

Production de triacylglycérols microalgaux sous stress azoté assistée par filtration acoustique

Anne-Lise HANTSON, Claire DELORT, Guillaume DELFAU—BONNET

Service de Génie des Procédés chimiques et biochimiques, Polytech-UMONS, 56 rue de l'épargne - Mons, Belgique.

De nombreux composés à haute valeur ajoutée peuvent être produits de manière économiquement viable par des microorganismes photosynthétiques pro- et eucaryotes (acides gras polyinsaturés (PUFA), des antioxydants, des pigments voire des composés antifongiques/viraux/microbiens). Les microalgues se présentent comme une ressource intéressante à la fois pour des usages biopharmaceutiques et agro-industriels, voire bioénergétiques. La majorité de la biomasse microalgale actuelle est industriellement produite en Asie dans des systèmes ouverts, bons marchés, demandant des surfaces importantes, peu contrôlés et enclin aux contaminations. L'exploitation de photobioréacteurs (PBR) fermés, bien que coûteuses, présentent divers avantages, comme le maintien de l'asepsie, le contrôle précis des paramètres de culture et l'obtention de concentrations élevées en biomasse.

De nombreuses études sur les microalgues démontrent que divers stress induisent l'accumulation de composés biochimiques intéressants (polysaccharides, lipides, alcanoates, hydrogène, ...). Dans le domaine de la production de lipides, certaines souches microalgales ont été identifiées pour leur forte teneur en triacylglycérols ou pour leur capacité à les accumuler sous des contraintes telles que la privation d'azote, une salinité élevée ou un faible éclaircissement. Par exemple, la limitation en azote sur des souches dulcicoles comme *C. sorokiniana* ou *S. dimorphus* peut accroître la teneur en lipides de plus de 200 %. Ces conditions de stress favorisant l'accumulation induisent, cependant, une diminution de la cinétique de croissance des microorganismes. Le procédé industriel mis en œuvre devra être idéalement séquentiel et proposer une première phase « de croissance » et une seconde phase « d'accumulation » ; conduisant souvent à un procédé discontinu. La recherche menée ici propose de développer un procédé continu en associant deux PBR via un filtre acoustique permettant de combiner ces 2 phases de production et facilitant la mise en œuvre en limitant l'emploi de composés chimiques complémentaires pour la récolte, ou les conditions générant des stress mécaniques au niveau des cellules.

Le principe de séparation est basé sur une agrégation lâche des cellules induite acoustiquement suivie d'une sédimentation. Contrairement aux autres techniques de séparation cellulaire, les ondes acoustiques créent un maillage « virtuel » permettant l'agrégation des cellules sans contact, sans encrassement et sans transfert des cellules hors du procédé et qui permet de nombreuses heures de fonctionnement continu. Quelques applications de la sonoperfusion peuvent être citées : renouvellement du milieu de culture, élimination des composés inhibiteurs et de débris, récolte des composés exocellulaires, opération de concentration des cellules et récolte des cellules. Son utilisation conduit à un processus robuste avec une relative simplicité d'utilisation et un faible coût de fonctionnement, malgré un coût d'achat relativement élevé et une certaine complexité à optimiser.

L'adaptation de cette dernière à la culture de microalgues a été menée dans une première phase en tentant d'estimer l'impact de la morphologie des cellules des microalgues sur l'efficacité de rétention en réalisant des essais sur base de la configuration de la sonoperfusion présentée à la figure 1. Une efficacité de rétention des cellules de l'ordre de 75% a été obtenue pour *C. sorokiniana*, *S. dimorphus*, *S. obliquus*, *L. platensis* et peut atteindre 95% pour *H. pluvialis*. Malheureusement, aucune corrélation n'a été établie entre la morphologie des cellules et l'efficacité de rétention. Cette dernière est aussi

influencée par la concentration initiale de la suspension. Parmi les autres paramètres opératoires, le volume de réinjection, le débit et la durée des cycles de rétention sont facilement optimisés.

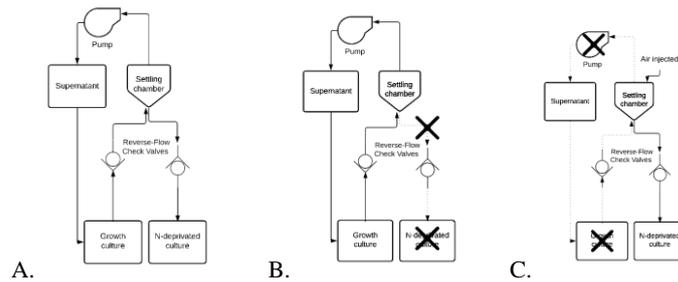


Figure 1 : Configuration expérimentale du filtre acoustique pour l'estimation de l'efficacité (A. installation de la sonoperfusion, B. circulation du débit lors du cycle de rétention : le clapet anti-retour vers la culture privée de N fermé, C. circulation du débit pendant le backflush : le clapet anti-retour vers la culture privée de N ouvert)

La mise en œuvre du procédé séquentiel permettant la production de biomasse riche en lipides a été réalisée en menant des cultures de *C. sorokiniana* or *S. dimorphus* dans les 2 photobioréacteurs à panneaux plats (Figure 2), l'un présentant des conditions idéales (3N-BBM) de croissance, l'autre utilisant un milieu de culture dépourvu de source d'azote (0N-BBM).

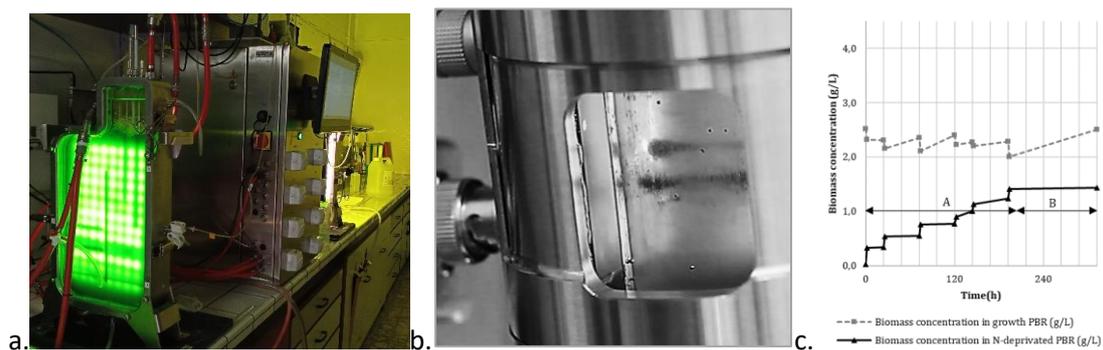


Figure 2 : a. Installation des 2 PBR plats : PBR de gauche en condition optimale de croissance, PBR de droite en condition limitante d'azote ; b. Observation du front d'agrégation des microalgues dans le filtre acoustique ; c. Évolution de la concentration de la biomasse dans les PBR1 et PBR2 au cours de la culture en deux étapes (phase A : phase de transfert régulier, phase B : phase de repos - accumulation)

Conclusion

La mise en œuvre de la sonoperfusion sur les PBR à panneaux plats a permis un transfert efficace sans stress de 20mL de suspension microalgale avec une concentration de biomasse jusqu'à 38 ± 7 g/L. Le peu de milieu résiduel riche en azote injecté avec les cellules dans le milieu dépourvu en N est rapidement consommé et permet une transition douce vers la phase de stress. Les essais de privation d'azote dans cette configuration ont démontré pour *Chlorella sorokiniana* une augmentation de la concentration en triacylglycerols dans la biomasse de 212 ± 3 mg dans le PBR de croissance à 332 ± 9 mg à la fin de la période de stress azoté. Cette technologie montre un potentiel intéressant pour la production « continue » de lipides microalgaux de type PUFA sous stress azoté dans des conditions contrôlées optimales.