

Chimie du carbone vert renouvelable

l'agriculture de demain sera-t-elle en mesure de remplacer les produits pétroliers dans les domaines de la chimie, des matériaux et de l'énergie ?

Jean-François Morot-Gaudry et Jean-Claude Pernellet

Directeurs de recherche honoraires de l'INRA
Membres de l'Académie d'agriculture de France



Manuscrit révisé le 22 novembre 2012 - Publié le 28 octobre 2013

Résumé : Suite à l'épuisement des ressources fossiles, peut-on envisager que les produits végétaux, dérivés de la fraction non alimentaire de la biomasse, remplaceront ceux issus des matières fossiles dans les domaines de la chimie, des matériaux et de l'énergie. Les produits végétaux ont l'avantage d'être renouvelables, biodégradables et leur production ne contribue pas ou que peu à l'émission de gaz à effet de serre. Cependant, pour se substituer à la pétrochimie, cette chimie verte doit encore démontrer son efficacité industrielle, économique et environnementale. Sont décrites ici les attentes concernant l'amidon, les fibres végétales (cellulose et lignines), les lipides (acides gras insolites et biocarburants), les protéines (usages alimentaires et biotechnologiques), les métabolites secondaires (caoutchouc) et les voies de recherche en cours.

Summary : Following the exhaustion of fossil fuels, can we consider that plant products derived from non-food biomass, replace those from fossil fuels in the fields of chemistry, materials and energy. Plant products have the advantage of being renewable, biodegradable and their production contribute little or no to greenhouse gas emissions. However, as a substitute for petrochemical, green chemistry has yet to demonstrate its industrial, economic and environmental efficiency. Expectations are described here on starch, vegetable fibers (cellulose and lignin), lipids (unusual fatty acids and biofuels), proteins (uses food and biotechnology), secondary metabolites (rubber) and avenues of research in course.

La chimie verte est devenue un axe prioritaire de recherche et de développement dans le monde entier. L'Amérique ne s'y est pas trompée, l'Académie américaine des sciences a déclaré en 2005 que les sciences biologiques vont vraisemblablement avoir le même impact sur la formation de nouvelles industries que les sciences physiques et chimiques l'ont eu au XX^e siècle. Les pays émergents (Brésil, Chine, etc.), conscients de cette nouvelle révolution, se sont lancés dans la valorisation de la biomasse végétale. Si, en 2011, 90% des produits chimiques sont encore d'origine pétrochimique, en 2030, 25 % à 30 % des principales molécules de base devraient être issues du carbone renouvelable. Ces opportunités doivent être envisagées dans le cadre général de l'agriculture, des forêts, des paysages, sans oublier la préservation de la biodiversité.

Une importante difficulté au développement de la chimie verte se situe au niveau de la compétition pour les terres arables qui ne peuvent guère croître : l'utilisation des surfaces pour les bioproduits ne peut se faire au détriment de l'alimentation. Si la production de fibres et de bois ne pose pas de problème crucial à cet égard, en revanche lorsqu'il s'agit de l'utilisation des grains et des graines, notamment pour la production d'huile (bio ou agro-carburants), la situation est plus délicate mais à nuancer. L'extraction d'huile des végétaux laisse par exemple

un sous-produit, les tourteaux, riches en protéines, recherchés pour l'alimentation des animaux d'élevage. Dans ce texte, nous nous intéresserons essentiellement à la chimie du carbone vert et nous passerons rapidement sur la production de bio ou agro-carburants qui font actuellement débat. Cette réflexion sur les agro-carburants pourra être abordée éventuellement dans un autre article.

Que sont les bioproduits ? Ils sont définis comme « *produits énergétiques et industriels issus du végétal hors des domaines de l'alimentaire et de la santé et dont les applications portent sur l'énergie (biofuels), la chimie organique et les biomatériaux, fabriqués directement ou indirectement à partir de biomasse. Il peut s'agir de produits nouveaux ou novateurs ou de produits traditionnels* » (Groupe de réflexion ARP-Véga INRA 2009).

À ces molécules, il faut faire correspondre des plantes capables de les synthétiser, plantes existant déjà (de grande culture, sauvages et éventuellement exotiques) ou plantes à définir dans le futur par génétique classique ou par transgénèse.

Nous verrons que ces différentes stratégies différentes, si intéressantes soient-elles, ne sont pas si simples qu'il ne paraît et posent encore de nombreux problèmes.

Étudions quelques aspects particuliers des amidons, des fibres végétales, des acides gras et des lignines, des protéines et des terpénoïdes et examinons les difficultés rencontrées par ces productions et les solutions que l'on peut attendre des progrès en cours. Rappelons que ce texte ne traite pas de façon exhaustive de la chimie verte mais n'aborde que quelques domaines significatifs.

1 Amidon(s)

L'amidon est le polysaccharide de réserve majeur des plantes cultivées. Il représente une fraction pondérale importante de la matière sèche (ms) des produits végétaux tels que les grains de céréales (30 à 90% de ms), des tubercules (60 à 90% de ms) et des graines de légumineuses (25 à 50% de ms). L'amidon est le principal composant des farines destinées à l'alimentation animale et humaine. Une part non négligeable est toutefois utilisée pour des applications industrielles. Les États-Unis d'Amérique restent les principaux fournisseurs mondiaux d'amidon industriel, assurant les quatre cinquièmes de la production mondiale.

L'amidon $(C_6H_{10}O_5)_n$ est un glucide complexe (polyoside) composé de chaînes de molécules de D-glucose. L'amidon est une association de deux homopolymères, l'amylose et l'amylopectine. Les unités glucose sont liées entre elles par des liaisons α (1-4) et par des liaisons α (1-6) qui sont à l'origine de ramifications dans la structure de la molécule. Ces deux homopolymères diffèrent par leur degré de branchement et leur degré de polymérisation. L'amylose, très légèrement ramifié par de courts branchements, a une masse moléculaire comprise entre 10 et 1 000 kDa. La molécule est formée de 600 à 1 000 molécules de glucose. L'amylopectine ou isoamylose, molécule beaucoup plus ramifiée par de longs branchements tous les 24 à 30 unités glucoses par l'intermédiaire des liaisons α (1-6), présente une masse moléculaire qui peut aller de 1 000 kDa à 100 000 kDa. La chaîne totale d'amylopectine peut faire entre 10 000 et 100 000 unités glucoses. Le ratio entre l'amylose et l'amylopectine dépend en grande partie de la source botanique de l'amidon et détermine les propriétés biochimiques et industrielles de ce polymère (Figure 1) (Lourdin & Colonna, 2006 ; Zeeman et al. 2010).

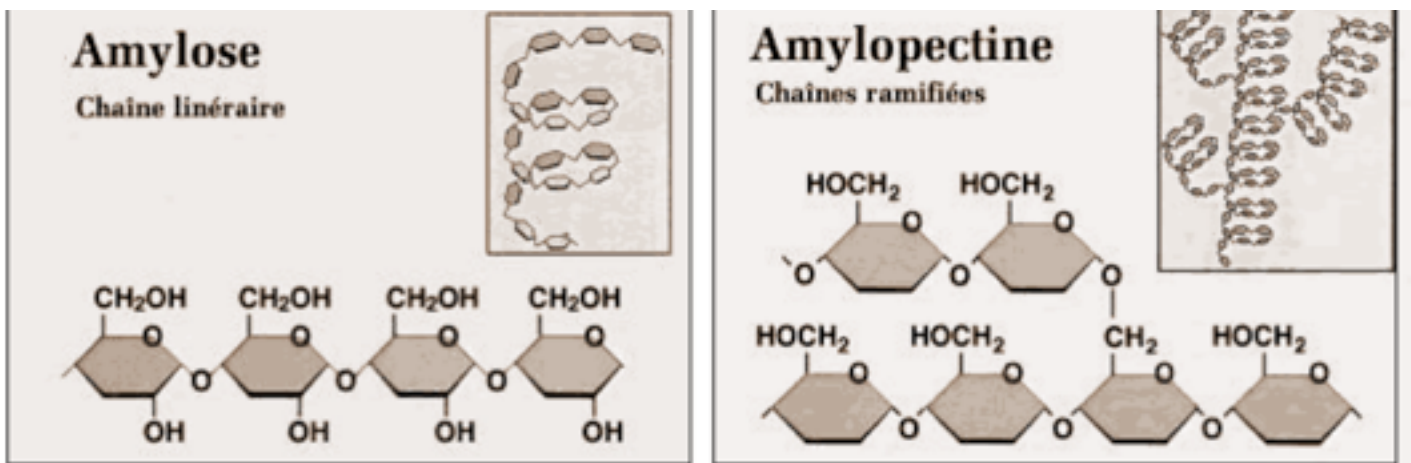


Figure 1 Organisation des polymères d'amylose et d'amylopectine.

Dans les graines, l'amidon s'observe sous la forme de grains dont la grosseur, la forme et la structure, varient avec la plante dont provient l'amidon (Figure 2). Les amidons à petits grains sont plus résistants aux attaques extérieures en particulier aux attaques par les α -amylases et moins enclins de ce fait aux transformations chimiques que ceux à gros grains. Les petits grains, plus nombreux et plus légers, sont entraînés facilement par les effluents de lavage ce qui occasionne des coûts industriels supplémentaires. Enfin, les petits grains sont caractérisés par une teneur plus importante en lipides, notamment en surface, ce qui les rend moins perméables à l'eau et en conséquence modifie leur viscosité. Les amidons à gros grains par exemple peuvent être incorporés à des films plastiques pour en améliorer la biodégradation. Ces critères de taille sont donc très importants pour l'industrie. Il n'existe donc pas un seul mais plusieurs amidons ayant des propriétés voisines mais légèrement différentes selon leur origine : amidon de blé, de maïs, de riz, de pois et de pomme de terre (voir encadré) par exemple (Buléon et al. 1998 ; Jeon et al. 2010 ; Jobling, 2004 ; Smith, 2001).

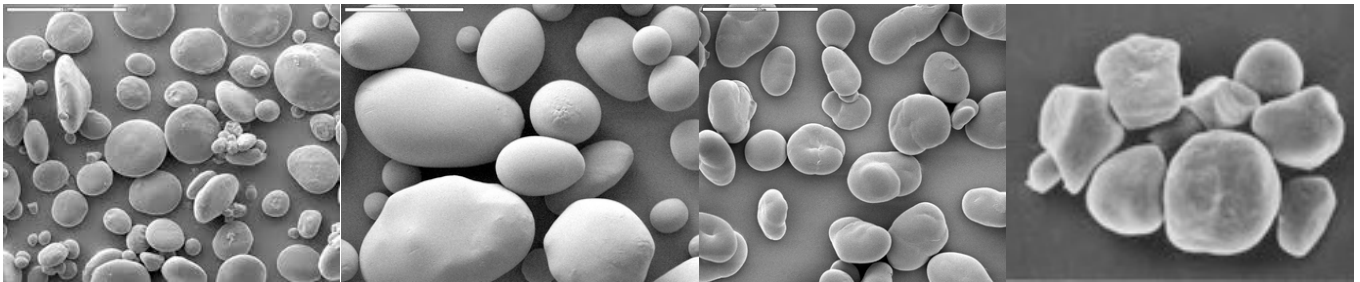


Figure 2 Grains d'amidon de blé, de pomme de terre, de pois et de maïs. On observe des tailles variables entre espèces (de 5 à 35 μ m). In (Polysaccharides alimentaires introduction. Université des Sciences et de Technologie de Lille 1, site web).

Les amidons, molécules à base de notre alimentation (farines, semoule, etc.), sont largement utilisés dans l'industrie du papier où ils donnent un fini net et lisse tout en liant les fibres. Les amidons sont également les principaux ingrédients dans les adhésifs utilisés pour fabriquer le carton. Les fabricants de tissus utilisent les amidons pour réduire la friction dans le processus de tissage et pour améliorer la texture et l'apparence des tissus. Les amidons de spécialité sont utilisés dans un éventail de secteurs et d'applications variées, notamment les plastiques, les résines, les adhésifs, les matériaux de construction, l'exploitation minière, le forage pétrolier et gazier (boues de forage), la filtration de l'eau, ainsi que l'enrobage des produits pharmaceutiques et cosmétiques. Enfin, les amidons sont utilisés pour produire après fermentation du bioéthanol (projet français FUTUROL, voir encadré p. 14).

Si l'amidon ou les amidons sont largement utilisés dans l'industrie (empois d'amidon par exemple), la compréhension des voies de biosynthèse de ce type de polymère reste encore mal connue et souffre en particulier d'un manque de connaissance dans les mécanismes physico-chimiques d'association des chaînes glucidiques *in planta*. Malgré toutes les données accumulées depuis des décennies, il n'existe pas de modèle intégré validé cohérent rendant

Pomme de terre et production d'amidon industriel

La création de plantes transgénique par stratégie OGM a permis également de bloquer la synthèse d'amylose dans les tubercules de pomme de terre par stratégie antisens (gène codant la protéine GBSS Granule-Bound Starch Synthase) tout en conservant des propriétés agronomiques acceptables. Après essais au champ, il s'est avéré que la nouvelle variété de pomme de terre, Amflora, qui résulte d'une modification génétique de la variété féculière « Prevalent », a un amidon composé quasi exclusivement d'amylopectine. Cette variété conserve les propriétés acquises sans inconvénients agronomiques et sanitaires majeurs. Elle a été autorisée à la culture en Europe en 2010. Rappelons que la variété Amflora qui possède également un gène de résistance à un antibiotique a fait un temps débat dans la presse, mais depuis de nouvelles variétés obtenues sans ce gène de résistance (De Vetten et al. 2003 ; Ahmad et al. 2008) sont actuellement disponibles. Elles n'ont cependant pas convaincu le public européen de sorte que BASF a renoncé à les commercialiser sur notre continent.

Il existe également des constructions inverses. Par technique antisens les chercheurs sont arrivés à bloquer le gène *sbe a* responsable de la synthèse de la protéine SBE A & B (starch branching enzymes) impliquée dans la ramification de l'amidon. Ils ont obtenu ainsi une pomme de terre qui produit essentiellement de l'amylose. Cet amidon est utilisé dans l'élaboration d'additifs alimentaires et la fabrication de colle et de bioplastiques (Hofvander et al. 2004 ; Karlsson et al. 2007). Ces variétés sont en cours d'évaluation au champ.

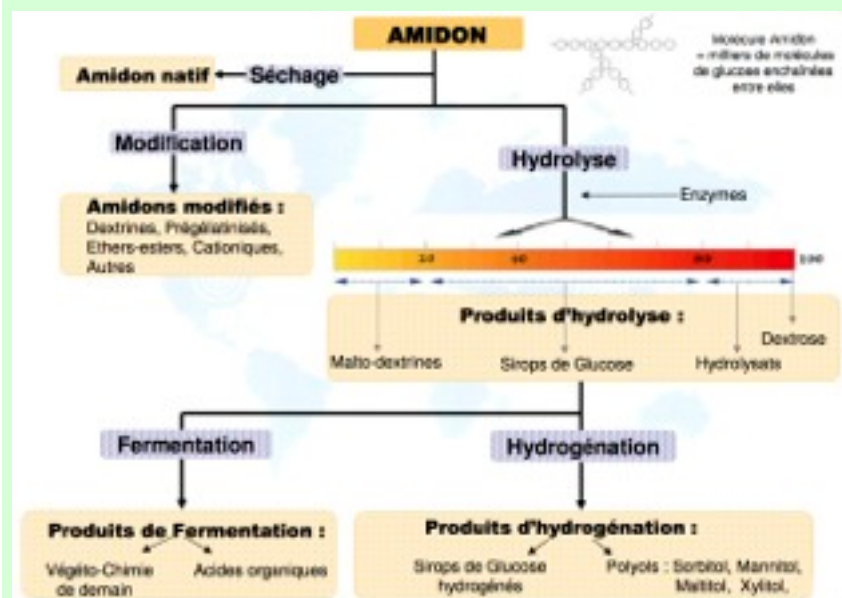
compte du rôle des différentes enzymes impliquées dans la biosynthèse de l'amidon. Il est également important de souligner que la synthèse d'amidon, principale forme de réserve de carbone, à la fois très condensée et métabolisable, n'a jamais pu être reproduite *in vitro*. Toutefois à l'heure actuelle, les connaissances en biologie végétale permettent de relier les enzymes de biosynthèses de ces chaînes glucidiques à plusieurs caractéristiques structurales et de mieux connaître les voies de synthèse des amidons chez les végétaux.

Des recherches sont en cours sur l'initiation de la synthèse de l'amylose et de l'amylopectine dans le but de maîtriser la granularité des grains d'amidon (recherche d'amidon à gros grains) et sur la maîtrise du ratio amylose/amylopectine dans le but de jouer sur leurs propriétés fonctionnelles tant en solution que sous forme de matériaux solides. Enfin, il est absolument nécessaire de contrôler la présence de groupements phosphates pour étendre le caractère polyélectrolytique de l'amidon de pomme de terre à d'autres familles botaniques et la présence des lipides (phospholipides du blé, acides gras du maïs) pour réduire la formation des complexes amylose-lipides et rapprocher ainsi les amidons de céréales des amidons de tubercules. Pour toutes ces questions qualitatives sur l'amidon, de nombreux mutants ont déjà été identifiés comme le fameux maïs « cireux » ou « waxy » qui produit un amidon exempt d'amylose, composé exclusivement d'amylopectine.

Même si la productivité de ce mutant est légèrement inférieure à celle des maïs dentés normaux, il est mieux approprié pour l'industrie. Le gène *wx* responsable de cet effet a été isolé et introduit dans des variétés normales pour répondre aux besoins de l'industrie. Les amidons de maïs cireux sont couramment utilisés pour la fabrication des colles, des adhésifs (bonne qualité d'empâtage) et pour améliorer les qualités des papiers (amélioration de la force du papier et de

L'entreprise Roquette Frères

Roquette Frères est une entreprise française qui est l'un des premiers acteurs mondiaux de l'amidon et de ses dérivés. L'entreprise compte parmi les leaders mondiaux dans la production de plusieurs produits tirés de l'amidon (ex : seconde en Europe et quatrième au niveau mondial dans la production de polyalcools et de gluconate). À partir de l'amidonnerie de maïs, de blé et de pois et de la féculerie de pomme de terre, elle produit une gamme étendue de produits utilisés par les industries du papier, des bio-industries, du génie chimique et de la pharmacie.



Cette entreprise développe en outre des recherches sur la culture d'algues unicellulaires pour produire de la biomasse énergétique et nutritionnelle. Elle diversifie actuellement ses activités de transformation agricole vers des activités plus biologiques. À cette fin, elle développe des partenariats notamment avec le français Metabolic Explorer pour sa technologie de fermentation de bactéries, dans le domaine de la chimie verte (production de compléments pour alimentation animale, plastiques biosourcés, cosmétiques...). Roquette fait aussi partie de l'institut d'excellence sur les énergies décarbonées (IEED) GreenStars, voir encadré sur les microalgues.

ses propriétés d'impression) et des textiles (aptitude à former des films transparents). D'autres allèles mutants du locus *waxy* ont été signalés. Ils produisent des amidons aux propriétés similaires à celles observées avec l'allèle *wx*. On connaît plus de 40 allèles mutants pour le locus *waxy*, ce qui en fait le plus bel ensemble de mutations trouvé chez les plantes supérieures. Certains d'entre eux sont très stables alors d'autres sont très instables. La technologie OGM devrait permettre de valoriser tous ces gènes isolés de ces mutants et de les introduire dans des maïs à fort rendement. Les amidons modifiés susceptibles de provenir de « maïs génétiquement modifié » sont nombreux : amidon oxydé, phosphate d'amidon, amidon acétylé, hydroxypropylé, succinate d'amidon, etc. (Jeon et al. 2010 ; Joblings 2004 ; Muth et al. 2008 ; Yaho et al. 2004 ; Zeeman et al. 2010).

Une entreprise française, Roquette Frères (voir l'encadré), est actuellement l'un des plus gros producteurs d'amidon au monde. Sur le site de Bazancourt dans la Marne, Chantor, Cristiano et Cristal-Union sont des amidonneries et des glucoseries qui traitent des quantités importantes de blé et de betteraves pour obtenir des produits destinés à l'industrie. Le centre de recherche ARD est proche de ses entreprises ainsi que le prototype Futurol (voir encadré p. 14).

2 Les fibres végétales : cellulose et lignines

2A Fibres végétales.

Les cellules fibreuses regroupent des éléments appartenant à différentes espèces, organes, tissus ou ensemble de cellules. Elles contribuent au port dressé (fibres de soutien) et à la conduction de la plante (faisceaux libéro-ligneux). Les fibres sont les constituants principaux du bois, du coton, des pailles (riz, blé, canne à sucre, maïs, lin,

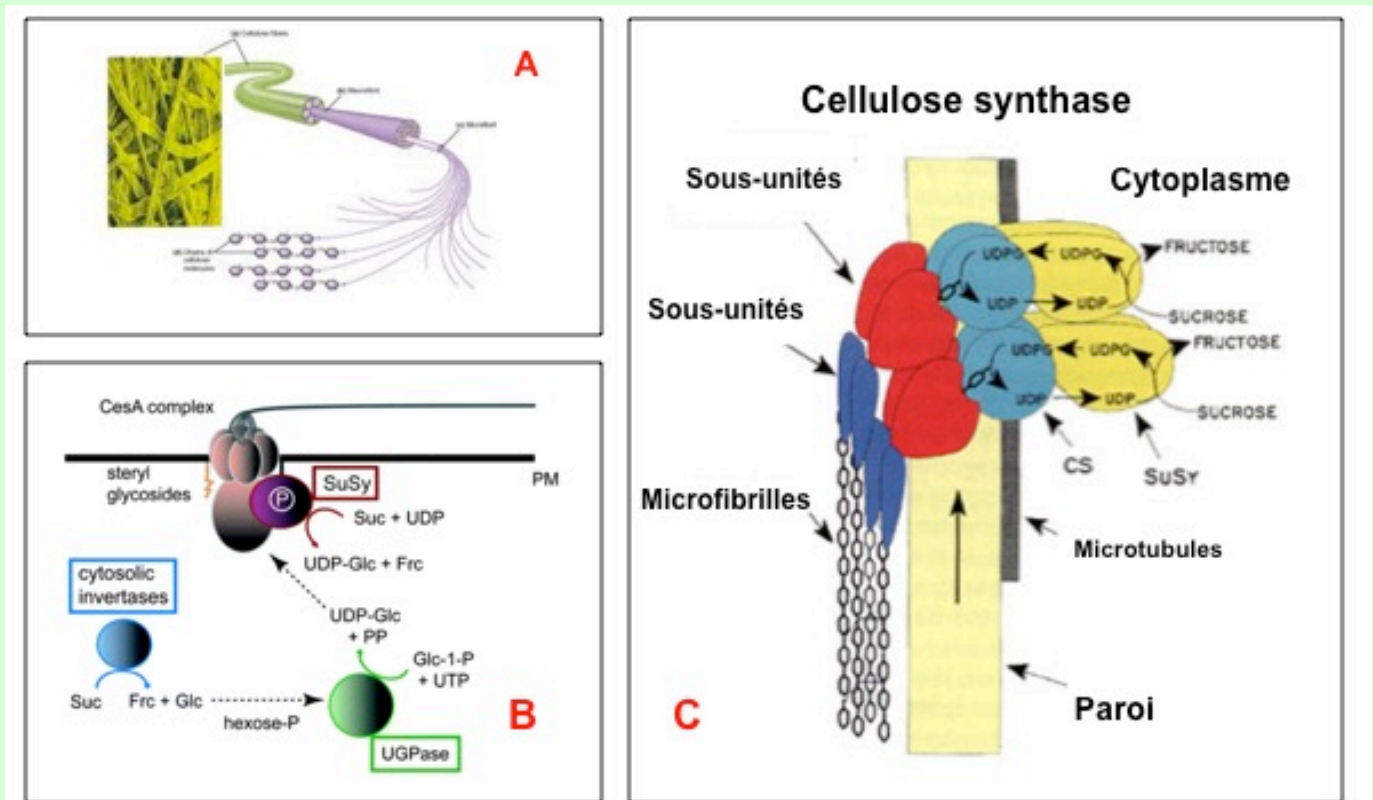
ramie, sisal, chanvre et d'autres plantes). Elles sont regroupées dans la plante en faisceaux unicellulaires ou pluricellulaires. Les fibres industrielles regroupent une population plus ou moins homogène de types cellulaires aux caractéristiques variées quant à leur morphologie (longueur, diamètre) et à leur composition chimique de leur paroi cellulaire (rapport cellulose/lignine).

Les fibres végétales sont essentiellement constituées de cellulose, d'hémicelluloses, de pectines, de lignines, de protéines, de polyphénols et autres polysaccharides. La

Synthèse de la cellulose

La synthèse de cellulose est catalysée au niveau d'un complexe macromoléculaire, une nanomachine, la rosette, intégré à la membrane plasmique.

Chaque rosette est constituée de six molécules de cellulose synthase produisant chacune une chaîne de cellulose qui, selon un processus de fibrillogenèse, s'associe aux autres chaînes de la rosette pour former une microfibrille à six chaînes. Chaque molécule de cellulose synthase est associée à une molécule de saccharose synthase située sur la face cytosolique de la membrane plasmique. Celle-ci fournit l'UDP-glucose à la cellulose synthase qui l'utilise pour former un dimère de glucose, le cellobiose. Les molécules de cellobiose sont alors ajoutées successivement à la chaîne de cellulose en élongation. Les microfibrilles sont déversées dans l'espace périplasmique au cours de leur polymérisation, puis sont apposées à la paroi pré-existante. L'orientation des microfibrilles est parallèle à celle des microtubules corticaux.



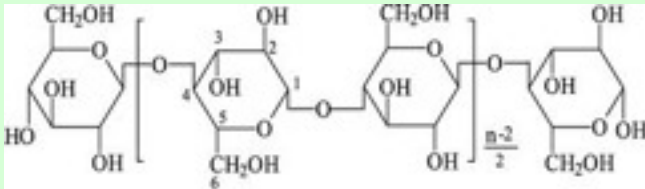
Synthèse de cellulose. *A* : représentation générale de la production des fibres de cellulose. *B* : le complexe enzymatique enchâssé dans la membrane plasmique et la paroi pectocellulosique avec le métabolisme des précurseurs des monomères de lignine. *C* : le complexe multienzymatique constituant la cellulose synthase qui produit les microfibrilles de cellulose.

cellulose est souvent étroitement associée aux lignines pour constituer la lignocellulose qui représente presque 90% de la matière sèche terrestre (encadré).

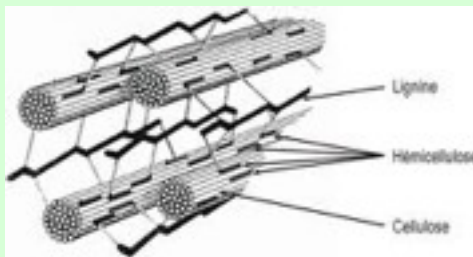
Les fibres végétales sont utilisées depuis l'Antiquité pour la confection des vêtements et des cordages et la fabrication du papier. Les fibres végétales peuvent être soit un des constituants de la paroi végétale (nano-fibres de cellulose pure), soit la paroi elle-même (exemple de la fibre papetière, ou des faisceaux de fibres textiles issues du lin). Dans les deux cas, il convient

La cellulose

La **cellulose** est un glucide polymérisé constitué d'une chaîne linéaire de molécules de D-glucose (entre 200 et 14 000). Les monomères de glucose sont liés par des liaisons β -1-4, conduisant à des polymères linéaires.



Ces polymères s'associent par des liaisons intermoléculaires de type liaisons hydrogène conférant ainsi une structure fibreuse à la cellulose. Les fibres de cellulose sont les principaux constituants de la paroi des végétaux. La cellulose constitue la matière organique la plus abondante sur la terre (plus de 50 % de la biomasse). La quantité de cellulose synthétisée par les végétaux est estimée à 50-100 milliards de tonnes par an.



Les **pectines** sont des polysaccharides complexes, riches en acide galacturonique. Les résidus galacturoniques sont liés entre eux par des liaisons α -(1-4), partiellement acétylés ou estérifiés par des groupes méthyles. Ce sont des polymères de la paroi végétale primaire (matrice amorphe) qui jouent un rôle de ciment dans les fibres.

Les **hémicelluloses** sont des polysaccharides complexes comprenant des arabino-glucuronoxylanes, des galactogluco-mannanes et des glucurono-xylanes. Ces polymères sont ramifiés par des résidus arabinose et acide glucuronique et 4-O-méthyl-glucuronique.

Les **lignines** sont les biopolymères les plus abondants après la cellulose et constituent 25% de la biomasse terrestre. Elles apparaissent en général dans les structures cellulaires au cours du vieillissement de la plante. Elles sont les composants essentiels du bois.

toutefois de distinguer les différents types de fibres en fonction des domaines d'application:

- **les fibres « tout venant »**, extraites par divers procédés plus ou moins drastiques et produisant des structures fibreuses altérées ou fortement modifiées, souvent aux propriétés mécaniques moyennes, mais suffisantes. Ce sont par exemple les fibres utilisées pour l'élaboration du papier, des mats de fibres courtes, de certains composites chargés de fibres, etc. Les plantes utilisées pour ce type de produits sont généralement des plantes à photosynthèse C4 comme le maïs, la canne à sucre et le sorgho ainsi que les arbres (eucalyptus, pins, peupliers etc.).

- **les fibres « longues »**, produits purs, sans défauts, facilement extractibles et à usage spécifique (textile, plasturgie, emballage) ou à renfort pour composites de toute sorte. Ce sont des fibres ou des faisceaux de fibres que l'on extrait de plantes dédiées en maintenant au maximum leur intégrité, préservant en particulier leurs propriétés mécaniques et de surface (réactivité, propriétés tribologiques). De plus, dans le cas des fibres longues de cellulose par exemple, l'absence de contaminants (lignines, hémicelluloses, pectines...), provenant des autres constituants de la plante et associés aux fibres, est un avantage certain. Les plantes concernées pour ce type de production sont le lin, le chanvre, la ramie, le sisal, etc. Il est à remarquer que les productions de fibres « longues et pures » sont destinées à des marchés de niche de faible volume, ce qui n'est pas comparable avec le tonnage de fibres « tout venant » utilisées par la papeterie (Chabbert et al. 2006 ; Laurent et al. 2011).

De façon générale les chimistes souhaitent idéalement disposer de produits purs (par exemple absence de lignine, hémicelluloses, pectines...), sans défauts, aux propriétés de surface bien contrôlées et définies et facilement extractibles comme les longues fibres de cellulose. La cellulose est souvent étroitement associée aux lignines. De ce fait, les lignines peuvent être considérées au niveau technologique comme des coproduits résultant d'un prétraitement ou d'une transformation des lignocelluloses pour l'utilisation principale de la

Peupliers transgéniques

Il est possible de limiter la quantité de lignine dans les arbres comme le peuplier. Une première approche a concerné le blocage par stratégie antisens de l'expression du gène *cad* (Cinnamyl alcohol dehydrogénase) catalysant la dernière étape de synthèse des monolignols, les précurseurs des lignines (Lapierre et al. 1999). Dans ce cas la quantité de lignines produite par les jeunes peupliers n'est pas significativement diminuée mais l'extractibilité de la lignine en est grandement améliorée, ce qui permet de réduire le traitement industriel de la pâte à papier, coûteux en eau et énergie et très polluant (émission de soude). Ces essais ont été réalisés en plein champs sans risque pour la croissance et le développement des plantes et l'environnement. Un autre gène a également été inhibé par cette même technique, le gène codant la 4CL (coumarate-coenzyme A ligase) (Hu et al. 1998 ; Voelker et al. 2010). Si les effets en serres sur la synthèse des lignines sont intéressants, aux champs, en revanche, les effets sont délétères sur la croissance et la santé des arbres.

La transgénèse des arbres pourrait devenir un outil utilisable à moyen terme en Europe. En effet, l'Union européenne a mis en place un projet de recherche coopératif COST (European Cooperation in Science and Technology) intitulé « Biosafety of forest transgenic trees : improving the scientific basis for safe tree development and implementation of EU policy directives ([Prévention des risques biotechnologiques concernant les arbres forestiers transgéniques](#) : [amélioration des fondements scientifiques pour le développement des arbres en toute sécurité et la mise en œuvre des directives politiques de l'UE](#)) » dont l'objectif est notamment d'informer largement l'opinion publique de l'UE, afin de la convaincre de l'utilité et de l'innocuité de cette biotechnologie dans des cas bien identifiés.

cellulose. Dans ce cas, il s'agit de réduire la quantité de lignines ; c'est une stratégie classiquement évoquée pour des usages industriels comme la fabrication de pâte à papier et la synthèse de bioéthanol (Bournay et al. 2009 ; Jordan et al. 2012). Ceci implique la sélection de plantes peu lignifiées soit par sélection classique de clones d'Eucalyptus (Brésil), possédant peu de lignines, soit par utilisation des biotechnologies (mutants-EMS, ADN-T, stratégies OGM antisens, RNAi, miRNA) où une étape de la voie de biosynthèse des lignines est bloquée (voie de la biosynthèse des monolignols, les précurseurs des lignines) (Berthet et al. 2011 ; Eudes et al. 2012 ; Fornaléa et al. 2011 ; Lu et al. 2010 ; Richet et al. 2012 ; Sato et al. 2010), voir l'encadré « Peupliers transgéniques ». De nombreux travaux pour cet objectif sont engagés aux USA et en Europe : programmes européens passés (OPLIGE, TIMBER) ou en cours (RENEWALL, ENERGYPOPLAR, DISCO, AQUATERRE...).

Concernant les fibres longues à haute valeur ajoutée, il est nécessaire de bien définir le produit souhaité, donc l'application visée, et de considérer d'emblée les fibres dans leur environnement biologique et physique. Cet objectif n'est pas aisé car les propriétés des fibres varient selon les espèces, les cultivars, les conditions agronomiques et pédoclimatiques, etc. L'état de maturation est aussi un facteur déterminant de la qualité des fibres, en particulier pour les plantes annuelles comme le lin, le chanvre et diverses céréales qui connaissent un développement complet sur quelques mois

seulement. Souvent un gradient de maturation est observé entre l'apex et la base des tiges. Par exemple, lors de la maturation, peut apparaître dans les fibres un dépôt de lignine qui s'intensifie au moment de la maturité des graines et qui peut poser problème pour les transformations industrielles ultérieures. Ces caractéristiques seront à prendre en compte pour les opérations de traitement des fibres en vue de leur utilisation dans l'application finale (filage-tissage pour le textile, incorporation dans les matrices polymériques et extrusion/thermoformage pour les composites, formation de mâts ou laines non tissées pour l'isolation thermique des habitations, etc.).

En conséquence, avant d'exploiter technologiquement ces produits, il est indispensable de bien comprendre les mécanismes de biosynthèse et d'assemblage des constituants des parois végétales et d'explorer la diversité naturelle des caractéristiques des fibres en réalisant des phénotypages (étude de l'ensemble des caractères observables) exhaustifs par rapport à leurs propriétés mécaniques et à leurs propriétés d'usage.

2B Les lignine(s).

Les lignines sont étroitement associées à la cellulose. A partir des procédés papetiers traditionnels (alcalin : Kraft et acide : bisulfite), 80 millions de tonnes de lignine sont produites par an dans le monde, dont 95% (lignine Kraft) sont utilisées pour la production d'énergie (haute valeur calorifique des lignines, cf. bois de chauffage). Le procédé Lignoboost (Tomani P, 2010) est un procédé récent transformant la lignine Kraft. Les lignines sous forme de lignosulfonates sont valorisées chimiquement comme additifs fonctionnels dans les matériaux (dispersants, émulsifiants, séquestrants et adhésifs pour panneaux de particules, par exemple). Le potentiel de lignine utilisable comme matière première pour l'industrie chimique serait d'environ 10 millions de tonnes.

La réorientation de certaines papeteries vers la bio-raffinerie avec l'obtention de produits diversifiés à plus haute valeur ajoutée en particulier par les procédés Organosolv (Michels et al. 2010) conduit à considérer les lignines industrielles comme des produits à part entière d'intérêt pour la chimie verte. En raison de la nature des liaisons inter-monomères et de la présence de liaisons hydrogène intermoléculaires, les lignines sont des polymères peu flexibles que l'on peut modifier chimiquement pour élaborer des matériaux thermoplastiques substitués des polyoléfinés (polyéthylène et polypropylène). La présence de groupements fonctionnels tels que les phénols assure en outre à ces composés une aptitude à la réticulation adaptée à l'obtention d'adhésifs et de résines thermodurcissables. Elles se substituent ainsi au phénol, composé chimique coûteux et toxique, dans les adhésifs des panneaux de contreplaqué par exemple. Leur aptitude à la réticulation est également un atout pour développer des matériaux innovants comme les fibres de carbone (Norberg, 2012) à partir du procédé Lignoboost (Tomani, 2010). Une autre stratégie, consiste à utiliser les lignines comme molécules à propriétés spécifiques. Il s'agit d'exploiter les propriétés anti-oxydantes, antimicrobiennes ou encore hydrophobantes de leurs constituants pour améliorer les performances de matériaux biodégradables ou remplacer des additifs synthétiques toxiques. Ces propriétés sont dépendantes de paramètres structuraux tels que la distribution de masse et la teneur en groupements phénoliques libres des lignines. Il est possible de les moduler en ajustant les paramètres technologiques du procédé d'isolement ou en modifiant les lignines *a posteriori* par voie chimique ou, de préférence, enzymatique (Lapierre et al. 2011 ; Mouille et al. 2006).

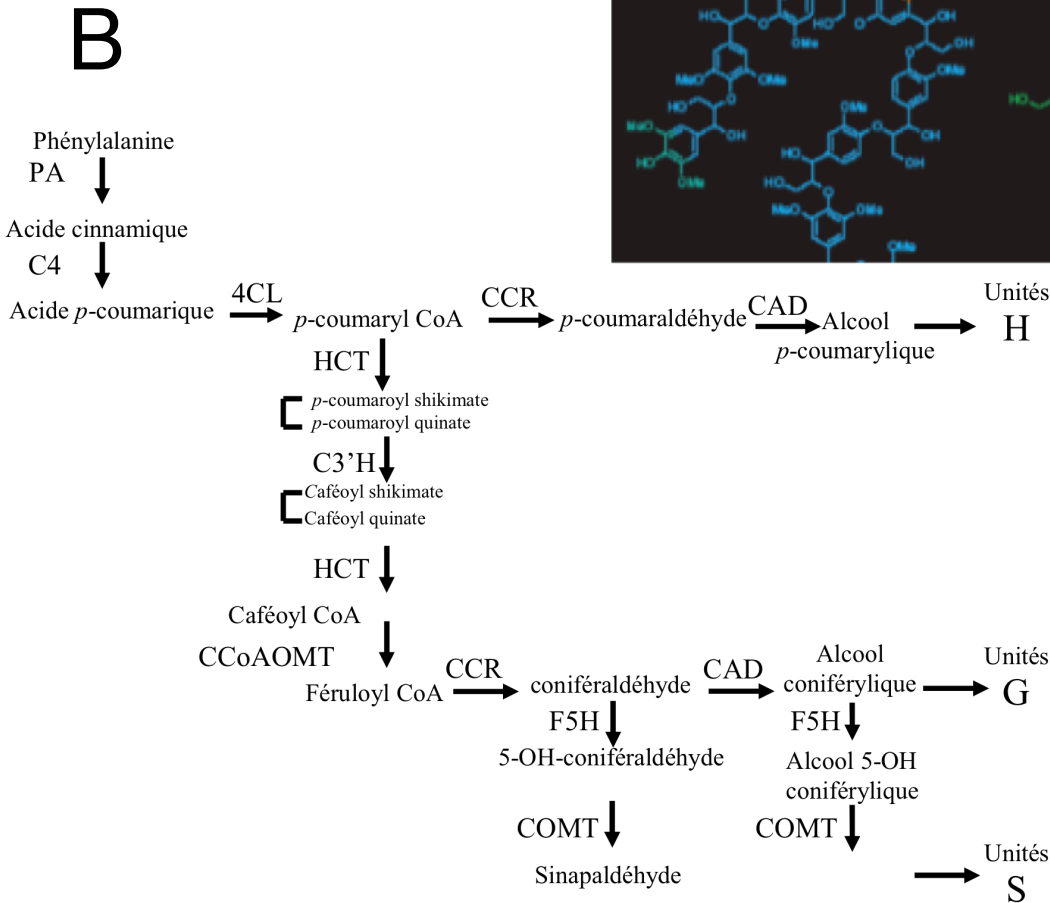
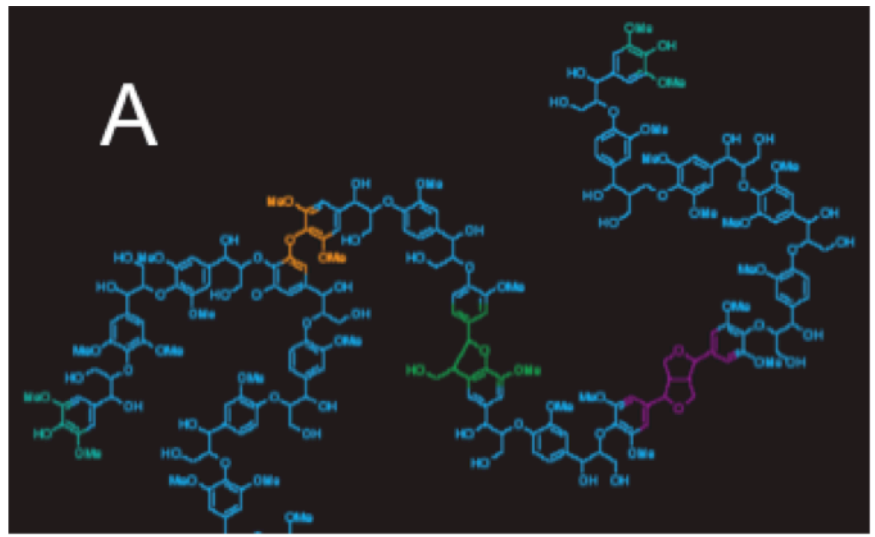


Figure 3 **A**: modèle d'un fragment de lignine de feuillu selon Ralph (2003). **B**: voie de biosynthèse des lignines chez les angiospermes dicotylédones (C Lapierre et L Jouanin, communication personnelle, adapté de Boerjan et al. 2003).

Les lignines qui représentent environ 25% de la biomasse terrestre, sont issues de la polymérisation des alcools *p*-coumarylique, coniférylique et sinapylique. Après polymérisation, ces monolignols conduisent respectivement aux unités *p*-hydroxyphényles, guaiacyles et syringyles, dont les cycles portent respectivement aucun, un ou deux groupes méthoxyles (Boerjan et al. 2003 ; Lapierre et al. 2010 ; Sibout et al. 2005 ; Thevenin et al. 2011).

La composition des lignines varie avec l'espèce végétale (conifères, feuillus, graminées...), les tissus (fibres, xylème...), la strate pariétale (lamelle moyenne, couches S1, S2, S3), l'âge des cellules et l'environnement (lignines de stress). Les lignines G, les plus simples, sont celles des plantes lignifiées les plus anciennes dans l'évolution et les plus élaborées sont celles de plantes plus récentes, angiospermes dicotylédones, puis angiospermes monocotylédones graminées (Lapierre et al. 2010 ; Neutelings, 2011).

En conclusion, les fibres végétales à usage industriel correspondent à une désignation très générale basée sur la présence de parois secondaires plus ou moins lignifiées. Leur morphologie, leur composition chimique, leur mode d'association et d'organisation au sein d'un tissu ou d'un organe, vont fortement conditionner tant leurs propriétés intrinsèques que leur aptitude au fractionnement et aux processus de transformation. Les premiers essais de transgénèse montrent que, si l'on a connaissance des mécanismes généraux de synthèse des

fibres élémentaires, on a en revanche peu de connaissance sur leur régulation *in planta* et de leurs interactions avec les autres constituants. Les lignines, les coproduits des industries papetières, ont retrouvé un intérêt certain pour la chimie verte et les industriels commencent à reconsidérer ces produits. Il en est de même des hémicelluloses et des pectines.

3 Les lipides : acides gras insolites et agro- ou bio-carburants

Les lipides sont des molécules hydrophobes principalement constituées de carbone, d'hydrogène, et d'oxygène. La majorité des lipides chez les plantes sont des esters d'acides gras (quasiment apolaires), l'élément acide ou acide gras est représenté par des acides monocarboxyliques non ramifiés, la composante alcoolique est souvent le glycérol (Figure 4). Possédant trois fonctions hydroxyles, le glycérol donne lieu à la formation de mono-, de di- et de triesters appelés respectivement mono-, di- et triglycérides. Dans les tissus végétaux, les acides gras forment des chaînes de 12 à 24 atomes de carbone saturées (acides laurique, palmitique, stéarique, arachidonique) ou non, c'est-à-dire présentant des doubles ou triples liaisons en des endroits précis de la chaîne carbonée, (acides oléique, linoléique, linoléinique, érucique, etc.). Les lipides sont des molécules à haut pouvoir énergétique (env. 9 kcal/g ou 39 kJ/g) pouvant exister à l'état solide, comme dans les cires, ou liquide, comme dans les huiles.

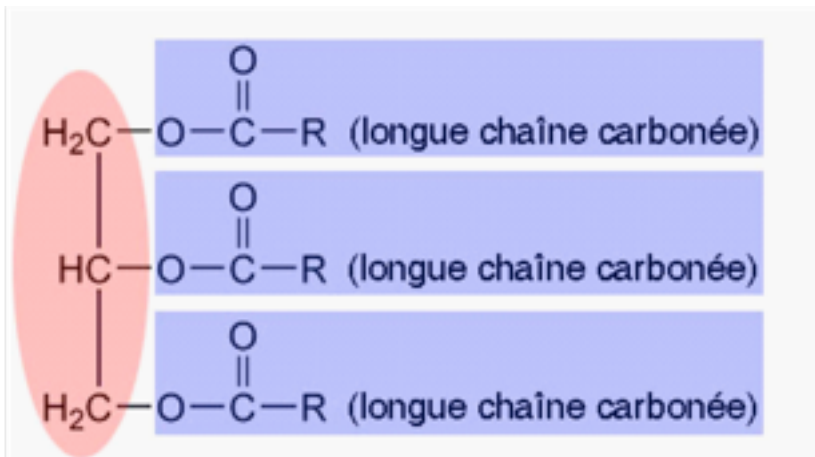


Figure 4 : Structure simplifiée des triglycérides. Le glycérol (saumon) est lié à trois molécules d'acides gras (de nature identique ou non).

Les triglycérides se trouvent souvent en suspension sous forme de gouttelettes lipidiques dans le cytosol ou stockés dans des organites particuliers les corps lipidiques présents dans les grains et graines.

Les huiles végétales recherchées pour ces applications doivent présenter des propriétés physiques en accord avec les objectifs définis préalablement. Ces propriétés sont essentiellement dépendantes de leur composition en acides gras (Mouille et al. 2006).

3A La production d'acides gras insolites par des plantes et/ou algues transgéniques.

L'état de nos connaissances montre que les végétaux sont capables de synthétiser une grande variété d'acides gras (environ 300). Cette biodiversité a été utilisée comme ressource génétique pour générer des plantes transgéniques principalement chez *A. thaliana* mais aussi chez le colza et le soja dont la biosynthèse des lipides des graines a été modifiée. L'ensemble de ces travaux a montré la faisabilité d'une telle approche, tout en en définissant également les limites. En effet, hormis le colza « laurate » généré par Monsanto dont le taux d'acide laurique (60%) est proche de l'huile de palmiste, les autres plantes transgéniques obtenues présentent des taux d'acides gras désirés bien moins élevés que ceux des plantes non domestiquées synthétisant ces mêmes acides gras. Un certain nombre d'étapes limitantes ont été identifiées : estérification de la position médiane du glycérol, spécificité et sélectivité des enzymes impliquées, voies métaboliques différentes pour les acides gras inhabituels, importance du pool d'acyl-CoA et des flux métaboliques, méconnaissance de la régulation de la synthèse et du stockage des lipides de réserve (Cahoon et al. 2007 ; Dyer et al. 2008 ; Mouille et al. 2006 ; Singh et al. 2005).

La stratégie OGM reste toutefois prometteuse, mais demande encore un très large effort de recherche afin de parfaire nos connaissances. Un inventaire précis des ressources, organisé sous forme de base de données renseignée (plantes, molécules, données agronomiques, bibliographie, propriétés industrielles...) constituerait un outil stratégique mais non disponible de manière ouverte à ce jour. Il est impératif également d'élucider les voies de biosynthèse des

Polymères bio-sourcés

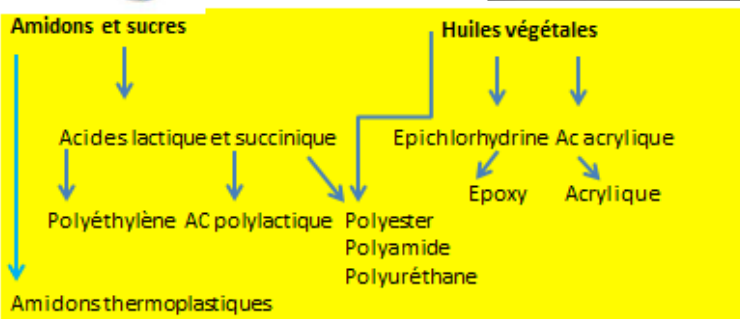


Figure 5 Les polymères bio-sourcés dont des produits issus de la matière renouvelable, végétale notamment. Ils s'opposent aux produits issus de la matière fossile, non renouvelable, charbon ou pétrole. Les composés époxy, acrylique, polyamides sont des composés bio-sourcés.

lipides et de leur régulation (acides gras usuels *versus* acides insolites), la répartition des flux métaboliques entre les différents organes de la plante (parties végétatives *versus* graines), les mécanismes d'accumulation des réserves dans la graine (amylacées *versus* réserves lipidiques) et les mécanismes du remodelage des lipides (importance par exemple des acyltransférases), mécanismes qui restent encore largement incompris. Enfin, la plupart des informations concernant le métabolisme des lipides ont été obtenues jusqu'à présent essentiellement en utilisant la plante modèle *A. thaliana* et il est nécessaire de transposer maintenant ces résultats aux plantes de grande culture.

3B Les bio-produits issus des huiles végétales.

Les lipides sont utilisés pour l'alimentation, la chimie et pour la production d'agro ou bio-carburants, production qui fait débat et qui ne doit pas détourner les produits alimentaires à des usages industriels (Carlsson, 2009 ; Durett et al. 2008 ; Höfte et al. 2010 ; Hou et al. 2002). Dans ce texte, nous aborderons succinctement la production de biodiésel et de kérosène.

Les huiles végétales sont produites par des plantes qui relèvent de familles botaniques très diverses : issues de différents continents, certaines sont originaires des latitudes tropicales, d'autres des latitudes tempérées. Citons le palmier à huile, le cocotier (huile de coprah), le cotonnier, l'arachide, le soja, le colza, le tournesol, le lin, le ricin, etc. Les huiles végétales, comme les graisses animales, sont essentiellement constituées de triglycérides (99 %), ou triacylglycérols, qui sont eux-mêmes des triesters d'acides gras et du glycérol. Ces huiles, du fait du caractère amphiphile (une partie hydrophobe et une partie hydrophile) des acides gras qui les constituent, sont utilisées par l'industrie (lipo-chimie) pour élaborer des bio-lubrifiants, des bio-détergents, des bio-solvants, des bio-plastiques, etc. (Mouloungui et al. 2006).

Par leur nature, les acides gras sont d'excellents tensioactifs. Cette constitution structurale confère à ces molécules une grande activité aux interfaces (eau/huile par exemple), en abaissant la tension interfaciale entre composés non miscibles. Les tensioactifs sont généralement des esters de l'acide laurique (C12:0). Les huiles de coco (fruit du cocotier, *Cocos nucifera*) et de palmiste (huile de l'amande de la drupe de palmier à huile, *Elaeis guineensis* Jacq.) restent à ce jour la meilleure ressource. Les *Cuphées* sont également intéressants. Dans la série des chaînes longues, les crucifères sont de bons candidats pour l'obtention des tensioactifs cationiques à partir de l'acide érucique et de l'acide béhénique.

Les huiles végétales fournissent également des structures opportunes pour façonner par modification structurale des produits lubrifiants à haute performance rencontrés ou non dans les produits issus du pétrole. Sur le plan technique, la structure polaire des huiles et esters d'origine végétale leur confère un excellent pouvoir lubrifiant. Les huiles végétales non transformées conviennent pour les applications à faible température (< 70°C). Les esters végétaux offrent une bonne résistance à l'oxydation et peuvent donc être utilisés comme huiles de base ou comme additifs dans les huiles de moteur. Les éléments hydrophobes oléique (tournesol oléique) et érucique (colza à forte teneur en acide oléique) possèdent des atouts fonctionnels pour l'élaboration de molécules chimiques stables. Le colza ancestral (et les crucifères) dont l'acide érucique (C22 :1) est l'acide gras majoritaire de l'huile peut constituer une source alternative à des lubrifiants d'origine fossile, à condition que le taux d'acide érucique puisse être augmenté (>66%) ce qui n'a pas pu être obtenu jusqu'alors ni par sélection ni par génie génétique (OGM). Parmi d'autres crucifères candidats à fournir du C22:1, le *Crambe abyssinica* (Clason, 2009) présente une teneur de 58% en acide érucique. Sa domestication a connu un succès certain aux USA dans l'État du Dakota. Des acides gras méthylés dont la chaîne est partiellement cyclisée (cyclopropane/cyclopropène, furane) pourraient présenter un intérêt industriel, mais ces composés ne sont produits naturellement qu'en très faible quantité par les plantes (litchi, *Steculia*, *Exocarpus* ...) dont la culture et l'exploitation n'est pas réellement envisageable à l'heure actuelle. Les végétaux produisant aussi des cérides (esters d'alcool et d'acides gras) comme le jojoba (*Simmondsia chinensis*) (Miwa, 1991) et la famille des euphorbes sont des sources d'intérêt pour des biolubrifiants plus spécifiques supportant des températures élevées par exemple.

Les huiles végétales peuvent enfin être utilisées comme solvants principalement dans les secteurs des peintures, des revêtements et autres. Dans l'industrie du nettoyage et du dégraissage (par exemple, nettoyage de pré-polymères de résine époxy, composés utilisés par l'industrie de production et de conditionnement de colles), les esters méthyliques d'acide gras, issus de l'huile de colza, de coprah et de tournesol, remplacent l'acétone, composé posant problème pour la santé et l'environnement. L'ester méthylique de colza a confirmé être le meilleur compromis entre les contraintes techniques, environnementales et économiques.

D'autres propriétés des acides gras végétaux sont prises en compte depuis des décennies. L'acide linoléique, acide gras insaturé en C18 issu du lin, est depuis toujours utilisé dans la fabrication des peintures car, en s'oxydant, il sèche très vite en formant un film (aspect siccatif). Les acides gras sont aussi à l'origine de bioplastiques. Les acides gras recherchés (mono et diacides) doivent contenir des groupes fonctionnels réactifs (hydroxy, époxy, insaturation, etc...) (Hou et al. 2002 ; Singh et al. 2005). Ces composés se rencontrent parmi certaines espèces domestiquées comme le ricin (*Ricinus communis*) (C18:1-OH), le lin (C18:3) et le colza (*Brassica napus*) érucique (C22:1) ou le coriandre (*Coriandrum sativum*) (C18:OH). Les graines de *Vernonia* et d'*Euphorbia lagascae* (60-75%) sont par exemple des sources d'acide vernolique (C18-époxy). Les acides furaniques sont présents en proportion non négligeable chez les graminées. La cutine et la subérine présentes chez la plupart des plantes sont des polyesters naturels. Cette biomasse potentielle pourrait constituer une source d'acides poly-hydroxylés et d'acides gras dicarboxyliques (Jetter R. & Kunst L. ,2008). Une source intéressante pour ces derniers pourrait être l'écorce de chêne liège qui contient des acides dicarboxyliques à longues chaînes (> C16).

Signalons enfin la fabrication du Rilsan. Découvert en France il y a plus de 60 ans, le Rilsan, ou polyamide 11, est un des premiers polymères bio-sourcés. Préparé à partir d'un dérivé de l'huile de ricin, on en a fait des fibres remarquables qui furent concurrentes du nylon, mais surtout des plastiques techniques largement utilisés pour des pièces mécaniques alliant légèreté et résistance. La poudre de Rilsan appliquée sur tous les types de composants métalliques est capable de supporter la température nécessaire au revêtement sans provoquer la moindre altération physique du métal (distorsion) ni la moindre dégradation de sa structure.

3C Production d'agro ou bio-carburants

Les biocarburants peuvent être issus de procédés variés, en fonction de la matière première végétale (Ballerini, 2011) (cf encadré sur le projet FUTUROL).

Parmi les principales techniques d'élaboration des agro-carburants citons les procédés de gazéification, de liquéfaction et de pyrolyse de la biomasse. Les voies thermochimiques permettent de produire directement de la chaleur et/ou de l'électricité (co-génération), ou bien des produits utilisables à des fins énergétiques ou chimiques. Elles sont suivies dans ce cas du procédé Fischer-Tropsch qui fait intervenir la catalyse (en présence de fer ou de cobalt) du monoxyde de carbone et d'hydrogène en vue de les convertir en hydrocarbure liquide (pétrole de synthèse, diesel). Le mélange de monoxyde de carbone et d'hydrogène est appelé gaz de synthèse ou "syngas". La production résultante (brut de synthèse ou "syncrude") est raffinée pour obtenir le carburant synthétique désiré.

Le projet FUTUROL

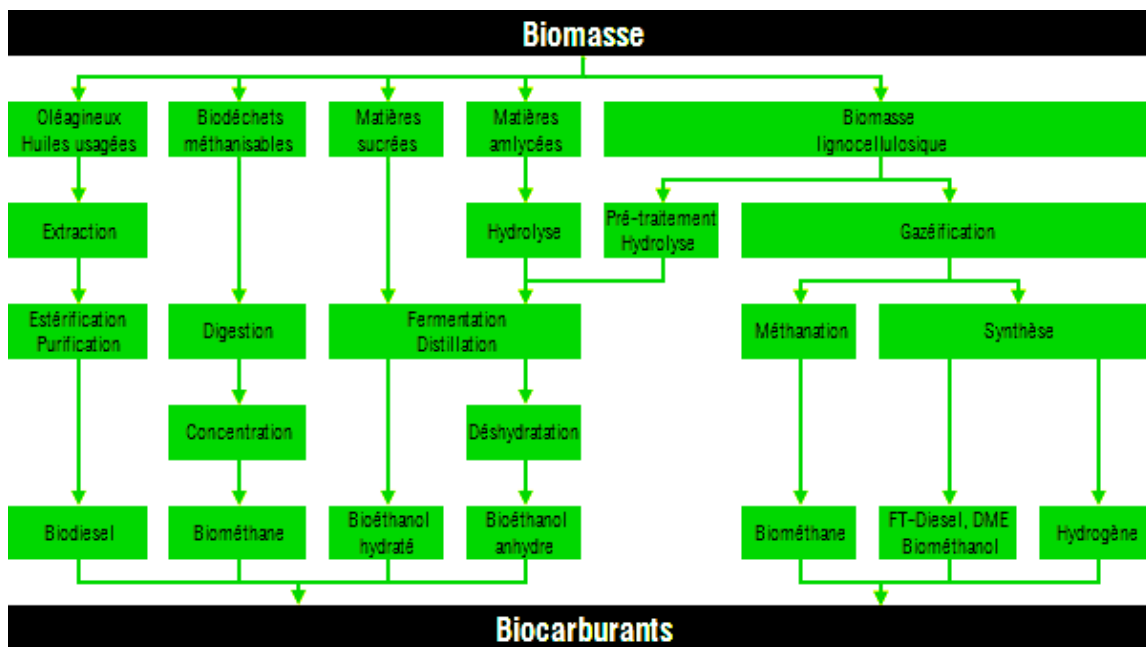
L'objectif du PROJET FUTUROL est de développer puis de valider un procédé «écoefficient» permettant de produire du bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique. Dans ce cadre, les partenaires visent à produire de l'éthanol à un prix compétitif grâce à une matière première diversifiée, non alimentaire (résidus et coproduits agricoles, biomasse forestière, cultures dédiées...), tout en développant des technologies efficaces d'extraction de la cellulose et en cherchant à obtenir les meilleurs bilans énergétiques et de gaz à effet de serre, s'inscrivant ainsi dans une logique de développement durable sur le long terme et tout au long de la filière (Usine pilote du PROJET FUTUROL : une étape décisive pour le bioéthanol de 2ème génération soutenue par l'Inra-2011) (Bilhère-Dieuzeide & Chauvet 2012).

Les biocarburants peuvent être produits également par fermentation de la biomasse, voie biochimique aboutissant à la synthèse d'éthanol, carburants éthanoliques (Projet INRA Futurol par exemple).

Les biocarburants peuvent être issus des huiles végétales, en particulier pour la production de biodiesel. La **production de biodiesel**, qui n'est pas nouvelle (les premiers moteurs diesel fonctionnaient à l'huile végétale), peut être effectuée soit par trans-estérification directe ou après hydrogénation des composés lipidiques.

Dans le premier cas, la trans-estérification de trilinoléate de glycéryle (huile de colza) ($C_{57}H_{98}O_6$) par le méthanol (CH_3OH) aboutit à la formation d'esters méthyliques d'huile végétale (EMHV) ($C_{19}H_{34}O_2$) et du glycérol ($C_3H_8O_3$). Les molécules d'esters méthyliques les plus petites ainsi obtenues peuvent alors être utilisées comme carburant dans les moteurs à

combustion spontanée (Diesel). La trans-estérification s'effectue généralement à partir d'huiles végétales possédant un indice de cétane (qui évalue la capacité d'un carburant à s'auto-enflammer sous l'effet de la compression, indice crucial pour les moteurs Diesel) acceptable, une bonne tenue au froid et une bonne stabilité à l'oxydation. Les huiles répondant à ces



Source : Plate-forme des biocarburants suisse, www.plateforme-biocarburants.ch

Figure 6 Différentes sources de la production d'agro ou bio-carburants.

critères sont celles qui présentent un fort pourcentage en acide oléique. Les plantes de grande culture produisant ce type d'huile dans les régions tempérées sont : le colza, le tournesol oléique et dans une moindre mesure le soja (22% d'acide oléique). Ces plantes étant cultivées principalement pour des besoins alimentaires, il y a risque de compétition au niveau de la disponibilité des surfaces cultivables dans les pays tempérés entre la production alimentaire et la production industrielle, même si celle-ci laisse des sous-produits intéressants (tourteaux riches en protéines). C'est pourquoi il est utile d'envisager des sources végétales alternatives comme le jatropha qui, après sélection pour éliminer les phorbols toxiques, pourrait être un bon candidat pour culture en zones arides et de forte salinité en particulier sur le pourtour méditerranéen (Berchmans et al. 2007). Toutefois, la maîtrise de la culture de ce type de plante va poser de nombreux problèmes qui sont loin d'être résolus (techniques agronomiques et sélection végétale à développer, sans oublier la pathologie encore largement inconnue).

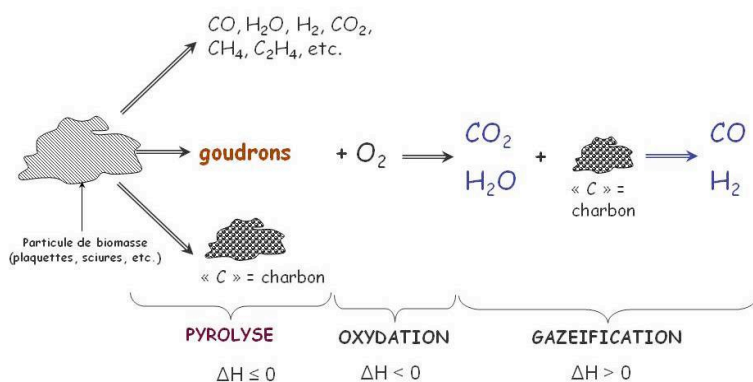


Figure 7 Schéma de production d'agro ou bio-carburants par gazéification et pyrolyse de la biomasse.

Dans le deuxième cas, le procédé d'hydrogénation consiste à transformer les triglycérides de l'huile végétale en leurs alcanes correspondants. L'hydrogénation permet par ailleurs d'éliminer tous les atomes d'oxygène, ce qui rend le produit final plus stable. Enfin, les produits de la réaction sont essentiellement des alcanes, ce qui permet d'obtenir des indices de cétane élevés, proches d'un gazole idéal. Le palmier à huile, l'arachide et la cameline sont des sources importantes d'huiles qui peuvent préalablement être hydrogénées avant de produire du biodiésel.

Par hydrogénation des huiles riches en acides gras à chaîne moyenne (8 à 12 atomes de carbone), on peut produire du kérosène dont l'hydrogénation génère des alcanes pouvant être

directement utilisés comme carburant par les avions. Un vol d'essai a été réalisé le 30 janvier 2009 avec un Boeing 747-300 de Japan Airlines équipé de moteurs Pratt & Whitney JT9D. Le moteur était alimenté avec un mélange de kérosène et d'un agrocaburant à base de cameline

Les microalgues une source alternative de production d'acides gras

Certaines microalgues (oléagineuses) accumulent des quantités importantes de lipides de réserve (triglycérides) qui peuvent atteindre jusqu'à 60 à 70% de la biomasse algale. Compte tenu de la productivité surfacique élevée de ces espèces (4 à 5 fois plus que les céréales), la culture à grande échelle des microalgues représente une alternative crédible pour la production de biocarburants. La culture des microalgues présente en outre l'avantage de ne pas concurrencer les cultures à vocation alimentaire (utilisation de terres non-arables), de préserver les ressources en eau (recyclage de l'eau) et de permettre la fixation de CO₂ issu d'installations industrielles.

En pratique, les applications sont toutefois limitées par des verrous d'ordre biologique, par des coûts élevés des systèmes de culture et par la complexité des techniques d'extraction des lipides. Au niveau biologique, deux aspects semblent particulièrement importants à aborder pour proposer des voies d'amélioration de la productivité de ces différentes espèces d'algues. D'une part, il est nécessaire de développer une biologie intégrative des systèmes sur des algues modèles en vue de mieux comprendre les mécanismes de régulation aboutissant au processus de mise en réserve, d'identifier les mécanismes de régulation impliqués dans la répartition entre les différents types de réserve (polysaccharides/triglycérides) et de mieux appréhender les mécanismes de régulation contrôlant la longueur et le degré d'insaturation des chaînes d'acides gras. Le séquençage récent de plusieurs génomes de microalgues et de diatomées (*Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella vulgaris*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Ostreococcus tauri*, ...) et l'existence d'outils génétiques puissants chez certaines espèces (*C. reinhardtii*, *O. tauri*) permettent d'envisager le développement de telles approches. D'autre part, l'exploration systématique de la biodiversité des microalgues paraît intéressante pour identifier de nouvelles espèces présentant des spécificités du métabolisme lipidique. Signalons enfin, qu'à la différence des végétaux qui accumulent les composés de réserve dans des organes spécifiques (la graine dans le cas des lipides), les microalgues procèdent à un stockage intracellulaire. Elles constituent à ce titre un modèle végétal qui permet d'envisager un contrôle *a priori* simplifié des processus de mise en réserve. Les micro-algues, utilisées actuellement essentiellement pour la production de molécules à haute valeur ajoutée, pourraient ainsi constituer un modèle alternatif et complémentaire des végétaux pour produire des acides gras dont on peut contrôler relativement aisément la longueur des chaînes carbonées et le degré d'insaturation pour la production de biocarburants ou de synthons(*) pour la chimie (Hu et al. 2008 ; Radakovitz, 2010).



Différents systèmes de culture des micro-algues (dans des tubes éclairés à gauche et en bassins à droite).

Un institut d'excellence sur les énergies décarbonées (IEED), GreenStars, regroupe l'ensemble de plateformes collaboratives regroupant des acteurs hexagonaux de la filière de valorisation des micro-algues. Porté par l'INRA et rassemblant 45 partenaires (organismes de recherche publique, entreprises, collectivités territoriales, pôles de compétitivité), GreenStars a également pour ambition de se positionner, d'ici cinq à dix ans, parmi les centres d'excellence mondiaux dans le domaine de la bio-raffinerie des micro-algues. Un budget de 160 M€ sur 10 ans est initialement prévu dont près de 20 % d'aide publique.

(*) Synthon : portion de molécule qui évoque un précurseur accessible et suggère par la suite certaines voies de synthèse.

(« lin bâtard » dont plus de 50% des acides gras sont polyinsaturés), de jatropha et d'algues (voir encadré). Le 18 juin 2011, un biréacteur d'affaires Gulfstream G450 s'est posé au Bourget à l'occasion du salon aéronautique en provenance du New Jersey. Il a réalisé le premier vol transatlantique utilisant un biocarburant produit à base de cameline. Il a été suivi deux jours plus tard par un vol de 747-8 Freighter de Boeing en provenance de Seattle, qui a été le premier avion commercial à traverser l'Atlantique avec tous ses moteurs alimentés en biocarburant, également à base de cameline. Toutefois, il n'existe pas d'huile correspondant à ces critères provenant de plantes de grande culture. La famille des *Cuphea* s'avèrerait être une bonne candidate mais ces plantes doivent être au préalable domestiquées et leurs propriétés agronomiques évaluées, ce qui demande du travail et du temps.

Enfin, il faut signaler que les parties aériennes des plantes sont recouvertes de cires dont les composés majeurs sont des alcanes dont la chaîne carbonée contient en moyenne 30 carbones. Les cires extraites de la biomasse végétale pourraient constituer une source de matière première non négligeable dans les processus de cracking afin d'obtenir des alcanes à chaîne plus courte. L'étude des lipides de surface (cires, cutine et subérine) apparaît donc comme un domaine novateur pour repérer de nouveaux lipides qui devraient s'avérer stratégiques dans le domaine de la synthèse des bio-composites et permettre ainsi une meilleure valorisation de la plante entière (Jetter & Kunst, 2008).

Les bio ou agro-carburants produits à partir de biomasse alimentaire comme l'amidon sont dits de première génération, ceux issus de la biomasse non alimentaire comme les lignocelluloses sont appelés de seconde génération et ceux provenant de la culture d'algues sont dénommés biocarburants de troisième génération. Ces derniers, même si leur coût de production est encore élevé, ont l'avantage indéniable de ne pas empiéter sur les terres agricoles à production essentiellement alimentaire. La technologie s'améliorant et le prix des matières fossiles augmentant, les produits issus des microalgues deviendront sans doute assez vite compétitifs sur le marché.

4 Les protéines

4A Production de protéines par les plantes de grande culture

Il existe une production industrielle de masse de protéines végétales (concentrés, isolés, tourteaux, gluten) dont une fraction est déjà utilisée (parfois depuis les années 1950) ou utilisable pour des usages non-alimentaires, soit directement après extraction, soit après modification chimique, enzymatique notamment. Les domaines concernés par l'utilisation de ces protéines sont les tensio-actifs (Guéguen *et al.* 1996 ; Larré *et al.* 2006 ; Linares *et al.* 2000 ; Sanchez-Vioque *et al.* 2004) et les matériaux (Mangavel *et al.* 2002, 2003, 2004 ; Pommet *et al.* 2005 ; Redl *et al.* 2003 ; Viroben *et al.* 2000). De nombreux travaux de recherche et de développement ont été menés dans ce domaine et ont abouti à des brevets.

Les protéines de réserve produites majoritairement par les plantes de grande culture présentent une diversité selon l'espèce considérée. Très schématiquement, on peut considérer que les albumines et globulines, protéines solubles dans l'eau en présence de quantités plus ou moins grande de sels, sont produites majoritairement par les légumineuses, comme le pois ou le soja, le colza, le tournesol et le riz, alors que les prolamines, protéines insolubles dans l'eau (mais dans des solutions hydro-alcooliques concentrées) sont synthétisées par les céréales, blé et orge d'une part, et maïs, de l'autre. Les propriétés des protéines de réserve déterminent leurs applications en chimie verte (matériaux, tensioactifs...). On peut par exemple mentionner

que certaines protéines de réserve des céréales (sous-unités de gluténines de haut poids moléculaire du blé) possèdent, du fait de leur structure à motifs répétés, des propriétés proches de celles des polymères, propriétés intéressantes pour les applications « matériaux ».

De fait, toutes les protéines sont constituées par une succession linéaire d'acides aminés liés par des liaisons peptidiques. Ces liaisons sont très voisines de celles qui relient les monomères du nylon. On comprend dès lors que les protéines sont filables et donnent des fils très solides (rappelons que la soie, connue pour ses propriétés mécaniques, est constituée par une protéine, la séricine, produite par *Bombyx mori*, le ver à soie). Lorsque leur composition en acides aminés leur confère une forte insolubilité, non contentes d'être filables, ces protéines peuvent être utilisées pour leurs propriétés de surface (Guilbert et al. 2006 ; Kumar et al. 2006 ; Rodriguez-Cabello et al. 2005 ; Sanford & Kumar 2005 ; Scheller et al. 2001 ; Tatham et al. 2000 ; Yang et al. ; 2005). C'est notamment le cas des prolamines, et plus particulièrement de la zéine du maïs qui fut utilisée comme matière plastique avant l'arrivée des polymères de synthèse (voir encadré). En revanche, certaines protéines 2S (albumines de tournesol) ou leurs dérivés sont plutôt dédiées à des usages dans le domaine des tensioactifs.

Le polymorphisme et certaines caractéristiques structurales des protéines de réserve restent un problème sérieux en comparaison des molécules d'origine chimique présentes sur le marché (polymères, tensioactifs). Chaque espèce, chaque famille de

La zéine du maïs

Les zéines sont les prolamines du grain de maïs, uniquement solubles dans l'alcool éthylique à 70%, propriété exceptionnelle pour une protéine. Elles forment une famille de molécules proches les unes des autres codées par une trentaine de gènes ; leur structure montre des répétitions nombreuses de courts peptides. Non seulement insolubles dans l'eau et filables, mais aussi et surtout imputrescibles (bien que biodégradables dans le temps) les zéines furent utilisées depuis les années 1950 pour un grand nombre d'applications industrielles et alimentaires. La zéine, terme générique pour désigner le mélange naturel de ces protéines, est en général produite sous forme de poudre à partir du gluten de maïs.

Historiquement, la zéine a été employée pour la fabrication d'une vaste gamme de produits commerciaux, par exemple des revêtements pour papier (verniss du papier kraft), gobelets en carton ou des étoffes d'habillement (Vicarat™), des boutons, des adhésifs, des enduits et des liants. Les polymères de synthèse ont supplanté certains usages (tissus, matières plastiques).

La zéine, produit naturel classée comme "généralement reconnue comme sûre" par l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments (FDA) est incolore, inodore, sans saveur, dure, insoluble dans l'eau et comestible, ce qui la rend très utile pour les produits alimentaires et pharmaceutiques, en concurrence avec la gomme laque issue de la sécrétion d'une cochenille asiatique, *Coccus lacca*. C'est elle qui constitue la gomme des chewing-gums. Elle est actuellement utilisée comme enrobage (bonbons, cacahuètes, fruits, etc.). De nombreuses applications potentielles de sécurité alimentaire peuvent être rendues possibles par des emballages à base de zéine qui remplacent les films de plastique. Pour les applications pharmaceutiques, la zéine sert à la fabrication de pilules et de capsules de médicaments.

La zéine peut être à l'origine de résines et de polymères bioplastiques qui peuvent être extrudés ou roulés en divers produits plastiques. Comme les revêtements synthétiques peuvent poser des soucis environnementaux (dont les coûts d'élimination des matières plastiques), que c'est un produit naturel renouvelable mieux accepté par les consommateurs et aussi que le prix des produits pétrochimiques ne fait que croître, la zéine regagne de l'intérêt comme matière première pour de nombreuses applications de polymères non toxiques, en particulier dans l'industrie du papier et l'emballage des produits alimentaires. Le principal obstacle à une plus large utilisation a été jusqu'à récemment son coût historiquement élevé. Cependant, la zéine pourrait être extraite comme sous-produit dans le processus de production de l'éthanol comme biocarburant.

protéines de réserve est constituée en effet d'un nombre plus ou moins important d'isoformes (variabilité génétique importante due à près d'une centaine de gènes différents bien que voisins et aussi due aux modifications chimiques post-traductionnelles qu'elles subissent après leur synthèse, présentes en proportions variables d'une variété à l'autre et en fonction des conditions de culture. Les protéines de réserve sont donc caractérisées par une grande hétérogénéité qui peut constituer un handicap pour leur utilisation en chimie verte, rendant plus difficile le contrôle de leur réactivité et de leurs propriétés physico-chimiques.

Les protéines d'intérêt à modifier génétiquement sont de préférence celles qui sont produites en quantité par les plantes et concentrées dans un organe unique, c'est-à-dire les protéines de réserve. Les grains et graines présentent l'avantage d'une stabilisation naturelle de la matière première due à la dessiccation de l'organe de biosynthèse et de stockage.

Les feuilles en revanche offrent des possibilités de très forts rendements en protéines à l'hectare mais sont plus difficiles à conserver après récolte. Les activités biologiques présentes dans ce matériel, couplées à la teneur en eau très élevée, peuvent engendrer très tôt après la récolte des modifications chimiques et enzymatiques des protéines (oxydation, brunissement, hydrolyse...), difficiles à contrôler et qui peuvent entraîner des variations majeures de leurs propriétés physicochimiques et fonctionnelles.

4B Production d'enzymes et de protéines spécifiques

La production des enzymes d'intérêt pour la chimie fine n'est pas aisée par les plantes. Les microorganismes sont communément plus adaptés pour cette production que les plantes de grande culture. Un très large spectre d'activités enzymatiques est d'ores et déjà produit industriellement par voie microbienne en exploitant la biodiversité de différentes collections de microorganismes.

Toutefois, la possibilité de produire des protéines ou des polypeptides exogènes fonctionnels dans des plantes de grande culture a été démontrée dans le cas de protéines thérapeutiques ou à destination biomédicales (Ma et al. 2003 ; Lin et al. 2006). Même si les protéines végétales présentent des systèmes de modifications post-traductionnelles différents de l'homme (ce qui aboutit parfois à la production de protéines inactives, car insuffisamment ou mal maturées), elles ne contiennent en revanche aucun pathogène pour les humains, d'où leur intérêt. Différentes plantes ont été préconisées comme pouvant produire ce type de protéines : maïs, blé, riz, orge, medicago, tabac (Abranches et al. 2005 ; Ramessar et al. 2008a ; Ramessar et al. 2008b ; Takaiwa et al. 2007). Jusqu'à présent plus d'une centaine de protéines ont été produites à des fins expérimentales et une partie d'entre elles, en particulier celles destinées pour la production de vaccins, d'anticorps, d'enzymes, sont en cours d'étude chez l'homme mais, à l'heure actuelle, aucune protéine recombinante d'origine végétale à usage thérapeutique n'est présente sur le marché.

5 Les métabolites secondaires

Les métabolites secondaires, essentiellement les terpénoïdes, sont des composés dérivés de l'isoprène, très répandus chez les végétaux, conifères, euphorbes et hévéa notamment. On en recense plus de 100 000 : terpènes, latex, encres, colorants, huiles essentielles, phytotoxines naturelles, etc. Ces molécules sont largement utilisées comme pigments (caroténoïdes), parfums, fragrances et saveurs (huiles essentielles), contraceptifs, drogues anti-cancer (taxol,

vinblastine), médicaments cardiovasculaires (cardénolides), anti-oxydants, vaccins, adjuvants, en protection des cultures (phéromones, phytoalexines terpéniques) et surtout par l'industrie du caoutchouc (latex).

Un exemple de biopolymère isoprénique : le caoutchouc naturel

Le caoutchouc naturel est un biopolymère appelé cis-1,4-polyisoprène constitué de 320 à 35.000 molécules d'isoprène (ou 2-méthylbuta-1,3-diène, $[C_5H_8]_n$), reliées par des liaisons cis-1,4. Cet assemblage est réalisé par la « rubber transferase », une cis-prényl transférase, qui catalyse l'addition séquentielle de molécules d'isopentényle pyrophosphate sur un précurseur allylique, le farnésyl pyrophosphate (FPP), un métabolite de la voie de l'acide mévalonique. Dans le cas de l'hévea, la masse moléculaire moyenne du polymère synthétisé est de 12.000 kDa, comprenant environ 18.000 unités isopréniques. Le caoutchouc est synthétisé à la surface de particules en suspension aqueuse dans les laticifères. Le latex récolté par saignée est le cytoplasme, c'est-à-dire le contenu liquide, des cellules laticifères. Les particules de caoutchouc représentent 25 à 45 % du volume du latex et 90 % de la matière sèche (A. Hartmann, communication personnelle).

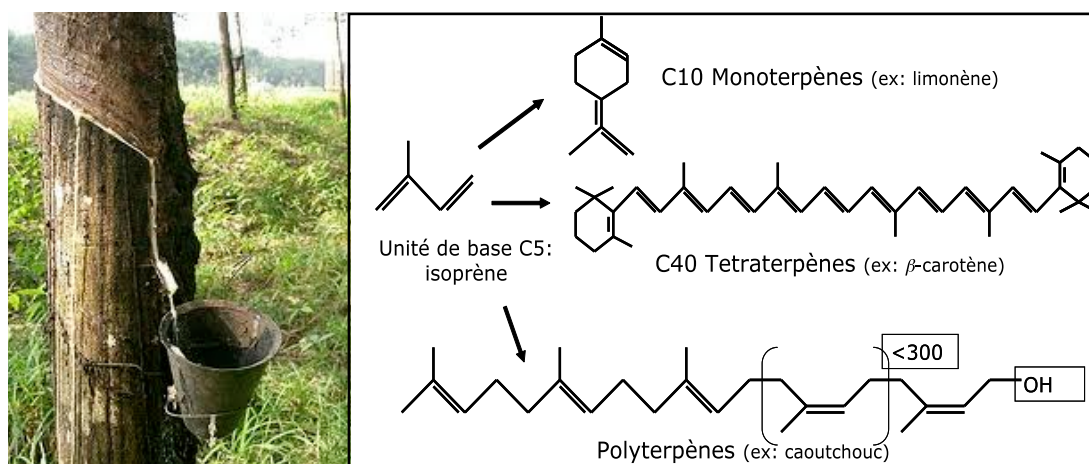


Figure 8 Les isoprénoïdes sont des composés issus de la condensation d'unités de base à cinq carbones de type isoprène. On parle également de composés terpéniques ou terpenoïdes, l'unité monoterpène correspondant à des molécules à 10 carbones formées à partir de deux unités isoprènes. De façon analogue à la famille des composés phénoliques, les isoprénoïdes regroupent à la fois des molécules de faibles poids moléculaires, volatiles et composants principaux d'huiles essentielles, et des molécules hautement polymérisées comme par exemple le caoutchouc.

Le caoutchouc naturel représente l'un des polymères les plus utilisés dans nos sociétés. Il entre dans la fabrication de plus de 40.000 produits, avec des applications dans des domaines très divers. Malgré la disponibilité de produits dérivés du pétrole, le caoutchouc naturel garde une haute valeur ajoutée, due à ses propriétés uniques, représentées par son élasticité, sa résilience, sa résistance à l'abrasion et aux chocs ainsi que sa malléabilité à basse température. Bien que le caoutchouc ait été répertorié dans plus de 2.500 espèces de plantes, *Hevea brasiliensis* reste actuellement la source commerciale quasi unique de latex naturel, capable de fournir des quantités importantes de caoutchouc de haute qualité, c'est-à-dire de haut poids moléculaire. Cet arbre pousse essentiellement dans les zones tropicales et subtropicales de l'Asie du Sud-Est (Malaisie, Thaïlande, Laos, Vietnam) et de l'Indonésie, qui fournissent plus de 90% du caoutchouc naturel mondial.

Actuellement, la recherche de sources alternatives de caoutchouc naturel autres que celle de l'hévéa est devenue un impératif. En effet, la diminution des surfaces de plantation et le manque de biodiversité génétique de l'hévéa, les problèmes très fréquents d'allergie aux protéines présentes dans le latex (gants...), la susceptibilité potentielle de l'hévéa au champignon pathogène *Microcyclus ulei*, la tendance générale vers une diminution de l'utilisation des dérivés du pétrole et une demande mondiale croissante de caoutchouc naturel (la demande mondiale de pneus s'est accrue de 6,3% entre 2011 et 2012 qui a vu une production de 1,3 milliards de pneus, et que 2 milliards sont attendus en 2020). Ce sont autant d'éléments incitatifs à cette recherche. En outre, la récolte du latex est un travail pénible qui ne peut être mécanisé et qui nécessite l'incision journalière d'une centaine d'arbres par travailleur.

La plante idéale productrice de latex devrait être annuelle, capable de croître rapidement et de produire une biomasse importante, avec une concentration élevée en caoutchouc. Les plantes les plus prometteuses sont un buisson nommé guayule (*Parthenium argentatum* Gray) (Parra-Delgado et al. 2005) et le pissenlit russe (*Taraxacum kok-saghyz*) (Wahler et al. 2009), deux plantes de la famille des Asteraceae, capables de se développer dans des climats tempérés. Les plantes qui synthétisent du caoutchouc naturel devront aussi être exploitées pour leurs co-produits (bioéthanol, à partir des résidus de lignocellulose, inuline du pissenlit russe par exemple...).

Il existe d'autres sources potentielles de caoutchouc naturel. Une recherche extensive entreprise à la fin des années 1920 par la « Edison Botanic Research Compagy » avait montré que la solidage (*Solidago canadensis*), une mauvaise herbe commune, produit environ 5% de latex mais fournit un caoutchouc de mauvaise qualité (masse moléculaire de 300 kDa). Une étude plus récente indique que la laitue (*Lactuca serriola*) contient de petites quantités de caoutchouc ayant un poids moléculaire voisin de celui de l'hévéa et de la guayule. *Ficus elastica* (« Indian rubber tree ») et *Ficus carica*, appartenant à la famille des Moraceae, sont capables de produire du caoutchouc (Van Beilen J.B. & Poirier Y. 2007).

Il est à noter que la gutta-percha qui provient du latex de certains arbres de Malaisie, du Pacifique Sud et d'Amérique du Sud (*Palaquium oblongifolia* et *Palaquium gutta* et de plusieurs espèces voisines de la famille des Sapotaceae) est également un polymère de l'isoprène, mais à la différence du caoutchouc, il s'agit d'un isomère trans, ce qui le rend beaucoup moins élastique. Cette matière plastique naturelle, ayant l'apparence du cuir, est toutefois un excellent isolant (très utilisé dans la fabrication de câbles sous-marins).

Enfin, n'oublions pas les euphorbes. *Euphorbia lathyris* fait partie par exemple de la très large famille des Euphorbiacées (2 300 espèces), plantes dicotylédones ayant toutes en commun de posséder un suc laiteux mais très toxique en raison de l'euphorbone qu'il contient. En dépit du travail de pionniers (dont celui de M. Calvin, Prix Nobel de Chimie) de nombreux aspects liés à la différenciation des laticifères (les cellules spécialisées qui produisent le latex) ainsi qu'à la biosynthèse et à l'accumulation des triterpénoïdes restent largement inconnus (Gao et al. 2007). Ces connaissances ainsi que la mise au point d'une méthode de transformation génétique d'*Euphorbia lathyris* sont indispensables si l'on veut augmenter la quantité de triterpénoïdes par cette plante (Jiao et al. 2009 ; Sainte-Beuve et al. 2000, 2006 ; A. Hartmann, communication personnelle).

Divers programmes de recherche et de développement sont en cours pour domestiquer et optimiser la production et la qualité du caoutchouc naturel :

- Projet EU-PEARLS, financé par la Communauté Européenne et coordonné par l'Université de Wageningen (Pays-Bas), qui a pour objectif le développement de nouvelles cultures pour la production de caoutchouc naturel en Europe
- Recherches concernant la valorisation de la guayule, menées dans le cadre du Programme National USDA-ARS (#306) « Quality and Utilization of Agricultural Products », réalisées par K. Cornish et al. au « Western Regional Research Center », Albany, CA (USA). Parmi les objectifs, il faut citer une approche d'« engineering » métabolique pour tenter d'améliorer la production et la qualité du caoutchouc produit par le tournesol (tiges et feuilles) et de créer des plants de tabac produisant du caoutchouc (Xie et al. 2008).

6 Quels types de plantes sélectionner ?

Excepté quelques plantes (coton, chanvre, lin, pastel, garance, oeillette...), jusqu'à présent les plantes de grande culture n'ont généralement pas été sélectionnées pour produire des produits non alimentaires utilisables par les chimistes. Tout un travail de sélection classique reste à faire pour obtenir des plantes productrices de molécules d'intérêt pour la chimie verte. Il est nécessaire de distinguer les productions de masse par des plantes de grandes cultures pour des usages industriels, des productions de molécules à haute valeur ajoutée par des plantes cultivées en milieux artificiels et contrôlés (chambres de culture, serres).

Dans un premier temps, il est indispensable d'inventorier les plantes productrices de molécules d'intérêt. Les banques de données sur les productions végétales sont des sources d'information à consulter systématiquement. Il ne faut pas négliger les informations provenant des herbiers anciens qui peuvent être examinés au Muséum National d'Histoire Naturelle par exemple. Il serait sans doute opportun de réaliser un phénotypage systématique de ces plantes pourrait être accompagné d'un cahier des charges adapté.

Dans un deuxième temps, il est nécessaire d'améliorer génétiquement les plantes sauvages aux productions intéressantes et de déterminer des itinéraires techniques appropriés. Cet effort de domestication de plantes sauvages peut être long et risqué. Le miscanthus et le switchgrass (Zhenle et al. 2009), plantes grandes productrices de biomasse (20 à 30 t/ha), sont déjà cultivés dans nos régions tempérées. Le jatropha (Berchmans et al. 2006 ; Qu et al. 2012), le jojoba (Ash et al. 2005), le cuphéea (Bert & Johnson, 2008 ; Forcella et al. 2005), sont potentiellement des végétaux qui pourraient permettre la conquête de nouveaux territoires agricoles, en particulier des zones arides et salines, pour autant que l'intensification de leur production ne conduise pas à une impasse. Pour ce qui concerne les microalgues, l'effort de domestication est également essentiel, celui-ci pourrait dans certains cas être accéléré par le temps de génération court de ce type d'organisme (Grossman 2007 ; Rismani-Yazdi et al. 2011).

Enfin, il faut prendre en compte également la possibilité de transférer les gènes de voies métaboliques originales et d'intérêt dans des plantes de grandes cultures de nos régions, connues pour leur productivité élevée. Si, théoriquement, quasiment tout est possible dans ce domaine, les résultats obtenus au champ laissent, comme déjà signalé, encore perplexes, les rendements étant souvent très faibles. Tous les espoirs sont cependant permis.

Finalement, nous constatons que, si nous avons en gros connaissance des gènes impliqués dans les voies de synthèse de la majorité des constituants intéressants, nous connaissons mal les systèmes de régulation de ces voies métaboliques et de mise en place de ces constituants dans les systèmes biologiques plus complexes, les organites cellulaires (cytosol, vacuole, chloroplaste, réticulum, corps lipidiques, etc.) et la paroi pecto-cellulosique.

De plus, nous observons que cette méconnaissance des systèmes de régulation des grandes voies métaboliques *in planta* nous interdit pour le moment toute modification des rapports amidon/protéines, amidon/lipides, amylose/amylopectine, cellulose/lignine, etc. Il faut rappeler également qu'il est souvent observé que l'accumulation anormale de certains produits (lignines, flavonoïdes) peut inhiber la croissance et le développement des plantes qui les produisent. Enfin, la notion d'organe est importante à prendre en compte, en examinant attentivement la potentialité des organes à stocker, sans risque pour la plante, des molécules d'intérêt pour la chimie et la possibilité de récolter facilement ces organes pour extraire commodément les produits recherchés.

7 Quelles sont les voies de recherche ?

- Produire en quantité des bioproduits aux caractéristiques recherchées par l'industrie, concentrés dans des organes facilement récoltables (graines, feuilles, tubercules...) et facilement extractibles sans détérioration. Il est nécessaire d'assurer une régularité dans les rendements (maîtrise des conditions phytotechniques et agro-climatiques, résistance aux maladies et aux ravageurs), de réduire l'hétérogénéité intra-spécifique et intra-génotypique des molécules stockées dans des organes récoltables en sélectionnant les constituants exprimés sur une base structurale et techno-fonctionnelle. Certaines techniques de modifications des bioproduits pourraient être revues pour répondre aux exigences des biotechnologies blanches et de la chimie verte, par exemple passage de modifications chimiques à des modifications enzymatiques (acylation de peptides dérivés des albumines du colza ou du tournesol, fonctionnalisation de peptides dérivés du gluten). Certaines techniques de fractionnement de la matière première devraient être reconsidérées pour préserver les structures et les fonctionnalités des bioproduits et faciliter leur valorisation ultérieure pour des usages techniques ; c'est en particulier le cas des fractions des protéines de réserve des graines oléagineuses qui sont difficilement exploitables à partir des classiques tourteaux d'huilerie. Cette question doit être traitée en liaison avec l'amélioration de la fractionnabilité des graines. Il est en outre important de considérer les sous-produits qui peuvent être d'un grand intérêt et valoriser la production principale (par exemple, les tourteaux riches en protéines, les fractions lipidiques...), notamment en choisissant judicieusement les procédés d'extraction.

- Rechercher des bioproduits à finalité industrielle pour des usages de masse, en intégrant des contraintes particulières à cette sortie, notamment les compositions et structures spécifiques, le rendement en ces bioproduits et leur récupération par des techniques simples, propres et peu coûteuses et respectant les co-produits. En accompagnement de ces recherches, il faut développer des études de design *de novo* ou biomimétique (molécules fondées en partie sur des structures biologiques), de modélisation et de caractérisation structurale et fonctionnelle des polypeptides, guidées par une démarche d'ingénierie inverse

(activité qui consiste à étudier un objet pour en déterminer le fonctionnement interne ou la méthode de fabrication).

- On peut aussi envisager de faire synthétiser par les plantes des molécules simples que l'on peut transformer ensuite par la chimie classique et la chimie blanche (utilisation des enzymes et des microorganismes, pour les fermentations, les hydrolyses, les conversions de toute sorte). Dans certains cas, concernant les acides gras par exemple, ne serait-il pas préférable de faire synthétiser par les plantes des acides gras courants, produits à profusion par les plantes de grand culture, et de les transformer ensuite, que de s'évertuer à cultiver des plantes exotiques difficiles à acclimater dans nos régions et peu productives, ou de transférer des gènes de voies métaboliques très rares dans des plantes courantes et de s'exposer à des échecs cuisants au niveau productivité, voire socialement décriées (OGM) ? N'y aurait-il pas opportunité à produire l'acide gras « minimal » et à le transformer ensuite pour obtenir des structures intéressantes ? Il en est de même pour les lignines où la production de monolignols élémentaires serait suffisante pour la chimie de ce type de produits. Toutefois les plantes ne sont-elles pas encore meilleurs chimistes que les hommes ?

Finalement, nous avons donc besoin d'acquérir encore de nombreuses connaissances sur les voies de synthèse de certaines molécules, sur leur stockage et leur effet en retour sur les grandes fonctions physiologiques de croissance et de développement des plantes. Nous avons également à développer nos connaissances sur la mise en place des grandes structures cellulaires, paroi, fibres, organes de stockage (oléosomes, corpuscules protéiques, plastes). Il y a encore une grande ignorance entre l'expression des gènes et la mise en place des structures macromoléculaires dans un organe donné. Poursuivons la recherche fondamentale pour mieux comprendre et maîtriser les systèmes métaboliques dans un environnement donné à des périodes précises du développement des plantes. Produire de l'énergie, des molécules et des matériaux à partir des ressources agricoles non alimentaires constitue un enjeu majeur dans un contexte de développement durable.

Les plantes sont des usines chimiques extraordinaires, capables de synthétiser toutes les molécules dont nous avons besoin. Toutefois, dans la pratique, le problème est plus complexe qu'il n'y paraît car la production de biomasse est irrégulière et les rendements de conversion de cette biomasse obtenus jusqu'à présent ne sont pas toujours compatibles avec les exigences économiques actuelles. Toutefois, les nouvelles technologies apporteront incontestablement leur appui à cette nouvelle entreprise, abaissant les coûts de production et de transformation, mais beaucoup de progrès restent encore à faire, nécessitant une recherche pluridisciplinaire efficace alliant biologistes, chimistes, agronomes, technologues, etc., pour résoudre ces difficultés au cours des prochaines décennies. De plus, des changements profonds de comportement de notre société, du monde agricole et industriel, sont nécessaires, en tenant compte des contraintes environnementales et sociétales. Au niveau mondial, le défi d'une économie verte est d'améliorer le niveau de vie des pays en développement en évitant d'augmenter leur empreinte écologique, tout en maintenant un niveau de vie des pays développés.

La France a le potentiel intellectuel, agricole, et industriel pour relever les défis de ces rencontres de l'agriculture et de la chimie. Rappelons à cet effet que le pourcentage de

carbone utilisé par la chimie ne représente que quelques pour-cent (5 à 15 % du carbone total) du carbone de la chimie utilisé pour la production énergétique. Dans ces conditions si le remplacement total du carbone fossile par le carbone vert est inconcevable actuellement, le remplacement partiel (20 à 30%) du carbone nécessaire à la chimie est tout à fait envisageable dans les décennies à venir (horizon 2030 par exemple). Il est nécessaire de valoriser ce potentiel, c'est une question de courage politique, économique et social.

Les auteurs remercient T. Chardot, P. Colonna, A. Hartmann, C. Lapierre et le Groupe de Réflexion ARP Vega (INRA 2008-2010) pour leurs informations et remarques concernant ce texte.

Bibliographie

- Abranches R., Marcel S., Arcalis E., Altman F., Feveireiro P., Stoger E. (2005). Plants as bioreactors: a comparative study suggests that *Medicago truncatula* is a promising production system. *Journal of Biotechnology*, 120, 121-134.
- Ahmad R, Kim Y-H, Kim MD, Phung M-N, Chung Woo-Il, Lee H-S, Kwak S-S and Kwon SY (2008). Development of selection marker-free transgenic potato plants with enhanced tolerance to oxidative stress. *Journal of Plant Biology* 6: 401-407.
- Ash GJ, Albiston A and Cother EJ (2005). Aspects of jojoba agronomy and management. *Advances in agronomy* 85, 410-437.
- BALLERINI D, Les Biocarburants, Editions Technip, Paris, 2011
- Berchmans HJ and Hirata S (2006). Biodiesel production from crude *Jatropha curcas* L. seed oil with a high content of free fatty acids. *Bioresource Technology* 99, 1716-1721.
- Bert M.T. and Johnson B. L. (2008). Growth and development of *Cuphea indus*. *Crops and Products* 27, 265-271.
- Berthet S, Demont-Caulet N, Pollet B, Bidzinski P, Cézard L, Le Bris P, Borrega N, Hervé J, Blondet E, Balzergue S, Lapierre C, Jouanin L (2011). Disruption of LACCASE4 and 17 results in tissue-specific alterations to lignification of *Arabidopsis thaliana* stems. *Plant Cell*. 23(3):1124-1137.
- Bilhère-Dieuzeide L, Adrien Chauvet (2012). Projet de Recherche et Développement de Bioéthanol de 2ème Génération. In : Colloque Energies, 12-13janvier 2012, 22p.
- Boerjan W, Ralph J, Baucher M (2003). Lignin biosynthesis. *Annu Rev Plant Biol*. 54: 519-546.
- Bournay L, Dohy M, Sabin J-C (2009). Séance hebdomadaire Académie d'Agriculture de France sur les Biocarburants de seconde génération (11 mars 2009).
- Buléon A, Colonna P, Planchot V, Ball S (1998). Starch granules: structure and biosynthesis. *Int J Biol. Macromol*. 23: 85-112.
- Cahoon E.B., Sockey J.M., Diettrich C.R., Gidda S.K., Mullen R.T. and Dyer J.M. (2007) Engineering oilseeds for sustainable production of industrial and nutritional feedstocks: solving bottlenecks in fatty acids flux. *Current Opinion Plant Biology* 10, 236-244.
- Carlsson A.S. (2009) Plant oils as feedstock alternatives to petroleum - A short survey of potential oil crop platforms. *Biochimie* 91, 665-670.
- Chabbert B, Joly C, and Kurek B (2006). Les fibres végétales: retour vers le futur? In : Chimie Verte, P Colonna, Ed. (Lavoisier), pp. 99-144.
- De Vetten N, Wolters AM, Raemakers K, van der Meer I, ter Stege R, Heeres E, Heeres P, Visser R (2003). A transformation method for obtaining marker free plants of cross pollinating and vegetatively propagated crop. *Nature Biotechnol*. 21: 439-442.
- Demont-Caulet N, Lapierre C, Jouanin L, Baumberger S, Méchin V (2010). *Arabidopsis* peroxidase-catalyzed copolymerization of coniferyl and sinapyl alcohols: kinetics of an endwise process. *Phytochemistry* 71 : 1673-1683.
- Durett T.P., Benning C. and Ohlrogge J. (2008). Plant triacylglycerols as feedstocks for the production of biofuels. *Plant Journal*. 54, 593-607.
- Dyer J.M., Stymne S., Allan G. Green A.G. and Carlsson A.S (2008). High-value oils from plants. *Plant Journal*. 54, 640-655.

- Eudes A, George A, Mukerjee P, Kim JS, Pollet B, Benke PI, Yang F, Mitra P, Sun L, Cetinkol OP, Chabout S, Mouille G, Soubigou-Taconnat L, Balzergue S, Singh S, Holmes BM, Mukhopadhyay A, Keasling JD, Simmons BA, Lapierre C, Ralph J, Loqué D (2012). Biosynthesis and incorporation of side-chain-truncated lignin monomers to reduce lignin polymerization and enhance saccharification. *Plant Biotechnol. J.* 10 (5): 609-620.
- Forcella F., Guesch R.W. and Isbell T. A. (2005). Seed Yield, Oil and fatty Acids of *cuphea* in the Northwest Corn Belt. *Crop. Sci.* 45, 195-2202.
- Fornaléa S, Capelladesa M, Encinaa A, Wanga, K , Irara S, Lapierre C, RueleK, Joseleau J-P, Berenguera J, Puigdomènecha P, Rigaua J and Caparrós-Ruiza D (2011). Altered Lignin Biosynthesis Improves Cellulosic Bioethanol Production in Transgenic Maize Plants Down-Regulated for Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase. *Mol. Plant* (sous presse).
- Gao S, Liu HY, Wang YH, He HP, Wang JS, Di YT, Li CS, Fang X, Hao XJ (2007). Lathyrane A: a diterpenoid possessing an unprecedented skeleton from *Euphorbia lathyris*. *Org. Lett.* 16; 9(17): 3453- 3455.
- Grossman A.R. (2007). In the grip of algal genomics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 616: 54-76.
- Guéguen J., Popineau Y., Anisimova I.N., Fido R.J., Shewry P.R., Tatham A.S (1996). Functionality of the 2S albumin seed storage proteins from sunflower (*Helianthus annuus* L.) *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 44: 1184-1189.
- Guilbert S, Morel M-H ,Cuq B (2006). Protéines matériaux. In : *Chimie Verte*, P Colonna Ed. ; Lavoisier, 179- 204.
- Höfte H, Tayeb J, Forslund A, (2010). Séance hebdomadaire, Académie d'Agriculture de France sur les Biocarburants de seconde génération (10 mars 2010).
- Hofvander P, Andersson M, Larsson C-T, Larsson H (2004). Field performance and starch characteristics of high-amylose potatoes obtained by antisense gene targeting of two branching enzymes. *Plant Biotechnology Journal*, 2 : 311-332.
- Hou C.T., kuo T.M. and Lanser A.C. (2002). Value-added products through bioprocessing: next hydroxyl fatty acids. *Inform*, 13: 307-316.
- Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, Ghirardi M, Posewitz M, Seibert M, Darzin A (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant Journal* 54 (4): 621-639.
- Hu WJ, Kawaoka A, Tsai CJ, Lung J, Osakabe K, Ebinuma H, Chiang VL (1998). Compartmentalized expression of two structurally and functionally distinct 4-coumarate:CoA ligase genes in aspen (*Populus tremuloides*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 5407-5412.
- Jeon JS, Ryoo N, Hahn TR, Walia H, Nakamura Y (2010). Starch biosynthesis in cereal endosperm. *Plant Physiol. Biochem.* 48(6): 383-392.
- Jetter R and Kunst L (2008). Plant surface lipid biosynthetic pathways and their utility for metabolic engineering of waxes and hydrocarbon biofuels. *Plant Journal* 54: 670-683.
- Jetter R. and Kunst L. (2008). Plant surface lipid biosynthetic pathways and their utility for metabolic engineering of waxes and hydrocarbon biofuels. *Plant Journal* 54, 670-683.
- Jiao W, Dong W, Li Z, Deng M, Lu R. (2009). Lathyrane diterpenes from *Euphorbia lathyris* as modulators of multidrug resistance and their crystal structures. *Biorg. Med. Chem.* 17(13): 4786- 4792.
- Jobling S (2004). Improving starch for food and industrial applications. *Curr.Opin. Plant Biol.* 7(2): 210-218.
- Jordan DB, Bowman MJ, Braker JD, Dien BS, Hector RE, Lee CC, Mertens JA, Wagschal K (2012). Plant cell walls to ethanol. *Biochem J.* 442(2): 241-252.
- Karlsson ME, Leeman AM, Bjorck IME; Eliasso A-C (2007). Some physical and nutritional characteristics of genetically modified potatoes varying in amylose/amylopectin ratios. *Food Chemistry* 100: 136-146.
- Kumar M., Sanford K.J., Cuevas W.A., Du M., Collier K.D., Chow N (2006). Designer protein-based performance materials. *Biomacromolecules* 7 : 2453-2551.
- Lapierre C, Jouanin L, Baumberger S, (2010). Séance hebdomadaire Académie d'Agriculture de France sur les Lignines (17 février 2010).
- Lapierre C, Pollet B, Petit Conil M, Toval G, Romero J, Pilate G, Leple JC, Boerjan W, Ferret V, De Nadai V et al. (1999). Structural alterations of lignins in transgenic poplars with depressed cinnamyl alcohol dehydrogenase or caffeic acid O-methyltransferase activity have an opposite impact on the efficiency of industrial kraft pulping. *Plant Physiol.* 119: 153-163.
- Larré C., Mulder W., Sánchez-Vioque R., Lazko J., Bérot S., Guéguen J., Popineau Y. (2006). Characterization and foaming properties of hydrolysates derived from rapeseed isolate", *Colloids and Surfaces: Biointerfaces* 49, 40-48.

- Laurent A, Boyeux B, Philippe E, Cantoni J et Trouvé J-L (2011). Séance hebdomadaire Académie d'Agriculture de France sur Nouvelles utilisations des plantes à fibres (12 janvier 2011).
- Lee Y, Chen F, Gallego-Giraldo L, Dixon RA, Voit EO (2011). Integrative analysis of transgenic alfalfa (*Medicago sativa* L.) suggests new metabolic control mechanisms for monolignol biosynthesis. *PLoS Comput Biol.* 7(5): 1002047. (doi: 10.1371/journal.pcbi.1002047).
- Lin M., Rose-John S., Grötzinger J., Conrad U., Scheller J. (2006). Functional expression of a biologically active fragment of soluble gp130 as an ELP-fusion protein in transgenic plant: purification by inverse transition cycling. *Biochemical Journal*, 398 : 577-583.
- Linares E., Larré C., Le Meste M., Popineau Y (2000). Emulsifying and foaming properties of gluten hydrolysates with an increasing degree of hydrolysis: role of soluble and insoluble fractions. *Cereal Chemistry*, 77, 414-420.
- Lourdin D et Colonna P (2006). Matériaux à base d'amidon et de leurs dérivés. In : La Chimie Verte P, Colonna Ed., Lavoisier p 145-178.
- Lu S, Li L, Zhou G (2010). Genetic modification of wood quality for second-generation biofuel production. *GM Crops*. 1(4): 230-236.
- Ma J.K., Drake P.M.W. Christou P (2003). The production of recombinant pharmaceutical proteins in plants. *Nature Review Genetics*, 4: 794-805.
- Mangavel C., Barbot J, Linossier L., Feys M., Guéguen J., Popineau Y (2002). Influence of prolamin composition on mechanical properties of gluten films prepared by casting. *J. Cereal Sci.* 36, 157 -166.
- Mangavel C., Barbot J., Guéguen J., Popineau Y (2003). Molecular determinants of the influence of hydrophilic plasticizers on mechanical properties of cast wheat gluten films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 1447-1452.
- Mangavel C., Rossignol N., Perronnet A., Barbot J., Popineau Y., Guéguen J (2004). Properties and microstructure of thermo-pressed wheat gluten films: a comparison with cast films. *Biomacromolecules*, 5: 1596-1601.
- Michels J. et Wagemann K., (2010) The German Lignocellulose Feedstock Biorefinery project. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining* 4(3) 263-267.
- Miwa TK (1971) Jojoba oil wax esters and derived fatty acids and alcohols: Gas chromatographic analyses. *J Am Oil Chem Soc* 48, 259-264
- Morot-Gaudry Jean-François et al. (2009) Rapport ARPvéga, Tâche 5, 28 pp.
- Mouille G, Lapierre C, Jouanin L, Job D, Morot-Gaudry JF (2006). Manipulation des voies de synthèse des synthons dédiés à la chimie verte. In : Chimie Verte, P Colonna Ed., Lavoisier 41- 78.
- Mouloungui Z, Pelet S, Eychenne V et Mateo S (2006). Lipochimie. In : Chimie Verte, P Colonna Ed., Lavoisier 305-356.
- Muth J, Hartje S, Twyman RM, Hofferbert HR, Tacke E, Prüfer D (2008). Precision breeding for novel starch variants in potato. *Plant Biotechnol. J.* 6(6): 576-84.
- Neutelings G (2011). Lignin variability in plant cell walls: contribution of new models. *Plant Sci.* 181(4): 379-86.
- Norberg I (2012). Carbon Fibre from Kraft Lignin. Doctoral Dissertation, KTH, Fibre and Polymer Technology, Stockholm.
- Parra-Delgado H, García-Pillado F, Sordo M, Ramírez-Apan T, Martínez-Vázquez M, Ostrosky-Wegman P (2005). Evaluation of the cytotoxicity, cytostaticity and genotoxicity of Argentatins A and B from *Parthenium argentatum* (Gray). *Life Sci.*, 77 : 2855-2865.
- Pommet M., Redl A., Guilbert S., Morel M-H (2005). Intrinsic influence of various plasticizers on functional properties and reactivity of wheat gluten thermoplastic materials. *J. Cereal Sci.* 42: 81-91.
- Qu J, Mao H-Z, Chen W, Gao S-q, Bai Y-N, Sun Y-W, Geng Y-F, Ye J (2012). Development of marker-free transgenic *Jatropha* plants with increased levels of seed oleic acid. *Biotechnol. Biofuels.* 2012; 5: 10. Published online 2012 February 29. doi: 10.1186/1754-6834-5-10.
- Radakovits R, Jinkerson RE, Darzins A, Posewitz MC (2010). Genetic engineering of algae for enhanced biofuel production. *Eukaryot Cell.* 9(4): 486-501.
- Ramessar K, Capell T, Christou P (2008). Molecular pharming in cereal crops. *Phytochemistry Review* 7: 579-592.
- Ramessar K., Sabalza M., Capell T., Christou P (2008) . Maize plant: an ideal production platform for effective and safe molecular pharming. *Plant Science* 174: 409-419.
- Redl A., Guilbert S., Morel M-H (2003). Heat and shear mediated polymerisation of plasticized wheat gluten protein upon mixing. *J. Cereal Sci.* 38: 105-114.

- Richet N, Afif D, Tozo K, Pollet B, Maillard P, Huber F, Priault P, Banvoy J, Gross P, Dizengremel P, Lapierre C, Perré P, Cabané M (2012). Elevated CO₂ and/or ozone modify lignification in the wood of poplars (*Populustremula x alba*). J. Exp. Bot. (sous presse).
- Rismani-Yazdi H, Haznedaroglu BZ, Bibby K, Peccia J (2011). Transcriptome sequencing and annotation of the microalgae *Dunaliellatertiolecta*: Pathway description and gene discovery for production of next-generation biofuels. BMC Genomics 12: 148. Published online 2011 March 14. doi: 10.1186/1471-2164-12-148.
- Rodriguez-Cabello JC., Reguera J., Girotti A., Alonso M., Testera AM (2005). Developing functionality in elastin-like polymers by increasing their molecular complexity : the power of the genetic engineering approach. Progress in Polymer Science 30: 1119-1145.
- Sainte-Beuve J, De Lattre-Gasquet M, Omont H, Penot E, Laburthe P, De Livonnière H (2000). In : The rubber industry entering a decade of changes : Proceedings of the International Rubber Forum 2000, Antwerp, Belgium, (9-10 November 2000). London : IRSG, p. 103-117.
- Sainte-Beuve J, Vaysse L, Bonfils F (2006). Caoutchouc naturel- Maîtrise de la variabilité. In : Chimie Verte, P Colonna Ed. Lavoisier, 215-235.
- Sanchez-Vioque, R., Bagger, C.L., Larré, C., Guéguen, J (2004). Emulsifying properties of acylated rapeseed (*Brassica napus L.*) peptides. Journal of Colloid and Interface Sci. 271 (1): 220-226.
- Sanford K., Kumar M (2005). New proteins in a material world. Current Opinion in Biotechnology 16: 416-421.
- Sato K, Suzuki R, Nishikubo N, Takenouchi S, Ito S, Nakano Y, Nakaba S, Sano Y, Funada R, Kajita S, Kitano H, Katayama Y (2010). Isolation of a novel cell wall architecture mutant of rice with defective Arabidopsis COBL4 ortholog BC1 required for regulated deposition of secondary cell wall components. Planta. 232(1): 257-270.
- Scheller J. Gührs K.H., Grosse F., Conrad U (2001). Production of spider silk proteins in tobacco and potato. Nature Biotechnology 19: 573-577.
- Sibout R, Eudes A, Mouille G, Pollet B, Lapierre C, Jouanin L and Séguin A (2005). Cinnamyl Alcohol Dehydrogenase and-D Are the Primary Genes Involved in Lignin Biosynthesis in the Floral Stem of Arabidopsis. The Plant Cell 17: 2059-2076.
- Singh SP, Zhou X-R, Liu Q, Stymne S. and Green A.G (2005). Metabolic engineering of new fatty acids in plants. Current Opinion in Plant Biology 8: 197-203.
- Smith AM (2001). The biosynthesis of starch granules. Biomacromolecules. 2(2): 335-341.
- Strobel GA, Knighton B, Katreen K, Ren Y, Livinghouse T, Griffin M, Spakowicz D and Sears J (2008). The production of myco-diesel hydrocarbons and their derivatives by the endophytic fungus *Gliocladium roseum* (NRRL 50072). Microbiology, 154: 3319-3328.
- Takaiwa F, Takagi H, Hirose S, Wakasa Y (2007). Endosperm tissue is good production platform for artificial recombinant proteins in transgenic rice. Plant Biotechnology Journal 5: 84-92.
- Tatham AS., Shewry PP (2000). Elastomeric protéins: biological roles, structures and mechanisms. Trends in Biological Science 25: 567-571.
- Thévenin J, Pollet B, Letarnec B, Saulnier L, Gissot L, Maia-Grondard A, Lapierre C, Jouanin L (2011). The simultaneous repression of CCR and CAD, two enzymes of the lignin biosynthetic pathway, results in sterility and dwarfism in *Arabidopsis thaliana*. Mol. Plant. (1): 70-82.
- Tomani P, (2010) The Linoboost process, Cellulose Chem. Technol., 44 (1-3), 53-58.
- Usine pilote du PROJET FUTUROL : une étape décisive pour le bioéthanol de 2e génération soutenue par l'Inra (2011) Site web, Matière et Energie.
- Van Beilen JB. et Poirier Y. (2007). Establishment of new crops for the production of natural rubber. Trends Biotechnol. 25 : 522-529.
- Viroben G, Arbot J, Mouloungui Z, Guéguen J (2000). Preparation and characterization of films from pea protein. J. Agric. & Food Chem., 48, (4): 1064-1069.
- Voelker SL, Lachenbruch B, Meinzer FC, Jourdes M, Ki C, Patten AM, et al. (2010). Antisense down-regulation of 4CL expression alters lignification, tree growth, and saccharification potential of field-grown poplar. Plant Physiol. 154: 874-886.
- Wahler D, Schulze-Gronover C, Richter C, Foucu F, Twyman RM, Moerschbacher B, Fischer R, Muth J, Prüfer D (2009). Polyphenoloxidase Silencing Affects Latex Coagulation in Taraxacum Species. Plant Physiol. 151(1): 334-346.
- Xie W, McMahan C.M., Degraw A.J., Distefano M.D., Cornish K., Whalen M.C., Shintani D.K. (2008). Initiation of rubber biosynthesis : *In vitro* comparisons of benzophenone-modified diphosphate analogues in three rubber-producing species. Phytochemistry 69 : 2539- 2545.

- Yang J, Barr LA, Fahnenstock SR, Liu Z (2005) .High yield recombinant silk-like protein production in transgenic plants through protein targeting. *Transgenic Research* 14: 313-324.
- Yao Y, Thompson DB, and Guiltinan MJ (2004). Maize Starch-Branching Enzyme Isoforms and Amylopectin Structure. In the Absence of Starch-Branching Enzyme IIb, the Further Absence of Starch-Branching Enzyme Ia Leads to Increased Branching¹. *Plant Physiol.* 136: 3515-3523.
- Zeeman SC, Kossmann J, Smith AM (2010). Starch: its metabolism, evolution, and biotechnological modification in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61: 209-34.
- Zhenle Yang and John B. Ohlrogge (2009). Turnover of Fatty Acids during Natural Senescence of Arabidopsis, *Brachypodium*, and Switchgrass and in Arabidopsis β -Oxidation Mutants. *Plant Physiol.* 150(4): 1981-1989.