



Point d'avancement du projet ALPO

Voortgangsoverzicht van het ALPO-project

Vers une méthode rapide de profilage chimique d'extraits issus de microalgues

Bien que les micro-algues soient clairement identifiées comme une source de carbone renouvelable pertinente dans des domaines liés à l'énergie ou l'agroalimentaire, cette biomasse présente également un potentiel important pour le développement de produits à haute valeur ajoutée dans des domaines tels que les matériaux fonctionnels, la cosmétique ou encore l'industrie pharmaceutique. C'est l'espace chimique accessible après extraction/fractionnement/purification qui est la source d'innovation. Il apparaît alors que l'identification des métabolites spécialisés biosynthétisés par les microalgues est un point stratégique pour imaginer le développement d'une filière de bioraffinerie soutenable d'un point de vue économique et environnemental.

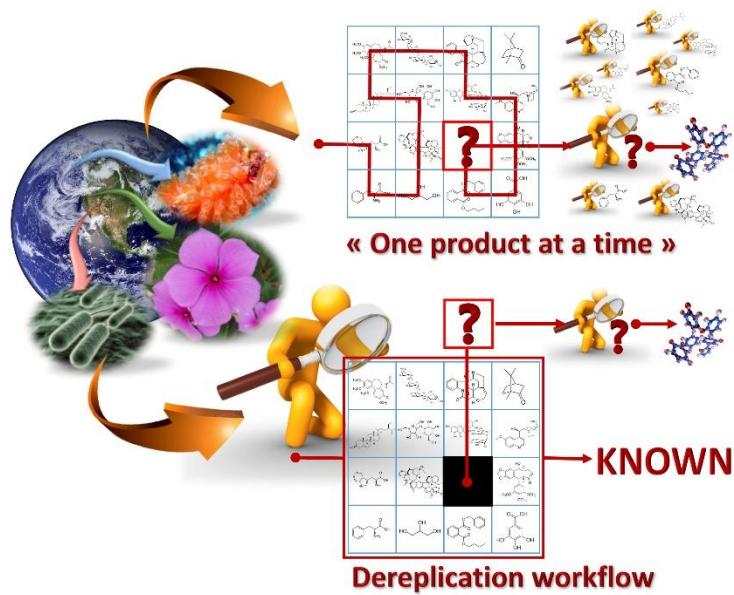


Figure 1 : Processus schématique illustrant la démarche de déréplication

C'est dans ce cadre qu'une méthode de déréplication * (Figure 1) a été utilisée pour le profilage chimique rapide d'extraits issus de micro-algues. Cette méthode appelée CaraMel (Caractérisation des Mélanges, Figure 2) développée à l'Institut de Chimie Moléculaire de Reims (UMR CNRS 7312, Université de Reims Champagne-Ardenne), vise à accélérer l'étape d'identification des composés constitutifs d'extraits de plantes (terrestres ou marines), de cultures cellulaires végétales ou de micro-organismes grâce à de nouvelles combinaisons i) d'outils chromatographiques (Chromatographie de Partage Centrifuge pour la génération d'une série de fractions chimiquement simplifiées), ii) analytiques (acquisition des données spectroscopique RMN 13C sur les fractions obtenues, alignement des données) et iii) statistiques (classification non supervisée de type classification hiérarchique ascendante), la proposition de structure chimique étant réalisée par interrogation d'une base de données développée au sein de l'équipe. Ces développements récents ont été appliqués pour répondre à des problématiques du secteur cosmétique et

sont aujourd’hui utilisés dans le cadre du profilage chimique d’extraits de micro-algues utilisées dans le cadre du projet ALPO pour réaliser des matériaux biosourcés à partir de la biomasse microalgale. Cette approche originale suscite l’intérêt de plusieurs partenaires privés ou académiques. Enfin, une start-up (NatExplore, <http://nat-explore.com/>) dirigée par le Dr. Jane Hubert (maître de conférences à l’UMR 7312) a été créée et utilise quotidiennement ces résultats issus de la recherche académique.

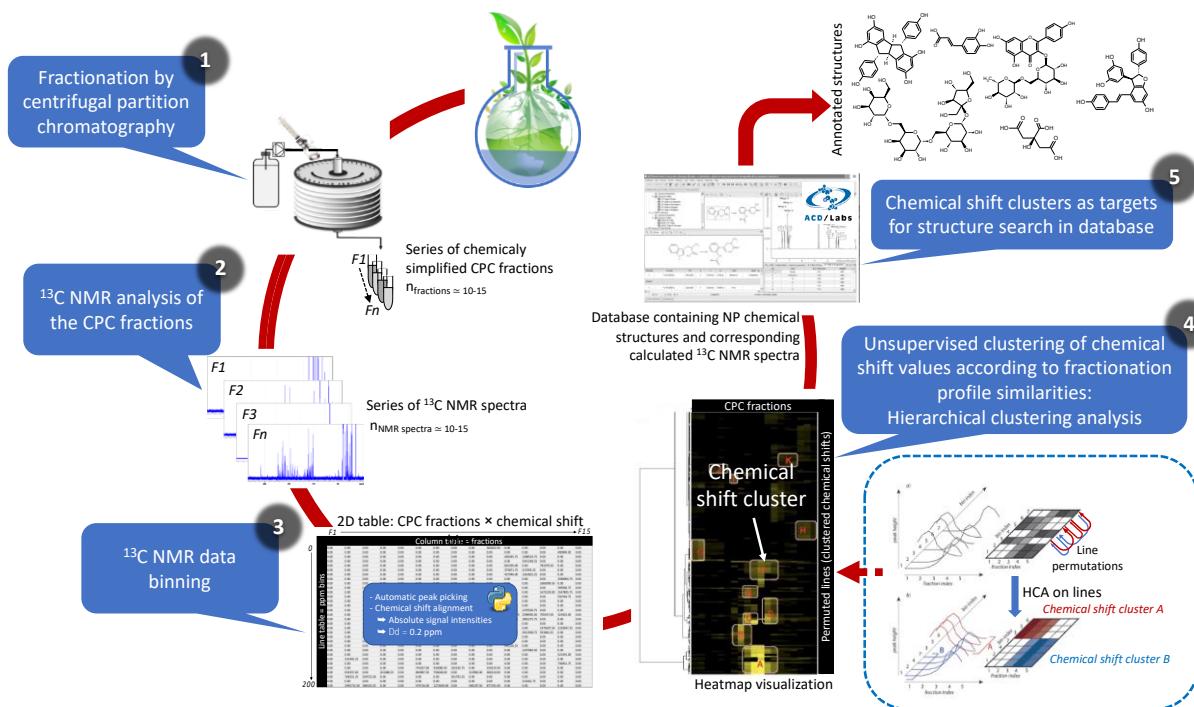


Figure 2 : Schéma illustrant la démarche de déréplication « CaraMel »

Le profilage chimique par les techniques de résonance magnétique nucléaire est parfaitement complémenté par les analyses en spectrométrie de masse. Comme son nom l’indique, cette technique repose sur la détermination de la masse moléculaire des molécules inconnues, donnée spécifique par définition puisque caractéristique de la composition élémentaire des analytes. Par la suite, la structure primaire de la molécule, i.e. l’agencement des atomes entre eux, peut être déterminée par les méthodes de la spectrométrie de masse en tandem. L’association entre la spectrométrie de masse et la chromatographie en phase liquide représente alors une méthode structurale puissante permettant d’identifier des molécules en très faibles concentrations présentes dans des mélanges ou des extraits complexes.

La spectrométrie de masse est largement développée au sein du Département de Chimie de l’Université de Mons et il est tout naturel que les experts en RMN de l’URCA et en MS de l’UMONS travaillent de concert au sein du projet ALPO pour le « Chemical profiling » de la biomasse d’origine micro-algales.

*processus permettant d’identifier le plus tôt possible, dans un mélange complexe (extrait naturel brut), la présence de composés déjà décrits dans la littérature avant même leur isolement physique qui peut être long et coûteux

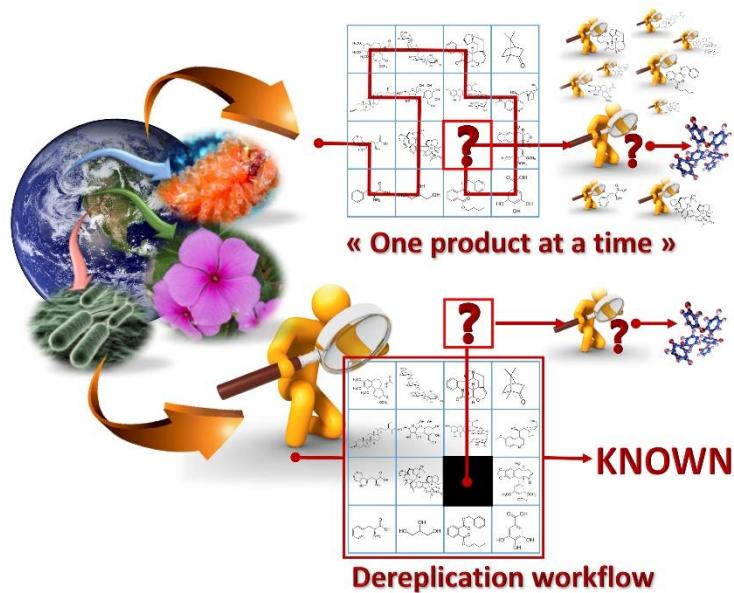
ⁱ J. Hubert, J.-M. Nuzillard, J.-H. Renault, Dereplication strategies in natural product research: How many tools and methodologies behind the same concept?, *Phytochem Rev*, 2015, DOI 10.1007/s11101-015-9448-7

ⁱⁱ J. Hubert, J.-M. Nuzillard, S. Purson, M. Hamzaoui, N. Borie, R. Reynaud, and J.-H. Renault, Identification of natural metabolites in mixture: an original de-replication strategy based on ^{13}C NMR chemical shift pattern recognition, *Anal. Chem.*, 2014, 86, 2955–2962.

ⁱⁱⁱ A. Scandolera, J. Hubert, A. Humeau, C. Lambert, A. De Bizemont, C. Winkel, A. Kaouas, J.-H. Renault, J.-M. Nuzillard, R. Reynaud, GABA and GABA-alanine from the Red Microalgae *Rhodosorus marinus* Exhibit a Significant Neuro-soothing Activity through Inhibition of Neuro-inflammation Mediators and Positive Regulation of TRPV1-related Skin Sensitization, *Marine Drugs*, 2018, 16(3):96, DOI: 10.3390/md16030096

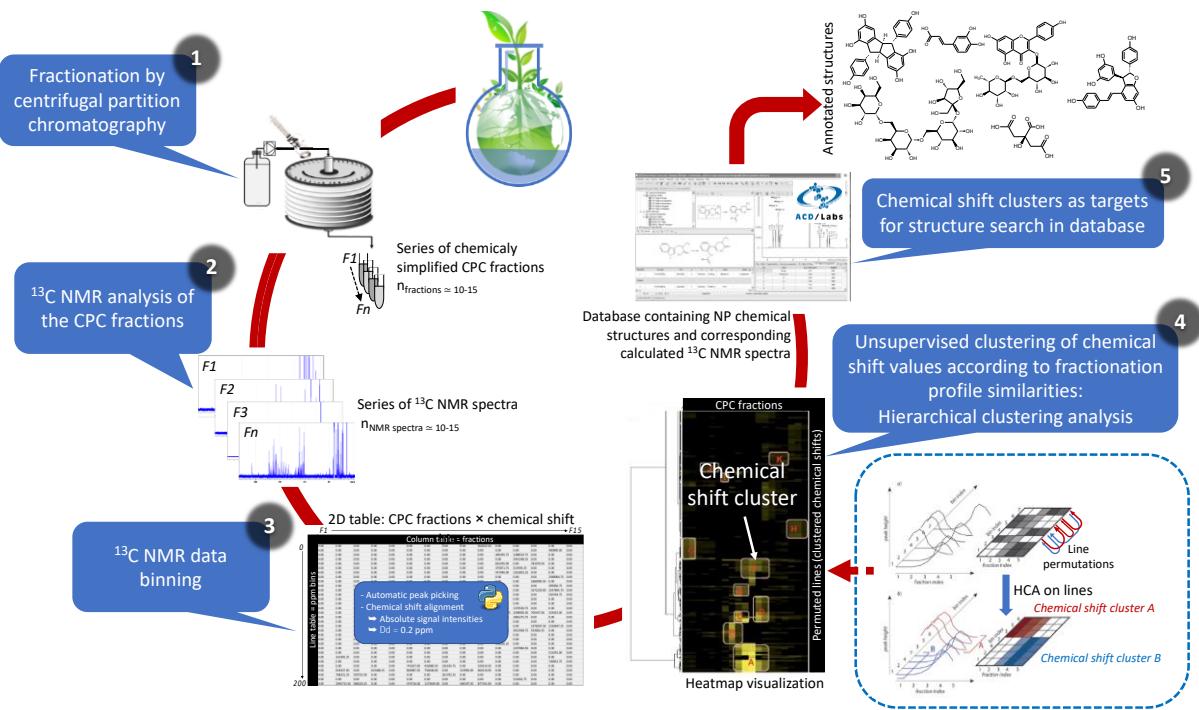
Op weg naar een snelle methode voor chemische profiling van microalgenextracten

Hoewel microalgen duidelijk worden geïdentificeerd als een relevante bron van hernieuwbare koolstof op gebieden die verband houden met energie en agrovoeding, heeft deze biomassa ook een aanzienlijk potentieel voor de ontwikkeling van producten met een hoge toegevoegde waarde op gebieden zoals functionele materialen, cosmetica of de farmaceutische industrie. Het is de toegankelijkheid van het chemisch gedeelte na extractie/fractionering/zuivering die de bron van innovatie is. Het lijkt erop dat de identificatie van gespecialiseerde metabolieten gebiosynthetiseerd door microalgen een strategisch punt is om de ontwikkeling van een bioraffinage-sector voor te stellen die duurzaam is vanuit een economisch en ecologisch oogpunt.



Figuur 1 : Schematisch proces van dereplicatie

Het is in deze context dat een werkwijze dereplication * (figuur 1) werd gebruikt voor de snelle chemische profilering van extracten uit algen. Deze methode genaamd Caramel (Blends karakterisering figuur 2) ontwikkeld door het Molecular Chemistry Instituut Reims (UMR CNRS 7312, University of Reims Champagne-Ardenne), beoogt het versnellen van identificatie van samengestelde verbindingen uit plantenextracten, plantcelkweek of micro-organismen. Dit door een nieuwe combinatie van i) chromatografische gereedschappen (centrifugale partitie chromatografie voor het genereren van een reeks chemisch vereenvoudigde fracties), ii) samenvatting (^{13}C NMR spectroscopische verkrijging van gegevens over de fracties verkregen data alignment) en iii) statistieken (ongecontroleerde classificatietype hiërarchische cluster), waarbij de chemische structuur voorgesteld wordt door ondervraging van een databank ontwikkeld door het gedragen team. Deze recente ontwikkelingen zijn toegepast om problemen in de sector cosmetische producten aan te pakken en worden nu gebruikt in de chemische profilering van microalgen extracten in het ALPO project om bio-based materialen uit microalgaen biomassa te extraheren. Deze originele aanpak wekt de interesse van verschillende particuliere en academische partners. Tot slot, is een start-up (NatExplore, <http://nat-explore.com/>) onder leiding van Dr. Jane Hubert (docent aan de UMR 7312) opgericht en worden deze resultaten uit wetenschappelijk onderzoek dagelijks gebruikt.



Figuur 2 : Diagram van het dereplicatieproces "CarAMEl"

Chemische profilering door nucleaire magnetische resonantietechnieken wordt aangevuld door massaspectrometrieanalyse. Zoals de naam aangeeft, is deze techniek gebaseerd op de bepaling van de molecuulmassa van onbekende moleculen, specifiek gegeven per definitie, gezien de karakterisatie van de elementaire compositie van de analyten. Vervolgens kan de primaire structuur van het molecuul, d.w.z. de rangschikking van atomen met elkaar, worden bepaald door middel van tandem massaspectrometrische werkwijzen. De associatie tussen massaspectrometrie en vloeistofchromatografie vertegenwoordigt een krachtige structurele methode voor het identificeren van moleculen in zeer lage concentraties die aanwezig zijn in mengsels of complexe extracten.

Massaspectrometrie is op grote schaal ontwikkeld in de afdeling chemie van de universiteit van Bergen en het is logisch dat de URCA NMR-experts en UMONS MS samenwerken in het ALPO-project voor de "Chemische profilering" van de biomassa van micro-algen oorsprong.

*proces om zo vroeg mogelijk te de aanwezigheid van verbindingen, reeds beschreven in literatuur, te identificeren, in een complex mengsel (ruw natuurlijk extract).

ⁱ J. Hubert, J.-M. Nuzillard, J.-H. Renault, *Dereplication strategies in natural product research: How many tools and methodologies behind the same concept?*, Phytochem Rev, 2015, DOI 10.1007/s11101-015-9448-7

ⁱⁱ J. Hubert, J.-M. Nuzillard, S. Purson, M. Hamzaoui, N. Borie, R. Reynaud, and J.-H. Renault, *Identification of natural metabolites in mixture: an original de-replication strategy based on 13C NMR chemical shift pattern recognition*, Anal. Chem., 2014, 86, 2955-2962.

ⁱⁱⁱ A. Scandolera, J. Hubert, A. Humeau, C. Lambert, A. De Bizemont, C. Winkel, A. Kaouas, J.-H. Renault, J.-M. Nuzillard, R. Reynaud, *GABA and GABA-alanine from the Red Microalgae Rhodosorus marinus Exhibit a Significant Neuro-soothing Activity through Inhibition of Neuro-inflammation Mediators and Positive Regulation of TRPV1-related Skin Sensitization*, Marine Drugs, 2018, 16(3):96, DOI: 10.3390/md16030096

Prochaines étapes/ Volgende stappen

Les outils mis en place permettent actuellement d'analyser l'impact des opérations unitaires de fractionnement sur le profil chimique des extraits. Il est aujourd'hui admis que l'utilisation combinée des données spectrales issues de la RMN et de la masse constitue une plus-value importante dans l'étape de déréplication et de d'élucidation structurale *de novo**. Le travail à venir consistera donc à collecter à l'UMONS les données issues de la masse sur les extraits obtenus par extraction solide-liquide, extraction CO₂ super-critique, chromatographie de partage centrifuge puis à développer des outils permettant de les combiner

avec les données spectrales précédemment obtenues par RMN pour une caractérisation chimique optimale des extraits.

De tools die zijn geïmplementeerd, maken het momenteel mogelijk om de impact van unit fractionering op het chemische profiel van de extracten te analyseren. Het is nu geaccepteerd dat het gecombineerd gebruik van spectrale gegevens van NMR en massa een belangrijke toegevoegde waarde heeft in de novo* dereplication en structurele ophelderingsstap. Het toekomstige werk zal daarom bestaan uit het verzamelen van de UMons-gegevens uit de massa van de extracten verkregen door : vaste stof-vloeistofextractie, superkritische CO₂-extractie, centrifugale partitiechromatografie. En vervolgens om tools te ontwikkelen om deze te combineren met de spectrale gegevens verkregen door NMR ter optimale chemische karakterisering van de extracten.

* J.-L. Wolfender J.-M. Nuzillard J. Van Der Hooft J.-H. Renault, S. Bertrand, Accelerating Metabolite Identification in Natural Product Research: Toward an Ideal Combination of Liquid Chromatography–High-Resolution Tandem Mass Spectrometry and NMR Profiling, in *Silico Databases, and Chemometrics. Anal. Chem.* 2018, 91, 704-742.

Plus d'info - Meer info

<http://www.gotos3.eu/fr/projecten/alpo>

<http://www.alpo-interreg.eu/>

Newsletter N°3- Nieuwsbrief N°3

<http://www.gotos3.eu/fr/nieuws/point-davancement-du-projet-alpo>

Rejoignez-nous sur researchgate- Connect op researchgate

<https://www.researchgate.net/project/Nouveaux-Materiaux-Polymeres-issus-de-la-Biomasse-Microalgue-Nieuwe-Polymeermaterialen-via-Bouwstenen-uit-Microalgen-New-Polymeric-Materials-from-microalgal-biomass>

Chef de file
Projectleider



Opérateurs
Partners



Opérateurs associés
Geassocieerde partners



Cofinanceurs
Medefinanciers

