Optimisation de la bioproduction d'astaxanthine à partir de culture de microalgues psychrophiles

Adila GHERABLI[1], Madeleine CHARBONNIER[2], Fanny DUVAL[2], Julien LEMAIRE[2], Nabil GRIMI[1]

[1]Université de Technologie de Compiègne, ESCOM, TIMR (Transformations Intégrées de la Matière Renouvelable), Centre de recherche Royallieu - CS 60319 - 60203 Compiègne, Cedex, France.

[2]Chaire de Biotechnologie, LGPM, CentraleSupélec, Université Paris-Saclay, SFR Condorcet FR CNRS 3417, Centre Européen de Biotechnologie et de Bioéconomie (CEBB), 3 rue des Rouges Terres, 51110, Pomacle, France.

Contexte

L'astaxanthine, pigment kéto-caroténoide, est considéré comme l'un des antioxydants naturels les plus puissants. Nouvellement additionné à la liste des « novel food », il offre un large éventail d'applications dans les secteurs alimentaire, nutraceutique, cosmétique et pharmaceutique. Néanmoins, l'astaxanthine commercialisé aujourd'hui est majoritairement produit par voie synthétique et peut seulement être utilisé en aquaculture. Afin de répondre à la demande croissante de la forme naturelle, la production d'astaxanthine à grande échelle se base actuellement sur une espèce microalgale verte, appartenant à la classe des Chlorophycées, *Haematococcus pluvialis.* Cette espèce algale est connue pour sa capacité d'accumulation d'astaxanthine et la relative fragilité de sa structure membranaire. Cependant, elle ne se développe qu'à des températures comprises entre 20° et 25°C (souche mésophile), ce qui rend sa culture en extérieur inadaptée au climat des pays froids ou tempérés et peu ensoleillés. D'un point de vue industriel, la production de biomasse algale en extérieur et à basse température implique une réduction des coûts énergétiques.

Dans ce contexte, deux nouvelles souches microalgales psychrophiles ont été sélectionnées dans ce projet de thèse. Elles demeurent des candidates alternatives potentiellement intéressantes, jamais exploitées industriellement. Ces microalgues ont pour atout de se développer à basse température (entre 2° et 18°C) et faible luminosité et de synthétiser l'astaxanthine sous certaines conditions environnementales. L'objectif de la thèse sera d'optimiser le procédé de production et d'extraction d'astaxanthine à partir de ces souches à l'échelle du laboratoire.

Microalgues psychrophiles et procédé de production d'astaxanthine

Les souches microalgales psychrophiles sont isolées et collectées généralement dans les régions polaires sur les nappes de neige ou de permafrosts. En réponse aux conditions de vie extrêmes (faibles températures, faibles teneurs en nutriments, forte irradiation solaire et variation extrême d'ensoleillement), ces cellules phototrophiques (cellules végétatives vertes) accumulent l'astaxanthine dans le cytosol et développent également une structure membranaire plus ou moins épaisse (cellules enkystées rouge-orangées). Cette réponse physiologique et morphologique correspond à la faculté d'adaptation de ces souches vis-à-vis des conditions climatiques saisonnières et moins favorables. Le cycle de vie maitrisé d'*Haematococcus pluvialis* tout au long de son exploitation, aide à comprendre les différents stades cellulaires par lesquels ces souches passent.

Le procédé de production d'astaxanthine à partir d'une souche psychrophile comporte quatre étapes : 1. Culture selon une approche en deux étapes (« phase verte et rouge »), 2. Récolte, 3. Prétraitement et extraction et 4. Purification (cf. figure 1).

Résultats

La croissance microalgale (phase verte) : les deux souches algales ont été cultivées en incubateur sous conditions contrôlées (milieu riche, 1% CO_2, 12°C) à faible luminosité (<150µmol de photons/m²/s), les

taux de croissance obtenus sont 0,7jours^{-1} pour la première et 0,6jours^{-1} pour la seconde.

La production d'astaxanthine (phase rouge) : l'application de stresses abiotiques combinés tels que la carence azotée, le stress salin et la forte luminosité, a effectivement induit une pigmentation des cultures en rouge-orangé en erlenmeyers. Au microscope optique, des cellules enkystées avec des gouttelettes cytoplasmiques rouges sont visibles. Une méthode analytique par HPLC-UV a été mise au point pour quantifier l'astaxanthine et ses dérivés. La biomasse séchée a subi un traitement mécanique (broyage à billes) dans du méthanol puis l'extrait obtenu a été filtré. Son analyse a confirmé la présence d'astaxanthine et d'autres pigments comme la violaxanthine, la zéaxanthine, la lutéine, la cantaxanthine et l'echinenone (caroténoïdes secondaires intermédiaires). Cependant, les teneurs ont été relativement faibles (environ 0,1%mg/mg d'astaxanthine) par rapport à celles observées dans la littérature avec *Haematococcus pluvialis*. L'observation au microscope optique a montré que les cellules sont restées pour la plupart intactes malgré le traitement mécanique. Cela est principalement relié à la rigidité de la structure membranaire des kystes. Cette observation permet d'expliquer la faible efficacité du protocole d'extraction utilisé et les faibles teneurs analysées.

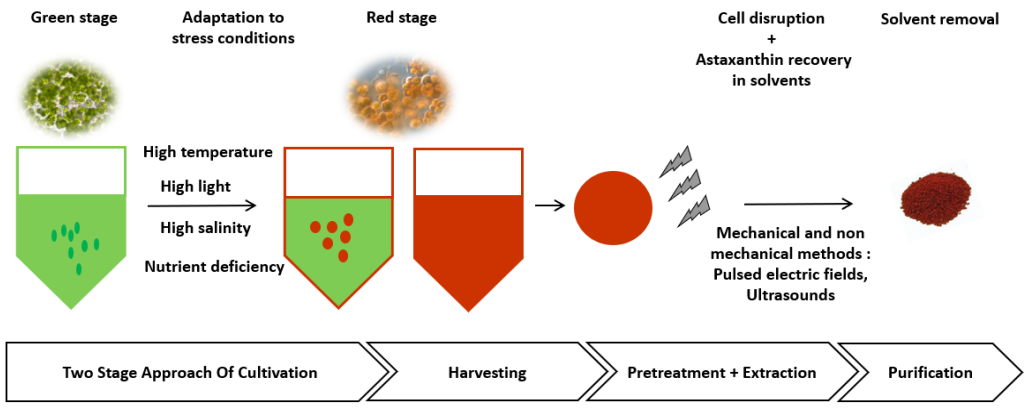

Figure 1: Procédé de production d'astaxanthine à partir d'une souche de microalgues psychrophiles

Perspectives

Les souches microalgales psychrophiles représentent des alternatives intéressantes pour la production d'astaxanthine naturelle, adaptées au climat des pays froids ou tempérés et peu ensoleillés.

La suite de cette étude consiste à 1) maitriser le cycle de vie et la culture des souches, 2) à valider des conditions opératoires optimales des deux phases verte et rouge, 3) à intensifier la production de biomasse algale en photobioréacteur de 6L d'une des deux souches.

Pour optimiser le rendement d'extractions d'astaxanthine, un prétraitement par champs électriques pulsés fera l'objet d'une étude sur les formes enkystées rouges-orangées des souches psychrophiles. En effet, cette méthode a déjà fait ses preuves sur les kystes d'*Haematococcus pluvialis* rouge. Par ailleurs, différents solvants dits verts seront utilisés pour améliorer l'impact environnemental de l'étape d'extraction.

Références bibliographiques

Bidigare, R.R.; Onudrusek, M.E.; Kennicutt, M.C.; Iturriaga, R.; Harvey, H.R.; Hoham, R.W.; Macko, S.A, Evidence a photoprotective for secondary carotenoids of snow algae, *Journal of Phycology*, 1993, 29, (4), 427-434.

Li, X.; Wang, X.; Duan, C.; Yi, S.; Gao, Z.; Xiao, C.; Agathos, S.N.; Wang, G.; Li, J, Biotechnological production of astaxanthin from the microalga *Haematococcus pluvialis*, *Biotechnology Advances*, 2020, 43 (107602).