stéréo- et chimiosélectivités élevées ;
- la possibilité d'éviter des réactions de protection et de déprotection dans la synthèse multiphase des molécules complexes. Par exemple, la déacylation de la pénicilline G est ainsi assurée par voie biocatalytique par la pen-acylase en solution aqueuse plutôt qu'en cinq étapes par voie chimique [4] (figure 2).

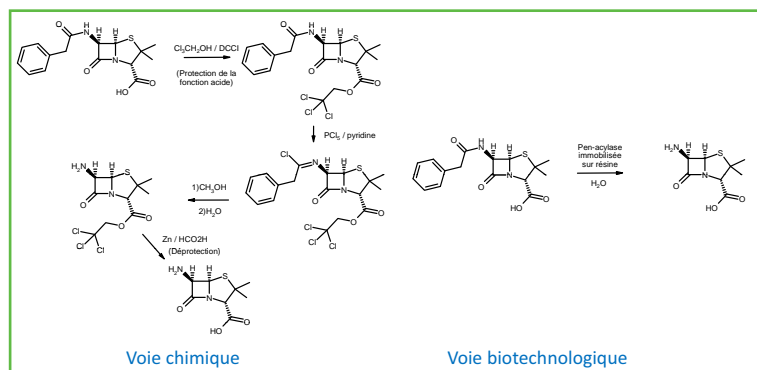


Figure 2 - Voies chimique et biotechnologique de déacylation de la pénicilline G.

Les enzymes ont été de grands bénéficiaires des nouvelles méthodes de génie génétique pour une profonde évolution qualitative. Les deux progrès sont d'une part la découverte de nouveaux gènes disponibles, d'autre part la modification de ces gènes pour améliorer les performances des enzymes. Les objectifs des recherches sur les enzymes sont d'abord l'accroissement de leurs performances (stabilité, température, pH, solvants non aqueux...), l'efficacité (par réduction des réactions compétitives), et enfin l'élargissement du potentiel applicatif (adaptation à de nouveaux substrats, non naturels, adaptation à la catalyse de nouvelles réactions chimiques).

Par exemple, les enzymes présentes dans les lessives (protéases et lipases) ont été rendues plus résistantes aux agents oxydants. Les glucane-saccharases ont vu leurs

spécificités améliorées avec un élargissement des structures moléculaires synthétisées par ces transférases.

L'enzymologie s'est développée à partir de l'exploration des enzymes des espèces sauvages, depuis Anselme Payen (1833). Ces approches ont acquis une vigueur nouvelle avec la métagénomique, où  $10^5$  à  $10^6$  clones peuvent être obtenus à partir d'une banque sans culture préalable des micro-organismes. Au-delà de ces progrès majeurs, le criblage fonctionnel à haut débit des banques issues de métagénomiques accélère encore la découverte de nouvelles enzymes provenant de biotopes originaux (système digestif de l'Homme, des ruminants, des termites, etc.) et l'isolement de nouveaux opérons associant de manière originale différentes activités enzymatiques en une action concertée.

Le coût de la lecture et de l'écriture de l'ADN a connu une diminution considérable (de 10 000 € en 2001 à un ordre de 0,1 €/mégabase en 2012 [5]), et la plupart des laboratoires académiques peuvent aujourd'hui avoir accès au séquençage d'un micro-organisme. La métagénomique fonctionnelle ne cherche pas seulement des séquences de gènes, mais permet d'extraire, de cloner et de séquencer l'ADN sans culture du micro-organisme.

Grâce aux données de structure, des mutations ponctuelles peuvent ensuite être apportées afin d'améliorer l'efficacité des enzymes. Ces techniques de mutagenèse, aléatoire puis dirigée [6], ont permis d'obtenir de l'ordre de 10 à 20 variants à partir d'un gène. Dans les années 1990, les techniques d'évolution moléculaire dirigée [7] ont conduit à mimer, *in vitro* et en accéléré, les principes darwiniens d'évolution des protéines, conduisant à  $10^3$ - $10^4$  variants à partir d'un gène. En contrepoint de ces approches empiriques, les travaux de Baker [8] ont débouché sur la conception rationnelle par modélisation et « screening » virtuel. Aujourd'hui, les nouvelles méthodologies d'ingénierie offrent des opportunités inégalées de création à façon de nouvelles enzymes. Les techniques purement combinatoires d'ingénierie reposant sur un processus itératif de génération de diversité (création de bibliothèques de mutants), couplé à un tri par sélection ou criblage, sont suffisamment génériques pour pouvoir être appliquées à tous types d'enzymes. Elles ont conduit à l'obtention de catalyseurs très efficaces, stables aux températures extrêmes ou en milieu organique, de profil pH modifié et/ou de sélectivité renforcée. Le développement de cribles spécifiques, robustes, fiables et à haut débit, utilisant des automates ou des méthodes appropriées (cytométrie en flux, microfluidique), permet incontestablement de repousser les limites du criblage, en autorisant le tri de plusieurs millions de variants à chaque tour d'évolution, et d'accroître la probabilité d'isolement des enzymes d'intérêt.

La tendance actuelle s'oriente néanmoins vers la construction intelligente de bibliothèques généralement focalisées sur le site actif de la protéine. Leur construction peut être non seulement guidée par l'analyse bio-informatique des structures primaire, secondaire et tertiaire, mais aussi enrichie par les techniques prédictives de modélisation moléculaire et d'analyse statistique des résultats d'évolution. Ces différentes méthodologies tirent parti des progrès de la biologie computationnelle (modélisation moléculaire, analyse statistique, bio-informatique) pour réconcilier les approches rationnelle et combinatoire, et permettre de programmer la construction efficace de catalyseurs dotés de nouvelles fonctions.

Ces approches sont très efficaces pour créer à façon ou découvrir de nouveaux catalyseurs. De multiples exemples, récemment publiés, témoignent de leur intérêt et de leur

## Glossaire

Les termes suivis d'un astérisque\* sont définis ci-dessous.

**Endophyte** : qui vit en endosymbiose avec une plante, à l'intérieur d'un organe ; cas des bactéries ou des champignons.

**Organisme autotrophe** : organisme capable d'utiliser des éléments inorganiques pour synthétiser ses propres constituants organiques. Les principaux sont phototrophes à partir de l'énergie lumineuse : plantes, microalgues, cyanobactéries.

**Organisme hétérotrophe** : organisme incapable de synthétiser l'ensemble de ses constituants à partir d'éléments minéraux : animaux, champignons.

**Nucléases à domaine en doigt de Zn (ZFN)** : facteurs de transcription de l'ADN. Ces protéines comportent des éléments répétitifs avec une forme de doigts de gant, stabilisée par un ion  $Zn^{2+}$  qui sert à stabiliser le motif sous forme de doigt.

**Physiome** : description dynamique complète du fonctionnement d'un organisme depuis l'expression des gènes jusqu'à l'échelle de l'organisme, en intégrant les réactions adaptatives aux modifications et les stress apportés par l'environnement.

puissance pour le changement de spécificité, de sélectivité, et la création de nouvelles activités catalytiques. Des nouvelles enzymes Diels-alderases capables de catalyser la réaction diène + diénoophile  $\rightarrow$  cyclohexènes chiraux à partir de la connaissance du mécanisme enzymatique dans le site actif ont été mises au point [9].

## Les biotechnologies végétales

Les ressources végétales mobilisables sont d'abord celles des plantes de grande culture (céréales, tubercules) et des forêts (peupliers, eucalyptus) dont les capacités métaboliques sont élevées et les systèmes de production simples et bien établis. Rappelons d'abord que sur les 350 000 espèces végétales recensées, seules neuf assurent 75 % de l'alimentation et continueront à assurer cette base. Ces espèces végétales produisent aussi des fractions anatomiques (tiges, feuilles) non utilisables en alimentation humaine, et donc susceptibles d'être employées en chimie ou en bioénergies.

De nouvelles espèces sont explorées en parallèle. Ainsi le genre *Miscanthus* et le « switchgrass » (*Panicum virgatum*), *Jatropha curcas* L., le jojoba (*Simmondsia chinensis*), le genre *Cuphea*, le crambe (*Crambe abyssinica*), la guayule (*Parthenium argentatum* Gray) et le pissenlit russe (*Taraxacum kok-saghyz*) sont représentatifs de ces plantes qui ouvriraient le spectre des plantes mobilisables. Ces plantes associent plusieurs caractéristiques :

- elles poussent dans des milieux difficiles non utilisables pour l'alimentation humaine,
- elles ont une très forte productivité,
- elles ne sont pas comestibles,
- elles comportent une fraction biochimique dont l'utilité est déjà bien cernée.

La surface limitée des terres arables conduit à rechercher des plantes susceptibles de croître sur des sols pollués ou non adaptés à l'agriculture alimentaire. Les approches de phytoremédiation relèvent principalement d'une problématique d'« aménagement écologique ». L'enjeu est alors de trouver l'espèce végétale appropriée et de déterminer les conditions dans lesquelles l'implanter.

Les plantes peuvent métaboliser les polluants organiques au niveau de leurs racines. La voie des bactéries endophytes\*, partenaires habituelles des plantes, semble être une approche prometteuse.

Les microalgues représentent une dernière solution originale. Elles connaissent actuellement un très grand succès, en

raison de leur productivité et de leur implantation potentielle en dehors des terres arables. La grande diversité biologique qui existe chez les microalgues répond sans doute à une exceptionnelle adaptabilité, et laisse préjuger d'une richesse proportionnelle en molécules originales (lipides, protéines, sucres, métabolites, etc.). De plus, le rendement des diatomées et des chlorophycées est nettement supérieur à celui des plantes terrestres, car ce sont des organismes unicellulaires et leur croissance en suspension dans un milieu aqueux leur permet un meilleur accès aux ressources (eau, CO<sub>2</sub> ou minéraux). Lorsqu'elles sont soumises à un « stress », leur production de lipides augmente et peut atteindre plus de 50 % de la biomasse totale. Une étude récente s'appuyant sur des données de terrain a ainsi estimé le potentiel de productivité en lipides des cultures de micro-algues autour de 40 t/ha/an en l'état actuel de la pratique, et a évalué un optimum réaliste autour de 20 t/ha/an [10]. À ce titre, elles seraient les premières alternatives biologiques au photovoltaïque de dernière génération.

Les avantages des biotechnologies vertes sont multiples :

- mieux exploiter la diversité végétale,
- faciliter les croisements interspécifiques,
- maîtriser l'apport de nouveaux caractères par la connaissance du génome,
- diminuer les durées de création variétale et d'évaluation agronomique.

Au cours des soixante dernières années, les rendements des principales cultures ont été multipliés par 5, avec une contribution de l'amélioration génétique pour plus de 50 %.

L'objet des biotechnologies réside dans la manipulation des gènes. Il convient de souligner qu'au sein de chaque espèce existe une énorme variabilité génétique, qui constitue un réservoir de gènes qui sont indispensables à la survie de cette espèce et est d'un grand intérêt pour améliorer les espèces élevées ou cultivées. Les mutations sont à la base de l'évolution, de l'adaptation des espèces, de la domestication comme de la sélection. Les données génomiques montrent que le monde vivant constitue un pool de gènes qui évolue en permanence. Enfin, la quasi-unicité du code génétique permet des transferts « horizontaux » nombreux et variés :

- cas des  $\alpha$ -protobactéries  $\Rightarrow$  mitochondries ...  $\Rightarrow$  champignons, animaux ;
- cas des cyanobactéries (photosynthétiques)  $\Rightarrow$  chloroplastes  $\Rightarrow$  plantes.

À la différence des méthodes antérieures de modifications génétiques, les nouvelles méthodes de biologie moléculaire conduisent à une maîtrise du site d'insertion du gène dans le génome (effet de position sur l'expression du transgène ou création de mutations), avec des technologies d'ingénierie moléculaires [11] comme les nucléases à domaine en doigt de Zn\* (ZFN), les méganucléases et les protéines TALEs (« transcription activator-like effectors »).

Ces biotechnologies offrent de nouvelles voies pour répondre au besoin de doubler la production végétale attendu pour 2050, avec une optimisation des performances de la photosynthèse, aux plans énergétique et de la gestion de l'eau. De nouvelles cibles paraissent envisageables : le doublement du potentiel théorique des plantes de grandes cultures, avec l'optimisation des parties aériennes, l'ingénierie des carboxylases en prévision des concentrations plus élevées en CO<sub>2</sub>, l'optimisation moléculaire des réactions de la photosynthèse, et le management des terres arables pour préserver ce capital environnemental.

L'amélioration des plantes consiste à exploiter la variabilité, naturelle ou induite par mutation, en croisant des plantes dont on va ensuite sélectionner la descendance sur la base d'un phénotype. Plusieurs méthodes sont disponibles : la variation génétique spontanée ou induite (mutagenèse), la transgénèse, l'hybridation. On peut dans ces cas développer des stratégies de génétique d'association, encore peu utilisées chez les plantes car elles nécessitent d'importantes ressources moléculaires. On peut cependant présumer que ces approches vont se développer dans un avenir proche avec l'acquisition des données de génomique, y compris chez les arbres. Les deux façons de suppléer une variabilité naturelle insuffisante sont la transgénèse et la mutagenèse associées au « tilling » (« targeted induced local lesions in genomes ») – voir l'article de Denis Pompon *et coll.*, p. 24. À la différence de la cisgénèse, où le gène introduit provient de la même espèce, la transgénèse rassemble les méthodes de transfert dans le génome d'un organisme, d'un gène d'un autre organisme plus ou moins éloigné (autre espèce ou autre règne). Cependant, ce type de stratégie ne dispense pas d'un lourd travail de rétrocroisement pour éliminer ensuite les autres mutations présentes dans le génome.

L'amélioration des propriétés des plantes cultivées passe aussi par des outils de criblage pour identifier des individus intéressants parmi des centaines, voire des milliers de plantes, ou par des méthodes de reproduction par multiplication végétative et par culture *in vitro*. Ces techniques s'inscrivent dans un processus permanent de variation et de recombinaison des génomes des plantes au fil des croisements, processus naturel bien éloigné de la vision « fixiste » de la nature sous-jacente à certains discours.

Bien que l'attention se soit portée ces dernières années sur l'acquisition de résistance aux contraintes biotiques (maladies, prédateurs) et abiotiques (phytosanitaires), de nouveaux objectifs de qualité et de durabilité s'inscrivent à l'ordre du jour des améliorateurs (*tableau III*).

L'ingénierie métabolique demeure complexe sur les plantes supérieures. Les méthodes classiques de sélection restent nécessaires, en particulier pour les caractères quantitatifs et multigéniques. Le développement de la génomique facilite et augmente la puissance de ces approches et ouvre de nouvelles perspectives de sélection « génomique ». Les biotechnologies permettent d'élargir la base génétique utilisable (ex. : gènes bactériens ou de levures) et, en faisant progresser les connaissances, d'envisager une véritable ingénierie génétique. Elles permettent également de réduire considérablement le temps d'introduction des caractères d'intérêt dans de nombreuses variétés localement adaptées. Les biotechnologies vertes ne modifient pas les contraintes classiques qui s'imposent à l'amélioration des plantes et à l'agriculture (maintien de la biodiversité, apparitions de résistances aux herbicides, maladies, prédateurs ou d'effets non attendus), mais elles offrent des outils supplémentaires pour y répondre. Que cela soit pour l'amélioration conventionnelle ou reposant sur les biotechnologies, la disponibilité/diffusion des ressources génétiques reste un facteur clef et stratégique.

## La bioraffinerie

Hormis le latex de l'hévéa, aucun végétal ne donne une biomasse directement utilisable en chimie ou en fermentation sans un traitement préalable de purification et de fractionnement. Mais toutes ces molécules d'intérêt sont



lorsqu'il peut être utilisé en agriculture ou en alimentation animale, représente une source azotée et énergétique significative à prendre en compte dans la durabilité des systèmes industriels.

Les biotechnologies blanches présentent deux avantages :

- la possibilité de réaliser, en une seule étape de fermentation, tout un ensemble de réactions qui devraient être mises en œuvre successivement selon les procédés chimiques classiques ;
- la capacité de partir de matières premières non purifiées (mélasses).

Leurs mises en œuvre apportent aussi l'avantage [12] de réduire les consommations d'énergie de 20 à 30 % par rapport aux procédés pétroliers et les émissions de CO<sub>2</sub> de 20 à 30 %. WWF avance qu'entre 1 et 2,5 milliards de tonnes éq. CO<sub>2</sub> pourraient être économisées vers 2030, ce qui équivaut aux émissions totales de l'Allemagne en 1990.

Les principaux enjeux pour la biotechnologie fermentaire consistent à préserver les atomes de la biomasse, à avoir recours à des milieux plus concentrés, à simplifier les procédés de purification, et à augmenter les rendements de fermentation et de purification.

Peu de micro-organismes sauvages produisent des métabolites d'intérêt avec des rendements optimaux dans des conditions de production industrielle, sans modifications génétiques pour améliorer le taux de bioconversion. L'ingénierie métabolique a pour objectif de concevoir, par des outils bio-informatiques, de nouvelles voies métaboliques, afin de les adapter à l'existant. Sur cette base, des modifications génétiques seront élaborées par la biologie moléculaire, avant d'être testées. Si les tests s'avèrent inadéquats, un nouveau cycle sera engagé. Le développement de souches hyper-productrices, obtenues initialement par des stratégies de mutagenèse aléatoire puis par des cribles de sélection, a progressivement cédé la place aux stratégies plus rationnelles d'ingénierie métabolique, fondées sur une connaissance croissante des fonctionnalités des réseaux métaboliques et sur l'aptitude à moduler finement l'expression des gènes. Depuis la fin des années 1990, les techniques de rupture en biologie à haut débit ont émergé, que ce soit pour l'analyse des génomes, des protéomes, des métabolomes ou des réseaux métaboliques ; à cela s'est ajoutée la vague des fluxomes, des physiomes\* et de la bio-informatique pour traiter la surproduction de données expérimentales et proposer une modélisation intégrative. Les outils de tri à haut débit (50-500 métabolismes complets/jour) se perfectionnent avec l'apparition de « lab-on-chip » capables de démonter des métabolismes en recourant à la microfluidique [13]. Ces approches globales ont donné accès à l'ensemble du potentiel métabolique des micro-organismes, et ont notamment mis en valeur les conséquences indirectes d'une modification du génome suite à des stratégies ciblées de génie génétique. La compréhension des voies de synthèse d'alcane dans une cyanobactérie a permis le transfert des gènes responsables pour la production et la sécrétion de mélanges d'alcane et d'alcènes C13 à C17 dans *E. coli* [14].

## La biologie de synthèse

La biologie de synthèse est l'extension de cette logique finalisée, en partant d'un objectif défini : quelles molécules cibles, quelles molécules sources et substrats ? La biologie de synthèse a été définie par le consortium européen

Synbiology comme « *l'ingénierie de composants et systèmes biologiques qui n'existent pas dans la nature* ». Elle débute par la conception rationnelle *in silico* d'un nouveau système biologique ; cette approche, qui s'appuie sur les données disponibles (biologie, génomique, protéomique, etc.), permet d'explorer par avance les propriétés de ce nouveau système. Par exemple, certaines souches de levures construites possèdent jusqu'à douze gènes codant des enzymes ajoutées pour reproduire une voie métabolique entière.

L'étape suivante est la construction de l'objet ainsi conçu, en faisant appel au génie génétique, à la chimie de synthèse, à la microfluidique, en général à une combinaison de ces approches. Intégrées *in vivo* dans des voies métaboliques, les enzymes générées à façon peuvent également permettre de créer de nouvelles séquences métaboliques. Cette orientation marque la convergence entre le génie enzymatique, le génie métabolique et le génie du procédé (ou génie microbiologique). La dernière étape est la caractérisation de l'objet ainsi construit au moyen de toute méthode adaptée, et l'évaluation de ses impacts sur la santé, l'environnement et la société.

On distingue deux démarches :

- la **construction de systèmes métaboliques minimaux**, de dispositifs ou de systèmes artificiels biochimiques ou biomécaniques ayant un comportement spécifié, par l'assemblage de « briques » réutilisables et standardisées ;
- la **synthèse de génomes minimaux**, afin de mieux appréhender le fonctionnement des cellules et de créer des cellules-hôtes (châssis) capables d'une bioproduction efficace ou de fonctions simples prédéterminées.

Signalons cependant que la synthèse complète d'un petit génome bactérien et sa transplantation dans une bactérie-hôte [15] n'est pas un exemple de création de vie, mais seulement la démonstration qu'un acide nucléique *de novo* peut remplacer un acide nucléique original.

## Les nouvelles molécules dans ce paysage

En chimie verte du carbone renouvelable, pour la chimie et l'énergie, deux principales approches sont possibles pour identifier les biomolécules d'intérêt :

• **L'approche structurale** consiste à identifier des biomolécules ressemblant à celles utilisées dans la chimie du carbone fossile, et à adapter le procédé pour opérer la substitution. Seule la lignine présente une analogie structurale directe avec les motifs structuraux présents dans le pétrole et ses dérivés. Toutefois, l'incrustation de la lignine dans les structures lignocellulosiques rend sa mobilisation délicate et coûteuse, avec pour conséquence un faible éventail d'usages de la lignine et de ses dérivés.

L'hydrogène d'origine végétale est une piste de recherche et, en cas de succès, pourrait être une source moléculaire directement utilisable en chimie et en énergie. Le plus original dans la littérature scientifique est certainement le couplage biotechnologie-chimie, pour aboutir à des molécules élaborées traditionnellement à partir du pétrole. *Clostridium acetobutylicum* est connu pour produire un mélange acétone-butanol-éthanol dans les proportions 2,3 ; 3,7 ; 7,1. Le mélange acétone-n-butanol-éthanol [16] peut ensuite être modifié par chimie organique classique pour donner des cétones en C5-C11, elles-mêmes transformables par déshydrogénation en paraffines.



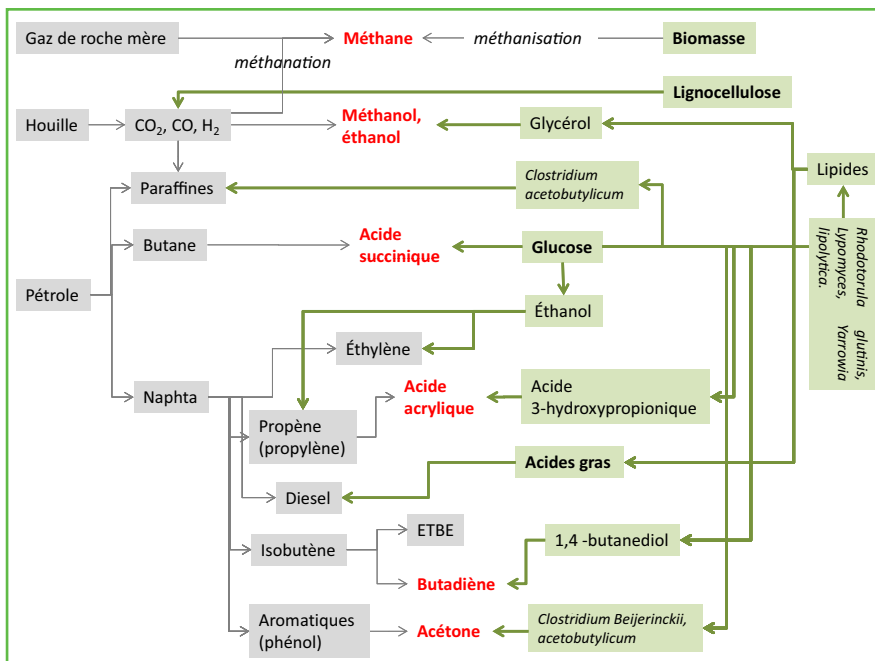


Figure 4 - Place des molécules biosourcées dans les dérivés du pétrole.

Il est ainsi possible de passer de molécules biosourcées à des molécules hémisynthétiques identiques à celles issues de pétrole (figure 4).

• **L'approche fonctionnelle**, plus innovante et plus en adéquation avec les principes de la chimie verte, consiste à explorer les molécules existantes dans le domaine vivant pour y trouver des fonctions semblables à celles recherchées (même si ces fonctions sont portées par des molécules de structures différentes de celles actuellement utilisées), et à les valoriser. Des solutions d'équivalence fonctionnelle existent, surtout lorsque des opérations ultérieures de transformation, en biotechnologie(s) ou en hémisynthèse, viennent conforter la diversité des solutions végétales. La panoplie des

molécules issues de l'amidon illustre la diversité des solutions moléculaires, qui entrent dans des familles moléculaires classiques, mais avec des monomères originaux biosourcés (figure 5).

En 2004, une réflexion conduite par le Département de l'énergie aux États-Unis (DOE) avait identifié quatorze molécules susceptibles de construire une carbochimie à partir de la biomasse. Cette liste a été revisitée dans le projet BREW (2006), puis par Bozell et Petersen (2010), pour aboutir à une liste finale de trente molécules. Sont remarquables les molécules issues de biotechnologies :

- en C2 : éthanol, acide acétique ;
- en C3 : acide 3-hydroxypropionique, acide lactique, 1,2 et 1,3 propanediol ;
- en C4 : acide succinique, acide lévulinique ;
- en C5 : acide lévulinique, isoprène, xylitol ;
- en C6 : sorbitol.

L'essentiel de ces choix de molécules plateformes reste confidentiel en raison des stratégies industrielles sous-jacentes.

Il convient de souligner que certaines molécules d'origine biologique possèdent des capacités d'auto-assemblage à la base des structures biologiques *in vivo*. Ces propriétés commencent à être mises en valeur dans les nanobiotechnologies et inspirent la conception de systèmes biomimétiques.

### Appropriation de ces nouvelles molécules et technologies

L'origine biologique des molécules biosourcées n'apporte aucun gain en termes d'impact sur la santé et l'environnement, comparativement aux molécules pétrosourcées, et leur industrialisation est aussi soumise aux procédures REACH. Face à des molécules d'origine fossile, les analyses de cycle de vie des molécules biosourcées sont sans appel. Cependant, la nature des procédés biotechnologiques conduit à revisiter les analyses coûts-bénéfices, avec des questions relatives à l'appréciation et à la gestion des risques.

La propriété intellectuelle est une dimension à considérer dans la valorisation de l'innovation. Les chimistes producteurs de molécules, lorsqu'elles sont nouvelles, vont privilégier les usages. À l'inverse, les fermenteurs pourront préserver une part de secret sur leurs technologies, par analogie aux acteurs de la chimie. Ces deux premières interrogations conduisent à des réflexions sur les fossés technologiques qui pourraient se mettre en place au niveau mondial.

Les biotechnologies suscitent des interrogations complémentaires pour lesquelles des visions différentes sont présentes dans nos sociétés. Les principales interrogations sont celles de la **brevetabilité du vivant** et de notre rapport au vivant

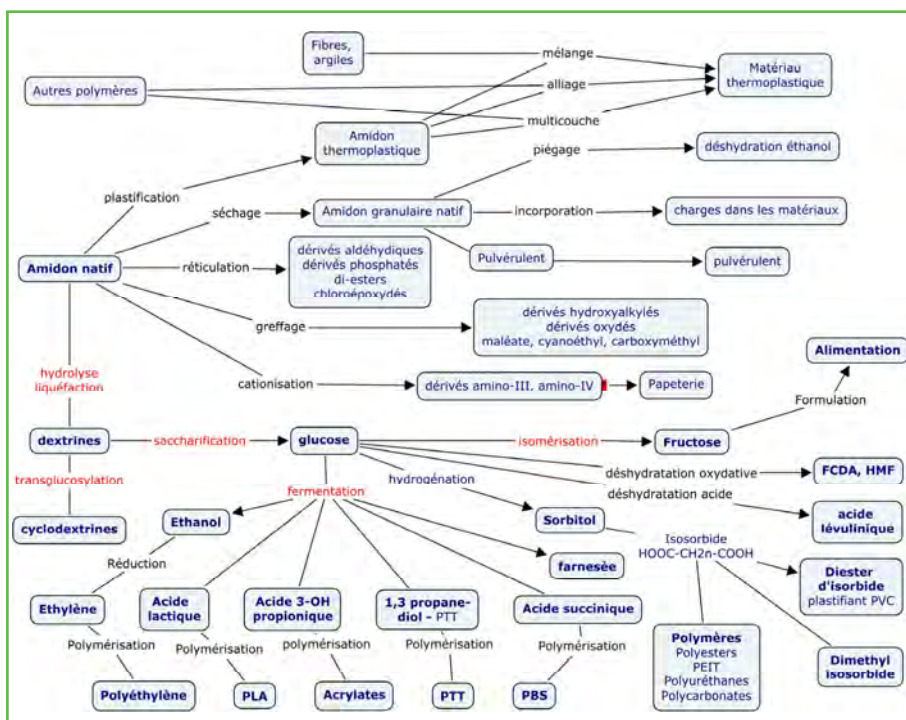


Figure 5 - Les dérivés de l'amidon.

et à la vie, avec les notions de fabrication, de contrôle et de création du vivant et celle de « vie artificielle ». En France l'ensemble des parties prenantes peuvent se rencontrer et dialoguer au sein de l'Observatoire de la biologie de synthèse [17].

## Conclusion

Mobiliser plus fortement le carbone biologique pour les besoins humains est la perspective offerte par la bio-économie : l'objectif est la production des biens et services pour réduire la dépendance des populations à l'égard des ressources non renouvelables, en assurant, de manière pérenne, leur sécurité alimentaire, environnementale et économique. Les progrès de la biologie moderne apportent les changements de paradigmes biotechnologiques pour changer la transformation de la biomasse.

En découlent deux perspectives :

- développer une agro-industrie, enjeu de réindustrialisation européenne ;
- accompagner les développements régionaux à partir des avantages propres à chaque région : compétences, ressources et localisation géographique.

Aboutir à la neutralité carbone à la surface du globe nécessite de satisfaire trois équations (figure 6) :

- ajuster les émissions de carbone fossile à la somme des fixations nettes de carbone par les écosystèmes,
- minimiser le déstockage du carbone organique des sols provoqué par les changements d'usage des sols ;
- prélever un flux de carbone sur le flux total de carbone fixé biologiquement (production annuelle de biomasse) sans compromettre l'avenir des autres services écosystémiques (support, régulation, culturels et sociaux).

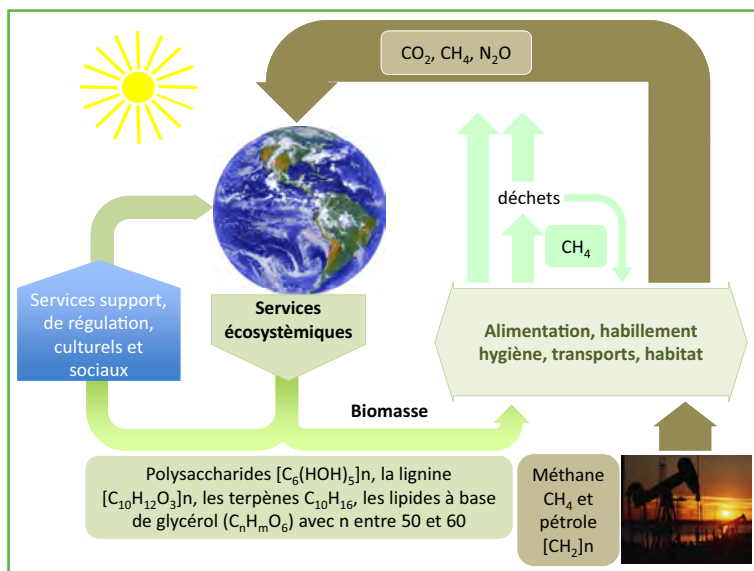


Figure 6.

Au-delà de l'argument de la durabilité qui ne suffit pas, ces biomolécules doivent présenter les performances désirées à un prix compétitif. La part de la biomasse occupe une proportion importante d'ailleurs du prix final des produits biosourcés. Le DOE prévoit une part de 36 % pour la biomasse sortie des champs et 8 % pour les enzymes dans le procédé d'éthanol de seconde génération en 2013.

Les progrès dans les biotechnologies vertes et blanches viennent modifier drastiquement la vision historique du système du carbone renouvelable, comportant les étapes de production de la biomasse, les bioraffineries, les conversions en produits plus fonctionnels par des technologies chimiques, physiques et biologiques. Les molécules décrites précédemment peuvent être produites dans la plante ou dans les bioréacteurs utilisant des cellules ou des enzymes. Dans tous les cas de figure, la plante et le bioréacteur présentent une complémentarité ; le curseur peut se déplacer entre les deux extrêmes selon les molécules et les fonctions visées. Les biotechnologies doivent s'adapter à ces évolutions permanentes en s'intégrant de manière souple à l'évolution des stratégies depuis la semence, les itinéraires agronomiques, la transformation industrielle, puis le marché. Au-delà des plantes forestières et de grandes cultures déjà fortement mobilisées, trois espaces de liberté sont envisageables grâce à de nouvelles ressources végétales et à l'extension des surfaces de culture sur des terres marginales.

## Références

- [1] Colledge S., Conolly J., Shennan S., Archeobotanical evidence for the spread of farming in the Eastern mediterranean, *Current Anthropology*, Special issue "Agricultural origins and dispersal into Europe", **2004**, 45(S4), p. S35.
- [2] Anastas P.T., Warner J.C., *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press, **1998**.
- [3] Colonna P., Kammoun A., Montagne X., Sales C. (dir.), *Quels VÉGétaux et systèmes de production durables pour satisfaire les besoins en bioénergie, synthons et biomatériaux ?*, rapport CIRAD/IFPEN/INRA (France), **2013**.
- [4] Wegman M.A., Janssen M.H.A., van Rantwijk P. *et al.*, Cross-linked aggregates of penicillin acylase: robust catalysts for the synthesis of B-lactam antibiotics, *Adv. Synth. Catal.*, **2001**, 343, p. 559.
- [5] [www.genome.gov/sequencingcosts](http://www.genome.gov/sequencingcosts)
- [6] Hutchison C.A., Phillips S., Edgell M.H., Gillam S., Jahnke P., Smith M., Mutagenesis at a specific position in a DNA sequence, *J. Biol. Chem.*, **1978**, 253, p. 6551.
- [7] Kuchner O., Arnold F.H., Directed evolution of enzyme catalysts, *Trends in Biotechnology*, **1997**, 15, p. 523.
- [8] Jiang L., Baker D. *et al.*, De novo computational design of retro-aldol enzymes, *Science*, **2008**, 319, p. 1387.
- [9] Siegel *et al.*, Computational design of an enzyme catalyst for a stereoselective bimolecular Diels-Alder reaction, *Science*, **2010**, 329, p. 309 ; Lutz S., Beyond directed evolution semi-rational protein engineering and design, *Curr. Opin. Biotechnol.*, **2010**, 21, p. 734.
- [10] Rodolfi L. *et al.*, Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor, *Biotechnology and Bioengineering*, **2009**, 102(1), p. 100.
- [11] Lusser M., Parisi C., Plan D., Rodriguez-Cerezo E.E., New plant breeding techniques: state-of-the-art and prospects for commercial development, *JRC European Commission EUR 27460 EN*, **2011**.
- [12] *The Bioeconomy to 2030: designing a policy agenda*, OCDE, **2010** ; *Biotechnologies industrielles, au-delà du combustible vert dans une économie sale*, WWF, **2009**.
- [13] Han A. *et al.*, Microfabricated devices in microbial bioenergy sciences, *Trends in Biotechnology*, **2013**, 31(4), p. 225.
- [14] Schimer M. *et al.*, Microbial biosynthesis of alkanes, *Science*, **2010**, 329, p. 559.
- [15] Gibson D.G. *et al.*, Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome, *Science*, **2010**, 329, p. 52.
- [16] Anbrasan P. *et al.*, Integration of chemical catalysis with extractive extraction to produce fuels, *Nature*, **2012**, 491, p. 235.
- [17] <http://biologie-synthese.cnam.fr>



### Paul Colonna

est directeur scientifique adjoint Bioéconomie et directeur de l'Institut Carnot Bioénergies, Biomolécules et Biomatériaux 3BCAR\*

\* INRA, 147 rue de l'Université, F-75338 Paris Cedex 07.

Courriel : [colonna@nantes.inra.fr](mailto:colonna@nantes.inra.fr)  
[www.3BCAR.fr](http://www.3BCAR.fr)

# Déchets et biotechnologies

Philippe Pichat

**Résumé** De nombreux déchets générés par notre société contiennent une teneur appréciable de matières organiques, dont certaines peuvent être transformées par des procédés biotechnologiques. Ces procédés consomment une quantité modérée d'énergie et, dans certains cas, sont même capables d'en produire. Ainsi, des sols régénérés, du compost, des nutriments, des produits chimiques tels que le méthane et de l'eau deviennent disponibles pour un développement durable.

**Mots-clés** Déchets, biotechnologies, énergie, réactifs, développement durable.

**Abstract** **Wastes and biotechnologies**  
 Many wastes generated by our society contain a significant content of organic matter; some of these materials can be processed by biotechnological processes. These require a moderate amount of energy and, in some cases, are even able to produce it. Thus reclaimed soils, compost, nutrients, chemicals such as methane, and water become available for sustainable development.

**Keywords** **Wastes, biotechnologies, energy, commodities.**

« *Nature, to be commanded, must be obeyed* » (Francis Bacon, *Novum Organum*, 1620).

Le détenteur d'une matière, d'un produit ou d'un objet en prend soin compte tenu de la satisfaction ou du profit qu'il compte en tirer, mais son comportement peut devenir sensiblement différent lorsqu'il veut se débarrasser de ce qui devient alors un déchet, provoquant alors un risque pour notre santé et notre planète [1].

Ce risque « déchets » devrait augmenter à l'échelle planétaire, poussé par :

- l'augmentation de l'urbanisation et la formation de mégapoles : on estime que d'ici une vingtaine d'années, 80 % de la population sera citadine, avec en particulier 800 centres urbains dépassant le million d'habitants. Or l'urbanisation favorise le rejet de déchets : compte tenu de l'exiguïté de son logement, de l'espace de rangement restreint dont il dispose (rarement une cave, un grenier, une remise...), le citadin jette (toutes proportions gardées) beaucoup plus que son ancêtre qui lui pouvait faire de la valorisation de proximité [2]. L'urbanisation provoque une concentration de la production de déchets dans un espace réduit, donc une augmentation du « risque déchets » pour les populations et l'environnement.
- L'achat de nombreux appareils ménagers et électroniques (ordinateurs, téléphones, téléviseurs...) contenant des éléments ayant un caractère non anodin, voire même toxique (métaux lourds).
- L'augmentation de la mobilité au moyen de véhicules individuels.

Il en résulte une augmentation de la production de déchets à l'état solide, pâteux ou liquide et pouvant être sources de problèmes pour notre société.

## Les besoins de la société humaine

Nos besoins augmentent, compte tenu des tendances rappelées précédemment. Ce sont : des sols pour produire des denrées agricoles, construire de nouveaux logements et infrastructures ainsi que des unités de production et de distribution de denrées ; des fertilisants (N, P, K...) et des conditionneurs de sol ; de l'eau pour l'alimentation, l'irrigation, la

manufacture ou l'évacuation des déchets... ; de l'énergie ; et des matières premières.

Les biotechnologies contribuent à subvenir à ces besoins, en respectant particulièrement les préoccupations de développement durable.

La Nature transforme le gaz carbonique de l'air et l'eau en cellulose (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>n</sub>, composant important des végétaux. Ces derniers constituent les bases de la chaîne alimentaire des êtres vivants (à condition que des substances toxiques ne polluent pas le sol, l'eau et l'atmosphère, empêchant par là ce processus) (tableau I).

Les micro-organismes, qui jouent là un rôle essentiel, sont présents en grandes quantités ; on en trouve par exemple environ un milliard dans une poignée de terre arable et de types extrêmement variés : bactéries hétérotrophes utilisant la matière organique pour se développer, métazoaires, protozoaires, champignons, algues...

## Contributions des biotechnologies

La mise en œuvre des micro-organismes par les biotechnologies contribue à subvenir aux besoins de la société en transformant les déchets ayant une teneur substantielle en matière organique et une teneur négligeable en éléments toxiques.

Tableau I.

<b>Développement durable</b>	Énergie solaire Gaz carbonique Eau Minéraux Substances toxiques (faibles concentrations)
<b>Développement non durable</b>	Matières premières fossiles Minéraux Substances toxiques (fortes concentrations)

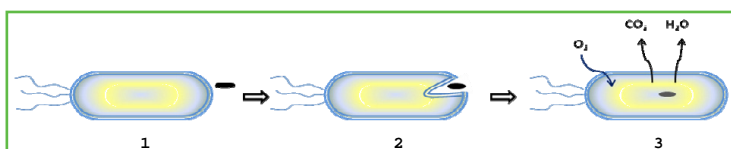
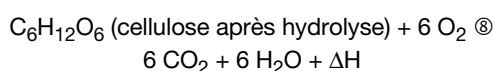
Tableau II - Applications des biotechnologies et traitements.

APPLICATIONS	TRAITEMENTS	APPLICATIONS	TRAITEMENTS
<b>Traitement des sols</b>		<b>Production de compost</b>	
<p><i>Landfarming</i></p> 	<p>Aération du sol pollué en surface de façon à l'homogénéiser et à favoriser le développement des micro-organismes aérobies.</p>	<p><i>Trommel</i> (photo P. Pichat).</p> 	<p>Le trommel permet de classer les déchets organiques en continu et à un coût compétitif en triant les solides en fonction de leurs dimensions.</p>
<p><i>Biotertres</i></p> 	<p>Les sols pollués sont mis en talus aérés et humidifiés de façon à favoriser le développement des bactéries.</p>	<p><i>La transformation de la matière organique est exothermique</i> (photo P. Pichat).</p> 	<p>Compostage et co-compostage : valorisation de boues de station d'épuration d'eaux usées (avec contrôle de la teneur d'éléments à caractère toxique) [4].</p>
<b>Fertilisants/Conditionneurs de sol</b>		<b>Épuration des eaux</b>	
<p><i>Sol pollué par des hydrocarbures devenu désertique (région de Porto Vecchio)</i> (photo P. Pichat).</p> 	<p>Apport des éléments fertilisants principaux (N, P, K), secondaires (Ca, S, oligoéléments...) par utilisation des composts. Amélioration, voire reconstitution de la structure du sol par la formation du complexe argilo-humique.</p>	<p><i>Une installation de traitement des eaux usées citadines particulièrement compacte dans l'environnement urbain exigeant de Monaco.</i></p> 	<p>Procédés aérobies plus généralement en bassins ouverts, procédés anaérobies qui dégradent des molécules difficilement altérables en milieu aérobie et produisent un combustible (cf. « Production d'énergie » ci-dessous).</p>
<p><i>Le même sol redevenu fertile grâce à des apports de compost</i> (photo P. Pichat).</p> 	<p>Le sol participe à la dépollution par les végétaux qu'il supporte ainsi que par les micro-organismes et les micro-animaux (lombriciens...).</p>	<p><b>Production d'énergie</b></p>	
		<p><i>Unité de méthanisation d'ordures ménagères.</i> (photo P. Pichat).</p> 	<p>Production, en milieu anaérobie, de CH<sub>4</sub> + CO<sub>2</sub> à partir de résidus des industries agroalimentaires, d'ordures ménagères triées [5]. Après purification, le mélange gazeux est compressé pour utilisation dans des véhicules à moteur thermique ou injecté dans un réseau de distribution de gaz naturel.</p>
<b>Purification de l'air</b>		<b>Autres applications : préparation de réactifs</b>	
	 <p>Destruction de gaz polluants par passage dans des biofiltres contenant des micro-organismes sur un support solide.</p> <p>© Bill Biofiltre SA.</p>	<p>Certains déchets sont d'un grand intérêt pour les approches biotechnologiques, en particulier ceux qui contiennent des sucres directement assimilables, comme les mélasses, résidus de l'industrie sucrière. De nombreux produits d'intérêt (antibiotiques, acides aminés...) sont produits par fermentation de ces résidus. Par exemple, une souche de pénicillium produit de l'acide citrique à partir du saccharose contenu dans des mélasses. La production mondiale d'acide citrique avoisine les 2 Mt par an pour des applications variées (sodas par exemple). La solution ainsi obtenue par biotechnologie est traitée par de l'hydroxyde de calcium. Le précipité de citrate de calcium est traité avec une solution d'acide sulfurique pour obtenir de l'acide citrique. Cet exemple illustre la synergie entre les biotechnologies et la chimie [6].</p>	

Tableau III - Avantages et inconvénients des procédés biotechnologiques.

Avantages	Inconvénients
<p><b>Investissements</b> La majorité des micro-organismes se développent favorablement entre 20 et 40 °C. Les investissements seront donc plus faibles que pour une unité traitant la même quantité et le même type de déchets à 1 000 °C dans un incinérateur.</p> <p><b>Coût de maintenance</b> La relative simplicité des équipements biotechnologiques permet des coûts de maintenance modérés.</p> <p><b>Consommation d'énergie</b> Les procédés biotechnologiques opérant à basse température sont beaucoup moins gourmands en énergie.</p>	<p><b>Manque de flexibilité</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• vis-à-vis du contenu : les déchets ne doivent contenir que des quantités négligeables d'éléments toxiques.</li> <li>• vis-à-vis du flux : par exemple dans le cas d'un gros orage pour les déchets en phase aqueuse ; trop souvent une station d'épuration biologique reçoit une quantité d'eaux usées pour laquelle elle n'a pas été conçue.</li> </ul> <p><b>Coût liés au tri</b> La nécessité de mettre de côté les matières « inertes », minérales (verres...), qui peuvent atteindre 60 % du poids des ordures ménagères, implique un coût non négligeable.</p>

Les micro-organismes agissent selon deux modes :  
- **Aérobic**, en utilisant l'oxygène de l'air (voir figure), par une réaction que l'on peut représenter par l'équation simplifiée :



#### La dégradation aérobie.

Le micro-organisme détecte un composé organique (cellulose par exemple) (1), le phagocyte (2), et son métabolisme oxydatif transforme ce composé organique en dioxyde de carbone et eau qui sont relâchés dans le milieu (3).

- **Anaérobic**, c'est-à-dire à l'abri de l'air, par une réaction que l'on peut représenter par l'équation simplifiée :



Le tableau II montre comment les biotechnologies contribuent à la gestion des déchets, subvenant ainsi aux besoins de la société pour le traitement des sols, la production de compost, les fertilisants et conditionneurs de sol, l'épuration des eaux, la production d'énergie.

## Avantages et inconvénients des procédés biotechnologiques

Les progrès importants que l'on peut escompter avec les biotechnologies permettent d'entrevoir une utilisation accrue de ces procédés pour le traitement des déchets, qui est effectué actuellement à haute température et à haute pression, nécessitant un apport important d'énergie (voir tableau III).

Les procédés biotechnologiques sont basés sur des équilibres entre la bioflore et le substrat. Ils dépendent de la température et des flux de matière que l'on doit chercher à uniformiser.

Les inconvénients de ces procédés peuvent être réduits en faisant appel à des procédés physico-chimiques. Par exemple, dans une unité de traitement de déchets industriels, un module d'ultrafiltration permet de mieux séparer les boues biologiques et l'eau à épurer. Une charge plus importante devient alors possible (10-12 g.L<sup>-1</sup>, sur sec), rendant le procédé économiquement viable [3].

## Traitement des déchets liquides

Dans les pays industrialisés, la majorité des déchets liquides (WC, douche, cuisine, laverie) sont traités dans de grandes unités (stations d'épuration des agences de bassin ou industrielles), mais il peut arriver qu'ils soient traités de façon individuelle.

De nombreux éléments peuvent affecter le fonctionnement correct des micro-organismes dégradant les déchets dans ces procédés :

- produits tels que les antibiotiques, les antiseptiques, les détergents et l'hypochlorite de sodium dont la finalité est précisément de tuer des micro-organismes ;
- sels à partir d'une certaine concentration ;
- produits toxiques utilisés comme solvants ;
- huiles flottant à la surface de l'eau empêchant l'oxygénation par l'air ;
- solides (couches, serviettes périodiques, plastiques, journaux...) qui encombrant la fosse.

Les dysfonctionnements ont alors pour conséquences :

- des odeurs déplaisantes, ayant parfois un caractère toxique (formation d'hydrogène sulfuré, d'amines, d'ammoniac...);
- l'engorgement de l'évacuation des eaux usées, ou bouillon, avec nécessité d'une intervention en urgence dans la fosse pour enlever les corps étrangers.

## Conclusion

Les procédés biotechnologiques permettent de traiter des déchets et les eaux usées ayant une teneur substantielle en matière organique pour dépolluer les sols et l'eau, en les réintroduisant dans l'économie (eau potable), et pour produire des fertilisants, des conditionneurs de sol, des réactifs et de l'énergie.

Des quantités considérables de déchets sont ainsi traitées – par exemple en France, 7 milliards de m<sup>3</sup> par an pour les seules eaux usées –, générant ainsi une belle activité économique.

L'auteur remercie Jean Buendia et Alain Garreau.

## Références

- [1] Pichat P., Le risque chimique spécifique aux déchets, *L'Act. Chim.*, **2010**, 341, p. 52.
- [2] Pichat P., *La gestion des déchets*, Flammarion, **1995**.
- [3] Hyvrard F., Benchara A., Communication particulière.
- [4] Duong Tra T.T. *et al.*, Nutrient release from composts into the surrounding soil, *Geoderma*, **2013**, 195-196, p. 42.
- [5] Nielsen A.M., Christensen K.V., Møller H.B., Inline NH<sub>3</sub> removal from biogas digesters, *Biomass and Energy*, **2013**, 50, p. 10.
- [6] Vandenberghe L.P.S., Soccol C.R., Pandey A., Lebeault J.-M., Microbial production of citric acid, *Brazilian Archives of Biology and Technology*, **1999**, 42(3), p. 263.



### Philippe Pichat\*

est ingénieur et docteur ès sciences. Son expérience industrielle est complétée par celle d'expertises. Il fait partie de l'équipe de Sarp Industries fondatrice des activités du recyclage-traitement des déchets dangereux et maintenant implantée dans huit pays.

\* Courriel : philippe.pichat@gmail.com

# Industrial biotechnology driving industrial competitiveness and sustainability

## Initiatives from the European Union

Alfredo Aguilar

**Résumé** Les biotechnologies industrielles, moteur de la compétitivité et du développement durable : les initiatives de l'Union européenne

Cet article souligne la montée des biotechnologies industrielles en Europe, en particulier ses avancées technologiques, la compétitivité des industries européennes et leur impact sur l'environnement. Les progrès de ces procédés se sont étendus à la chimie fine, à l'industrie du papier, aux textiles, à l'énergie, plaçant les biotechnologies industrielles au cœur même de l'industrie, dans ce que l'on appelle la bioéconomie. Ses technologies clés sont à la source d'un nouveau développement économique, avec la commercialisation de nombreux produits et procédés. Cet article souligne également les initiatives de l'Union européenne pour soutenir leur développement à travers le 7<sup>e</sup> Programme-cadre (2007-2013) et son successeur, Horizon 2020 (2014-2020).

**Mots-clés** Biotechnologie, bioéconomie, biotechnologie européenne, technologie clé, industrie, Horizon 2020, programme cadre européen.

**Abstract** This article outlines the drivers of industrial biotechnology in Europe, in particular industrial leadership, competitiveness of European industries and environmental sustainability. The impact of industrial biotechnology has gradually expanded from the classical biochemical processes to others such as fine and bulk chemicals, pulp and paper, textile, automotive and energy, making from industrial biotechnology the core of biotechnology and the leverage for the bioeconomy. Industrial biotechnology has already demonstrated its capacity to be a key enabling technology capable of generating industrial leadership and economic development, reinforcing the bioeconomy and being the main entry gate to the commercialization of biologically derived compounds and processes. This article also outlines the European Union initiatives aimed to promote the development and sustainable applications of industrial biotechnology during Framework Programme 7 (2007-2013) and the prospects for its successor Horizon 2020 (2014-2020).

**Keywords** Biotechnology, bioeconomy, European biotechnology, key enabling technology, industrial biotechnology, Horizon 2020, EU Framework programmes.

Industrial biotechnology, also commonly known as “white biotechnology”, constitutes the core of biotechnology and the leverage for the bioeconomy, as it is the application of biotechnology to industrial processes. Between the 50s and the 70s of last century, were developed the science base and the technologies that today constitute the backbone of industrial biotechnology: biocatalysis, microbial fermentations, rational design and scale-up of fermentors, downstream processes, purification and separation techniques. This period was the golden era for the production of antibiotics, vitamins and amino acids by large scale microbial fermentation.

*In the years following the end of World War II, the production of penicillin by fermentation of *Penicillium chrysogenum* rocketed [1]. Behind were left the times where doctors, engineers and microbiologists were impotent of being unable to enhance penicillin production to the levels required to treat patients, mostly soldiers wounded in the front.*

Industrial biotechnology has provided a decisive input to the rationalisation of many industrial sectors. Thus the pharmaceutical sector has been able to generate a large collection of antibiotics and other bioactive compounds by microbial fermentation or by combination of fermentation and chemical synthesis. Proteolytic enzymes isolated and purified from different microorganisms are currently used as additives in detergents for washing machines. Industrial biotechnology has also made huge contributions to the food industry by improving yield, quality and diversity of fermentable products and by preserving food by natural preservatives produced by microorganisms. Amino acids, such as glutamic acid, lysine, tryptophan and methionine, used in many applications by the food and feed industries, are produced at large scale by fermentation of hyper producing microbial strains, mostly *Bacillus*, *Corynebacterium* and *Brevibacterium* sp. Microbial production of amino acids and other biological compounds have the advantage over chemical synthesis that it only produces the bioactive enantiomers and not the racemic mixture

as in the case of chemical synthesis. The use of enzymes and whole cell biocatalysts has proven particularly valuable in production of both proteinogenic and non-proteinogenic L: -amino acids, D: -amino acids, and enantiomerically pure amino acid derivatives, which are of great interest as building blocks for active ingredients that are applied as pharmaceuticals, cosmetics and agricultural products [2].

The impact of industrial biotechnology has been recently expanded from the traditional pharma and food and feed sectors to others such as fine and bulk chemicals, pulp and paper, textile, automotive and energy. It is worth mentioning that industrial biotechnology has created a new and successful

type of industry, that of production of enzymes or biocatalysts, in which Europe is the leader. The global industry enzyme market alone was worth about 2.1 billion euros in 2008 (figure 1). Approximately, one third of that figure was accounted by the detergent enzyme sector and another third by food and feed enzymes. The production of detergent enzymes is growing by about 4.5% per year, mainly for dishwashers and liquid detergents. Enzymes for food manufacturing have an estimated annual growth rate of 2-3%.

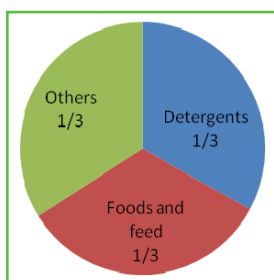
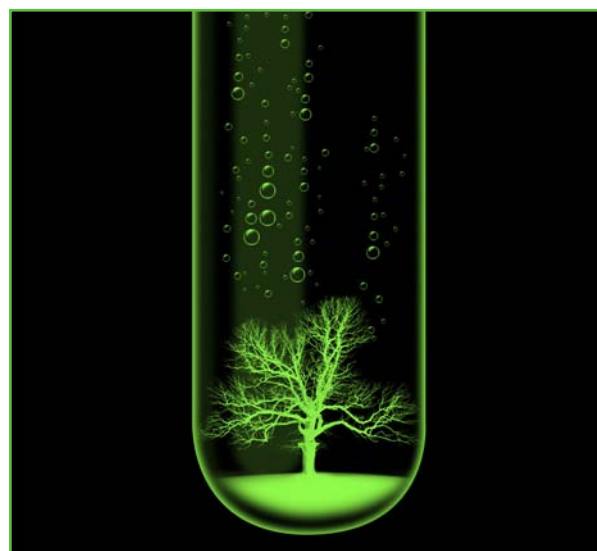


Figure 1 - Enzyme market 2008 (2,1 billion euros).

When compared with the classical chemical processes, biotechnological processes are much more environmentally friendly as they reduce the need for organic solvents, toxic metals and energy because they operate at lower temperature and pressure, require much less energy inputs and consequently emit lower greenhouse gas emissions (GHG), and last but not least, they use renewable biological material. However, it is important to emphasize that biotechnology can be used both on renewable and non-renewable resources [3-4]. European chemical industries are showing an increasing interest in the potential of industrial biotechnology, with nearly 70% of the estimated R&D expenditure of worldwide leading spent by European firms [5]. In 2003, health biotechnology accounted for 87% of the share of total OECD business expenditures on biotechnology R&D while industrial biotechnology accounted for only 2%. However, the estimated potential share of total biotechnology in the OECD area for 2030 is forecasted to be 25% for health biotechnology and 39% for industrial biotechnology [6]. These data clearly show the huge economic potential impact of industrial biotechnology across many economic and social sectors.

In the last couple of decades, industrial biotechnology has overcome many scientific and technological hurdles by a synergistic use of the developments in molecular biology and on bioengineering: cultivation and extraction of bioactive compounds from extremophile microorganisms (*Archaea*); mastering of cultivation of animal and plant cells in fermentors, developing the concept of "cell factories" [7-8]. Many of these scientific and technological breakthroughs are already in the market: new enzymes for industry and household use, biologicals for diagnostic and therapeutical uses, etc. The development of a robust theoretical scientific and technological frame has facilitated the acceleration of new products and processes stemmed from industrial biotechnology.

A new paradigm on industrial biotechnology has led a few years ago with the development of the concept of biorefineries for the large scale production of fuels and chemicals. The biorefinery sector is bound to explode in the coming years, where new, more robust and much higher amount of enzymes will be required. In addition to enzymes, biorefineries will need



© INFINITY-Fotolia.

to enhance and sometimes develop completely new biotechnology industrial processes with the aim of making biorefineries fully sustainable and more economic.

Industrial biotechnology has already demonstrated its capacity to be a key enabling technology capable of generating industrial leadership and economic development. A key feature in its development is the operational integration of other branches of biotechnology, such as marine biotechnology, environmental biotechnology, nanobiotechnology, synthetic biology, bioinformatics, etc. Industrial biotechnology is not anymore just one amongst many branches of biotechnology. Industrial biotechnology encompasses the industrial developments and applications of other biotechnology sectors, aimed at reinforcing the bioeconomy and is the main entry gate to the commercialization of biologically derived compounds and processes.

This article outlines the initiatives of the European Union (UE) to promote the development and successful and sustainable applications of industrial biotechnology in new bioproducts and bioprocesses, particularly during Framework Programme 7 (2007-2013) of research [9] and the prospects for its successor, Horizon 2020 (2014-2020) [10]. The emphasis is made on the scientific and technological aspects are expected to contribute to the strengthening of the bioeconomy in Europe.

A more general outline of projects supported by the biotechnology in the EU research programmes in the recent years has been published by Cichocka *et al.* [11]. The readers interested in the most relevant features of the last thirty years of EU biotechnology programmes are invited to read the article from Aguilar *et al.* [12]. The more specific issues dealing with biotechnology research for innovation and sustainability in agriculture in the European Union and on international scientific cooperation have been published elsewhere [13-14].

## Drivers of industrial biotechnology

The main policy drivers on industrial biotechnology in the EU are industrial leadership, competitiveness of European industries and environmental sustainability. Industrial biotechnology is a key enabling technology accelerating the transition to a green, low carbon and resource-efficient economy with the potential to impact on a large number of industrial sectors and social activities. Thus, industrial biotechnology processes are crucial for the gradually replacing fossil resources by renewable ones and therefore can contribute to

mitigating climate change. The carbon efficiency can be optimised when using bioreidues and biowastes (closing loops) and this also alleviated the pressure on the environment (land use). By using milder conditions than chemical processes (pressure and temperature), industrial biotechnology also contributes to decrease energy consumption and therefore contributing to alleviate the effects of climate change. It is estimated that the use of industrial enzymes in biorefineries have the potential to save between 1-2.5 billion tonnes of carbon dioxide annually by 2030, around 5% of the total worldwide emissions of the gas in 2007 [3].

Industrial biotechnology should gradually replace conventional processes using metal catalysts and organic solvents by greener and resource efficient bioprocesses with high selectivity.

*It has been reported that the application of biotechnology in diverse sectors such as chemicals, plastics, food processing, textiles, pulp and paper, mining, metal refining and energy can not only reduce costs but also reduce the environmental footprint for a given level of production. In some cases, capital and operating costs decreased by 10-50%, in others energy and water use decreased 10-80% while the use of petrochemical solvents was reduced by 90% or eliminated completely [15].*

By its very nature, industrial biotechnology is grafted across all biotechnology applications, and increasingly on the chemical industry, where it is expanding from the segment of fine and specialities towards bulk chemical production, and into a wide spectrum of industrialised processes and products, *i.e.* biofuels and bioproducts, bio and composite polymers, etc., and last but not the least, in environmental applications [16].

Industrial biotechnology has also some hurdles that need to be properly addressed to guarantee its success. One is the resistance of long established industrial sectors, such as those operators in the chemical industry, to invest on the replacement of the existing conventional technologies by new ones coming from Industrial biotechnology, or on the combination of classical chemical technologies with some biotechnology ones. This offers great potential for complex (bio)chemical processes.

## Growth, innovation and employment

Biotechnology is knowledge intensive and requires highly-skilled jobs. Innovations are created within a business environment, where SMEs (small and medium-sized enterprises) play an important role, both by providing inputs and innovative solutions to global companies, or by introducing directly new consumer goods to the market. Innovation is also enhanced by cross sector innovation, that is to say bridging different productive sectors (agriculture, forestry, marine environments, biotechnology, chemistry, energy, etc) and integration of those sectors with well established industries, *e.g.* chemical, pulp and paper, etc. This new business environment and cross sector integration is badly needed to make the biobased economy a reality in our societies.

## The European strengths

Europe has major strengths on industrial biotechnology: it is the leading producer of enzymes – three quarters of the

market worldwide – which are used in the food and detergents sectors, and in the textile, pulp and paper industries. The EU is also a world leader in industrial biotechnological applications for fine chemicals. The European Chemical Industry Council (CEFIC) estimates that by 2015, turnover will have grown to 305 billion euros, a tenfold increase compared to 2005, and that around 20% of all chemical production will involve biotech processes [17].

## Industrial biotechnology in Framework Programme 7: main features

Industrial biotechnology research is a priority of the Framework Programme 7 for research, in particular in its Cooperation Specific Programme (2007-2013) under the activity 2.3: “Life sciences, biotechnology and biochemistry for non-food products and processes” (from now on this activity will be referred as Activity 2.3: Biotechnologies). This activity is part of the theme “Food, Agriculture and Fisheries and Biotechnology” and it includes applications in primary production, industry and the environment. Industrial biotechnology is at the core of this activity and channels new know-how generated in novel sources of biomass and bioproducts, marine and environmental biotechnology and the expected breakthroughs of emerging trends in biotechnology into industrial deployment.

By its pivotal role, industrial biotechnology has close interactions and is complementary to other biotechnology areas, such as plant biotechnology (providing terrestrial feedstock to industry), marine biotechnology (exploiting aquatic environments), environmental biotechnology (environmental services and technologies), and emerging trends in biotechnology (*e.g.* synthetic biology, nano-biotechnology). These are all instrumental for the future advancement in biotechnology and for the rapid, sustainable and efficient development of the bioeconomy.

At the time of writing this article, Framework Programme 7's Activity 2.3: Biotechnologies has given support to 101 transnational projects for a total budget of about 550 million euros, with nearly 1400 groups specifically channelling biotechnology and know-how into industrial deployment.

Participation of large industry and SMEs is considerable and accounts for about one third of the total in participant numbers (see *figure 2*). This demonstrates the industrial commitment of industry in R&D and that of the European Commission in setting biotechnology, and industrial biotechnology in particular, as one of the main drivers for the bioeconomy. In particular, the large number of companies classified as primarily active in the area of R&D reflects, on the one hand, the need to public support research and innovation activities in the area of biotechnology, while on the other mirrors the potential for innovation and commercialisation of related products and processes.

## Overview and assessment of the support to industrial biotechnology in Framework Programme 7

The discovery and development of biocatalysts has attracted substantial attention and resources. The target enzymes went beyond hydrolases (enzymes most commonly used) and include also oxidoreductases, lyases, transferases, etc. Substrates such as starch, carbohydrates, polysaccharides have been specifically supported and applications



Some examples of applications in industrial biotechnology.

Industrial biotechnology		
Target enzymes	Substrates	Applications
Hydrolases	Starch	Food
Hydrolases	Small molecules	Chemical synthesis
Transferases	Polysaccharides	Chemical synthesis
Oxidoreductases	Small molecules	Chemical synthesis
Aldolases	Small molecules	Chemical synthesis

included food, medical uses and very importantly chemical synthesis (see *table* above).

Still, the spectrum and variety of enzyme classes offers a tremendous source for discovery of improved versions of enzymes with known function and for discovering completely novel enzymes. However, the production cost of enzymes and their limited availability in industrial quantities are real bottle-necks for expanding their industrial application. Progress in the understanding of the molecular mechanism of enzyme actions will be crucial to move the science of synthesis towards more complex target molecules. Demonstration activities are important to fill the gap between lab and scaled-up production. In turn, innovation-related activities such as standardisation and labelling, policy driven innovation (e.g. REACH), as well as assistance for the better use of public procurement for biobased products, will help bridging the gap from the bench to the market.

The optimisation of microbial metabolism for the production of chemical and pharmaceutical intermediates has been covered by a number of projects and opens new avenues for new functionalities and applications. Selected microorganisms are e.g. *P. pastoris*, *S. cerevisiae*, the unconventional yeast *C. bombicola*, etc. The target compounds include some that are "new-to-nature", such as new biosurfactants and novel poly-unsaturated fatty acids. The industrial demand for robust and flexible microorganisms capable of processing complex feedstocks (waste, C5/C6, inhibitors, etc.) is growing. Fulfilling the goal of producing an increasing number of chemical products in a single step will also require the availability of new or improved industrial hosts. Microbial stress under industrial conditions, pH, temperature, presence of toxic compounds, solvents, etc., is a determining factor to overcome the current technological limitations.

The production of chemical building blocks has been approached through the use of biotechnological tools and through a multidisciplinary approach such as the Biorefinery Joint Call in 2009. In addition, priority has been given to the

development of biopolymers, which are a family of compounds with high prospects and that can have also applications in bulk production.

## Industrial biotechnology at the crossroad of biotechnologies

The development of industrial biotechnologies also encompasses the strengthening of the knowledge base and development of advanced technologies for terrestrial and marine biomass production for applications in the biobased industrial processes. This research includes plant, animal and microbial "omics" tools to improve the productivity and composition of raw materials to be used as biomass feedstocks or for the optimised conversion to high added-value products.

In this context in recent years there has been a rapid increase in the inventory of marine products and genes of commercial interest derived from bioprospecting efforts. The rapid growth in human appropriation of marine genetic resources with over 18,000 natural products and 4,900 patents associated with genes of marine organisms, the latter growing at 12% per year, illustrates that the use of marine bioresources for industrial biotechnological applications is no longer a vision but a growing source of business opportunities. Marine bioresources are increasingly recognised as an important source of enzymes, biopolymers, biomaterials, biochemicals, pharmaceuticals, neutraceuticals, care products and food additives (e.g. colorants).

The concept of the biotechnology based industrial processes also implies environmental sustainability. Industrial biotechnology can provide solutions to acute environmental problems ranging from the identification and detection of bio-hazard to bioremediation techniques. Previous research in this area has shown the great potential of environmental biotechnology based products and processes to more efficiently remove pollution and more accurately monitor specific contaminants than many conventional methods. However, while good progress has been made in understanding the principles behind these environmental applications, the practical use of this know-how for final industrial products remains to be further developed.

European industry also needs to lay the foundations to stay at the front line of innovation, in the medium and long terms. Thus, the importance of the development of emerging tools such as synthetic biology, bioinformatics, systems biology and exploiting the convergence with other enabling technologies such as nanotechnology (e.g. bionanotechnology) and ICT (information and communication technologies, e.g. bioelectronics). These and other cutting-edge fields have been at the core of FP7 biotechnologies research and innovation.

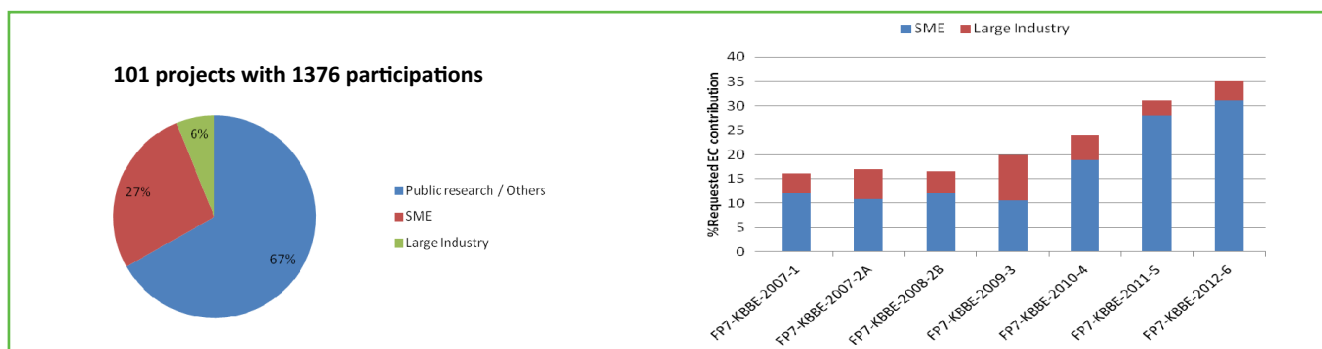


Figure 2 - Private sector participation in % of EC contribution in FP7 projects under KBBE's activity 2.3: Biotechnologies (7 calls).

## Social acceptance of biotechnology in the European Union

To be successful, biotechnology, as any new technology, needs to be accepted by society in order to penetrate in the socio-economic tissue. Many products and biotechnology derived processes are already present in our lives (see above). However, any new technology raises questions about its expected benefits and its potential dangers. Biotechnology is not an exception. Whereas medical or environmental applications of biotechnology are generally welcomed, others such as the food applications, in particular the use of genetically modified organisms (GMOs) is still perceived with caution by a large sector of the European population. A summary of the results stemming from the projects funded by the European Commission on biosafety and risk assessment of GMOs for over thirty years can be found in reference [13]. The main conclusion is that GMOs are not *per se* more risky than conventional plant breeding technologies.

Public opinion in democratic societies has important and sometimes crucial influence on policy decisions. Policy makers need on one hand to have solid scientific evidence on which to base their policy decisions and on the other hand they also need precise and timely instruments to assess opinion on subjects of public interest, such as biotechnology [12].

*The European Commission is following since 1990 the public opinion and perception of Europeans in relation to biotechnology, through the so-called Eurobarometers. The last one took place in 2010 [18]. The main results indicate that whilst an overall majority of Europeans are in favour of biotechnology, the opinion is less favourable with respect to the applications of GMOs to human food. Only 27% were in favour, 57% were against GMO food and 16% did not have an opinion. These results have been fairly constant since the Eurobarometer surveys started more than twenty years ago.*

The European Union is particularly attentive that investment in research and innovation are seen as engines for future growth and development and that the proper regulatory environment should help do so in a responsible and acceptable manner.

## Transition from FP7 towards Horizon 2020

Following the launching of Europe 2020's agenda [19] and its flagship initiative "Innovation Union" [20], biotechnology has been in the last two years of FP7 (2012 and 2013) gradually shifting the focus towards a much closer link between research and innovation. Projects are expected to be industry driven and include a substantial share of demonstration activities aimed at achieving proofs-of-concept stage. The participation within the consortia of end-users is of paramount importance to facilitate knowledge transfer actions. The biotech industry, with a large component of SMEs, is therefore envisaged to be at the core of the innovation cycle. A key aspect in the transition towards a more intense deployment of this approach is to increase the awareness of biotechnology's potential in chemical and chemistry-utilising sectors to facilitate the expansion of biotechnology in the bioeconomy.

In the last FP7 calls, a much higher emphasis is made on industry, and in particular on SME participation, requiring that a given percentage of the budget of the project proposals

should be earmarked to SMEs. The results of the 2011 and 2012 calls showed that more than one third of the selected partners are SMEs and medium or large companies. In terms of budget appropriations, the percentages are around 30% for SMEs and around 6% for medium or large companies (see figure 2 p. 71). The idea being to couple research, in which Europe excels in basic and fundamental research, with innovation, where Europe needs to strengthen its dynamism. Our societies are in a need to bring the research results into concrete practical applications, or said in other words, link the ability to discover with the ability to exploit the results, either as products or processes [21].

Based on the positive feedback from the proposers on the industrial participation, the Commission decided for the 2013 biotechnology call for proposals, the last one of Framework Programme 7, to include a large number of topics and consequently of the available budget to demonstration projects on biotechnology. Demonstration projects have the aim to prove the techno-economic feasibility of a research idea. Ideally, demonstration projects should allow managers to take sound informed decisions on, either go towards a full industrial production, or on the contrary stop the project. These demonstration projects are expected to help to cross the "death valley of innovation", that is to say, the gap between fundamental research and industrial exploitation. Biotechnology, and in particular industrial biotechnology must accelerate the change from a fossil-based supply chain to a biobased raw material supply chain [22-23] to respond to the socio-economic expectations.

## Industrial biotechnology as a key enabling technology

In Horizon 2020, biotechnology has been identified as one of the key enabling technology (KET) under the pillar for "Competitive Industries". In its communication on the European strategy for KETs, the European Commission outlines their role for enhanced growth and jobs in the EU [24] and develops an integrated strategy for research and innovation financing. The specific objective of biotechnology research and innovation is to develop competitive, sustainable and innovative industrial products and processes and contribute as an innovation driver in a number of European sectors like agriculture, food, chemical and health. A strong scientific, technological and innovation base in biotechnology are badly needed to support European industries in securing leadership in this key enabling technology. This position will be further strengthened by integrating the safety assessment and management aspects of the overall risks in the deployment of biotechnology. The foreseen activities go along three converging axes:

### *Boosting cutting-edge biotechnologies as future innovation drivers*

The objective is to lay the foundations for the European industry to stay at the front line of innovation, also in the medium and long terms. It encompasses the development of emerging tools such as synthetic biology, bioinformatics, systems biology and exploiting the convergence with other enabling technologies such as nanotechnology (e.g. bionanotechnology) and ICT (e.g. bioelectronics). These and other cutting-edge fields deserve appropriate measures in terms of research and development to facilitate effective transfer and implementation into new applications (drug delivery systems, biosensors, biochips, etc).



© Andrei Merkulov-Fotolia.

### Biotechnology-based industrial processes

The objective is twofold: on the one hand, enabling the European industry (e.g. chemical, health, mining, energy, pulp and paper, textile, starch, food processing) to develop new products and processes meeting industrial and societal demands, and competitive and enhanced biotechnology-based alternatives to replace established ones; on the other hand, harnessing the potential of biotechnology for detecting, monitoring, preventing and removing pollution. It includes research and innovation activities on enzymatic and metabolic pathways, bio-processes design, advanced fermentation, up- and down-stream processing and gaining insight on the dynamics of microbial communities. It will also encompass the development of prototypes for assessing the techno-economic feasibility of the developed products and processes.

### Innovative and competitive platform technologies

The objective is to develop platform technologies (e.g. genomics, meta-genomics, proteomics, molecular tools) triggering leadership and competitive advantage on a wide number of economic sectors. It includes aspects, such as underpinning the development of bio-resources with optimised properties and applications beyond conventional alternatives; enabling exploration, understanding and exploitation in a sustainable manner of terrestrial and marine biodiversity for novel applications; and sustaining the development of biotechnology-based healthcare solutions (e.g. diagnostics, biologicals, bio-medical devices).

In addition, the importance of biotechnology for the European economy and society has been recognised in the Commission proposal for Horizon 2020 by including biotechnology research and innovation activities in its other two pillars namely “Excellence in Science base”, ensuring the solid scientific base for Europe and under the pillar for a “Better Society”.

Indeed, research and innovation activities applying biotechnology can be found in the societal challenges identified under the pillar for a “Better Society”, for example under the “Health, demographic change and wellbeing challenge” where biotechnology activities will range from basic genomics to the support of personalised medicine. As well under the challenge “Food security, sustainable agriculture, marine and maritime research and the bio-economy” where biotechnology will support the development of sustainable approaches for primary production and new processes and products from biobased industries.

The author thanks Drs María Fernández, Garbiñe Guiu and Barend Verachtert, at the Biotechnology Unit, European Commission, for their extensive, fruitful discussions and critical reading of the manuscript.

### References

- [1] Lerner P.I., Producing penicillin, *N. Engl. J. Med.*, **2004**, 351, p. 524.
- [2] Leuchtenberger W., Huthmacher K., Drauz K., Biotechnological production of amino acids and derivatives: current status and prospects, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **2005**, 69, p. 1.
- [3] OCDE, *Future Prospects for Industrial Biotechnology*, OCDE Publishing, Paris, **2011** (<http://dx.doi.org/10.1787/9789264126633-en>).
- [4] Bang J.K., Follér A., Buttazzoni M., Industrial biotechnology. More than green fuel in a dirty economy?, WWF, Denmark, **2009**.
- [5] *Current situation of key enabling technologies in Europe*, **2009**, [http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/ict/files/staff\\_working\\_document\\_sec512\\_key\\_enabling\\_technologies\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/enterprise/sectors/ict/files/staff_working_document_sec512_key_enabling_technologies_en.pdf).
- [6] OECD, *The Bioeconomy to 2030, designing a policy agenda*, OECD Publishing, Paris, **2009**.
- [7] Aguilar A., The key action cell factory, an initiative from the European Union, *Internat. Microb.*, **1999**, 2, p. 121.
- [8] *Cell Factory, Community funded projects*, I. Benediktsson (ed.), Vol. 1 et 2, European Communities, Luxembourg, **2002**.
- [9] European Union, Decision n° 1982/2006/EC of the European Parliament and the Council of 18 December 2006 concerning the Seventh Framework Programme of the European Community for Research, Technological Development and Demonstration Activities (2007-2013), *Official Journal of the European Union*, 30.12.2006, L412.
- [10] European Commission, *Proposal for a Regulation of the European Parliament and of the Council establishing Horizon 2020 – The Framework Programme for Research and Innovation (2014-2020)*, COM(2011)809 final, Brussels, **2011**.
- [11] Cichocka D., Claxton J., Economidis I., Venturi P., Aguilar A., A European Union research and innovation perspectives on biotechnology, *J. Biotechnol.*, **2011**, 156, p. 382.
- [12] Aguilar A., Magnien E., Thomas D., Thirty years of European biotechnology programmes: from biomolecular engineering to the bioeconomy, *New Biotechnol.*, **2013** (<http://dx.doi.org/10.1016/j.nbt.2012.11.014>, sous presse).
- [13] Aguilar A., Cichocka D., Högel J., Venturi P., Economidis I., Biotechnology research for innovation and sustainability in agriculture in the European Union, *Successful Agricultural Innovation in emerging Economies*, D.J. Bennet, R.C. Jennins (eds.), Cambridge University Press, **2013**, p. 283-297.
- [14] Aguilar A., Bochereau L., Matthiessen L., Biotechnology and sustainability: the role of transatlantic cooperation in research and innovation, *Trends Biotechnol.*, **2008**, 26, p. 163.
- [15] OECD, Industry structure and business models for industrial biotechnology, *OECD workshop on “Outlook of Industrial Biotechnology”*, Paris, **2009**.
- [16] McFall-Ngai M., De Lorenzo V., The ultimate rendez-vous: microbial ecology meets industrial biotechnology, *Curr. Opin. Microbiol.*, **2007**, 10, p. 205.
- [17] CEFIC, Cefic discussion paper on renewable feedstock for the chemical industry, ambition and reality, **2010** ([www.cefic.org](http://www.cefic.org)).
- [18] European Commission, *Europeans and Biotechnology 2010. Winds of change?*, Luxembourg, **2010**.
- [19] European Commission, *Europe 2020, a strategy for smart, sustainable and inclusive growth*, Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions. Brussels, COM(2010)2020 final, **2010**.
- [20] European Commission, *Europe 2020 flagship initiative innovation union*, Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions. Brussels, COM(2010)546 final, **2010**.
- [21] European Commission, *Innovation Union Scoreboard 2011*, Brussels, **2012**.
- [22] Wohlgemuth R., The locks and keys to industrial biotechnology, *New Biotechnology*, **2009**, 25, p. 204.
- [23] Wohlgemuth R., Industrial biotechnology – past, present and future, *New Biotechnology*, **2012**, 29, p. 165.
- [24] European Commission, *A European strategy for Key Enabling Technologies – A bridge to growth and jobs*, Communication from the Commission to the European Parliament, the Council, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions., Brussels, COM(2012)341 final, **2012**.



Until the end of 2012, Head of Biotechnologies Unit, **Alfredo Aguilar** is Chairman “Task Force Bioeconomy”, at the European Federation of Biotechnology\*.

\* Biotechnologies Unit, Directorate for Biotechnologies, Agriculture and Food, Directorate General Research, European Commission, B-1049 Brussels (Belgium). Email: [Alfredo.Aguilar@efb-central.org](mailto:Alfredo.Aguilar@efb-central.org) [www.efb-central.org](http://www.efb-central.org)

Il est toujours intéressant de pouvoir suivre, sur la base de documents irréfutables, et en temps réel, comment la compréhension des mécanismes d'apparition d'une pathologie largement répandue, le diabète de type 2, peut conduire à la conception d'un nouveau médicament. Plus intéressant encore, est de suivre comment un industriel se saisit du concept, le traduit en synthèse chimique, et surtout, comment les contraintes inhérentes au processus amènent à faire évoluer cette synthèse jusqu'à aboutir à une autorisation de mise sur le marché dans des conditions respectueuses de l'environnement et économiquement acceptables.

Ce processus, souvent évoqué et rarement décrit, est en soi porteur d'innovations scientifiques comme le montre le dossier qui suit. En effet, optimiser une suite de réactions est plus qu'une œuvre de « tâcheron ». Plus qu'améliorer un processus, un procédé, il faut innover, ce qui exige culture, imagination, créativité, et la capacité à se remettre en cause.

Cette étude est exemplaire à un autre titre. En effet, dans un contexte où les scandales, savamment orchestrés, occultent les mises en perspective, voire les mises en garde, raisonnables, il est important qu'au moins les scientifiques, éventuellement futurs patients, soient clairement informés. À titre d'exemple, les statines, abusivement prescrites sans nécessité contre le « cholestérol », présentent des risques bien connus. Les refuser sans nuance risque d'entraîner de sérieux problèmes sanitaires si la peur et le rejet s'installent dans la population, comme cela a été le cas récemment avec la vaccination.

Le traitement du diabète de type 2, dont sont atteints environ 2,7 millions de personnes en France (soit 4,6 % de la population), pose lui aussi des questions : jusqu'à quel niveau faut-il faire baisser l'hyperglycémie ? Et dans quel ordre introduire les différents antidiabétiques ?

Mercredi 13 février dernier, la Haute Autorité de Santé (HAS) et l'Agence nationale de sécurité du médicament (ANSM) ont publié leurs nouvelles recommandations, destinées aux professionnels de santé, mais également au grand public (vidéo), accessibles sur le site de l'HAS, rappelant le caractère éminemment individuel de la maladie et de sa prise en charge. Ainsi, l'objectif glycémique cible sera adapté par le médecin au profil du patient et évoluera donc au cours du temps. Les mesures hygiéno-diététiques simples doivent être à la base de toute prise en charge (alimentation saine et équilibrée et pratique régulière d'une activité physique ou sportive, même modérée). Le traitement de première intention devra s'appuyer sur les médicaments connus comme la metformine. Une bi-, voire une trithérapie pourra être envisagée sur la base d'une association de metformine et de sulfamide hypoglycémiant. L'insuline reste le traitement de choix lorsque les traitements oraux et non insuliniques ne permettent pas d'atteindre l'objectif glycémique. Les autres traitements seront réservés aux situations dans lesquelles les traitements recommandés en première intention ne peuvent pas être prescrits. Ainsi, le recours aux incrétines est toujours d'actualité, en attendant les résultats des études en cours mesurant leur impact sur la morbi-mortalité cardiovasculaire.

Rose Agnès Jacquesy

# Dipeptidyl peptidase-4 et Januvia<sup>®</sup> : un duo gagnant contre le diabète de type 2

William Erb et Nacim Abermil

**Résumé** La sitagliptine, commercialisée sous l'appellation Januvia<sup>®</sup>, est le premier traitement du diabète de type 2 visant une nouvelle cible thérapeutique : l'enzyme dipeptidyl peptidase-4. Si son efficacité a permis d'améliorer le confort de vie de nombreux patients, son histoire est particulièrement intéressante et riche d'enseignements. Cet article revient sur la découverte de cette molécule et sur les étapes marquantes de son développement.

**Mots-clés** Sitagliptine, Januvia<sup>®</sup>, diabète, dipeptidyl peptidase-4, DPP-4, chimie médicinale, chimie enzymatique, développement de procédés.

**Abstract** **Dipeptidyl peptidase-4 and Januvia<sup>®</sup>: one winning duo against diabetes mellitus**  
Sitagliptin, better known under its trade name Januvia<sup>®</sup>, is the first treatment against diabetes mellitus type 2 to be approved against a new target: the dipeptidyl peptidase 4 enzyme. As a highly potent inhibitor of this enzyme, this treatment helps thousands of patients all around the world. Its history is of particular interest and rich in lessons. This review recalls the story of sitagliptin, its mode of action and the different steps of its commercial manufacturing.

**Keywords** Sitagliptin, Januvia<sup>®</sup>, diabetes mellitus, dipeptidyl peptidase 4, DPP-4, medicinal chemistry, enzymatic reactions, process development.

Faites le test d'employer dans une même phrase les mots « sucre » et « maladie ». L'une des premières associations qui viendra à l'esprit de votre interlocuteur sera probablement diabète (ou carie si vous vous adressez à un dentiste). Et pour cause, car cette maladie, particulièrement répandue dans les pays développés, est justement caractérisée par une mauvaise régulation du taux de sucre dans le corps. Si nous avons tous en tête les injections d'insuline en tant que traitement, cette solution ne s'applique cependant pas à tous les patients et d'autres approches thérapeutiques ont été développées. La sitagliptine s'inscrit dans cette optique et agit selon un nouveau mode d'action. Nous vous proposons ici de revenir sur le diabète, ses causes et effets, et comment la compréhension des mécanismes moléculaires de la maladie a permis l'identification d'un nouveau traitement. Par la suite, nous verrons les différentes phases du développement commercial de la sitagliptine et comment les chimistes ont, par évolutions successives, développé un procédé de synthèse propre et efficace.

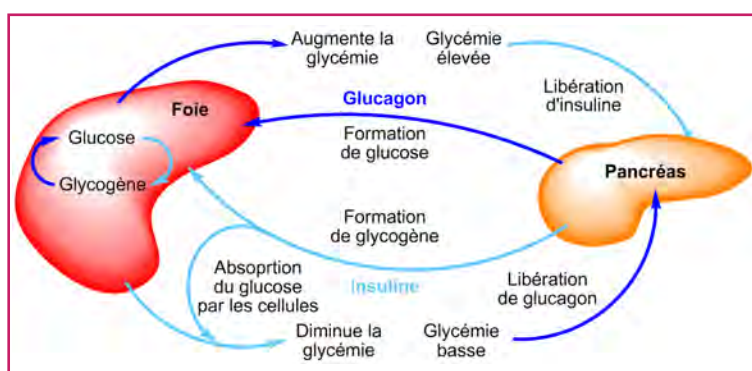


Figure 1 - Mécanisme de régulation de la glycémie.

## La glycémie : régulation et dérégulation

En temps normal, la glycémie (taux de glucose dans le sang) à jeun chez l'Homme est comprise entre 0,7 et 1,0 g/L, taux variant en fonction de l'activité du sujet. Pour éviter l'hypo- et l'hyperglycémie, le corps possède un système de régulation faisant notamment intervenir le foie, le pancréas, le glucagon et l'insuline (deux hormones produites respectivement par les cellules  $\alpha$  et  $\beta$  des îlots de Langerhans dans le pancréas) [1]. Lorsque la glycémie baisse, les cellules  $\alpha$  relarguent du glucagon qui va alors activer la production de glucose à partir de glycogène (la glycogénolyse) et la glycémie remonte (figure 1). Lorsque la glycémie augmente, les cellules  $\beta$  vont émettre de l'insuline, qui va favoriser la glycogénogenèse (formation de glycogène à partir de glucose), diminuer la glycogénolyse et favoriser l'absorption du glucose sanguin par les cellules. Ces trois mécanismes combinés induisent le retour à la normale de la glycémie.

Le dysfonctionnement du système de régulation de la glycémie constitue une maladie, le diabète, qui peut se présenter sous différentes formes, les plus communes étant le diabète insulino-dépendant (type 1), et le diabète non insulino-dépendant (type 2). Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune aboutissant à la destruction des cellules  $\beta$ . Le patient diabétique doit alors recourir à des injections d'insuline plusieurs fois par jour de façon à maintenir sa glycémie à un niveau acceptable. Le diabète de type 2 est quant à lui

caractérisé par une résistance de l'organisme à l'insuline. Si cette hormone est toujours produite par le pancréas, son taux normal n'est alors plus suffisant pour contrôler la production/stockage du glucose par le foie et favoriser son absorption par les cellules. Les causes de cette résistance restent encore mal comprises. Il a cependant été prouvé que des métabolites d'acides gras ou d'adipokines (médiateurs chimiques produits par le tissu adipeux) pouvaient jouer un rôle dans la dérégulation des cascades enzymatiques induites par l'insuline [2-3]. L'inactivation de cette dernière par réaction avec le méthylglyoxal a également été évoquée [4].

Le traitement de première intention du diabète de type 2 consiste en un régime amaigrissant associé à une activité physique régulière. Si ces mesures s'avèrent insuffisantes, la prise d'antidiabétiques peut être envisagée. Il en existe plusieurs classes, différenciées par leurs structures et modes d'action (figure 2). Les sulfonylurées et glinides (glipizide et répaglinide) agissent en augmentant la libération d'insuline par le pancréas, tandis que les biguanides (metformine) diminuent la résistance à l'insuline et la néoglucogenèse hépatique. Les thiazolidinediones (pioglitazone ou rosiglitazone) augmentent la sensibilité des cellules à l'insuline. Il est également possible d'employer des inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase (miglitol), une enzyme qui libère le glucose à partir des chaînes polysaccharidiques. Enfin, une dernière classe de molécules agit sur une nouvelle cible thérapeutique : les incrétines.

## Les incrétines

Il est connu que la sécrétion d'insuline est plus importante lorsque du glucose est ingéré plutôt qu'injecté par voie intraveineuse, ce qui laisse supposer un mécanisme de régulation plus complexe que celui évoqué précédemment, impliquant le système digestif. Une nouvelle classe d'hormones entre alors en jeu : les incrétines, qui regroupent le GIP et le GLP-1, découvertes respectivement dans les années 1970 et 80 [5]. Le GIP (« glucose-dépendant insulino-tropic polypeptide »), un peptide composé d'une séquence de 42 acides aminés, est produit dans le duodénum et le jéjunum. Ce sont en revanche des cellules de l'intestin grêle et du côlon ascendant qui produisent le GLP-1 (« glucagon-like peptide-1 »). Ces hormones peptidiques sont produites en réponse à l'ingestion de nutriments et sont responsables, *via* divers mécanismes, de « l'effet incrétine » (tableau 1 p. 76).

Comme pour la plupart des régulateurs biologiques, un système de dégradation de ces hormones existe, mettant en jeu une enzyme : la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). Cette

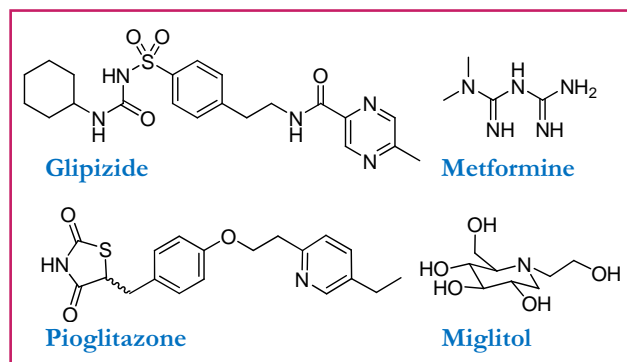


Figure 2 - Molécules employées en traitement du diabète de type 2.

Tableau I - Les effets biologiques des incrétines.

Effet	GIP	GLP-1
Sécrétion d'insuline	↑	↑
Synthèse d'insuline	↑	↑
Sécrétion de glucagon	↑	↓ (indirect)
Prolifération des cellules β	↑	↑
Apoptose des cellules β	↓	↓
Satiété	-	↑
Absorption de glucose par les muscles	-	↑
Production de glucose par le foie	↓ (indirect)	↓ (indirect)

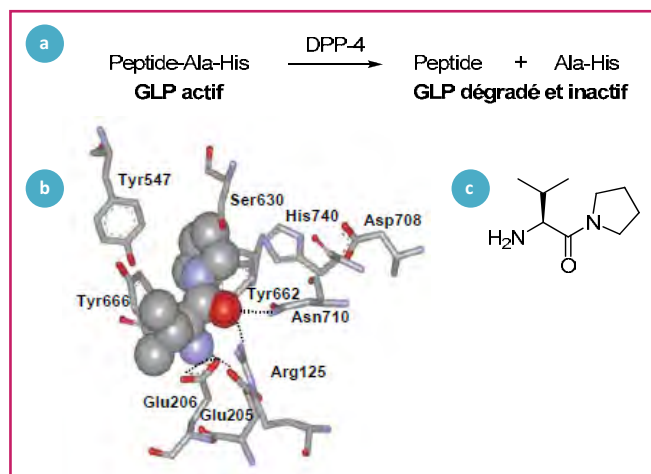


Figure 3 - a) Action de la DPP-4 ; b) Site actif de la DPP-4 incorporant l'inhibiteur ; c) Inhibiteur de la DPP-4.

Reprinted with permission from Macmillan Publishers Ltd: *Nat. Struct. Biol.*, 2002, 10, p. 7. Copyright 2002.

enzyme particulièrement active va cliver les peptides GLP au niveau du motif alanine en position 2, limitant alors leur durée de demi-vie à environ deux minutes (figure 3a). D'un point de vue structurel, le site actif de la DPP-4 contient une triade sérine-asparagine-histidine (Ser630-Asp708-His740) responsable de l'action hydrolytique de l'enzyme, tandis que des résidus tyrosines, valines et tryptamines composent une poche hydrophobique (S1) d'une grande spécificité pour des structures de type proline [6] (figure 3b).

En raison de leur rôle dans la régulation de la glycémie, ces hormones et la DPP-4 ont attiré l'attention des scientifiques pour le développement de nouveaux traitements du diabète de type 2 [7]. Deux approches thérapeutiques ont été envisagées : l'emploi de peptides mimant l'action du GLP-1 mais non dégradables par la DPP-4 (exenatide, liraglutide) [8] et l'inhibition de la DPP-4. Dans ce dernier cas, l'enzyme inactivée ne peut dégrader le GLP-1, alors libre d'exercer son rôle de régulateur de la glycémie de façon prolongée [9]. En fonction de leur structure et de leur mode d'action, il est possible de classer ces inhibiteurs en deux catégories. Les premiers présentent une structure mimant celle du substrat naturel de la DPP-4 (généralement

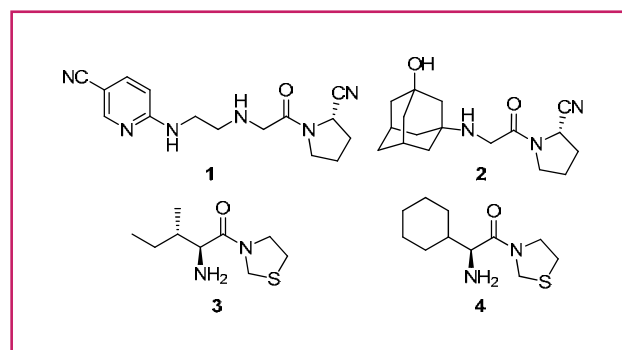


Figure 4 - Inhibiteurs de la DPP-4.

des dérivés d'acides aminés de type proline) et possèdent souvent un groupe capable d'interagir avec le résidu sérine 630 de façon réversible (nitrile, acide boronique) ou non (phosphate). Les seconds présentent des structures diverses ne mimant pas le substrat naturel. La sitagliptine appartient à cette seconde classe.

## La sitagliptine

Initié en 1999, le projet de recherche sur les inhibiteurs de la DPP-4 des laboratoires Merck aboutit en 2004 à la publication de leurs premiers travaux. Notons qu'à cette date, plusieurs molécules mimant le substrat naturel de l'enzyme sont déjà connues, ces dernières incorporant un motif pyrrolidine ou thiazolidine capable d'occuper la poche S1 (figure 4).

Une campagne de criblage à haut débit de la chimiothèque des laboratoires Merck visant à identifier de nouvelles molécules biologiquement actives a montré que le composé **5** possédait une action inhibitrice de la DPP-4 (figure 5) [10]. Bien que d'activité modeste, **5** appartient à

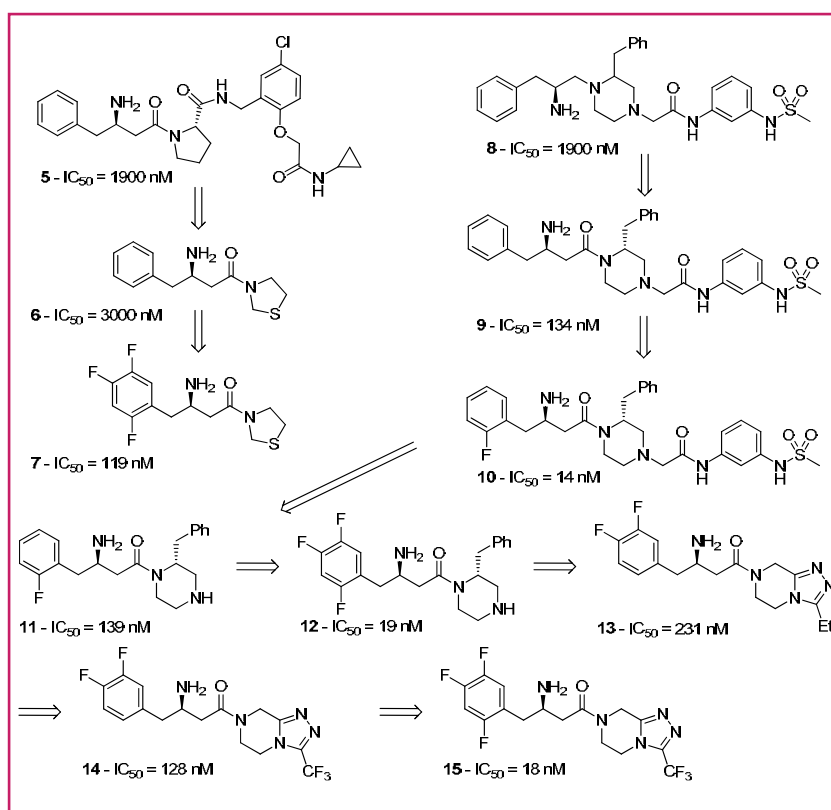


Figure 5 - Optimisation de la sitagliptine.

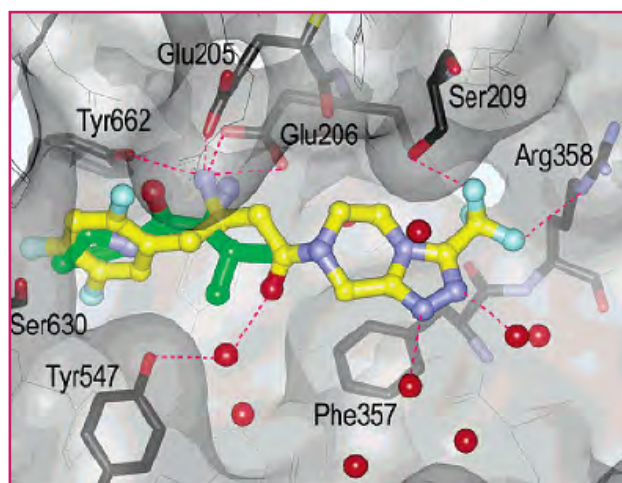


Figure 6 - Interaction de la sitagliptine dans le site actif de la DPP-4. En vert, un analogue du substrat naturel de l'enzyme (Pro-Val). Reprinted with permission from Dooseop K. et coll., *J. Med. Chem.*, 2004, 48, p. 141. Copyright 2004 American Chemical Society.

une nouvelle famille de composés présentant un motif  $\beta$ -aminoamide. Il apparaît rapidement que la partie droite de la molécule peut être remplacée par un cycle thiazolidine sans grande perte d'activité, mais avec une importante simplification structurale (**6**). La variation des substituants sur le cycle aromatique aboutit à **7**, qui possède une bonne bioactivité mais un mauvais profil pharmacocinétique.

Le composé **8** représente la seconde touche du criblage [11]. En se basant sur la structure **6**, le motif  $\beta$ -aminoamide est incorporé à **8** pour former **9**. Cette modification permet un gain d'activité d'un facteur 10 tandis que l'ajout d'un atome de fluor sur le noyau aromatique (**10**) permet de gagner un facteur 10 supplémentaire. La suppression de la partie droite de la molécule et l'introduction de deux atomes de fluor supplémentaires permettent de simplifier la structure tout en gardant une bonne activité biologique avec **12**. La stabilité métabolique est ensuite améliorée en remplaçant le cycle pipérazinile par un motif bicyclique comportant un hétérocycle (**13**) [12]. Finalement, le remplacement du groupe éthyle par un groupe trifluorométhyle et l'ajout d'un atome de fluor en position 2 du cycle aromatique permettent d'accéder à la sitagliptine **15**, particulièrement active et présentant un bon profil pharmacologique.

Un cliché de diffraction de rayons X permet de comprendre les interactions développées par cette molécule dans le site actif de l'enzyme (figure 6). Le groupe tri-2,4,5-fluorophényle occupe la poche hydrophobique S1, tandis que l'amine de configuration (*R*) est impliquée dans quatre liaisons hydrogène avec des résidus tyrosine et glutamate (Tyr662, Glu205, Glu206), expliquant que l'énantiomère (*S*) soit moins actif ( $IC_{50} = 440$  nM). Le groupe trifluorométhyle interagit avec les résidus sérine et arginine (Ser209, Arg358), expliquant ainsi le gain d'activité par rapport au groupe éthyle, et finalement, plusieurs molécules d'eau sont impliquées dans la stabilisation de la sitagliptine dans le site actif. En revanche, cet inhibiteur ne présente pas

d'interaction avec la triade sérine-asparagine-histidine (Ser630, Asp708, His740) responsable de l'action hydrolytique de l'enzyme.

La sitagliptine fait preuve d'un bon profil pharmacocinétique avec une bonne biodisponibilité par voie orale et un temps de demi-vie compris entre 2 et 5 heures en fonction du sujet. Une excellente sélectivité vis-à-vis d'autres peptidases est également observée et est capitale, l'inhibition de ces enzymes étant associée à une toxicité multiviscérale. Les études cliniques en phases II et III ont confirmé les résultats préliminaires obtenus chez les cobayes en permettant un bon contrôle de la glycémie chez les patients souffrant d'un diabète de type 2 [13]. La sitagliptine reçoit donc son autorisation de mise sur le marché en octobre 2006 pour le traitement du diabète de type 2 sous l'appellation Januvia®.

Une fois le principe actif d'un médicament accepté, le laboratoire pharmaceutique doit être en mesure de préparer les quantités de principe actif nécessaires pour satisfaire le marché au travers d'une voie de synthèse dite industrielle. De façon à répondre à un certain nombre d'impératifs (synthèse courte, emploi de solvants de faible dangerosité, réduction des quantités de déchets...), plusieurs générations de synthèses industrielles peuvent se succéder, mettant en jeu des techniques de synthèse de plus en plus innovantes [14]. Nous allons décortiquer ces différentes évolutions, partant de la toute première synthèse médicinale, rapportée en 2004, jusqu'au plus récent développement du procédé, divulgué début 2010.

## La synthèse de chimie médicinale

La synthèse de chimie médicinale débute avec la formation de l' $\alpha$ -aminoester **16** : déprotonation de l'auxiliaire chiral **17** et attaque de l'anion ainsi formé (**18**) sur le bromure de trifluorobenzyle (figure 7). La présence du groupe isopropyle permet de diriger la réaction de substitution pour former **19** où les substituants sont en *trans* l'un par rapport à l'autre. Une séquence d'hydrolyse, protection de l'amine et saponification permet d'accéder à **20** et la chaîne alkyle est allongée par une

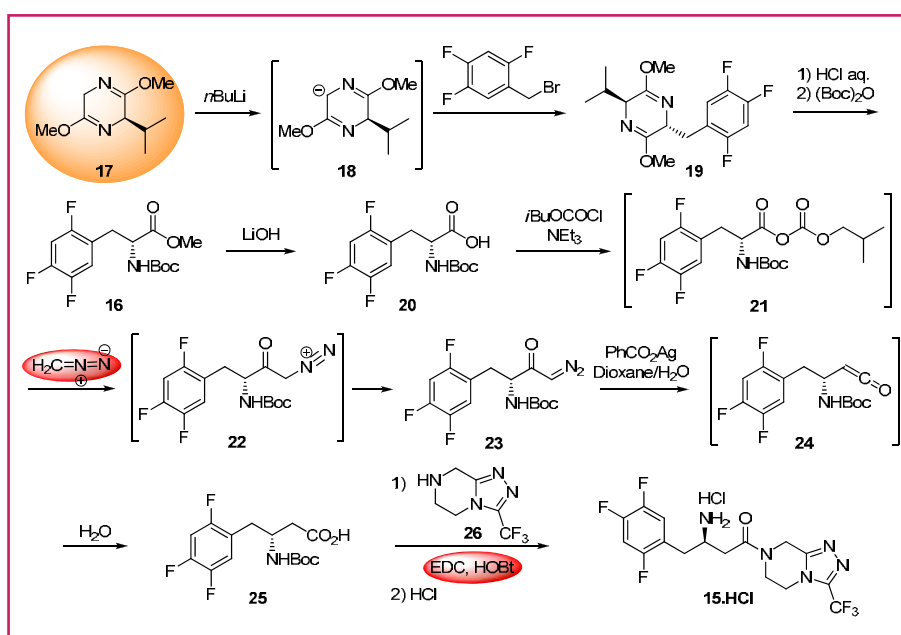


Figure 7 - Synthèse de chimie médicinale.

réaction d'homologation d'Arndt-Eistert. L'acide est activé sous la forme de l'anhydride mixte **21** qui va réagir avec le diazométhane pour donner la diazocétone **23**. En présence d'un sel d'argent, celle-ci subit un réarrangement de Wolf conduisant au cétène **24**, piégé par une molécule d'eau pour former l'acide **25**. Un couplage peptidique avec le triazole **26** réalisé en présence de *N*-(3-diméthylaminopropyl)-*N'*-éthylcarbodiimide hydrochloride (EDC) et d'hydroxybenzotriazole (HOBt) suivi d'une déprotection en milieu acide permet finalement d'isoler l'hydrochlorure de sitagliptine **15.HCl**.

Concernant la synthèse du triazole **26**, la chloropipérazine **27** réagit tout d'abord avec un excès d'hydrate d'hydrazine à chaud pour former **28**, isolé par cristallisation et filtration (figure 8). Une monoacylation par l'anhydride trifluoroacétique permet ensuite d'obtenir **29**. Placé en présence d'acide polyphosphorique (PPA) à 140 °C, une réaction de cyclisation/déshydratation a lieu pour donner **30**, finalement réduit par hydrogénation catalytique en présence de palladium sur charbon. Ce procédé en quatre étapes permet d'isoler **26** avec un rendement global de 23 %, mais souffre de problèmes liés à l'emploi d'un excès d'hydrate d'hydrazine. Le point éclair de ce composé étant de 96 °C, un contrôle rigoureux des conditions réactionnelles est nécessaire afin de limiter les risques d'explosion. De plus, le composé **28** est susceptible de co-cristalliser avec l'hydrazine, générant alors un solide toxique, potentiellement explosif, qui est ici isolé.

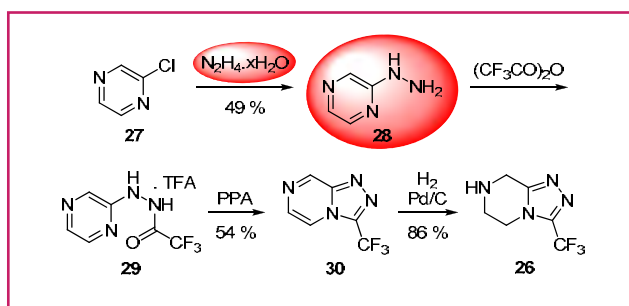


Figure 8 - Formation du triazole **26**.

Si l'approche de chimie médicinale permet de préparer les premiers grammes de sitagliptine pour les essais sur animaux, elle n'est pas transposable à l'échelle industrielle. En effet, bien que l'utilisation d'un auxiliaire chiral permette d'introduire l'amine avec un excellent contrôle diastéréosélectif, sa perte lors du passage de **19** à **16** entraîne une faible économie d'atomes. De plus l'homologation d'Arndt-Eistert met en jeu du diazométhane, à déconseiller en raison de sa toxicité et des risques d'explosion. La synthèse du triazole doit également être modifiée pour limiter les risques d'explosion liés à l'emploi d'hydrate d'hydrazine et à l'isolement de l'intermédiaire **28**.

## La synthèse commerciale

La synthèse commerciale de première génération débute avec la réduction de la fonction cétone de **31** par hydrogénation catalytique énantiosélective en présence d'un complexe de ruthénium (figure 9) [15]. L'ajout d'une quantité catalytique d'acide

bromhydrique (HBr) permet de réduire la charge catalytique à moins de 0,1 % sans perte de rendement ou d'énantiosélectivité, rendant le procédé économiquement plus attractif. L'acide **32** est isolé après saponification avec un rendement de 83 % et un excès énantiomérique (ee) de 94 %. La fonction amine chirale du composé **33** est ensuite introduite en trois étapes : synthèse de l'hydroxamate **34** (couplage peptidique), formation du lactame **35** (réaction de Mitsunobu) et hydrolyse. Un couplage peptidique permet d'accéder à **36**, déprotégé par hydrogénolyse, et un traitement acide conduit finalement au phosphate de sitagliptine **15.H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>**.

Avec un total de huit étapes et un rendement global de 52 % (à partir du β-cétoester **31**), cette synthèse commerciale de première génération permet la préparation des premiers lots de produit pour les études cliniques. Si l'on s'affranchit bien du recours à l'auxiliaire chiral pour introduire le motif β-aminoamide par hydrogénation énantiosélective d'un β-cétoester suivie d'une réaction de Mitsunobu, cette dernière génère cependant une grande quantité de déchets qu'il faut éliminer. La formation de **34** et **36** implique également l'utilisation d'agents de couplage, ce qui va à l'encontre du principe d'économie d'atomes et complique la purification. Le développement d'une nouvelle approche s'avère donc nécessaire.

En parallèle avec le développement de la synthèse de première génération, la voie d'accès au triazole **26** est également améliorée (figure 10a). Désormais, la chloropipérazine **27** est ajoutée à une solution aqueuse d'hydrazine à chaud pour former **28**, extrait par un solvant organique et non plus isolé sous la forme d'un solide toxique et instable. Une double acylation permet ensuite d'obtenir **37** qui, par cyclisation dans le Superphos (une forme hydratée de l'acide polyphosphorique), conduit à **30**. Ce dernier est réduit par hydrogénation et le triazole est finalement isolé sous forme de l'hydrochlorure **26.HCl**. Cette nouvelle synthèse présente donc un certain nombre d'avantages par rapport à la chimie médicinale. L'emploi d'une solution aqueuse d'hydrazine (ne présentant pas de point éclair) permet de limiter les risques d'explosion, tandis que l'intermédiaire toxique **28** n'est plus isolé mais gardé en solution. Sa formation reste cependant délicate, des études calorimétriques ayant montré la présence d'un exotherme à 85 °C. La réaction se déroulant à 65 °C, des précautions particulières doivent être prises pour éviter toute élévation incontrôlée de la température et

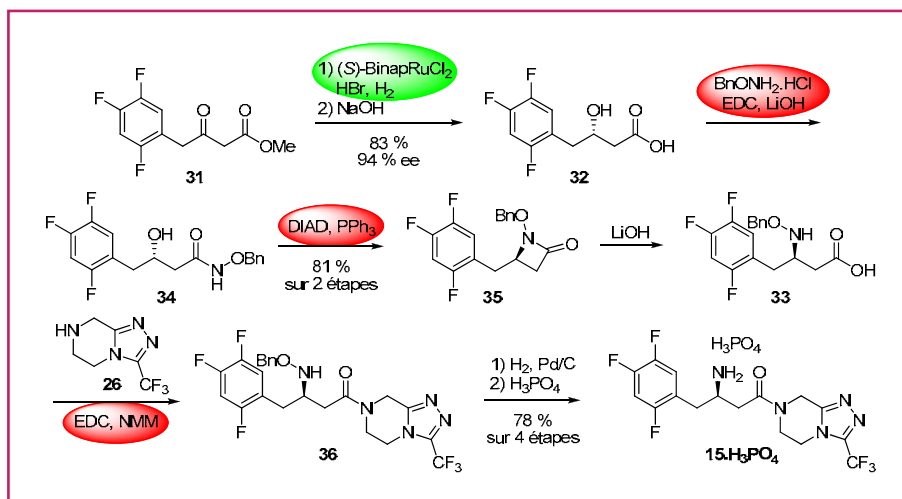


Figure 9 - Synthèse commerciale de première génération.



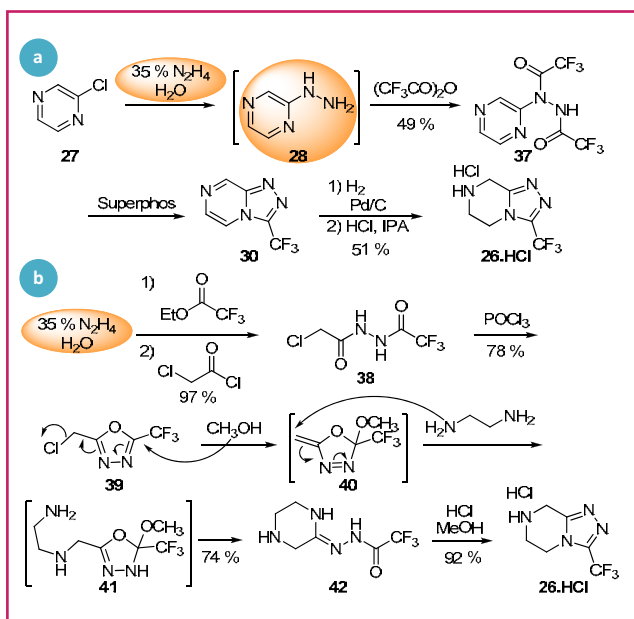


Figure 10 - Synthèses du triazole 26.HCl.

l'emballage de la réaction. Une nouvelle approche est alors envisagée (figure 10b). Dans un premier temps, l'hydrazine en solution aqueuse réagit séquentiellement avec le trifluoroacétate d'éthyle et le chlorure de chloroacétyle pour former le bishydrazide **38**, déshydraté par l'oxychlorure de phosphore pour conduire à l'oxadiazole **39** [16]. Sa réaction avec le méthanol permet d'accéder à l'intermédiaire **40** sur lequel s'additionne l'éthylènediamine pour donner **41**. L'attaque intramoléculaire de la seconde amine permet l'ouverture du cycle et mène à **42**. En présence de HCl dans le méthanol, la cyclisation/déshydratation a finalement lieu pour former directement le sel du triazole **26.HCl**.

Cette nouvelle synthèse permet d'accéder au triazole attendu avec un rendement global doublé (54 %) et présente plusieurs avantages par rapport aux approches précédentes. La solution aqueuse d'hydrazine est le réactif limitant lors de la formation de **38**, impliquant sa consommation totale et donc l'absence de déchet d'hydrazine à traiter. L'ensemble des réactifs est bon marché et si le nombre d'étapes est le même que précédemment, le nombre d'opérations est réduit (un traitement aqueux au lieu de deux, un échange de solvant au lieu de trois), conduisant à un bien meilleur facteur environnemental (68 au lieu de 373) [17].

La synthèse commerciale de première génération mettait en jeu l'hydrogénation asymétrique d'un  $\beta$ -cétoster pour former le  $\beta$ -hydroxyester chiral **32**, par la suite transformé en amine. Une approche plus efficace serait de former directement cette amine par la réduction asymétrique d'un motif adéquat, tel un  $\beta$ -énamo amide (facilement accessible par réaction d'un  $\beta$ -cétoster avec l'acétate d'ammonium) [18]. Dans un premier temps, une voie d'accès rapide à **43**, précurseur de l'hydrogénation catalytique, doit être développée (figure 11) [19]. Afin de ne pas utiliser d'agents de couplage, les chercheurs décident d'employer l'acide de Meldrum : bon agent acylant, il est facilement décarboxylable et permet la formation d'amides dans des conditions douces. Tout d'abord, l'acide **44** est converti en son anhydride mixte par réaction avec le chlorure de pivaloyle en présence d'un excès de base. L'anhydride réagit alors *in situ* avec l'acide de Meldrum pour former l'adduit **45**, stable en solution

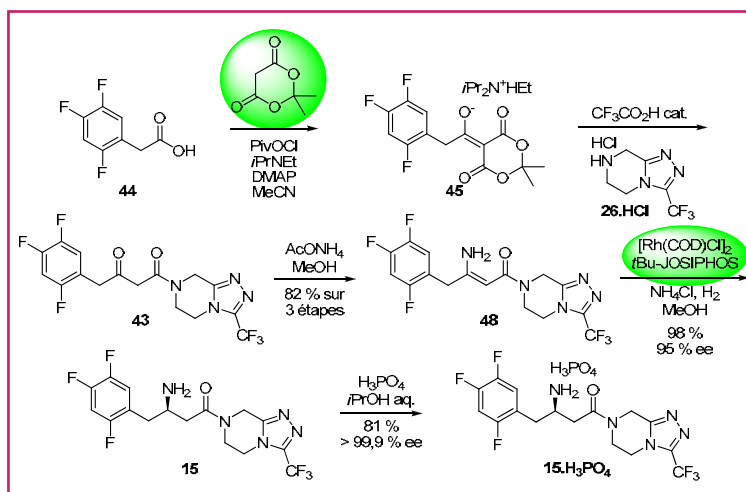


Figure 11 - Synthèse commerciale de seconde génération.

sous sa forme énolate. Ce dernier ne pouvant être isolé, il est envisagé d'enchaîner directement l'étape de formation de l'amide **43**.

Les premiers essais révèlent que s'il est possible d'ajouter directement le sel du triazole **26.HCl** à la solution de **45**, la séquence décarboxylation/formation de l'amide est lente avec une conversion plafonnant à 80 %. En revanche, la diminution de la quantité de base initialement introduite de 3,0 à 2,1 équivalents permet à la décarboxylation d'atteindre 97 % de conversion à 70 °C. La séquence s'avère donc particulièrement sensible à la quantité de base introduite. En présence de moins de 1,9 éq. de base, la formation de l'adduit **45** est lente et souffre de mauvais rendement, tandis que la décarboxylation est rapide. En revanche, si l'emploi de plus de 2,2 éq. de base permet de former **45** avec un excellent rendement, la décarboxylation est ralentie et n'atteint jamais un bon taux de conversion.

La solution consiste à employer un excès de base lors de la formation de **45** et à ajouter 0,3 éq. d'acide trifluoroacétique juste avant celle de **43**. Le pH du milieu réactionnel est alors suffisamment abaissé pour engager la décarboxylation en transformant seulement une faible quantité de **45** en son énol instable **46** (figure 12). Ce dernier subit une réaction de décarboxylation conduisant au cétène **47** avec libération de  $CO_2$  et d'acétone [20]. Le cétène réagit avec **26** pour former l'amide **43** tout en libérant un proton qui va engager un nouveau cycle catalytique. Il est ainsi possible d'obtenir environ 90 % de **43** en solution, et l'ajout d'acétate d'ammonium et de méthanol conduit finalement à l'énamide **48**. Ce procédé

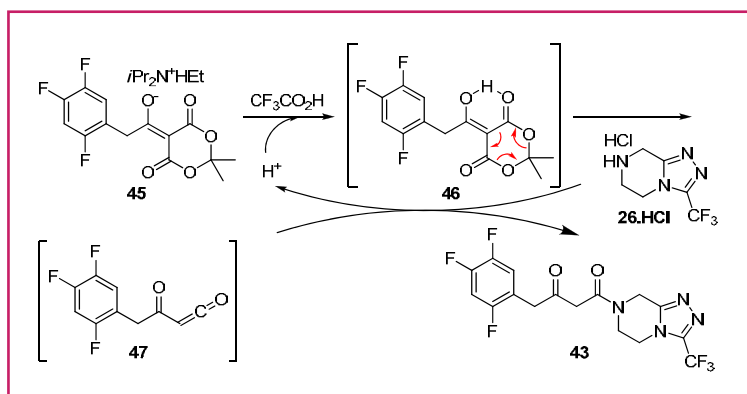


Figure 12 - Mécanisme de formation de 43.

extrêmement robuste permet ainsi d'isoler **48** directement par filtration du milieu réactionnel avec un rendement global de 82 % sur trois étapes et une excellente pureté (99,6 %).

L'énamide **48** est ensuite engagé dans l'étape d'hydrogénation asymétrique (collaboration Merck/Solvias, *figure 11*). Une étude extensive des conditions réactionnelles révèle que 5 % du système  $[Rh(COD)Cl]_2/tBuJOSIPHOS$  dans le méthanol à 50 °C sous une pression de 7 bar donnent les meilleurs résultats (conversion et énantiosélectivité). Ils s'avèrent cependant peu reproductibles, variant de 82 % à 99 % de conversion pour 89 à 95 % d'excès énantiomérique en fonction des lots d'énamide [21]. L'analyse de différents lots révèle alors des pH variant entre 10,5 et 13,5, les meilleurs résultats lors de l'hydrogénation étant obtenus pour les lots présentant les pH les plus bas. Des expériences de contrôle montrent que ces variations de pH, et donc de résultats, dépendent de la quantité résiduelle de chlorure d'ammonium provenant de la formation de **48**. L'ajout d'une quantité catalytique de chlorure d'ammonium lors de l'hydrogénation permet alors d'assurer la reproductibilité des résultats quel que soit le pH du lot d'énamide. Finalement, de façon à assurer la viabilité du procédé à l'échelle industrielle, la quantité de catalyseur est réduite à 0,15 % en augmentant la pression d'hydrogène à 17 bar sans perte de rendement ou de sélectivité (resp. 98 et 95 %). Après hydrogénation, un absorbant (qui va retenir la quasi-totalité du catalyseur dissous) est ajouté au milieu réactionnel et l'amine **15** est isolée par cristallisation avec un rendement de 84 % et un excès énantiomérique amélioré (> 99,9 %). L'amine est finalement transformée en son phosphate avec un rendement de 81 %. Le passage direct de **43** à **15** par hydrogénation en présence d'un catalyseur à base de ruthénium et de salicylate d'ammonium est également possible avec un rendement de 91 % et 99,5 % de ee [22].

Cette nouvelle route s'avère donc particulièrement efficace et a été développée avec succès à l'échelle industrielle. Ainsi, à partir de l'acide **44**, une suite de trois réactions en un seul pot permet d'accéder à la déhydrositagliptine **48**, isolée par filtration, avec un rendement de 82 % et une excellente pureté. Une hydrogénation asymétrique permet ensuite de former l'amine chirale avec un rendement de 98 % et un ee de 95 % (augmenté à plus de 99,9 % par cristallisation). Le phosphate de sitagliptine **15.H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>** est quant à lui produit avec une excellente pureté et un rendement global de 65 %, tout en s'affranchissant des couplages peptidiques initialement requis. Ces améliorations permettent de plus une importante réduction de la quantité de déchets : là où la synthèse de première génération en générait 250 kilos pour produire 1 kg de sitagliptine, ce nouveau procédé n'en crée plus que 50. En récompense de ces améliorations, l'industrie pharmaceutique décerne à Merck l'ICHEME Award d'AstraZeneca en 2005 et le President Green Chemistry Award en 2006.

Une dernière amélioration, apportée en 2010 par les chercheurs de Merck et de Codexis, est basée sur la synthèse directe de la sitagliptine **15** à partir du  $\beta$ -cétamide **43** en s'affranchissant de l'hydrogénation métallo-catalysée. Ces transformations peuvent en effet présenter plusieurs inconvénients pour l'industrie pharmaceutique : travail à hautes pressions, emploi et recyclage de catalyseurs coûteux

et parfois problèmes de stéréosélectivité nécessitant une recristallisation. Enfin, le respect des taux limites d'impuretés métalliques dans le produit final impose généralement une étape de purification. La synthèse de deuxième génération de la sitagliptine ne fait pas exception et est ainsi impactée par plusieurs des problèmes évoqués. Si le recours à la catalyse organométallique (ou à l'organocatalyse) est souvent l'un des premiers choix du chimiste pour effectuer des transformations asymétriques, la biocatalyse doit également être considérée avec intérêt [23]. Les rendements et sélectivités peuvent en effet être excellents et de nombreuses entreprises ont ainsi recours à des enzymes dans des procédés industriels [17, 24]. Cependant, le point fort des enzymes peut également s'avérer être l'un de leurs grands défauts : la sélectivité. Il est en effet possible qu'il n'existe aucune enzyme pour catalyser une réaction sur un substrat précis et il faut alors avoir recours à l'ingénierie d'enzymes. Il s'agit de modifier leur structure afin de moduler leur activité, par évolution directe, mutagenèse (dirigée ou non), assistée (ou non) par modélisation moléculaire [25].

Les chercheurs de Merck et Codexis ont pensé qu'une transaminase (catalysant la réaction entre un acide aminé et un acide  $\alpha$ -carbonyle, *figure 13a*) pourrait permettre la transformation voulue (**43** en **15**) [26]. Ce type d'enzymes est compatible avec peu de substrats, ceux-ci présentant rarement un groupe plus encombrant qu'un méthyle en  $\alpha$  de la cétone. Le composé **43**, avec ses substituants de grande taille, représente un véritable challenge d'optimisation. La transaminase AT-117 a été choisie comme point de départ et modélisée sur ordinateur avec l'acétophénone **49** comme substrat (*figure 13b*). Le site actif consiste ainsi en deux poches : une grande, capable d'accueillir un groupe de type phényle, et une petite, accueillant le groupe méthyle.

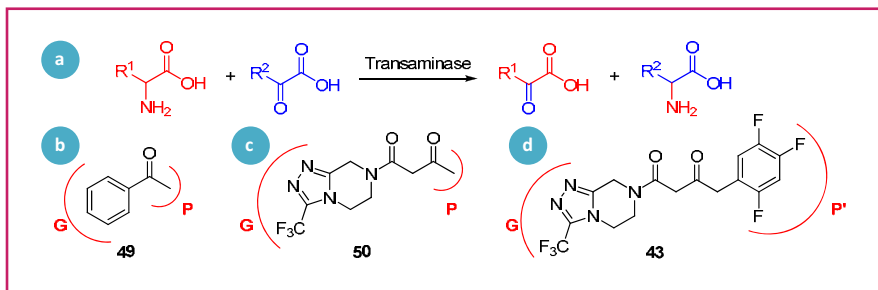


Figure 13 - a) Mode d'action d'une transaminase ; b) Substrat type d'une transaminase, les substituants de la cétone remplissent les deux poches du site actif : grande (G) et petite (P) ; c) Substrat **50** employé pour la modification de la grande poche ; d)  $\beta$ -cétamide **43** employée pour la modification de la petite poche.

La modification de l'enzyme a été effectuée en plusieurs temps en commençant par la grande poche avec l'emploi du substrat modèle **50**. Au regard de la taille des substituants de la cétone, cette molécule est un bon intermédiaire entre l'acétophénone (substrat type) et le  $\beta$ -cétamide **43** (substrat cible). Il est donc possible d'employer **50** afin de réaliser l'agrandissement sélectif de la grande poche sans toucher à la petite. Une première série de mutations est réalisée sur la transaminase pour que la grande poche puisse accueillir le groupe triazolopyrazine. La petite poche est ensuite agrandie afin de s'accommoder du groupe trifluorobenzyle. Ainsi, après douze mutations, une enzyme montre une très bonne activité pour l'amination réductrice asymétrique de **43** en **15** en présence d'isopropylamine (en tant que donneur de  $NH_2$ ). Bien qu'active, l'enzyme ainsi obtenue ne peut être employée

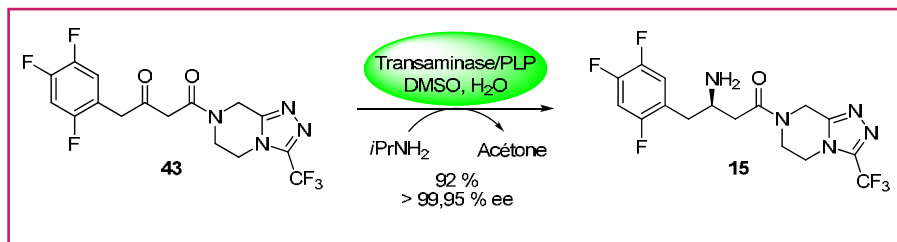
Figure 14 - Synthèse biocatalytique de **15**.

Tableau II - Comparaison des différentes synthèses de la sitagliptine.

	1 <sup>ère</sup> génération	2 <sup>e</sup> génération	2 <sup>e</sup> génération bis
Nombre d'étapes	9	3	3
Rendement global	45 %	63 %	75 %
Introduction de l'amine chirale	Hydrogénation de cétone Réaction de Mitsunobu	Hydrogénation d'énamine	Amination réductrice enzymatique de cétone
ee avant recristallisation	90,8 %	95 %	> 99,95 %
Déchets (par kg de sitagliptine)	250 kg	50 kg	40,5 kg

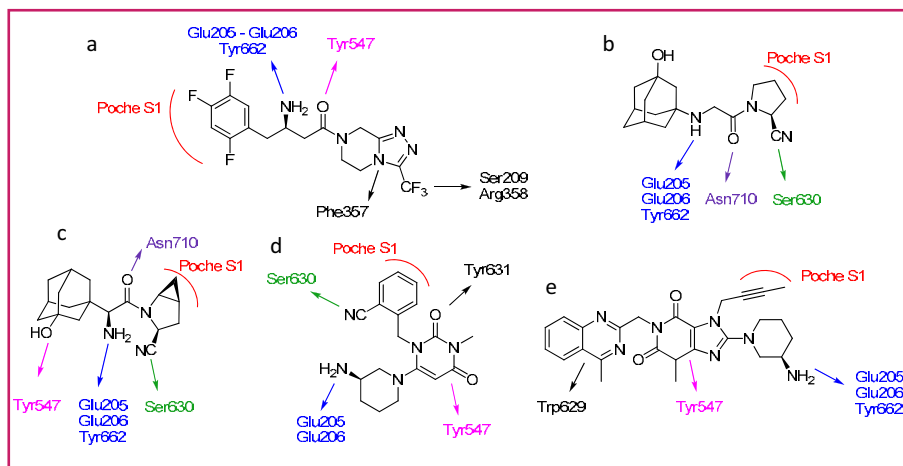


Figure 15 - Inhibiteurs commercialisés de la DPP-4 et leurs principales interactions : sitagliptine (a) ; vildagliptine (b) ; saxagliptine (c) ; alogliptine (d) ; linagliptine (e).

en l'état dans une installation industrielle au regard des conditions réactionnelles spécifiques mises en œuvre (forte concentration en substrats, co-solvants, températures). Quinze nouvelles mutations plus tard, une enzyme présentant une activité accrue et une excellente stabilité est obtenue. Si la première série de mutations a principalement modifié le site actif de l'enzyme pour optimiser son activité, les suivantes visent à améliorer sa stabilité. Il est en effet supposé que l'enzyme ne soit active que sous la forme d'un dimère et que les mutations générées améliorent sa cohésion et donc sa stabilité.

Dans les conditions optimales, la sitagliptine **15** est produite en une étape à partir de **43** avec un rendement de 92 % et un excès énantiomérique supérieur à 99,95 % (figure 14). Notons qu'un traitement acide comme précédemment décrit permet d'accéder au phosphate de sitagliptine **15.H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>**. Ce procédé présente donc de nombreux avantages par rapport à l'hydrogénation métallo-catalysée : de meilleurs rendements et énantiosélectivité, plus de métaux à éliminer/recycler et une plus grande facilité de mise en œuvre. Pour cette amélioration, Merck et Codexis ont reçu le Greener Reaction Conditions Award en 2010.

## Rendements et impact environnemental

Depuis la toute première synthèse de la sitagliptine et la voie industrielle actuellement suivie, de très nombreuses améliorations ont été apportées (tableau II). La première synthèse commerciale s'affranchit de l'emploi d'un auxiliaire chiral en introduisant pour la première fois une hydrogénation asymétrique permettant de former l'amine chirale. Elle reste cependant assez longue (9 étapes) et met en jeu des agents de couplage peptidiques générant de nombreux déchets. La synthèse de seconde génération permet de réduire drastiquement la quantité de déchets par une synthèse courte (3 étapes) et sans agents de couplage. L'emploi d'une réduction asymétrique métallo-catalysée en fin de synthèse impose cependant une étape supplémentaire de traitement pour éliminer les traces de métal du produit final. Une recristallisation est de plus nécessaire afin d'améliorer la pureté optique. Le recours à la biocatalyse permet finalement d'éliminer ces derniers inconvénients :

plus besoin de métaux coûteux (à l'achat et au recyclage) ni de matériel spécifique pour réaliser l'hydrogénation sous pression. L'amine chirale étant obtenue directement avec un excellent excès énantiomérique, la recristallisation n'est plus nécessaire. Le rendement global s'en voit ainsi amélioré, tandis que la quantité de déchets est encore réduite.

## Autres inhibiteurs de la DPP-4

Il existe actuellement quatre autres inhibiteurs de la DPP-4 disponibles sur le marché (figure 15). Nous retrouvons des mimes du substrat naturel possédant un noyau pyrrolidine (remplissant la poche hydrophobique S1), substitué en position 2 par un groupe nitrile (interagissant de façon réversible avec la sérine 630) avec la vildagliptine (Galvus<sup>®</sup>, Novartis) et la saxagliptine (Onglyza<sup>®</sup>, Astra-Zeneca, BMS) [9c]. Le groupe adamantyle permet d'améliorer la stabilité chimique de ces molécules en limitant une réaction parasite de cyclisation, encore ralentie par une substitution supplémentaire sur le cycle pyrrolidine dans le cas de la saxagliptine. L'hydroxyle présent sur le cycle adamantyle permet quant à lui d'améliorer la stabilité métabolique.

L'alogliptine (laboratoire Takeda) est issue d'un programme de design moléculaire assisté par ordinateur [27]. Une première molécule est modélisée et sa structure optimisée afin d'engendrer un certain nombre d'interactions dans le site actif de la DPP-4. La molécule ainsi obtenue se révèle biologiquement active, mais fait preuve d'un mauvais profil pharmacocinétique. Parmi les différents dérivés préparés, c'est finalement l'alogliptine qui présente le meilleur profil pharmacologique et qui est commercialisée sous l'appellation Nesina<sup>®</sup>.

Une campagne de criblage de chimiothèques permet d'identifier une molécule possédant un noyau xanthine comme inhibiteur potentiel de la DPP-4. Par la suite, la variation systématique des substituants a abouti à la découverte de la linagliptine (Tradjenta<sup>®</sup>, Boehringer Ingelheim) comme le composé le plus actif [28]. On retrouve ici le motif aminopipéridine

lié à un hétérocycle, tout comme pour l'alogliptine, et donc les mêmes types d'interactions. De nombreux inhibiteurs de la DPP-4 sont également brevetés par différentes entreprises, avec des structures généralement proches de celles présentées dans la figure 15 [29].

## Conclusion

La découverte des incrétines, de la dipeptidyl peptidase-4 et de leurs rôles respectifs dans la régulation de la glycémie a ouvert de grandes opportunités pour le traitement du diabète de type 2. Initié en 1999, le programme de recherche des laboratoires Merck a rapidement abouti à la découverte de la sitagliptine (en 2004), et sa mise sur le marché en 2006 en fit le premier inhibiteur de la DPP-4 approuvé, améliorant le confort de vie de nombreux patients de par le monde. L'histoire de la sitagliptine a été marquée par une série d'améliorations apportées à sa synthèse, récompensées à plusieurs reprises par de prestigieux prix dans le domaine de la chimie verte. Une réussite qui illustre parfaitement l'intérêt du partage des connaissances interdisciplinaires (biologie, biochimie et chimie) et inter-entreprises. La collaboration entre les chercheurs de Merck et Solvias a ainsi permis le développement de l'hydrogénation asymétrique d'énamines, tandis que l'expertise des chercheurs de Codexis a été mise à profit pour générer une nouvelle transaminase selon une séquence de 29 mutations.

## Références

- [1] Devlin T.M., *Textbook of biochemistry with clinical correlations*, Wiley-Liss, 2010, Chap. 15.
- [2] Morino K., Petersen K.F., Shulman G.I., Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction, *Diabetes*, 2006, 55(Suppl. 2), p. S9.
- [3] Hotamisligil G.S., Peraldi P., Budavari A., Ellis R., White M.F., Spiegelman B.M., IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$  and obesity-induced insulin resistance, *Science*, 1996, 271, p. 665.
- [4] Jia X., Olson D.J.H., Ross A.R.S., Wu L., Structural and functional changes in human insulin induced by methylglyoxal, *The FASEB Journal*, 2006, 20, p. 1555; Potier P., Sasaki A., Bakala J., Garcia-Alvarez M.C., Franck G., Nhiri N., Wang Q., Ermolenko L., Nguéfeu Y., Calvo F., Gautier J.F., Nouveaux aspects du diabète, *Ann. Pharm. Fr.*, 2005, 63, p. 371; Marcoux E., Diabètes : le rôle du méthylglyoxal mis à jour, *L'Act. Chim.*, 2005, 290-291, p. 290.
- [5] Daniel J.D., The biology of incretin hormones, *Cell Met.*, 2006, 3, p. 153; Kim W., Egan J.M., The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment, *Pharmacol. Rev.*, 2008, 60, p. 470.
- [6] Oefner C., D'Arcy A., Mac Sweeney A., Pierau S., Gardiner R., Dale G.E., High-resolution structure of human apo dipeptidyl peptidase IV/CD26 and its complex with 1-[(2-[(5-iodopyridin-2-yl)amino]-ethyl)amino]-acetyl]-2-cyano-(S)-pyrrolidine, *Acta Crystallogr. D*, 2003, 59, p. 1206.
- [7] Drucker D.J., Nauck M.A., The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes, *The Lancet*, 2006, 368, p. 1696; Kendall D.M., Cuddihy R.M., Bergenstal R.M., Clinical application of incretin-based therapy: therapeutic potential, patient selection and clinical use, *Eur. J. Int. Med.*, 2009, 20(Suppl. 2), p. S329.
- [8] Shyangdan D., Royle P., Clar C., Sharma P., Waugh N., Glucagon-like peptide analogues for type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis, *BMC Endocr. Disord.*, 2010, 10, p. 20.
- [9] (a) Green B.D., Flatt P.R., Bailey C.J., Dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) inhibitors: a newly emerging drug class for the treatment of type 2 diabetes, *Diabet. Vasc. Dis. Res.*, 2006, 3, p. 159; (b) Idris I., Donnelly R., Dipeptidyl peptidase-IV inhibitors: a major new class of oral antidiabetic drug, *Diabetes Obes. Metab.*, 2007, 9, p. 153; (c) Peters J.-U., 11 years of cyanopyrrolidines as DPP-IV inhibitors, *Curr. Top. Med. Chem.*, 2007, 7, p. 579.
- [10] Xu J., Ok H.O., Gonzalez E.J., Colwell Jr L.F., Habulihaz B., He H., Leiting B., Lyons K.A., Marsilio F., Patel R.A., Wu J.K., Thornberry N.A., Weber A.E., Parmee E.R., Discovery of potent and selective  $\beta$ -homophenylalanine based dipeptidyl peptidase IV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 14, p. 4759.
- [11] Brockunier L.L., He J., Colwell Jr L.F., Habulihaz B., He H., Leiting B., Lyons K.A., Marsilio F., Patel R.A., Teffera Y., Wu J.K., Thornberry N.A., Weber A.E., Parmee E.R., Substituted piperazines as novel dipeptidyl peptidase IV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 14, p. 4763.
- [12] Kim D., Wang L., Beconi M., Eiermann G.J., Fisher M.H., He H., Hickey G.J., Kowalchick J.E., Leiting B., Lyons K., Marsilio F., McCann M.E., Patel R.A., Petrov A., Scapin G., Patel S.B., Roy R.S., Wu J.K., Wyvratt M.J., Zhang B.B., Zhu L., Thornberry N.A., Weber A.E., (2R)-4-oxo-4-[3-(trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-yl]-1-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-2-amine: a potent, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes, *J. Med. Chem.*, 2004, 48, p. 141.
- [13] Williams-Herman D., Engel S., Round E., Johnson J., Golm G., Guo H., Musser B., Davies M., Kaufman K., Goldstein B., Safety and tolerability of sitagliptin in clinical studies: a pooled analysis of data from 10,246 patients with type 2 diabetes, *BMC Endocr. Disord.*, 2010, 10, p. 7.
- [14] Pour un autre exemple d'optimisation de synthèse industrielle, voir : Erb W., Chausset-Boissarie L., Viagra<sup>®</sup>, les clés du succès, *L'Act. Chim.*, 2009, 333, p. 42.
- [15] Hansen K.B., Balsells J., Dreher S., Hsiao Y., Kubryk M., Palucki M., Rivera N., Steinhuebel D., Armstrong J.D., Askin D., Grabowski E.J.J., First generation process for the preparation of the DPP-IV inhibitor sitagliptin, *Org. Process Res. Dev.*, 2005, 9, p. 634.
- [16] Balsells J., DiMichele L., Liu J., Kubryk M., Hansen K., Armstrong J.D., Synthesis of [1,2,4]triazolo[4,3- $\alpha$ ]piperazines via highly reactive chloromethylxadiazolones, *Org. Lett.*, 2005, 7, p. 1039.
- [17] Wenda S., Illner S., Mell A., Kragl U., Industrial biotechnology: the future of green chemistry?, *Green Chem.*, 2011, 13, p. 3007.
- [18] Hsiao Y., Rivera N.R., Rosner T., Krska S.W., Njolito E., Wang F., Sun Y., Armstrong J.D., Grabowski E.J.J., Tillyer R.D., Spindler F., Malan C., Highly efficient synthesis of  $\beta$ -amino acid derivatives via asymmetric hydrogenation of unprotected enamines, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, p. 9918.
- [19] Hansen K.B., Hsiao Y., Xu F., Rivera N., Clausen A., Kubryk M., Krska S., Rosner T., Simmons B., Balsells J., Ikemoto N., Sun Y., Spindler F., Malan C., Grabowski E.J.J., Armstrong J.D., Highly efficient asymmetric synthesis of sitagliptin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, p. 8798.
- [20] Xu F., Armstrong J.D., Zhou G.X., Simmons B., Hughes D., Ge Z., Grabowski E.J.J., Mechanistic evidence for an  $\alpha$ -oxoketene pathway in the formation of  $\beta$ -ketoamides/esters via Meldrum's acid adducts, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, p. 13002.
- [21] Clausen A.M., Dziadul B., Cappuccio K.L., Kaba M., Starbuck C., Hsiao Y., Dowling T.M., Identification of ammonium chloride as an effective promoter of the asymmetric hydrogenation of a  $\beta$ -enamine amide, *Org. Process Res. Dev.*, 2006, 10, p. 723.
- [22] Steinhuebel D., Sun Y., Matsumura K., Sayo N., Saito T., Direct asymmetric reductive amination, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, p. 11316.
- [23] Davis B.G., Boyer V., Biocatalysis and enzymes in organic synthesis, *Nat. Prod. Rep.*, 2001, 18, p. 618; Drauz G., Waldmann H., *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: A Comprehensive Handbook*, Weinheim, 1995.
- [24] Schmid A., Dordick J.S., Hauer B., Kiener A., Wubbolts M., Witholt B., Industrial biocatalysis today and tomorrow, *Nature*, 2001, 409, p. 258; Franssen M.C.R., Kircher M., Wohlgemuth R., Industrial biotechnology in the chemical and pharmaceutical industries, in *Industrial Biotechnology, Sustainable Growth and Economic Success*, W. Soetaert, E.J. Vandamme (eds), Wiley-VCH, 2010.
- [25] Hult K., Berglund P., Engineered enzymes for improved organic synthesis, *Curr. Op. Biotech.*, 2003, 14, p. 395; Bloom J.D., Meyer M.M., Meinhold P., Otey C.R., MacMillan D., Arnold F.H., Evolving strategies for enzyme engineering, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2005, 15, p. 447; Petrounia I.P., Arnold F.H., Designed evolution of enzymatic properties, *Curr. Op. Biotech.*, 2000, 11, p. 325.
- [26] Savile C.K., Janey J.M., Mundorff E.C., Moore J.C., Tam S., Jarvis W.R., Colbeck J.C., Krebber A., Fleitz F.J., Brands J., Devine P.N., Huisman G.W., Hughes G.J., Biocatalytic asymmetric synthesis of chiral amines from ketones applied to sitagliptin manufacture, *Science*, 2010, 329, p. 305.
- [27] Feng J., Zhang Z., Wallace M.B., Stafford J.A., Kaldor S.W., Kassel D.B., Navre M., Shi L., Skene R.J., Asakawa T., Takeuchi K., Xu R., Webb D.R., Gwaltney S.L., Discovery of alogliptin: a potent, selective, bioavailable, and efficacious inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, p. 2297.
- [28] Eckhardt M., Langkopf E., Mark M., Tadayon M., Thomas L., Nar H., Pfrengle W., Guth B., Lotz R., Sieger P., Fuchs H., Himmelsbach F., 8-(3-(R)-aminopiperidin-1-yl)-7-but-2-ynyl-3-methyl-1-(4-methyl-quinazolin-2-ylmethyl)-3,7-dihydropurine-2,6-dione (BI 1356), a highly potent, selective, long-acting, and orally bioavailable DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, p. 6450.
- [29] Mendieta L., Tarrago T., Giralt E., Recent patents of dipeptidyl peptidase IV inhibitors, *Exp. Op. Ther. Pat.*, 2011, 21, p. 1693.



W. Erb

**William Erb** (auteur correspondant)

est attaché temporaire d'enseignement et de recherche au Laboratoire de Chimie Organique, ESPCI Paris-Tech\*.

**Nacim Abermil**

est post-doctorant à la School of Chemical Sciences, Nouvelle-Zélande\*\*.



N. Abermil

\* Laboratoire de Chimie Organique, ESPCI ParisTech, CNRS, 10 rue Vauquelin, F-75231 Paris Cedex 05.

Courriel : w.erb@exchem.fr

\*\* School of Chemical Sciences, The University of Auckland, 23 Symonds street, Auckland Central (Nouvelle-Zélande).

Courriel : nabe466@aucklanduni.ac.nz

# Les polymères biodégradables et biosourcés

## Des matériaux pour un futur durable

Luc Avérus

### Résumé

Les matériaux polymères biodégradables, et plus particulièrement ceux obtenus à partir de ressources renouvelables, présentent actuellement un attrait indiscutable dans le cadre du développement durable. Ils connaissent un fort développement (10 à 20 % par an) et cette croissance va se poursuivre dans le futur. Cependant, ils restent des matériaux « de niche », utilisés essentiellement dans certaines applications ciblées (emballage, agriculture, loisirs...), principalement à courte durée de vie, et ne sont donc pas totalement destinés à remplacer massivement les matières plastiques conventionnelles. Ces polymères biodégradables et biosourcés sont néanmoins très attractifs car ils ont des architectures macromoléculaires originales tout en proposant une nouvelle fin de vie, par exemple par compostage. Ce sont par ailleurs des matériaux à valeur ajoutée qui permettent de préserver l'équilibre et la pérennité des bioraffineries. Enfin, ils peuvent être considérés comme une réponse aux limitations des ressources pétrochimiques, tout en participant à la réduction des émissions de CO<sub>2</sub>.

### Mots-clés

**Polymère, biodégradable, biosourcé, amidon, poly(acide lactique), polyhydroxyalcanoate.**

### Abstract

**Biodegradable and biobased polymers: materials for a durable future**

The biodegradable polymer materials, especially those obtained from renewable resources, are now an indisputable evidence for a sustainable future. This evolution is translated by a growth rate (around 10-20% per year) and their development will continue in the future. However, they are mainly used in some "niche" applications (packaging, agriculture, recreation...), essentially for short lifetimes, and then are not considered to fully replace conventional plastics. Biobased and biodegradable polymers are attractive because they have unique macromolecular architectures while providing a new end of life, for example by composting. In addition, these materials are added values that preserve the balance and sustainability of biorefineries. Finally, they may be a response to the limitations of petrochemical resources while contributing to the reduction of CO<sub>2</sub> emissions.

### Keywords

**Polymer, biodegradable, biobased, starch, polylactic acid, polyhydroxyalkanoate.**

Il est actuellement évident que l'utilisation de polymères ayant une longue durée de vie pour des applications de courte durée (emballage, restauration, chirurgie, hygiène...) n'est pas tout à fait adéquate. Ceci est d'autant plus peu justifié que la préoccupation de préserver les écosystèmes et l'environnement est de plus en plus forte parmi nos concitoyens. En effet, les polymères durables et non renouvelables sont une source importante de pollution lorsqu'ils sont « dispersés » dans la nature. Les sacs plastiques par exemple sont bien connus pour affecter la vie sous-marine et constituent une source de pollution croissante. Par ailleurs, les matières plastiques conventionnelles affectent la gestion globale des déchets. Aussi les collectivités (municipalités, organismes régionaux ou nationaux) prennent de plus en plus conscience des économies importantes que permettraient des déchets maîtrisés et compostables, la valorisation classique des déchets plastiques présentant en effet certains inconvénients. La valorisation énergétique génère certaines émissions toxiques (dioxine par exemple) lorsqu'elle est mal maîtrisée. Quant à la valorisation matière, elle implique certaines limitations liées aux difficultés de trouver des débouchés économiquement viables ; elle peut créer en outre un

bilan écologiquement négatif, qui se traduit sur l'analyse du cycle de vie (ACV) du matériau en raison de la nécessité, dans presque tous les cas, de laver les déchets des matières plastiques. À ceci est associée une consommation d'énergie importante liée aux processus de broyage et de retransformation des matières plastiques.

Par conséquent, le potentiel des polymères biodégradables, et plus particulièrement ceux obtenus à partir de ressources renouvelables, est utilisé depuis longtemps, notamment pour des applications à courte durée de vie [1]. Toutefois, même s'ils connaissent des taux de croissance importants de 10 à 20 % par an, ces polymères sont utilisés à ce jour uniquement dans certaines applications ciblées (emballage, agriculture, loisirs...) [2].

Si l'on considère, par exemple, l'ensemble des polymères biodégradables et/ou biosourcés, une étude de marché récente présentée par l'association European Bioplastics [3] montre que leur capacité de production mondiale n'était en 2011 que d'environ 1,2 million de tonnes (Mt), dont 0,5 Mt pour les polymères biodégradables. Ceci est à comparer à la consommation de matières plastiques de 265 Mt au niveau mondial, dont 67 Mt rien que pour l'Europe en 2010 selon



Champ de maïs recouvert de films de polymères biodégradables.  
© Colin Smith/Wikimedia-CC-ASA-2.0.

Plastics-Europe [4]. Les études prospectives récentes, et notamment celle présentée par European Bioplastics, montrent que ces polymères en très forte croissance resteront des matériaux de niche pour les dix prochaines années et ne représenteront que quelques pourcents du marché global des matières plastiques. Ils ne sont donc pas envisagés pour remplacer totalement les matières plastiques conventionnelles.

Les polymères biodégradables et biosourcés sont cependant une approche intéressante pour notamment :

- développer des architectures macromoléculaires originales, qui pour certaines seraient difficiles à obtenir par des voies chimiques conventionnelles ;
- proposer une nouvelle fin de vie pour ces matériaux ; il est à noter que les matériaux compostables peuvent aussi être, par exemple, valorisés par recyclage classique ;
- obtenir des produits souvent à forte valeur ajoutée, participant à la viabilité et à la pérennité de certaines bioraffineries ;
- répondre aux limitations de ressources pétrochimiques à venir, notamment sur certaines fractions qui deviennent rares. En effet, certaines ressources fossiles limitées (pétrole...) pourraient être partiellement remplacées par des sources plus écologiques, renouvelables et issues de ressources agricoles ou du milieu marin, tout en participant à la réduction des émissions de CO<sub>2</sub>.

Dans ce panorama, les évolutions récentes autour des gisements et productions de gaz de schiste (principalement C1 à C4) brouillent totalement une vision d'avenir qui était déjà initialement complexe. Sans prendre en compte la problématique de la gestion de la ressource hydrique, il est à noter que les ressources agricoles correspondantes peuvent entrer en compétition avec le domaine alimentaire. Il n'existe cependant plus aucun projet industriel sur les matériaux biosourcés qui ne prenne pas en compte cette dernière problématique. De plus, il n'y a pas de réponses toutes faites à ces questions qui touchent plus particulièrement les ressources amidonnière, protéique et oléagineuse, par exemple. En effet, les ressources lignocellulosiques (bois, paille...) sont généralement moins en compétition avec le domaine alimentaire, ceci d'autant plus qu'elles sont souvent des coproduits (déchets) de diverses industries bien établies. Seule une étude longue, approfondie et dialectique permet d'obtenir une vision éclairée sur cette problématique, et ceci cas par cas.

Un certain nombre de termes utilisés dans cet article (biopolymère, biomacromolécule, biosourcé...) ont été récemment définis par l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) et sont présentés dans un article de référence [5].

## Concepts : biodégradabilité et renouvellement

### Biodégradabilité et compostabilité

Il existe un certain nombre de normes, telles que la norme américaine ASTM D-5488-94d ou la norme européenne harmonisée EN 13432m, définissant des termes tels que biodégradable, compostable... qui sont largement utilisés, parfois mal, comme argument de promotion de matériaux dits « environnementaux ».

La norme NF EN 13432:2000 énonce les exigences relatives aux emballages valorisables par compostage et biodégradation. Acceptée par décision de la Commission européenne (2001/524/CE) et publiée au *Journal officiel des Communautés européennes*, elle est une référence en Europe dans le domaine. Elle définit la valorisation par compostage et biodégradation comme suit (selon que l'on se trouve en milieu aérobie ou anaérobie) : « sous l'action de micro-organismes en présence d'oxygène, décomposition d'un composé chimique organique en dioxyde de carbone, eau, et sels minéraux (minéralisation) avec apparition d'une nouvelle biomasse ; en l'absence d'oxygène, décomposition en dioxyde de carbone, méthane, sels minéraux et création d'une nouvelle biomasse. »

Il est à noter que les matériaux et constituants d'emballages d'origine naturelle qui n'ont pas été modifiés par des méthodes chimiques, tels que les lignocellulosiques, amidons..., sont reconnus comme biodégradables sans avoir besoin d'être soumis aux essais prévus par la norme correspondante. Ils doivent cependant être caractérisés chimiquement (identification des constituants, teneurs en métaux lourds, en carbone organique, en solides secs, en solides volatils...) et être conformes aux critères de désintégration et de qualité du compost, notamment en termes d'écotoxicité des résidus.

La norme NF EN 13432 a servi de base à l'élaboration de la norme NFU 52-001 « Matériaux biodégradables pour l'agriculture et l'horticulture », qui a pris effet le 20 février 2005. Il existe d'autres normes pour les matériaux biodégradables ; certaines sont équivalentes, comme la EN 14046:2003 et l'ISO 14855:1999 qui traitent de la détermination de la biodégradabilité en compost. Une série de normes permet de définir les conditions d'essai de biodégradabilité suivant le médium utilisé, comme par exemple les normes EN ISO 14851:2004 (aqueux, système aérobie, mesure de l'oxygène consommé), 14852:2004 (aqueux, système aérobie, mesure du CO<sub>2</sub> dégagé), 14853:2004 (aqueux, anaérobie), 17556:2004 (sol) et 14855:2005 (compost). Tous ces tests sont réalisés par comparaison avec un témoin.

• **Biodégradable** : afin de qualifier un matériau d'emballage biodégradable, la norme EN 13432:2000 prévoit la réalisation de tests :

- Conditions : (i) tests réalisés dans un milieu défini (eau douce, eau salée, sol) ; (ii) période de test de six mois maximum.
- Résultats physiques et effets sur le milieu : (i) la masse de départ du matériau doit être dégradée à 90 % ; (ii) les résidus

doivent donc représenter au maximum 10 % de la masse de départ du matériau testé ; (iii) le résultat de la biodégradation ne doit pas présenter d'effets écotoxiques sur le milieu.

• **Compostable** : afin de qualifier un matériau d'emballage compostable, la norme EN 13432:2000 prévoit la réalisation de tests :

- Conditions : (i) tests réalisés dans un composteur industriel (en andain ou en tas) ; (ii) période test de douze semaines maximum.

- Résultats physiques et effets sur le compost : (i) les résidus doivent représenter au maximum 10 % de la masse de départ du matériau testé ; (ii) la taille des résidus doit être inférieure à 2 mm (désintégration) ; (iii) il ne doit pas y avoir d'effets négatifs sur le processus de compostage ; (iv) le résultat du compostage ne doit pas présenter d'effets écotoxiques sur le compost.

Il est difficile de comparer les résultats obtenus selon diverses normes car, malheureusement, les conditions de tests (humidité, cycle de température...) varient en fonction de la norme utilisée.

Quelques règles générales permettent de prévoir l'évolution de la biodégradabilité. Par exemple, une augmentation de facteurs tels que le caractère hydrophobe, les masses molaires, la cristallinité ou la taille des zones cristallines altèrent la biodégradabilité. Au contraire, la présence par exemple de polysaccharides (cas de mélanges) favorise la biodégradation.

Il est à noter que la biodégradation ou le compostage représente une des fins de vie de ces matériaux. Comme la plupart des matériaux polymères, ils sont évidemment recyclables.

### Origine du carbone et développement durable

L'aspect *biodégradable* ou *compostable* d'un matériau fait référence à sa fin de vie. En revanche, l'aspect *biosourcé* ou *renouvelable* fait référence à son origine, et notamment à la nature du carbone (issu de la biomasse). Ceci est présenté dans la *figure 1* par la voie directe de synthèse (flèche oblique). Sur ce schéma, la ressource fossile (pétrole...) peut être vue comme un intermédiaire séquestrant, qui rallonge le cycle du carbone.

Les polymères qui sont à la fois biodégradables et biosourcés s'inscrivent donc dans une approche de développement durable au travers d'un cycle de vie durable représenté par la *figure 2*. On parle d'approche « cradle to cradle » (berceau au berceau), mais aussi de « réincarnation du carbone ». Les matériaux compostés permettent d'amender les sols, créant ainsi une nouvelle génération de biomasse qui se retrouvera par la suite dans une unité de transformation de la biomasse (bioraffinerie), jusqu'à l'obtention ou l'extraction du polymère biodégradable.

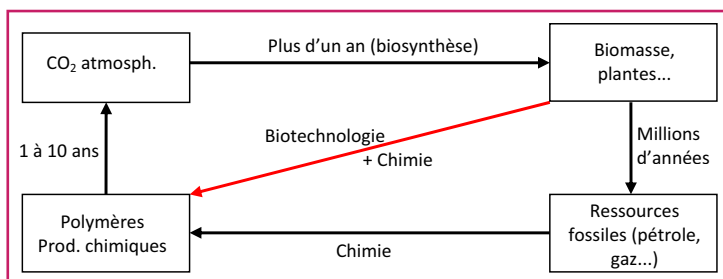


Figure 1 - Cycle du carbone et voies de synthèse des polymères (directe et indirecte).

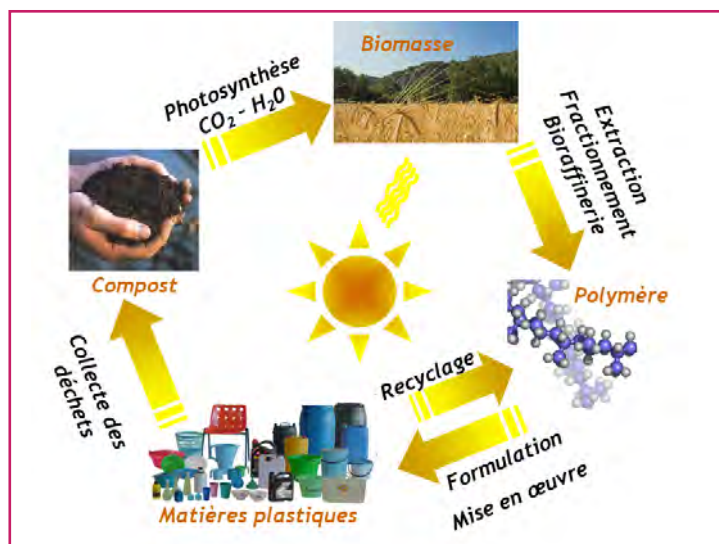


Figure 2 - Cycle de vie de polymères biodégradables et biosourcés (exemple : l'amidon).

### Classifications des polymères biodégradables

Les polymères biodégradables constituent un domaine à part entière, en expansion [2, 6-7]. Un grand nombre de ces polymères sont synthétisés ou formés dans la nature lors du cycle de croissance de tous les organismes. Certains micro-organismes et enzymes capables de les dégrader ont été identifiés [6].

Selon le processus de synthèse, différents groupes ou types de polymères biodégradables ont été classifiés ; la *figure 3* montre une proposition de classification [8]. On y dénombre quatre catégories différentes dont seules les trois premières catégories (a à c) sont obtenues à partir de ressources renouvelables :

- a- les polymères issus directement du fractionnement de la biomasse tels que les polymères d'agroressources ou agropolymères (l'amidon, la cellulose et les protéines par exemple) et leurs dérivés ;
- b- les polymères obtenus par production microbienne ou fermentation (les polyhydroxyalcanoates par exemple) ;
- c- les polymères synthétisés par voie conventionnelle et dont les monomères sont obtenus à partir d'agroressources et/ou par biotechnologie (le poly(acide lactique) par exemple) ;
- d- les polymères dont les monomères et les polymères sont obtenus de façon classique, par synthèse chimique à partir de ressources fossiles (le polycaprolactone par exemple). La tendance au niveau industriel est toutefois de remplacer la source de ces polymères par des matériaux biosourcés. C'est le cas par exemple du polybutylène succinate (PBS) qui était majoritairement issu de ressources fossiles jusqu'à récemment.

Nous pouvons classer les différents polymères biodégradables et biosourcés en deux grandes familles : les agropolymères (catégorie a) et les polyesters biodégradables (catégories b et c). Pour illustrer ces derniers, le prochain chapitre sera focalisé sur la description, de la synthèse à l'application, de polyesters biodégradables et biosourcés.

### Le cas des polyesters biodégradables et biosourcés

La *figure 4* montre les structures chimiques de différents polyesters biodégradables et biosourcés, produits industriellement.

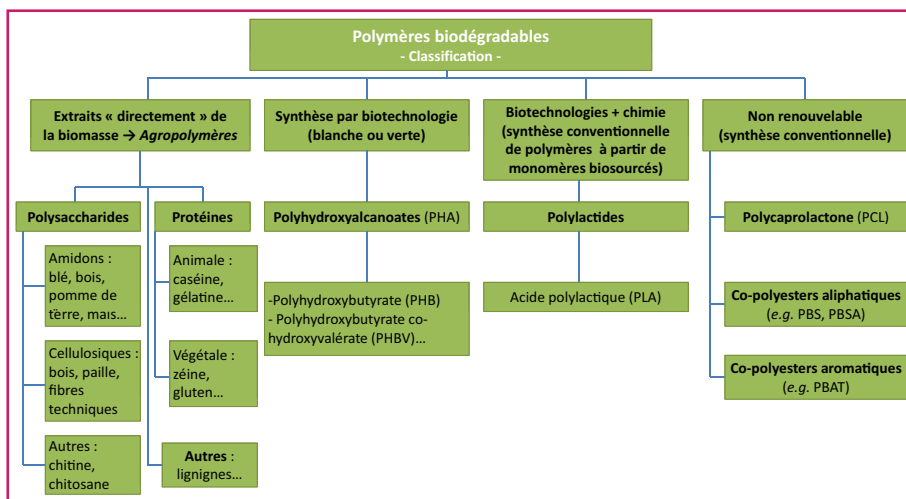


Figure 3 - Classification des polymères biodégradables (d'après [5]).

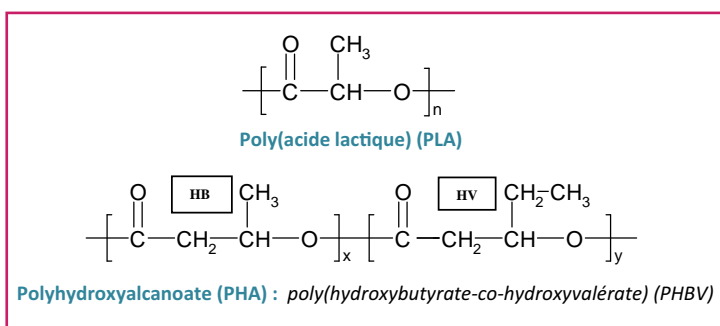


Figure 4 - Structures chimiques de différents polyesters biodégradables et biosourcés.

### Les polyesters biosourcés

#### • Le poly(acide lactique) (PLA)

L'acide lactique peut être produit chimiquement ou biologiquement par fermentation d'hydrate de carbone avec par exemple des lactobacilles [9]. Il existe différentes voies d'élaboration du poly(acide lactique) (PLA) [10], appelé aussi parfois acide polylactique. La voie d'obtention industrielle classique de PLA de haute masse molaire est présentée figure 5. Elle est constituée de différentes étapes : les monomères (énantiomères D et L) sont condensés puis dépolymérisés et

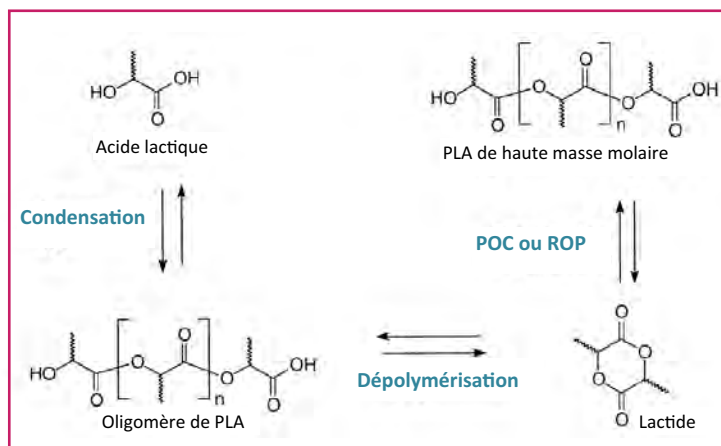


Figure 5 - Schéma de synthèse du PLA.

convertis en lactides, lesquels sont polymérisés par ouverture de cycle (POC ou ROP pour « ring opening polymerization ») pour obtenir un polymère de haute masse molaire [11-12]. Suivant le type de lactide utilisé (figure 6) et donc suivant le rapport L/D visé, on va synthétiser différents PLA.

À l'heure actuelle, le PLA est le polymère biodégradable qui possède l'un des plus forts potentiels en raison de son prix peu élevé (environ 2 €/kg) et de sa disponibilité sur le marché [7]. Sa production mondiale estimée en 2010 est de 113 000 t selon European Bioplastics. Leader sur ce marché, Cargill-NatureWorks-PTT a développé des procédés qui utilisent le maïs et d'autres matières premières pour produire différents grades de PLA en suivant le schéma présenté dans la figure 5. D'autres

sociétés telles que les japonaises Mitsui Chemicals, Mitsubishi, Shimadzu et Teijin, la belge Futerra (Total/Galactic), la néerlandaise Purac et la chinoise Zhejiang Hisun Biomaterials produisent différents PLA, avec une large gamme de rapports L/D. On peut trouver des PLLA (100 % L) qui présentent une cristallinité élevée. Il existe aussi des copolymères, poly(acide (D,L) lactique) (PDLLA), qui peuvent être amorphes. En effet, le rapport L/D contrôle une bonne partie des propriétés du PLA [13].

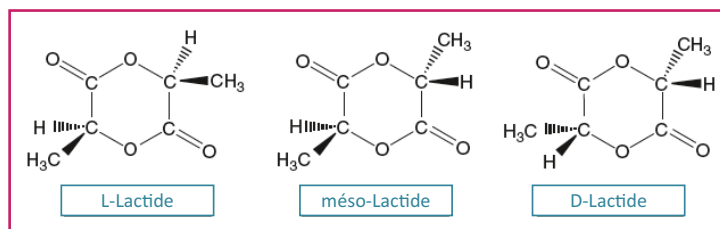


Figure 6 - Les différents types de lactide.

En fonction des conditions de préparation, le PLLA cristallise sous différentes formes [13]. La forme  $\alpha$  présente un diagramme de diffraction bien défini. Cette structure cristalline est plus stable que la  $\beta$  : sa température de fusion ( $T_f$ ) est de 185 °C, à comparer à 175 °C pour la  $\beta$ . Cette dernière peut être formée par un étirage élevé à haute température. Enfin, la forme  $\gamma$  est obtenue par cristallisation épitaxiale. Par ailleurs, il a été observé qu'un mélange (50/50) de PLLA et PDLA mène à un stéréocomplexe qui présente des propriétés mécaniques et thermiques supérieures à celles du pur PLLA ou du PDLA et une  $T_f$  élevée (230 °C).

Le PLA est un polymère rigide à température ambiante. Il cristallise lentement de façon analogue au poly(téréphtalate d'éthylène) (PET). Sa cinétique de cristallisation a été largement étudiée. Comme le PET, le PLA peut être orienté par traitement thermomécanique. L'orientation des chaînes augmente notamment sa résistance mécanique.

Sa température de transition vitreuse ( $T_g$ ) est généralement comprise entre 50 et 80 °C, et peut évoluer par plastification. Le PLA peut être plastifié à l'aide d'oligomères d'acide lactique (O-LA) [14], de citrate [15] ou de polyéthylène glycols (PEG) de faibles masses molaires [14], voire même de polyadipates [16]. L'ajout de plastifiant augmente la mobilité de la chaîne, favorise l'organisation du PLA et accélère sa cristallisation. De manière globale, les propriétés



du PLA peuvent être largement modifiées par formulation [13, 17-18].

Les différentes propriétés du PLA et sa disponibilité favorisent son développement actuel dans des applications très diverses comme l'emballage, le biomédical, l'agriculture, l'hygiène, le loisir [19]... Cependant, l'orientation actuelle du PLA est d'aller vers des matériaux durables (à longue durée de vie) dans des secteurs tels que l'automobile ou la construction, où sa biodégradabilité n'est pas souhaitée.

Le PLA présente une cinétique de biodégradation dans les sols plus lente que d'autres polyesters aliphatiques. Il est présumé être biodégradable, bien que les rôles respectifs et relatifs de la dépolymérisation hydrolytique et de la dégradation enzymatique restent encore ouverts à débat. Il s'agit d'un processus en deux étapes avec dans un premier temps une dégradation abiotique (c'est-à-dire par simple hydrolyse de liaisons ester sans présence d'enzymes) avec réduction des masses jusqu'à un niveau d'oligomères, suivie d'une dégradation biotique avec la participation d'organismes ou micro-organismes par voie enzymatique. Les deux processus sont en partie superposés. Pour ce qui concerne la biodégradation dans le compost, les conditions adéquates ne se trouvent que dans des unités de compost industrielles avec une température élevée (supérieure à 50 °C) et une humidité relative élevée et constante pour promouvoir la minéralisation de ce polymère. La biodégradation du PLA ne génère aucune écotoxicité particulière [19].

#### • Les polyhydroxyalcanoates (PHA)

Les PHA sont une famille de biopolymères intracellulaires synthétisés par de nombreuses bactéries, comme source de stockage d'énergie et de carbone [20]. Ils sont principalement produits à partir de ressources renouvelables par fermentation [21]. Une grande variété de bactéries accumule le PHA, entre 30 à 80 % de leur poids sec. Des études en biotechnologie ont montré que le PHA est produit dans des conditions de croissance contrôlées et équilibrées, en alimentant et affamant les micro-organismes en nutriments [22-23]. Selon les substrats hydrocarbonés et les micro-organismes utilisés, différents types de (co)polymères et d'architectures macromoléculaires peuvent être obtenus [21].

Les PHA sont considérés comme biodégradables ; on va donc les retrouver dans des applications correspondantes comme par exemple des emballages courts termes ou dans le secteur de l'agriculture. De plus, ils sont également considérés comme biocompatibles au contact des tissus vivants et peuvent être utilisés pour des applications biomédicales (encapsulation de médicaments, ingénierie tissulaire...).

Ils peuvent être dégradés par dégradation abiotique. Au cours de la biodégradation, les enzymes dégradent les produits résiduels jusqu'à la minéralisation totale.

Les PHA sont généralement classés en chaînes courtes (sCL : « small chains length ») et chaînes moyennes (mCL : « medium chains length »). Par exemple, les sCL-PHA sont à base de quatre ou cinq atomes de carbone dans leurs motifs de répétition, tandis que les mCL-PHA contiennent six atomes de carbone ou plus dans les unités répétitives.

Leur nomenclature et leur classification évoluent encore car de nouvelles structures continuent d'être découvertes. Le principal biopolymère de la famille des PHA est un homopolymère : le polyhydroxybutyrate (PHB). Le copolymère le plus courant est le poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyvalérate) (PHBV), mais il en existe d'autres tels que le poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyhexanoate) (PHBHx), le poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyoctanoate) (PHBO) et le poly(hydroxybutyrate-co-hydroxyoctadecanoate) (PHBOD), par exemple.

Le *tableau I* présente la formule générique des PHA, où x est égal à 1 ou plus, et R peut être soit un atome hydrogène, soit un groupe allant jusqu'à C16, et les principaux homopolymères.

Le PHB ou P(3HB) est un polyester hautement cristallin (cristallinité supérieure à 50 %) avec une température de fusion élevée (Tf = 173-180 °C) par rapport aux autres polyesters biodégradables. Sa Tg est d'environ 5 °C.

Une large gamme d'homopolymères et de copolymères de PHA a été produite, dans la plupart des cas à l'échelle du laboratoire. Quelques-uns d'entre eux ont attiré l'intérêt d'industriels et ont été commercialisés au cours des deux dernières décennies. Le *tableau II* p. 88 montre que la production de PHA est partagée entre un grand nombre de sociétés : plus de 24 sociétés sont connues dans le monde pour y être impliquées.

Les PHA, encore plus que d'autres polyesters, sont sensibles aux conditions de traitement thermomécanique. Lors de l'extrusion, on peut obtenir une diminution rapide de la viscosité et de la masse molaire en augmentant le niveau de cisaillement, la température, et/ou le temps de séjour [21]. De manière globale, ils présentent une sensibilité aux traitements thermiques et thermomécaniques relativement importante [24-25], qui varie en fonction de l'architecture macromoléculaire. Lors de sa mise en œuvre, l'homopolymère présente une fenêtre de mise en œuvre étroite entre fusion et dégradation. Cette fenêtre est plus large pour le copolymère PHBV, d'où

Tableau I - Structure chimique générique des polyhydroxyalcanoates (PHA) et principales structures des homopolymères.

Dénomination chimique	Abréviation	Valeur de x	Groupe R
poly(3-hydroxypropionate)	P(3HP)	1	Hydrogène
poly(3-hydroxybutyrate)	P(3HB)	1	Méthyle
poly(3-hydroxyvalérate)	P(3HV)	1	Éthyle
poly(3-hydroxyhexanoate) ou poly(3-hydroxycaproate)	P(3HHx) ou P(3HC)	1	Propyle
poly(3-hydroxyhexanoate)	P(3HH)	1	Butyle
poly (3-hydroxyoctanoate)	P(3HO)	1	Pentyle
poly (3-hydroxynonanoate)	P(3HN)		Hexyle
poly(3-hydroxydecanoate)	P(3HD)	1	Heptyle
poly(3-hydroxyundecanoate)	P(3HUD) ou P(3Hud)	1	Octyle
poly(3-hydroxydodecanoate)	P(3HDD) ou P(3HDD)	1	Nonyle
poly(3-hydroxyoctadecanoate)	P(3HOD) ou P(3HOD)	1	Pentadecanoyle
poly(4-hydroxybutyrate)	P(4HB)	2	Hydrogène
poly(5-hydroxybutyrate)	P(5HB)	2	Méthyle
poly(5-hydroxyvalérate)	P(5HV)	3	Hydrogène

Tableau II - Principaux PHA commercialisés et producteurs.

Société	Pays	Nom commercial	PHA	Pilote/ échelle indus.
Biomatera	Canada	Biomatera	PHBV	Pilote
Biomer	Allemagne	Biomer	PHB, PHBV	Pilote
Bio-On	Italie	Minerv PHA	PHB, PHBV	Pilote
Kaneka	Japon	Kaneka	PHBHx	Pilote, ind. ?
Meredian	États-Unis	Meredian PHA	Copolymères	Pilote, ind. ?
Metabolix	États-Unis	Mirel	Copolymères	Pilote, ind. ?
PHB Industrial/ Copersucar	Brésil	Biocycle	PHB, PHBV	Pilote, semi-ind.
PolyFerm Canada	Canada	VersaMer PHA	PHBV et autres copolymères	Pilote
Tianan	Chine	Enmat	PHBV	Industriel
Tianjin & DSM	Chine	GreenBio	Copolymères à base de 3HB et 4HB	Pilote
Tianzhu	Chine	Tianzhu	PHBHx	Pilote

son développement. Pour ce dernier, les propriétés varient en fonction de la teneur en HV : une augmentation de cette teneur induit une augmentation de la résistance aux chocs et une diminution de Tf et Tg, de la cristallinité, de la perméabilité à l'eau et la résistance à la traction [21].

En ce qui concerne la biodégradabilité, la cinétique de dégradation enzymatique est variable en fonction de la cristallinité, de la structure et de l'histoire thermomécanique du matériau. Les copolyesters bactériens sont plus facilement biodégradables que leurs équivalents obtenus par synthèse chimique [7].

La production mondiale de PHA est plus faible que celle du PLA : selon European Bioplastics, la capacité mondiale de production de PHA en 2010 est estimée à 88 000 t.

Depuis plus de dix ans, de nouvelles voies de synthèse sont à l'étude au niveau industriel. Metabolix (États-Unis) a développé une production de PHA à partir de cultures génétiquement modifiées. En 2010, cette société a annoncé qu'elle avait obtenu des essais concluants de production de PHA sur des plants de tabac modifiés, issus de biotechnologies vertes.

La production de PHA peut être destinée à remplacer partiellement les polymères synthétiques non dégradables dans différentes applications telles que l'emballage, l'agriculture, les loisirs, la restauration rapide, l'hygiène ainsi que le biomédical [20-21].

## Les agropolymères : cas de l'amidon

Les agropolymères sont principalement extraits de plantes. Ce sont pour la plupart des biopolymères biodégradables. Il existe différentes familles telles que les polysaccharides, les protéines, les lignines, les tanins..., ayant en commun un caractère relativement hydrophile. La plupart d'entre eux peuvent être traités directement, plastifiés, utilisés en tant que charges, ou chimiquement modifiés.

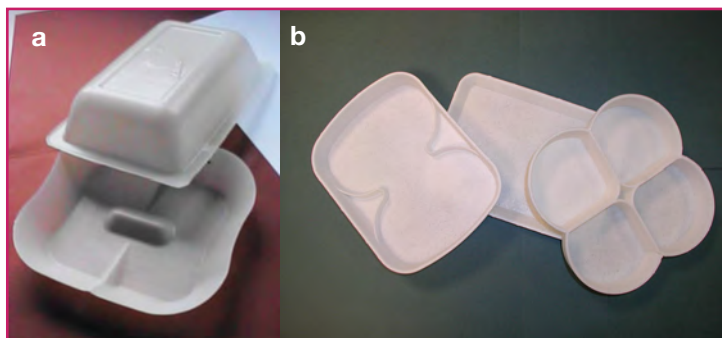
Les polysaccharides sont les biomacromolécules les plus abondantes dans la biosphère. Ces glucides complexes constitués de liaisons glycosidiques sont l'un des principaux éléments structurels des plantes et animaux exosquelettes (cellulose, carraghénane, chitine...).

Le thème de la cellulose et de ses dérivés a été largement traité dans différents ouvrages, notamment dans le volume 13 du Groupe français d'études et d'applications des polymères (GFP) intitulé *Les polymères naturels : structure, modifications, applications* [26]. La cellulose est l'agropolymère le plus abondant sur Terre. Il s'agit d'un polymère linéaire constitué d'unités de D-glucose liées par des liaisons  $\beta$  (1-4) et synthétisé par les plantes et les bactéries. Pour obtenir un matériau thermoplastique, la cellulose est modifiée, par exemple par acétylation pour obtenir l'acétate de cellulose.

Outre l'ouvrage du GFP, les matériaux à base de protéines ont également été abondamment traités dans différents ouvrages [27]. Aussi, la suite de ce chapitre sera principalement orientée sur un seul exemple d'agropolymère : l'amidon. La production mondiale de matériaux à base d'amidon pour des applications « bioplastiques » est loin d'être négligeable : selon European Bioplastics, elle a été estimée à 118 000 t en 2010, c'est-à-dire qu'elle est supérieure ou équivalente à celle du PLA.

### L'amidon natif

L'amidon est l'élément de stockage principal des ressources botaniques (céréales, légumineuses et tubercules). Il s'agit d'une matière première largement disponible sur Terre. Par exemple, la production européenne d'amidon était de 9 Mt en 2011, dont environ 40 % pour des applications non alimentaires très variées (papier, textile, bâtiment, adhésifs...).



Barquettes alimentaires à base d'amidon plastifié (a) et d'amidon expansé (b).

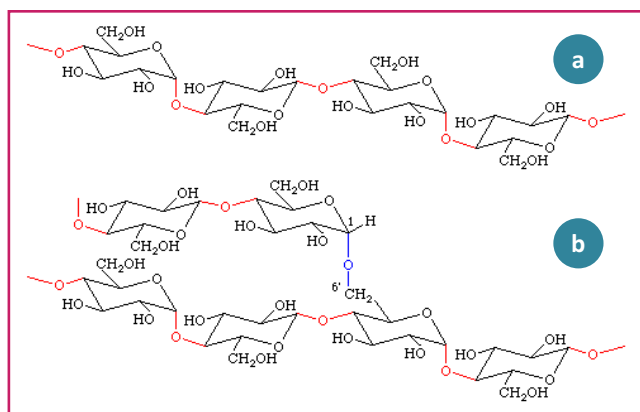


Figure 7 - Structures chimiques simplifiées de l'amylose (a) et de l'amylopectine (b).

Ses principales productions industrielles sont essentiellement basées sur quatre ressources : le maïs (76 %), le manioc (12 %), le blé (7 %) et la pomme de terre (4 %). Les autres amidons représentent moins de 1 %. Les principales zones productrices sont l'Amérique du Nord (33 %), la Chine (33 %), l'Europe (18 %), l'Asie du Sud (11 %), l'Amérique du Sud (5 %). L'ensemble Amérique du Nord, Chine et Europe représente au total 84 % de la production mondiale d'amidon, bien qu'il ne corresponde qu'à environ un tiers de la population mondiale.

L'amidon est un polysaccharide constitué d'unités D-glucose. Il est composé principalement de deux biomacromolécules différentes : l'amylose et l'amylopectine. L'amylose est linéaire avec peu de ramifications (figure 7a). Elle est formée essentiellement, mais pas uniquement, de liaisons  $\alpha$  (1-4) et a une masse molaire de  $10^5$ - $10^6$ . Les chaînes sont sous forme d'hélices simples ou doubles. L'amylopectine est un polymère hautement ramifié avec une masse molaire élevée ( $10^7$ - $10^9$ ) (figure 7b). Elle est formée de liaisons  $\alpha$  (1-4), mais aussi de liaisons  $\alpha$  (1-6) constituant les nombreux points de ramification qui ont lieu toutes les 22-70 unités de glucose [28].

L'amidon montre une organisation granulaire concentrée spécifique [8], à partir du hile. L'amylose et les régions de ramification de l'amylopectine forment principalement les zones amorphes. L'amylopectine est le composant dominant des zones cristallines de l'amidon natif avec les organisations en double hélice sur les chaînons pendants (ramifications).

Selon la ressource botanique, les granules d'amidon ont des dimensions allant du micron à plusieurs centaines de micromètres, avec une très grande variété de formes. Selon l'origine botanique, la composition de l'amidon est variable. Alors que les teneurs en amylose sont classiquement entre 20 et 30 %, certaines espèces de plantes mutantes présentent des compositions spécifiques. On peut trouver de l'amidon riche en amylose dans le cas de l'amylomais (jusqu'à 80 %) et de l'amidon très riche en amylopectine avec les maïs cireux (> 99 %).

Après les différentes étapes industrielles de fractionnement et de raffinage, l'amidon obtenu présente quelques traces de lipides, de gluten et de phosphate. Ces coproduits peuvent interférer sur les propriétés de l'amidon, par exemple par la formation de complexes lipidiques, ou par des réactions de Maillard (avec le gluten) lors de la mise en œuvre [28].

### L'amidon plastifié (amidon thermoplastique)

Mis à part pour des applications en tant que charge pour la production de plastiques renforcés, l'amidon natif est

généralement modifié et transformé [28] ; c'est le cas par exemple de l'amidon déstructuré ou gélatinisé. L'agent de déstructuration est habituellement de l'eau. On obtient la gélatinisation de l'amidon par combinaison d'eau (teneur élevée) et de température. La gélatinisation entraîne la déstructuration de l'amidon, en formant une pâte visqueuse avec réduction de Tf et de Tg. Selon le niveau de déstructuration et la quantité d'eau utilisée, on peut obtenir différents produits pour des applications très diverses. Nous pouvons par exemple obtenir des structures alvéolaires avec une teneur en eau assez élevée. Ces structures cellulaires (mousses) ont été développées pour obtenir des emballages et conditionnements choc, des matériaux isothermes et isolants phoniques [8].

En diminuant la teneur en eau (moins de 20 % en poids), la température de fusion se rapproche de la température de dégradation de l'amidon. Par exemple, Tf est égale à 220-240 °C pour l'amidon sec, à comparer à 220 °C qui est la température de début de dégradation de l'amidon [8].

Pour pallier la perte en eau lors de la mise en œuvre et une forte dégradation du matériau, mais aussi pour éviter par exemple la formation de structures alvéolaires en sortie d'extrudeuse, on utilise un plastifiant non volatil tel que le glycérol ou d'autres polyols (sorbitol, xylitol, fructose, polyéthylène glycol...) [8, 28]. Des mélanges de ces différents polyols sont aussi employés [29]. D'autres plastifiants notamment azotés (urée, dérivés d'ammonium, amines...) peuvent être aussi utilisés. Les amidons plastifiés ainsi élaborés sont communément appelés « amidons thermoplastiques » ou TPS (« thermoplastic starch ») [8]. Les premiers brevets et articles dans le domaine ont été publiés à la fin des années 1980. L'amidon plastifié combine l'amidon, un plastifiant non volatil à point d'ébullition élevé et souvent de l'eau. Il est généralement transformé en utilisant des machines de plasturgie conventionnelles (extrudeuse, presse à injecter...) [8].

### Problématiques et stratégies

En tant que matériau, l'amidon plastifié présente des propriétés intéressantes : c'est un matériau largement disponible qui est à la fois biodégradable et renouvelable. En outre, par rapport à des thermoplastiques synthétiques, il est plutôt bon marché (environ 0,5 €/kg). L'amidon plastifié peut être facilement élaboré et mis en œuvre avec des machines de transformation conventionnelle de plasturgie. Il présente, en fonction du niveau de plastifiant et de la ressource botanique, un large éventail de propriétés et comportements. Mais malheureusement, en tant que mono-matériau, diverses limites le handicapent pour trouver facilement de nouvelles applications. Par exemple, l'amidon plastifié montre une grande sensibilité à l'humidité, des propriétés mécaniques plutôt faibles par rapport aux polymères synthétiques conventionnels et une forte évolution des propriétés après mise en œuvre. Pour surmonter ces faiblesses, différentes stratégies ont été élaborées au cours des dernières décennies.

La modification chimique de l'amidon s'est développée depuis la première moitié du XX<sup>e</sup> siècle, dans la continuité des recherches sur la cellulose modifiée. En 1942, Mullen et Pacsu ont publié une analyse critique sur la méthode de préparation de différents esters d'amidon [8]. En 1943, les mêmes auteurs ont présenté une utilisation industrielle de ces composés [8]. Depuis, une très abondante littérature a été publiée sur ce sujet. L'estérification de l'amidon (par exemple par acétylation) améliore sa résistance à l'eau [30],

mais peut réduire sa biodégradabilité à partir d'un certain degré de substitution (DS). On peut contrôler DS entre 0 et 3 pour obtenir un caractère hydrophobe précis. Par ailleurs, ces amidons modifiés peuvent être plastifiés, par exemple avec des citrates.

Toutefois, cette stratégie de modification chimique est fortement limitée dans la mesure où la toxicité et la diversité des sous-produits obtenus au cours des réactions chimiques sont un point très limitant. Ceci augmente le coût des étapes de synthèse de par la nécessité d'une purification et d'une élimination des sous-produits formés. Par ailleurs, ces réactions chimiques ont souvent un impact sur la longueur des chaînes de polysaccharide, qui sont partiellement dégradées lors de la synthèse. Les propriétés mécaniques respectives sont diminuées [8]. Ces amidons modifiés ne remplissent pas toutes les exigences pour se substituer à l'amidon dans ses applications classiques. Cependant, de nouveaux produits commerciaux ont très récemment vu le jour et trouvent de nouveaux marchés. Il s'agit notamment de matériaux obtenus par greffage sur l'amidon. C'est le cas du Gaïalene® (Roquette, France), obtenu récemment par greffage avec des polyoléfinés, et qui est donc non biodégradable.

Depuis une ou deux décennies, une autre stratégie plus prometteuse et souvent plus respectueuse de l'environnement a été développée. Il s'agit d'une approche par formulation, en associant l'amidon plastifié, et en formant des systèmes hétérophasés avec d'autres composants tels que des composés biodégradables (pour préserver la biodégradabilité d'ensemble) et/ou des renforts et charges (pour modifier certaines propriétés physiques et mécaniques). On peut obtenir ainsi différentes structures (composites, nano-composites, multicouches, mélanges...) [31] avec des propriétés modifiées souvent adaptées aux applications visées.

## Remerciements

L'auteur tient à remercier vivement l'ensemble des chercheurs (collègues français et étrangers, collaborateurs, post-doctorants, doctorants, masters...) qui l'ont accompagné avec bienveillance depuis 1996 dans ce domaine de recherche passionnant et dynamique, ainsi que l'ensemble des financeurs, que ce soit des entreprises ou des institutions nationales et internationales qui lui ont fait confiance. Il remercie particulièrement Stéphanie Laurichesse pour sa patience lors de la relecture de cet article.

## Notes et références

- [1] Halary J.L., Avérous L., Borredon M.E., Bourbigot S., Boutevin B., Bunel C. *et al.*, Matériaux polymères et développement durable, *L'Act. Chim.*, **2010**, 338-339, p. 41.
- [2] Steinbuechel A., *Biopolymers - General Aspects and Special Applications*, Wiley-VCH, **2003**.
- [3] <http://en.european-bioplastics.org>
- [4] [www.plasticseurope.org](http://www.plasticseurope.org)
- [5] Vert M., Doi Y., Hellwich K.H., Hess M., Hodge P., Kubisa P. *et al.*, Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012), *Pure Appl. Chem.*, **2012**, 84(2), p. 377.
- [6] Chandra R., Rustgi R., *Biodegradable polymers*, *Prog. Polym. Sci.*, **1998**, 23(7), p. 1273.
- [7] Avérous L., Pollet E., *Environmental Silicate Nano-Biocomposites*, L. Avérous, E. Pollet (eds), Springer, **2012**, p. 13-39.
- [8] Avérous L., *Biodegradable multiphase systems based on plasticized starch: A review*, *J. Macromol. Sci.: Polymer. Rev.*, **2004**, 44(3), p. 231.

- [9] Södergård A., Stolt M., Properties of lactic acid based polymers and their correlation with composition, *Prog. Polym. Sci.*, **2002**, 27(6), p. 1123.
- [10] Jacobsen S., Degee P.H., Fritz H.G., Dubois P.H., Jerome R., Polylactide (PLA): a new way of production, *Polym. Eng. Sci.*, **1999**, 39(7), p. 1311.
- [11] Okada M., Chemical syntheses of biodegradable polymers, *Prog. Polym. Sci.*, **2002**, 27(1), p. 87.
- [12] Albertsson A.-C., Varma I.K., Aliphatic polyesters: synthesis, properties and applications, *Adv. Polym. Sci.*, **2002**, 157, p. 1.
- [13] Avérous L., *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics*, William Andrew Publishing, Boston, **2013**, p. 171-188.
- [14] Martin O., Avérous L., Poly(lactic acid): plasticization and properties of biodegradable multiphase systems, *Polymer*, **2001**, 42(14), p. 6209.
- [15] Labrecque L.V., Kumar R.A., Dave V., Gross R.A., McCarthy S.P., Citrate esters as plasticizers for poly(lactic acid), *J. Appl. Polym. Sci.*, **1997**, 66(8), p. 1507.
- [16] Martino V.P., Ruseckaite R.A., Jiménez A., Avérous L., Correlation between composition, structure and properties of poly(lactic acid)/polyadipate-based nano-biocomposites, *Macromol. Mater. Eng.*, **2010**, 295(6), p. 551.
- [17] Courgneau C., Domenek S., Guinault A., Avérous L., Ducruet V., Analysis of the structure-properties relationships of different multiphase systems asBed on plasticized poly(lactic acid), *J. Polym. Environ.*, **2011**, 19(2), p. 362.
- [18] Courgneau C., Domenek S., Lebossé R., Guinault A., Avérous L., Ducruet V., Effect of crystallization on barrier properties of formulated polylactide, *Polym. Int.*, **2012**, 61(2), p. 180.
- [19] Domenek S., Courgneau C., Ducruet V., *Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications*, S. Kalia, L. Avérous (eds), John Wiley & Sons, **2011**, p. 183.
- [20] Sudesh K., Abe H., Doi Y., Synthesis, structure and properties of polyhydroxyalkanoates: biological polyesters, *Prog. Polym. Sci.*, **2000**, 25(10), p. 1503.
- [21] Pollet E., Avérous L., *Biopolymers - New Materials for Sustainable Films and Coatings*, D. Plackett (ed), John Wiley & Sons, **2011**, p. 65-86.
- [22] Albuquerque M.G.E., Martino V., Pollet E., Avérous L., Reis M.A.M., Mixed culture polyhydroxyalkanoate (PHA) production from volatile fatty acid (VFA)-rich streams: Effect of substrate composition and feeding regime on PHA productivity, composition and properties, *J. Biotechnol.*, **2011**, 151(1), p. 66.
- [23] Escapa I.F., Morales V., Martino V.P., Pollet E., Avérous L., García J.L. *et al.*, Disruption of  $\beta$ -oxidation pathway in *Pseudomonas putida* KT2442 to produce new functionalized PHAs with thioester groups, *Appl. Microbiol. Biot.*, **2011**, 89(5), p. 1583.
- [24] Bordes P., Hablot E., Pollet E., Avérous L., Effect of clay organomodifiers on degradation of polyhydroxyalkanoates, *Polym. Degrad. Stabil.*, **2009**, 94(5), p. 789.
- [25] Hablot E., Bordes P., Pollet E., Avérous L., Thermal and thermo-mechanical degradation of poly(3-hydroxybutyrate)-based multiphase systems, *Polym. Degrad. Stabil.*, **2008**, 93(2), p. 413.
- [26] [www.gfp.asso.fr/livres-gfp](http://www.gfp.asso.fr/livres-gfp)
- [27] Zhang L., Zeng M., *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*, M. Belgacem, A. Gandini (eds), Elsevier, **2008**, p. 479-493.
- [28] Xie F., Halley P.J., Avérous L., Rheology to understand and optimize processability, structures and properties of starch polymeric materials, *Prog. Polym. Sci.*, **2012**, 37(4), p. 595.
- [29] Chivrac F., Pollet E., Dole P., Avérous L., Starch-based nano-biocomposites: Plasticizer impact on the montmorillonite exfoliation process, *Carbohydr. Polym.*, **2010**, 79(4), p. 941.
- [30] Fringant C., Desbrières J., Rinaudo M., Physical properties of acetylated starch-based materials: Relation with their molecular characteristics, *Polymer*, **1996**, 37(13), p. 2663.
- [31] Avérous L., Pollet E., Biorenewable nanocomposites, *MRS Bull.*, **2011**, 36(9), p. 703.



### Luc Avérous

est professeur à l'ECPM-Université de Strasbourg et leader du groupe de recherche BioTeam\*.

\* UMR 7515, Université de Strasbourg, 25 rue Becquerel, F-67087 Strasbourg Cedex 2.  
Courriel : luc.averous@unistra.fr  
[www.biodeg.net](http://www.biodeg.net)

# La recherche de mécanismes en chimie théorique

Nicolas Chéron, Jean-François Le Maréchal et Paul Fleurat-Lessard

## Résumé

Comment prévoir le profil d'une promenade en montagne sans carte topographique ? Transposée à la recherche d'un mécanisme, telle est la question à laquelle tente de répondre cet article. L'étude du mécanisme de réactions chimiques et biochimiques est un domaine de recherche très actif, tant du point de vue expérimental que théorique. Cet article donne aux chimistes expérimentateurs les clés pour comprendre les bases de la chimie théorique propres à la détermination d'un mécanisme. Après avoir introduit les notions de base sur les mécanismes du point de vue du chimiste théoricien, il explique comment se déterminent un état de transition et un chemin réactionnel. L'approche est celle de la pratique réelle des chercheurs, pour qui l'économie du temps de calcul est primordiale. Ces méthodes sont enfin appliquées à l'étude de la réaction d'insertion de Nef. Cet article est principalement destiné à des étudiants, des enseignants ou des chercheurs non spécialistes du domaine et désireux de découvrir ce domaine de recherche.

## Mots-clés

**Mécanisme, réactivité, chemin de réaction, chimie théorique, évènements rares.**

## Abstract

### The search of mechanisms in theoretical chemistry

How to anticipate the profile of a mountain hike with no topographical map? Transposing this question to the study of a mechanism is the issue of this paper. The mechanistic study of chemical and biochemical reactions is an active field of research, both from an experimental and from a theoretical point of views. This article aims at presenting standard methods used in theoretical chemistry to study the mechanism of chemical reactions to experimental chemists. It first describes potential energy surface structure, before focusing on the methods used for transition states localization and those used to look for the reaction path. These methods are then applied to find the mechanism of the Nef reaction. This article is devoted to students, teachers or non-specialized researchers willing to discover this field of research from a methodological point of view.

## Keywords

**Mechanism, reactivity, chemical path, theoretical chemistry, rare events.**

La détermination des mécanismes réactionnels a intéressé les chimistes dès les années 1860, bien avant que l'écriture des formules de Lewis ne soit établie [1]. La méthode empirique a longtemps été la seule approche utilisée, consistant à mettre en relation des observations expérimentales, notamment stéréochimiques et isotopiques. Un siècle après ces premières tentatives, le développement de la chimie théorique a permis d'envisager une approche complémentaire. Les objectifs sont restés les mêmes, mais les méthodes diffèrent, de même que toute une partie du vocabulaire employé. Ces différences seront explicitées en adoptant la définition de Carey & Sundberg [2] pour qui un mécanisme est la séquence d'étapes décrivant par quels intermédiaires réactionnels et quels états de transition les réactifs conduisent aux produits.

Même si les représentations 3D des mécanismes ne rivaliseront pas de si tôt avec les jeux vidéo, les méthodes de calcul et les outils dynamiques (voir *annexe 1\**) donnent déjà accès à de précieuses informations. Cet article vise à donner aux chimistes expérimentateurs quelques clés pour comprendre la démarche de leurs collègues théoriciens. Parmi ces clés, nous allons expliquer ce qui se cache derrière des acronymes « mystérieux ». Les méthodes auxquelles ils correspondent sont expliquées et leur comparaison illustre les difficultés rencontrées lors des études théoriques<sup>(1)</sup>.

Les méthodes de la chimie théorique sont expliquées dans de nombreux articles mais, contraintes par les formats des journaux spécialisés, elles sont peu accessibles aux expérimentateurs. À notre connaissance, établir des ponts entre chimie théorique et chimie expérimentale dans le cas de la détermination de mécanismes n'avait jamais été proposé dans un article francophone. Cet article ambitionne de combler cette lacune. Pour sa lecture, quelques connaissances de chimie organique physique suffisent. Les développements spécialisés ont été reportés en *annexe\** où le lecteur trouvera des figures dynamiques qui permettent de regarder les illustrations sous différents angles, voire de jouer avec.

Dans une partie présentant le cadre de l'étude, les notions de réactif, de produit, d'intermédiaire réactionnel et d'état de transition seront reconsidérées avec un point de vue théorique. Le chemin réactionnel qui les relie serait simple à déterminer si les énergies de chaque état du système étaient accessibles (on appelle ici « état » l'agencement des atomes les uns par rapport aux autres). Ces calculs ne sont, dans la pratique, jamais entrepris car ils nécessiteraient trop de temps. Le problème est donc le même que de trouver le profil d'une promenade en montagne ou d'une étape du Tour de France alors qu'aucune carte topographique n'est disponible. Tout l'art de la chimie théorique des mécanismes

réactionnels consiste à trouver certains éléments topographiques, à moindre coût, pour déterminer le chemin réactionnel ou au moins proposer un chemin réactionnel plausible. Pour atteindre ces objectifs, les notions de base seront redéfinies, les idées sous-jacentes à quelques méthodes de calcul seront présentées et un exemple de recherche actuelle sera exposé.

## Cadre de l'étude

### Décrire un mécanisme

Les réactions de substitution  $S_N1$ ,  $S_N2$  et la réaction de formation d'un ester par la réaction d'un chlorure d'acyle avec un alcoolate sont trois mécanismes de base de la chimie organique utilisés ici pour préciser certaines notions, non pas avec le point de vue du chimiste organicien, mais avec celui du chimiste théoricien. Ces trois réactions consistent à remplacer un groupe sortant par un groupe entrant. Sans préjuger d'un éventuel chemin réactionnel, une approche théorique possible pour décrire leurs mécanismes est de caractériser l'approche du nucléophile entrant par sa distance  $d_1$  avec le centre électrophile et le départ du nucléophile sortant par sa distance  $d_2$  avec le centre électrophile (figure 1). L'énergie  $E_p$  du système chimique peut alors être calculée pour tous les couples de distances  $d_1$  et  $d_2$  (de manière similaire à ce qui est présenté figure 2). Ceci est présenté à des fins explicatives et pour illustrer le fait que d'autres approches sont bien plus économiques, mais de tels calculs ne sont jamais effectués dans la pratique.

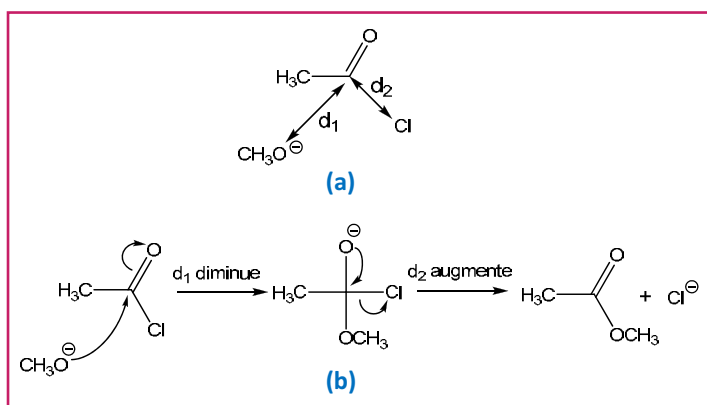


Figure 1 - (a) Définition de  $d_1$  et  $d_2$ ; (b) Relation entre  $d_1$ ,  $d_2$  et le mécanisme d'estérification.

Les différentes méthodes de calcul de l'énergie potentielle ne sont pas abordées dans cet article car les outils présentés ici n'en dépendent pas. Il suffira de savoir qu'elles dépendent des coordonnées des atomes qui peuvent être cartésiennes ( $x$ ,  $y$ ,  $z$ ) ou internes à la molécule (distances entre atomes, comme  $d_1$  et  $d_2$  dans la figure 1, angles et angles dièdres). L'incidence du choix d'un type de coordonnées n'est pas non plus discutée ici.

Quand deux paramètres suffisent pour décrire un mécanisme, la fonction  $E_p = f(d_1, d_2)$ , appelée surface d'énergie potentielle (SEP), peut être représentée sur un graphe en trois dimensions. Celui correspondant à l'estérification est donné figure 2. Étudier le mécanisme de  $(R) \rightarrow (P)$  revient à chercher une *chemin reliant la position des réactifs (point R) et celle des produits (point P) sur la surface d'énergie potentielle*. Ce chemin est assimilable au trajet d'un randonneur

dans un relief montagneux partant du point R (correspondant au point des réactifs sur la surface  $E_p$ ) pour arriver au point P (point des produits). Parmi tous les chemins possibles, il y en a un plus probable que les autres qu'on appelle chemin d'énergie minimum et, par abus de langage, chemin de réaction : c'est le chemin dont le maximum sur la surface est le plus faible par rapport à tous les autres chemins possibles. Notre randonneur préférera franchir le col le moins haut possible car cela lui demandera moins d'efforts. Pour un système chimique, la probabilité de passer par un col moins haut sera beaucoup plus grande (la probabilité évolue exponentiellement avec la barrière à franchir). Chercher un mécanisme consiste donc à calculer les énergies de différents états de transition : le chemin de réaction passera par les états de transition les plus bas en énergie. De même que les randonneurs utilisent des cartes topographiques en deux dimensions, la représentation de la surface  $E_p$  peut aussi être représentée sur un plan, comme c'est le cas dans le plan ( $d_1$ ;  $d_2$ ) de la figure 2.

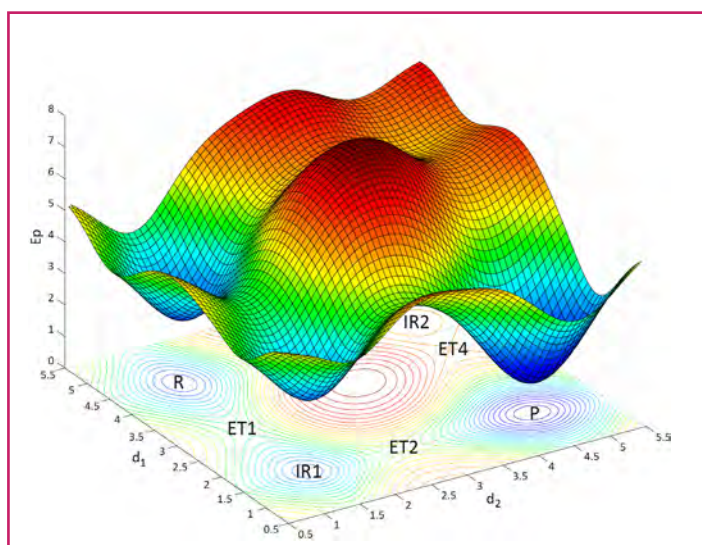


Figure 2 - Représentation de l'énergie potentielle du système chimique de la figure 1 en fonction des distances  $d_1$  et  $d_2$ .

Au-dessus, la surface  $E_p = f(d_1, d_2)$ ; en dessous, sa projection sur le plan ( $d_1$ ;  $d_2$ ) avec les conventions utilisées pour les cartes topographiques. Un état de transition ET3 n'est pas visible sur cette figure, mais il se trouve aux coordonnées approximatives  $d_1 = 4,5$ ;  $d_2 = 3$ .

La figure 2 permet de se représenter efficacement plusieurs concepts à la façon des théoriciens :

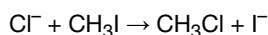
- Certains points de la surface correspondent à des états particuliers ; il s'agit du point des réactifs (R), de celui des produits (P), de ceux des états intermédiaires (IR) et de ceux des états de transition (ET). Déterminer la position précise de ces points nécessite souvent deux étapes : une première permet de trouver approximativement un de ces points ; une seconde le localise précisément en minimisant ou maximisant localement  $E_p$  (selon les besoins).
- Cette seconde étape est appelée optimisation de la géométrie de la structure correspondant au point.
- Les points R, P, IR et ET sont appelés points stationnaires car la dérivée de  $E_p$  suivant toutes les directions est nulle en ces points (ce sont des maxima ou des minima selon toutes les directions).
- Sur la figure 2, deux chemins réactionnels apparaissent : (1)  $R \rightarrow ET1 \rightarrow IR1 \rightarrow ET2 \rightarrow P$ , qui passe par des états de transition d'énergie 4,04 et 4,54 unités arbitraires d'énergie (uE) ; et (2)  $R \rightarrow ET3 \rightarrow IR2 \rightarrow ET4 \rightarrow P$ , dont les énergies

correspondantes sont 6,15 et 5,85 uE. Ce dernier est bien sûr moins favorable, mais c'est un véritable chemin réactionnel, alors que toute autre ligne sur cette surface n'en est pas un. En effet, ne sont des chemins réactionnels que les trajectoires pour lesquelles tout point est un minimum dans la direction perpendiculaire au chemin. Tout se passe comme si le randonneur ne se déplaçait que dans les vallées qui mènent aux cols et jamais à flanc de coteau.

- Une réaction type  $S_N1$  empruntera un chemin réactionnel semblable à  $R \rightarrow ET3 \rightarrow IR2 \rightarrow ET4 \rightarrow P$  : IR2 correspond au carbocation pour lequel  $d_1$  et  $d_2$  sont simultanément grands. Dans le cas d'une réaction entre un méthanolate et le chlorure d'éthanoyle, IR2 est formé d'un ion acylium, d'un chlorure et de l'ion méthanolate.
- Une trajectoire qui couperait de R à P en ligne droite serait associée à une réaction concertée au sens où  $d_1$  diminuerait en même temps que  $d_2$  augmenterait. Cette trajectoire n'est pas un mécanisme possible sur cette surface, mais représente le cas de la  $S_N2$ .

### Réactifs, produits et états de transition

Les notions de réactifs, de produits et d'états de transition ont été utilisées ci-dessus avec le sens commun en chimie organique. Le point de vue utilisé en chimie théorique est proposé ici à partir de l'exemple de la substitution d'équation (voir également *annexe 2\**) :



Oublions un instant que les atomes appartiennent à des molécules, et considérons un système chimique constitué d'un atome C, de trois atomes H, d'un atome I et d'un atome Cl. La charge négative n'est pas discutée ici. Imaginons que les six atomes du système chimique puissent prendre toutes les positions possibles de l'espace. Chaque atome étant repéré par ses trois coordonnées  $x$ ,  $y$  et  $z$ , il faut donc  $3 \times 6 = 18$  coordonnées (dont 12 seulement sont indépendantes<sup>(2)</sup>). Il en faut beaucoup plus si le solvant est considéré. Pour chaque combinaison des 12 coordonnées, il est possible de calculer l'énergie  $E_p$  du système. La représentation de  $E_p$ , qui n'est pas commode à imaginer, est une surface dans un espace à 13 dimensions : 12 coordonnées et l'énergie. Cette surface peut posséder de nombreux minima et maxima locaux d'énergie. Les minima locaux correspondent aux espèces stables comme les réactifs, les produits et les intermédiaires réactionnels – points R, P et IR sur la surface de potentiel respectivement. Partant de ces points, si on déplace un peu le système dans une direction quelconque, il revient à sa position initiale (*figure 3a*).

De même, les états de transition sont des cols en termes topographiques : l'énergie est minimale dans toutes les directions sauf une et une seule (correspondant à la coordonnée de réaction) où elle est maximale. Dans cette zone, la surface  $E_p$  ressemble à une selle de cheval, et ce point particulier est appelé *point selle d'ordre 1*. Ainsi, un col entre deux montagnes est un point selle d'ordre 1 (*figure 3c*).

Parmi tous les minima locaux, deux correspondent aux réactifs et aux produits. Les autres sont redoutés des chimistes théoriciens car ils correspondent à des impasses dans lesquelles leurs calculs peuvent parfois les mener quand ils sont à la recherche d'un mécanisme réactionnel. Une image de l'abondance de ces minima locaux se voit sur une surface dans un espace à trois dimensions (*figure 4 p. 94*).

### Représentation à une dimension

Nous avons vu qu'il était plus commode de représenter la surface  $E_p$  en deux dimensions avec sa projection sur le plan ( $d_1$  ;  $d_2$ ) qu'en trois. De même, lorsque l'on présente/cherche le mécanisme réactionnel, la représentation à une unique dimension suffit. Pour cela, il faut se limiter à ne considérer que l'énergie le long du chemin réactionnel. Avec la métaphore du randonneur, le chemin qu'il parcourt devient l'axe des abscisses et le graphe devient l'altitude au cours de sa promenade (*figure 5 p. 94*). La position sur le chemin réactionnel est repérée par une abscisse curviligne, qui peut donc être choisie comme *coordonnée de réaction*. Une distance, une différence de distance ou un angle dièdre sont aussi des coordonnées de réaction envisageables.

Établir un chemin réactionnel complet n'est en général pas nécessaire. Les seules informations utiles sont les énergies des réactifs, des états de transition, des intermédiaires réactionnels et des produits, ce que représente le graphe de la *figure 6 p. 94*. Les deux chemins possibles de l'estérification dont il a été question *figure 2 y* sont reportés. Le chimiste organicien retrouve que son mécanisme usuel est bien le plus favorable.

### Recherche d'états de transition

D'après la définition d'un mécanisme donnée par Carey & Sundberg [2], la connaissance des réactifs, produits, intermédiaires et états de transition est suffisante pour comprendre une transformation chimique et la façon dont les réactifs ont évolué les uns par rapport aux autres (et donc quel mécanisme a été suivi). L'énergie d'activation permet ensuite d'accéder à la cinétique de la réaction grâce à des théories comme celles d'Arrhenius [4] ou d'Eyring [5]. Dans le cas de réactions sous contrôle cinétique, la connaissance

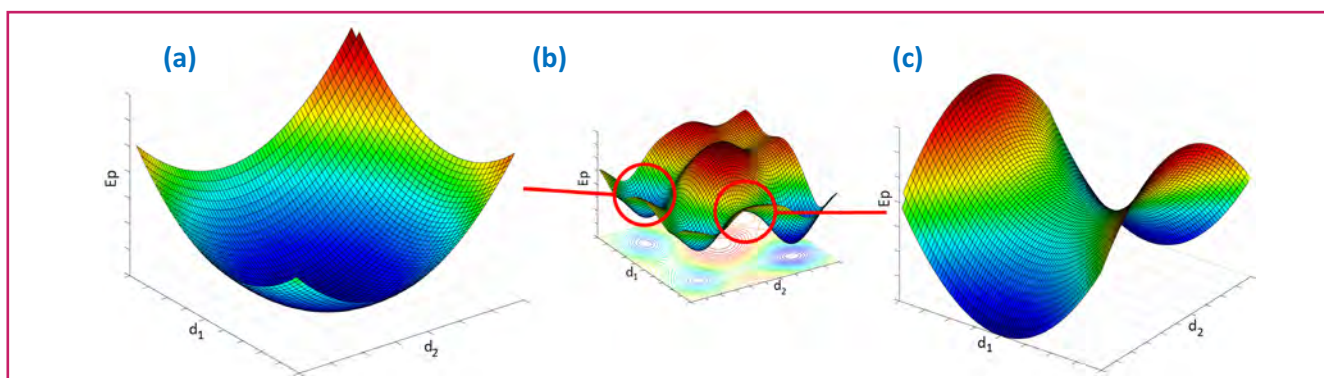


Figure 3 - (a) Minimum local (un creux : R, P ou IR) ; (b) surface modèle ; (c) point selle d'ordre 1 (ET).

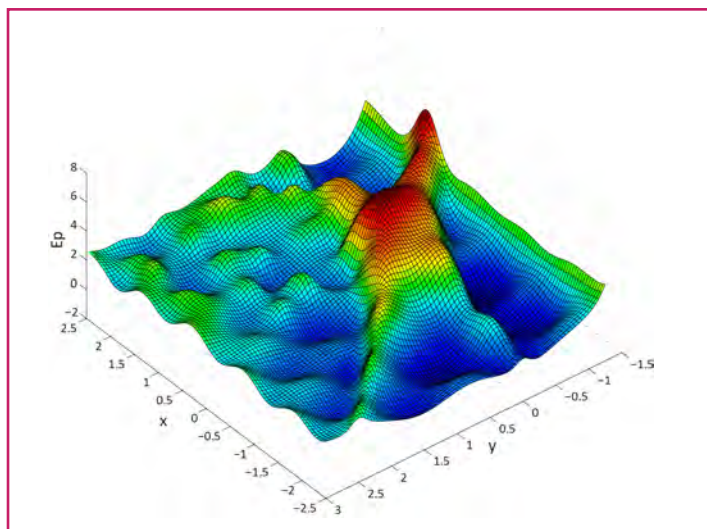


Figure 4 - Exemple de surface avec minima locaux.

La surface sans minima locaux est la surface modèle utilisée dans la suite de l'article et présentée dans les annexes\* 1 et 8.

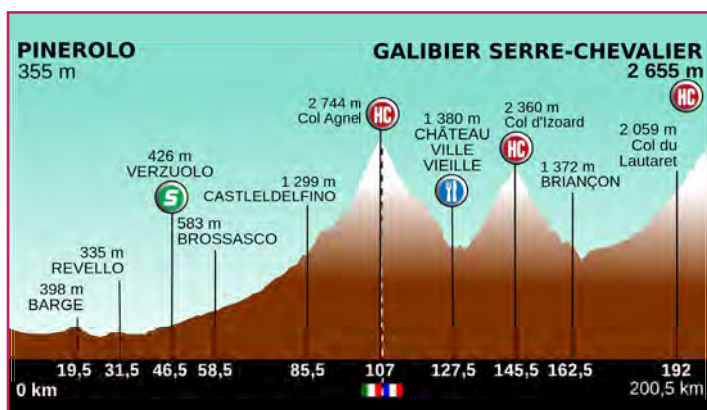


Figure 5 - Profil d'une étape du Tour de France, analogue d'une représentation à une dimension d'un chemin réactionnel [3].

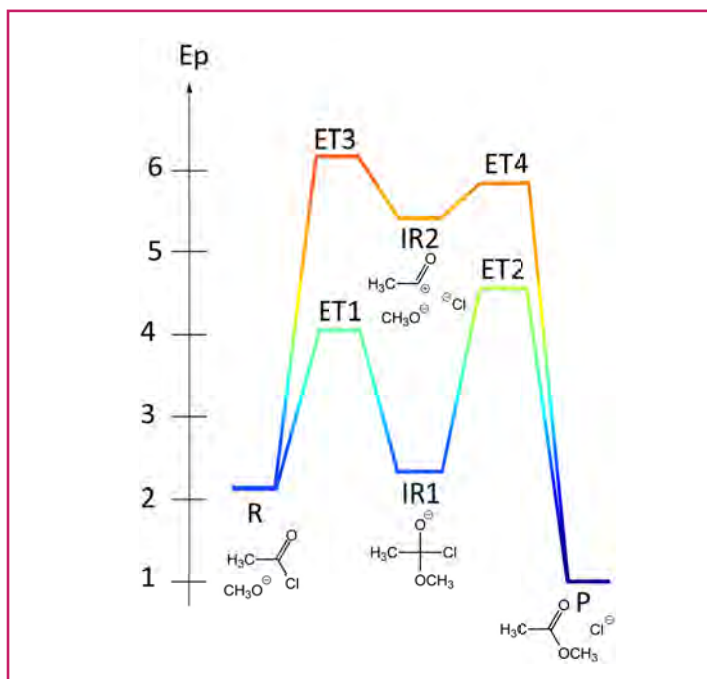


Figure 6 - Représentation à une dimension de l'énergie des états particuliers des deux mécanismes de la réaction d'estérification correspondant à la figure 2.

de la différence d'énergie entre deux états de transition appartenant chacun à un chemin réactionnel permet de prédire la proportion des produits obtenus. Il existe de nombreuses méthodes pour trouver les structures et les énergies des minima locaux, et seule la recherche des états de transition reste un problème méthodologique actuellement. Pourtant, la connaissance des états de transition est déterminante pour comprendre le mécanisme suivi au cours de la transformation chimique.

Dans cette partie, nous présentons des méthodes pour trouver un état de transition entre deux minima locaux. Une fois la structure de l'état de transition obtenue, le chemin de réaction le reliant aux minima locaux s'obtient en suivant la direction de la plus grande pente [6-7]. Une méthode efficace pour cela est celle introduite en 1970 par Kenichi Fukui, prix Nobel de chimie 1981, et appelée *coordonnée de réaction intrinsèque* (IRC : « *intrinsic reaction coordinate* » en anglais) qui est décrite dans l'annexe 3\*.

### Cas simple : balayage de la coordonnée de réaction

Si la description du mécanisme se réduit à une unique coordonnée (distance, angle ou angle dièdre), on calcule l'énergie du système pour chaque valeur de cette coordonnée (soit une vingtaine de calculs en général) entre ses valeurs initiale et finale (méthode dite du *scan* en anglais). La structure géométrique du système, au maximum énergétique, est alors proche de celle de l'état de transition recherché. Les méthodes usuelles d'optimisation de géométrie conduisent ensuite à sa structure. Si le scan réalisé en partant des réactifs ou en partant des produits conduit à des chemins différents [8-9], l'usage d'une méthode plus robuste s'impose.

### Un calcul trop coûteux

Pour les réactions comme l'estérification décrite ci-dessus, deux coordonnées de réaction sont nécessaires (figure 1). La méthode précédente n'est donc pas utilisable. Une approche possible serait de réaliser un balayage suivant chaque coordonnée, de manière similaire à ce qui est présenté figure 2. Il faudrait donc envisager  $20^2 = 400$  calculs, ce qui aurait un coût excessif d'autant que seules les valeurs des états de transition et des intermédiaires réactionnels sont utiles. Dès lors, la question se pose de trouver une méthode qui « devine » où sont ces points dont il faut calculer l'énergie. Pour notre randonneur, cela correspondrait à connaître certains points de passage obligés sans avoir accès à une carte topographique complète des montagnes qu'il s'apprête à franchir.

### Cas intermédiaire : les méthodes LST et QST

Une première approche pour trouver le chemin réactionnel sans connaître la surface d'énergie potentielle est la méthode LST (« *linear synchronous transit* ») ; celle-ci commence par considérer un parcours en ligne droite<sup>(3)</sup> (et pas en suivant un chemin réactionnel comme dans le cas du scan) entre R et P (figure 7a). L'énergie le long de ce parcours est déterminée et la géométrie associée à l'énergie la plus haute (point L1) est prise comme point de départ pour la recherche de l'état de transition. La géométrie en L1 est alors optimisée perpendiculairement au chemin pour obtenir le point L2. Celui-ci, dans les bons cas, est proche de l'état de



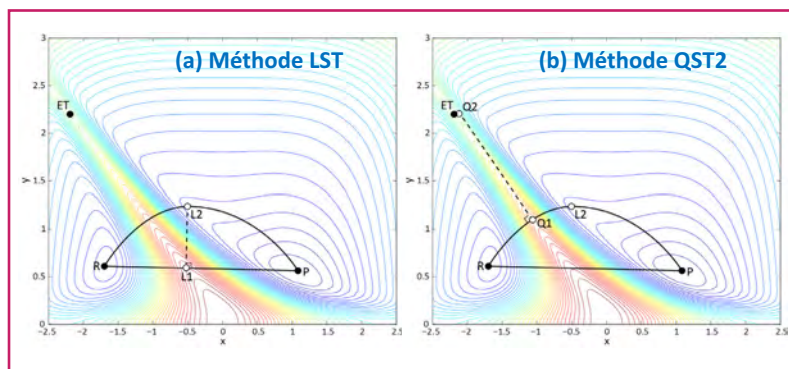


Figure 7 - Illustration des méthodes LST et QST2.

L1 est un maximum sur R-P et L2 est un minimum sur L1-L2. Q1 est un maximum sur R-L2-P et Q2 est un minimum sur Q1-Q2. ET est une optimisation de Q2.

transition ET cherché. Bien que cette procédure soit similaire à un scan, il est important de réaliser que lors des calculs LST, la coordonnée de réaction est liée à l'ensemble des changements de géométrie entre réactifs et produits, à la différence des scans pour lesquels seuls les changements d'une coordonnée sont pris en compte. Hélas, cette méthode se révèle généralement peu efficace et s'utilise donc rarement seule.

Une amélioration de la méthode LST consiste à ne plus partir d'une droite entre les points R et P, mais d'une parabole : méthode QST (« quadratic synchronous transit ») ; la parabole confère plus de flexibilité pour la recherche de ET [8]. Pour décrire une parabole, il faut des informations sur trois structures : R, P et un troisième point. Dans la méthode QST2, la troisième structure utilisée pour la première itération est L2, obtenue par la procédure LST. Dans la méthode QST3, c'est l'utilisateur qui fournit une structure proche de l'état de transition grâce à son intuition. La figure 7b décrit la méthode QST2 à partir d'une surface modèle. Le point L2 est construit comme précédemment avec la méthode LST. Sur la parabole passant par R, L2 et P, le point Q1 est situé au maximum d'énergie. Le point Q2, minimum d'énergie sur la perpendiculaire en Q1 à la parabole, est ensuite calculé. On peut alors utiliser Q2 pour construire une nouvelle parabole et répéter le processus. On alterne ainsi les étapes de minimisation et de maximisation jusqu'à ce que la structure obtenue ne soit presque plus modifiée à chaque itération. La structure finale sera donc un maximum le long de la parabole et un minimum perpendiculairement à celle-ci. Cette structure sera alors une bonne approximation du vrai état de transition. Dans le cas particulier de l'exemple, la structure de Q2 est suffisamment proche de l'état de transition pour qu'on puisse arrêter la procédure à cette étape. Des améliorations de ces méthodes sont présentées dans l'annexe 4\*.

## Recherche de chemins réactionnels : les chaînes d'états

Dans certains cas, aucun état de transition n'émerge des méthodes précédentes. Cela arrive avec certaines surfaces d'énergie et/ou avec des situations où plus de deux coordonnées de réaction sont nécessaires (voir plus loin la réaction de Nef). Ce qui suit montre comment le chemin peut être déterminé sans que l'état de transition ne soit connu. Parmi les différentes méthodes [9-10], nous nous focaliserons sur celles qui reposent sur les chaînes d'états car ce sont les plus robustes et les plus utilisées à l'heure actuelle.

## Présentation

Comme pour la méthode LST, les points R et P, préalablement optimisés, sont reliés par un parcours initial en ligne droite. L'idée de la recherche de mécanisme par les chaînes d'états est de faire évoluer un chemin initial pas à pas afin qu'il converge vers le chemin d'énergie minimum. Pour déformer ce parcours vers le chemin réactionnel, il est discrétisé en états intermédiaires. La méthode utilisée, appelée *méthode des chaînes d'états*, revient à considérer le parcours comme un collier de perles posées sur la surface d'énergie potentielle entre R et P et à laisser rouler les perles jusqu'à ce qu'elles rejoignent le chemin d'énergie minimum (figure 8).

## La méthode de la bande élastique

La mise en œuvre d'une telle méthode oblige à exercer des contraintes sur les états intermédiaires pour qu'ils ne se dirigent pas vers R pour ceux de la moitié de gauche de la figure 8, et pas vers P pour ceux de l'autre moitié. Pour cette méthode, tout se passe comme si les perles du collier étaient reliées par des ressorts qui les maintiennent à égale distance. L'approche la plus utilisée actuellement est la *méthode de la bande élastique aidée* (« nudged elastic band », « to nudge » signifiant en anglais « donner un coup de coude »), où des ressorts sont artificiellement rajoutés pour maintenir les états équidistants. Les forces ainsi introduites s'ajoutent donc aux forces réelles s'exerçant sur les atomes, ce qui peut poser problème (voir annexe 5\*). La méthode « nudged elastic band » prend en compte ces deux types de forces en décomposant chacune de celles qui s'appliquent sur chaque état  $j$  en la somme d'une composante tangentielle, indiquée par //, et d'une composante perpendiculaire au chemin, indiquée par  $\perp$ . De la composante tangentielle, la méthode ne garde que la composante exercée par les ressorts, et de la composante perpendiculaire uniquement celle dérivant de l'énergie potentielle (figure 9).

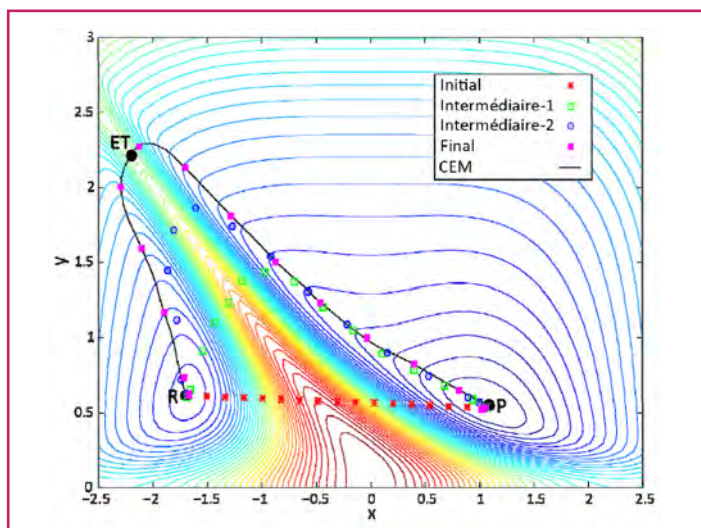


Figure 8 - Positions initiales, intermédiaires et finales des états sur une surface d'énergie potentielle modèle.

R représente la position des réactifs, P celle des produits, et ET celle de l'état de transition. La ligne continue noire correspond au chemin d'énergie minimum (CEM). Les symboles correspondent à différentes étapes d'optimisation du chemin de réaction.

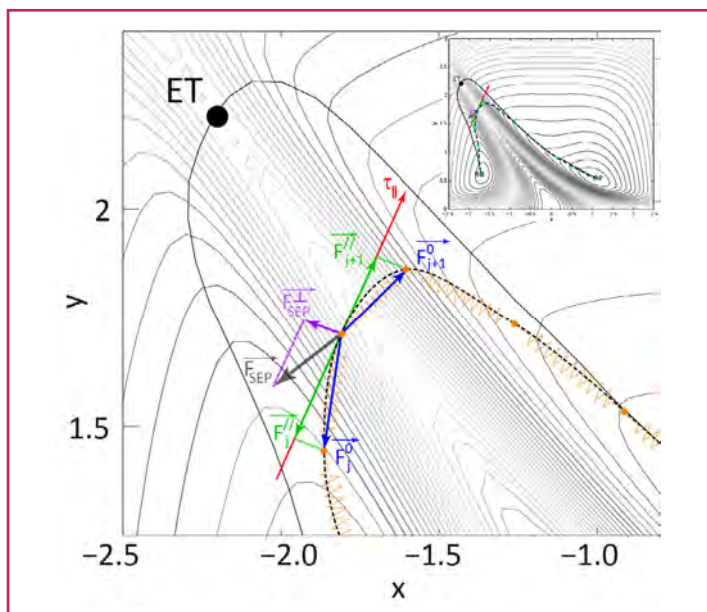


Figure 9 - Forces s'appliquant sur un état  $j$  dans la méthode de la bande élastique aidée.

On représente en orange les ressorts, en bleu les forces dues aux ressorts et en gris celle due à l'énergie potentielle. Les projections sont respectivement en vert et violet. La courbe en pointillé ne sert que pour guider l'œil du lecteur, elle n'existe pas pour le programme.

Cette projection en deux forces d'origines différentes est identifiée comme étant le « coup de coude » car elle découple le mouvement des états vers le chemin d'énergie minimum et leur distribution le long du parcours  $R \rightarrow P$ . En effet, le déplacement d'un état le long du parcours modifie la répartition des états sur le parcours mais ne modifie pas la forme de celui-ci. En revanche, c'est le déplacement d'un état orthogonalement au parcours qui en modifie la forme. Dans l'approche « nudged elastic band », l'évolution du parcours vers le chemin d'énergie minimum est due uniquement au potentiel environnant (via sa composante normale), alors que la distribution des états le long du parcours est uniquement régie par la composante tangentielle des ressorts. La constante de raideur  $k$  des ressorts n'a un rôle que sur la distribution des états, et sa valeur devient *a priori* arbitraire. On peut noter que dans le chemin final, la composante orthogonale de la force due à l'énergie potentielle est nulle et qu'on se trouve bien au fond de la vallée : c'est là la définition mathématique du chemin d'énergie minimum proposée par Fukui dans le cadre de l'IRC [10].

De nombreuses méthodes de chaînes d'états ont été proposées : nous décrivons en annexe 5\* l'ancêtre de la nudged elastic band : la « plain elastic band », ainsi qu'une méthode similaire mais plus flexible : la méthode de la corde, et en annexe 6\*, une méthode récente : AFIR.

## Application à l'étude de la réaction de Nef

La réaction d'insertion de Nef entre un isonitrile et un chlorure d'acyle (figure 10) a connu peu d'applications depuis sa découverte au XIX<sup>e</sup> siècle [11a]. Le renouveau de la chimie des isonitriles, suite à l'explosion de la recherche sur les réactions multicomposants, lui a donné un regain d'intérêt. La quasi-totalité des livres de chimie organique enseignent que, dans le cas de l'attaque d'un nucléophile sur un dérivé carbonylé, le mécanisme de type addition-élimination passe par un intermédiaire tétraédrique. Cela correspondrait donc à une carte

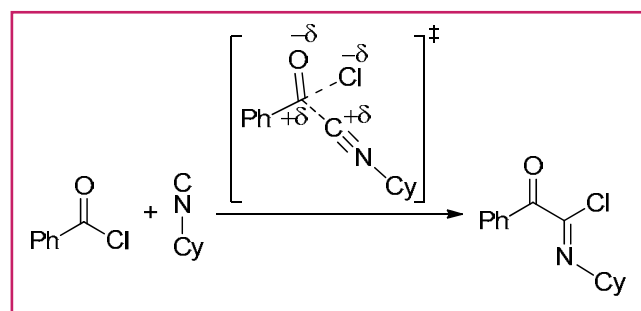


Figure 10 - Réaction d'insertion de Nef.

d'énergie potentielle proche de la figure 2 et au chemin passant par IR1.

Au cours de notre étude de cette réaction [11b], nous avons cherché à obtenir la géométrie de la structure tétraédrique. Malgré nos efforts, nous n'avons réussi à optimiser aucune géométrie stable. La possibilité d'un mécanisme concerté est alors apparue et nous avons utilisé la méthode de la corde entre les réactifs et le produit. Après une trentaine d'itérations, le chemin obtenu semblait réaliste. Nous avons donc cherché l'état de transition à l'aide de la méthode QST3 décrite ci-dessus. Les structures de départ pour cette recherche ont été extraites du chemin en prenant la structure la plus haute en énergie (décrite précédemment comme étant « l'intuition de l'utilisateur ») ainsi que les deux structures de part et d'autre comme géométries de départ pour l'état de transition, les réactifs et les produits. Comme on l'a vu, la méthode QST3 ne converge pas toujours exactement sur l'état de transition. Ainsi, la géométrie obtenue grâce à la méthode QST3 a été optimisée pour obtenir celle de l'état de transition exact. De façon standard, nous avons vérifié que cette géométrie était bien celle d'un état de transition en réalisant un calcul de fréquences (voir annexe 2\*). Enfin, afin de nous assurer que la réaction est bien concertée, nous avons réalisé des calculs d'IRC (voir annexe 3\*) pour trouver le chemin d'énergie minimum passant par cet état de transition : un des calculs a redonné la géométrie des réactifs tandis que l'autre a redonné celle des produits. La structure tétraédrique est donc ici l'état de transition. Cet écart avec le mécanisme attendu provient de la proximité

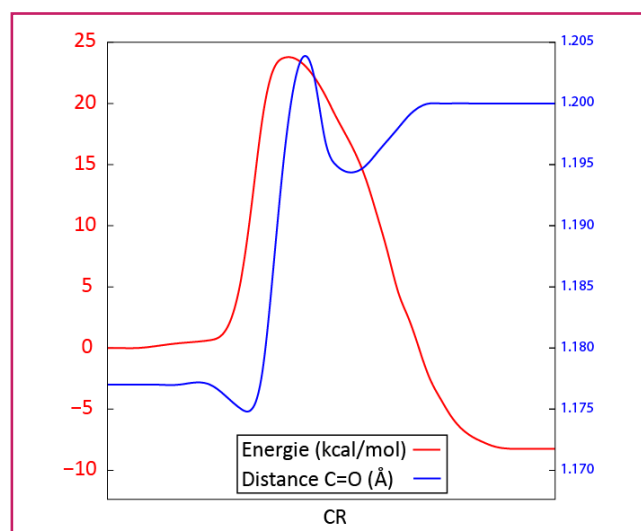


Figure 11 - Énergie de la réaction de Nef et distance C=O le long du chemin.

Un profil avec la représentation de certains états intermédiaires est fourni en annexe 7\*.

entre le chlorure nucléophile et l'acylnitrilium électrophile qui déstabilise la structure tétraédrique au point qu'elle devient un état de transition et non un intermédiaire réactionnel [11b]. La *figure 11* représente en rouge le profil énergétique de cette réaction (obtenu par IRC) ainsi que la distance C=O au cours de la réaction en bleu. Ce profil énergétique est conforme à une réaction en une seule étape et la variation de la longueur de liaison C=O montre que la liaison est double avant que ne s'approche l'isonitrile et partiellement double (à cause de la résonance) une fois que le groupe entrant est fixé.

## Conclusion

L'objectif de cet article était d'ouvrir la porte de l'univers de la chimie théorique aux chimistes expérimentateurs. Cela nous a conduit à mettre en valeur les différences de points de vue entre l'approche du tricol et celle de l'Hamiltonien, sans jamais évoquer ni l'un ni l'autre. Parmi ces différences, nous avons montré qu'une réaction chimique pouvait être considérée comme l'évolution d'un ensemble d'atomes, sans *a priori* sur leurs modes de liaison, sur une surface d'énergie potentielle. Cela nous a conduit à préciser le sens des notions de réactifs, de produits, d'états de transition et d'intermédiaires réactionnels. Ceci étant considéré, la problématique de la détermination du chemin réactionnel sur une surface d'énergie potentielle qui n'est pas connue a été abordée, ce qui a été l'occasion de découvrir le principe de quelques méthodes usuelles en chimie théorique : LST, QST et méthode de la bande élastique. Nous avons estimé que leur connaissance donnait suffisamment d'informations pour discuter avec des chimistes théoriciens des autres méthodes existantes. Les méthodes présentées ici sont désormais utilisables en routine, la plupart étant implémentées dans les programmes usuels de calculs. Ces méthodes ne prennent cependant pas en compte la température et sont donc faites à température nulle. Les simulations de type dynamique moléculaire correspondent à une autre approche pour l'étude de la réactivité chimique dans laquelle la température est intrinsèquement prise en compte [12].

Des détails complémentaires sur ces méthodes, ainsi que la présentation d'une méthode récente (AFIR) sont donnés en *annexe\**. Nous renvoyons également les lecteurs curieux d'une part au blog de Henry Rzepa qui utilise les méthodes présentées ici sur des exemples de chimie organique [13] et d'autre part au site web « 3D Chemistry » qui propose des animations de différentes réactions chimiques [14].

Les auteurs remercient l'ENS de Lyon pour le soutien financier ainsi que Julian Garrec pour l'aide apportée à la réalisation des figures.

## Notes et références

\* Les *annexes* sont téléchargeables librement sur le site [www.lactualitechimie.org](http://www.lactualitechimie.org) à partir de page liée à cet article.

- (1) Les méthodes présentées ici peuvent également être utilisées pour l'étude d'autres événements rares tels que la nucléation ou le repliement de protéines, mais nous nous limiterons à la réactivité chimique (chimie organique, inorganique, enzymatique ou de surface).

- (2) L'énergie potentielle d'un ensemble de  $N$  atomes reste identique lors d'une translation en bloc de tous les atomes le long de l'axe  $x$  (ou  $y$  ou  $z$ ). Ainsi, de ses  $3N$  coordonnées d'espace, trois (liées à la translation) n'ont pas à être considérées pour une telle étude. Il en est de même pour trois coordonnées de rotation de l'ensemble. Il suffit donc de  $3N-6$  coordonnées (si le système n'est pas linéaire) pour construire une surface d'énergie potentielle d'un système de  $N$  atomes. L'invariance de l'énergie n'est valable que si la vitesse de translation est faible devant la célérité de la lumière et si le système ne tourne pas trop vite autour d'un axe, mais nous n'entrerons ni dans le cadre de la mécanique relativiste, ni dans celui de la distorsion centrifuge.
- (3) Sur une surface à plus de deux dimensions, on appelle ligne droite entre deux points R et P l'ensemble des points pour lesquels les coordonnées sont interpolées linéairement.
- [1] Leclercq L., La chimie française vers les mécanismes réactionnels (1800-1930), *L'Act. Chim.*, **2009**, 329, p. 42.
- [2] Carey F.A., Sundberg R.J., *Chimie organique avancée - Structures moléculaires et mécanismes réactionnels*, De Boeck, **1996**.
- [3] [http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5d/Profil\\_de\\_la\\_18eme\\_etape\\_du\\_Tour\\_de\\_France\\_2011.svg](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/5/5d/Profil_de_la_18eme_etape_du_Tour_de_France_2011.svg)
- [4] Arrhenius S.A., *Über die Reaktionsgeschwindigkeit bei der Inversion von Rohrzucker durch Säuren*, *Z. Phys. Chem.*, **1889**, 4, p. 226.
- [5] Eyring H., The activated complex in chemical reactions, *J. Chem. Phys.*, **1935**, 3, p. 107.
- [6] Fukui K., Formulation of the reaction coordinate, *J. Phys. Chem.*, **1970**, 74, p. 4161.
- [7] Fukui K., The path of chemical reactions - the IRC approach, *Acc. Chem. Res.*, **1981**, 14, p. 363.
- [8] Halgren T.A., Lipscomb W.N., The synchronous-transit method for determining reaction pathways and locating molecular transition states, *Chem. Phys. Lett.*, **1977**, 49, p. 225.
- [9] Müller K., Reaction paths on multidimensional energy hypersurfaces, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **1980**, 19, p. 1.
- [10] Jonsson H., Mills G., Jacobsen K.W., *Classical and Quantum Dynamics in Condensed Phase Simulations - Chapter 16: Nudged Elastic Band for Finding Minimum Energy Paths of Transitions*, B.J. Berne, G. Ciccotti, D.F. Coker (eds), World Scientific, **1998**, p. 285-404.
- [11] a) Nef J.U., *Über das zweiwertige Kohlenstoffatom*, *Justus Liebigs Ann. Chem.*, **1892**, 270, p. 267 ; b) Chéron N., El Kaïm L., Grimaud L., Fleurat-Lessard P., *J. Phys. Chem. A*, **2011**, 115, p. 10106.
- [12] Boutin A., Vuilleumier R., De Boltzmann aux expériences « *in silico* », *L'Act. Chim.*, **2011**, 353-354, p. 61.
- [13] [www.ch.ic.ac.uk/rzepa/blog](http://www.ch.ic.ac.uk/rzepa/blog)
- [14] <https://sead.univ-reims.fr/courses/3DCHEMISTRY>



N. Chéron



J.-F.  
Le Maréchal



P.  
Fleurat-Lessard

Ancien étudiant de l'École Normale Supérieure de Lyon, **Nicolas Chéron** (auteur correspondant) est post-doctorant à l'Université de Harvard (États-Unis)\*.

**Jean-François Le Maréchal** et **Paul Fleurat-Lessard** sont maîtres de conférences à l'École Normale Supérieure de Lyon\*\*.

\* Department of Chemistry and Chemical Biology, Harvard University, 12 Oxford Street, Cambridge, MA 02138 (USA).

Courriel : nicolas.cheron@gmail.com

\*\* Université de Lyon, ENS de Lyon, Laboratoire de Chimie UMR 5182, Site Monod, 46 allée d'Italie, F-69364 Lyon Cedex 07.

Courriel : jflm@ens-lyon.fr ; Paul.Fleurat-Lessard@ens-lyon.fr



**La SCF sur Facebook, vous aimez ?**  
Parlez-en autour de vous,  
et invitez vos amis et collègues à nous rejoindre !

• [www.facebook.com/pages/Soci%C3%A9t%C3%A9-Chimique-de-France/114534205270205](http://www.facebook.com/pages/Soci%C3%A9t%C3%A9-Chimique-de-France/114534205270205)

# Un champ de fouille dans un laboratoire...

## Initiation à la chimie du patrimoine

Xavier Bataille, Caroline Bazot, Robert Galera et Martine Regert

### Résumé

Pendant deux journées de décembre 2008, le 12<sup>e</sup> étage de l'ENCPB (École Nationale de Chimie, Physique et Biologie, Paris 13<sup>e</sup>) s'est transformé pour partie en champ de fouille du Néolithique, pour une autre en laboratoire de recherche en chimie du patrimoine et pour une troisième en salle de conférence. Cet article décrit une série d'activités expérimentales au cours desquelles des étudiants de deuxième année de BTS chimistes<sup>(1)</sup> ont mobilisé leurs connaissances en chimie analytique pour l'étude d'artefacts archéologiques. Le thème de ce projet, l'analyse de cires d'abeilles et de brais de bouleaux, est basé sur les recherches de matériaux organiques amorphes issus de substances naturelles menées par Martine Regert, directrice de recherche au CNRS. Ce projet a permis d'aborder plusieurs aspects de la chimie du patrimoine tels que la préparation des échantillons, la mise au point de protocoles, l'analyse par des techniques spectroscopiques (IRTF, spectrométrie de masse) et chromatographiques (CCM, CPG), ainsi que la validation analytique. Des mini-conférences ont contextualisé les activités de laboratoire.

### Mots-clés

**Archéologie, chimie analytique, chimie du patrimoine, projet pédagogique.**



L'archéologie est une discipline qui étudie les vestiges abandonnés par les populations du passé afin de reconstituer leurs modes de vie (artisanats, techniques de production et de diffusion, habitudes alimentaires, vestimentaires, culturelles, culturelles), leur environnement (faune, flore, climat) et les relations Homme-milieu.

L'archéologie pratiquée au XXI<sup>e</sup> siècle s'appuie en partie sur des techniques développées par la chimie

analytique afin d'aller rechercher des informations de nature élémentaire, isotopique, moléculaire et structurale non perceptible par l'œil riches d'enseignement sur les sociétés du passé. L'« archéochimie » demande donc de multiples compétences incluant l'histoire, la géologie, la physique ou la chimie [1].

Les matériaux organiques découverts en contexte archéologique ne sont bien souvent accessibles à l'analyse qu'en très faibles quantités. Les protocoles doivent donc être optimisés de façon à minimiser le nombre d'opérations et d'analyses afin d'obtenir le maximum de renseignements. Cette contrainte impose d'apprendre à « défricher » dans une multitude d'informations celles qui seront pertinentes pour répondre aux questions posées.

Les recherches d'un des auteurs, Martine Regert [2], ont servi de support pour réaliser les expériences présentées dans cet article. Ces travaux portent sur la caractérisation d'une vaste gamme de substances naturelles, qu'il s'agisse de produits culinaires (produits laitiers, huiles végétales, boissons fermentées, etc.), de matériaux adhésifs (résines

végétales, bitume, cire d'abeille), d'onguents et parfums ou encore de matières colorantes [3].

En contexte archéologique, ces biomatériaux, bien que particulièrement sensibles aux processus de dégradation en raison de leur nature organique, peuvent se conserver sous forme de résidus adhérant à des outils lithiques ou osseux, d'encroûtements carbonisés dans des céramiques, ou encore de fragments identifiables dans la matrice sédimentaire. Du fait de leur caractère amorphe, seule une approche chimique permet de déterminer leur nature, d'appréhender leur degré de transformation par l'Homme et d'étudier les processus naturels de dégradation qu'ils ont subis au cours du temps. C'est grâce à la mise au point de méthodologies analytiques adaptées à la spécificité de ces vestiges (faible quantité conservée, matériaux composites, dégradés, hétérogènes et en partie polymérisés), qu'il est possible d'avoir des informations sur les comportements techniques et alimentaires des populations du passé en relation avec l'exploitation des substances naturelles organiques.



Figure 1 - Le chantier expérimental de fouille.



Figure 2 - Salle de conférence. Dans une vitrine des objets archéologiques étaient exposés. En bas, une des conférences organisées par Martine Regert.

## Organisation des deux séances

Nous avons choisi de reproduire, dans les locaux de l'ENCPB, ce que peut être le travail de recherche en archéochimie en organisant deux séances de 8 h. Pour cela, nous avons reproduit un chantier de fouille<sup>(2)</sup> (figure 1), installé une bibliothèque de recherche, une salle de conférence (figure 2) et deux salles de TP.

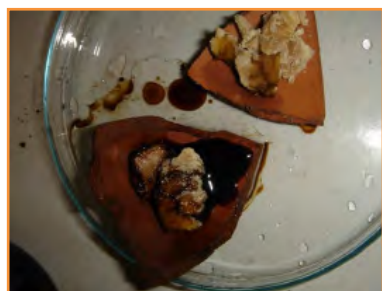


Figure 3 - Imprégnation des poteries de cire et de brai de bouleau, à chaud.

Pour simuler l'équivalent d'une fouille archéologique, des fragments de poteries achetées dans le commerce ont été enduits de produits contemporains vieillis artificiellement, selon des techniques cherchant à reproduire les modifications et altérations induites par les traitements d'origine anthropique humaine et par le contexte d'enfouissement (figure 3).

Par journée, six groupes d'étudiants ont été constitués et répartis autour de trois thèmes principaux : participation aux opérations de fouille, étude de la cire d'abeille et du brai de bouleau. Pour ce dernier, un objectif particulier avait été fixé : l'isolement des biomarqueurs de l'écorce (bétuline et lupéol notamment).

Le travail proposé aux étudiants a été conçu en trois étapes :

- *Première étape.* Une semaine avant la séance de TP, les

étudiants devaient sélectionner des méthodes d'analyse de la cire d'abeille et du brai de bouleau en contexte archéologique en utilisant les différents articles et ouvrages mis à leur disposition tel que *Analytical Chemistry in Archeology*, *Journal of Chromatography*, *Archaeometry*, *Identification spectrométrique de composés organiques*...

- *Seconde étape.* Lors des séances de TP, les étudiants allaient mettre en œuvre point par point les différentes méthodes analytiques référencées dans les articles sélectionnés en consignait et validant l'ensemble des opérations effectuées : manipulation de petites quantités sans pollution de l'échantillon, traitements chimiques, extractions quantitatives, analyses préalables de standards (références), comparaison avec des témoins, analyses d'échantillons, validation des analyses et interprétation. Comme nous l'avons déjà décrit dans cette revue [4], il n'était plus question de suivre des protocoles détaillés qui fonctionnent – souvent – à coup sûr, mais de s'inspirer de protocoles extraits d'articles et de les adapter aux échantillons fournis, voire de les mettre au point.

- *Troisième et dernière étape.* En fin de séance, les étudiants allaient confronter leurs résultats aux publications et, après en avoir fait la synthèse, établir un protocole adapté aux différentes analyses à effectuer.

Un exemple de l'énoncé distribué aux étudiants est disponible en contactant les auteurs<sup>(3)</sup>.

Concernant l'organisation même de chaque séance, nous avons réparti les quinze étudiants sur trois salles : une salle de cours équipée d'un ordinateur et d'un vidéoprojecteur, où avaient été également installés une petite bibliothèque et des panneaux d'affichage, une salle de TP où manipulaient les étudiants et une salle d'instrumentation où étaient effectuées les analyses IRTF, CPG et CPG-SM.

Pour plus de facilité, un réseau informatique a été mis en place afin de pouvoir rendre disponibles tous les spectres et chromatogrammes obtenus. L'ordinateur gérant l'IRTF et celui de la CPG-SM possédaient des répertoires partagés ouverts sur plusieurs ordinateurs du réseau sur lesquels avaient été installés les banques de données, les bibliothèques de recherche permettant de faciliter les interprétations, ainsi que les logiciels de traitement<sup>(4)</sup>.

Dans la salle de cours, une petite exposition présentant des objets issus de fouilles archéologiques avait été organisée. Une conférence spécialisée a également été présentée afin d'expliquer aux étudiants en quoi consistaient les activités de recherche à l'interface de la chimie et de l'archéologie.

Chaque groupe devait tenir un cahier de laboratoire et y consigner les opérations réalisées : essais, réussis ou non, conditions, quantités de matière obtenue et résultats<sup>(5)</sup>. Toute analyse devant pouvoir être utilisée par n'importe quel autre groupe, les spectres et chromatogrammes étaient rassemblés sur un panneau d'affichage, les résultats pouvaient donc être facilement comparés aux spectres et chromatogrammes de référence présents dans la thèse de Martine Regert et de ses diverses publications.

## Résultats

### La cire d'abeille

Les produits de la ruche, tels le miel ou la cire, ont occupé une place importante dans la société humaine au moins

## Encadré 1

## Un mot sur les techniques

## L'analyse infrarouge

Tombée en désuétude au profit d'autres techniques analytiques telles la spectrométrie de masse (SM) ou de résonance magnétique nucléaire (RMN), l'analyse infrarouge (IR) qualitative revêt un intérêt de premier ordre dans l'univers de l'archéochimie. En effet, faiblement destructive et simple à mettre en œuvre, elle permet de classer très rapidement les échantillons analysés selon leur nature organique ou minérale. De plus, certaines bandes caractéristiques permettent de déceler la ou les familles de molécules composant l'échantillon. D'après les documentations fournies, les bandes d'absorption associées à la cire d'abeille se situent vers  $1720\text{ cm}^{-1}$  et vers  $720\text{ cm}^{-1}$  – doublet caractéristique des liaisons C-H des structures à longues chaînes. Plusieurs tests ont été effectués afin d'obtenir les spectres qui pourront le mieux caractériser la cire. Le dépôt de cire sur pastilles NaCl est la méthode de préparation qui a été retenue, pour une meilleure visualisation du doublet vers  $720\text{ cm}^{-1}$  (voir *figure a*). Cette analyse est une première étape qui, au vu des résultats, va éventuellement orienter l'archéochimiste vers d'autres analyses plus poussées comme la CPG et la CPG-SM.

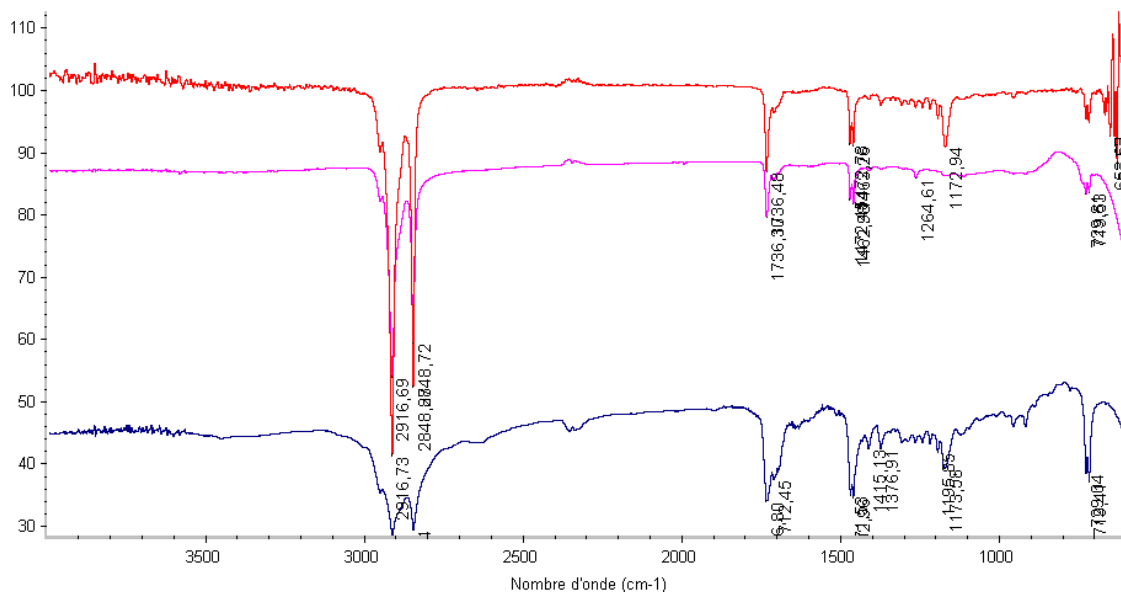


Figure a - Spectre IR-TF d'une cire récente.

En rouge : cire récente sur cellule ATR (« attenuated total reflectance ») ; en rose : cire récente sur pastille NaCl après dissolution dans  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  suivie d'une évaporation ; en bleu : cire récente déposée sur une pastille de NaCl.

## L'analyse CPG

La chromatographie en phase gazeuse (CPG) a essentiellement permis de dégrossir le travail d'analyse des néo-archéologues. Les étudiants ont établi les profils chromatographiques de la cire (*figure b*) et du brai de bouleau. Les « fouilleurs » ont ainsi pu effectuer les analyses de leurs échantillons et déterminer en fonction des profils obtenus ceux nécessitant une analyse CPG-SM.

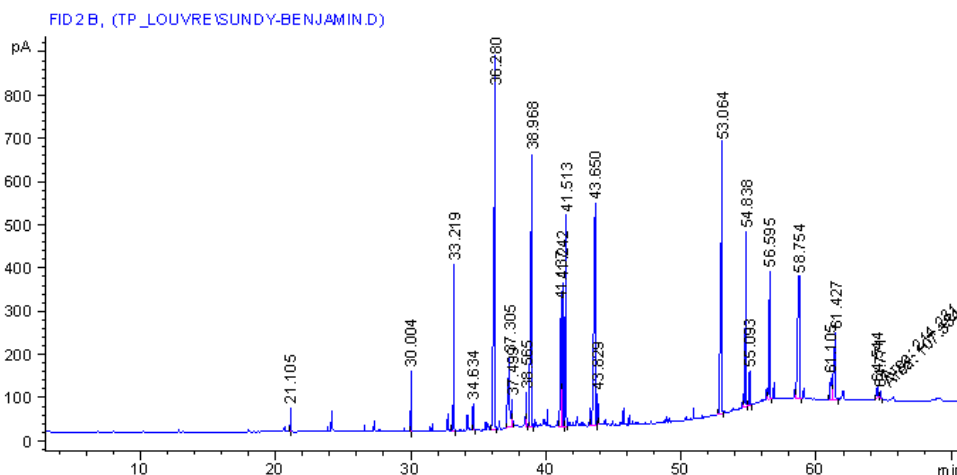


Figure b - Analyse CPG d'une cire contemporaine.

Ce chromatogramme met en évidence les massifs d'alcane ( $30\text{ min} < t < 45\text{ min}$ ) et les massifs d'esters ( $52\text{ min} < t < 65\text{ min}$ ).

## L'analyse CPG-SM

Bien souvent, l'IR et la CPG sont insuffisantes pour caractériser une cire d'abeille lorsqu'elle est mélangée à d'autres substances. On a alors recours à la chromatographie couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (figure c). Le matériel utilisé étant différent de celui mentionné dans les publications, une méthode d'analyse a dû être mise au point au préalable par des étudiants allemands en stage à l'ENCPB afin de définir les conditions de l'analyse couplée (débit de gaz, rampe de température, échantillonnage...). Cette méthode analytique nous a permis d'identifier les alcanes et les esters contenus dans une cire d'abeille actuelle.

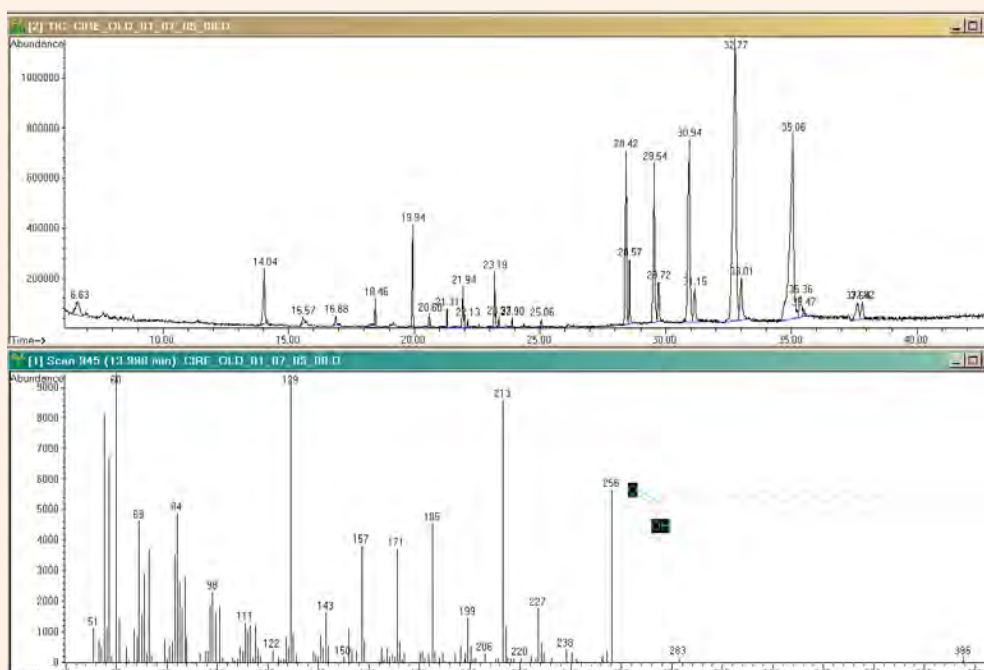


Figure c - En haut : analyse CPG-SM d'une cire vieillie par chauffage à 100 °C (échantillon prélevé sur le verre de montre) ; alcanes : 17 min < t < 23 min ; esters : 27 min < t < 33 min ; acide palmitique : 14 min. En bas : spectre de masse de l'acide palmitique.

dès le Néolithique, et ont été utilisés dans l'alimentation, la médecine, les rituels et un certain nombre d'activités techniques. Il arrive que l'on en retrouve sur des vestiges archéologiques, en particulier dans des récipients en céramique. De la cire d'abeille a ainsi été identifiée dans divers récipients, les plus anciens exemples remontant au 6<sup>e</sup> millénaire avant notre ère. Parfois utilisée pure, elle est aussi retrouvée mélangée à des graisses animales ou à du brai de bouleau.

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour étudier ces vestiges : microscope optique, détermination de température de fusion, spectroscopie IR et analyses CPG et CPG-SM (voir encadré 1). Dans un premier temps, l'analyse des cires contemporaines a permis de connaître leur composition : *n*-alcanes (alcanes linéaires) et esters essentiellement.

De la même manière que pour les cires contemporaines, l'étude des cires vieillies (voir encadré 2), artificiellement ou non, a donné lieu à plusieurs investigations. Le premier travail a été d'analyser l'évolution des constituants de la cire en fonction de l'environnement dans lequel elle a été conservée ou vieillie. Afin d'observer par analyse les différents phénomènes de dégradation, plusieurs simulations que l'on retrouve en contexte archéologique ont été effectuées :

- vieillissement photochimique sous lampe UV,
- vieillissement par voie sèche (simulant un environnement chaud et sec),
- vieillissement par voie humide en milieu légèrement basique pour accélérer le processus d'hydrolyse (simulant un environnement humide, par exemple lacustre ou fluvial).

Des analyses CPG-SM ont montré des profils différents selon le traitement subi par la cire<sup>(3)</sup>.

## L'écorce et le brai de bouleau

Le brai de bouleau est un goudron végétal fabriqué par traitement thermique contrôlé d'écorce de bouleau exploité par l'Homme depuis plus de 40 000 ans. À l'instar du bitume au Proche-Orient, il a d'abord été utilisé pour emmancher des outils lithiques, puis son usage s'est amplifié dans le courant du Néolithique et il a alors également servi à réparer, décorer ou étanchéifier des récipients en céramique. L'écorce de bouleau contient de la lignine, de la cellulose et de la subérine comme toutes les écorces, mais aussi des biomarqueurs spécifiques : des triterpènes tels que le lupéol et la bétuline (voir figure 4). Notons que lors de la préparation du brai qui s'obtient par pyrolyse, ces biomarqueurs subissent une réaction de déshydratation et diverses modifications chimiques. Les étudiants ont essentiellement utilisé la CPG-SM pour identifier les molécules caractéristiques de l'écorce et du brai de bouleau.

### Encadré 2

#### La cire d'abeille : composition

La cire d'abeille est majoritairement constituée d'esters et de *n*-alcanes (alcanes linéaires). Les esters que l'on retrouve en grande quantité sont dérivés de l'acide palmitique. L'analyse d'une cire vieillie en milieu humide nous révèle des pics d'acide palmitique et d'alcools résultant de l'hydrolyse des esters :



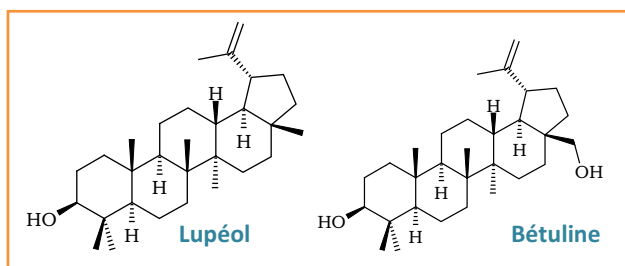


Figure 4 - Exemple de triterpènes présents dans l'écorce de bouleau.



Figure 5 - Cristallisation de la bétuline dans les fractions issues de la colonne.

Afin d'identifier les biomarqueurs de l'écorce, une extraction au Soxhlet a été réalisée avec du dichlorométhane. L'analyse par CPG-SM a permis d'identifier plusieurs triterpènes comme le lupéol, la bétuline et la lupénone.

### Préparation de références : extraction du lupéol et de la bétuline

Un groupe s'est chargé de mettre au point une extraction sélective de marqueurs du brai de bouleau (lupéol et bétuline) afin d'obtenir des standards pour l'analyse. En effet, ces standards sont commercialisés mais coûtent chers.

Cette mise au point s'est faite sur les deux séances, en utilisant des méthodes d'extraction comme l'hydrodistillation ou un extracteur de Soxhlet (en essayant plusieurs solvants). Une fois l'extraction réalisée, il fallait procéder à la mise au point de la séparation sur colonne en vue d'une purification.

Les étudiants se sont donc attachés à extraire et purifier le lupéol et la bétuline à partir d'écorce de bouleau. Ils n'avaient pour seule source qu'un article du *Journal of Chemical*



Figure 6 - Exemples de poteries extraites du chantier de fouille expérimental.

*Éducation* [5], décrivant une réaction sur la bétuline, mais sans le protocole de purification. Ils ont adapté le protocole d'extraction et à leur grande satisfaction, ils ont obtenu ce qu'ils cherchaient lors de la deuxième séance. Après deux criblages d'éluants de CCM et transposition sur colonne, ils ont mis au point une élution sur colonne de silice permettant la cristallisation de la bétuline (figure 5) et du lupéol dans les tubes de récupération (résultats disponibles auprès des auteurs<sup>(3)</sup>).

### Le chantier de fouille

Après quelques explications sur l'art et la manière de mener des fouilles (analyser strate par strate, carroyer la surface, gratter sans abîmer, nettoyer au pinceau, numéroter les échantillons, prendre des photos avec des points de repères, etc.), un des groupes a eu pour mission d'extraire du sédiment plusieurs tessons de poteries (issus de pots de fleur achetés dans le commerce) (figure 6). Après une analyse visuelle rapide, certains fragments ont été broyés au mortier et analysés selon les méthodes utilisées par les groupes « cire d'abeille » et « brai de bouleau ».

L'analyse de deux échantillons provenant de la fouille expérimentale montre la présence de cire d'abeille et d'huile végétale dans l'un (13-M3) (figure 7a) et de brai de bouleau

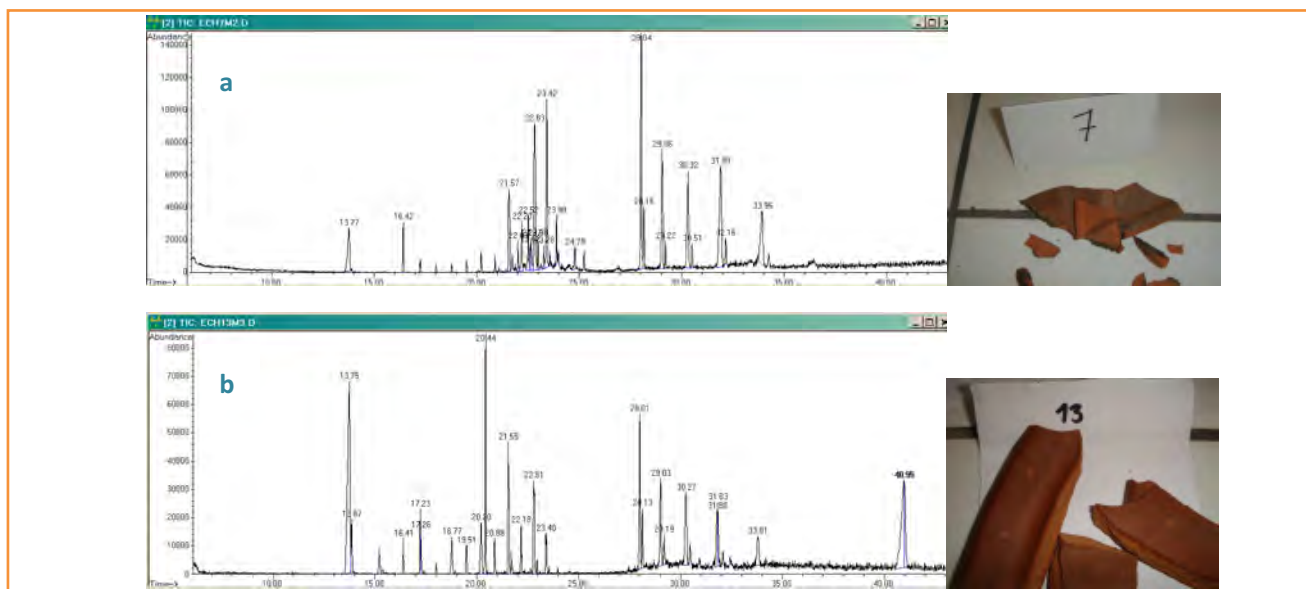


Figure 7 - CPG-SM de l'échantillon 13-M3 (a) et 7-M2 (b).

(a) Les analyses ont mis en évidence la présence de brai de bouleau (massif à  $t \sim 22$  min) et de cire d'abeille (alcane à 25 min >  $t > 16$  min ; esters à 33 min >  $t > 27$  min). Le pic à 13,77 min correspond à l'acide palmitique issu de l'hydrolyse des esters ; cette information permet d'avancer l'hypothèse d'une dégradation en milieu humide.

(b) Les analyses mettent en évidence la présence de cire d'abeille (alcane à 25 min >  $t > 16$  min ; esters à 33 min >  $t > 27$  min), ainsi qu'une huile végétale ( $t = 13,75$  min acide oléique et  $t = 40,96$  min triglycéride).



et de cire d'abeille dans l'autre (7-M2) (figure 7b) (analyses détaillées disponibles auprès des auteurs<sup>(3)</sup>).

## Conclusion

Après ces deux séances de TP, nous pouvons tirer un bilan très positif de tout ce qui a été accompli. Ce projet, qui a nécessité beaucoup de préparation pour sa mise en place, a rencontré un franc succès auprès des étudiants. Malgré les difficultés scientifiques, leur implication a été totale et nous avons réussi à obtenir un grand nombre de résultats exploitables, souvent conformes à ceux attendus. De plus, ces deux journées ont aussi été l'occasion de faire découvrir un lien fort entre chimie et archéologie, et ce, grâce à la présence et à la disponibilité de Martine Regert qui n'aura pas hésité à donner de son temps pour expliquer ses travaux de recherche, présenter des objets archéologiques lors de mini conférences improvisées à des élèves et à des professeurs très curieux de découvrir cette facette méconnue et pourtant si intéressante de la chimie<sup>(6)</sup>.

## Remerciements

Nous tenons à remercier en particulier Erwan Beauvineau, Anthony Bourgeois, Dominique Marcaillou, Christiane Parent, Katia Riché et Anne Schnäbele pour l'intérêt et/ou l'aide qu'ils ont pu porter à notre travail. Merci également aux stagiaires allemands – Kurstin, Swenia, Sven, Thomas et Wolfram – de chez Provalids qui nous ont aidés à mettre au point les analyses chromatographiques. Ces séances n'auraient jamais pu être réalisées sans l'implication de Filip Decaster et Franck Xavier.

## Notes et références

- (1) Classe de BTS-chimiste 2<sup>e</sup> année, TS<sub>2</sub>CB, promotion 2008/2009, ENCPB-Lycée Pierre-Gilles de Gennes, 11 rue Pirandello, Paris 13<sup>e</sup>.
- (2) Le chantier expérimental de fouille a été préparé à partir de pots en terre cuite contemporains que nous avons imprégnés, selon les cas, de cire, d'huile d'olive et de brai de bouleau en les plaçant en étuve (voir figure 3). Ces pots ont été disposés dans un bac et couverts de terre fortement tassée.
- (3) L'ensemble des résultats est disponible auprès de Xavier Bataille (xavierbataille@free.fr).
- (4) Matériel d'analyse utilisé : spectroscope infrarouge à transformée de Fourier (Avatar 320 FT-IR, Thermo Nicolet), chromatographe en phase gazeuse (CPG : Agilent 6890N ; injecteur split/splitless ; gaz vecteur H<sub>2</sub> ; colonne HP 5 ms 30 m 0,25 mm 0,25 µm ; sous GC-Chemstation, détecteur FID), chromatographe en phase gazeuse (colonne 15 m) couplé à un spectromètre de masse à quadripôle (Quadripôle Agilent 5973N ; CPG : Agilent 6890N ; injecteur split/splitless ; gaz vecteur H<sub>2</sub> ; colonne HP 5 ms 15 m 0,25 mm 0,25 µm ; sous Chemstation). Analyse et traitement des données à l'aide des logiciels WSearch (Frank Antolasic, RMIT Chemistry, Victoria, Australie, 2005, www.wsearch.com.au, fichiers au format \*.MS), couplés à la base de données de spectrométrie de masse NIST.02 (www.nist.gov/srd/nist1.htm), Chemstation (Agilent, www.chem.agilent.com, fichiers TIC (Total Ion Chromatogram) au format \*.D), NIST MS Search Software et MS Interpreter (www.ms-interpreter.com, NIST, 2006), OMNIC (Thermo Scientific : www.thermo.com). Pour la rédaction des comptes rendus : suite Open Office 3.0 (http://fr.openoffice.org), logiciel de capture d'écran CAPTURINO v2.0 (www.capturino.com), structures moléculaires : Chemsketch (www.acdlabs.com v.11) et ISISDRAW (www.mdli.com).
- (5) Notons que le cahier de laboratoire constitue un support important pour le groupe continuant les expériences la semaine suivante. Les étudiants prennent conscience en le rédigeant de l'importance des détails qui doivent y être mentionnés.
- (6) Signalons que Martine Regert a déjà publié plusieurs articles dans *L'Actualité Chimique*, dont ceux cités dans les références [1] et [3].
- [1] Regert M., Des chasseurs de miel néolithiques aux sculpteurs du XIX<sup>e</sup> siècle, *L'Act. Chim.*, **2008**, 318, p. 52 ; Regert M., Les matériaux organiques amorphes en préhistoire : présentation, méthodes d'étude et implications archéologiques, *Le Bup*, **2000**, 827, p. 1581.

- [2] Regert M., *Les composés organiques en préhistoire : nouvelles approches analytiques*, Thèse d'université, Paris 10, **1996**.
- [3] Regert M., Produits de la ruche, produits laitiers et matières végétales : quels vestiges pour appréhender les substances naturelles exploitées par l'homme pendant la préhistoire ?, *Les cahiers de l'OCHA* (Observation Cidil des Habitudes Alimentaires), **2007**, 12, p. 30 ; Regert M., Langlois J., Ciollinart S., Characterisation of wax works of art by gas chromatographic procedures, *J. Chrom. A*, **2005**, 1091, p. 124 ; Regert M., Guerra M.-F., Reiche I., Physico-chimie des matériaux du patrimoine culturel, *Techn. Ing.*, **2006**, P3780, p. 1 et P3781, p. 1 ; Regert M., Ciollinart S., Degrand L., Decavallas O., Chemical alteration and use of beeswax through time: Accelerated ageing tests and analysis of archaeological samples from various environmental contexts, *Archaeometry*, **2001**, 43(4), p. 549 ; Garnier N., Cren-Olivé C., Rolando C., Regert M., Characterization of archaeological beeswax by electron ionization and electrospray ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 4868 ; Regert M., Delacotte J.M., Menu M., Pétrequin P., Rolando C., Identification of neolithic hafting adhesives from two lake dwellings at Chalain (Jura, France), *Ancient Biomolecules*, **1998**, 2, p. 81 ; Regert M., Garnier N., Binder D., Pétrequin P., Les adhésifs néolithiques : quels matériaux utilisés, quelles techniques de production dans quel contexte social ? Actes des XX<sup>e</sup> Rencontres Internationales d'Archéologie et d'Histoire d'Antibes « Arts du feu et productions artisanales », oct. 1999, **2000**, p. 586 ; Regert M., Vacher S., Moulherat C., Decavallas O., Study of adhesive production and pottery function during iron age on the site of Grand Aunay (Sarthe, France), *Archaeometry*, **2003**, 45, p. 101 ; Regert M., Rolando C., Identification of archaeological adhesives using direct inlet electron ionization mass spectrometry, *Anal. Chem.*, **2002**, 74, p. 965 ; Bonaduce I., Colombini M.P., Characterization of beeswax in works of art by gas chromatography-mass spectrometry procedures, *J. Chrom. A*, **2004**, 1028, p. 297 ; Lattuati-Derieux A., Egasse C., Regert M., Chung Y.-G., Lavédrine B., Characterization and degradation pathways of ancient Korean waxed papers, *J. Cult. Herit.*, **2009**, 10, p. 422 ; Regert M., Du défi analytique aux interprétations archéologiques : caractérisation des substances organiques piégées dans les poteries préhistoriques, *L'Act. Chim.*, **2011**, 353-354, p. 119 ; Regert M., Analytical strategies for discriminating archaeological fatty substances from animal origin, *Mass Spectrom. Rev.*, **2011**, 30(2), p. 177 ; Bui Thi Maï, Courtaud P., Dumontier P., Girard M., Mirabaud S., Regert M., Analyse du contenu de vases déposés en contexte sépulcral au Bronze ancien et moyen dans les grottes de Droundak et Homme de Pouey (Pyrénées Atlantiques), Actes des 8<sup>e</sup> Rencontres Méridionales de Marseille, 7 et 8 nov. 2010, **2011**, p. 449.
- [4] Voir par exemple : Bataille X., Beauvineau E., Cheymol N., Mas V., Vigneron M., Un TP de chimie analytique en séquence d'investigation, *L'Act. Chim.*, **2009**, 333, p. 42.
- [5] Green B., Bentley M.D., Chung B.Y., Lynch N.G., Jensen B.L., Isolation of betulin and rearrangement to allobetulin: A biomimetic natural product synthesis, *J. Chem. Educ.*, **2007**, 84, p. 1985.



X. Bataille



C. Bazot



R. Galera

**Xavier Bataille** (auteur correspondant) est professeur et **Caroline Bazot** est professeure attachée de laboratoire à l'ENCPB<sup>(1)</sup>.

**Robert Galera** est professeur au lycée Fénélon<sup>(2)</sup>.

**Martine Regert** est directrice de recherche au CNRS<sup>(3)</sup>.



M. Regert

(1) ENCPB, 11 rue Pirandello, F-75013 Paris.  
Courriel : xavierbataille@free.fr

(2) Lycée Fénélon, 2 rue de l'Éperon, F-75006 Paris.

(3) UMR 7264 UNS-CNRS, CEPAM (Cultures et Environnements, Préhistoire, Antiquité, Moyen Âge). Campus de SJA3, 24 avenue des Diables bleus, F-06357 Nice Cedex 4.

# Le développement des idées sur la combustion catalytique sans flamme au XIX<sup>e</sup> siècle

Habib Batis

- Résumé** Après la découverte de la combustion catalytique sans flamme au début du XIX<sup>e</sup> siècle par Sir Humphry Davy, l'observation de ce phénomène à température ambiante au contact du platine finement divisé a provoqué un grand étonnement au sein de la communauté des chimistes. Les tentatives d'explication des résultats expérimentaux enregistrés ainsi que les dispositifs fonctionnant sur ce principe, qui avaient déjà fait leur apparition, sont décrits dans cet article. Dans le cadre conceptuel de l'époque, peu favorable à l'émergence d'une interprétation cohérente du phénomène observé, les conclusions de Faraday constituent les prémisses des bases théoriques de la catalyse hétérogène reconnues actuellement.
- Mots-clés** Histoire, combustion catalytique, Davy, Döbereiner, Dulong, Thenard, Faraday.
- Abstract** **Development of ideas on flameless catalytic combustion in the early 19<sup>th</sup> century**  
After the discovery of flameless catalytic combustion in the early 19<sup>th</sup> century by Sir Humphry Davy, the observation of this phenomenon at room temperature in contact with finely divided platinum caused a great astonishment in the chemists' community. Attempts to explain the experimental results recorded as well as devices operating on this principle, which have already made their appearance, are described in this article. Within the conceptual framework of the time, unfavorable to the development of a consistent interpretation of the observed phenomenon, the findings of Faraday included premises of theoretical basis of heterogeneous catalysis currently recognized.
- Keywords** History, catalytic combustion, Davy, Döbereiner, Dulong, Thenard, Faraday.





La catalyse joue un rôle capital dans la fabrication de la plupart des produits chimiques en usage dans notre société. Depuis plus d'un siècle, elle intervient dans les procédés industriels les plus importants : synthèse en masse des produits chimiques de base (ammoniac, méthanol, acide nitrique...), développement de l'industrie pétrochimique, développement de la chimie fine et en particulier la synthèse des produits pharmaceutiques. Depuis quelques décennies, la catalyse permet d'opérer dans des conditions favorables à la protection de l'environnement et de répondre à une législation de plus en plus contraignante. De ce fait, les développements industriels passent d'une économie dirigée exclusivement par une compétitivité de coût vers celle où la régulation environnementale trouve toute sa place. Parmi ces applications, la combustion catalytique sans flamme fait de plus en plus partie de notre vie quotidienne. De nombreux dispositifs fonctionnant sur ce principe sont apparus, soit pour produire de l'énergie (appareils de chauffage, fours domestiques autonettoyants, brûleurs catalytiques à émission infrarouge...), soit pour éliminer les composés organiques volatils contenus dans les rejets gazeux (purificateurs d'air, pots catalytiques...). L'industrie fait de plus en plus appel à la combustion catalytique pour développer des technologies de production d'énergie plus respectueuses de l'environnement ou des procédés plus performants.

Un détour historique permet cependant de montrer que le phénomène n'est pas nouveau. En effet, plusieurs faits

expérimentaux, que l'on peut ranger aujourd'hui sous la dénomination « combustion catalytique sans flamme », sont apparus au début du XIX<sup>e</sup> siècle, bien avant l'énoncé du concept de catalyse par Berzélius en 1835 [1-2]. Quelques-unes des plus importantes expériences connues impliquant la réaction de combustion sont présentées dans le *tableau* ci-après.

Cette découverte était suivie de plusieurs applications dont certaines s'apparentent à celles connues actuellement et les tentatives d'interprétation des phénomènes observés se sont multipliées. À cette époque, les théories en vigueur, et notamment la théorie de l'affinité chimique, ne pouvaient pas expliquer les phénomènes observés. De plus, l'absence d'un consensus sur l'hypothèse atomique et l'impact des recherches sur l'électricité contribuaient à maintenir un cadre conceptuel peu favorable à l'interprétation de la catalyse en général et de la combustion catalytique sans flamme en particulier.

Dans cet article, après avoir décrit les premiers résultats expérimentaux impliquant une combustion catalytique, nous nous proposons de montrer l'apport important mais trop oublié de Faraday dans le développement des concepts fondamentaux liés à la catalyse hétérogène et mis en avant par l'auteur pour expliquer les réactions de combustion catalytique. Les principales applications mettant en jeu ce phénomène et parues au cours du XIX<sup>e</sup> siècle sont aussi présentées.

Principales expériences de « combustion catalytique sans flamme » au début du XIX <sup>e</sup> siècle.					
Année	1817	1820	1823	1823	1834
Expérience	Oxydation des gaz de mines ; synthèse de l'eau	Oxydation de l'éthanol	Synthèse de l'eau	Eau, peroxyde d'hydrogène	Eau
Catalyseur	Pt, Pd préchauffés	Pt finement divisé	Pt finement divisé	Pt, Pd, Rh, Ir, Os...	Pt
Auteur	<b>Humphry Davy</b> (1778-1829) 	<b>Edmund Davy</b> (1785-1857)	<b>Johann Wolfgang Döbereiner</b> (1780-1849) 	<b>Pierre Louis Dulong</b> (1785-1838), <b>Louis Jacques Thenard</b> (1777-1857) 	<b>Michael Faraday</b> (1791-1867) 

## Les faits expérimentaux et les explications

### Humphry Davy confronté au coup de grisou dans les mines de charbon

À la fin du XVIII<sup>e</sup> siècle et au début du XIX<sup>e</sup>, les accidents causés par le grisou dans les mines de charbon, du fait de l'augmentation de la production au cours de la révolution industrielle, étaient extrêmement fréquents et meurtriers. Les lampes à flamme utilisées par les mineurs pour s'éclairer dans les mines de plus en plus profondes étaient à l'origine de ces explosions. De ce fait, un peu partout en Europe, des sociétés savantes ou des commissions d'ingénieurs se formèrent pour étudier cette question et tenter d'apporter les remèdes adéquats. Vers 1815, le chimiste anglais Humphry Davy, célèbre pour ses découvertes sur l'électrolyse et l'arc électrique, fut sollicité par l'une de ces sociétés afin d'essayer de résoudre le grave problème de l'éclairage en milieu explosif. Après avoir identifié le gaz explosif comme étant un mélange de « gaz de houille » et d'air [3a], il a par la suite remarqué que lorsque la flamme est emprisonnée dans un tube étroit, le mélange n'explose pas ; le gaz brûle autour de la flamme de la bougie et la chaleur dégagée est dissipée rapidement sans que le feu soit communiqué à l'atmosphère extérieure. Il a découvert aussi que le remplacement du tube par une toile métallique placée autour de la flamme empêche de la même façon les explosions [3b-c].

La lampe de sûreté fut rapidement adoptée partout et la production de charbon augmenta considérablement. L'utilisation de cette lampe a permis d'épargner de nombreuses vies humaines, mais ne s'est pas montrée systématiquement efficace. Ceci a conduit Davy à poursuivre l'étude de l'origine des explosions en relation avec la « combustibilité » du mélange explosif, la forme et la constitution de la toile métallique. L'ensemble des résultats d'un grand nombre d'expériences figure dans un article paru en 1817 [4a]. C'est au cours de ces expériences et en fixant différents fils métalliques au-dessus de la flamme de la lampe de sûreté que des phénomènes inattendus ont été observés, que l'auteur s'est empressé de décrire dans un article intitulé « Some new

experiments and observations on the combustion of gaseous mixtures, with an account of a method of preserving a continued light in mixtures of inflammable gases and air without flame » [4b]. Il attribue un caractère fortuit à sa découverte : « *I had intended to expose fine wires to oxygene and olefiant gas, and to oxygene and hydrogene during their slow combination under different circumstances, when I was accidentally led to the knowledge of the fact, and, at the same time, to the discovery of a new and curious series of phenomena.* »

Un fil de platine est fixé au-dessus de la flamme alimentée par le gaz de houille. Lorsque la flamme s'éteint, Davy remarque que la combustion continue, sans flamme, à la surface du métal, et déduit immédiatement : « [...] *and that the oxygene and coal gas in contact with the hot wire combined without flame, and yet produced heat enough to preserve the wire ignited, and to keep up their own combustion.* » Le même phénomène est observé lorsque d'autres mélanges combustibles sont utilisés. Le phénomène de catalyse hétérogène en général et celui de la combustion catalytique en particulier étaient en train de naître.

Parmi plusieurs fils métalliques utilisés, seul le platine et le palladium sont efficaces : « *I have tried to produce these phenomena with various metals; but I have succeeded only with platinum and palladium; with copper, silver, iron, gold, and zinc, the effect is not produced.* » Ceci est la première investigation systématique mettant en évidence la spécificité des catalyseurs dans la réaction de combustion catalytique.

Presque toujours, les résultats de ces expériences sont présentés qualitativement et ne peuvent être considérés comme des exemples de participation d'une substance dans un rapport non stœchiométrique. De plus, leur caractère inexplicable ne peut pas être levé dans le cadre alors familier de la théorie de l'affinité chimique largement développée à l'époque. Néanmoins, Davy ne s'est pas contenté de décrire les faits expérimentaux, mais a également formulé des explications, notamment sur les raisons de l'activité particulière du platine et du palladium. Il a souligné que la conductivité thermique et la capacité de radiation de ces métaux semblaient à l'origine de ces différences : « *Platinum and palladium have low conducting powers, and small capacities for heat compared with other metals, and these seem to be the principal causes of their producing, continuing, and rendering*

*sensible these slow combustion.* » Pour tester cette hypothèse, Davy a proposé d'inhiber cette activité en protégeant la surface des métaux par un film de matériau faiblement radiatif : « *I have tried some earthy substances which are bad conductors of heat; but their capacities and power of radiating heat appear to interfere. A thin film of carbonaceous matter entirely destroys the igniting power of platinum, and a slight coating of sulphides deprives palladium of this property, which must principally depend upon their increasing the power of the metal to radiate heat.* »

L'attribution du phénomène de combustion catalytique, en présence de platine et de palladium, à la chaleur est une explication qui ne pouvait plus suffire après qu'Edmund Davy ait trouvé, au cours de ses travaux sur la chimie du platine, que du platine finement divisé, préparé par réduction du sulfate de platine par de l'éthanol à l'ébullition, devenait incandescent en présence de vapeur d'éthanol sans avoir besoin d'être préalablement chauffé [5]. Il rapprocha cette observation de celle de Humphry Davy en soulignant simplement : « *This mode of igniting metal seems to be quite a new fact in the history of chemistry; but the means of keeping it in a state of ignition is only another illustration of the facts previously pointed out by Sir H. Davy.* »

### Döbereiner et le platine finement divisé

Ayant pris connaissance des travaux d'Edmund Davy en 1821, Döbereiner a promptement repris ces expériences et montré que le produit de la réaction de l'éthanol en contact avec le platine finement divisé est l'acide acétique [6]. De plus, après avoir noté le caractère apparemment inépuisable de l'action du platine, il suggéra que cette réaction pouvait être utilisée à grande échelle pour la fabrication de ce produit : « *[...] be used again to acidify fresh, perhaps limitless, quantities of alcohol; a circumstance which permits its use for the large-scale preparation of acetic acid.* »

Il poursuivit ses expériences en préparant du platine à l'état d'éponge en calcinant un complexe de platine (vraisemblablement de l'hexachloroplatinate (IV) d'ammonium). L'utilisation de ce métal finement divisé dans les réactions de combustion de plusieurs réactifs gazeux dont l'hydrogène le conduisit, en 1823, à une découverte que Berzélius décrivait ainsi dans son rapport de la même année : « *From any point of view, the most important and, if I may use the expression, the most brilliant discovery of last year is, without doubt, that... made by Döbereiner* » [7]. Il constate qu'un mélange d'hydrogène et d'oxygène (ou air) mis en contact avec du platine spongieux réagit violemment dès la température ambiante, le métal étant rendu incandescent par la chaleur dégagée [8].

Dans ses tentatives d'interprétation du phénomène, Döbereiner considérait l'action du platine comme un cas particulier de l'action voltaïque, le platine et l'hydrogène formant une « combinaison voltaïque » dans laquelle l'hydrogène joue le rôle du zinc : « *The entire phenomenon must be regarded as an electrical one, whereby the hydrogen forms an electrical chain with the platinum.* » Il était beaucoup moins affirmatif sur ce mécanisme dans un article de la même année : « *Most likely a new natural principle is operative here, which will become apparent through further investigation* » [9], et dans un livre regroupant ces expériences où il excluait le caractère mécanique, électrique ou magnétique de ce mécanisme : « *[...] probably of a quite special nature, i.e. neither mechanical nor electrical nor magnetic* » [10].

Les travaux de Döbereiner sur la combustion catalytique en présence de platine finement divisé ont provoqué une vive

réaction dans la communauté scientifique, et ce en dépit du caractère inexplicable des phénomènes par les théories en vigueur à cette époque. Sur le plan scientifique, elle n'a pas cessé de faire l'objet de nombreux travaux, dont ceux de Dulong, Thenard et Faraday.

### Dulong, Thenard et la généralisation du phénomène

En 1823, Dulong et Thenard reprennent les travaux de Döbereiner sur la catalyse de combustion avec l'intention d'en découvrir la théorie : « *N'ayant aucune connaissance des recherches que l'auteur de cette belle expérience a sans doute entreprises pour en découvrir la théorie, nous n'avons pu résister au désir de faire nous-mêmes quelques essais dirigés vers ce but [...]* » [11a].

Pour cela, ils entreprennent un travail systématique qui prouve la généralité de l'activité catalytique dans la réaction de combustion de l'hydrogène, des corps solides métalliques et non métalliques, simples ou composés. Ces auteurs montrent aussi que les phénomènes observés sont intimement liés à l'assemblage des cristaux, à leur grosseur, leur orientation, leurs accidents, en un mot à la texture du solide. La spécificité d'un solide se trouverait ainsi justifiée. Elle n'est pas pour autant expliquée : « *Il est difficile de comparer exactement leur pouvoir, parce que l'étendue de la surface, l'épaisseur des fragments et même leur configuration, modifient son intensité* » [11b].

Devant les difficultés d'une explication théorique, les auteurs se défendent de présenter des hypothèses pour expliquer les faits observés : « *Nous nous abstenons d'ailleurs de présenter des conjectures que ces phénomènes singuliers ont fait naître dans notre esprit jusqu'à ce que nous ayons terminé les expériences que nous avons entreprises pour les vérifier* » [11a]. Cependant, plus tard dans le second article paru la même année, leurs hésitations demeurent perceptibles quant au rôle de l'électricité dans ces phénomènes catalytiques : « *On pense bien que dès le commencement de nos recherches, nous avons dirigé nos tentatives de manière à découvrir quelle part l'électricité pourrait avoir dans ces phénomènes, mais nous devons avouer que jusqu'ici nous ne saurions expliquer la plupart des effets que nous avons observés, en leur supposant une origine purement électrique* » [11b].

L'explication de la combustion catalytique en tant que phénomène de nature électrique était largement répandue et a perduré malgré les critiques formulées à son égard d'abord par Liebig [12] et surtout par Faraday.

### Faraday et la combustion catalytique en tant que phénomène de surface

Après avoir pris connaissance de la découverte de Döbereiner, Faraday s'est empressé de vérifier les résultats et, dans une note brève, il les a confirmés : « *It was communicated to me by M. Hachette and having verified it I think every chemist will be glad to hear its nature* » [13]. Plusieurs investigations ont ensuite été entreprises par l'auteur sur l'étude de l'électricité et la décomposition électrochimique des corps. Dans un article paru en 1834, Faraday dévoile son intention de montrer que le phénomène observé lors de la combustion de l'hydrogène en présence de platine ne peut être interprété comme une action électrique : « *The conclusion at which I have arrived in this section may seem to render the whole of it unfit to form part of a series of researches in*

*electricity; since remarkable as the phenomena are, the power which produces is not considered as of an electric origin, otherwise than as all attraction of all particles may have this subtle agent for their common cause. But as the effects investigated arose out of electrical researches, as they are directly connected with others which are of an electric nature, and must of necessity be understood and guarded against in a very extended series of electro-chemical decomposition, I have felt myself fully justified in detailing them in this place* » [14a]. Lors d'une expérience de décomposition de l'eau dans une cuve à électrodes de platine, Faraday constate qu'après avoir déconnecté les électrodes, le volume du mélange gazeux diminue au contact du métal. De plus, il montre que l'activité du platine est inhibée si des impuretés se déposent à sa surface. Cette remarque l'a conduit, après un grand nombre d'observations, à postuler, pour la première fois, que la réaction de combustion catalytique est un phénomène de surface et que l'activité du platine demeure inchangée tant que sa surface est propre et que le mélange d'hydrogène et d'oxygène est pur : « *It must not, however, be unnoticed, that the purer the gases subjected to the action of the plate, the longer was its combining power retained. With the mixture evolved at the poles of the voltaic pile in pure dilute sulfuric acid, it continued longest; and with oxygen and hydrogen, of perfect purity, it probably would not be diminished at all* » [14b]. Pour corroborer son hypothèse, Faraday a mis au point plusieurs expériences qu'on peut qualifier aujourd'hui d'empoisonnement et de régénération du platine. Ainsi, il a vérifié que l'activité est inhibée lorsque le métal est mis en contact avec différents corps étrangers, ou au contraire, qu'elle est restaurée après divers traitements thermique, mécanique et/ou chimique du métal : « *Different modes of treatment applied to the platina, after it had ceased to be the positive pole of the pile, affected its power very curiously [...]. Though thus uncertain in its action, and though often diminishing the power given to the plates at the positive pole of the pile, still it is evident that heat can render platina active, which before was inert. The cause of its occasional failure appears to be due to the surface of the metal becoming soiled, either from something previously adhering to it, which is made to adhere more closely by the action of the heat, or from matter communicated from the flame of the lamp, or from the air itself...; and this, and much less than this, is sufficient to prevent it from exhibiting the curious power now under consideration* » [14c].

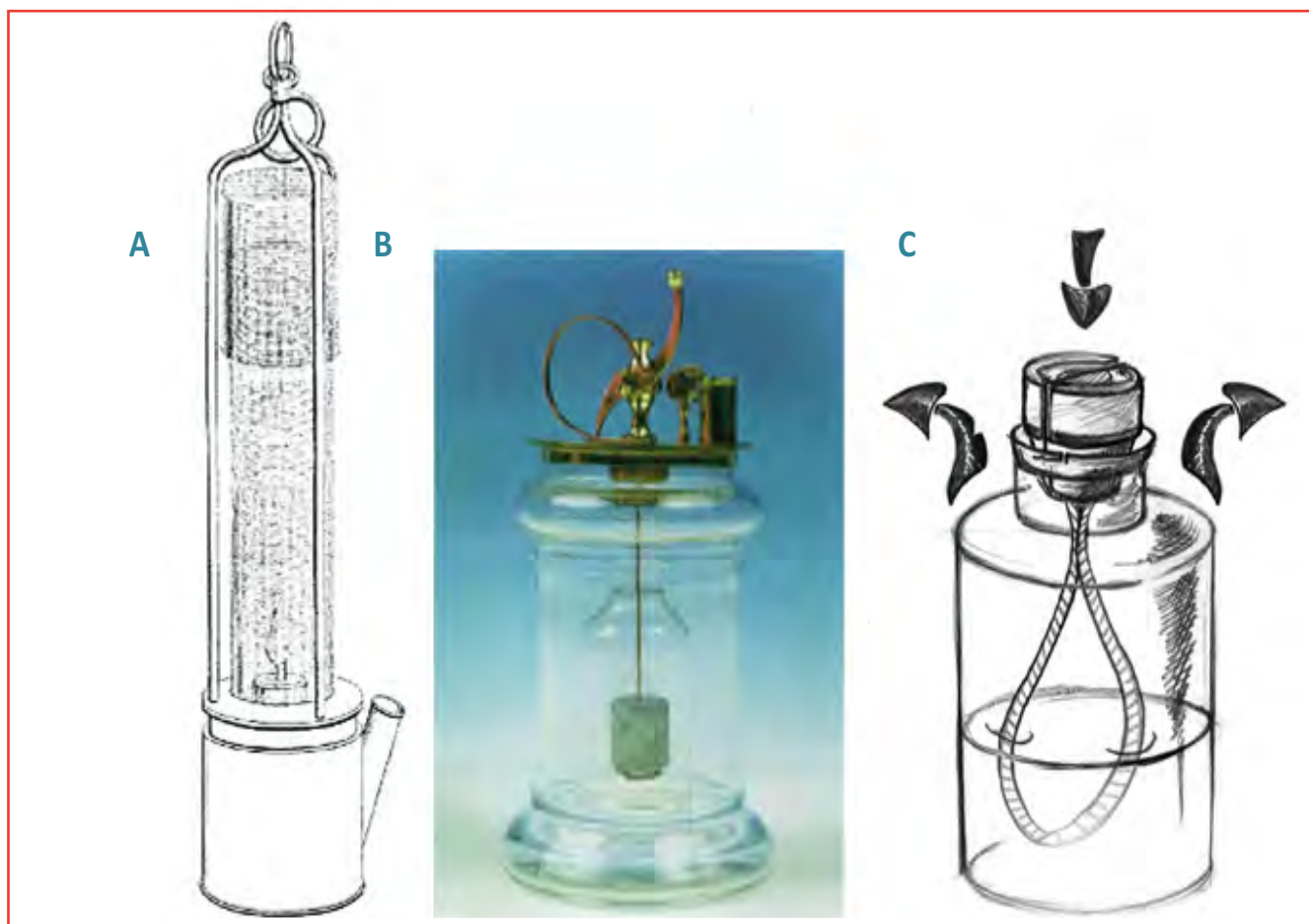
Après avoir rappelé les observations et les explications des principaux auteurs de la découverte de la combustion catalytique, à savoir H. Davy, W. Döbereiner, P.L. Dulong et L.J. Thenard, M. Faraday, considérant que le phénomène demeure encore sans interprétation pertinente, abandonne la théorie électrique du phénomène, admettant que celui-ci peut avoir lieu à la surface de plusieurs solides : « *The effect is evidently produced by most, if not all, solid bodies, weakly perhaps by many of them, but rising to a high degree in platina. Dulong and Thenard have very philosophically extended our knowledge of the property to its possession by all the metals, and by earths, glass, stones, etc (611); and every idea of its being a known and recognized electric action is in this way removed* » [14d].

L'interprétation des auteurs, bien que souvent hésitante, accordant un caractère électrique à l'action du platine dans la combustion catalytique est définitivement rejetée par Faraday sans faire référence à Liebig, qui notait déjà en 1829 que certains faits s'accordent mal avec les hypothèses sur le rôle de l'électricité [12]. Faraday admet en contrepartie que

les solides en général, et le platine en particulier, ont un pouvoir d'attraction à leur surface. Celui-ci est augmenté ou diminué en fonction de la propreté de cette surface. Les gaz condensés à la surface du platine par suite de cette attraction ont des propriétés d'élasticité particulières et ne subissent plus la répulsion mutuelle que subissent normalement les particules en phase gazeuse : « *I am prepared myself to admit (and probably many others are of the same opinion), both with respect to the attraction of aggregation and of chemical affinity, that the sphere of action of particles extends beyond those other particles with which they are immediately and evidently in union, and in many cases produces effects rising into considerable importance: and I think that this kind of attraction is a determining cause of Döbereiner's effect, and of the many others of similar nature* » [14e]. Selon la théorie de l'auteur, les gaz à la surface du platine sont ainsi placés dans un état favorable à leur union dont les conséquences sont la production de vapeur d'eau et une élévation de la température. La vapeur d'eau formée diffuse rapidement à travers les gaz restants, libérant la surface du platine à de nouvelles parties de ces gaz qui viennent réagir à la surface du métal, et ainsi le cycle recommence. Ce processus est accéléré par l'élévation de la température due à la chaleur dégagée au cours de la réaction jusqu'à ce que l'ignition en résulte : « *[...] the deficiency of elastic power, not merely subjecting them more closely to the attractive influence of the metal, but also bringing them into a more favourable state for union, by abstracting a part of that power (upon which depends their elasticity) which elsewhere in the mass of gases is opposing their combination. The consequence of their combination is the production of water and an elevation of temperature. But as the attraction of platina for the water formed is not greater for the gases, if so great, (for the metal is scarcely hygrometric) the vapour is quickly diffused through the remaining gases; fresh portions of the latter, therefore, come into juxtaposition with the metal, combine, and the vapour formed is also diffused, allowing new portions of gas to be acted upon. In this way the process advanced, but is accelerated by the evolution of heat, which is known by experiment to facilitate the combination in proportion to its intensity, and the temperature is thus gradually exalted until ignition results* » [14f].

Cette idée de la perte d'une partie de l'élasticité des gaz en contact avec la surface du platine contient déjà les prémisses de la théorie d'adsorption qui sera développée plus tard par Langmuir [15]. De plus, les vues de Faraday sur la combinaison de l'hydrogène et de l'oxygène à la surface du platine ne sont pas sans relation avec l'interprétation actuelle des phénomènes de la catalyse hétérogène.

Dans un souci de généralisation, Faraday s'est servi de ce cadre théorique pour interpréter plusieurs observations reportées par Dulong, Thenard et Döbereiner, notamment les différences d'activité des solides, l'activité du platine spongieux dès la température ambiante et la sélectivité de la surface des solides : « *The theory of action which I have given for the original phenomena appears to me quite sufficient to account for all the effects by reference to known properties, and dispenses with the assumption of any new power of matter* » [14g]. Paradoxalement, les conclusions de Faraday, qui éliminent le rôle de l'électricité dans la réaction de combustion catalytique, semblent avoir été ignorées de Berzélius [1-2]. Ce dernier ne cite d'ailleurs pas les travaux de l'auteur dans sa revue où il regroupe plusieurs phénomènes sous une même dénomination et suggère que l'action catalytique est une manifestation des propriétés électrochimiques.



A) Lampe de sûreté de Davy ; B) Briquet chimique de Döbereiner ; C) Lampe hygiénique de Berger.

## Les premières applications de la combustion catalytique sans flamme

Davy a immédiatement reconnu l'utilisation pratique qui pouvait être faite de sa découverte, selon lui fortuite, de l'incandescence du platine préalablement chauffé en contact avec le gaz de houille. Il a de ce fait modifié la lampe destinée à l'éclairage des mines de charbon en intégrant une toile de platine autour de la flamme. La quantité de gaz explosif arrivant au contact de la flamme est fortement diminuée, limitant par conséquent les risques d'explosion. À partir de 1815, la lampe de Davy fut fabriquée industriellement et diffusée un peu partout en Europe (figure A).

Suite à sa découverte de la combustion de l'hydrogène en contact avec le platine finement divisé sans avoir besoin d'être préalablement chauffé, Döbereiner fut le premier à réaliser que cette réaction allait avoir beaucoup d'importance dans la société. Il a très rapidement mis à profit cette réaction dans plusieurs applications dont la plus célèbre est le briquet chimique : « *I have already used this latest observation to construct a new lighter and a new lamp, and shall apply it to far more important ends* » [16]. Cet ingénieux dispositif est constitué d'un récipient en verre à moitié rempli d'acide sulfurique dilué (figure B). À l'intérieur se trouve un cylindre de verre, fermé par un robinet, auquel est suspendu un morceau de zinc. Ce dernier réagit en contact avec l'acide et il y a dégagement d'hydrogène. L'augmentation de la pression du gaz à l'intérieur du cylindre repousse l'acide en dehors, ce qui arrête la réaction. En ouvrant le robinet, situé

en haut du cylindre, on peut produire un jet d'hydrogène qui s'enflamme au contact de grains de platine finement dispersés dans une céramique. La pression dans le cylindre interne baisse, l'acide sulfurique entre à nouveau en contact avec le morceau de zinc et une nouvelle provision d'hydrogène est prête à être utilisée.

Le briquet de Döbereiner a persisté pendant près d'un siècle, avec un million d'exemplaires vendus au total. Il est important de signaler que c'est pour la première fois qu'on utilisait, dans ce dispositif, ce qui est actuellement appelé catalyseur supporté. La dispersion des grains de platine dans une matrice réfractaire permet de limiter la désactivation physique et d'allonger, par conséquent, la durée d'utilisation du dispositif.

L'importance de la nature chimique du gaz combustible sur l'efficacité de l'action du platine, parue dans les travaux de Davy, Döbereiner, Dulong et Thenard, a retenu l'attention de W. Henry [17], qui a réalisé que la sélectivité de la combustion catalytique au contact avec le platine pouvait être mise à profit dans l'analyse des mélanges de gaz dont la composition n'est connue qu'approximativement : « *It was this inefficiency of the platinum sponge on the compounds of charcoal and hydrogen in mixture with oxygen, while it acts so remarkably on common hydrogen, and also, though slowly, on carbon oxide, that suggested to me the possibility of solving, by its means, some interesting problems in gaseous analysis.* » Henry a méthodiquement structuré ses travaux en trois parties. Les deux premières sont intitulées respectivement « *On the action of finely divided platinum on gaseous mixtures at common temperatures* » et « *On the*

effect of finely divided platinum on gaseous mixtures at increased temperatures ». Il y présente les résultats qualitatifs et quantitatifs d'un ensemble d'expériences sur la combustion catalytique de mélanges gazeux de composition connue et dans des conditions opératoires déterminées ; il s'agit d'un étalonnage de la méthode d'analyse. Dans la troisième partie, intitulée « Application of the facts to the analysis of mixtures of the combustible gases in unknown proportions », il met à profit son protocole opératoire basé sur la combustion catalytique pour déterminer la composition d'un mélange gazeux.

Cette méthode analytique constitue la base de plusieurs types de capteurs de gaz connus actuellement et fonctionnant sur le principe de la combustion catalytique fractionnée.

Un peu plus tard, vers la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, le pharmacien français Maurice Berger, découvrant le principe de la combustion catalytique sans flamme et sa mise en application dans la lampe de Davy et dans le briquet de Döbereiner, eut l'idée d'inventer un moyen d'assainir l'air vicié des chambres d'hôpital. Il mit au point un dispositif constitué d'un flacon contenant une composition appelée « ozoalcool » d'où part une mèche reliée à un brûleur en cône constitué de noir de platine dispersé dans une céramique (figure C). Le platine préalablement chauffé est porté à incandescence sans flamme ni fumée, éliminant ainsi les odeurs indésirables. En ajoutant de l'ozophéline, on obtient un désinfectant particulièrement efficace contre les microbes et les bactéries en suspension dans l'air.

## Conclusion

La découverte de la combustion catalytique sans flamme dans la première moitié du XIX<sup>e</sup> siècle a provoqué un grand intérêt dans la communauté des scientifiques, aussi bien pour son caractère curieux que pour les possibilités d'applications qu'elle a suscitées. Malgré le cadre conceptuel défavorable à l'époque, notamment l'absence d'une théorie de la liaison chimique et de la réaction chimique, les tentatives d'interprétation du phénomène observé par Faraday constituent les bases théoriques de la catalyse hétérogène qui se sont développées plus d'un siècle après les premières expériences.

## Références

- [1] Ben Kilani C., Batis H., Chastrette M., Développement des idées sur la catalyse au début du XIX<sup>e</sup> siècle, *L'Act. Chim.*, **2001**, 244, p. 44.
- [2] Batis H., Chastrette M., La catalyse : de Berzelius au *Traité* de Grignard, *L'Act. Chim.*, **2004**, 276, p. 52.
- [3] Davy H., *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **1816**, 106 : a) p. 1 ; b) p. 23 ; c) p. 115.
- [4] Davy H., *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **1817**, 107 : a) p. 45 ; b) p. 77.
- [5] Davy E., *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **1820**, 110, p. 108.
- [6] Döbereiner J.W., *Ann. Phys.*, **1822**, 72, p. 193.
- [7] Berzelius J.J., *Jahresbericht*, **1823/1825**, 4, p. 60.
- [8] Döbereiner J.W., *Ann. Chim. Phys.*, **1823**, 24, p. 91.
- [9] Döbereiner J.W., *J. für Chem.*, **1823**, 39, p. 1.
- [10] Döbereiner J.W., *Über neu entdeckte höchst merkwürdige Eigenschaften des Platins*, Jena, **1823**.

- [11] Dulong P.L., Thenard L.J., *Ann. Chim. Phys.*, **1823** : a) 23, p. 440 ; b) 24, p. 380.
- [12] Liebig J., *Ann. Chim. Phys.*, **1829**, 42, p. 316.
- [13] Faraday M., Quart J., *Science*, **1823**, 16, p. 179.
- [14] Faraday M., *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **1834**, 124, p. 55 : a) § 564 ; b) § 581 ; c) § 582, 598 ; d) § 618 ; e) § 619 ; f) § 630 ; § 656.
- [15] Langmuir I., *J. Am. Chem. Soc.*, **1916**, 38, p. 2221 ; **1918**, 40, p. 1361.
- [16] Cité par Collins P.M.D., *Platinum Metals Rev.*, **1986**, 30, p. 141.
- [17] Henry W., *Phil. Trans. R. Soc. Lond.*, **1824**, 114, p. 266.



### Habib Batis

est professeur à la Faculté des sciences, Université Tunis El Manar\*.

- \* Unité de Recherche sur les nanomatériaux et catalyse hétérogène, Département de chimie, Faculté des sciences, Université Tunis El Manar (Tunisie).  
Courriel : habib.batis@fst.rnu.tn

**Précis et sensible.**

NOUVEAUX SYSTÈMES D'ASPIRATION BVC BASIC, BVC CONTROL ET BVC PROFESSIONAL

- aspiration précise et confortable avec un contrôle optimal
- manipulation sécurisée de liquides biologiques
- équilibre parfait entre design et performance

www.vacuubrand.com

VACUUBRAND GMBH + CO KG · France  
Sébastien Faivre · Secteur Est et Sud  
Tél.: +33 388 980 848  
sebastien.faivre@vacuubrand.com  
Patrice Toutain-Keller · Secteur Ouest et Nord  
Tél.: +33 169 090 678  
patrice.toutain-keller@vacuubrand.com

**Technologie du vide**

# Gustave Vavon (1884-1953)

## La catalyse par le noir de platine en 1913 et les facteurs stériques en chimie organique

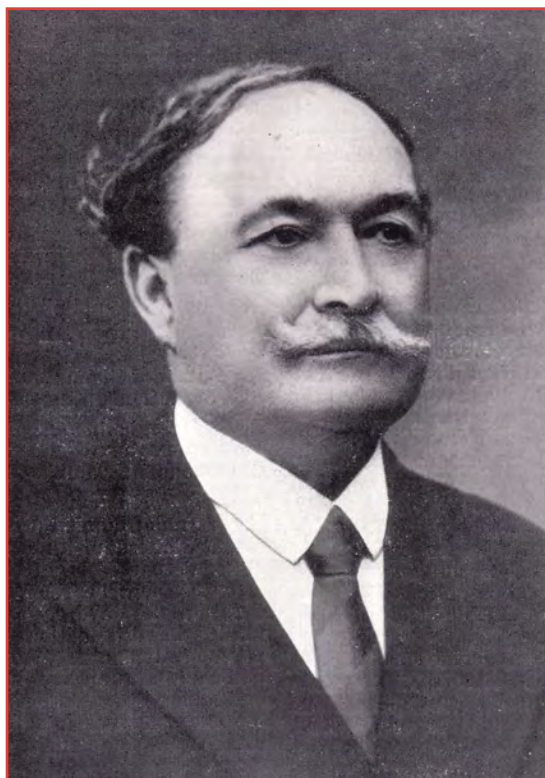
Josette Fournier

**Résumé** Le normalien Gustave Vavon (1884-1953) est un pionnier de la catalyse hétérogène (réductions par le noir de platine de Vavon), de la stéréochimie des dérivés cyclaniques et terpéniques (empêchement stérique) et de la synthèse asymétrique en chimie organique. Successeur de Victor Grignard à Nancy, des malheurs familiaux l'ont ramené à Paris et à l'École normale supérieure. Professeur remarquable, Vavon a formé de nombreux chercheurs, parmi lesquels Horeau et Conia. Il fut aussi un membre fidèle et actif de la Société Chimique de France.

**Mots-clés** Gustave Vavon, platine de Vavon, catalyse hétérogène, empêchement stérique, synthèse asymétrique, histoire de la chimie.

**Abstract** **Gustave Vavon (1884-1953): black platinum catalyst (1913) and steric factors in organic chemistry** Gustave Vavon (1884-1953) is a pioneer of heterogeneous catalysis (reductions with Vavon's platinum catalyst), of stereochemistry of cyclanic and terpenic compounds (steric hindrance) and asymmetric synthesis. He succeeded Victor Grignard in Nancy. Because of family sorrows, he leaved and came to Paris University and École normale supérieure. His students remembered him as a prominent teacher, between Vavon's searchers Horeau and Conia are well-known. Besides Vavon has been a regular and active member of the Chemical French Society.

**Keywords** History, Gustave Vavon, catalytic reduction with Vavon's platinum, heterogeneous catalysis, steric hindrance, asymmetric synthesis, history.



Gustave Vavon (1884-1953).

Il y a 60 ans cette année disparaissait Gustave Vavon, à qui l'on doit notamment de nombreuses avancées dans le domaine de la stéréochimie et la rédaction d'un chapitre sur ce sujet pour le *Traité de Chimie organique* coordonné par Victor Grignard.

Né le 30 décembre 1884, à la métairie Piot de Dampierre-sur-Bouhy dans la Nièvre, dans une famille de huit enfants, il est le fils de Pierre Auguste André Vavon et de Marie Alexandrine Giblin. Le 30 décembre 1919 il épouse à Dampierre Thérèse Minet (née le 24 février 1892), originaire de la même commune. Ils ont deux enfants, nés à Nancy, Marie Mathilde Madeleine (née le 30 octobre 1920) et Pierre Louis François (né le 31 décembre 1927). La perte de leur fille, le 28 janvier 1935, affecte cruellement Vavon. Il quitte Nancy pour Paris où un autre deuil l'atteint en la personne de son épouse. En 1939, il se remarie avec une parente de celle-ci. Il décède brutalement à Paris le 3 janvier 1953 et est inhumé le 5 à Saint-Amand-en-Puisaye.

### Itinéraire universitaire et professionnel

Après des études secondaires brillantes à Nevers puis au collège Rollin à Paris, Gustave Vavon a effectué son service militaire d'octobre 1904 à octobre 1905. Admis à l'École polytechnique et à l'École normale supérieure (ENS), en 1905 il fait le choix de l'ENS. Il est licencié en physique et chimie et diplômé d'études supérieures en 1907, agrégé en 1908 (reçu 12<sup>e</sup>). Une bourse d'études de deux ans, prolongée par une



bourse Commercy d'une année, lui permet de préparer une thèse dans le laboratoire de Robert Lespiau à l'ENS. À la rentrée 1911, il est nommé agrégé préparateur dans ce laboratoire. De 1912 à 1914, il enseigne la chimie minérale aux élèves de 2<sup>e</sup> année et surveille les manipulations de 3<sup>e</sup> année. Devant un jury présidé par Albin Haller, le 17 mai 1913, il soutient sa thèse dont le sujet principal s'intitule *Réductions catalytiques en présence de noir de platine. Application à la transformation en alcools des aldéhydes et des cétones*. Mobilisé le 4 août 1914 au 85<sup>e</sup> régiment d'infanterie, il est envoyé au front le 10 septembre ; nommé sous-lieutenant le 20 septembre, il est blessé le 20 octobre et évacué.

Le 1<sup>er</sup> août 1915, il est attaché, comme Victor Grignard (1871-1835), au Service du Matériel chimique de Guerre jusqu'à sa démobilisation en avril 1919. Toujours agrégé-préparateur à l'ENS, il remplace alors Grignard dans son cours de chimie organique à la Faculté des sciences de Nancy. En août 1919, il est agrégé-préparateur à l'ENS, délégué dans la fonction de chargé de cours de chimie industrielle dans cette faculté et, le 1<sup>er</sup> novembre, il est chargé par arrêté rectoral du cours de chimie organique à la chaire de Grignard pour l'année ; en décembre, il cumule cette charge avec un cours de chimie organique au nouvel institut métallurgique et minier qu'il gardera jusqu'à son départ de Nancy. En 1920, il remplace Grignard comme professeur titulaire de la chaire de chimie organique. Il enseigne les fonctions organiques en licence et en préparation à l'agrégation. À partir de 1920, il donne un cours sur les parfums à l'Institut chimique de Nancy.

Le 30 mars 1935, il obtient d'être chargé des fonctions de maître de conférences de chimie organique à la Faculté des sciences de Paris, succédant à Pauline Ramart-Lucas promue à la chaire de chimie organique. Titularisé le 1<sup>er</sup> décembre, il est aussitôt nommé professeur de chimie organique sans chaire au 1<sup>er</sup> janvier 1936, en dehors du contingent normal, à la demande unanime du Conseil de la Faculté. Le 20 janvier, Nancy lui confère le titre de professeur honoraire. Le 1<sup>er</sup> mars, le laboratoire qu'il dirige est rattaché à l'École pratique des hautes études (EPHE). De 1936 à 1944, il est chargé d'un cours complémentaire d'une heure semestrielle en chimie organique à l'ENS. À partir du 1<sup>er</sup> octobre 1941, il est nommé professeur titulaire de la chaire d'analyse et mesures physiques (en remplacement de Marcel Guichard admis à la retraite et qui avait le titre de maître de conférences d'État intégré dans une chaire d'université). Au début de l'année 1942, il fait état d'un cours de chimie organique donné à l'Institut agronomique. Le 1<sup>er</sup> juillet 1842, il est transféré dans la chaire de chimie organique en remplacement de Mme Ramart-Lucas mise à la retraite d'office par le gouvernement de Vichy, jusqu'au 1<sup>er</sup> octobre 1944 où il est ramené dans la chaire précédente du fait de la réintégration de Mme Ramart-Lucas. Il donne un cours de stéréochimie dans les certificats de chimie générale et de chimie approfondie.

Le 1<sup>er</sup> janvier 1948, il succède à Georges Dupont pour quatre ans au conseil de direction de la 2<sup>e</sup> section de l'EPHE. Le 7 avril 1952, il est promu en classe exceptionnelle à compter du 1<sup>er</sup> janvier.

Depuis le 14 juillet 1935, il est officier de l'instruction publique.

Le 31 mars 1938, il est fait chevalier de la Légion d'honneur. Nommé officier en juillet 1952, il décède avant la réception.

En 1944, il est présenté par la section de chimie à l'Académie des sciences de Paris qui l'avait déjà honoré en 1914 du prix Cahours, en 1917 du prix de la Médaille Berthelot, en 1926 (pour partie) et 1937 du prix Jecker.

Il était membre de la Société chimique de France depuis 1910 ; il avait été membre non résidant du Conseil de la Société de 1922 à 1925, puis membre résidant en 1937-1938 et en 1947-1948, enfin vice-président en 1939, 1945, 1946 et 1950.

## Le chercheur et le pédagogue

Annonçant le décès de Vavon à la Société chimique de France, le président Georges Chaudron souligne la régularité de sa production scientifique, l'unité de ses travaux et son aptitude à attirer de nombreux élèves et à collaborer avec eux : Alain Horeau, Charles Rivière, Jean Mathieu, Jean-Marie Conia sont de ceux-là. L'inspecteur d'académie Lamirand, qui rend compte de sa soutenance de thèse au recteur, loue la clarté de l'exposé « *concis sans sécheresse, méthodique et précis [...] plein d'entrain* », et même « *justement enthousiaste* ». Vavon sera toujours considéré comme un excellent professeur dont ses supérieurs soulignent la capacité de travail, l'aptitude à intéresser son auditoire et la présence soutenue à son laboratoire.

Georges Dupont, qui a rédigé son éloge dans le *Bulletin* de la Société et dans l'*Annuaire des anciens élèves de l'ENS*, loue son caractère, sa modestie, son bon sens, sa bonne humeur, sa tolérance et la sûreté de son jugement : « *Sa parole chaude et directe, la clarté de ses idées et de ses exposés avaient fait de lui l'un des professeurs les plus écoutés, les plus aimés.* » Il notait une « *remarquable homogénéité, entre trois sujets principaux : l'hydrogénation catalytique, la stéréochimie dans les séries cyclanique et terpénique,*



Cours de stéréochimie de Gustave Vavon publiés en 1953, d'après les notes prises au cours par Mlle Simone Riondet, « licenciée ès sciences ».

la synthèse asymétrique. » De 1919 à 1951, 66 diplômes d'études supérieures ou thèses d'université, d'État et d'ingénieur sont sortis du laboratoire de Vavon. Il est l'auteur ou le co-auteur d'une centaine d'articles. Ses années les plus productives sont 1927, 1928 et 1929.

En 1946 paraissait un ouvrage, cosigné de Vavon, René Dulou, chef de travaux à l'ENS, et Noël Lozac'h, alors chargé de cours à la Faculté des sciences de Lille. Intitulé *Manipulations de chimie organique*, ce livre était destiné à des étudiants avancés, élèves-professeurs, élèves-ingénieurs et doctorants. Conçu et rédigé dans le laboratoire de Vavon, il proposait des séries de manipulations enchaînées originales et faisait une place importante à la mesure des vitesses de réaction. L'ouvrage n'était pas un simple recueil de protocoles ; les rendements attendus et les constantes physiques des produits de réaction permettant leur identification étaient indiqués ; des compléments théoriques sur les méthodes, les transpositions et surtout la stéréochimie des réactions, ainsi que des références bibliographiques et d'excellents index, lui conféraient le statut d'un véritable et nouveau cours de chimie organique enseigné par l'expérience.

# HYDROGÉNATIONS CATALYTIQUES EN MILIEU LIQUIDE PAR LE PLATINE ET LE PALLADIUM

Conférence faite au Collège de France  
(Laboratoire de M. le professeur Ch. MOUREU)  
le 15 juin 1927.

Par M. G. VAVON  
Professeur à l'Université de Nancy.

A la suite des travaux de MM. Sabatier et Senderens, l'hydrogénation par les métaux réduits est entrée dans la pratique courante du laboratoire où elle a permis de préparer des substances aussi nombreuses que variées.

La technique employée par ces savants a donné naissance, par des modifications plus ou moins profondes, à plusieurs techniques parmi lesquelles l'une des plus fécondes est celle où l'on emploie le platine ou le palladium à froid et en milieu liquide.

Les premières hydrogénations systématiques par ce dernier procédé ont été effectuées il y a quelque vingt ans par le chimiste russe Fokin.

En 1906, dans un mémoire intitulé « Rôle des hydrures métalliques dans les réactions de réduction et nouvelles données pour élucider la constitution de quelques graisses et huiles de poisson (1) », Fokin développe les travaux de Marie et de Petersen sur l'hydrogénation électrolytique des corps gras non saturés et montre le rôle catalytique de certains métaux pulvérulents, comme le platine, le palladium, ou le nickel, qui par leur présence à la cathode, permettent d'effectuer ces hydrogénations plus rapidement ou plus complètement.

Rapprochant ces résultats de ceux de MM. Sabatier et Senderens, l'auteur pense que l'électrolyse n'est pas indispensable à la réaction : il essaye et réussit l'hydrogénation en employant l'hydrogène naissant préparé par le zinc et l'acide sulfurique dans le milieu même qui contient le catalyseur et le corps gras. Enfin, il donne une 3<sup>e</sup> technique qui consiste à faire barboter un courant d'hydrogène dans le liquide à réduire, le catalyseur étant maintenu en

SOC. CHIM., 4<sup>e</sup> SÉR., T. XLI, 1927. — Mémoires.

83

Première page de la publication de Vavon en 1927 dans le *Bulletin de la Société Chimique de France*.

## Travaux scientifiques

Entre 1909 et 1914, Vavon invente l'**hydrogénation catalysée par le noir de platine** appelé « platine de Vavon ». Ce platine, noir pulvérulent, s'obtient en réduisant l'acide chloroplatinique  $\text{PtCl}_2\text{H}_2$  par le méthanal : la réaction se produit quand, à la solution aqueuse des deux réactifs maintenue dans la glace, on ajoute lentement une solution concentrée de soude. Vavon a souligné l'importance de la préparation sur l'activité du catalyseur ; il a montré que l'oxygène est un promoteur du catalyseur et il a étudié le mécanisme de son empoisonnement par le sulfure de carbone. L'hydrogénation se produit sans chauffage ni compression. Le catalyseur est facilement régénéré. Son avantage sur le dispositif de Sabatier et Senderens est la possibilité de mesurer en continu le volume d'hydrogène absorbé, « *ce qui rend aisée l'étude des vitesses d'hydrogénation* ». Vavon a étendu le procédé à la réduction de composés carbonyles. Avec des cyclanones substituées, l'un des alcools stéréoisomères, *cis* ou *trans*, peut être obtenu préférentiellement. Il a ainsi préparé l'épicholestanol, point de départ de la synthèse de l'androstérone par Leopold Ruzicka, ainsi que des amines cycliques et des  $\beta$ -hydroxylamines par hydrogénation des oximes ou des imines. Il réussit à déhalogéner des dérivés aromatiques dibromés sur deux carbones voisins dans une chaîne latérale. Par sa méthode, l'hydrogénation de doubles liaisons conjuguées se fait en position 1,2. Le 15 juin 1927, il donne une

conférence au Collège de France (laboratoire de Charles Moureu) sur le sujet des *Hydrogénations catalytiques en milieu liquide par le platine et le palladium*. Supplanté par le nickel de Raney auquel il est l'un des premiers à s'intéresser et auquel il initie ses élèves (Horeau par exemple), le catalyseur de Vavon n'a pas connu la même notoriété. La catalyse par le noir de platine de Vavon est restée une méthode de laboratoire. Il faut cependant souligner la nouveauté d'une méthode douce sur laquelle insistent les rapporteurs de sa thèse (R. Lespiau et l'inspecteur d'académie Lamirand au recteur de Paris) et le suivi de l'avancement de la réaction par des mesures physiques de volume gazeux et de polarimétrie.

La seconde avancée de la chimie organique due à Vavon est la **notion théorique « d'empêchement stérique »**. Il avait constaté que l'hydrogénation des substances éthyléniques et des cétones est particulièrement difficile quand les substituants sont plus nombreux ou plus ramifiés au voisinage des doubles liaisons. Cette notion, dit-il, « *est un complément à la notion de fonction* ». La nouvelle attention portée aux facteurs stériques et à la stéréochimie caractérise son siècle. Vavon développe l'idée, due à F. Kehrman, dans deux conférences, l'une prononcée au laboratoire de Haller en 1924, l'autre pour la Société chimique de France en 1931. Ses « Applications de l'empêchement stérique à la détermination de l'isomérisation *cis-trans* dans les corps cycliques » sont le pivot de la seconde, déroulée comme une plaidoirie savante en faveur d'une thèse encore personnelle. Il l'a surtout fait connaître par sa contribution au *Traité de chimie organique* dont Grignard a dirigé les quatre premiers tomes et qui a été continué après lui sous la direction de Georges Dupont et René Locquin. Destiné à remplacer le *Traité* de Béhal et Valeur qui ne consacrait que 25 pages à la stéréochimie, le *Traité* de Grignard, en 23 volumes, commencé en 1931, s'est achevé en 1955 par l'édition d'une *Table alphabétique générale*. Vavon a rédigé 88 pages dans le tome II sur l'*empêchement stérique*. La stéréochimie était une branche récente, active et ouverte de la chimie, donc difficile à systématiser. C'est pourtant ce qu'il convient de faire dans un ouvrage aux objectifs didactiques, tant au niveau des concepts et des théories, des méthodes d'étude, de la langue que du choix des faits à privilégier. L'empêchement stérique était un sujet neuf, le chapitre n'a pas d'équivalent dans les ouvrages antérieurs ou contemporains parce qu'il est fondé essentiellement sur les travaux personnels de l'auteur et sur l'analyse de 232 références bibliographiques qui couvrent, de façon quasi exhaustive, la période internationale de 1872 à juillet 1933. Le choix de Vavon pour cet exercice s'imposait, les qualités didactiques de l'auteur l'ont couronné de succès. Vavon parcourt toute la chimie organique de son temps. Il ne fait aucune référence aux propriétés d'usage des produits rencontrés, ni domestiques, ni industriels. La séparation entre la « chimie pure » des savants et la chimie appliquée des arts se trouve consommée. Vavon ne néglige pas une interprétation thermodynamique de ses observations : examinant la formation de phényluréthanes, à partir d'alcools et d'isocyanate de phényle, et leur hydrolyse alcaline, il constate que les réactions sont plus rapides pour les dérivés de cyclanols  $\alpha$ -substitués de la série *trans*, la déshydratation et l'oxydation chromique de ces cyclanols sont plus rapides, au contraire, pour la série *cis*, « *Dans ces réactions, dit-il, où la structure cis ou trans n'est pas conservée, l'empêchement stérique semble ne jouer aucun rôle. [...] Peut-être faut-il chercher là une cause énergétique et relier cette différence de vitesse au fait que le dérivé cis est l'isomère le moins stable* » et s'isomérisent en dérivé *trans*.

Néanmoins, l'empêchement stérique est résolument, pour Vavon, un concept cinétique : « *Si l'on mesure la vitesse (des réactions), on voit apparaître parfois de grandes différences entre corps ayant la même fonction.* » Il ne caractérise pas la molécule isolée mais un couple de produits en réaction : « *L'empêchement stérique présenté par une molécule est variable suivant le réactif qu'on lui oppose.* » Le terme d'empêchement stérique, repris par Charles Prévost dans ses *Leçons de chimie organique*, qui le limite à l'hydrogénation catalytique, a séduit les auteurs anglophones qui s'en sont emparé sous les noms de « steric hindrance » ou « steric inhibition » ; on parle dans les manuels d'aujourd'hui d'encombrement ou de contrainte stérique, considéré comme une propriété de la molécule encombrée isolée et évaluée par des mesures ou des calculs d'énergie plutôt que par des mesures cinétiques.

La conception cinétique de Vavon a trouvé son épanouissement et un formidable prolongement dans les travaux sur les mécanismes réactionnels qui ont mobilisé les chimistes organiciens après la Seconde Guerre mondiale. Il faut noter en particulier l'attention pionnière portée par Vavon à l'influence du solvant sur la vitesse et l'orientation des réactions.

Enfin, Vavon réussit **les meilleures synthèses asymétriques** de son temps, c'est le troisième axe de ses travaux. Il prépare l'acide phényl-3-butanoïque par hydrogénation d'esters  $\beta$ -méthylcinnamiques d'alcools optiquement actifs, le menthol conduisant à 60 % d'acide dextrogyre. Il obtient aussi des alcools optiquement actifs par la réduction de cétones grâce au magnésien du chlorure d'isobornyle. Lui est due aussi l'alkylation de cétones  $\alpha$ -hydrogénées par des bromures d'alkyle après sodation par l'amylate tertiaire de sodium,  $\text{EtMe}_2\text{CONa}$ , ou 2-méthylbutan-2-olate de sodium, en solution dans le toluène. Ces travaux ont été relayés par son élève, Jean-Marie Conia. L'agent de méthylation, dont la paternité revient à Vavon, moins actif que l'amidure, présente sur lui l'avantage d'être soluble dans les solvants organiques, parmi eux l'éther anhydre, ce qui permet d'opérer en phase homogène.

## En conclusion

La chimie de Vavon marque l'évolution de la chimie organique vers une compréhension des mécanismes réactionnels. Il s'engage dans des sujets de recherche – catalyse, cinétique, stéréochimie – qui sont nouveaux et qui vont orienter toute la chimie organique de son siècle. On peut regretter l'absence de recours aux méthodes spectroscopiques, mais elles n'étaient alors guère accessibles aux chimistes organiciens non spécialisés.

Il convient d'insister sur les aspects didactiques des écrits de Vavon. On peut regretter la rareté des représentations stéréochimiques qui ne sont manifestement pas des outils habituels pour lui. Le contraste avec le chapitre traité par Ruzicka dans le *Traité de Grignard* démontre, soit un retard

de la chimie française qui avait pourtant donné à la science le carbone tétraédrique (Achille Le Bel, 1874), soit une aisance à voir mentalement des structures tridimensionnelles sans avoir besoin de représentations codifiées. Néanmoins, le souci didactique de Vavon est constant. En consignait toujours soigneusement les conditions opératoires et les rendements, ses conclusions vigoureuses ne sont jamais dogmatiques. Il réussit parfaitement à rendre compte d'une science qui est à la fois foisonnante, expérimentale et raisonnée, et mérite d'être considéré comme un exemple par ceux, chimistes, enseignants, journalistes, politiques, qui sont soucieux de se faire et de communiquer une image exacte de la chimie.

## Principales publications

Gustave Vavon a publié ses travaux dans le *Bulletin de la Société Chimique de France*, les *Annales de Chimie*, le *Bulletin des combustibles liquides* et des *Notes aux Comptes rendus de l'Académie des sciences*. Une liste chronologique de 101 publications, articles, conférences et ouvrages de 1909 à 1953, suivie de la liste des 66 thèses et diplômes qu'il a dirigés, se trouve dans la notice rédigée par Georges Dupont (voir dans les références).

- Vavon G., Hydrogénations dans la série terpénique, *C.R. Acad. Sci.*, **1909**, 149, p. 997.
- Vavon G., Méthode de préparation des alcools aromatiques, *C.R. Acad. Sci.*, **1912**, 154, p. 359.
- Vavon G., Empêchement stérique et hydrogénation catalytique, *Revue générale des sciences*, **1924**, p. 505.
- Vavon G., Empêchement stérique. Application à l'étude de l'isomérisation des corps cycliques, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1931**, 49, p. 937.
- Vavon G., L'empêchement stérique, dans *Traité de chimie organique*, V. Grignard (ed.), tome II, **1936**, p. 851-939.
- Vavon G., Hydrogénations catalytiques en milieu liquide par le platine et le palladium, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1927**, 4<sup>e</sup> série, 41, p. 1253.
- Vavon G., Dulou R., Lozac'h N., Manipulations de chimie organique, Masson & Cie, **1946**.

## Références

- Archives nationales F/17/27487, AJ/16/1566 et LH 2669/69 ; Archives municipales de Nancy 1F 80 ; Muséum national d'histoire naturelle, notice sur les travaux scientifiques  $\beta$ 5314.
- Dupont G., Notice nécrologique Gustave Vavon (1884-1953), *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1953**, 5<sup>e</sup> série, 20, p. 657-664.
- Dupont G., *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1953**, 5<sup>e</sup> série, 20, p. 249.
- Vavon (Gustave), *Annuaire des anciens élèves de l'ENS*, **1954**, p. 32.
- Prévost C., *Leçons de chimie organique*, SEDES, t. 1, **1949**.
- Blondel-Mégréris M., Victor Grignard (1871-1935) : un chimiste français, prix Nobel de chimie 1912, *L'Act. Chim.*, **2012**, 369, p. 12.
- Fournier J., La stéréochimie dans le *Traité de Chimie organique* de Victor Grignard, *L'Act. Chim.*, **2005**, 283, p. 47.



**Josette Fournier\***

est professeur hors cadre des universités.

\* 21 parc Germalain, F-49080 Bouchemaine.  
Courriel : josette.fournier4@orange.fr

Connaissez-vous le site de l'AC ?

**lactualitechimique.org**

Alors, vite à votre souris !

# La chimie part à la rencontre des collégiens

## Quelques exemples en Midi-Pyrénées

Alexane Roupioz

La région Midi-Pyrénées ne rassemble pas moins de 5 300 chercheurs et 1 100 doctorants qui produisent et diffusent quotidiennement des savoirs et des connaissances. L'appel à projets CSTI (Culture Scientifique, Technique et Industrielle) 2013 est destiné à financer des programmes d'associations travaillant en réseau, dont l'objectif principal est la découverte et la valorisation de la science et des techniques sur le territoire de Midi-Pyrénées. En 2011, l'Année internationale de la chimie (AIC) a été un tremplin dans la volonté de diffusion de cette culture trop souvent oubliée. Les collègues de la région sont entrés en contact avec les différents acteurs de la culture scientifique et technique en Midi-Pyrénées et des collaborations sont nées. Ainsi, loin de leurs heures de cours habituelles, de nombreux élèves de classes de 4<sup>e</sup> et de 3<sup>e</sup> ont pu découvrir la chimie autrement.

### Interventions dans les classes de collèges

« Cher Dmitri Ivanovitch Mendeleïev, 160 élèves de l'Académie de Toulouse vous rendent hommage aujourd'hui. Ils ont été 1 600 à étudier les éléments de votre tableau périodique et ils vous en proposent une illustration inédite. À leur âge (vous aviez 14 ans en 1848)... » C'est en ces mots que débute la lettre que Lydie Valade, directrice de recherche au CNRS à Toulouse et présidente de la commission « Chimie & Société » (voir encadré), adresse au célèbre chimiste le 31 mai 2011, lors de la présentation d'un tableau périodique pas comme les autres...

À l'occasion de l'AIC, l'association « Chimie pour tous en Midi-Pyrénées », fondée en 2009 pour coordonner et soutenir la mise en œuvre de projets de diffusion de la culture scientifique, a notamment mis en place l'action « Un élément, une classe ». À travers un travail interdisciplinaire (physique/chimie, arts plastiques), 53 classes de 3<sup>e</sup> de collèges volontaires de l'Académie

#### Chimie & Société

Créée en 2001, « Chimie & Société » est une commission de la Fondation de la Maison de la Chimie. Elle participe à l'effort de promotion de la culture scientifique et technique à partir d'exemples. Elle est acteur de la médiation de la chimie et s'implique fortement dans le débat science-société\*.

La commission se structure selon une double organisation, nationale et régionale. Elle fonctionne avec un bureau national et s'appuie sur des comités régionaux pour une meilleure couverture du territoire. Les correspondants régionaux interagissent avec les représentants du CNRS, de la Société Chimique de France (SCF), de l'Union des Industries Chimiques (UIC), des structures associatives régionales...

Cette commission est présidée par Lydie Valade, directrice de recherche au CNRS à Toulouse.

• [www.maisondelachimie.asso.fr/chimiesociete](http://www.maisondelachimie.asso.fr/chimiesociete)

\* Voir le numéro thématique « Chimie et société : construire un dialogue », *L'Act. Chim.*, 2011, 355.

de Toulouse ont illustré chacune deux éléments du tableau périodique de Mendeleïev afin de recréer un tableau vivant animé (voir figure 1) [1]. Les propriétés des éléments affectés à chaque classe étaient étudiées en cours de sciences.

Dans le cadre de ce projet, Jean-Louis Pelegata, maître de conférences à l'Université Paul Sabatier, a mis au point une présentation à destination de l'une des classes travaillant sur l'azote. Que peut-on faire avec de l'azote ? À quoi sert-il ? C'est à ces questions que le scientifique a essayé de répondre à travers son exposé. Son intervention dans le collège Gabriel Séailles (Vic-Fezensac, Gers) a été un succès selon les enseignants d'arts plastiques et de sciences physiques qui l'ont trouvée très instructive. Le bouche à oreille dans le département a permis à d'autres collèges de prendre connaissance de cette

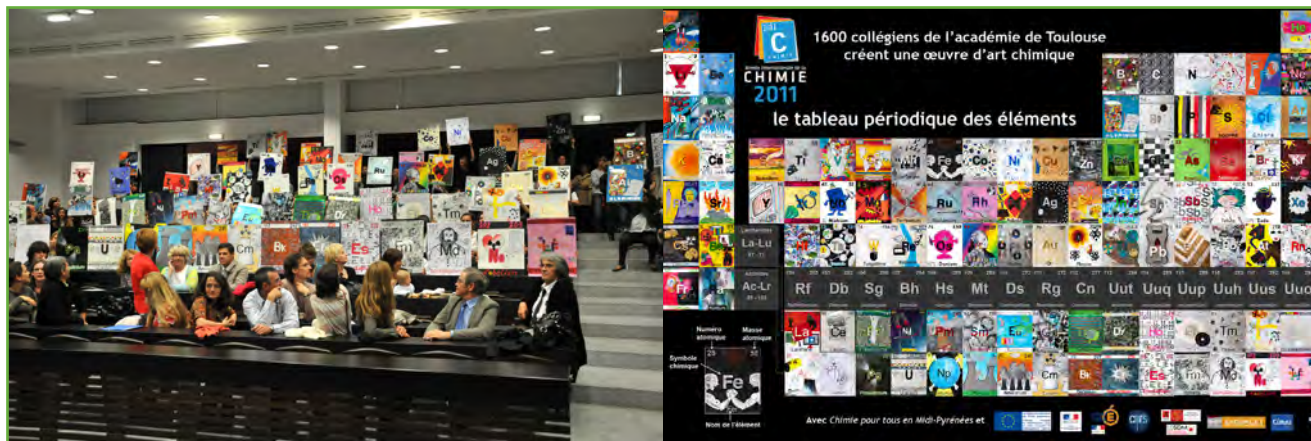


Figure 1 - Tableau vivant : hommage à Mendeleïev, INP-ENSIACET, 31 mai 2011.

© Françoise Viala / Chimie et Société Midi-Pyrénées.



Figure 2 - Des collégiens en visite à l'usine d'Arkema de Lannemezan.  
Photo : Pauline Bouton/Arkema, DR.

opération de médiation. Les enseignants ont pris contact avec les scientifiques afin d'organiser leur venue dans leurs propres collèges et ont pu à leur tour profiter de cette opportunité.

En 2012, c'est au collège André Abbal de Carbone (Haute-Garonne) – un nom prédestiné pour des chimistes ! – et à celui du lac de l'Uby à Cazaubon (Gers) que l'azote liquide a fait son spectacle. Au programme : des expériences surprenantes et quelques ateliers de cuisine moléculaire. Lydie Valade et Jean-Louis Pelegata ont illustré les différentes utilisations de l'azote dans des domaines variés : biologie, électronique et culinaire, avec notamment la fabrication d'une mousse au chocolat.

Outre l'illustration des cours du programme, cette démarche a permis d'aborder de nouvelles notions. Houria Kherfi, professeur de sciences physiques au collège de Carbone, se souvient : « Cette intervention les a beaucoup plus marqués que des heures et des heures de cours. » À la fin de l'exposé, les élèves prenaient le temps de poser des questions, « ils étaient impressionnés » raconte l'enseignante. Quant aux aspects nouveaux présentés devant les classes, « même un an après, les élèves se souviennent de ces manipulations » précise-t-elle : l'année suivante, devant les élèves qui avaient assisté à la démonstration, l'enseignante n'hésite pas à faire appel à leurs souvenirs pour introduire une notion ou illustrer un propos. Malgré un vocabulaire pas toujours très adapté à des collégiens, le bilan de cet évènement est très positif. Lydie Valade et Jean-Louis Pelegata se sont de nouveau rendus le 7 juin dernier au collège de Carbone pour raconter l'extraction de l'anéthol et le principe de fonctionnement de l'éthylotest [2]. Pour cette intervention, Houria Kherfi avait travaillé en amont avec ses élèves afin de bien les préparer.

Grâce à cette initiative, la chimie va à la rencontre des jeunes en se déplaçant dans des collèges qui n'ont pas, *a priori*, de contacts avec le monde de la recherche. « Nous sommes des établissements ruraux, loin de tout » explique Anne Lamarque, enseignante de sciences physiques à Cazaubon. Cette initiative des scientifiques est un moyen de montrer aux élèves que « la chimie, ce n'est pas que des atomes. » Les élèves, qui n'ont pas l'occasion de voir de telles expériences sortant de l'ordinaire, sont très intéressés par cette « nouvelle » chimie : ils aiment poser des questions sur la science chimique et aussi sur les métiers des intervenants.

## Interventions en milieu industriel

Située en région Midi-Pyrénées, et implantée depuis 1917, l'usine Arkema de Lannemezan (Hautes-Pyrénées) est spécialisée dans la production d'hydrate d'hydrazine et de ses dérivés,

dont la pureté et la qualité sont reconnues mondialement. Les produits issus de la chimie de l'hydrazine jouent un rôle important dans de nombreuses applications industrielles qui contribuent à améliorer notre confort, notre sécurité et notre quotidien. Ils sont largement utilisés dans l'agrochimie, la pharmacie, le traitement des eaux, ou encore le traitement des métaux et la récupération des sous-produits.

L'usine regroupe un panel de métiers très variés : opérateurs de fabrication et de logistique, techniciens de maintenance, ingénieurs de formations diverses, agents de maîtrise, mais aussi métiers de l'administration et de la sécurité... L'usine participe également à l'insertion des jeunes par la formation en alternance et l'accueil de stagiaires venus des écoles. Au mois de mars dernier, elle a ouvert ses portes aux élèves du collège de Saint-Laurent-de-Neste (Hautes-Pyrénées) dans le cadre de la semaine de l'industrie (figure 2). Cette initiative avait pour objectif de redorer l'image de la chimie, souvent assimilée à risques, danger et pollution, Arkema souhaitant mettre en avant un autre visage de l'activité industrielle.

Pour organiser cet évènement, « Chimie & Société » a été contactée pour intervenir dans le cadre de l'Union des Industries Chimiques. Sa bonne coordination et son important relais régional ont permis de profiter des compétences et de l'intervention des meilleurs spécialistes. Patrick Bauchat et Ludovic Paquin, maîtres de conférences à l'Université Rennes 1, se sont ainsi déplacés en Midi-Pyrénées pour animer des stands de cuisine moléculaire. Lydie Valade a également assisté à cette journée placée sous le signe de la diffusion de la culture scientifique et technique. Cette action interrégionale a été un réel succès. Les élèves ont suivi avec attention et grand intérêt toutes les interventions. Suite à l'annonce de cet évènement, Arkema a été contactée par d'autres entreprises qui semblent également intéressées par un tel projet.

[1] Voir *L'Act. Chim.*, 2011, 355, p. 63.

[2] Valade L., Pellegatta J.-L., Fau P., L'éthylotest, *L'Act. Chim.*, 2012, 367-368, p. 90.



### Alexane Roupioz

est diplômée du Master de sciences physiques et chimiques fondamentales de l'Université Paul Sabatier à Toulouse, journaliste stagiaire à *L'Actualité Chimique*.

Courriel : alexane.roupioz@gmail.com

## Distinctions

### Patrick Couvreur et son équipe, lauréats du Prix de l'inventeur européen 2013



©CNRS. Photothèque/ Céline Anaya-Gautier.

Patrick Couvreur, professeur à l'Université Paris-Sud à l'Institut Galien Paris Sud (Université Paris-Sud/CNRS) à Châtenay-Malabry, et son équipe sont les lauréats du Prix de l'inventeur européen 2013 de

l'Office européen des brevets (OEB) dans la catégorie Recherche. Ils ont été récompensés pour avoir mis au point des nanocapsules capables de contenir des principes actifs pour le traitement des tumeurs. Ce prix leur a été remis le 28 mai dernier lors d'une cérémonie à Amsterdam en présence de Son Altesse royale la Princesse Beatrix des Pays-Bas et de 500 invités.

Auteur de 450 publications de recherche et dépositaire d'une cinquantaine de brevets, Patrick Couvreur a participé à la fondation de la société BioAlliance en 1997. Celle-ci emploie aujourd'hui plus de soixante salariés et vient d'entamer la dernière phase d'essais cliniques d'un nanomédicament pour le traitement d'un

cancer du foie. Sa dernière découverte est un nouveau vecteur, le squalène, un lipide naturel et biocompatible. L'idée n'est plus d'enfermer le principe actif dans une capsule, mais de l'accrocher par une liaison chimique sur le squalène. Il pourrait ainsi devenir un moyen générique d'administrer toutes sortes de médicaments, comme des antibiotiques et des anticancéreux [1]. Patrick Couvreur a créé une nouvelle entreprise, Medsqual, pour développer ce concept. Rappelons qu'il a reçu la Médaille de l'innovation 2012 du CNRS.

[1] Voir Horcajada P., Serre C., Férey G., Couvreur P., Gref R., *Matériaux poreux, stockage et libération de médicaments antitumoraux et antiviraux*, *L'Act. Chim.*, 2011, 348-349, p. 58.

• Sources : Office européen des brevets, 28/05/13, et CNRS.

## Recherche et développement

### Des venins d'animaux, source de médicaments

Le venin des serpents, scorpions, araignées... est constitué d'un mélange complexe de peptides aux propriétés exceptionnelles. De nombreuses études ont montré que ces peptides pouvaient être



© Smartox.

utilisés pour combattre cancers, maladies neurologiques, maladies métaboliques ou encore troubles cardiovasculaires. Une soixantaine de médicaments « peptidiques » existent déjà sur le marché, dont cinq issus d'animaux. L'un d'entre eux, le Byttea<sup>®</sup>, tiré de la salive du « monstre de Gila », un saurien mexicain, est prescrit pour le traitement du diabète de type 2 et figure parmi les blockbusters, avec des ventes dépassant... le milliard de dollars !

Les perspectives sont vertigineuses : il existerait près de 173 000 espèces d'animaux venimeux. Or on connaît actuellement à peine 3 500 toxines sur un total estimé à plus de 43 millions ! Sachant qu'un seul venin peut contenir plusieurs centaines de peptides actifs, les venins constituent un réservoir quasi inépuisable de médicaments originaux !

Des collaborations efficaces se sont organisées avec le secteur académique, d'une part dans la région grenobloise, d'autre part dans la région PACA.

La première, **Smartox Biotechnologies**<sup>(1)</sup>, développe trois programmes ciblés sur la recherche de médicaments contre le cancer de la prostate, la leucémie et la mucoviscidose, et produit des peptides mutés aux chercheurs d'étudier leur(s) mécanisme(s) d'action. Le potentiel de la technologie développée a été détecté en 2010 par Floralis (la filiale de valorisation de l'Université Joseph Fourier de Grenoble), ce qui a permis la création et le développement de la start-up. Lauréate du Concours national d'aide à la création d'entreprises de technologies innovantes en 2010 dans la catégorie « en émergence » et du Réseau Entreprendre Isère<sup>®</sup> en 2013, elle a reçu un soutien très important de l'Inserm.



© Pierre Escoubas/VenomeTech.

La seconde, **VenomeTech**<sup>(2)</sup>, est une spin-off du CNRS et de l'Université Nice Sophia-Antipolis, dont le PDG coordonne le projet de recherche européen « Venomics », consacré à l'intérêt thérapeutique des venins d'animaux. Ce projet réunit huit partenaires dans cinq pays dont, pour la France, VenomeTech, le CEA à Saclay, l'Université de la Méditerranée et la société Vitamb. Lancé en 2011 et doté de 6 millions d'euros sur quatre ans, il analysera le venin de

## Déclaration commune du « G-Science » 2013

Des présidents et membres de quatorze Académies des sciences<sup>(1)</sup> se sont réunis à New Delhi en mars dernier dans le cadre du Groupe-Science des Académies. Le but du G-Science, baptisé ainsi il y a deux ans pour élargir le cercle des Académies membres, est de fournir des recommandations annuelles sur des sujets clés aux dirigeants politiques réunis aux sommets internationaux (G8, G20, etc.), tout en associant des Académies de pays émergents qui participent à l'expertise des enjeux locaux, régionaux et globaux de la planète.

En 2013, les deux thèmes sélectionnés par le G-Science ont été d'une part le rôle de la science, de la technologie et de l'innovation dans la conduite du développement durable, et d'autre part la résistance des maladies infectieuses aux traitements, qui constitue une menace pour l'humanité.

En ce qui concerne l'apport de la science, de la technologie et de l'innovation au développement durable, jugé nécessaire bien que non suffisant pour résoudre les défis en matière d'approvisionnement en eau, nourriture et énergie, d'éducation, d'urbanisation, etc., la recommandation clé des Académies est de faire prendre conscience à la population, dès l'école, et aux scientifiques eux-mêmes, que les sciences et technologies doivent précisément être au service de ce développement durable, y compris par leur capacité à anticiper les conséquences adverses éventuelles des choix technologiques de développement.

En ce qui concerne le problème de la résistance des maladies infectieuses aux traitements (comme la tuberculose), les Académies recommandent notamment une véritable montée en puissance de la surveillance épidémiologique, s'appuyant sur une approche plus responsable de l'usage des antibiotiques, chez l'Homme et dans les élevages, sur une intégration des nouvelles technologies d'exploration moléculaire pour les agents infectieux et une banque de données mondiale en accès libre, sur des enquêtes systématiques, sur les sciences de l'information et les sciences sociales. Elles recommandent aussi d'encourager le redémarrage de la recherche/développement de nouveaux médicaments anti-infectieux, actuellement en panne.

Les textes préparés et votés dans les mêmes termes par toutes les Académies participantes sont en ligne sur le site de l'Académie des sciences<sup>(2)</sup>.

(1) Les 14 Académies du G-Science 2013 (en italique, pays membres du G8) : Afrique, Afrique du Sud, Allemagne, Canada, États-Unis, France, Inde, Italie, Japon, Malaisie, Mexique, Népal, Royaume-Uni, Russie.

(2) [www.academie-sciences.fr/activite/rapport/GS\\_2013.htm](http://www.academie-sciences.fr/activite/rapport/GS_2013.htm)

• Source : Académie des sciences, 29/05/13.

200 espèces. L'objectif est d'élaborer une banque de données de 50 000 peptides, dont 10 000 environ seront ensuite synthétisés par synthèse chimique ou par génie génétique à partir de micro-organismes modifiés.

Les animaux venimeux étudiés sont des serpents, des araignées, des cônes, des scorpions et des guêpes provenant notamment d'élevages spécialisés dans lesquels se pratique la traite du venin. « *Un crotale diamanta fournit en une seule traite 500 mg de venin sec. Mais pour certaines petites araignées comme les Phidippus, il faut des centaines de traites pour obtenir 1 milligramme.* » Des expéditions sur le terrain (archipel des Tuamotu, Polynésie française, etc.) sont des sources naturelles d'animaux venimeux très contrôlées. La dernière expédition a permis la récolte de 770 cônes venimeux de 32 espèces actuellement disséqués dans les locaux du centre de l'Institut de recherche pour le développement (IRD) de Papeete.

Pour en savoir plus, voir aussi *Les délices de la Nature, venins et toxines*, « produit du jour » publié sur le site de la Société Chimique de France<sup>(3)</sup>.

(1) [www.smartox-biotech.com](http://www.smartox-biotech.com)

(2) [www.venometech.com](http://www.venometech.com)

(3) [www.societechimiquedefrance.fr/produit-du-jour/les-delices-de-la-nature-venins-et-toxines.html](http://www.societechimiquedefrance.fr/produit-du-jour/les-delices-de-la-nature-venins-et-toxines.html)

• Sources : Smartox Biotechnologies, 15/05/13, et *Le Monde Science et Médecine*, 05/06/13.

### Films de quartz poreux nano-structurés pour l'électronique : des « durs à cuire » vaincus par la chimie douce

Le quartz, l'une des phases cristallines de la silice, second minéral le plus abondant au monde, était très difficile à purifier et à nanostructurer pour la microélectronique jusqu'à aujourd'hui. En effet, des chercheurs de l'équipe « Matériaux hybrides et nanomatériaux » dirigée par Clément Sanchez du Laboratoire Chimie de la Matière Condensée de Paris (CNRS/Collège de France/UPMC), en collaboration avec l'Institut des matériaux de Barcelone et l'Institut Laue-Langevin de Grenoble, ont réussi un tour de force exceptionnel : obtenir avec un procédé simple un film de quartz sur un support de silicium intégrant des caractéristiques indispensables pour la microélectronique [1]. Pourquoi le quartz dans ce domaine ? Pour les propriétés piézoélectriques d'une de ses conformations (l' $\alpha$ -quartz) – propriété découverte en 1880 par les frères Curie –, qui lui permettent de se polariser électriquement sous l'action d'une contrainte mécanique, et réciproquement, de se déformer lorsqu'on lui applique un champ électrique.

La piézoélectricité a de très nombreuses applications dans l'industrie et la vie quotidienne, depuis le commun allume-gaz jusqu'aux résonateurs piézoélectriques,

### Une thèse, pour quoi ?

C'est la grave question dont l'Assemblée nationale vient de débattre le vendredi 24 mai dernier. Un amendement, déposé dans le cadre du projet de loi Enseignement supérieur et recherche, a créé la polémique : quelle reconnaissance du doctorat dans la fonction publique, et notamment quelle possibilité de postuler sur titre à l'ENA ? Et voilà les 12 000 membres des grands corps de la Noblesse d'État dressés comme un seul homme (peu de femmes en sont, quoique cela évolue également), toute appartenance politique confondue. *Annus horribilis* aurait dit la reine d'Angleterre devant ce sacrilège, une initiative du député Jean-Yves Le Déaut, le très respecté père de l'Office parlementaire des choix scientifiques et technologiques (OPECST).

Qu'est-ce qu'un docteur ? Historiquement, depuis le Moyen Âge, il s'agit d'une personne habilitée à produire des idées et à les répandre, ainsi que celles de ses collègues. En France, au contraire de la tradition anglo-saxonne comme latine existant dans la plupart des pays, le titre de docteur est de fait réservé aux membres du monde médical et assimilé... malgré un arrêt de la cour de cassation qui l'attribue aux titulaires du grade universitaire, le doctorat.

Ce n'est pas seulement dans ce domaine, un peu formel, que la France est en retard. L'endogamie culturelle de la haute fonction publique, issue – c'est le paradoxe – de diverses révolutions, est soulignée et combattue depuis longtemps. Et pourtant, selon l'OCDE, la France se distingue par un taux de moins de 2 % des cadres du public titulaires d'un doctorat, contre 35 % aux États-Unis et en Allemagne !

Qu'en est-il dans les entreprises privées ? Les docteurs sont éventuellement recrutés dans les services de recherche et développement ou comme ingénieurs, mais en compétition avec les « vrais » ingénieurs. D'une manière générale, en France, leur insertion professionnelle hors du monde académique pose problème.

En Suisse, seul pays européen à consacrer 3 % de son PIB à la recherche, les titulaires d'un doctorat sont très bien insérés dans le monde professionnel non académique. Recrutés à près de 100 % un an après l'obtention de leur diplôme et avec un accès largement ouvert à une fonction dirigeante (42 % des titulaires d'un doctorat occupent une position dirigeante), les Suisses montrent qu'ils ne craignent pas les gens qui ont des idées, les défendent et sont, peut-être, capables de les mettre en musique et d'en faire profiter l'économie.

Voté certes cet amendement iconoclaste, mais il serait dommage qu'il ne se concrétise pas, non seulement par l'indispensable décret d'application, mais plus radicalement par un changement dans les mœurs de nos élites. On peut rêver !

Rose Agnès Jacquesy

capteurs de pression ou d'accélération, actionneurs et moteurs piézoélectriques, microgénérateurs, transformateurs piézoélectriques, filtres en électronique... Bien qu'abondant, le quartz naturel ne possède ni la pureté ni la qualité nécessaires pour permettre son insertion dans les dispositifs électroniques. Les films de quartz utilisés sont le plus souvent obtenus par découpage de tranches de quartz synthétique, fabriqué à des températures et pressions élevées.

L'une des expertises de l'équipe de Clément Sanchez est la chimie douce hybridante qui permet, en s'inspirant du vivant, de synthétiser des matériaux multi-échelles et multifonctionnels originaux impactant les domaines de l'énergie, l'environnement, la nanomédecine, la micro-optique et la microélectronique modernes. Elle a récemment élaboré de nouveaux revêtements mésotexturés de quartz, un challenge qui depuis quelques années paraissait inaccessible aux équipes de recherche européennes, japonaises et américaines travaillant sur ce thème.

Ces travaux, basés sur un mode opératoire d'une grande simplicité mais intégrant des mécanismes de réaction particulièrement complexes, présentent une caractéristique totalement originale pour ces conditions de température et de pression : produire à partir de silice amorphe l' $\alpha$ -quartz (et non pas les phases cristallines

de silice non piézoélectriques) cristallisé avec un lien de symétrie avec son support de silicium – on dit plus exactement que le quartz est épitaxié. Cette propriété s'ajoute à une porosité qui peut être contrôlée de l'échelle du micron à celle de la dizaine de nanomètres, ce qui permet d'augmenter très notablement les surfaces accessibles à des molécules afin d'élaborer par exemple des capteurs ultra-performants. Ces matériaux piézoélectriques élaborés en associant finement chimie douce, agents texturants et traitement thermique, sont moins coûteux, plus facilement intégrables sur les plateformes silicium existantes de la microélectronique, et présentent des textures originales par rapport au quartz conventionnel. Les spécificités de ce quartz piézoélectrique méso- ou macroporeux épitaxié ouvrent un champ de recherches et d'applications très prometteur. Les attentes les plus évidentes concernent à la fois le domaine des capteurs intelligents basés sur la modulation des ondes acoustiques et la microélectronique moderne (développements de dispositifs pour la micro-électromécanique).

[1] Carretero-Genevriero A., Gich M., Picas L., Gazquez J., Drisko G.L., Boissiere C., Grosso D., Rodriguez-Carvajal J., Sanchez C., Soft chemistry based routes to epitaxial  $\alpha$ -quartz thin films with tunable textures, *Science*, 2013, 340, p. 827.

• Source : CNRS, 17/05/13.

## Biocarburants : accord Air Liquide/CEA



Installation PEGASE du centre CEA de Grenoble pour étudier les procédés de purification des gaz de synthèse. © P. Avavian/CEA.

Dans le cadre du **projet Syndièse**, qui vise à expérimenter une chaîne complète de production de biocarburants de seconde génération\* BtL (« biomass to liquid ») par voie thermo-chimique, Air Liquide et le Commissariat à l'énergie atomique et aux énergies alternatives (CEA) viennent de signer un accord de collaboration pour le développement d'un concept innovant de transformation de la biomasse en gaz de synthèse (ou BtS pour « biomass to syngas ») issu de leurs programmes de R & D respectifs.

Ainsi le CEA développera sur son site de Bure-Saudron et sur son centre de Grenoble une chaîne de procédés permettant de broyer, mettre sous pression, doser et convoier de la biomasse solide (bois notamment) afin de l'injecter dans un brûleur, en visant à minimiser la dépense énergétique de ce prétraitement. La biomasse ainsi prétraitée sera transformée en gaz de synthèse à partir d'un oxy-brûleur fonctionnant à haute température (1 300-1 400 °C) avec de l'oxygène à la place de l'air, en cours de développement dans les centres de recherche d'Air Liquide. Ce concept innovant sera expérimenté sur une unité-pilote BtS à une échelle de 1 tonne/heure.

Ces travaux contribueront à faire émerger, à terme, une nouvelle filière de valorisation de la biomasse pour produire un biocarburant de synthèse de grande pureté et de grande qualité énergétique.

\* Source : Air Liquide et CEA, 19/04/13.

À la différence des biocarburants de première génération, ceux de seconde génération utilisent les déchets agricoles ou sylvicoles, sans concurrencer les usages alimentaires.

## Biotechnologies : des puces sucrées sur des chaînes de polystyrène

Le positionnement moléculaire précis de fonctions « sucrées » comme le mannose, le galactose et la *N*-acétylglucosamine joue un rôle très important dans la Nature, notamment dans les phénomènes de reconnaissance moléculaire et d'adhésion cellulaire. Ces phénomènes, et notamment la reconnaissance moléculaire des sucres par des protéines complémentaires (les lectines), sont de plus en plus utilisés de nos jours dans des applications en biotechnologie et nanotechnologie (diagnostics, biopuces, etc.). Cependant, l'agencement précis de fonctions sucrées sur des matériaux synthétiques reste un challenge scientifique. Il est possible d'immobiliser des sucres sur des surfaces planes (dans le cas des biopuces par exemple), mais pas sur des objets aussi petits que des chaînes de polymère comme le polystyrène. Il existe depuis assez longtemps des polymères synthétiques fonctionnalisés par des sucres appelés « glycopolymères », généralement préparés à l'aide de méthodes de polymérisation classiques, et qui ont donc des structures moléculaires assez simples. En particulier, lorsque plusieurs sucres sont utilisés, ils sont dans la plupart des cas distribués de manière aléatoire sur les chaînes.

L'équipe de Jean-François Lutz de l'Institut Charles Sadron à Strasbourg (CNRS), en collaboration avec des chimistes du Centre de Recherches sur les Macromolécules Végétales (CNRS), est parvenue à contourner ce problème. Les chercheurs ont mis au point une technique de polymérisation contrôlée qui permet de « placer » des fonctions réactives à des endroits précis des chaînes polymères [1]. Par la suite, ces zones ont été fonctionnalisées par différents sucres en utilisant des chimies sélectives (déprotections successives de groupes protecteurs). Au final, les sucres sont donc agencés dans un ordre précis. Ces systèmes sont des versions synthétiques simplifiées des glycoprotéines ou des surfaces cellulaires (glyco-calix) utilisées dans de nombreux processus biologiques, chaque zone sucrée étant « reconnue » par sa lectine spécifique.

La reconnaissance moléculaire locale d'objets aussi petits que des chaînes uniques de polymère est donc désormais possible. Même si ces macromolécules n'ont pas encore le même degré de perfection que leurs homologues naturels, leur modulabilité (*i.e.* la densité et le nombre de sucres par chaîne, leurs emplacements ou simplement le contrôle de l'ordre de ceux-ci sur la chaîne) marque une grande avancée dans la synthèse de tels systèmes. De surcroît, ces polymères sont construits sur des chaînes de polystyrène, matériau biocompatible, bio-inerte, et pouvant être synthétisé en grande

quantité. On peut maintenant envisager de nombreuses applications pour ces systèmes comme le piégeage de virus, de toxines bactériennes ou la réalisation de diagnostics moléculaires.

[1] Baradel N., Fort S., Halla S., Badi N., Lutz J.-F., Synthesis of single-chain sugar-arrays, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2013, 52, p. 2335.

• Source : CNRS, 05/02/13.

## Industrie

### Des voitures qui roulent « aux MOF »



Février 2013, Ludwigshafen, Gérard Férey et Stefan Marx (BASF). © BASF.

En septembre 2012, la Médaille du prix Pierre Potier a été attribuée à BASF pour un nouveau procédé innovant permettant la production industrielle de MOF-aluminium en milieu aqueux. Son développement repose notamment sur les travaux de coopération avec l'équipe de Gérard Férey, Médaille d'or 2010 du CNRS.

Les solides hybrides poreux MOF (pour « metal-organic framework ») sont des structures hybrides métallo-organiques qui, grâce à leur très grande surface spécifique interne et leur très grande porosité, possèdent des propriétés exceptionnelles en matière de stockage de gaz (gaz à effet de serre, hydrogène, gaz naturel...), d'économie d'énergie, de régulation de température, de vectorisation de molécules actives [1]. Ils sont donc potentiellement très utiles pour des applications liées aux secteurs de l'énergie, des transports, de la santé...

Les premiers travaux effectués sur les MOF-aluminium (Al-MOF) ont été réalisés par l'équipe de Gérard Férey à l'Institut Lavoisier de Versailles (UMR CNRS 8180). En développant la synthèse hydrothermale du téréphtalate d'aluminium MIL-53 en 2004, ils ont ouvert la voie à la famille florissante des structures organo-aluminium.

Convaincus du très grand potentiel de ces matériaux, les chercheurs de BASF ont été les premiers à développer des procédés de fabrication industrielle de matériaux MOF de ce type, dont notamment le MIL-53. Ces premiers succès ont clairement stimulé la poursuite de la R & D sur ces matériaux à l'échelle internationale, tant au niveau industriel qu'au niveau académique.

Aujourd'hui, BASF a mis au point un nouveau procédé industriel permettant la





Les matériaux Basolite® de BASF sous différentes formes. © BASF.

fabrication en milieu aqueux à l'échelle de la tonne du fumarate d'aluminium de type MOF (Basolite® A520) [2], stable à l'air et à l'eau. La première étape, qui consiste à passer de l'échelle du laboratoire à celle de la production industrielle dans des conditions économiques, techniques et environnementales excellentes, a été franchie avec brio. Mais l'aventure ne s'arrête pas là. Les premiers véhicules prototypes utilisant ce carburant ont déjà prouvé leur viabilité, notamment en termes de sécurité, puisqu'ils ont passé avec succès la batterie de tests de sécurité nécessaires pour obtenir l'autorisation de rouler sur la voie publique. C'est ainsi que sur le site de recherche et de production de BASF (Ludwigshafen, All.), plusieurs voitures sont dotées de réservoirs remplis de MOF et sont utilisées quotidiennement. Cette phase pilote est toujours en cours dans le but d'optimiser la technologie et de la tester sur d'autres types de véhicules.

La firme espère pouvoir commencer à commercialiser ces produits pour cette application d'ici un à deux ans maximum et faire ainsi passer les MOF du statut de découverte géniale à celui de succès commercial utile à tous.

[1] Voir Férey G., Les nouveaux solides poreux ou les miracles des trous, *L'Act. Chim.*, 2007, 304, p. 1 ([www.lactualitechimique.org/larevue\\_article.php?cle=1674](http://www.lactualitechimique.org/larevue_article.php?cle=1674)) ; Horcajada P., Serre C., Férey G., Couvreur P., Gref R., Matériaux poreux, stockage et libération de médicaments antitumoraux et antiviraux, *L'Act. Chim.*, 2011, 348-349, p. 58.

[2] Gaab M., Trukhan N., Maurer S., Gummaraju R., Müller U., The progression of Al-based metal-organic frameworks – From academic research to industrial production and applications, *Micropor. Mesopor. Mater.*, 2012, 157, p. 131.

• Source : BASF, 03/04/13.

## REACH : où en sommes-nous ?

Adopté en décembre 2006 et entré en vigueur en juin 2007, le règlement européen REACH concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques vient de franchir une nouvelle étape. En effet, au 30 novembre 2010, toutes les substances fabriquées ou importées à plus de 1 000 tonnes par an ainsi que les substances dangereuses devaient être enregistrées ;

3 400 substances avaient été enregistrées dans ce cadre, avec un coût pour les entreprises européennes estimé à 2,1 milliards d'euros.

La date limite d'enregistrement des substances fabriquées ou importées à plus de 100 tonnes par an, pour pouvoir continuer à les fabriquer, les importer et les mettre sur le marché, était fixée au 31 mai 2013. À cette date, l'Agence européenne des produits chimiques (ECHA), chargée d'assurer le fonctionnement du règlement, annonce avoir reçu 9 084 dossiers (substances de 100 à 1 000 tonnes/an) émanant de 3 215 sociétés (80 % en provenance de grands groupes), avec en tête l'Allemagne (31 %), le Royaume-Uni (12 %), l'Italie, la France et les Pays-Bas (chacun 8 %).

Solvay par exemple a annoncé avoir finalisé avec succès l'enregistrement de ses 161 substances concernées par la deuxième bande de tonnage grâce à l'implication d'une centaine de personnes au sein du groupe. « Avec la finalisation de cette deuxième phase, nous mettons à la disposition de nos clients des données exhaustives visant à un usage de nos produits dans les meilleures conditions. REACH nous a permis de donner un nouvel élan à notre innovation, à trouver des voies de substitution pour certains de nos produits et porter nos métiers vers une chimie plus durable », explique Gérard Collette, son directeur industriel.

Prochaine étape : le 31 mai 2018, date limite d'enregistrement pour les substances fabriquées ou importées à plus de

1 tonne par an.

• Sources : ECHA, Solvay et UIC, 03/06/13.

## Surfact'Green® primé aux « Innovact Campus Awards »

Lors de la 17<sup>e</sup> édition du Forum européen de la start-up innovante (Innovact) en mars dernier à Reims, Surfact'Green®, un projet innovant dans le domaine de la « chimie verte », présenté par Sophie Colombel de l'École Nationale Supérieure de Chimie de Rennes, a remporté le deuxième prix des « Innovact Campus Awards 2013 ».

Surfact'Green® propose une expertise en « chimie verte » pour la production de tensioactifs écoproductibles dérivés de la biomasse, ainsi qu'une expertise en physico-chimie et formulation de tensioactifs. Les tensioactifs brevetés sont issus d'agroressources et de matières premières renouvelables telles que les algues, les coproduits de la betterave à sucre ou d'autres sucres (rhamnose, fructose, xylose...). L'originalité et le caractère innovant de ces nouveaux tensioactifs sont à la fois leur procédé de synthèse écoresponsable mais aussi leur biodégradabilité, leur écoproductibilité, leur plurifonctionnalité et enfin leur écotoxicité réduite. Les secteurs d'application de ces tensioactifs sont très larges et s'adressent à de nombreux marchés : cosmétique, agrochimie, détergence, industrie routière, agroalimentaire, santé.

• Source : Innovact, 29/03/13.

## Les Fondamentales, premier forum du CNRS dédié aux sciences

Soucieux de faire partager au grand public le sens et la portée des recherches menées actuellement, le CNRS vous donne rendez-vous à la Sorbonne du 14 au 16 novembre 2013 pour un forum dédié aux sciences en association avec le journal *Le Monde*.

Que reste-t-il à découvrir ? Cette question, qui motive la curiosité des chercheurs, sera le fil rouge de ces rencontres exceptionnelles en présence des plus grandes personnalités de la recherche française. Les réservations ouvriront en septembre.

• <http://lesfondamentales.cnrs.fr>

## Les paradoxes de la matière

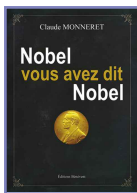


« Si nous devons la multitude d'appareils numériques actuels à l'électronique, celle-ci atteint ses limites. Comment les dépasser ? En explorant les propriétés spectaculaires de la matière ! Et les candidats au remplacement de l'électronique sont nombreux : oxytronique, spintonique, plasmonique, magnonique, graphène... Nous réservant aussi bien d'autres surprises – tels les capes d'invisibilité, les plastiques conducteurs, les polymères autocicatrisants, les protections antisismiques, etc. – les études sur la matière n'ont pas fini de nous étonner. »

Gérard Férey introduit ce dossier de *Pour la Science* très spécial sur les matériaux avec une description alléchante d'un monde magique dont on peut tout attendre, même l'inimaginable.

• N°79, avril-juin 2013 - [www.pourlascience.fr](http://www.pourlascience.fr)

## Livres



### Nobel, vous avez dit Nobel

C. Monneret

135 p., 14,90 €

Éditions Bénévent, 2012

Claude Monneret, membre de l'Académie de pharmacie, nous livre un petit livre alerte et particulièrement informatif sur Alfred Nobel et le prix qui porte son nom. À noter que s'il n'en existe pas en mathématiques, ce ne serait pas dû à l'inconduite de sa femme, mais au fait que Nobel ne croyait pas à l'importance de cette discipline dans les sciences et la technologie, au contraire de René Thom qui, lui, écrivit que « *la science s'arrête où commence l'expérience* ».

L'auteur consacre un chapitre très documenté aux « oubliés du Nobel » : plusieurs femmes, quelques Français, ou un jeune chercheur qui, victime de coupes budgétaires, est actuellement chauffeur de limousine en Alabama... Un long chapitre s'intéresse au parcours de nombreux nobélisés qui choisirent de soutenir des régimes partisans de l'eugénisme. L'explosion de la génétique a, en effet, entraîné des fantasmes comme l'existence de gènes spécifiques de l'alcoolisme, de la pauvreté, etc. et la croyance en l'amélioration raisonnée de la race. De très nombreuses personnalités comme Winston Churchill et Roosevelt, H.G. Wells ou George Bernard Shaw ont été de fervents défenseurs de ces idées, soutenus financièrement par de grands capitalistes – Rockefeller, Kellog, ou Ford. Alexis Carrel, Linus Pauling en ont fait la promotion – ainsi que Fritz Haber qui s'était déjà illustré au cours de la Première Guerre mondiale dans la recherche et la mise en œuvre de gaz de combats. Sa première femme, choquée par son absence de sens moral, s'était d'ailleurs suicidée. Si le nom d'Alexis Carrel a été supprimé d'une université (Lyon), il reste deux instituts en Allemagne portant le nom de Fritz Haber. Cette fiction d'une race supérieure, malgré ses conséquences dramatiques, n'a pas empêché la création aux États-Unis, en 1980, d'une banque du sperme alimentée par des intellectuels au QI très élevé et par de très grands athlètes... mais qui n'eut pas

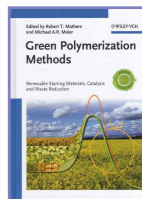
un grand succès : seuls trois Nobel acceptèrent le défi, mais trop vieux, ils n'eurent pas de descendants.

Les prix Nobel de littérature, et plus encore ceux de la paix, ont souvent été source de conflits, quand il s'est agi de les attribuer ; pire encore, plusieurs d'entre eux ont été harcelés par le FBI, à une époque où la Guerre froide triomphait.

Le dernier chapitre de l'ouvrage traite avec humour mais précision des Ig Nobel, une parodie distinguant dans chaque discipline la publication la plus « détonante » ; le plus surprenant étant le cas du physicien André Geim honoré en 1997 d'un Ig Nobel, et treize ans plus tard du prix Nobel pour ses travaux révolutionnaires sur le graphène, sujet que la Commission européenne vient de doter d'un milliard d'euros !

Lire Claude Monneret, c'est vérifier que le scientifique est avant tout un être humain, avec ses grandeurs mais aussi ses failles. Et aussi, comme l'a écrit François Jacob, « *malgré le Dr Frankenstein et le Dr Folamour, les massacres de l'histoire sont plus le fait de prêtres et d'hommes politiques que de scientifiques.* »

### Rose Agnès Jacquesy



### Green polymerization methods Renewable starting materials, catalysis and waste reduction

R.T. Mathers, M.A.R. Meier (eds)

363 p., 138 €

Wiley-VCH, 2011

La science des polymères n'échappe évidemment pas aux principes d'une chimie verte en rapide expansion. L'usage de matières premières renouvelables est devenu un enjeu industriel majeur, en particulier pour l'élaboration de matériaux polymères devenus irremplaçables dans notre environnement quotidien et dont la synthèse est toujours essentiellement basée sur les ressources pétrolières. L'approche est double, avec d'une part la synthèse « verte » à partir de la biomasse (renouvellement annuel : 170 milliards de tonnes dont 95 % de polysaccharides) ou même du CO<sub>2</sub> de monomères ou précurseurs conduisant à des polymères conventionnels, et d'autre part l'élaboration, « verte » toujours, de polymères dégradables et/ou biodégra-

dables respectueux de l'environnement et susceptibles de remplacer les précédents. Depuis plusieurs décades, les recherches sont intenses dans les deux directions et des résultats importants ont été obtenus. Mais si la première démarche apparaît plus rapidement réalisable, la seconde demeure encore hypothétique à moyen terme. Les contraintes économiques associées sont évidemment un frein majeur au développement industriel. Un deuxième aspect, commun à toute la chimie verte, concerne l'optimisation des procédés d'élaboration, de modification ou de fonctionnalisation des polymères : usage de solvants « verts », augmentation des rendements, réduction ou élimination des réactions secondaires, développement de nouveaux procédés de catalyse homogène ou hétérogène (métallique, organocatalyse, biocatalyse), réduction des déchets, etc.

Ce livre est le premier du genre entièrement consacré à la *synthèse et la modification de polymères* qui, par leur méthode d'élaboration ou par leur nature, relèvent d'une démarche de développement durable. Écrits par des experts internationalement reconnus, les 14 chapitres rassemblés ici demeurent, même s'ils sont focalisés sur les plus récents développements, des revues claires, détaillées et accompagnées d'un support bibliographique complet. Ils traitent d'exemples qui pourraient paraître ponctuels, mais qui sont en fait de vastes domaines illustrant parfaitement les orientations actuelles de la polymérisation « verte ».

Ces articles sont distribués en quatre parties relevant des considérations évoquées plus haut : utilisation de matières premières renouvelables ; conditions réactionnelles respectueuses de l'environnement ; procédés catalytiques d'élaboration de polymères (bio)dégradables ; biocatalyse et méthodes biomimétiques.

La première partie est consacrée à l'obtention, à partir de la biomasse, de monomères ou précurseurs et des polymères dérivés. Elle fait l'objet de trois mises au point respectivement dévolues aux ressources renouvelables que sont les triglycérides (poly)insaturés (huiles végétales), les composés furaniques issus des sucres et/ou polysaccharides (voie furfural/xylanes), et enfin le glycérol. La seconde est consacrée à l'usage de conditions réactionnelles (solvants renouvelables, peu volatiles, peu toxiques) respectueuses de l'environnement. La troisième

partie s'intéresse plus spécifiquement à la synthèse de quelques (co)polymères déjà bien identifiés pour leur biocompatibilité et leur biodégradation contrôlable. L'accent est mis sur la recherche de voies de synthèse vertes ou respectueuses de l'environnement, sur l'importance des processus catalytiques dans ces synthèses et sur la compréhension précise des réactions. Une dernière partie est consacrée aux synthèses biocatalytique et biomimétique de nouveaux monomères et polymères.

Ce livre est important car il considère et actualise la plupart des aspects liés au développement des polymérisations respectueuses de l'environnement, qu'il s'agisse de remplacer, par la synthèse verte, les sources fossiles des monomères actuellement utilisés pour les grands polymères commerciaux, ou de la synthèse biocatalytique pour le développement de matériaux (bio) dégradables à hautes performances et constituant une alternative verte aux matériaux actuels. Il sera très utile à tous les scientifiques, chercheurs, enseignants, industriels, qui souhaitent se familiariser avec ce vaste domaine.

**Jean-Pierre Vairon**

*Le lecteur est invité à lire l'analyse plus développée de cet ouvrage sur le site Internet de L'Act. Chim. (page liée au sommaire de ce numéro).*



### Au-delà des gènes

**Ce que la biologie révèle sur nous, notre monde et nos rêves**

G. Schatz

174 p., 23,70 €

Presses polytechniques

et universitaires romandes, 2013

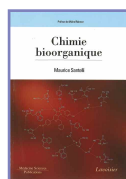
Ce livre présente sous forme de courts chapitres un mélange de connaissances et de réflexions sur l'origine de la vie et l'évolution des connaissances biologiques au cours du temps. De nombreux sujets y sont traités : l'origine et le rôle des mitochondries, l'évolution de la vie sur Terre, le rôle du fer, les gènes et le génome, les diverses horloges internes et la cause du vieillissement, le rôle protecteur de la douleur, les agents pathogènes de la tuberculose et de la lèpre, les récepteurs du goût, de l'odorat et de la vue, les couleurs de la peau, le rôle du cobalt, le rôle du magnétisme, les protéines, les micro-organismes et leur rapport avec

la vie, la naissance du monde, la vie et la mort des cellules, le rôle du sang. Un chapitre est consacré aux rapports entre la chimie et la vie.

Il se termine par une réflexion sur le rôle des scientifiques dans le monde actuel, en fustigeant les « chronoclastes », parasites du monde moderne, et en recommandant aux scientifiques d'accorder autant de temps à leur enseignement qu'à la recherche.

Un petit livre qui rappelle ou enseigne plein de choses sur la vie, en ordre un peu dispersé malheureusement, et qui nous incite à réfléchir sur notre passé et notre présent.

**Yves Dubosc**



### Chimie bioorganique

M. Santelli

367 p., 59 €

Médecine Sciences Publications, Lavoisier, 2012

Qu'est-ce que la chimie bioorganique ? Question très débattue, avec une palette de réponses dépendant des préoccupations de chacun. Cela va de la chimie des substances naturelles à la chimie biomimétique (qui est de la chimie pure, puisant son inspiration dans les réactions du vivant), quand il ne s'agit pas de synthèse de produits naturels, jusqu'à la biochimie.

L'auteur de cet ouvrage a choisi son camp (le bon !). Il se propose d'expliquer le fonctionnement du vivant, grâce aux concepts et connaissances de la chimie organique et de la chimie physique. Il s'agit de connaître la structure tridimensionnelle des molécules et des édifices supramoléculaires, de comprendre la réactivité des (macro) molécules et la nature des équilibres chimiques intracellulaires. C'est le socle indispensable à la recherche en biochimie, en chimie médicinale, ou à la mise au point d'outils d'investigation divers.

Il ne s'agit pas d'un ouvrage spécialisé, mais de la présentation des notions de base qui éclairent à l'échelle moléculaire le fonctionnement du vivant. C'est le fruit d'un cours professé par l'auteur, au niveau maîtrise, aux universités d'Aix-Marseille. Comment est-il possible de couvrir un domaine aussi vaste dans un ouvrage au format modeste ? C'est parce que l'incroyable complexité de la chimie du vivant utilise en fait un nombre

limité de réactions déclinées dans tous les domaines. Soulignons cependant que la mise en évidence, relativement récente, du rôle des métaux dans tous ces processus, a élargi le champ d'investigation, et pose au chimiste des questions très pointues.

La lecture de l'ouvrage soulève des questions, que l'on se pose de manière récurrente dans presque chaque chapitre : 1) À qui s'adresse-t-il ? 2) Qu'est-ce qui a conditionné le choix et le niveau de développement des sujets abordés ? Une première partie (chap. 1 et 2) rappelle les notions de base concernant la structure et la réactivité des molécules organiques. Ces chapitres sont très bien documentés et construits, mais ils sont très denses, probablement peu accessibles à des débutants en chimie, et supposent déjà un certain nombre d'acquis. Ils ont le mérite de traiter de la réactivité grâce aux notions modernes d'orbitales frontières, de caractères dur et mou, notions souvent ignorées dans ce genre d'ouvrage. Par contre, les aspects stéréochimiques, si importants en biochimie, sont peut-être trop rapidement traités, la reconnaissance chirale par exemple n'est pas abordée.

La spectroscopie (chap. 3) est présentée brièvement, il faut bien faire des choix..., mais pourquoi alors avoir détaillé spécifiquement la bioluminescence, qui est un problème très spécialisé dont les mécanismes ne sont pas totalement explicités ?

Suit la description des principaux constituants de la matière vivante, puis celle d'une cellule. Le chapitre 4 (constituants de la matière vivante) donne une place prépondérante aux glucides, alors que les protéines sont traitées de manière très succincte. Est-ce justifié ? On constate le même déséquilibre dans les chapitres 5 et 6 (cellules et membranes). Les mitochondries font l'objet d'un large développement, alors que le noyau est quasiment ignoré.

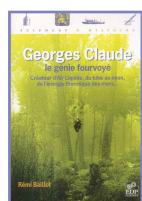
Vient ensuite un important chapitre sur les différents coenzymes et le mécanisme des réactions dans lesquelles ils interviennent. La place qui leur est consacrée est tout à fait justifiée. Par contre, leur biosynthèse est largement traitée. Est-ce l'essentiel pour ce type d'ouvrage ? Il s'agit souvent de problèmes difficiles, dont la complexité chimique est énorme, qui relèvent plus de la littérature spécialisée que d'un livre généraliste de base.

Ces remarques s'appliquent également à certains des chapitres qui suivent, par exemple à celui consacré aux porphyrines.

À côté des thèmes classiques de la biochimie – glycolyse, cycle de Krebs, biosynthèse des acides aminés, des terpènes, etc. – sont traités des aspects un peu moins présents dans les livres de ce type, par exemple la biosynthèse des terpènes par la voie non mévalonique, celle des macrolides et colorants végétaux, la vision, la chimie prébiotique (quid dans ce chapitre, de l'apparition de l'activité optique ?). Le plan, comme le souligne l'auteur lui-même, n'est pas d'une logique évidente, mais c'est secondaire, chaque chapitre pouvant être abordé indépendamment. Ces réserves ne sont pas des critiques. Il est quasiment obligatoire de faire des choix et de privilégier une certaine orientation face à la masse d'informations contenues dans les deux disciplines. Il est très clair que l'ouvrage a été écrit par un chimiste, et non par un biochimiste. Ses choix semblent guidés plus par la fascination chimique que par l'importance biologique. Mais pourquoi pas ? Il faut espérer qu'il fasse découvrir aux étudiants en chimie la somptueuse organisation rationnelle de la vie, son « inventivité » chimique, et qu'il suscite des vocations de chercheurs dans ce domaine où il reste tant à découvrir.

Soulignons enfin que c'est une des rares contributions de ce niveau écrite par un enseignant français. L'ouvrage est remarquablement illustré, avec des dessins très clairs et très pédagogiques, le style en est simple ; il est très agréable à lire et mérite vraiment qu'on l'utilise. Il sera très utile à tous ceux qui, à l'interface chimie-biologie, ayant déjà de bonnes bases, souhaitent rafraîchir leurs connaissances de chimie et découvrir des aspects plus complexes de la biochimie, certains à la pointe de la recherche actuelle.

Andrée Marquet



**Georges Claude**  
**Le génie fourvoyé**  
R. Baillot  
490 p., 39 €  
EDP Sciences 2010

Cette volumineuse biographie d'un inventeur « fourvoyé », né au lendemain de Sedan le 24 septembre 1870 et décédé en 1960, renouvelle l'autobiographie parue en 1957. Élève de l'École

de Physique et Chimie industrielles, c'est sa rencontre avec d'Arsonval, en 1893, qui détermine les débuts de la carrière scientifique de Georges Claude. En 1896, il dépose son premier brevet sur le stockage de l'acétylène dans l'acétone sous pression. Avec ses amis, il fonde à l'automne 1902 « L'air liquide, Société anonyme pour l'étude et l'exploitation des procédés Georges Claude ». L'auteur dépeint un homme généreux qui s'enferme néanmoins dans ses travaux de développement d'applications, se passionne pour l'aviation naissante, accumule les honneurs et durcit ses options politiques.

Vient la Grande Guerre, Claude met au point une bombe à oxygène lâchée sur l'ennemi le 24 septembre. Il imagine des appareils de repérage des batteries ennemies par le son. Il se plonge dans l'étude des gaz de combat. Le 8 novembre 1918, la Société d'encouragement pour l'industrie nationale lui décerne sa grande Médaille d'or. En 1919, il convainc Saint-Gobain de s'allier à l'Air Liquide pour fonder la Société chimique de la Grande Paroisse.

La dernière partie de cet ouvrage situe Georges Claude dans l'histoire de la Collaboration. Il est arrêté le 17 août 1944, évite la peine de mort requise par le procureur et est amnistié le 20 mai 1954. Très documenté sur les travaux scientifiques et industriels de Georges Claude et sur le contexte historique de son itinéraire, cet ouvrage pose un grand nombre de questions sur le comportement du chercheur face à la fascination de la recherche, à la gloriole scientifique, à l'argent, à l'engagement politique ; il mérite toute notre attention.

**Josette Fournier**

*Le lecteur est invité à lire l'analyse plus développée de cet ouvrage sur le site Internet de L'Act. Chim. (page liée au sommaire de ce numéro).*

### À signaler

#### Biotechnology for pulp and paper processing

P. Bajpai  
137,10 €  
Springer, 2012

Nous vous invitons à lire trois autres analyses sur [www.lactualitechimique.org](http://www.lactualitechimique.org) (fichier pdf en téléchargement libre via le sommaire en ligne de ce numéro) : **A history of European mass spectrometry** (K.R. Jennings, ed.), par J.-F. Gal ; **Inorganic experiments** (3<sup>rd</sup> ed, J.D. Woollins), par F. Launay ; **Les orfèvres de la lumière - Une visite au synchrotron SOLEIL** (M.-P. Gacoin), par M. Simon ; ainsi que les analyses plus complètes de **Georges Claude - Le génie fourvoyé** (R. Baillot), par J. Fournier et **Green polymerization methods - Renewable starting materials, catalysis and waste reduction** (R.T. Mathers, M.A.R. Meier, eds), par J.-P. Vairon.



#### L'Art-Chimie Enquête dans le laboratoire des artistes

P. Walter, F. Cardinali  
176 p., 45 €  
Éditions Michel de  
Maule, 2013

Art-Chimie, en résonance avec alchimie : cet ouvrage, réalisé en partenariat avec la Fondation de la Maison de la Chimie, met en scène comment, au cours des âges, les artistes ont transformé la matière (et donc fait œuvre de chimistes) pour donner forme au projet qu'ils avaient à l'esprit. Des peintures pariétales de Lascaux à celles de Léonard de Vinci, sans oublier les fards de l'ancienne Égypte, Van Gogh, Picasso, Rothko et même les masques de Colombie britannique, les auteurs narrent avec brio le mariage de l'art et de la science.

### Bulletin de l'Union des professeurs de physique et de chimie (« Le Bup »)

*La rédaction de L'Actualité Chimique a sélectionné pour vous quelques articles.*



#### N° 953 (avril 2013)

- La philosophie et la science : une relation complexe de l'Antiquité à nos jours, par F. Thevet.
- Nature des ions contenus dans une solution d'acide chlorhydrique, par O. Oreggia.
- Promotion des sciences auprès des lycéens : des concours scientifiques pour tous les goûts et pour tous les profils, par P. Chavel.
- Un point sur (trois des fiches déjà publiées dans L'Actualité Chimique).



#### N° 954 (mai 2013)

- Le photochromisme : définition et applications, par J. Piard.
- Incertitude de mesure dans la détermination de la teneur en eau selon la méthode de Karl Fisher, par B. Le Tutour et B. Velay.

Sommaires complets, résumés des articles et modalités d'achat sur [www.udppc.asso.fr](http://www.udppc.asso.fr)

9 juillet 2013

## *CO<sub>2</sub> : déchet ou molécule valorisable ?*

Paris

• [www.cnrs.fr/mi/spip.php?article325](http://www.cnrs.fr/mi/spip.php?article325)

4-7 août 2013

## *GSC-6*

*6<sup>th</sup> International conference on green and sustainable chemistry*

Nottingham (Royaume-Uni)

• [www.nottingham.ac.uk/ionicliquids/GSC-6/Home.html](http://www.nottingham.ac.uk/ionicliquids/GSC-6/Home.html)

13-16 août 2013

## *MMC-15*

*IUPAC International conference on macromolecular complexes*

Greenville (SC, États-Unis)

• <http://abtechsci.com/mmc15/index.html>



18-22 août 2013

## *APME 2013*

*IUPAC 10<sup>th</sup> International conference on advanced polymers via macromolecular engineering*

Durham (Royaume-Uni)

• [www.dur.ac.uk/soft.matter/apme2013](http://www.dur.ac.uk/soft.matter/apme2013)



19-23 août 2013

## *ACC 15*

*15<sup>th</sup> Asian chemical congress*

Singapour (Singapour)

• [www.15acc.org](http://www.15acc.org)

25-29 août 2013

## *Euroanalysis*

*European conference on analytical chemistry*

Varsovie (Pologne)

• [www.euroanalysis2013.pl](http://www.euroanalysis2013.pl)

25-29 août 2013

## *Frontiers in chemistry*

Yerevan (Arménie)

• [www.armchemfront.com](http://www.armchemfront.com)

25-30 août 2013

## *GECO 54*

*Journées du Groupe d'étude de chimie organique*

Le Croisic

• <http://geco54.univ-nantes.fr>

25-30 août 2013

## *SG 2013*

*17<sup>th</sup> International sol-gel conference*

Madrid (Espagne)

• [www.solgel2013madrid.com](http://www.solgel2013madrid.com)

1-4 septembre 2013

## *GDCh Wissenschaftsforum Chemie 2013*

Darmstadt (Allemagne)

• [www.gdch.de/index.php?id=1140](http://www.gdch.de/index.php?id=1140)

1-5 septembre 2013

## *CC9*

*9<sup>th</sup> European conference of computational chemistry*

Sopron (Hongrie)

• [www.euco-cc9.mke.org.hu](http://www.euco-cc9.mke.org.hu)

1-5 septembre 2013

## *EUPOC 2013*

*Polymers and ionic liquids*

Gargnano (Italie)

• [www.dcci.unipi.it/eupoc2013](http://www.dcci.unipi.it/eupoc2013)

1-6 septembre 2013

## *EuropaCat 2013*

*XI<sup>th</sup> European congress on catalysis*

Lyon

Thème : « 20 years of European catalysis... and beyond »

• [www.europacatlyon2013.fr](http://www.europacatlyon2013.fr)



3-6 septembre 2013

## *CFCL13*

*16<sup>e</sup> Colloque sur les systèmes anisotropes auto-organisés*

Strasbourg

• <http://cfcl13.u-strasbg.fr>

3-6 septembre 2013

## *ISACS 12*

*Challenges in chemical renewable energy*

Cambridge (Royaume-Uni)

• [www.rsc.org/ConferencesAndEvents/ISACS/ISACS12](http://www.rsc.org/ConferencesAndEvents/ISACS/ISACS12)

7 septembre 2013

## *3<sup>e</sup> Colloque « De la recherche à l'enseignement »*

Paris

• [www.societechimiquedefrance.fr/manifestation/3e-colloque-de-la-recherche-a-l-enseignement.html](http://www.societechimiquedefrance.fr/manifestation/3e-colloque-de-la-recherche-a-l-enseignement.html)



8-11 septembre 2013

## *RSC-SCI medicinal chemistry symposium*

Cambridge (Royaume-Uni)

• [www.maggichurchousevents.co.uk/bmcs/17th-medicinal-chemistry.htm](http://www.maggichurchousevents.co.uk/bmcs/17th-medicinal-chemistry.htm)

8-12 septembre 2013

## *ISPAC 2013*

*24<sup>th</sup> International symposium on polycyclic aromatic compounds*

Corvallis (OR, États-Unis)

• [www.ispac2013.com](http://www.ispac2013.com)

11-13 septembre 2013

## *Flavors & fragrances 2013*

*EuChEMS conference*

Leipzig (Allemagne)

• [www.gdch.de/flavorsfragrances2013](http://www.gdch.de/flavorsfragrances2013)



18-19 septembre 2013

## *Training course on polymer durability*

Aubière

• [www.cnep-ubp.com](http://www.cnep-ubp.com)

23-24 septembre 2013

## *6<sup>e</sup> Symposium international sur les composites bois polymères*

Biarritz

• [www.fcba.fr/actualites/resultat.php?id\\_fich=3906](http://www.fcba.fr/actualites/resultat.php?id_fich=3906)

23-26 septembre 2013

## *EPNOE 2013*

*International polysaccharide conference*

Nice

• <http://epnoe2013.sciencesconf.org>

24-26 septembre 2013

## *SNBr 2013*

*2<sup>nd</sup> Brazilian symposium on biorefineries*

Brasilia (Brésil)

• [www.snbr2013.com.br/en](http://www.snbr2013.com.br/en)



24-26 septembre 2013

## *JCO 2013*

*Journées de chimie organique*

Palaiseau

Journées organisées en l'honneur du professeur Henri Kagan

• [www.jco2013.com](http://www.jco2013.com)



25-27 septembre 2013

## *JEP 2013*

*3<sup>rd</sup> European symposium on photocatalysis*

Portoroz (Slovénie)

• [www.photocatalysis-federation.eu/jep2013](http://www.photocatalysis-federation.eu/jep2013)

Vous trouverez de nombreuses autres manifestations sur le site de la SCF : [www.societechimiquedefrance.fr](http://www.societechimiquedefrance.fr), rubrique **Manifestations**.

## Prix des divisions 2013

### Chimie du solide



#### • Rénal Backov

Après son doctorat (Université Montpellier 2) et un stage postdoctoral à l'Université de Floride aux États-Unis, Rénal Backov a rejoint le Centre de

Recherche Paul Pascal (UPR 8641 CNRS) où fluides complexes et chimie sont couplés pour proposer de nouvelles synthèses rationnelles de matériaux fonctionnels avancés. Dans ce cadre, sont abordés des thèmes traitant de la chimie du solide, des sciences moléculaires, mais également de la matière molle, ces compétences s'entrecroisant ou se complétant en fonction de la spécificité de la recherche abordée.

Sur ce principe, il a formalisé le concept de « chimie intégrative » en 2006. Quelle que soit leur dimensionnalité (capsules, fibres, films ou structures alvéolaires 3D), les matériaux synthétisés proposent des applications innovantes dans les domaines de la catalyse hétérogène métallique ou enzymatique, de la photocatalyse, du photovoltaïque, du stockage de l'hydrogène, des électrodes pour batteries et biopiles, de la photonique, des lasers aléatoires et de la délivrance stimulée de substances d'intérêt.

Professeur des universités à l'Université de Bordeaux et responsable de l'équipe « Matériaux fonctionnels par ingénierie colloïdale » au Centre de Recherche Paul Pascal, Rénal Backov est co-auteur de plus d'une centaine de publications\* et d'une vingtaine de brevets.

\*Voir ses récents dossiers dans nos colonnes : La chimie intégrative : une évolution naturelle des concepts de chimie douce et de chimie supramoléculaire, *L'Act. Chim.*, 2009, 329, p. 1 et Chimie intégrative : structurer chimiquement l'espace pour la synthèse rationnelle de matériaux avancés, *L'Act. Chim.*, 2013, 373, p. 1.



#### • Wilfrid Prellier

Docteur de l'Université de Caen Basse-Normandie, Wilfrid Prellier a effectué une thèse de chimie des matériaux où il a mis au point les premiers

films minces supraconducteurs d'oxy-carbonates. Après un stage à l'Institut d'Électronique Fondamentale d'Orsay dans le cadre de son service militaire, puis un stage postdoctoral à l'Université

### Assemblée générale ordinaire

Rappelons que tout adhérent de la SCF à jour de sa cotisation est invité à participer à l'Assemblée générale qui se tiendra au siège social (250 rue Saint-Jacques, Paris 5<sup>e</sup>) le **lundi 24 juin** prochain de 11 h à 12 h.

Le matériel (livret contenant les rapports statutaires et le budget prévisionnel, fiche réponse et pouvoir avec l'enveloppe de réponse) vous a été adressé par courrier ces derniers jours. En cas d'impossibilité de participer à la réunion, nous vous rappelons que le pouvoir peut être transmis à une personne qui y sera présente ou à défaut au Président de la SCF (250 rue Saint-Jacques, Paris 5<sup>e</sup>), dans l'enveloppe prévue à cet effet.

**Le Bureau de la SCF**

du Maryland aux États-Unis, il est recruté au CNRS en 1999 au sein du laboratoire CRISMAT de Caen, où il développe une thématique sur l'utilisation de l'ablation laser pulsé pour la synthèse de phases métastables.

Il s'est également intéressé aux effets des contraintes sur les propriétés structurales et physiques d'oxydes, avec une attention toute particulière aux manganites présentant un ordre des charges. Nommé directeur de recherche CNRS en 2008, il devient responsable du groupe « Films minces » du CRISMAT et poursuit ses travaux sur la réalisation de structures complexes aux propriétés électroniques originales (multiferroïques, magnétiques). Plus récemment, il s'est intéressé à la résolution structurale de films minces d'oxydes, ainsi qu'à l'utilisation de substrats non conventionnels.

Co-auteur de 185 publications, il a reçu plus de 50 invitations dans des conférences internationales.

### Chimie organique

#### • Prix de la division :



#### Bruno Bujoli

Diplômé de l'Institut National Supérieur de Chimie Industrielle de Rouen (INSCIR), Bruno Bujoli obtient en 1985 le titre de

docteur-ingénieur de l'Université de Nantes à l'issue de travaux sur la régiosélectivité dans les réductions chimiques et électrochimiques de 6H-1,3-thiazines, effectués entre l'Université de Rennes 1 et l'Université de Nantes sous la direction d'Hervé Quiniou (URA 475) et André Tallec (URA 439). Il est ensuite recruté comme chargé de recherche CNRS au Laboratoire de Synthèse Organique (URA 475) pour mettre en place une nouvelle thématique sur les matériaux à l'interface de la chimie organique et de la chimie du solide et obtient en 1990 le titre de docteur de l'Université de Nantes sur le projet

« Réactivité chimique du lamellaire FeOCl : possibilités et limites » co-dirigé par Jean Villieras (URA 475) et Jean Rouxel (IMN, UMR 110). Il enchaîne ensuite un stage postdoctoral d'un an au service Catalyse du Centre de Recherches Rhône-Poulenc d'Aubervilliers sur la condensation du p-crésol en ditolyléther par catalyse hétérogène en phase gazeuse.

De retour au Laboratoire de Synthèse Organique en 1992, il est l'un des pionniers ayant contribué au développement des matériaux hybrides organiques-inorganiques à base de phosphonates *via* la chimie de coordination des acides phosphoniques et obtient la Médaille de bronze du CNRS en 1995.

Promu directeur de recherche en 2000, Bruno Bujoli réoriente ses recherches vers l'utilisation d'acides phosphoniques fonctionnels pour la modification de surfaces inorganiques afin de préparer des matériaux fonctionnels, avec deux domaines d'application : les biotechnologies (systèmes médicaux, puces à ADN et à protéines) et la catalyse supportée.

Après avoir dirigé le Laboratoire de Synthèse Organique (UMR CNRS 6513) de 2004 à 2007, il dirige depuis janvier 2008 le laboratoire CEISAM (Chimie et interdisciplinarité : synthèse analyse et modélisation, UMR CNRS 6230, Université de Nantes).

Bruno Bujoli est membre co-fondateur de la Société Graftys (créée en 2005, 30 salariés en 2013) qui conçoit, fabrique et commercialise des substituts osseux synthétiques à base de phosphate de calcium destinés au marché de la chirurgie orthopédique et dentaire, à qui il apporte son concours scientifique en tant que consultant : un exemple réussi de partenariat public/privé, avec la mise sur le marché de produits de santé compétitifs au niveau mondial.

## • Prix Jeune chercheur :

**Tsuyoshi Kato**

Tsuyoshi Kato est né en 1973 au Japon et a obtenu son Master en 1998 à l'Université d'Okayama. Il a ensuite effectué sa thèse (1998-2001) au sein

du Laboratoire Hétérochimie Fondamentale et Appliquée à l'Université Paul Sabatier à Toulouse dans le groupe de Guy Bertrand, suivie d'un stage postdoctoral chez le professeur Reed à l'Université de Californie à Riverside (2001-2003), avant d'être recruté comme chargé de recherche au CNRS et de rejoindre le Laboratoire Hétérochimie Fondamentale et Appliquée.

Promu directeur de recherche en 2012, son activité de recherche est principalement centrée sur l'utilisation des hétéroéléments en synthèse. Il s'agit d'utiliser leurs caractéristiques spécifiques pour synthétiser et caractériser de nouvelles structures présentant des propriétés particulières et donc des applications originales.

Il s'intéresse actuellement au développement de nouvelles espèces de types ylures comme des ylures inorganiques siliconés ainsi que des complexes de carbone élémentaire. Tsuyoshi Kato a reçu la Médaille de bronze du CNRS en 2011 et un ERC starting Grant en 2012.

## • Prix de thèse :

**Julien Maury**

Julien Maury (27 ans) a effectué ses études à Aix-Marseille Université. Après un Master 2 recherche en chimie organique, chimie verte et chimie du vivant (COCV2) en 2009, il a rejoint le groupe du professeur Michèle Bertrand (Institut de Chimie Radicalaire, équipe « Chimie moléculaire organique », UMR 7273) pour y effectuer son doctorat sous la direction de Laurence Feray et Michèle Bertrand. Sa thèse, soutenue en novembre 2012, a porté sur de nouveaux développements des dialkylzincs en chimie radicalaire, associant des études mécanistiques à des applications en synthèse. Il a également collaboré avec l'équipe de Philippe Renaud (University of Bern, Suisse) sur l'étude de la réactivité des azotures d'alkyle avec des iodures d'alkyle tertiaires.

Depuis janvier 2013, il effectue un stage postdoctoral au sein du groupe de Jonathan Clayden (School of Chemistry, Université de Manchester,

## Retour sur la Journée de remise des Grands Prix de la SCF 2012



De gauche à droite : Jean-Claude Bernier, Santiago Alvarez, Olivier Homolle, Gilberte Chambaud, Michel Rohmer, Samir Zard, Angélique Simon-Masseron, Philippe Sautet, Lahcène Ouahab, Rinaldo Poli, Klaus Müllen, Pierre Rabu, Edmond Amouyal (© ENSCMu).

Le 27 mai dernier, la SCF a remis ses Prix nationaux et binationaux 2012 au cours d'une journée scientifique qui s'est tenue à l'École Nationale Supérieure de Chimie de Mulhouse (ENSCMu) sur le campus scientifique de l'Université de Haute-Alsace. Cette quatrième édition de remise des grands Prix a été ouverte par les allocutions de Christine Gangloff-Ziegler, présidente de l'Université de Haute Alsace, et Pierre Llopiz, directeur de l'ENSCMu, qui ont rappelé la place importante de Mulhouse dans le développement de la chimie et de l'industrie chimique au XIX<sup>e</sup> siècle (l'École mulhousienne fut fondée en 1822) et son influence après 1870 sur l'essor de la chimie en d'autres lieux, comme Nancy et Paris. Le président de la SCF, Olivier Homolle, a ensuite prononcé quelques mots de bienvenue et donné le programme de la journée. Après une présentation de la section régionale Alsace par son nouveau président Pierre Rabu, la matinée s'est poursuivie par une conférence de Michel Rohmer (Université de Strasbourg) traitant de la biosynthèse des précurseurs d'isoprénoïdes par la voie méconnue du phosphate de méthylérythritol.

Dans le nouvel amphithéâtre de l'ENSCMu, où le public était nombreux, les exposés des lauréats, introduits par les présidents des divisions scientifiques ou des sections régionales qui avaient proposé leurs dossiers au jury coordonné par Jean-Claude Bernier, ont passionné étudiants et seniors, venus de toute la région, mais également d'Allemagne et de Bâle. Par ordre de passage, se sont succédé :

- **Samir Zard** (École Polytechnique, Palaiseau), lauréat du **Prix Achille-Joseph Le Bel** récompensant ses travaux en synthèse organique et ses découvertes dans le domaine de la polymérisation radicalaire, magistralement abordés avec l'exploitation des propriétés des xanthates ;

- **Klaus Müllen** (Institut Max-Planck sur les Polymères, Mayence), lauréat du **Prix franco-allemand Georg Wittig-Victor Grignard** pour sa remarquable contribution à divers domaines de la chimie, notamment celui des matériaux polymères et moléculaires, magnifiquement illustrée par des résultats en synthèse raisonnée de graphènes ;

- **Santiago Alvarez** (Université de Barcelone), lauréat du **Prix franco-espagnol Miguel Catalán-Paul Sabatier** pour son œuvre remarquable en chimie théorique et l'introduction de nouveaux concepts en chimie de coordination, ainsi que pour ses nombreuses collaborations avec les chimistes français, abordées de manière originale dans son exposé sur le territoire des liaisons van der Waals ;

- **Lahcène Ouahab** (Université de Rennes 1), co-lauréat du **Prix Pierre Süe** pour ses contributions à la chimie des matériaux moléculaires et ses actions auprès de la communauté des chimistes et pour le rapprochement franco-japonais, exprimées de manière convaincante par l'exemple de complexes de coordination, aimants moléculaires et photoluminescents ;

- **Philippe Sautet** (Université et École Normale Supérieure de Lyon), co-lauréat du **Prix Pierre Süe** pour ses contributions majeures à la chimie théorique et à la catalyse et son implication forte et dynamique au service de la chimie lyonnaise, qui a rendu compte, par un exposé pédagogique et lumineux, de plusieurs effets de sélectivité en catalyse hétérogène expliqués au moyen de l'outil fantastique qu'est devenu la DFT. En conclusion, le président Olivier Homolle, au nom de la SCF, a vivement remercié la section régionale Alsace, et plus particulièrement Pierre Rabu, Angélique Simon-Masseron et Béatrice Molac, pour la parfaite organisation de cette manifestation, rendue encore plus conviviale par un temps magnifique... que l'on croyait perdu : merci l'Alsace !

Igor Tkatchenko

Royaume-Uni). Ses travaux de recherche actuels concernent de nouveaux développements de la réactivité d'organolithiens dans la synthèse d'acides quaternaires et la transmission d'information (chiralité) à travers des pseudo-peptides à structure hélicoïdale.

#### • Prix de thèse Dina Surdin :



#### Leyla Pehlivan

Après un BTS chimiste effectué à Reims en 2006, Leyla Pehlivan a poursuivi ses études à l'Université Paris-Sud 11. Elle a obtenu un Master 2 recherche en chimie organique et synthèse de molécules bioactives à l'Université Claude Bernard Lyon 1 (UCBL) en 2009 et a alors rejoint l'Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires (UMR 5246) pour y effectuer son doctorat sous la direction de Marc Lemaire et Estelle Métay, en collaboration avec les sociétés Minakem (Lille) et Rhodia (Saint-Fons). Sa thèse, obtenue en 2012, a porté sur le développement de nouveaux systèmes réducteurs utilisant des hydro-siloxanes comme substitués des hydrures de bore et d'aluminium. Différentes associations de 1,1,3,3-tétraméthylidisiloxane (TMDS) et de complexes métalliques ont ainsi permis la réduction de fonctions azotées et oxygénées.

Depuis le mois d'avril, elle est en stage postdoctoral au sein du groupe de Bernadette Charleux (Laboratoire de Chimie, Catalyse, Polymères et Procédés, UMR 5265), sous la direction de Christophe Boisson et en collaboration avec l'entreprise Michelin. Ses travaux actuels, à l'interface entre la chimie des polymères et la chimie organique, concernent la synthèse de nouveaux polymères.

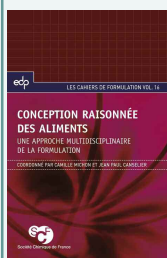
#### La rubrique « Actualités de la SCF » est la vôtre !

Vous êtes membre de la SCF ? Président ou membre d'une division scientifique, d'une section régionale ou d'un groupe thématique ? Vous lancez un appel à candidatures pour un prix ? Vous souhaitez annoncer les lauréats ? Vous organisez une manifestation ? Vous souhaitez partager une information ?

Compte tenu des délais d'impression et pour être certains d'être publiés à temps, **pensez à adresser directement vos informations à la Rédaction.**

**Nos colonnes vous sont ouvertes !**

• [redaction@lactualitechimique.org](mailto:redaction@lactualitechimique.org)



#### Conception raisonnée des aliments Une approche multidisciplinaire de la formulation

C. Michon, J.-P. Canselier (coord.)

147 p., 43 €

EDP Sciences, 2013

Ce 16<sup>e</sup> volume des **Cahiers de formulation** rassemble douze des interventions effectuées lors des 14<sup>e</sup> Journées de formulation organisées à Paris par le groupe Formulation de la SCF. Y sont présentées les avancées et spécificités de la conception raisonnée des produits dans le domaine alimentaire, tout en s'attachant à montrer les transferts possibles de ces approches vers les autres secteurs (chimie, cosmétique...).

24-26 septembre 2013

JCO 2013

#### Journées de chimie organique en l'honneur du professeur Henri Kagan

Palaiseau

Cette manifestation scientifique, organisée par la division Chimie organique, a lieu tous les trois ans et constitue la principale occasion de rassemblement national pour la communauté des chimistes organiciens. À cette occasion, vingt conférences seront données par des spécialistes de renommée mondiale. Au programme des communications orales : catalyse, nouvelles méthodes en synthèse organique, synthèse totale de produits naturels, chimie médicinale, chimie bioorganique, chimie supramoléculaire...

• [www.jco2013.com](http://www.jco2013.com)

14-18 octobre 2013

JFJPC14

#### Journées francophones des jeunes physico-chimistes

Fréjus

Ces journées sont organisées sous l'égide de la SCF et de la SFP (Société Française de Physique), et plus précisément par la division de Chimie physique (DCP) qui dépend de ces deux sociétés savantes. De jeunes chercheurs (doctorants, postdoctorants, jeunes entrants au CNRS ou à l'Université) pourront ainsi présenter leurs travaux (70 % des interventions) devant un parterre de chercheurs juniors et seniors.

Au programme : de nombreux thèmes (modélisation, thermodynamique moléculaire, matière molle, nouvelles énergies, interface chimie physique/biologie, radiochimie, électrochimie...), mais aussi des interventions d'ingénieurs de la Police scientifique du Laboratoire de Marseille et du Centre inter-régional de conservation et de restauration du patrimoine (CICRP), et en point d'orgue, la conférence Jean Perrin (grand prix décerné par la DCP) donnée par le lauréat 2012, Franck Neese (Max Planck Institut).

• [www.jfjpc14.piim.up.univ-mrs.fr](http://www.jfjpc14.piim.up.univ-mrs.fr)

#### Rappel des manifestations de ou avec la SCF

1-3 juillet 2013

#### *Electroanalysis at the nanoscale*

#### *Faraday discussion 164*

Durham (Royaume-Uni)

• [www.rsc.org/ConferencesAndEvents/RSCConferences/FD164/index.asp](http://www.rsc.org/ConferencesAndEvents/RSCConferences/FD164/index.asp)

1-4 juillet 2013

#### *Formula VII*

Mulhouse

• [www.formulaviimulhouse.uha.fr](http://www.formulaviimulhouse.uha.fr)

8-11 juillet 2013

#### *JE 2013*

#### *Journées Électrochimie*

Paris

• [www.je2013.fr](http://www.je2013.fr)

28-30 août 2013

#### « Du côté Nano »

#### *Journées de la division*

#### *Chimie physique*

Grenoble

• <http://grenano.ujf-grenoble.fr>

1-6 septembre 2013

#### *EuropaCat 2013*

#### *XI<sup>th</sup> European congress on catalysis*

Lyon

« 20 years of European catalysis... and beyond »

• [www.europacatlyon2013.fr](http://www.europacatlyon2013.fr)

7 septembre 2013

#### *3<sup>e</sup> Colloque « De la recherche à l'enseignement »*

Paris

Voir *L'Act. Chim.*, 2013, 373, p.49.

• [www.societechimiquedefrance.fr/manifestation/3e-colloque-de-la-recherche-a-l-enseignement.html](http://www.societechimiquedefrance.fr/manifestation/3e-colloque-de-la-recherche-a-l-enseignement.html)



# Électronique imprimée grandes surfaces

Que se cache-t-il derrière le vocable « électronique imprimée », souvent associé à « électronique organique », grandes surfaces et supports flexibles ?

L'électronique imprimée est souvent caractérisée par la possibilité d'utiliser des procédés d'impression conventionnels afin d'élaborer des systèmes « électroniques » plus ou moins complexes. L'intérêt d'utiliser ces procédés pour le secteur d'activité de l'électronique et de la microélectronique réside essentiellement dans leur potentiel de production élevée à faible coût (« low cost and large area ») [1]. Il est cependant nécessaire d'intégrer que ces technologies ne sont actuellement pas en mesure de remplacer les techniques employées dans l'industrie du silicium, puisqu'elles ne présentent pas encore les précisions de dépôt suffisantes et ne les présenteront peut-être jamais. Elles n'en demeurent pas moins attractives pour un certain nombre d'applications et doivent être considérées comme complémentaires à celles de l'industrie du silicium dont la productivité et les coûts de production sont les principaux inconvénients.

Ainsi, les premiers marchés à être rentables seront ceux de fort volume comme le marché de la RFID (« radio frequency identification »), des cartes à puces, des capteurs (applications biométriques), des écrans (notamment OLED), des TFT ou OTFT (« organic thin film transistor ») utilisés comme circuits intégrés pour la gestion des affichages, des batteries flexibles ultra-plates ou des cellules photovoltaïques [2]. Il n'existe cependant pas de procédés d'impression uniques adaptés à l'électronique imprimé. Les principaux sont l'offset, la sérigraphie,

l'héliogravure, la flexographie et le jet d'encre, chacune de ces technologies ayant ses propres avantages et inconvénients.

La figure ci-dessous montre un panel d'impressions réalisées au Laboratoire de Génie des Procédés Papetiers (LGP2, Grenoble).

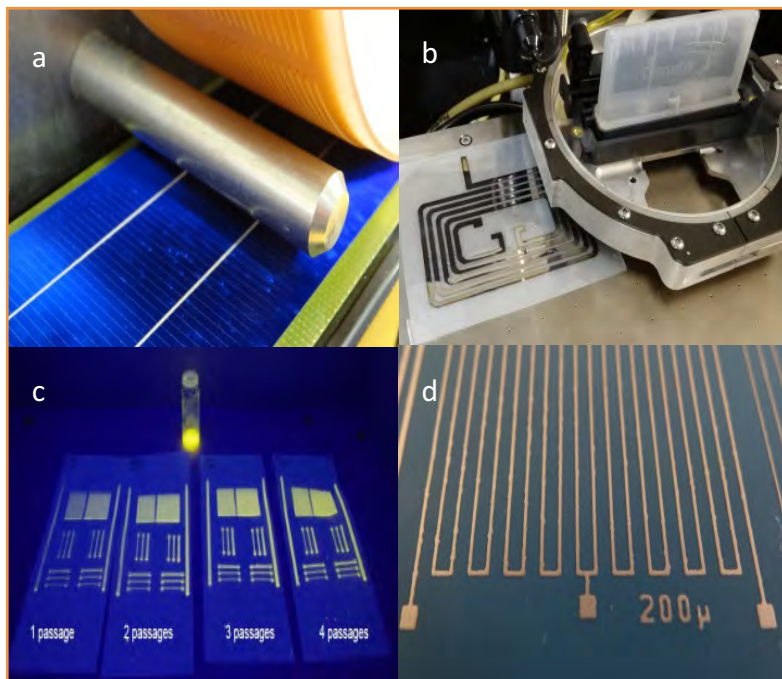
Pour illustrer le fait que l'intérêt principal d'utiliser les procédés d'impression réside essentiellement dans leur potentiel de production élevée [2], le tableau I (p. 128) compare la production horaire de presses d'impression standard à la production annuelle d'une usine moderne fabricant des plaquettes de silicium pour la réalisation de circuits intégrés. Les temps de production des presses d'impression pour absorber la production annuelle de l'usine de plaquettes de silicium se situent entre 35 minutes et environ 12 heures.

Cependant, comme le souligne le tableau II (p. 128), la précision de ces procédés d'impression n'est pas encore suffisamment élevée pour des applications semblables à celles de l'industrie du silicium. Il est néanmoins intéressant de remarquer que même si l'augmentation de la précision de ces procédés nécessitait de réduire par cent la vitesse de ces machines d'impression, les temps de production seraient encore compris entre 3 et 48 jours !

En ce qui concerne les encres conductrices, elles seront formulées à partir d'éléments conducteurs dont le choix dépend des applications finales :

- Des matériaux conducteurs métalliques seront choisis pour obtenir des conductivités stables et élevées ( $10^5 \text{ S.cm}^{-1}$ ). L'argent est communément utilisé sous forme de particules micro- ou nanométriques. Le prix de ces encres argent, supérieur à 1 000 €/kg, n'est pas adapté à des applications finales de faible coût [4]. Notons que le développement d'encres métalliques « bas coût » à base de cuivre notamment est particulièrement étudié.

- Des matériaux organiques conducteurs (polymères à conjugaison  $\pi$ ) comme le polypyrrole ou le polythiophène seront sélectionnés s'il n'est pas nécessaire d'obtenir de fortes valeurs de conductivité. Aujourd'hui, la polyaniline et le PEDOT sont les plus communément employés [5]. Le PEDOT-PSS (polyéthylène dioxythiophène dopé par le polystyrène sulfonate) permet l'obtention de films conducteurs pouvant atteindre  $900 \text{ S.cm}^{-1}$  [6]. Cependant, ces matériaux sont confrontés à des problèmes de stabilité qui nécessitent d'être résolus. Les nanotubes de carbone, quant à eux, permettent l'élaboration de films fins transparents et flexibles pouvant atteindre  $10^3$ - $10^4 \text{ S.cm}^{-1}$ . Le graphite est aussi utilisé pour l'élaboration d'encre dont la stabilité est améliorée par l'utilisation d'agents dispersants (carboxyméthylcellulose, sodium dodécyl sulphate). Les valeurs de conductivité des encres commerciales sont classiquement inférieures à  $20 \text{ S.cm}^{-1}$ .



**Exemples d'impression :** (a) Cellule photovoltaïque imprimée par le procédé de flexographie ; (b) Impression jet d'encre d'une antenne ; (c) Impression flexographique d'encre photoluminescente semi-conductrice ; et (d) Impression d'encre conductrice sur céramique par sérigraphie.

Photographies LGP2/Grenoble INP Pagora, DR.

**Pour conclure,** l'électronique imprimée est un domaine de recherche multidisciplinaire passionnant qui permet l'élaboration de systèmes « électroniques » sur des supports variés (rigides ou souples) en utilisant des encres spécifiques (conductrice, semi-conductrice, électroluminescente...) grâce au choix du procédé

Tableau I - Comparaison de la cadence de production de wafers de silicium avec celle de certains procédés d'impression (selon [3]).

	Production de plaquettes de silicium (Si-wafer)	Offset feuille	Offset bobine	Héliogravure
Diamètre Si-wafer (cm)	30			
Largeur d'impression (m)		1,02	1,26	3,80
Cadence de production	6 000 wafer/semaine	3 m/s	15 m/s	15 m/s
Surface produite	88 000 m <sup>2</sup> /an	~ 11 000 m <sup>2</sup> /h	~ 68 000 m <sup>2</sup> /h	~ 205 000 m <sup>2</sup> /h
Durée d'impression pour une année de production de Si-wafer (h)		~ 11,4	~ 1,9	~ 0,6

Tableau II - Dimensions caractéristiques de motifs imprimés réalisables par différentes techniques d'impression (selon [3]).

	Si-wafer	Sérigraphie	Héliogravure	Flexographie	Offset	Jet d'encre
Résolution latérale (µm)	0,1	100	15	40	15	50
Épaisseur déposée (µm)	0,05-2	3-15	0,8-8	0,8-2,5	0,5-2	0,3-20
Viscosité de l'encre (Pa.s)		0,5-50	0,05-0,2	0,05-0,5	30-100	0,001-0,04

d'impression le plus adapté. Ceci implique la connaissance du comportement des encres en conditions d'usage (mécanique des fluides, rhéologie, chimie de la formulation...), l'étude des interactions interfaciales encres/substrat (tension et énergie de surface, mouillabilité, adhésion, topographie), et enfin le génie des procédés pour la fonctionnalisation des surfaces. Plus concrètement, cela permet actuellement de réaliser des panneaux solaires, des étiquettes RFID et des encres organiques pour écrans d'affichage.

### Références

- [1] Mark A. *et al.*, Printable electronics: flexibility for the future, *Phys. Status Solidi A*, **2009**, 206, p. 588.
- [2] Thibert S. *et al.*, Silver ink experiments for silicon solar cell metallization by flexographic process, *38th IEEE Photovoltaic Specialists Conference (PVSC)*, **2012**, p. 2266.
- [3] Huebler A. *et al.*, High volume printing technologies for the production of polymer electronic structure, *Proceedings of Polytronic, Zalaegerszeg, Hungary*, **2002**, p. 172.
- [4] Tobjörk D. *et al.*, Paper electronics, *Adv. Mater.*, **2011**, 23, p. 1935.
- [5] Stejskal J. *et al.*, Mixed electron and proton conductivity of polyaniline films in aqueous solutions of acids: beyond the 1000 S.cm<sup>-1</sup> limit, *Polym. Int.*, **2009**, 58, p. 872.
- [6] Steffens C. *et al.*, Low-cost sensors developed on paper by line patterning with graphite and polyaniline coating with supercritical CO<sub>2</sub>, *Synth. Met.*, **2009**, 159, p. 2329.

Cette fiche a été préparée par **Didier Chaussy** (didier.chaussy@pagora.grenoble-inp.fr), professeur à Grenoble INP, et **Davide Beneventi** (Davide.Beneventi@pagora.grenoble-inp.fr), chargé de recherche au CNRS, au Laboratoire de Génie des Procédés Papetiers (LGP2), UMR 5518, Grenoble INP-Pagora École Internationale du Papier, de la Communication Imprimée et des Biomatériaux, 461 rue de la Papeterie, CS 10065, F-38402 Saint-Martin-d'Hères Cedex.

Les fiches « Un point sur » sont coordonnées par un comité éditorial mené par Jean-Pierre Foulon et Michel Quarton (contact : bleneau@lactualitechimique.org).

## Abonnement 2013 (numéros spéciaux inclus)

Cochez la case qui correspond à l'abonnement auquel vous voulez souscrire :

	Abonnement papier + électronique*		Abonnement électronique seul*	Abonnement multiple**
	France	Étranger	France / Étranger	France / Étranger
Particuliers	<input type="checkbox"/> 95 €	<input type="checkbox"/> 100 €	<input type="checkbox"/> 55 €	(pour les lycées et les institutions) <input type="checkbox"/> 400 € <input type="checkbox"/> 400 €
Lycées	<input type="checkbox"/> 110 €	<input type="checkbox"/> 130 €	<input type="checkbox"/> 70 €	
Institutions	<input type="checkbox"/> 195 €	<input type="checkbox"/> 205 €	<input type="checkbox"/> 155 €	

\* Courriel obligatoire \*\* Adresse IP obligatoire (cet abonnement correspond à un abonnement papier + dix abonnements électroniques + l'accès aux archives de la revue)

### Complétez votre collection

Les sommaires de tous les numéros peuvent être consultés sur notre site [www.lactualitechimique.org](http://www.lactualitechimique.org)

**Numéros spéciaux** également disponibles en **version électronique** sur le site à un tarif préférentiel

- Biotechnologies et chimie : nouveaux développements (juin-juil.-août 2013) : 32 €
- CO<sub>2</sub>, où en sommes-nous ? (fév.-mars 2013) : 32 €
- Toxicologie environnementale et humaine (oct.-nov. 2012) : 32 €
- Danses avec les spins. La résonance magnétique nucléaire en chimie (juin-juil.-août 2012) : 32 €
- Fibres et textiles chimiques : matériaux du XXI<sup>e</sup> siècle (fév.-mars 2012) : 32 €
- Le rayonnement synchrotron, une lumière pour comprendre la chimie (oct.-nov. 2011) : 32 €
- Chimie et société : construire un dialogue (sept. 2011) : 24 €
- La chimie prépare notre avenir, vol. 2 (juin-juil.-août 2011) : 32 €
- La chimie prépare notre avenir, vol. 1 (janv.-fév. 2011) : 32 €
- La chimie mène l'enquête (juin-juil.-août 2010) : 15 €
- Chimie et développement durable. L'engagement des écoles de la Fédération Gay-Lussac (fév.-mars 2010) : 15 €
- Adolphe Pacault, un acteur majeur dans la renaissance de la chimie physique en France (déc. 2009) : 15 €
- Electrochimie & Art, Environnement, Santé, Nanosciences... (fév.-mars 2009) : 15 €
- Les cosmétiques. La science au service de la beauté (oct.-nov. 2008) : 15 €
- Chimie organique physique. Hommage à Jacques-Émile Dubois (juin-juil. 2008) : 15 €
- Chimie et patrimoine culturel, vol. II (avril 2008) : 15 €
- La photochimie pour transformer la matière (mars 2008) : 15 €
- Chimie et patrimoine culturel, vol. I (oct.-nov. 2007) : 15 €
- La photochimie pour mieux vivre (mai-juin 2007) : 15 €
- Fluor et produits fluorés à l'aube du XXI<sup>e</sup> siècle (oct.-nov. 2006) : 15 €
- Les matériaux carbonés (mars-avril 2006) : 15 €
- Chimie moléculaire et nanosciences (oct.-nov. 2005) : 15 €
- Sciences chimiques et déchets radioactifs (avril-mai 2005) : 15 €

Liste complète des numéros thématiques sur [www.lactualitechimique.org/tarifs.php#numero](http://www.lactualitechimique.org/tarifs.php#numero)

#### Achat à l'unité hors numéros spéciaux

11 € pour les numéros avant 2012 ; 20 € à partir de 2012  
(à partir de 2005, ces numéros sont également disponibles en version électronique sur le site)

- Numéro(s) souhaité(s) :

#### Hors-séries "L'Actualité Chimique - Livres", co-édités et diffusés par EDP Sciences

- La chimie et la nature (oct. 2012) : 24 €
- La chimie et l'habitat (oct. 2011) : 24 €
- La chimie et le sport (janv. 2011) : 24 €
- La chimie et l'alimentation (oct. 2010) : 24 €
- La chimie et l'art (juin 2010) : 24 €
- La chimie et la santé (janv. 2010) : 19 €
- La chimie et la mer (sept. 2009) : 24 €
- Radiation chemistry (mai 2008) : 59 €

À commander  
chez votre libraire  
ou directement sur  
[www.edition-sciences.com](http://www.edition-sciences.com)



### Bon de commande

Nom ..... Prénom .....

Adresse (pour les particuliers, préciser l'adresse personnelle) .....

Code Postal ..... Ville ..... Pays .....

Tél ..... Fax ..... Courriel .....

Adresse IP (pour l'abonnement multiple) .....

**Montant total de la commande** (frais de port inclus) :

#### Mode de règlement

- sur facturation (joindre obligatoirement le bon de commande)
- par chèque bancaire ou postal libellé à l'ordre de la SCF
- par virement bancaire ou postal
- souhaite recevoir une facture acquittée

France Société Générale Paris Seine Amont, 03081/00037265820/87 CCP Paris 30041 Compte 070786U020/90  
Étranger IBAN FR7630003030810003726582087 Swift.Sogefrpp

- par carte bancaire (Visa, Eurocard Mastercard)   Validité /
- Cryptogramme visuel (les trois derniers chiffres du numéro imprimé au dos)

#### L'Actualité Chimique

**SCF, Service Abonnement, 250 rue Saint-Jacques, 75005 Paris. Tél. : 01 40 46 71 66 - Fax : 01 40 46 71 61.**  
[adhesion@societechimiquedefrance.fr](mailto:adhesion@societechimiquedefrance.fr) - [www.lactualitechimique.org](http://www.lactualitechimique.org)

# ACCÉLÉRATEUR DE **PERFORMANCE**

Alléger les véhicules, augmenter l'efficacité des capteurs photovoltaïques, rendre les peintures plus résistantes, purifier l'eau, accroître l'autonomie des batteries, accompagner la performance sportive, autant de défis à relever par l'industrie aujourd'hui et demain. C'est pourquoi Arkema, un des grands leaders de la chimie de spécialités, développe avec ses clients des solutions innovantes, compétitives et durables.

**Arkema, de la chimie à la performance.**

**MATÉRIAUX AVANCÉS**  
**TECHNOLOGIES DE POINTE**  
**PRODUITS BIOSOURCÉS**

\* une chimie d'innovations

TERRE DE SIÈNE

**ARKEMA**  
INNOVATIVE CHEMISTRY

[arkema.com](http://arkema.com)