



**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique**

**Université Larbi Ben Mhidi Oum El Bouaghi**

**Faculté Des Sciences Exactes et des Sciences de La Nature et de la Vie**

**Département des Sciences de La Nature et de la Vie**

N °d'ordre...

N ° de série.....

**Mémoire**

**Présenté pour l'obtention du diplôme de**

**MASTER**

**Filière : Biotechnologie Végétale**

## **Effet du milieu de culture sur la croissance des microalgues**

**Présenté par :**

**Amouri Nozha**

**et**

**Bouguelmouna Maissa**

**Devant le jury :**

**Président : Dr. Khammar Hichem**

**Université d'Oum el Bouaghi**

**Examineur : Dr. Malki Samira**

**Université d'Oum el Bouaghi**

**Rapporteur : Pr. Grama Borhane Samir**

**Université d'Oum el Bouaghi**

**Année universitaire : 2022-2023**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# *Remerciement*

*Tout d'abord, nous remercions Dieu Tout-Puissant qui nous a donné la force, le courage, la Volonté, la patience et les moyens pour accomplir ce travail.*

*En second lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Monsieur Grama Borhane Samir ; Son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.*

*Mes sincères remerciements s'adressent également à Dr Khammar Hichem pour nos avoir fait l'honneur de présider notre jury.*

*Dr Malkí Samira Pour avoir accepté d'examiner mon travail.*

*Nous tenons à exprimer nos gratitudees à tous les enseignants du département biologie pour leur aide et orientations durant notre cursus. En ces moments mémorables où notre travail tire à sa fin nous voudrions remercier tous ceux qui ont contribué à la réussite de ce mémoire de fin d'étude.*

*Enfin, nous adressons nos remerciements à tous ceux qui ont contribué directement ou Indirectement à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je remercie Dieu tout puissant de m'avoir aidé pour achever ce modeste travail que je dédie :*

*A mes chers-parents ; Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études, je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Vos prières, vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver du mal, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce Travail , mes frères et sœurs: Nor-el houda , Chahínaze, Rímah , Nassíb pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.*

## *A ma grand-mère*

*Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous préserver et accordez santé, longue vie et bonheur.*

## *A ma chère binôme MAISSA*

*A mes chères amies : Nassír Gouamí et Housseyn Djebailía*

*À tous mes amies et mes collègues avec lesquels j'ai passé des bons moments à l'université du Larbí Ben m'hidi .*

**NOZHA**

# *Dédicace*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous Les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la Reconnaissance... Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce modeste Travail...*

## *À mes chers parents*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour Eternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti Pour mon instruction et mon bien être. Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant Formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en Acquitterai jamais assez Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue Vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

## *À mon cher mari*

*Mon conseiller, et ami fidèle qui m'a assisté dans les moments Difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des Epreuves pénibles...*

*À mes chers adorables sœurs et frère Sif Eddine, Cillaï, Mariam, et Maya*

*À ma binôme Nozha et a toute ma promotion 2023 Master 2 Biotechnologies végétal Que j'ai passé avec des moments inoubliables malgré la courte durée que je les ai rencontré.*

**MAISSA**

## **Résumé**

La biotechnologie des microalgues a pris une importance considérable au cours des dernières décennies. Les applications vont de la production de biomasse simple pour l'alimentation humaine et animale à des produits utiles pour les applications écologiques. Les espèces de microalgues sont des sources de différents composés bioactifs et sont donc utilisées dans une variété d'applications commerciales. La valeur marchande de ces espèces repose actuellement sur leur potentiel en tant que source de composés bioactifs et fonctionnels de grande valeur, tels que les pigments (par exemple, les caroténoïdes tels que le b-carotène et la fucoxanthine), les antioxydants (par exemple, astaxanthine, fucoxanthine), des acides gras oméga-3 polyinsaturés à longue chaîne (par exemple, l'acide docosahexaénoïque (DHA), l'acide eicosapentaénoïque (EPA)). Notre étude avait pour objectifs de faire une synthèse sur l'intérêt biotechnologique de ces microorganismes notamment l'effet du milieu de culture sur la croissance de ces microalgues. Les applications biotechnologiques actuellement de ces microorganismes font l'objet d'un intérêt sans précédent dans le monde entier. Pour la plupart de ces applications, le marché est encore en développement et l'utilisation biotechnologique de ces microalgues va s'étendre dans de nouveaux domaines.

**Mots clés :** Microalgue, Biotechnologie, Composés bioactifs, Biomasse.

## **Abstract**

Microalgae biotechnology has gained considerable importance over the last few decades. Applications range from the production of simple biomass for food and feed to useful products for ecological applications. Microalgae species are sources of various bioactive compounds and are therefore used in a variety of commercial applications. The market value of these species currently lies in their potential as a source of valuable bioactive and functional compounds, such as pigments (e.g. carotenoids such as b-carotene and fucoxanthin), antioxidants (e.g. astaxanthin, fucoxanthin), long-chain polyunsaturated omega-3 fatty acids (e.g. docosahexaenoic acid (DHA), eicosapentaenoic acid (EPA)). The aim of our study was to provide a synthesis of the biotechnological interest of these microorganisms, in particular the effect of the culture medium on the growth of these microalgae. There is currently unprecedented interest worldwide in the biotechnological applications of these microorganisms. For most of these applications, the market is still developing, and the biotechnological use of these microalgae is set to expand into new areas.

**Key words:** Microalgae, Biotechnology, Bioactive compounds, Biomass.

## ملخص

اكتسبت التكنولوجيا الحيوية للطحالب الدقيقة أهمية كبيرة في العقود الماضية. تتراوح التطبيقات من إنتاج الكتلة الحيوية البسيطة للأغذية والأعلاف إلى المنتجات المفيدة للتطبيقات البيئية. أنواع الطحالب الدقيقة هي مصادر مختلفة للمركبات النشطة بيولوجيًا، وبالتالي فهي تستخدم في مجموعة متنوعة من التطبيقات التجارية. تعتمد القيمة السوقية لهذه الأنواع حاليًا على إمكاناتها كمصدر قيم للمركبات الحيوية النشطة بيولوجيًا والوظيفية، مثل الأصباغ (مثل الكاروتينات مثل ب-كاروتين والفوكوكسانثين)، ومضادات الأكسدة (مثل أستازانتين، وفوكوكسانثين)، ومتعدد عدم التشبع طويل السلسلة أحماض هدفث (EPA)، حمض إيكوسابتاينويك (DHA) أو ميغا 3 الدهنية (على سبيل المثال، حمض الدوكوساهيكسانويك). دراستنا إلى تلخيص الفائدة التكنولوجية الحيوية لهذه الكائنات الدقيقة، ولا سيما تأثير وسط الاستزراع على نمو هذه الطحالب الدقيقة. حاليًا، تطبيقات التكنولوجيا الحيوية لهذه الكائنات الدقيقة هي موضوع اهتمام غير مسبوق في جميع أنحاء العالم بالنسبة لمعظم هذه التطبيقات، لا يزال السوق قيد التطوير وسيوسع استخدام التكنولوجيا الحيوية لهذه الطحالب الدقيقة في مناطق جديدة.

**الكلمات المفتاحية:** الطحالب الدقيقة، التكنولوجيا الحيوية، المركبات النشطة بيولوجيًا، الكتلة الحيوية

## Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

<b>1. Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Présentation générale des microalgues</b> .....	<b>3</b>
<b>3. Définition des microalgues</b> .....	<b>3</b>
<b>4. Caractéristiques des microalgues</b> .....	<b>4</b>
<b>5. Classification des microalgues</b> .....	<b>6</b>
• 5.1. Eucaryotes .....	<b>8</b>
○ Les chlorophycées (algues vertes) .....	<b>8</b>
○ Les bacillariophycées (diatomées) .....	<b>9</b>
○ Les Chrysophycées (algues dorées) .....	<b>9</b>
• 5.2. Procaryotes .....	<b>10</b>
○ Les cyanophycées (les algues bleues) .....	<b>10</b>
<b>6. Modes de croissance</b> .....	<b>11</b>
• 6.1. Autotrophe .....	<b>11</b>
• 6.2. Hétérotrophe .....	<b>12</b>
• 6.3. Mixotrophe .....	<b>12</b>
<b>7. Reproduction des microalgues</b> .....	<b>13</b>
<b>8. Les systèmes de cultures des microalgues</b> .....	<b>15</b>
• 8.1. Systèmes ouverts .....	<b>16</b>
• 8.2. Systèmes PBR Fermés .....	<b>18</b>
<b>9. Domaines d'application des microalgues</b> .....	<b>22</b>
• 9.1. Domaine énergétique .....	<b>23</b>
○ Biodiesel .....	<b>23</b>
○ Biohydrogène .....	<b>24</b>
○ Bioéthanol .....	<b>25</b>
○ Biogaz .....	<b>25</b>
• 9.2. Application en cosmétique .....	<b>26</b>
• 9.3. Alimentation humaine .....	<b>27</b>
• 9.4. Alimentation animal .....	<b>27</b>
• 9.5. Application en aquaculture .....	<b>28</b>
• 9.6. Molécules de haute valeur .....	<b>29</b>
○ 9.6.1. Acides gras .....	<b>29</b>
○ 9.6.2. Les pigments .....	<b>30</b>
○ 9.6.3. Les vitamines .....	<b>32</b>
○ 9.6.4. Les polysaccharides .....	<b>32</b>
• 9.7. Traitement des eaux usées .....	<b>32</b>
• 9.8. Bio-atténuation des émissions de CO <sub>2</sub> .....	<b>33</b>
<b>10. Effets de la composition du milieu sur la croissance des microalgues</b> .....	<b>33</b>
• 10.1. Azote .....	<b>34</b>
• 10.2. Le phosphore et le soufre .....	<b>34</b>
• 10.3. Le carbone .....	<b>34</b>
<b>11. Paramètres du développement des microalgues</b> .....	<b>35</b>
• 11.1. Température .....	<b>35</b>
• 11.2. Lumière .....	<b>36</b>
• 10.3. pH .....	<b>37</b>

• 10.4. Salinité.....	37
<b>12. Conclusion.....</b>	<b>38</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>39</b>

# **Introduction**

## **1. Introduction**

Les algues sont un groupe d'organismes qui vivent dans presque tous les habitats. Si la plupart d'entre elles se trouvent de préférence dans les milieux aquatiques, elles peuvent également coloniser d'autres espaces, notamment les déserts, les eaux volcaniques, les sols très acides et gelés. Ils constituent l'élément de base des chaînes alimentaires dans les écosystèmes de la planète. En outre, ils sont les principaux producteurs d'oxygène et contribuent à environ 40 % de la photosynthèse mondiale (Barsanti et Gaultieri, 2005).

Les algues représentent une part importante de la biomasse végétale de la terre et sont utilisées depuis des millénaires dans les alimentations humaine et animale, comme combustible, ou encore comme engrais. Les algues sont capables de se développer dans une large gamme de conditions, grâce à leur étonnant système d'adaptation ainsi que leur variabilité. De ce fait, on les retrouve dans tous les environnements humides depuis les milieux marins et les eaux douces de surface jusqu'aux milieux extrêmes tels que les milieux acides (algues acidophiles), les milieux fortement salés (algues halophiles) ou encore les eaux profondes jusqu'à 250 m (algues rouges). Parmi les algues, les microalgues présentent un intérêt grandissant dans de nombreux domaines (Villay, 2013).

Les organismes algaux sont des macro-algues ou des microalgues photosynthétiques qui poussent dans des environnements aquatiques. Les macro-algues ou "algues" sont des plantes multicellulaires qui poussent dans l'eau salée ou douce. Elles sont classées en trois grands groupes en fonction de leur pigmentation : (1) les algues brunes (Phaeophyceae) ; (2) les algues rouges (Rhodophyceae) et (3) les algues vertes (Chlorophyceae) (Barsanti et Gaultieri, 2005).

Les microalgues sont présentes dans tous les écosystèmes terrestres existants, non seulement aquatiques mais aussi terrestres, et représentent une grande variété d'espèces vivant dans une large gamme de conditions environnementales. On estime qu'il existe plus de 50 000 espèces, mais seul un nombre limité d'entre elles, environ 30 000, ont été étudiées et analysées. Au cours des dernières décennies, de vastes collections de microalgues ont été créées par des chercheurs de différents pays (Grama et al., 2016).

Les microalgues ont de nombreuses applications. Elles sont actuellement cultivées de manière industrielle pour les industries de la nutrition animale et pour l'alimentation humaine. Elles sont productrices de nombreuses molécules à haute valeur ajoutée (oméga 3, bêta-carotène, antioxydant) utilisées dans les industries pharmaceutiques et cosmétiques. Les microalgues suscitent aujourd'hui un grand intérêt pour la production à grande échelle de biocarburant algal

(biodiesel, biohuile, biohydrogène) (Lucchetti, 2014a). Pour croître, les microalgues ont de nombreux besoins, les facteurs physiques les plus importants sont une source d'énergie, généralement la lumière et une température optimale et les facteurs chimiques sont la concentration disponible en dioxyde de carbone et un apport en macronutriment (azote et phosphate) et en oligo-éléments (Wolfgang, 1994). Les fluctuations des différents facteurs environnementaux, tels que la concentration en nutriments, l'intensité de la lumière, la température ou la salinité, peuvent altérer la vitesse de croissance des organismes photosynthétiques (Person, 2011).

Les pays de la méditerranée qui connaissent des climats plus chauds et dont la température ne descend pas trop en dessous de 15 °C tout au long de l'année. Ce type de climat chaud de la région méditerranéenne peut faciliter la croissance des algues dans un système de bassin ouvert ou fermé. C'est probablement le moyen le plus efficace, le plus économique et le plus approprié pour cultiver la biomasse d'algues.

Les microalgues ont développé des systèmes de défense chimique pour se protéger contre le stress oxydatif causé par le rayonnement UV en produisant divers composés bioactifs, y compris un certain nombre de métabolites secondaires (Kim et al., 2021). De plus, les microalgues présentent divers avantages en tant que source durable de composés bioactifs aux fonctions diverses, en raison de leur taux de croissance rapide, de leur productivité élevée et de leur utilisation de terres non arables (Gramma et al., 2014).

Bien que la production industrielle de microalgues soit déjà établie depuis longtemps, les coûts de production élevés et les contraintes technologiques, ainsi que les lacunes dans la compréhension scientifique de la culture d'algues à grande échelle, limitent la commercialisation de la biomasse en tant que produits à haute valeur ajoutée, à l'exclusion des applications à faible coût à grande échelle telles que le carburant (Barsanti et Gaultieri, 2005).

Notre étude avait pour objectifs de faire une synthèse sur l'intérêt biotechnologique de ces microorganismes. Une revue bibliographique est présentée dans la première partie de ce mémoire, avec une présentation générale des micro-algues, leurs modes de croissance, leurs classifications et les différentes modes de leurs cultures. La deuxième partie décrit les différents domaines d'application des microalgues, et les effets de la composition du milieu sur la croissance des microalgues. Dans la troisième partie une synthèse des différents paramètres du développement des microalgues a été établie et enfin, on termine par une conclusion générale.

# **Les microalgues**

## **2. Présentation générale des microalgues**

Les algues constituent un groupe vaste et diversifié d'organismes simples, généralement autotrophes, allant des formes unicellulaires aux formes pluricellulaires. Elles ont le potentiel de produire des quantités de biomasse et de lipides par hectare considérablement plus importantes que n'importe quel type d'organisme terrestre (Barsanti et Gaultieri, 2005). Comme son nom l'indique, les microalgues sont des organismes microscopiques, non visibles à l'œil nu. Leur taille est de l'ordre de quelques micromètres. Leur existence est révélée lors de leurs proliférations massives (blooms) dues à des conditions favorables formant parfois des " eaux colorées " en rouge, brun ou vert (Person, 2011).

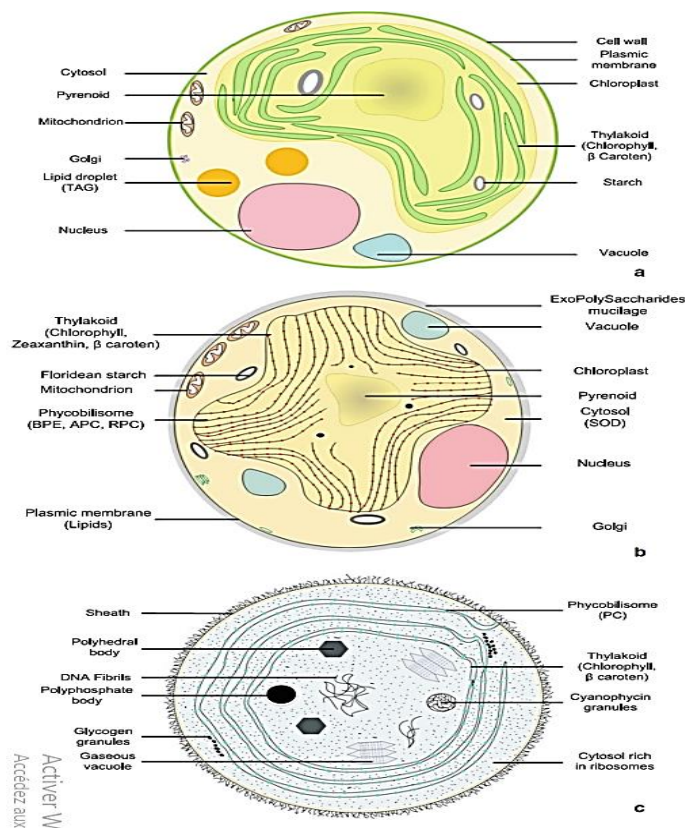
Une microalgue est un organisme unicellulaire et eucaryote délimitée par une membrane plasmique, qui contient au sein de son cytoplasme de nombreux organites nécessaires à son fonctionnement et à son métabolisme: chloroplastes, amyloplastes, oléoplastes, mitochondries et un noyau entouré de son enveloppe. Les microalgues sont dépourvues de racines, de tige et de feuilles, mais elles possèdent de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments accessoires pour réaliser la photosynthèse. Au cours de leur évolution, celles-ci se sont habituées à des conditions environnementales variées (océans, eaux douces, eaux saumâtres) et elles colonisent aujourd'hui la quasi-totalité de la surface terrestre puisqu'on en trouve même dans des environnements hostiles à la vie tels que les déserts ou les glaciers (Taleb, 2015) .

## **3. Définition des microalgues**

Les microalgues sont des organismes unicellulaires photosynthétiques, à la base de la chaîne alimentaire en milieu aquatique. De par leur extraordinaire biodiversité – de 40000 à 70 000 espèces – et leur grande faculté d'adaptation, elles sont présentes sur l'ensemble des surfaces du globe : des océans (soit  $\frac{2}{3}$  de la surface terrestre) aux glaces arctiques, en passant par les lacs hyper-salés, les neiges éternelles, les forêts humides (Gaël and Bruno, 2014). Les microalgues présentent une grande diversité morphologique et des caractéristiques biochimiques intéressantes qui leur confèrent un grand nombre d'applications à l'échelle scientifique et industrielle (Filali, 2012).

Les microalgues sont principalement photoautotrophes, c'est-à-dire qu'elles utilisent la lumière comme source d'énergie et de CO<sub>2</sub> inorganique ou de bicarbonate comme source de carbone. Mais ils peuvent aussi être hétérotrophe ou mixotrophe. Dans le développement récent de la culture des algues, celles-ci ne sont pas limitées au seul mode de culture photoautotrophe, dans lequel elles ne peuvent utiliser que le carbone inorganique (CO<sub>2</sub>) et non le carbone

organique pour améliorer leur croissance en utilisant la double voie de la photosynthèse et de la phosphorylation oxydative. Ainsi, une nouvelle stratégie de culture des microalgues pour les cultiver de manière mixotrophe est très importante pour éliminer les contraintes économiques et leur exploitation efficace afin d'obtenir une biomasse plus élevée (Barsanti et Gaultieri, 2005).



**Figure 1** : Ultrastructure de microalgues, cellules de microalgues : verte (a) rouge (b) et cyanobactérie (c) (Pignolet et al., 2013).

#### 4. Caractéristiques des microalgues

Ces microorganismes synthétisent, par le biais de la photosynthèse, de l'oxygène et des métabolites organiques primaires tels que les glucides, les lipides et les protéines. Du point de vue structure cellulaire, la microalgue présente un noyau et une membrane plasmique contenant des organites essentiels à son fonctionnement tels que les chloroplastes, les amyloplastes, les oléoplastes et les mitochondries.

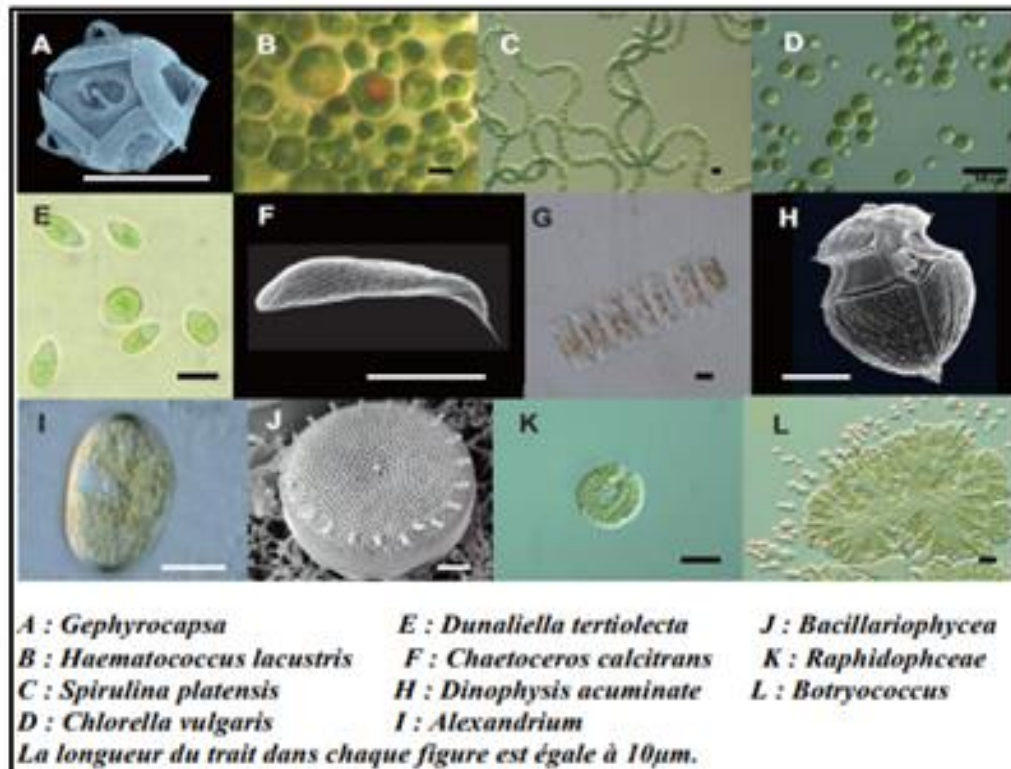
Elle contient trois principaux types de pigments qui sont les chlorophylles, les caroténoïdes et les phicobiliprotéines. Les microalgues présentent des formes variables :

souvent sphériques (porphyridium), en forme de croissant (clostridium), de spirale (Arthrospira), de gouttelette (chlamydomonas) et même d'étoile (Staurastrum) (Person, 2011).

Les microalgues sont des organismes unicellulaires ou pluricellulaires qui se distinguent par certaines caractéristiques spécifiques. Parmi les caractéristiques importantes des microalgues :

- Taille : les microalgues sont généralement de petite taille, mesurant de quelques micromètres à quelques dizaines de micromètres. Certaines espèces peuvent toutefois atteindre une taille plus importante.
- Forme : les microalgues peuvent présenter une grande variété de formes, allant des cellules sphériques aux cellules filamenteuses ou en forme de disque. Certaines espèces peuvent également former des colonies multicellulaires.
- Pigmentation : les microalgues contiennent des pigments photosynthétiques tels que la chlorophylle, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines. Ces pigments leur permettent de capturer la lumière solaire et de réaliser la photosynthèse.
- Habitat : les microalgues se trouvent dans une grande diversité d'environnements aquatiques, y compris les océans, les lacs, les étangs, les rivières et les marais. Certaines espèces peuvent également se développer dans des environnements extrêmes, tels que les sources thermales ou les déserts.
- Nutrition : les microalgues sont autotrophes, ce qui signifie qu'elles sont capables de produire leur propre nourriture par photosynthèse. Elles utilisent la lumière solaire pour convertir le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) en matière organique et libèrent de l'oxygène dans le processus.
- Croissance rapide : les microalgues ont un taux de croissance rapide, certaines espèces pouvant se diviser toutes les quelques heures. Cette capacité de croissance rapide les rend intéressantes pour des applications telles que la production de biomasse, les biocarburants et la bioremédiation.
- Biodiversité : les microalgues sont extrêmement diverses, avec des milliers d'espèces identifiées à ce jour. Elles appartiennent à différentes divisions taxonomiques, telles que les Chlorophyta (algues vertes), les Bacillariophyta (diatomées), les Cyanobacteria (algues bleu-vert) et les Dinoflagellata (dinoflagellés), parmi d'autres.
- Adaptabilité : les microalgues ont une grande capacité d'adaptation à des conditions environnementales variables, telles que la température, la salinité, la luminosité et la

disponibilité des nutriments. Elles peuvent également survivre dans des conditions extrêmes, telles que des niveaux élevés de radiation solaire ou de métaux lourds (Person, 2011).



**Figure 2 :** Diversité morphologique des microalgues (Sumi, 2009).

Du point de vue nutrition, les microalgues sont majoritairement «photoautotrophes » mais elles peuvent être également «hétérotrophes » ou « mixotrophes ». Un métabolisme autotrophe se traduit par l'utilisation d'une source de carbone inorganique comme le dioxyde de carbone ou le bicarbonate tandis que le métabolisme hétérotrophe est caractérisé par une consommation de carbone organique comme source de carbone pour leur développement; les mixotrophes utilisent les deux types de source de carbone (Filali, 2012) .

## 5. Classification des microalgues

Les microalgues sont extrêmement diverses et peuvent appartenir à différentes divisions taxonomiques, telles que les Chlorophyta (algues vertes), les Bacillariophyta (diatomées), les Cyanobacteria (algues bleu-vert) et les Dinoflagellata (dinoflagellés), pour n'en citer que quelques-unes (Barsanti et Gaultieri, 2005).

La classification des microalgues évolue au fil du temps. Traditionnellement, les algues ont été classées selon leur couleur et cette caractéristique continue d'avoir une certaine

importance. Les systèmes actuels de classification des algues sont basés sur les principaux critères suivants : types de pigments, nature chimique des produits de stockage et constituants de la paroi cellulaire. Des critères supplémentaires prennent en considération les caractères cytologiques et morphologiques suivants : présence de cellules flagellées, structure des flagelles, schéma et voie de division nucléaire et cellulaire, présence d'une enveloppe de réticulum endoplasmique autour du chloroplaste, et connexion possible entre le réticulum endoplasmique et la membrane nucléaire (Person, 2011).

Le premier groupe comprend les algues procaryotes : Cyanobactéries et Prochlorophytes. Les autres groupes sont classés en fonction de l'évolution du chloroplaste et comprennent les algues eucaryotes, qui ont probablement acquis le chloroplaste au cours de différents événements évolutifs. Le deuxième groupe, qui comprend Glaucophyta, Rhodophyta et Chlorophyta, a le chloroplaste entouré uniquement de deux membranes chloroplastiques. Le troisième et le quatrième groupe ont le chloroplaste entouré respectivement par une (Dinophyta et Euglenophyta) ou deux membranes supplémentaires du réticulum endoplasmique (Cryptophyta, Chrysophyta, Prymnesiophyta, Bacillariophyta, Xanthophyta, Eustigmatophyta, Raphidophyta et Phaeophyta) (Richmond, 2004).

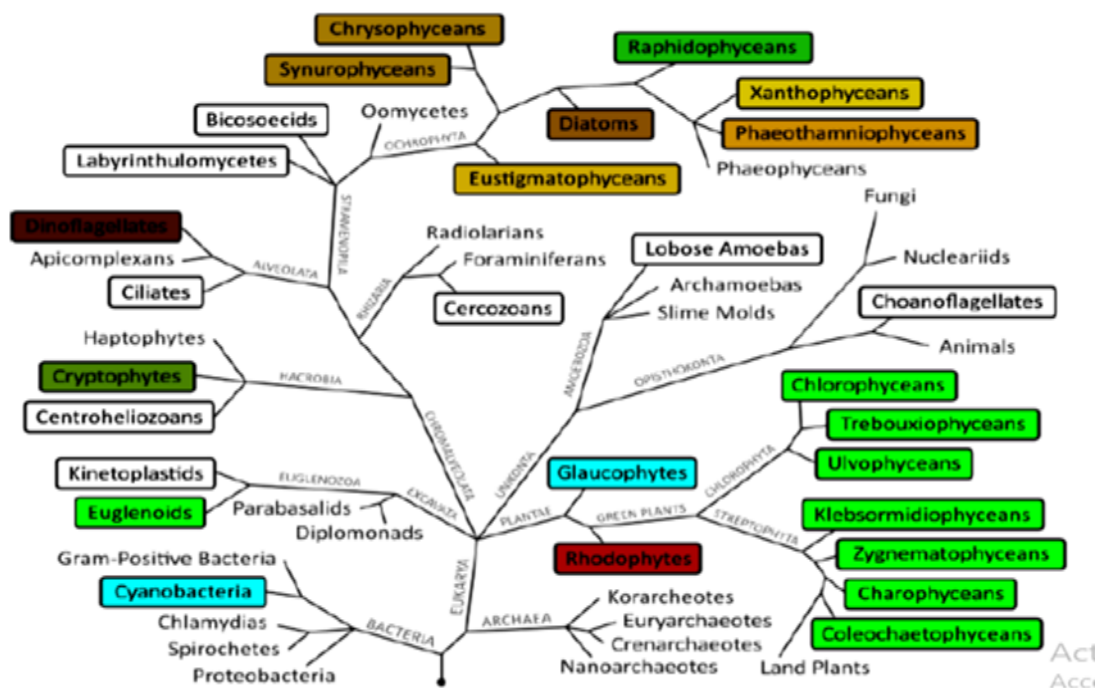


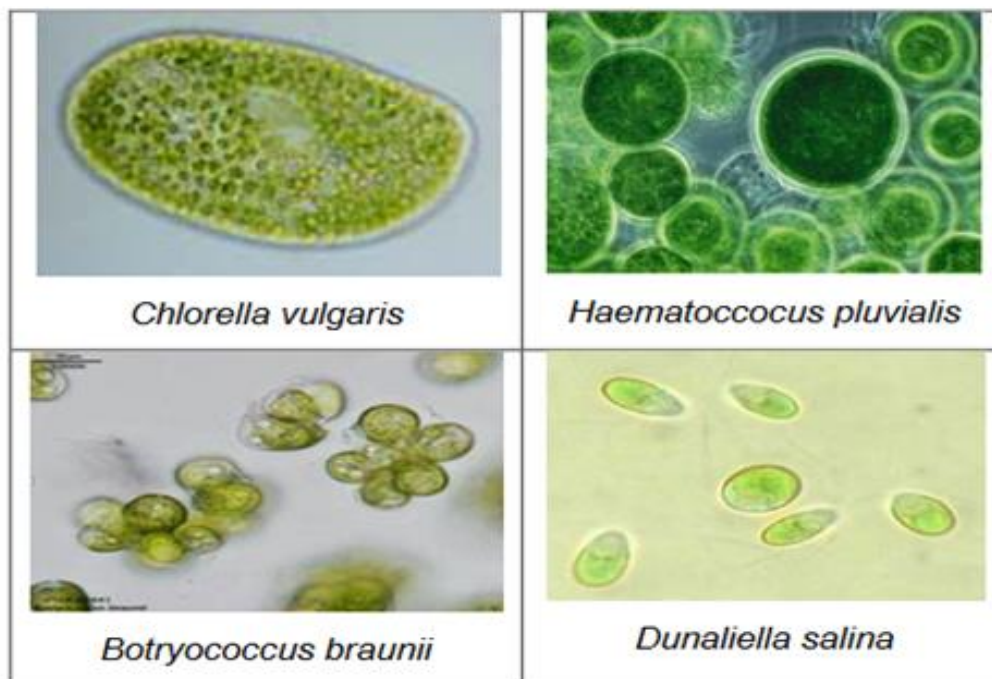
Figure 3 : Arbre phylogénétique de classification des microalgues.

**5.1. Eucaryotes :** Ce sont des organismes uni ou pluricellulaires qui présentent une structure complexe contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs organites intracellulaires : chloroplastes, amyloplastes, oléoplastes, ...

❖ **Les chlorophycées (algues vertes)**

Les chlorophycées, également connues sous le nom d'algues vertes, sont une division d'algues vertes appartenant au règne des Protistes. Elles constituent un groupe diversifié comprenant des espèces unicellulaires, pluricellulaires et filamenteuses (Barsanti et Gaultieri, 2005). On estime qu'environ 8 000 espèces existent. Environ 1 000 d'entre eux sont des chlorophytes marins (Alcaine, 2010). Les chlorophycées sont composées de cellules eucaryotes contenant un noyau et des organites cellulaires tels que les mitochondries et les chloroplastes. Les chloroplastes contiennent de la chlorophylle a et b, ainsi que d'autres pigments photosynthétiques (Barsanti et Gaultieri, 2005).

Les algues les plus connues, telles que *Chlorella*, *Chlamydomonas*, *Dunaliella* et *Haematococcus*, appartiennent à ce groupe (Pulz and Gross, 2004). Les chlorophycées jouent un rôle crucial dans les écosystèmes aquatiques en tant que producteurs primaires, fournissant de la nourriture et de l'oxygène à d'autres organismes. Elles contribuent également à la formation de la matière organique et à la régulation des cycles des éléments (Person, 2011).

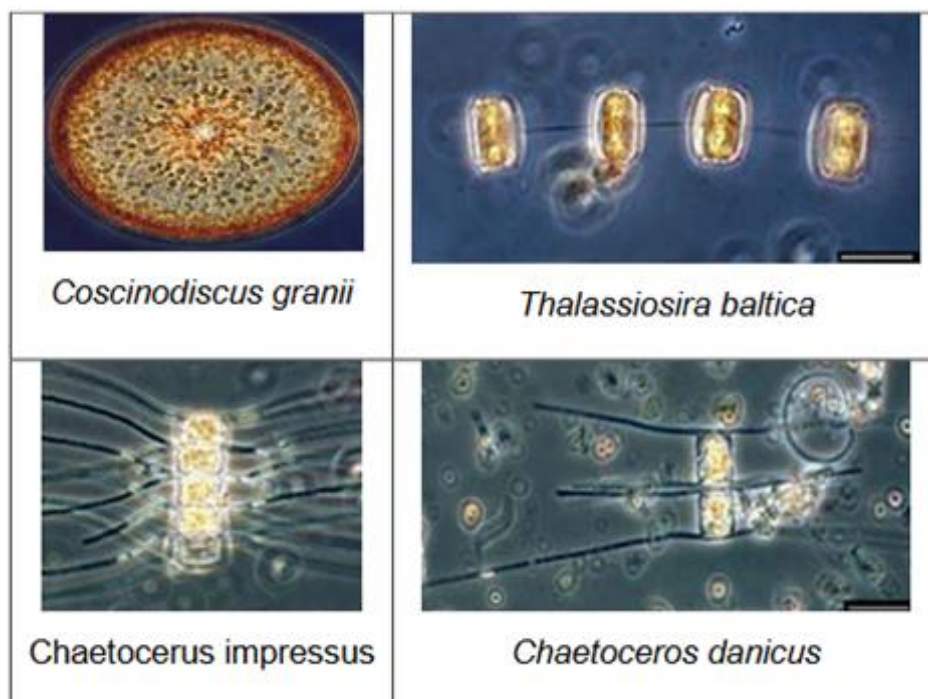


**Figure 3 :** Vues microscopiques d'algues vertes (Alcaine, 2010).

❖ **Les bacillariophycées (diatomées)**

Les bacillariophycées, également connues sous le nom de diatomées, sont une division d'algues unicellulaires appartenant au règne des Protistes. Elles se distinguent par leur structure cellulaire caractéristique et leur rôle écologique important (Barsanti et Gaultieri, 2005). Ce sont des microorganismes unicellulaires photosynthétiques qui constituent le groupe dominant du règne des microalgues avec plus de 100 000 espèces connues. Les diatomées sont caractérisées par leur structure cellulaire unique, composée de deux valves de silice appelées frustules. Les frustules sont constituées de deux moitiés identiques, imbriquées l'une dans l'autre, formant une boîte ou une coquille protectrice autour de la cellule (Person, 2011). Quelques exemples de diatomées sont: *Coscinodiscus granii*, *Tabellaria*, *Amphipleura*, *Thalassiosira baltica*, *skeletonoma*, *Chaetoceros*, *Cyclotella*, etc (Alcaine, 2010).

Les diatomées ont des utilisations pratiques dans divers domaines. Leur silice, extraite des frustules, peut être utilisée dans des applications industrielles telles que les abrasifs, les filtres, les isolants et les matériaux réfractaires. Certaines espèces de diatomées sont également utilisées dans l'alimentation animale et comme compléments alimentaires pour les humains (Barsanti et Gaultieri, 2005).



**Figure 4 :** Vues microscopiques des diatomées.

❖ **Les Chrysophycées (algues dorées)**

Les chrysophycées, également connues sous le nom d'algues dorées, sont une division d'algues unicellulaires ou pluricellulaires appartenant au règne des Protistes. Elles se distinguent par leur coloration dorée, qui est due à la présence de pigments caroténoïdes (Barsanti et Gaultieri, 2005). Les chrysophycées sont des organismes eucaryotes, composés de cellules contenant un noyau et des organites cellulaires tels que les mitochondries et les chloroplastes. Les chloroplastes contiennent des pigments photosynthétiques, y compris la chlorophylle a et divers pigments caroténoïdes (Person, 2011).

Dans la plupart de ces algues, les parois cellulaires sont composées de cellulose avec de grandes quantités de silice. Leur reproduction habituelle est asexuée par division cellulaire. Certaines espèces de chrysophycées sont utilisées dans des applications industrielles et commerciales. Par exemple, certaines espèces produisent des composés bioactifs, tels que des acides gras oméga-3, qui peuvent être utilisés dans des compléments alimentaires et des produits de santé (Barsanti et Gaultieri, 2005).

**5.2. Procaryotes :** ce sont des organismes unicellulaires qui sont dépourvus de noyau et ne présentent que très rarement des organites cellulaires.

❖ **Les cyanophycées (les algues bleues)**

Les cyanophycées, également connues sous le nom d'algues bleu-vert ou de cyanobactéries, sont un groupe de microorganismes photosynthétiques appartenant au règne des Bactéries. Bien qu'elles soient souvent appelées algues bleu-vert en raison de leur apparence, elles ne sont pas de véritables algues car elles ne possèdent pas de noyau et sont plus étroitement liées aux bactéries (Barsanti et Gaultieri, 2005).

Environ 2 000 espèces de cyanobactéries sont connues et peuvent être divisées en 150 genres (Pulz and Gross, 2004) . Les cyanophycées sont des organismes procaryotes, ce qui signifie qu'elles n'ont pas de noyau délimité par une membrane. Leur structure cellulaire est relativement simple et comprend une membrane plasmique, un cytoplasme et un matériel génétique sous forme de brins d'ADN circulaire (Barsanti et Gaultieri, 2005). Malgré ses aptitudes à se développer dans des milieux extrêmes, les Cyanophycées possèdent des températures de croissance optimales aux alentours de 30-35°C.

Les cyanophycées contiennent de la chlorophylle a, qui leur donne une couleur verte, ainsi que des pigments accessoires tels que la phycocyanine et la phycoérythrine, qui leur confèrent des teintes bleues et rouges. C'est la combinaison de ces pigments qui donne aux

cyanophycées leur couleur bleu-vert caractéristique (Barsanti et Gaultieri, 2005). Ces hétérocystes sont des cellules spécialisées dépourvues du photosystème II. Ainsi, la fixation de l'azote atmosphérique est facilitée. Les pigments photosynthétiques sont la chlorophylle à, les phycocyanines et la phycoérythrine, qui donnent généralement aux cellules une couleur bleu-vert, bien que des couleurs brun rougeâtre à rose se produisent également chez certaines espèces. Les cyanobactéries les plus importantes sont *Spirulina (Arthrospira) platensis*, *Nostoc* commune et *Aphanizomenon flosaquae* (Pulz and Gross, 2004).

## **6. Modes de croissance**

La biomasse microalgale peut être produite par culture autotrophe dans des étangs ouverts ou des photobioréacteurs en utilisant l'énergie solaire et en fixant le dioxyde de carbone. Elles peuvent également être cultivées de manière hétérotrophe ou mixotrophe en utilisant des composés organiques comme sources d'énergie et de carbone (Person, 2011).

### **6.1. Autotrophe**

C'est le mode de culture en masse basé sur la photosynthèse, sans apport de source de carbone organique. Les microalgues consomment le CO<sub>2</sub> pour la synthèse de la matière organique via la photosynthèse. La production phototrophe de microalgues dans tout type de système de bassin ou de photobioréacteur est confrontée aux principaux défis de la limitation de la lumière et du manque d'évolutivité des réacteurs. Il y a donc un besoin d'innovation technologique et matérielle, un besoin de souches adaptées ainsi qu'une nouvelle réflexion sur l'utilisation des flux de déchets (par exemple, les eaux usées spéciales, les émissions de CO<sub>2</sub>, la chaleur) et leur impact sur les coûts de production (Person, 2011).

Actuellement, la production photoautotrophe est la seule méthode techniquement et économiquement réalisable pour la production à grande échelle de biomasse algale destinée à la production non énergétique (Grama et al., 2014a). Comme les microalgues sont toujours produites en milieu confiné, le contrôle de la nutrition est plus réalisable, mais il n'en est encore qu'à ses débuts. Des dispositifs de mesure et de dosage en ligne plus avancés, permettant de contrôler et d'ajuster les concentrations d'éléments individuels dans les milieux de culture, amélioreraient considérablement la productivité car l'appauvrissement d'un seul élément diminue fortement la production de biomasse ou réduit la teneur en composés. De même, le contrôle de la nutrition permettrait de réduire les coûts de production ainsi que la charge environnementale causée par la quantité d'eaux usées chargées en nutriments (Barsanti et

Gaultieri, 2005). La culture autotrophe a converti environ 0,15 mole de CO<sub>2</sub> en biomasse et a dégagé jusqu'à 0,21 mole d'O<sub>2</sub> (Person, 2011).

## **6.2. Hétérotrophe**

L'hétérotrophie est un mode de nutrition dans lequel un organisme dépend de la consommation d'autres organismes ou de matière organique préexistante pour obtenir ses nutriments et son énergie. Contrairement aux organismes autotrophes qui peuvent produire leur propre nourriture par la photosynthèse ou la chimiosynthèse, les organismes hétérotrophes doivent se nourrir de sources externes pour survivre (Barsanti et Gaultieri, 2005).

Cela peut être une alternative rentable à la culture photoautotrophe car le sucre et les acides organiques sont utilisés comme seule source de carbone pour la culture. Ce mode élimine le besoin de lumière, augmentant ainsi la densité et la productivité des cellules (Singh et al., 2005). De nombreuses algues peuvent se développer de manière hétérotrophe avec une source de carbone externe, plutôt que de manière photosynthétique. Cela modifie le rapport N:C et a donc le même effet que la culture d'algues avec des niveaux réduits d'azote dans des conditions autotrophes, à savoir une production élevée de lipides (Person, 2011).

La production hétérotrophe nécessite un organisme qui peut se diviser dans l'obscurité et peut se développer sur des milieux peu coûteux et stérilisables, peut s'adapter rapidement à de nouveaux environnements et peut résister aux contraintes hydrodynamiques dans le fermenteur et les environnements périphériques (Singh et al., 2005). Il est important de noter que l'hétérotrophie chez les microalgues est généralement considérée comme un mode de nutrition complémentaire plutôt que prédominant. La photosynthèse reste le principal moyen de nutrition pour la plupart des microalgues, car elle leur permet de produire de l'énergie et de fixer le carbone nécessaire à leur croissance et à leur développement. L'hétérotrophie peut être considérée comme une stratégie d'adaptation qui permet aux microalgues de survivre dans des conditions environnementales défavorables (Person, 2011).

## **6.3. Mixotrophe**

La mixotrophie est un mode de nutrition qui combine à la fois des caractéristiques autotrophes et hétérotrophes. Les organismes mixotrophes sont capables de produire leur propre nourriture par la photosynthèse, mais ils peuvent également se nourrir de matière organique préexistante pour compléter leurs besoins nutritionnels. C'est un mode de culture combinant l'autotrophie et l'hétérotrophie. Il permet d'obtenir une grande quantité de biomasse ainsi qu'un

taux de croissance élevé en même temps que la production de métabolites photosynthétiques (Amor, 2015). Dans le cas des microalgues, la mixotrophie est observée chez certaines espèces qui sont capables de réaliser à la fois la photosynthèse et la phagocytose. Cela signifie qu'elles peuvent capturer et ingérer des particules ou d'autres organismes pour obtenir des nutriments et de l'énergie, en plus de leur capacité à utiliser la lumière du soleil pour la photosynthèse. Mixotrophes, c'est-à-dire dont la principale source d'énergie est la photosynthèse, bien que les composés organiques et le CO<sub>2</sub> soient tous deux essentiels. L'amphitrophie, sous-type de la mixotrophie, signifie que les organismes sont capables de vivre soit en autotrophie, soit en hétérotrophie, en fonction de la concentration de composés organiques et de l'intensité lumineuse disponibles (Barsanti et Gaultieri, 2005).

La mixotrophie chez les microalgues peut être un avantage adaptatif dans des conditions environnementales variables. Par exemple, en présence de faibles niveaux de lumière, les microalgues mixotrophes peuvent compléter leur apport énergétique en se nourrissant de matière organique disponible dans leur environnement. Cela leur permet de maintenir leur métabolisme et leur croissance même lorsque les conditions de photosynthèse sont limitées (Person, 2011).

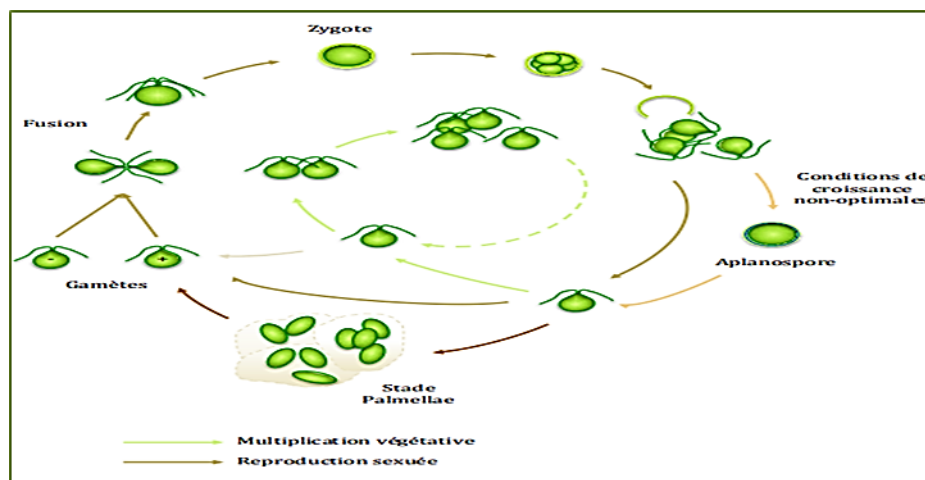
## **7. Reproduction des microalgues**

Les microalgues se reproduisent de différentes manières, qui peuvent être classées en deux principaux modes de reproduction : la reproduction asexuée et la reproduction sexuée. Les modes de reproduction chez les microalgues peuvent être végétatives par la division d'une cellule seule ou d'une fragmentation d'une colonie, asexuée par la production de spore mobile, ou sexuelle par l'union de gamètes. Le mode végétatif et asexué permet la stabilité d'un génotype adapté dans une espèce d'une génération au suivant. Les deux modes fournissent les moyens rapides et économiques d'augmenter le nombre d'individus en limitant la variabilité génétique. Le mode sexuel implique plasmogamie (l'union de cellules), caryogamie (union de noyaux), association de chromosome et méiose, aboutissant à recombinaison génétique. La reproduction sexuée tient compte de la variation, mais est plus coûteuse, à cause de la perte des gamètes qui échouent à s'accoupler (Barsanti and Gaultieri, 2014).

Reproduction asexuée : La reproduction asexuée est le mode de reproduction le plus courant chez les microalgues. Elle peut se produire de différentes manières :

- Division cellulaire : Les microalgues se reproduisent par division cellulaire, généralement par mitose. Une cellule mère se divise en deux cellules filles identiques.

- Fragmentation : Certains types de microalgues peuvent se reproduire par fragmentation, où une partie de la cellule mère se détache et se développe pour former une nouvelle cellule.
- Bourgeonnement : Certains types de microalgues peuvent se reproduire par bourgeonnement, où une petite protubérance se forme à partir de la cellule mère et se développe pour devenir une nouvelle cellule.
- Formation de spores : Certains types de microalgues produisent des spores, qui sont des structures de reproduction résistantes. Les spores se dispersent dans l'environnement et peuvent germer pour former de nouvelles cellules.
- Reproduction sexuée : La reproduction sexuée chez les microalgues implique la fusion de gamètes pour former une nouvelle cellule. Cela se produit généralement lorsque les conditions environnementales sont défavorables et que les microalgues ont besoin de diversité génétique pour survivre. Les microalgues sexuées produisent des gamètes mâles et femelles qui se rencontrent et se fusionnent pour former une cellule zygote. Cette cellule zygote se développe ensuite pour former de nouvelles cellules (Person, 2011).



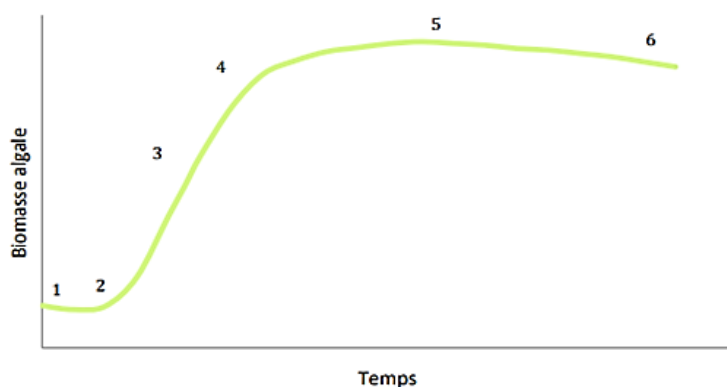
**Figure 6** : Représentation schématique des différents stades du cycle de vie de l'espèce *Dunaliella salina* (Chevanton, 2013).

### Culture en batch

La culture en batch est l'un des principaux modes de culture utilisés pour cultiver les microalgues en laboratoire ou en industrie. Il s'agit d'une méthode simple où les microalgues sont cultivées dans un récipient, tel qu'un bioréacteur, avec un milieu de culture initial (Person, 2011). La culture en batch représente un mode de culture très utilisé pour sa simplicité de mise

en œuvre et son faible coût en matériel et en maintenance. Ce mode de culture repose sur un principe de production séquentiel des microalgues (Barsanti et Gaultieri, 2005). Une partie de la biomasse produite en quelques jours est ensuite utilisée pour inoculer une nouvelle culture.

Les microalgues constituant l'inoculum sont transférées dans un milieu de culture frais et enrichi. Si les facteurs environnementaux le permettent, la croissance débute et connaît différentes phases caractéristiques (Figure 12): tout d'abord, une phase de latence (1) est parfois observée dont la durée dépend du degré d'adaptation nécessaire des cellules aux nouvelles conditions de culture.



**Figure 7 :** Représentation schématique des différentes phases de croissance. Légende :  
1=Phase de latence, 2=Phase de croissance maximale, 3= Phase de croissance linéaire, 4=  
Phase de ralentissement, 5= Phase stationnaire, 6= Phase de sénescence.

## 8. Les systèmes de cultures des microalgues

Les méthodes de culture des microalgues varient en fonction des espèces, des conditions environnementales et des objectifs de production. Elles peuvent être cultivées en laboratoire dans des boîtes de Pétri, des bioréacteurs ou en plein air dans des étangs ou des bassins. Les microalgues sont largement cultivées par différentes méthodes de production et utilisées dans plusieurs applications commerciales. Certaines usines de production combinent différents systèmes de production, par exemple des photobioréacteurs (PBR) avec des fermenteurs ou des étangs ouverts. Globalement, les photobioréacteurs sont le système le plus utilisé pour la production de microalgues (71 %), tandis que les étangs ouverts et les fermenteurs représentent respectivement 19 et 10 % de l'ensemble des unités de production (Barsanti et Gaultieri, 2005).

## 1) Systèmes ouverts

La culture en bassins ouverts implique des coûts d'investissement, d'exploitation et d'énergie moins élevés et permet de produire des volumes de biomasse plus importants. Cette méthode de production est donc plus couramment utilisée pour la production de biomasse destinée à des applications de faible valeur, bien que certains problèmes techniques doivent encore être résolus pour exploiter son potentiel dans l'augmentation de la production de biomasse d'algues pour des utilisations telles que les biocarburants (Person, 2011).

En fait, les bassins ouverts ont été les premiers systèmes de culture industrielle de microalgues largement appliqués, et sont utilisés par 83 % des entreprises exploitant des usines de culture de spiruline à grande échelle. Cette espèce (avec *Chlorella* sp.) est la plus couramment cultivée en étangs ouverts dans le monde (Grama et al., 2014a). Les bassins varient par leur forme, le type de matériaux utilisés, le système de mélange du milieu. Plusieurs familles de bassin existent :

- **Systèmes ouverts ou raceway**

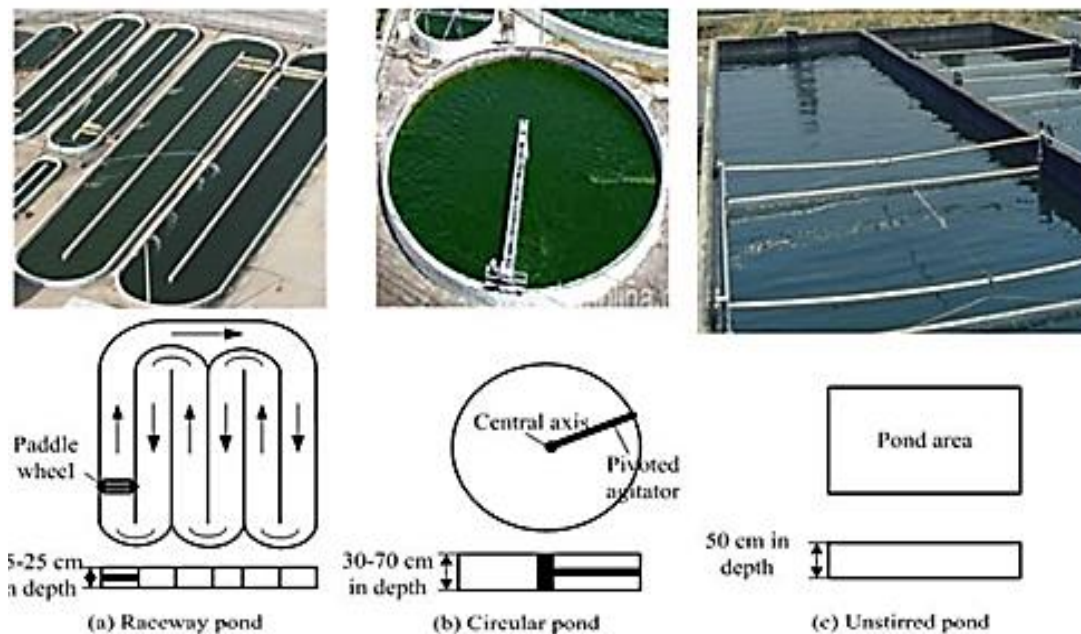
- ✓ Les systèmes de culture en milieu ouvert (bassins, « raceways ») sont des étangs de recirculation en boucle fermée avec une profondeur de quelques dizaines de centimètres.
- ✓ Ce sont des technologies simples et présentant peu d'investissement initial.
- ✓ Le mélange et la circulation du milieu sont possibles grâce à une roue à aube : le flux est guidé par la vitesse de rotation de cette roue.
- ✓ Un bullage permet un apport en CO<sub>2</sub> mais le transfert dans la phase liquide est souvent compliqué à cause de la faible profondeur des bassins.
- ✓ La température du milieu fluctue selon les cycles diurnes (nuit) et saisonniers.

Les systèmes de bassins ouverts nécessitent des environnements très sélectifs en raison de la menace inhérente de contamination et de pollution par d'autres espèces d'algues et de protozoaires (Pulz et Scheibenbogen, 1998). La monoculture est possible en maintenant un environnement de culture extrême, bien que seul un petit nombre de souches d'algues soient adaptées (Person, 2011).

- **Les bassins naturels** : ces bassins non mélangés, aux conditions climatiques et nutritionnelles nécessaires aux microalgues, sont souvent utilisés pour la culture de *Dunaliella salina* ou pour la Spiruline. Ils ont en général une faible productivité (<1 g.m<sup>-2</sup>.j<sup>-1</sup>) (Lucchetti, 2014a).

- **Les bassins circulaires :** Les bassins circulaires, également appelés bassins de culture en forme de cercle ou de raceway, sont une structure couramment utilisée pour la culture de microalgues à grande échelle. Ils sont caractérisés par leur forme circulaire et leur capacité à créer un écoulement d'eau en mouvement continu. principalement utilisés en Asie pour la culture de *Chlorella*, ils nécessitent un fort investissement en matériel et leur agitation, par un bras rotatif placé au centre, consomme beaucoup d'énergie (Lucchetti, 2014a)

Ce type d'étang a toujours une profondeur de 20 à 30 cm et un diamètre de 40 à 50 m. Le long bras rotatif est placé au centre de l'étang qui agit comme un cadran d'horloge et remplit une fonction de roue à aubes qui est familière dans la structure à celle d'un étang de raceway.



**Figure 8 :** Trois conceptions différentes de systèmes d'étangs ouverts (Y. Shen et al., 2009).

### Caractéristiques et barrières des étangs ouverts

Les systèmes de bassins ouverts offrent plusieurs avantages, notamment :

- Coûts de construction et d'entretien relativement faibles.
- Facile à mettre à l'échelle. Étant donné que chaque étang peut être exploité indépendamment, la mise à l'échelle peut être facilement réalisée en augmentant le nombre d'étangs.

- La possibilité d'intégration avec les processus de traitement des eaux usées. (Y. Shen et al., 2009)

Cependant, les étangs à ciel ouvert se heurtent également à certains obstacles techniques qui les empêchent d'être commercialisés pour la fabrication de biocarburants :

- Contamination des espèces. Parce qu'ils sont ouverts sur l'environnement, les étangs ouverts sont facilement contaminés par des algues sauvages à croissance rapide ou des micro-organismes qui se nourrissent d'algues. La culture d'une seule espèce ne peut être maintenue que pendant une courte période (par exemple, quelques mois).
- Faible productivité. Théoriquement, une productivité de 50 à 60 g m<sup>-2</sup> j<sup>-1</sup> de biomasse d'algues sèches est possible avec des bassins ouverts.
- Coût de récolte élevé.
- L'évaporation d'une grande quantité d'eau. La productivité la plus élevée dans les systèmes d'étangs ouverts est obtenue dans les systèmes à couloir. Un étang de faible profondeur et de forme elliptique (comme un couloir) est mélangé mécaniquement à l'aide d'une roue à aubes. L'eau est ainsi déplacée le long du couloir, ce qui assure un mélange vertical de l'eau pour éviter la colonisation par les algues et maximiser l'échange de gaz (Brutus) et de maximiser les échanges gazeux (Person, 2011).

### **Systèmes PBR Fermés**

Les photobioréacteurs, qui constituent la méthode de production de microalgues la plus couramment utilisée en Europe, sont associés à des coûts d'investissement et d'exploitation élevés ainsi qu'à des besoins énergétiques importants. Cependant, au sein de cette technologie, des différences significatives dépendent du type de PBR utilisé. La technologie PBR fermée offre une variété de systèmes - du mur vert aux systèmes PBR tubulaires en verre ou en plastique où les tubes sont installés en réseaux horizontaux ou verticaux, chacun des agencements présentant des avantages et des inconvénients en termes de coût et de stabilité de la production (Barsanti et Gaultieri, 2005).

La POV fermée est la méthode de production utilisée pour la fabrication de produits de grande valeur et de faible volume pour les nutraceutiques, les cosmétiques et les produits pharmaceutiques. Cette technologie permet un contrôle plus strict des facteurs environnementaux et de la qualité de la biomasse et augmente l'efficacité photosynthétique et la productivité des systèmes de production (Person, 2011). Les photobioréacteurs, malgré leurs coûts, présentent plusieurs avantages majeurs par rapport aux systèmes ouverts :

- Les photobioréacteurs minimisent la contamination et permettent la culture d'algues axéniques en monocultures.
- Les photobioréacteurs offrent un meilleur contrôle des conditions telles que le pH, température, lumière, concentration de CO<sub>2</sub>, etc.
- Les photobioréacteurs entraînent moins de perte de CO<sub>2</sub>.
- Les photo-bioréacteurs empêchent l'évaporation de l'eau.
- Les photobioréacteurs permettent des concentrations cellulaires plus élevées.
- Les photobioréacteurs permettent la production de produits biopharmaceutiques complexes (Singh and Sharma, 2012).

À une intensité lumineuse élevée, bien que les productivités volumétriques des photobioréacteurs tubulaires de petit diamètre soient plus élevées que celles des photobioréacteurs tubulaires de grand diamètre, les productivités surfaciques et l'efficacité de conversion de la lumière par les cellules (capacité des cellules à absorber et à traiter efficacement l'énergie lumineuse solaire) seraient beaucoup plus élevées dans les photobioréacteurs tubulaires de grand diamètre, à condition qu'un mélange de culture vertical soit induit à l'intérieur des photobioréacteurs tubulaires pour garantir que les cellules circulent entre la partie supérieure et la partie inférieure des tubes (Person, 2011).

#### **A. Photobioréacteur tubulaire vertical**

Le photobioréacteur tubulaire vertical est une structure utilisée pour la culture de microalgues à grande échelle, offrant un contrôle plus précis des conditions de culture par rapport aux bassins circulaires. Le photobioréacteur tubulaire vertical se compose d'un ensemble de tubes verticaux dans lesquels les microalgues sont cultivées. Les tubes sont généralement en verre ou en plastique transparent et sont disposés verticalement pour optimiser l'absorption de la lumière. Les photobioréacteurs tubulaires verticaux permettent un contrôle précis des paramètres de culture, tels que la lumière, la température, la concentration en gaz (CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>), le pH et la nutrition. Cela permet d'optimiser les conditions de croissance pour les microalgues et d'obtenir des rendements plus élevés (Barsanti et Gaultieri, 2005).

## **Les photobioréacteurs de type cylindrique**

Les photobioréacteurs de type cylindrique sont un type de système de culture utilisé pour la culture contrôlée de microalgues. Ils se caractérisent par leur forme cylindrique, qui permet de créer un environnement contrôlé pour la croissance des microalgues.

### **1) Type colonne**

Les photobioréacteurs en colonnes sont les plus employés pour les petites productions de microalgues comme pour les écloseries. Plusieurs formes de colonnes existent comme de simples colonnes à bulles, des photobioréacteurs annulaires et des photobioréacteurs à circulation par air (ou airlifts) (Lucchetti, 2014b). La forme cylindrique permet une distribution homogène de la lumière et des nutriments à travers le réacteur, ce qui favorise une croissance uniforme des microalgues.

#### **➤ Colonnes à bulles et colonnes annulaires**

Ces photobioréacteurs offrent une meilleure protection contre les contaminations externes, telles que les bactéries ou les contaminants aériens. Cela permet de maintenir une culture plus pure et réduit le risque de contamination indésirable (Person, 2011). Les photobioréacteurs annulaires, composés de deux cylindres concentriques sont éclairés en leur centre par des néons, c'est la seule différence avec les colonnes à bulles. Les cultures sont généralement réalisées en batch, où tous les nutriments sont apportés en une seule fois au début de la culture (Lucchetti, 2014b).

#### **➤ Les airlifts**

Les airlifts sont des dispositifs utilisés dans les systèmes de culture des microalgues pour assurer l'agitation et l'aération du milieu de culture. Ils sont particulièrement adaptés pour la culture en suspension des microalgues. Ils sont utilisés dans de nombreux procédés industriels. Les airlifts utilisent la différence de densité entre l'air et le milieu de culture pour générer un mouvement ascendant. L'air est injecté dans la partie inférieure du réacteur, créant une circulation du milieu de culture vers le haut. Ce mouvement ascendant assure l'agitation douce des microalgues en suspension (Person, 2011).

Les airlifts offrent une agitation douce et non traumatique pour les microalgues. Contrairement aux méthodes d'agitation mécanique plus agressives, les airlifts réduisent les dommages physiques aux cellules, ce qui favorise une croissance saine des microalgues (Barsanti et Gaultieri, 2005). Les airlifts sont relativement faciles à installer et à entretenir. Ils

ne nécessitent pas de pièces mobiles à remplacer fréquemment et sont moins sujets à l'encrassement par les dépôts biologiques ou les particules présentes dans le milieu de culture. Les airlifts peuvent être utilisés dans différents types de réacteurs, tels que les réacteurs à colonne, les réacteurs tubulaires ou les photobioréacteurs. Ils peuvent également être adaptés à différentes échelles de culture, des petits laboratoires aux installations industrielles (Person, 2011).

Les airlifts ont de nombreux avantages :

- L'excellent contact entre les phases gazeuse et liquide permet l'enlèvement des gaz produits, le mélange du milieu, la diminution du stress lié au cisaillement sur les cellules, l'absence de différents gradients (température, nutriments) et un bon taux de transfert de chaleur ;
- transferts de masse élevés
- bon mélange avec une faible contrainte de cisaillement
- faible consommation d'énergie,
- relativement facile à travailler dans des conditions stériles,
- bon pour l'immobilisation des algues sur les particules en mouvement.
- Le mélange est contrôlé

Il convient de noter que les photobioréacteurs de type cylindrique présentent également certaines limitations, notamment la complexité de la conception et de l'exploitation, le coût potentiellement plus élevé par rapport à d'autres systèmes de culture, et la nécessité d'une gestion rigoureuse des conditions de culture pour éviter les problèmes tels que l'accumulation de biofilm ou l'agitation insuffisante.

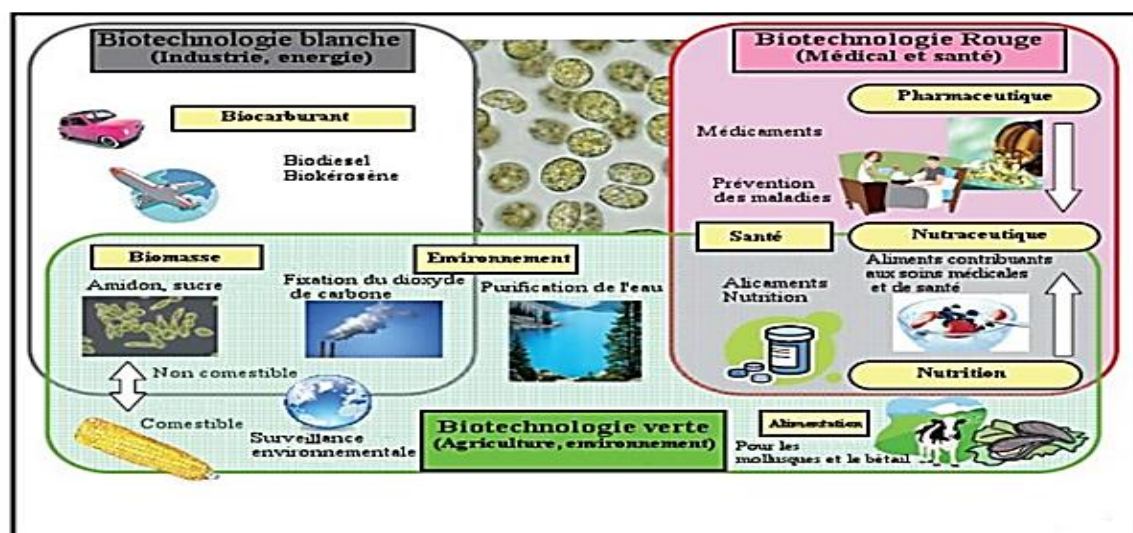
### **Photobioréacteur « Plastic-bag » ou gaine**

Le photobioréacteur "Plastic-bag" est un type de photobioréacteur utilisé pour la culture de microalgues. Comme son nom l'indique, il est constitué d'un sac en plastique transparent qui sert de récipient pour la culture des microalgues. Le sac en plastique utilisé est transparent, ce qui permet une bonne transmission de la lumière vers les microalgues. Cela favorise la photosynthèse des microalgues et leur croissance. Comparé à d'autres types de photobioréacteurs, le photobioréacteur "Plastic-bag" présente souvent un coût plus abordable. Les matériaux nécessaires sont généralement peu coûteux et faciles à trouver, ce qui en fait une option attrayante pour les petites et moyennes entreprises (Barsanti et Gaultieri, 2005).

Des systèmes hybrides combinant des méthodes de culture ouvertes et fermées sont également utilisés, permettant une première étape de culture où les contaminations et les caractéristiques de la biomasse sont mieux contrôlées dans les photobioréacteurs, avec le transfert ultérieur de l'inoculum dans des bassins ouverts pour une croissance accrue de la biomasse et l'accumulation de lipides (Person, 2011).

## 9. Domaines d'application des microalgues

La diversité d'espèces en micro-algues et leur richesse en métabolites permet un vaste panel d'applications et peut s'adresser à de nombreux secteurs industriels. Il est possible de valoriser la biomasse brute, ou bien de l'utiliser comme vecteur pour la production de molécules d'intérêt. La biomasse brute, vivante ou non, se valorise sur les marchés de la nutrition humaine, de l'alimentation animale avec en particulier le secteur de l'aquaculture, et dans les domaines de l'énergie et de l'environnement (Person, 2011). Les composés d'intérêt essentiellement identifiés sont les lipides, les vitamines, les polysaccharides, les protéines, les pigments, les antioxydants et d'autres composants cellulaires. Ces produits issus des micro-algues et cyanobactéries sont commercialisés pour les secteurs de la santé et du bien-être avec l'alimentation humaine (additifs et colorants alimentaires), la nutraceutique, la cosmétique et la pharmaceutique (actif biologiques et thérapeutiques). On les retrouve aussi dans les domaines de l'alimentation animale (tourteau protéique potentiel et colorants), de l'énergie, et de la chimie verte (intermédiaires et matériaux bio-sourcés).



**Figure 9:** Concept de base des Domaines Biotechnologiques auxquels les microalgues contribuent (Sumi, 2009).

### **9.1. Domaine énergétique**

Le bioraffinage à base de microalgues commence par la culture des souches, la récolte de la biomasse, la désintégration des cellules et l'extraction des composés, puis le fractionnement et la purification, dans le but de séparer et de récupérer les molécules souhaitées (par exemple, les lipides, les glucides, les protéines et les pigments) à partir du même lot de biomasse microalgale et de réduire ipso facto le coût de production (Person, 2011).

#### **\* Biodiesel**

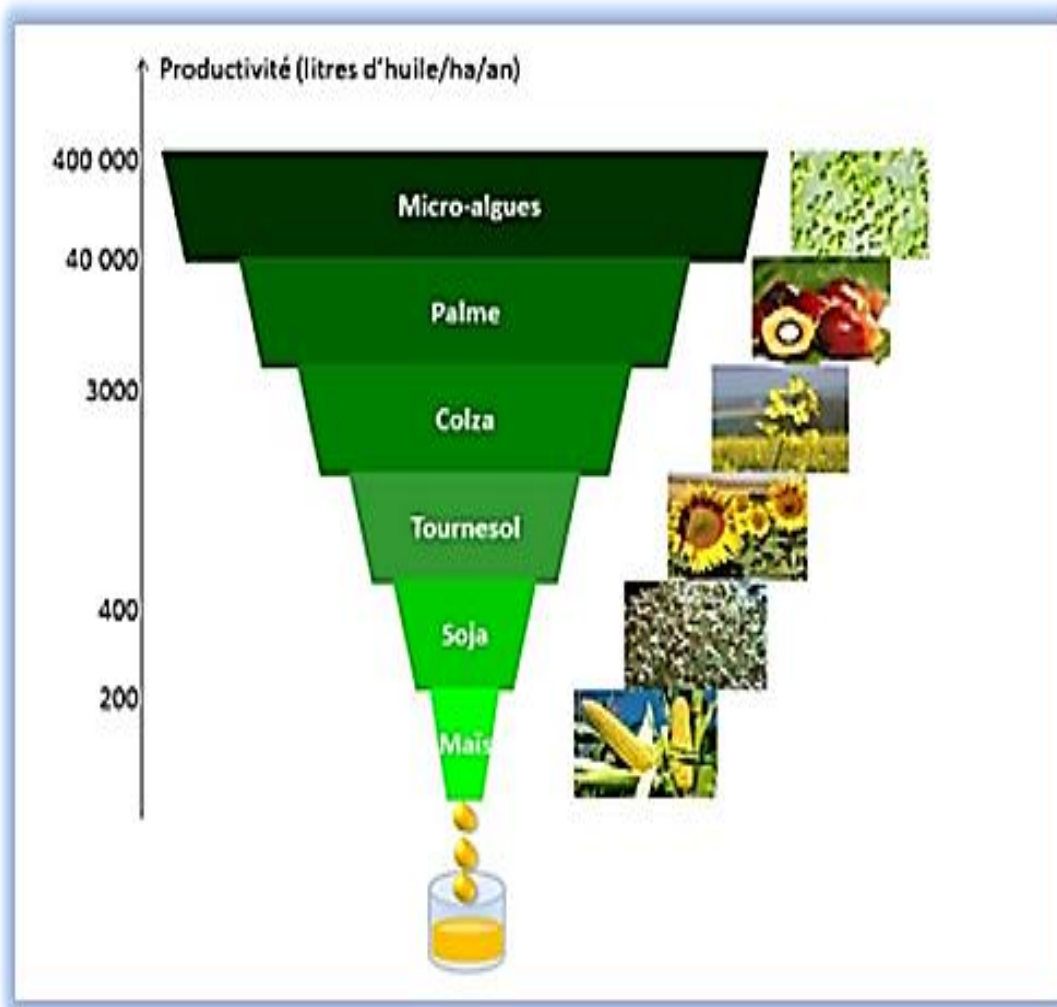
Les microalgues semblent être la seule source de biodiesel renouvelable capable de répondre à la demande mondiale de carburants pour les transports. Le biodiesel est un substitut potentiel au carburant diesel conventionnel. Ce biocarburant peut être obtenu à partir de diverses matières premières par un procédé appelé transestérification ou estérification (Costa and de Morais, 2011). Les algues sont théoriquement une source très prometteuse de biodiesel. Les teneurs en lipides et en acides gras des microalgues varient en fonction des conditions de culture. Dans certains cas, la teneur en lipides peut être augmentée par la privation d'azote ou d'autres facteurs de stress. Quelle est la meilleure espèce d'algues pour le biodiesel ? Il n'existe pas de souche ou d'espèce d'algue qui soit la meilleure en termes de rendement en huile pour le biodiesel. Cependant, les diatomées et les algues vertes ont été les plus prometteuses. *Scenedesmus dimorphus* est une algue unicellulaire de la classe des chlorophycées (algues vertes) (Barsanti et Gaultieri, 2005).

La technologie de culture de microalgues comme source de biomasse renouvelable peut être appliquée à la production d'un substitut de carburant diesel (biodiesel). Les microalgues sont intéressantes en raison de leur taux de croissance élevé et de leur tolérance aux conditions environnementales variables, et parce que les huiles (lipides) qu'elles produisent peuvent être extraites et converties en carburants pétroliers de substitution (Brown and Zeiler, 1993).

Les microalgues, ressource de biocarburant de troisième génération, ont le potentiel pour devenir une matière première viable en raison de leur teneur élevée en huile et de leur nature respectueuse de l'environnement. La principale difficulté réside toutefois dans le coût élevé de la récupération de l'huile des microalgues avant de la convertir en biodiesel. Bien qu'il existe de nombreuses méthodes d'extraction telles que l'extraction par solvant, l'extraction par fluide supercritique, l'extraction par ultrasons et le pressage mécanique, elles

nécessitent des temps d'extraction plus longs, de grands volumes de solvants et sont gourmandes en énergie et en argent (Grama et al., 2014b).

La voie de biosynthèse des triglycérides dans les microalgues peut comprendre les trois étapes suivantes : (a) la formation d'acétyl-coenzyme A (acétyl-coA) dans le cytoplasme ; (b) l'allongement et la désaturation de la chaîne carbonée des acides gras ; et (c) la biosynthèse des triglycérides (Grama et al., 2014b).



**Figure 10** : Productivité en huile des micro-algues par rapport à d'autres plantes oléagineuses (Céline, 2013).

#### \* Biohydrogène

De nombreuses recherches ont été menées au début des années 70 pour fabriquer de l'hydrogène à partir de microalgues en utilisant la lumière du soleil et l'eau (Bhalamurugan et al., 2018). Les microalgues couramment utilisées dans la production d'hydrogène comprennent

*Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella fusca*, *Chlorella sorokiniana*, *S. obliquus*, *Chlorococcum littorale* et *Platymonas subcordiformis* (Nagarajan et al., 2017).

#### \* **Bioéthanol**

Le bioéthanol est un biocarburant produit à partir de matières premières renouvelables telles que les céréales, la canne à sucre, les betteraves sucrières et même les microalgues. Les microalgues sont une source prometteuse pour la production de bioéthanol en raison de leur capacité à accumuler des sucres et des polysaccharides riches en glucose. Le bioéthanol, un biocarburant liquide renouvelable respectueux de l'environnement, peut être produit à partir de plusieurs matières premières de biomasse différentes telles que (i) les cultures de sucre ou d'amidon (comme la canne à sucre, la betterave à sucre, le maïs et le blé) et à partir de (ii) la biomasse lignocellulosique (David, 2007).

Une fois les microalgues cultivées, elles sont récoltées et séparées du milieu de culture. Différentes méthodes de séparation peuvent être utilisées, telles que la centrifugation, la filtration ou la flottation. Une fois les microalgues séparées, elles sont généralement traitées pour libérer les sucres et les polysaccharides qu'elles contiennent. Cela peut être fait par hydrolyse enzymatique ou par traitement chimique pour convertir les polysaccharides en sucres simples, tels que le glucose. Ensuite, les sucres libérés sont fermentés par des levures ou des bactéries pour produire de l'éthanol. Les microorganismes utilisent les sucres comme source de carbone et les métabolisent en éthanol par fermentation. Le processus de fermentation peut être réalisé en conditions anaérobies, où l'oxygène est exclu, pour favoriser la production d'éthanol (Person, 2011).

Des micro- algues comme *Chlamydomonas perigranulata* ou *Chlorella vulgaris* peuvent aisément donner lieu à une production d'éthanol ou d'autres alcools grâce à l'auto-fermentation de leur amidon (Céline, 2013). Cependant, il est important de noter que la production de bioéthanol à partir de microalgues est encore en cours de développement et de recherche. Des efforts sont en cours pour optimiser les rendements, réduire les coûts de production et améliorer l'efficacité du processus.

#### \* **Biogaz**

Le biogaz est un mélange de gaz produit par la dégradation anaérobie de la matière organique. Il est principalement composé de méthane (CH<sub>4</sub>) et de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>), avec de petites quantités d'autres gaz tels que l'azote (N<sub>2</sub>), l'oxygène (O<sub>2</sub>) et des composés

volatils. La production de biogaz issu de la digestion anaérobie des micro-algues est un mode de production de biocarburants gazeux intéressant. À ce jour, c'est probablement la filière la plus aboutie, tant sur le plan économique que technique, dans le domaine de la valorisation énergétique des micro-algues. Le processus de production de biogaz implique la décomposition de la matière organique par des microorganismes en l'absence d'oxygène. Cela peut être réalisé dans des installations appelées digesteurs anaérobies. Les matières organiques utilisées pour la production de biogaz peuvent être des déchets agricoles, des déchets alimentaires, des boues d'épuration, des déchets industriels ou même des microalgues (Person, 2011).

Le biogaz, après purification et concentration en méthane, peut se substituer au gaz naturel et être soit injecté dans le réseau de gaz naturel, soit être distribué pour une utilisation en tant que bio-méthane carburant (Julie, 2010). Le biogaz produit peut être utilisé comme source d'énergie pour différentes applications. Il peut être brûlé pour produire de la chaleur et de l'électricité, utilisé comme combustible pour les véhicules ou injecté dans le réseau de gaz naturel. L'utilisation du biogaz présente des avantages environnementaux, car il permet de valoriser les déchets organiques, de réduire les émissions de gaz à effet de serre et de remplacer les combustibles fossiles non renouvelables.

## **9.2. Application en cosmétique**

Les microalgues sont utilisées dans l'industrie cosmétique pour la production d'ingrédients naturels tels que les antioxydants, les hydratants, les agents anti-âge et les colorants. Leurs propriétés bénéfiques pour la peau et les cheveux en font des ingrédients populaires dans les produits de soin et de beauté. Les espèces d'algues utilisées par la filière cosmétique sont souvent les mêmes que celles utilisées pour les applications alimentaires. Cependant, les travaux de recherche mettent en évidence de nouvelles applications pour de nouvelles espèces (Barsanti et Gaultieri, 2005).

La filière cosmétique utilise les algues sous forme d'extraits de plantes, broyées (pour les gommages par exemple) ou en tant qu'agents de coloration. Étant donné que le marketing joue un rôle important dans l'industrie des cosmétiques, les algues sont souvent utilisées afin de véhiculer une image de produits naturels apportant les bienfaits de la mer (Lesueur et al., 2014). Parmi les nombreuses espèces différentes de macroalgues, seules quelques espèces de microalgues sont établies sur le marché des soins de la peau, les principales étant la spiruline et la chlorelle. Voici quelques exemples de produits disponibles dans le commerce : (Stolz and Obermayer, 2005):

- Un extrait de Spiruline riche en protéines répare les signes du vieillissement cutané précoce, exerce un effet tenseur et prévient les vergetures.
- Une fraction de Chlorelle agit contre les rides et protège la peau des agressions environnementales néfastes.
- Un extrait de *Chlorella vulgaris* stimule la synthèse de collagène dans la peau, favorisant ainsi la régénération des tissus et la réduction des rides.

### **9.3. Alimentation humaine**

Les microalgues sont utilisées comme ingrédient alimentaire dans divers produits, tels que les compléments alimentaires, les boissons, les barres énergétiques et les substituts de viande. Elles sont riches en nutriments essentiels, en protéines, en acides gras oméga-3, en vitamines et en minéraux. Les microalgues peuvent être considérées comme une des sources fiables de nutriments et d'autres substances de valeur pouvant satisfaire le besoin croissant en aliment et en énergie (Barka and Blecker, 2016).

Les microalgues sont de riches sources de glucides, de protéines et de lipides. Elles ont été utilisées comme source de nutriments pour les humains en Chine, au Japon, en Afrique et au Mexique en raison de leur composition abondante en protéines (jusqu'à 70% du poids sec), vitamines et les acides gras essentiels. Jusqu'à aujourd'hui, *Chlorella* et *Spirulina* sont été les microalgues alimentaires les plus vendues, car elles peuvent pousser plus rapidement. Les microalgues sont également utilisées dans l'alimentation humaine en raison de leur valeur nutritionnelle et de leurs bienfaits pour la santé. Certaines espèces de microalgues sont riches en protéines, en acides gras essentiels, en vitamines, en minéraux et en antioxydants (Person, 2011).

L'intérêt pour la Chlorelle comme aliment a commencé à la fin des années quarante, époque à laquelle on craignait que la surpopulation ne mène à une crise alimentaire mondiale (Céline, 2013). Les microalgues peuvent être consommées sous forme de poudre, de comprimés, de capsules ou d'ingrédients dans les aliments et les boissons. Cependant, il est important de noter que certaines espèces de microalgues peuvent contenir des toxines ou des contaminants, il est donc important de choisir des sources fiables et sûres de microalgues pour la consommation humaine.

#### **9.4. Alimentation animal**

Les microalgues sont également utilisées dans l'alimentation animale en raison de leur richesse en nutriments essentiels et de leurs nombreux avantages pour la santé des animaux. Elles peuvent être utilisées comme ingrédients dans les aliments pour animaux de compagnie, les aliments pour poissons d'élevage, les aliments pour volailles, les aliments pour porcs et d'autres animaux d'élevage (Barsanti et Gaultieri, 2005). Si faire consommer aux humains des micro-algues peut s'avérer compliqué pour des raisons. Culturelles (Julie, 2010), les microalgues peuvent être incorporées dans l'alimentation d'une grande variété d'animaux allant des poissons (aquaculture) aux animaux domestiques et d'élevage (Spolaore et al., 2006).

L'utilisation des microalgues dans l'alimentation animale présente des avantages tels que l'amélioration de la valeur nutritionnelle des aliments, la réduction de la dépendance aux sources traditionnelles de nutriments et la promotion d'une production animale durable. Cependant, il est important de garantir la qualité et la sécurité des microalgues utilisées dans l'alimentation animale, en choisissant des sources fiables et en respectant les réglementations en matière d'alimentation animale (Person, 2011). Les espèces de microalgues couramment utilisées pour l'alimentation animale comprennent *Chlorella*, *Isochrysis*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis*, *Dunaliella*, *Scenedesmus*, *Thalassiosira* et *Skeletonema* (Bhalamurugan et al., 2018).

#### **9.5. Application en aquaculture**

Les microalgues sont utilisées comme aliment pour les larves de poissons et de crustacés en aquaculture. Elles fournissent une source nutritive riche en acides gras essentiels et en caroténoïdes, favorisant ainsi la croissance et la coloration des animaux marins élevés en captivité. Les micro-algues sont essentielles au cours des processus d'écloserie et de nurserie de mollusques de bivalves, crevettes, et quelques élevages de poissons. Les microalgues sont souvent utilisées dans les aliments pour poissons d'élevage, en particulier pour les poissons marins tels que le saumon, la truite et le bar. Elles sont riches en acides gras oméga-3, en protéines, en vitamines et en minéraux, qui sont essentiels pour la croissance et la santé des poissons. Les microalgues peuvent également améliorer la coloration des poissons, en particulier grâce à la présence de pigments tels que l'astaxanthine (Person, 2011).

En 1999, l'utilisation des micro-algues en aquaculture présentait une répartition de 62% pour mollusques, 21% pour les crevettes, et 16% pour les poissons. Les perspectives d'utilisation des microalgues en tant que denrées alimentaires et aliments pour animaux résident

dans la diversité de la composition de la biomasse. Celle-ci peut être obtenue soit par la sélection de souches (tableau 1), soit par la manipulation des conditions de croissance. En effet, elles sont capables de moduler leur composition biochimique en réponse à un changement de leur environnement.



**Figure 11:** Exemples de produits issus des micro-algues (de Rosbo and Bernard, 2014).

## 9.6. Molécules de haute valeur

Les molécules à haute valeur ajoutée constituent une catégorie très variée. Elles vont des lipides, protéines et hydrates de carbone, qui ont des applications alimentaires et nutraceutiques, aux pigments et stérols, qui ont des applications cosmétiques et pharmaceutiques (Barsanti et Gaultieri, 2005). Ce large éventail d'applications s'explique par le fait que les microalgues sont l'une des formes de vie les plus anciennes sur terre. Elles ont évolué et se sont adaptées pendant des milliards d'années, ce qui leur confère une diversité et une complexité extraordinaires (Grama et al., 2014c).

### 9.6.1. Acides gras

Les acides gras sont des acides carboxyliques à longues chaînes aliphatiques, ramifiées ou droites, qui peuvent être saturés ou insaturés. En fonction du nombre de doubles liaisons, les AG sont classés en AG monoinsaturés (AGMI, avec une double liaison) ou en AG polyinsaturés (AGPI, avec  $\geq 2$  doubles liaisons). En outre, les AGPI sont classés en acides gras oméga-3 ( $\omega$ -3) ou oméga-6 ( $\omega$ -6) en fonction de la position de la première double liaison à

partir de l'extrémité méthyle. Il existe deux groupes principaux de lipides dans les microalgues : les lipides produits par la photosynthèse et stockés dans la cellule, appelés lipides de stockage (principalement des triglycérides), et les lipides faisant partie intégrante de la structure cellulaire, appelés lipides structuraux (phospholipides et stérols).

Les acides gras font partie des lipides de stockage. Ils représentent l'un des métabolites primaires. Parmi eux, on distingue les acides gras polyinsaturés (AGPI). Ce sont des biomolécules constituées d'une longue chaîne d'hydrocarbures insaturés contenant plus d'une double liaison et présentant des propriétés intéressantes pour les industries alimentaires et pharmaceutiques (Grama et al., 2014b).

Les AGPI sont connus pour jouer un rôle important dans la réduction des maladies cardio-vasculaires, l'obésité, le métabolisme des cellules comprenant la régulation de la fluidité membranaire, le transport des électrons et de l'oxygène, ainsi que la capacité d'adaptation thermique (Julie, 2010).

**Tableau 1 :** Des AGPI microalgaux particulièrement intéressants.







PUFA	Structure	Potential application	Microorganism producer
$\gamma$ -Linolenic acid (GLA)	18:3 $\omega$ 6, 9, 12	Infant formulas for full-term infants Nutritional supplements	<i>Arthrospira</i>
Arachidonic acid (AA)	20:4 $\omega$ 6, 9, 12, 15	Infant formulas for full-term/preterm infants Nutritional supplements	<i>Porphyridium</i>
Eicosapentaenoic acid (EPA)	20:5 $\omega$ 3, 6, 9, 12, 15	Nutritional supplements Aquaculture	<i>Nannochloropsis</i> , <i>Phaeodactylum</i> , <i>Nitzschia</i>
Docosahexaenoic acid (DHA)	22:6 $\omega$ 3, 6, 9, 12, 15, 18	Infant formulas for full-term/preterm infants Nutritional supplements Aquaculture	<i>Cryptocodinium</i> , <i>Schizochytrium</i>

### 9.6.2. Les pigments

Au sein de cette grande classe, les caroténoïdes sont divisés en deux groupes : les carotènes et les xanthophylles. Les premiers sont des hydrocarbures sans oxygène tels que l' $\alpha$ -carotène et le  $\beta$ -carotène, tandis que les seconds sont des dérivés oxygénés des carotènes (lutéine, violaxanthine, zéaxanthine, fucoxanthine, astaxanthine, entre autres). Les principales sources de caroténoïdes sont les microalgues appartenant à la classe des Chlorophycées. Ces microalgues sont capables de produire une large gamme de pigments : des carotènes ( $\beta$ -carotène, lycopène) ainsi que des xanthophylles (astaxanthine, violaxanthine, antéaxanthine, zéaxanthine, néoxanthine et lutéine, entre autres). D'autres pigments, comme la fucoxanthine,

la diatoxanthine et la diadinoxanthine sont produits par d'autres phyla de microalgues (Grama et al., 2016a). Les micro-algues contiennent une multitude de pigments associés au captage de la lumière incidente. En plus de la chlorophylle (le principal pigment photosynthétique) les plus pertinents sont les phycobiliprotéines (qui améliorent le rendement d'utilisation de l'énergie lumineuse) et les caroténoïdes (qui protègent les algues contre le rayonnement solaire excessif et les effets connexes). Les caroténoïdes issus des micro-algues présentent déjà de nombreuses applications sur le marché. Le  $\beta$ -carotène de *Dunaliella* est valorisé dans les aliments pour la santé en tant que précurseur de la vitamine A ; la lutéine, la zéaxanthine et la canthaxanthine servent-elles à la coloration de la peau des poulets, ou à des fins pharmaceutiques. Avec la demande croissante de molécules d'origine naturelle, et les prévisions de suppression de certains colorants de synthèse, le marché des caroténoïdes issus des micro-algues offre des perspectives commerciales élevées (Julie, 2010).

Les caroténoïdes peuvent s'accumuler dans les chromoplastes, les amyloplastes, les élaïoplastes, les leucoplastes et les étioplastes des fruits, des fleurs, des racines et des graines. Les tissus verts de la plupart des plantes présentent des profils de caroténoïdes analogues : Les caroténoïdes élémentaires pour la photosynthèse, tels que la lutéine, le carotène, la violaxanthine, la néoxanthine et la zéaxanthine, sont invariablement retrouvés, et les quantités de ces caroténoïdes sont bien conservés. Des quantités importantes de caroténoïdes sont présentes dans les parties vertes des plantes comprenant les feuilles où la chlorophylle masque les caroténoïdes.

<b>Chlorophylles</b>		
	a – b	vert/bleu-vert
<b>Phycobiliprotéines</b>		
	Phycoérythrine	rose, rouge, violet
	Phycocyanine	bleu
	Allophycocyanine	bleu-vert
<b>Caroténoïdes</b>		
	$\alpha$ – $\beta$ – $\gamma$ carotène	jaune
	Xanthophylles (lutéine)	orange, brun-rouge

**Figure 12:** Différents pigments présents chez les micro-algues (Céline, 2013).

### **9.6.3. Les vitamines**

Ces composés bioactifs sont des métabolites importants en raison de leurs propriétés de précurseurs de certains cofacteurs enzymatiques importants. En outre, ils jouent un rôle antioxydant essentiel en piégeant les ROS. Ainsi, la majorité des études sur la production de vitamines par les microalgues ont été menées sur des souches utilisées en aquaculture (Barsanti et Gaultieri, 2005). Dans le contexte de l'aquaculture, les microalgues marines sont capables de synthétiser et d'accumuler une large gamme de vitamines, notamment la provitamine A, certaines vitamines du groupe B (B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9 et B12), la vitamine C et la vitamine E, entre autres (Galasso et al., 2019).

Bien que de nombreuses microalgues soient auxotrophes vis-à-vis des vitamines, certaines espèces sont capables d'en produire (Sathasivam et al., 2019). Entre autres, *Dunaliella salina*, outre la provitamine A, synthétise la thiamine (vitamine B1), la riboflavine (vitamine B2), la pyridoxine (vitamine B6), la biotine (vitamine B8), les vitamines C et E (tocophérols) (De Jesus Raposo et al., 2013). *Porphyridium cruentum* est riche en tocophérols. *Arthrospira* sp, *Haematococcus* sp, *Chlorella* sp produisent également la niacine (vitamine B3), l'acide pantothénique (vitamine B5), et l'acide folique (vitamine B9) (Person, 2011).

### **9.6.4. Les polysaccharides**

Les microalgues sont un excellent réservoir de polysaccharides qui ont une bioactivité différente, notamment anti-inflammatoire, antioxydante et anticancéreuse. Par exemple, *C. stigmatophora* et *P. tricorutum* peuvent produire des extraits de polysaccharides ayant une activité anti-inflammatoire. Les polysaccharides obtenus à partir de *Tetraselmis* sp, *Pavlova viridis*, *Sarcinochrysis marina*, *Porphyridium* sp. Présentent une activité antioxydante significative révélée par des essais antioxydants. Au même titre que les autres cellules végétales, les microalgues produisent différents types de polysaccharide (Villay, 2013). Les polysaccharides microbiens suscitent un intérêt croissant pour leurs applications potentielles dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques, en concurrence avec d'autres polysaccharides naturels obtenus à partir de plantes et de macroalgues.

### **9.7. Traitement des eaux usées**

Les microalgues jouent un rôle important dans le domaine de l'environnement. Elles sont utilisées pour le traitement des eaux usées, où elles absorbent les nutriments et les polluants, réduisant ainsi la pollution de l'eau. De plus, les microalgues peuvent être utilisées dans la dépollution des sols et la capture du dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) pour lutter contre le

changement climatique (Barsanti et Gaultieri, 2005). Les micro-algues sont capables d'assimiler de nombreux nutriments nécessaires à leur croissance, elles peuvent donc éliminer certains éléments présents dans les eaux usées. Elles permettent ainsi de baisser les taux de phosphates et nitrates. Elles ont une action détoxifiante et dépolluante et peuvent agir selon deux modes :

- soit directement grâce à leur capacité à fixer les métaux lourds,
- soit indirectement afin de fournir de l'oxygène dissous aux bactéries permettant la dépollution des eaux contaminées (Céline, 2013) .

### **9.8. Bio-atténuation des émissions de CO<sub>2</sub>**

Les microalgues sont capables de bio-atténuer les émissions de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) grâce à leur capacité de photosynthèse. Pendant la photosynthèse, les microalgues absorbent le CO<sub>2</sub> de l'atmosphère et utilisent l'énergie solaire pour convertir le CO<sub>2</sub> en biomasse, tout en libérant de l'oxygène. Cette capacité des microalgues à capturer le CO<sub>2</sub> et à le transformer en biomasse en fait une solution prometteuse pour la réduction des émissions de CO<sub>2</sub> et l'atténuation du changement climatique (Person, 2011).

Les microalgues peuvent fixer le dioxyde de carbone provenant de différentes sources, qui peuvent être classées comme (1) CO<sub>2</sub> de l'atmosphère, (2) CO<sub>2</sub> des gaz d'échappement industriels (par exemple, gaz de combustion et gaz de torçage) et (3) CO<sub>2</sub> fixe sous forme de carbonates solubles (par exemple, NaHCO<sub>3</sub> et Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (Wang et al., 2008).

### **10. Effets de la composition du milieu sur la croissance des microalgues**

La manipulation de l'environnement de croissance des algues peut modifier les caractéristiques de croissance et la composition chimique des cellules cultivées dans les conditions appliquées (Bouzidi et al., 2022). Parmi les différents composants du milieu de culture, la source et la concentration d'azote peuvent provoquer des changements importants dans la croissance et la composition biochimique des espèces de microalgues. On sait également que la composition chimique des cellules de microalgues varie au cours de leur phase de croissance, notamment en ce qui concerne leur composante (Grama et al., 2014c).

Les microalgues, (comme la plupart des cellules) sont composées principalement de protéine ,de glucides et de lipides (Brown et al., 1997) . Pour pouvoir se multiplier, le milieu de culture doit pouvoir subvenir aux besoins des organismes. Cependant, les cellules peuvent

adapter leur composition afin de pouvoir se développer dans certaines conditions de stress ou de carence (Villay, 2013) .

### **10.1. Azote**

L'azote est également un macronutriment essentiel à la production de lipides. La source d'azote complexe pourrait être supérieure à la source d'azote simple dans la culture hétérotrophe des microalgues, car elle pourrait fournir simultanément des acides aminés, des vitamines et des facteurs de croissance. Pour le développement des microalgues, l'azote est indispensable. En effet, c'est un élément constitutif des acides aminés qui composent les protéines et il représente entre 1 et 10% de la biomasse sèche. Dans des cultures en auto- et hétérotrophie les sources d'azote sont principalement minérales ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$  et  $\text{NO}_2^-$ ) mais il existe également des sources organiques telles que l'urée et les acides aminés. Lors de l'assimilation des nitrates il y a augmentation du pH. Cette assimilation est très énergétivore pour la cellule et nécessite une consommation importante de protons. Les nitrates sont transportés dans les cellules puis ils sont réduits en nitrite par une nitrate réductase. Cette réaction utilise 2 électrons. Il existe un lien entre le métabolisme de l'azote et celui du carbone. En effet, les glucides sont des activateurs de la transcription des nitrates réductases. L'exposition à carence d'azote plus longue entraîne non seulement une augmentation de la teneur en lipides totaux, mais aussi une augmentation de la teneur en TG (Barsanti et Gaultieri, 2005).

### **10.2. Le phosphore et le soufre**

Bien qu'il ne représente que 1% de la biomasse totale, le phosphore est également un nutriment majeur pour la croissance des microalgues. Il participe à plusieurs processus cellulaires tels que le transfert d'énergie (ATP) et la synthèse d'acides nucléiques et de phospholipides. Tout comme l'azote, une carence en phosphore entraîne une diminution de la croissance cellulaire. Le soufre est également important pour le développement des cellules microalgales. Il entre dans la composition de certains acides aminés, tels que la cystéine et la méthionine, mais aussi dans la formation du coenzyme A, impliqué dans le métabolisme énergétique. Il est utilisé par les organismes photosynthétiques principalement sous forme de sulfate ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) (Gargouch, 2018). Par conséquent, des niveaux élevés de concentration d'hydrogénophosphate de potassium et de sulfate de magnésium devraient augmenter le rendement de la biomasse dans la situation actuelle et dans les fourchettes expérimentales utilisées. Il est conclu que des niveaux élevés de phosphate et de sulfate dans la gamme des variables expérimentales sont souhaitables, mais que leurs effets individuels dépendent des concentrations de nitrate et de citrate, respectivement (Person, 2011).

### **10.3. Le carbone**

La concentration en CO<sub>2</sub> a joué un rôle important dans l'augmentation de la productivité lipidique puisque la croissance a été fortement affectée par la concentration en CO<sub>2</sub>. À un débit de CO<sub>2</sub> de 0 à 20 ml/min, la productivité lipidique pendant l'épuisement de l'azote pouvait être plus élevée que celle obtenue à la fin de la phase linéaire pendant l'alimentation normale. À une concentration de CO<sub>2</sub> plus élevée, la croissance sous alimentation normale a donné une productivité lipidique plus élevée. Cependant, en réduisant le temps d'incubation de l'épuisement de l'azote, une teneur en lipides plus élevée ainsi qu'une productivité lipidique plus élevée peuvent encore être obtenues dans ces conditions. Une productivité lipidique plus élevée peut être obtenue en variant non seulement la durée de la privation de nutriments, mais aussi la durée de la nutrition normale. Le dioxyde de carbone est un élément nécessaire pour l'activité photosynthétique. Il est généralement admis qu'un kg d'algues absorbe entre 1,65 et 1,8 kg de CO<sub>2</sub>, car la biomasse des algues est composée de 45 % à 50 % de carbone. Selon plusieurs études expérimentales, une injection d'air enrichi en CO<sub>2</sub> dans la culture favorise la croissance des algues. Des concentrations de CO<sub>2</sub>, de 1 à 15 v/v% ont été testées sur plusieurs espèces telles que *Chlorella vulgaris*, *Monoruphidium minutum*, *Scenedesmus obliquus*, et *Dunaliella tertiolecta*. Actuellement, des études proposent l'utilisation de fumées de centrales électriques pour récupérer principalement le CO<sub>2</sub> et potentiellement d'autres gaz tels que le NO<sub>x</sub> et le SO<sub>x</sub>. Néanmoins, il faut traiter les fumées avant de les injecter dans la culture (e.g. en contrôlant la température) (Rengel, 2010).

## **11. Paramètres du développement des microalgues**

### **11.1. Température**

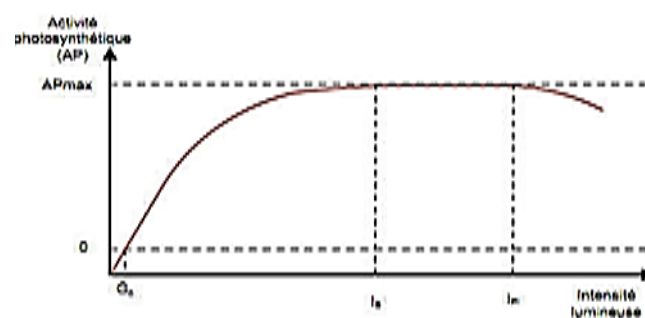
En plus des nutriments et de la lumière, la croissance des microalgues dépend également de la température (Gargouch, 2018). La température est un autre facteur important dans la croissance des microalgues et influence directement les processus biochimiques, y compris la photosynthèse, dans l'usine de cellules algales. Chaque espèce a sa propre température de croissance optimale. L'augmentation de la température jusqu'à la plage optimale augmente de manière exponentielle la croissance des algues, mais une augmentation ou une diminution de la température au-delà du point optimal retarde ou même arrête la croissance et l'activité des algues (Khan et al., 2018a). La plage de température optimale pour la plupart des espèces d'algues est de 20 à 30 °C (Singh and Singh, 2015). En effet, il existe des microalgues mésophiles qui se développent à des températures comprises entre 20 et 25 °C, d'autres thermophiles qui se multiplient à des températures supérieures à 40 °C et enfin psychrophiles

dont les températures de croissance sont inférieures à 17 °C. Chaque espèce de microalgue est alors caractérisée par une température de croissance optimale (Gargouch, 2018) .

## 11.2. Lumière

La lumière est sans doute l'un des facteurs les plus importants pour la croissance des microalgues. En tant que réaction endothermique, la fixation du carbone nécessite de l'énergie et celle-ci est principalement fournie par la lumière. Cette énergie permet aux cellules de microalgues de subir le processus de photosynthèse qui convertit le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) en composés organiques tels que les glucides et les protéines tout en libérant de l'oxygène en tant que déchet (Blinová et al., 2015) . Des intensités lumineuses plus élevées augmenteront le taux de photosynthèse jusqu'à un certain point maximum, après quoi il se stabilise jusqu'à ce que le taux de photosynthèse soit équilibré par la photorespiration et la photoinhibition. Ainsi, l'intensité lumineuse optimale doit être déterminée expérimentalement dans chaque cas pour maximiser l'assimilation du CO<sub>2</sub> avec un taux minimum de photorespiration et aussi peu de photoinhibition que possible (Khan et al., 2018b).

Les autres facteurs importants sont l'aération et l'intensité lumineuse. Une meilleure croissance pour un bioréacteur à airlift que pour une colonne non aérée. Cela s'explique par le fait que l'aération permet un meilleur mélange de la culture de microalgues, ce qui empêche la sédimentation, maintien des conditions homogènes et permet un meilleur contact entre les cellules et les nutriments. Cet auteur rapporte également une augmentation de la densité cellulaire et du taux de croissance spécifique avec une augmentation de l'intensité lumineuse jusqu'à une certaine limite, au-delà de laquelle la croissance est inhibée (Barsanti et Gaultieri, 2005).



**Figure 13 :** Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse (Masojidek et al, 2004).

**G :** Intensité de compensation (il n'y a pas d'activité de photosynthèse).

**Is :** L'intensité lumineuse de saturation (l'intensité du taux de photosynthèse est maximale).

**Ip :** L'intensité lumineuse d'inhibition (l'intensité où l'activité de la photosynthèse est inhibée par la lumière) (Yun et Park, 2003 ; Csögör et al, 1999).

### **10.3. pH**

La plage de pH pour la plupart des espèces d'algues cultivées se situe entre 7 et 9, la plage optimale étant de 8,2 à 8,7, bien qu'il existe des espèces qui vivent dans des environnements plus acides / basiques. L'effondrement complet de la culture dû à la perturbation de nombreux processus cellulaires peut résulter d'un échec à maintenir un pH acceptable. Ce dernier est réalisé en aérant la culture. Dans le cas de la culture d'algues à haute densité, l'ajout de dioxyde de carbone permet de corriger l'augmentation du pH, qui peut atteindre des valeurs limites allant jusqu'à pH 9 lors de la croissance des algues (Barsanti And Gualtieri, 2014). L'absorption du CO<sub>2</sub> dans les eaux alcalines peut être accélérée par l'une des deux principales voies de réaction non catalysées, l'hydratation du CO<sub>2</sub> et la réaction acido-basique subséquente pour former l'ion bicarbonate et la réaction directe du CO<sub>2</sub> avec l'ion hydroxyle pour former le bicarbonate (Person, 2011).

### **10.4. Salinité**

Les algues marines sont extrêmement tolérantes aux changements de salinité. La plupart des espèces poussent mieux à une salinité légèrement inférieure à celle de leur habitat naturel, qui est obtenue en diluant l'eau de mer avec de l'eau du robinet. Des salinités de 20 à 24 g L<sup>-1</sup> sont optimales (Barsanti and Gualtieri, 2014).

## **Conclusion**

## **12. Conclusion**

L'augmentation spectaculaire de la population mondiale, les préoccupations concernant l'équilibre écologique, la pollution, la demande mondiale d'énergie à défaut de pétrole et de charbon ont tous conduit à s'orienter vers une attitude plus «bio», ce qui signifie une augmentation générale de l'attention portée aux ressources renouvelables.

La diversité biologique des microalgues fournit une gamme exceptionnelle d'adaptabilité et représente un vaste potentiel en tant que source d'alimentation humaine et animale, biomatériaux, molécules originales en biotechnologie. Les microalgues ont été proposées comme une source naturelle intéressante presque illimitée, dans la recherche de nouveaux principes actifs naturels, et plusieurs travaux ont montré la possibilité de trouver des composés bioactifs.

Bien que la production industrielle de microalgues soit déjà établie depuis longtemps, les coûts de production élevés et les contraintes technologiques, ainsi que les lacunes dans la compréhension scientifique de la culture des algues à grande échelle, limitent la commercialisation de la biomasse en tant que produits à haute valeur ajoutée

La manipulation des conditions environnementales telles que la composition du milieu de culture peut influencer la production de ces bioproduits de valeur. Des efforts de recherche supplémentaires pour mieux comprendre les structures et/ou les mécanismes de production sont nécessaires pour espérer en faire des technologies émergentes dans les années à venir.

## **Références bibliographiques**

Références bibliographiques

Alcaine, A.A., 2010. Biodiesel from Microalgae. Kungliga Tekniska Högskolan, Stockholm, Sweden.

Barka, A., Blecker, C., 2016. Microalgae as a potential source of single-cell proteins. A review. *BASE* 427–436. <https://doi.org/10.25518/1780-4507.13132>

Barsanti, L., paolo Gualtieri, 2014. *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology*, Second Edition.

Bhalamurugan, G.L., Valerie, O., Mark, L., 2018. Valuable bioproducts obtained from microalgal biomass and their commercial applications: A review. *Environ. Eng. Res.* 23, 229–241. <https://doi.org/10.4491/eer.2017.220>

Blinová, L., Bartošová, A., Gerulová, K., 2015. Cultivation of Microalgae (*Chlorella vulgaris*) For Biodiesel Production. *Res. Pap. Fac. Mater. Sci. Technol. Slovak Univ. Technol.* 23, 87–95. <https://doi.org/10.1515/rput-2015-0010>

Bouzidi, N. E., Grama, S. B., Khelef, A. E., Yang, D., & Li, J. (2022). Inhibition of antioxidant enzyme activities enhances carotenogenesis in microalga *Dactylococcus dissociatus* MT1. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10.

Brown, L.M., Zeiler, K.G., 1993. Aquatic biomass and carbon dioxide trapping. *Energy Convers. Manag.* 34, 1005–1013. [https://doi.org/10.1016/0196-8904\(93\)90048-F](https://doi.org/10.1016/0196-8904(93)90048-F)

Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K., Dunstan, G.A., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151, 315–331. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(96\)01501-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(96)01501-3)

Céline, D., 2013. Eco-extraction et analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant. L'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.

Chevanton, M.L., 2013. Interactions microalgues-bactéries en système expérimental bispécifique : effets sur la croissance de *Dunaliella* sp.

Jeffryes, C., Severi, V., Delhay, A., Urbain, B., Grama, B. S., & Agathos, S. N. (2016). Energy conversion in an internally illuminated annular-plate airlift photobioreactor. *Engineering in Life Sciences*, 16(4), 348-354.

Costa, J.A.V., de Morais, M.G., 2011. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. *Bioresour. Technol.* 102, 2–9. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.014>

David, C. (Ed.), 2007. *Improvement of crop plants for industrial end uses*. Springer, Dordrecht ; London.

de Rosbo, G.K., Bernard, O., 2014. Évaluation du gisement potentiel de ressources algales pour l'énergie et la chimie en France à horizon 2030.

Filali, R., 2012. Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO<sub>2</sub>. (Thèse De Doctorat). Ecole Doctorale « Sciences et Technologies de l'Information des Télécommunications et des Systèmes », Paris.

- Grama, B. S., Chader, S., Khelifi, D., Agathos, S. N., & Jeffryes, C. (2014). Induction of canthaxanthin production in a *Dactylococcus* microalga isolated from the Algerian Sahara. *Bioresource technology*, 151, 297-305.
- Grama, B. S., Chader, S., Khelifi, D., Stenuit, B., Jeffryes, C., & Agathos, S. N. (2014). Characterization of fatty acid and carotenoid production in an *Acutodesmus* microalga isolated from the Algerian Sahara. *biomass and bioenergy*, 69, 265-275.
- Grama, B. S., Delhaye, A., Chader, S., Khelifi, D., Agathos, S. N., & Jeffryes, C. (2014). Canthaxanthin, astaxanthin and adonixanthin production from a *Dactylococcus* microalga in a new flat plate airlift photobioreactor. *Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences*, 79, 65.
- Grama, B. S., Delhaye, A., Agathos, S. N., & Jeffryes, C. (2016).  $\beta$ -Carotene and Other Carotenoids and Pigments from Microalgae. *Industrial Biotechnology of Vitamins, Biopigments, and Antioxidants*, 265-286.
- Gaël, B., Bruno, S.-J., 2014. Microalgues: de petits végétaux aux grandes promesses !
- Julie, P., 2010. Algues, filières du futur.
- Khan, M.I., Shin, J.H., Kim, J.D., 2018a. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microb. Cell Factories* 17, 36. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>
- Khan, M.I., Shin, J.H., Kim, J.D., 2018b. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microb. Cell Factories* 17, 36. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>
- Lesueur, M., Le Bras Quentin, Ritter Léa, Fasquel Dimitri, Lucas Sterenn, Gouin Stéphane, 2014. © Agrocampus Ouest 2014.
- Lu, W.-J., Hwang, S.-J., Chang, C.-M., 1995. Liquid velocity and gas holdup in three-phase internal loop airlift reactors with low-density particles. *Chem. Eng. Sci.* 50, 1301–1310. [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(95\)98842-3](https://doi.org/10.1016/0009-2509(95)98842-3)
- Lucchetti, A., 2014a. Modélisation et conception d'un système de culture de microalgues. l'École nationale supérieure des mines de Paris, Paris.
- Lucchetti, A., 2014b. Modélisation et conception d'un système de culture de microalgues.
- Nagarajan, D., Lee, D.-J., Kondo, A., Chang, J.-S., 2017. Recent insights into biohydrogen production by microalgae – From biophotolysis to dark fermentation. *Bioresour. Technol.* 227, 373–387. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.12.104>
- Pulz, O., Gross, W., 2004. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65, 635–648. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1647-x>
- Richmond, A., 2004. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*.
- Singh, R.N., Sharma, S., 2012. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 16, 2347–2353. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.026>

- Singh, S., Kate, B.N., Banerjee, U.C., 2005. Bioactive Compounds from Cyanobacteria and Microalgae: An Overview. *Crit. Rev. Biotechnol.* 25, 73–95. <https://doi.org/10.1080/07388550500248498>
- Singh, S.P., Singh, P., 2015. Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 50, 431–444. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.024>
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., Isambert, A., 2006. Commercial applications of microalgae. *J. Biosci. Bioeng.* 101, 87–96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>
- Stolz, P., Obermayer, B., 2005. Manufacturing Microalgae for Skin Care 120.
- Sumi, Y., 2009. *Microalgae Pioneering the Future — Application and Utilization —*.
- Taleb, A., 2015. Production de biodiesel à partir des microalgues : recherche des souches accumulatrices des lipides et optimisation des conditions de culture en photobioréacteurs. Université Nantes Angers Le Mans, France.
- Villay, A., 2013. Production en photobioréacteurs et caractérisation structurale d'un exopolysaccharide produit par une microalgue rouge, *Rhodella violacea*: application à l'obtention d'actifs antiparasitaires.
- Wang, B., Li, Y., Wu, N., Lan, C.Q., 2008. CO<sub>2</sub> bio-mitigation using microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 79, 707–718. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1518-y>
- Y. Shen, W. Yuan, Z. J. Pei, Q. Wu, E. Mao, 2009. Microalgae Mass Production Methods. *Trans. ASABE* 52, 1275–1287. <https://doi.org/10.13031/2013.27771>