CHAPITRE 7

Potentiel des microalgues

HUBERT BONNEFOND, CHARLOTTE COMBE, JEAN-PAUL CADORET, ANTOINE SCIANDRA, OLIVIER BERNARD

1. Introduction

La première évocation de l'utilisation de microalgues remonte à l'époque du conquistador Cortès, qui rapporta dans ses mémoires l'habitude des Incas de promener à la surface des lacs, des filets très serrés pour récolter une boue verte qu'ils consommaient sous forme de galettes séchées. Bien plus près de nous, la culture industrielle à grande échelle de microalgues a débuté dans les années 1960 au Japon pour une visée aquacole. Aujourd'hui, la production mondiale se situe aux alentours de 15 000 tonnes pour un marché en 2010 estimé entre 600 millions et 3,3 milliards d'euros, soit un prix de revient moyen de la biomasse d'algues ou des molécules extraites entre 40 et 220 €.kg^{-1} (de Rosbo et Bernard, 2014).

Commenté [p1]:

De manière schématique, les produits issus des microalgues peuvent se répartir en trois catégories (figure 7.1) :

- les produits de faible valeur ajoutée dont les coûts de production actuels ne permettent toujours pas d'industrialisation mais qui présentent un fort potentiel ;
- les produits de moyenne/haute valeur ajoutée (10-80 €.kg^{-1}), tels que ceux destinés à l'alimentation humaine, qui sont en plein développement (algue entière) ;
- les métabolites à très haute valeur ajoutée, tels que ceux destinés à la cosmétique, qui sont déjà produits.

Commenté [p2]: pourquoi passer des € aux $?

Dans cette dernière catégorie des métabolites à très haute valeur ajoutée, on retrouve des molécules cibles comme le β-carotène (300-3000 €.kg^{-1}) ou l'astaxanthine (au dessus de 2 000 €.kg^{-1}), dont les prix sont fonction de la qualité. Ces secteurs sont néanmoins très compétitifs, car l'offre déjà présente, issue de l'industrie pétrochimique, a souvent saturé le marché. En revanche, le marché de la nutrition humaine/santé avec des molécules telles que les acides gras polyinsaturés à longues chaînes (typiquement, eicosapentaénoïque [EPA] et docosahexanoïque [DHA]), dont le prix oscille entre 50 et 4 500 €.kg^{-1}, connaît un réel essor,

notamment du fait de l'épuisement des ressources halieutiques, principal pourvoyeur de ces molécules essentielles (Koller *et al.*, 2014 ; de Rosbo et Bernard, 2014).

Commenté [p3]: pas dans la liste biblio

L'objectif de ce chapitre est de présenter ces organismes encore trop mal connus. Le secteur en plein essor de la chimie verte sera plus particulièrement détaillé, du fait de son potentiel pour les prochaines années.

2. Les microalgues : des micro-organismes à macropotentiel

Le terme de microalgue désigne, abusivement, l'ensemble constitué par les micro-organismes unicellulaires photosynthétiques, procaryotes et eucaryotes. Les procaryotes sont représentés par les cyanobactéries (parfois appelées « algues bleu-vert ») alors que les eucaryotes constituent un groupe diversifié, constitué de nombreuses classes (figure 7.2).

Les microalgues constituent un groupe hétérogène d'une grande diversité, supérieure à celle des plantes terrestres. Cette diversité se reflète par la variété de comportements (mobiles, planctoniques ou sessiles), de morphologies, de couleurs et de tailles. Ces organismes mesurent de quelques microns à plusieurs centaines de microns (Cadoret et Bernard, 2008). Un certain nombre de microalgues vivent en symbiose avec d'autres organismes (Richmond, 2008), comme des bactéries ou des champignons (lichens) qui sont capables de produire certains micronutriments et vitamines dont elles ont besoin.

De par cette diversité, associée à une importante plasticité métabolique, les microalgues sont des organismes ubiquistes qui occupent la quasi-totalité des écosystèmes de la planète. Peuplant principalement les environnements aquatiques, saumâtres et dulcicoles, elles ont su également conquérir les sols et une vaste gamme de milieux terrestres. Preuve de la diversité de leurs habitats, certaines espèces ont colonisé des écosystèmes hostiles, tels que les lacs hyper-salés, les glaciers, les déserts et même les sources hydrothermales.

De plusieurs centaines de milliers à quelques millions d'espèces vivraient actuellement sur la planète, dont quelques dizaines de milliers seulement sont référencées. La classification taxonomique (*voir* figure 7.2) de cette diversité demeure complexe et sujette à de fréquentes modifications. Elle est actuellement basée sur diverses propriétés comme la pigmentation, la nature chimique des produits de stockage, l'organisation des membranes photosynthétiques, ou des caractères morphologiques tels que la présence de flagelles, ou encore l'analyse de certaines séquences du génome (Richmond, 2008). Aujourd'hui, l'association de l'analyse des

caractères physiologiques couplée à celle du génome permet de classer ces organismes de manière fiable.

Malgré un intérêt croissant pour la valorisation des microalgues depuis la moitié du XX^{e} siècle, seule une dizaine d'espèces sont aujourd'hui produites à l'échelle industrielle (Spolaore *et al.*, 2006 ; Mata *et al.*, 2010).

3. Un réservoir de molécules innovantes pour de nombreuses applications

La diversité des microalgues, encore peu exploitées, constitue un réel potentiel pour la recherche et l'industrie. Un important travail est réalisé pour le mettre en évidence. À titre d'exemple, plus de 200 projets industriels sur la production de microalgues à vocation énergétique ont été répertoriés pour un montant de 2 milliards d'euros investis, en particulier aux États-Unis (De Rosbo et Bernard, 2014).

La production mondiale de microalgues est actuellement estimée à un peu plus de 15 000 tonnes de matière sèche par an. *Arthrospira (Spirulina) platensis* (~7 000 t/an) est l'espèce la plus cultivée à l'échelle industrielle, suivie par *Chlorella* sp. (~4 000 t/an) et *Dunaliella salina* (~2 000 t/an). Viennent ensuite des espèces présentant un intérêt certain, mais dont la production reste plus anecdotique : *Haematococcus pluvialis*, *Nannochloropsis* sp., *Odontella aurita* et *Isochrysis galbana* (Spolaore *et al.*, 2006 ; Mata *et al.*, 2010).

Une grande diversité de molécules peut ainsi être obtenue telles que des protéines, des acides aminés, des sucres et polysaccharides, des vitamines, des antioxydants, des pigments, ou encore des acides gras polyinsaturés à longues chaînes comme le DHA ou l'EPA (Mata *et al.*, 2010).

Cette richesse intrinsèque offre un potentiel d'innovation pour de nombreux marchés en pleine expansion, notamment dans les domaines de la cosmétique, de la pharmaceutique, de la nutraceutique, de l'énergie, de la nutrition humaine et animale (aquaculture), de la chimie verte ou encore de la bioremédiation (figure 7.3).

Le domaine de la nutrition humaine, en constante expansion depuis 40 ans, constitue la première voie de commercialisation des microalgues. Elles peuvent être utilisées entières ou bien transformées, et sont consommées comme complément alimentaire en raison de leur composition riche en protéines, acides gras polyinsaturés, pigments, vitamines et sels minéraux, ou comme colorant alimentaire naturel (Spolaore *et al.*, 2006). Leurs qualités

nutritionnelles leur confèrent également des applications pour la nutrition animale, en particulier en aquaculture (Marchetti *et al.*, 2012) où les microalgues sont utilisées pour alimenter les stades larvaires des mollusques bivalves, les crustacés ou encore certains alevins de poissons (Cardozo *et al.*, 2007). L'industrie cosmétique apparaît ensuite comme l'un des secteurs les plus lucratifs pour la vente de produits à base de microalgues. Les molécules bioactives issues de ces micro-organismes entrent dans la composition de produits solaires, de maquillage, de soins anti-âge et hydratants, ou capillaires (Spolaore *et al.*, 2006). La chimiodiversité des microalgues offre également la possibilité de développer de nouveaux principes actifs et médicaments. De nombreuses molécules ont des vertus anti-tumorales ou antivirales et présentent des effets protecteurs vis-à-vis des maladies cardiovasculaires (Laurienzo, 2010 ; Ghosh *et al.*, 2015).

Ces dernières années, les microalgues ont également fait l'objet d'une attention particulière dans le domaine des bioénergies (Chisti, 2007 ; Wijffels *et al.*, 2010). En premier lieu, elles présentent des taux de croissance élevés, très supérieurs à ceux des plantes terrestres. Ensuite, certaines espèces possèdent la capacité de stocker d'importantes quantité de lipides, (jusqu'à 50 % de leur poids sec) (Amaro *et al.*, 2011). Enfin, leur production, qui ne nécessite pas de sols fertiles, ne rentre pas en compétition avec la production agricole et offre un fort potentiel de mitigation du CO_2 d'origine industrielle (Gouveia et Oliveira, 2009). Les microalgues sont donc une source potentielle et prometteuse de biocarburants, dits de 3^{e} génération (Mata *et al.*, 2010).

Définition et chiffres clés

Microalgue : ensemble constitué par les micro-organismes unicellulaires photosynthétiques, procaryotes et eucaryotes.
Production industrielle : 15 000 t ; une dizaine d'espèces cultivées, principalement *Arthrospira (Spirulina) platensis* (~7 000 t/an), *Chlorella* sp. (~4 000 t/an) et *Dunaliella salina* (~2 000 t/an).
Marché estimé : 600 millions à 3,3 milliards d'euros en 2010 (cosmétique, pharmaceutique, nutraceutique, énergie, nutrition humaine et aquaculture, chimie verte, bioremédiation).
Prix de revient moyen de la biomasse d'algues ou des molécules extraites : 40 et 220 €.kg^{-1}.
Molécules cibles :
– β-carotène (300-3 000 €.kg^{-1}) ;
– astaxanthine (>2 000 €.kg^{-1}) ;
– acides gras polyinsaturés à longues chaînes (typiquement, EPA et DHA), dont le prix oscille entre 50 et 4 500 €.kg^{-1}.
Production de microalgues à *vocation énergétique* : plus de 200 projets industriels dans le monde pour un montant de 2 milliards d'euros investis.

4. Systèmes de culture de microalgues

L'intérêt croissant pour les microalgues a entraîné une diversification des systèmes de culture adaptés à l'espèce cultivée et aux molécules d'intérêt cibles : les bassins ouverts à haut rendement (aussi appelés « *open ponds* » ou « *raceways* ») et les photobioréacteurs fermés, possédant chacun avantages et inconvénients (Del Campo *et al.*, 2007 ; Grobbelaar, 2009).

4.1. Systèmes ouverts, à grande échelle

Durant les dernières décennies, les cultures de microalgues à grande échelle ont été majoritairement produites dans des systèmes ouverts. Bien que de nombreux procédés existent, ce sont les *raceways* (champ de course) qui ont été les utilisés depuis leur développement dans les années 1950 (figure 7.4). Les *raceways* sont des bassins de faible profondeur (entre 10 et 50 cm), agités mécaniquement à l'aide de roues à aubes. Ils sont considérés à ce jour comme des systèmes économiquement rentables (Langley *et al.*, 2012) malgré leur faible productivité (maximum 20 à 25 $gMS.m^{-2}.j^{-1}$) pour une biomasse inférieure à 0,6 $gMS.L^{-1}$ (Tredici, 2004 ; Norsker *et al.*, 2011). Les conditions de croissance dans un *raceway* sont relativement difficiles à contrôler. Exposés directement à l'atmosphère ambiante, ils sont sujets à contamination. Par ailleurs, ils sont sensibles aux variations quotidiennes et saisonnières de la température et de l'éclairement, et ce d'autant plus qu'ils sont peu profonds. D'importantes pertes d'eau par évaporation sont également observées dans ce type de système (Chisti, 2007). Le brassage peu intense des cultures limite les besoins énergétiques, mais maintient certaines cellules trop longtemps dans des zones d'ombre, réduisant ainsi la productivité.

4.2. Systèmes fermés

Verticaux, horizontaux, plans, annulaires, cylindriques, tubulaires, toriques, spiralés, de type colonne à bulle, en forme de dôme ou encore de pyramide, les photobioréacteurs adoptent une grande variété de géométries (figure 7.5). Les photobioréacteurs sont définis comme des systèmes fermés, fabriqués avec des matériaux transparents et illuminés de façon interne ou externe par une lumière naturelle (solaire) ou artificielle. Leur design cherche à optimiser la distribution de la lumière et à améliorer l'efficacité du mélange. Clos, ils préservent les cultures des contaminations et permettent de contrôler finement les paramètres de croissance (lumière, température, nutriments, pH, volume de culture, niveau de biomasse, distribution en gaz) afin de maximiser la productivité.

Les photobioréacteurs sont plus productifs que les *raceways* (Pulz *et al.*, 2013) avec des productivités au-delà de 40 gMS/m^2/J. Néanmoins, les frais de production, incluant les coûts énergétiques ainsi que ceux liés à leur fabrication et à leur maintenance, sont importants.

5. Stockage de carbone de réserve : des lipides aux carbohydrates

La plupart des algues peuvent constituer des réserves d'énergie et de carbone à la fois sous forme d'amidon (ou d'autres polyglucanes) et de lipides (triglycérides), avec des rapports qui diffèrent en fonction des conditions de croissance. L'accumulation de ces molécules riches en énergie constitue un réservoir tampon indispensable pour vivre dans un milieu fluctuant, et en particulier pour survivre à des périodes de déficit d'énergie lumineuse la nuit, ou dans des zones faiblement éclairées. Ces deux composés sont des réserves d'énergie et de carbone pour les processus de la division cellulaire, tels que la réplication de l'ADN, la division nucléaire, la cytocinèse et la formation de cellules filles. L'amidon est couramment le composé de stockage énergétique primaire produit à partir de la photosynthèse. Il est directement issu de carbohydrates à 3 carbones (3C) comme le 3-phosphoglycérate (3PG) et glycéraldéhyde 3-phosphate (GAP). Cependant, dans certaines conditions encore mal élucidées, cette synthèse commute vers celle de lipides par le biais d'un stockage ultra-compact d'énergie et de carbone, car affranchi de la présence d'eau (38 $kJ.g^{-1}$ contre 17 $kJ.g^{-1}$ pour les carbohydrates). Les lipides de réserve (TAG) servent habituellement de source d'énergie secondaire, et constituent un puits d'électrons lorsque leur production est plus économique pour la cellule que la production d'amidon (habituellement dans des conditions de limitation des éléments nutritifs). La figure 7.6 illustre les connaissances actuelles sur la relation entre les voies métaboliques de synthèse d'amidon et de lipides à partir d'un précurseur commun en C3.

La capacité de surproduire de l'amidon ou des lipides ne se limite pas à des groupes taxonomiques distincts, mais est très répandue à travers les espèces. Dans le cas d'une surproduction de lipides, de l'amidon est souvent synthétisé au début, alors que les lipides commencent à s'accumuler beaucoup plus tard. Même chez les cellules enrichies en lipides, l'amidon reste en quantités faibles, bien que significative, en particulier sous forme de grains autour de pyrénoïdes. Les algues oléagineuses (*Nannochloropsis* et *Trachydiscus*) constituent

le seul groupe connu d'algues apparemment incapable de produire des polyglucanes (Hildebrand *et al.*, 2013). Les diatomées produisent d'importantes quantités de lipides, en particulier en conditions de limitation par des éléments nutritifs. La diatomée marine *Odontella aurita* est notamment utilisée industriellement pour produire des acides gras oméga-3 ainsi que de la chrysolaminarin β-polyglucane.

6. Stockage de carbone et d'énergie

6.1. Stockage de polysaccharides

Les polysaccharides synthétisés puis utilisés par les microalgues comme source d'énergie et de carbone, sont typiquement composés d'unités glucose (polyglucanes) dont la nature varie selon les espèces. L'amidon est le polyglucane le plus commun. Il est produit par la plupart des algues vertes ainsi que par les plantes supérieures. Il comprend deux α-polyglucanes différents, amylose et amylopectine (qui diffèrent par leur degré de ramification), dont le rapport varie entre espèces. L'amylose est la forme linéaire de l'amidon alors que l'amylopectine en est la forme ramifiée. Certaines cyanobactéries, telles que *Myxosarcina burmensis* ou *Synechococcus* sp., synthétisent des α-polyglucanes particuliers, appelés semi-amylopectine. D'autres types de polyglucanes sont observés suivant les classes de microalgues comme par exemple la chrysolaminarine chez les diatomées, l'amidon cytoplasmique (dit floridéen) et le glycogène chez les algues rouges et certaines cyanobactéries ou encore le paramylon chez les Euglénophycées (pour une revue détaillée, voir Hildebrand *et al.*, 2013). Ce sont des β-polyglucanes qui diffèrent des α-polyglucanes par le type de liaisons reliant les sous-unités de glucose (excepté le glycogène, un polysaccharide de glucose multi-branche, similaire à l'amylopectine).

6.2. Production de polyhydroxyalcanoates (PHA)

Certaines espèces, en particulier procaryotes, accumulent des polyhydroxyalcanoates. Ce sont des polymères naturels permettant le stockage de carbone et d'énergie. Le plus simple des PHA est le poly(β-hydroxybutyrate) (PHB). Ce polyester thermoplastique naturel a des propriétés semblables à celles des matières plastiques issues du pétrole mais il est complètement biodégradable. La synthèse de PHA et de PHB a été observée chez plusieurs cyanobactéries, telles que *Spirulina* sp., *Nostoc* sp. ou encore *Synechocystis* sp. (Markou et Nerantzis., 2013). *Spirulina maxima* carencée en azote accumule jusqu'à 0,7 % de son poids

sec en PHB et jusqu'à 1,2 % quand elle est carencée en phosphore. Les concentrations les plus élevées en PHB (38 % du poids sec) ont été obtenues pour des cultures mixotrophes de *Synechocystis* sp. PCC 6803, soumises à la fois à une carence en phosphore, à une réduction des échanges gazeux et à un apport de carbone organique tel que le glucose ou l'acétate (Panda et Mallick, 2007). Des résultats similaires ont été observés chez la cyanobactérie fixatrice d'azote *Nostoc-muscorum* dont la concentration en PHB est multipliée par 5 lorsqu'elle est cultivée en mixotrophie.

7. Les lipides : des molécules abondamment produites par certaines espèces

7.1. Les lipides : une famille de molécules très hétérogènes

Les lipides forment une famille hétérogène de molécules assez atypiques dans la mesure où, contrairement aux carbohydrates, ils ne sont pas définis par rapport à une structure moléculaire particulière mais par rapport à une propriété chimique : ils sont insolubles dans l'eau. Dans le monde vivant, les lipides ont, entre autres, deux grandes fonctions directement issues de leur propriété hydrophobe. La première classe de lipides est au cœur des bicouches lipidiques ou membranes, base structurelle de toutes les cellules et barrières entre les milieux extra- et intracellulaires. Ces lipides membranaires, polaires, sont donc des lipides structurels. La deuxième classe est constituée de lipides neutres (triglycérides ou triacylglycérols) qui servent de réserve à la cellule.

Les lipides représentent une très grande diversité de molécules impliquées dans des structures et des processus biologiques variés (figure 7.7). Les lipides saponifiables, lipides principaux des microalgues, sont à la base de la production de biocarburant. Notons que les caroténoïdes constituent une famille particulière de lipides insaponifiables.

L'unité de base des lipides est l'acide gras. C'est un acide carbonique (groupement COOH) dont la longueur de la chaîne carbonée varie entre 10 et 22 carbones. Chez les microalgues, les chaînes carbonées sont paires et principalement constituées de C16 et C18, bien que cette composition varie fortement d'un taxon à l'autre ainsi qu'avec les conditions de culture (Cadoret et Bernard, 2008). Les lipides saponifiables sont dits amphiphiles. Ils se caractérisent par une queue apolaire composée d'acides gras saturés ou insaturés et par une tête hydrophile composée *a minima* d'un noyau glycérol et, dans le cas des lipides

membranaires, d'un groupement polaire (sucre, alcool, phosphate, etc.). Les deux sont réunis par une liaison ester riche en énergie (figure 7.8).

Les triglycérides sont des lipides « de réserve », une classe de lipides assez homogènes qui ne diffèrent que par la longueur et le degré de saturation de leurs acides gras. Ce sont ces lipides qui permettent la synthèse de biocarburant. Les lipides structurels, par contre, forment une classe plus complexe et se différencient par le groupement polaire de leur tête hydrophile. Les phospholipides, principaux constituants des membranes plasmiques, se subdivisent en phosphatidylglycérol (PG), phosphatidylcholine (PC), ainsi qu'en phosphatidyléthanolamine et phosphatidylsérine. Dans cette famille, le groupement polaire est un phosphate lié à un alcool. Les glycolipides, principalement localisés dans les membranes des chloroplastes, se divisent en monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), digalactosyldiacylglycérol (DGDG) et sulfoquinovosyldiacyl-glycérol (SQDG). Leur groupement polaire est un carbohydrate plus ou moins complexe. Ces lipides polaires jouent un rôle essentiel dans la structure et la fluidité des membranes, ils sont modifiés par les changements de paramètres environnementaux (lumière, température, etc.) et par le stress associé, pour que les membranes puissent conserver leur rôle biologique de support des réactions métaboliques. Si le stress environnemental reste modéré, seule la longueur des chaînes des acides gras et leur degré d'insaturation sont modifiés. En revanche, si les paramètres environnementaux éloignent trop la microalgue de ses conditions optimales de croissance, la proportion des différents lipides polaires est modifiée, pour un coût énergétique plus important.

Commenté [p4]: à valider

7.3. Métabolisme des lipides chez les microalgues

La synthèse des lipides est un processus complexe qui commence par celle des acides gras. Leur synthèse *de novo* s'effectue dans le chloroplaste. La première réaction, qui convertit l'acétyl-CoA en malonyl-CoA, est catalysée par une enzyme clé, l'acétyl-CoA carboxylase (ACCase). La malonyl-CoA est ensuite rapidement transformée en malonyl-ACP. Puis, suite à sa condensation avec une acétyl-CoA et un jeu de réductions et de déshydratations, le précurseur de l'acide gras, le butyryl-ACP, est formé. Ensuite, les condensations successives de malonyl-ACP allongent progressivement la chaîne de deux carbones par cycle (figure 7.9). Il en résulte la formation d'un acide gras saturé, toujours pair et contenant de 16 à 22 carbones. Pour produire un acide insaturé, une double liaison est introduite par une enzyme particulière, la stéaroyl ACP désaturase. Le contrôle des différentes enzymes de cette synthèse est très mal connu. Des expériences sur *Cyclotella cryptica* ont montré que l'activité de l'ACCase augmente de 2 à 4 fois, après 4 et 15 heures de carence en

Commenté [p5]: sens ?

silice respectivement, probablement à cause de modifications de la covalence de l'enzyme (Hu *et al.*, 2008).

La synthèse des lipides complexes utilise probablement la voie métabolique du glycérol (glycolyse). Les acides gras produits sont transférés séquentiellement par une acyl-transférase du groupement acyle de l'acide gras jusqu'à la position 1 et 2 du glycérol-3-phosphate (G3P), formant ainsi un acide phosphatidique (PA) précurseur de nombreux phospholipides. Cet acide peut également être déphosphorilé, formant un diglycéride, élément de base pour la synthèse de la phosphatidylcholine et des glycolipides. Enfin, le diglycéride peut subir une dernière trans-estérification, avec un 3^{e} acyle gras formant un triglycéride (*voir* figure 7.6A). Une voie indépendante de la synthèse d'acide gras a également été rapportée pour la synthèse des triglycérides. Elle consiste à utiliser les acides gras des phospholipides (donneur) pour les transférer à un diglycéride (accepteur). Cette voie pourrait devenir prédominante en cas de stress, et expliquer la dégradation des membranes observée au profit des triglycérides de réserve (Hu *et al.*, 2008). À noter que chez les cyanobactéries, il n'y a pas de synthèse de triglycérides. La figure 7.6B récapitule l'enchaînement des différentes étapes qui vont de la fixation du carbone à la synthèse d'une molécule de triglycéride chez des microalgues eucaryotes.

Comme pour les lipides, les mécanismes déclenchant la synthèse du β-carotène chez *Dunaliella salina* sont encore mal connus. Un stress environnemental (forte intensité lumineuse, carence en nutriment, etc.) est détecté par la cellule *via* un (des) récepteur(s) tel(s) qu'un photorécepteur UV, déclenchant une transduction du signal selon un facteur intermédiaire, par exemple un oxygène singulet. Les radicaux libres sont, en effet, connus pour déclencher la caroténogenèse (Shaish *et al.*, 1993). Néanmoins le récepteur d'un tel facteur intermédiaire n'a encore été détecté chez aucun végétal. L'oxydation des lipides de la membrane du chloroplaste pourrait constituer un deuxième message impliqué dans la cascade de transduction du signal, déclenchant l'activation des enzymes phytoène-synthase et désaturase. Ensuite, la formation des caroténoïdes dérive d'un jeu d'oxydation de la molécule de phytoène formée (figure 7.10) (Lamers *et al.*, 2008).

7.4. Structures de stockage des triglycérides et du β-carotène

Les lipides de réserve sont localisés dans des structures particulières appelées « corps » ou « gouttelettes lipidiques » généralement situées dans le cytosol et visualisables *via* un fluorochrome comme le Nile Red (figure 7.11) (Rumin *et al.*, 2015). Ces organites sont

constitués d'une monocouche de phospholipides, elle-même stabilisée par des protéines aux fonctions multiples et assez mal caractérisées (anticoagulant, contrôle du catabolisme et de l'anabolisme des lipides), à l'intérieur desquelles se situent les triglycérides. L'idée que ces corps lipidiques n'ont pas seulement un rôle de stockage mais qu'ils constituent de véritables organites connectés émerge progressivement (Davidi *et al.*, 2012 ; Ladygin, 2014).

Chez *Dunaliella salina*, il existe probablement une forte corrélation entre triglycéride et β-carotène par le biais de ces organites (Bonnefond *et al.*, 2017). Les gouttelettes lipidiques sont le lieu de stockage de ces molécules extrêmement hydrophobes, et pourraient même agir comme catalyseur de leur production. Le stockage dans les gouttelettes lipidiques déplacerait les équilibres des réactions enzymatiques vers la synthèse du β-carotène.

7.5. Les pigments : des molécules aux multiples propriétés

Outre la chlorophylle (Chl), pigment capable de transformer l'énergie lumineuse en énergie chimique par photosynthèse, les microalgues possèdent une large gamme de pigments « accessoires » : les caroténoïdes et les phycobiliprotéines.

Plus de 600 molécules de caroténoïdes ont été isolées de diverses sources naturelles. Cette famille diversifiée possède néanmoins une structure commune : l'unité isoprène (5 carbones) qui, par une succession de polymérisations, permet d'obtenir un squelette à 40 carbones. Cette base est ensuite modifiée par : i) cyclisation d'une ou deux extrémités, ii) modification du degré d'insaturation, et iii) addition de groupes fonctionnels contenant de l'oxygène (figure 7.12A). Si la molécule possède une ou plusieurs molécules d'oxygène, on parle de xanthophylle (ex. : la lutéine), sinon de carotènes (ex. : l'α-carotène). Les caroténoïdes sont des pigments à fort pouvoir antioxydant, qui présentent de nombreuses applications. Parmi eux, le β-carotène remplit trois grandes fonctions. En premier lieu, il protège les antennes photosynthétiques, en captant l'énergie lumineuse excédentaire pour la photosynthèse et en la dissipant sous forme de chaleur et de rayonnement (double liaison conjuguée). Deuxièmement, c'est un antioxydant. En cas de stress oxydatif, il protège les fonctions vitales de la cellule en neutralisant les radicaux libres produits (figure 7.12B). Enfin, en condition de croissance déséquilibrée (fixation de carbone excédentaire par rapport à la fixation d'azote), le β-carotène constitue un puits capable d'absorber l'excédent de carbone et d'énergie (Lamers *et al.*, 2008).

Le β-carotène est un pigment orange liposoluble, qui offre de nombreuses utilisations en pharmacologie, en cosmétique ainsi que dans les IAA (Lamers *et al.*, 2008). Le β-carotène

extrait de *Dunaliella salina* (*voir* figure 7.12A) est le principal caroténoïde produit. Cette molécule possède deux stéréo-isomères : les formes *trans* et *cis*, aux propriétés biologiques différentes. La synthèse chimique issue de l'industrie pétrolière ne produit qu'un iso-mélange de ces deux isomères. En revanche, le métabolisme cellulaire produit un mélange enrichi en l'une ou l'autre de ces fractions en fonction des conditions environnementales (Ben-Amotz *et al.*, 1988). La forme *trans* est néanmoins plus souvent retrouvée, car plus stable. C'est un précurseur de la vitamine A (provitamine A), essentielle pour la vision et le bon fonctionnement du système immunitaire. Par ailleurs, de nombreuses études ont mis en évidence l'effet du β-carotène sur la prévention de plusieurs types de cancers, de l'athérosclérose ou encore de maladies cardiaques (de Jesus Raposo *et al.*, 2013). L'astaxanthine est un xanthophylle antioxydant anti-inflammatoire commercialisé dans l'industrie pharmaceutique pour son action contre les douleurs musculaires par exemple, mais aussi comme complément alimentaire ou comme colorant rose en aquaculture. D'autres xanthophylles, tels que la lutéine, la zéaxanthine et la canthaxanthine, sont également employés comme colorants alimentaires ou à des fins pharmaceutiques (Naidoo *et al.*, 2013).

Les phycobiliprotéines (ex. : phycocyanine, phycoérythrine) sont présentes chez les cyanobactéries et les rhodophytes. Ces pigments sont utilisés pour des applications alimentaires, cosmétiques et également pharmaceutiques (Naidoo *et al.*, 2013). L'action des phycocyanines dans la défense du système immunitaire et comme agent anti-inflammatoire a récemment été mise en évidence.

8. Facteurs stimulant l'accumulation de carbone de réserve

Les stress tels que l'augmentation du flux lumineux, la limitation ou la carence par des éléments nutritifs sont les approches les plus couramment utilisées pour surproduire les carbohydrates et des lipides. De tels traitements bloquent efficacement la progression du cycle cellulaire, et empêchent la consommation de la plupart des réserves d'énergie et de carbone.

L'amidon, même en conditions de stress induisant une surproduction, conserve la même structure que dans des conditions standard. En revanche, la composition des réserves lipidiques peut varier non seulement en fonction des espèces ou souches, mais également en fonction du type de stress.

8.1. La lumière comme facteur de modification de la teneur en lipides

La lumière a un impact important sur l'accumulation des lipides totaux (Vítová *et al.*, 2015). Le passage d'une faible à une forte intensité lumineuse provoque un accroissement de plus de 40 % des lipides totaux, ainsi qu'une forte augmentation des lipides neutres et une diminution des lipides membranaires (Guihéneuf *et al.*, 2010). Cela favorise également la teneur en acides gras saturés aux dépens des acides gras insaturés (Vítová *et al.*, 2015). Ces effets sont néanmoins à nuancer, car toutes les espèces de microalgues ne semblent pas réagir de la même façon. De plus, l'impact de l'intensité lumineuse sur le carbone de réserve dépend du niveau d'avancement de la cellule dans son cycle (Vítová *et al.*, 2015). Enfin, la corrélation positive entre intensité lumineuse et teneur en lipides est probablement fonction du statut nutritif de la cellule (lui-même influençant la progression du cycle cellulaire). Ceci est particulièrement vrai en phase de croissance, alors que les effets semblent moins marqués lorsque la culture est en phase stationnaire (Van Wagenen *et al.*, 2012).

Le β-carotène répond très fortement aux variations d'intensité lumineuse en tant que photoprotectant. Une augmentation de l'intensité lumineuse de 150 à 650 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$ entraîne chez *D. salina* une augmentation de la concentration en β-carotène de plus de 350 % (Lamers *et al.*, 2010).

Commenté [p6]: Idem

Commenté [ob7R6]: Référence rajoutée

8.2. Température

La température est un paramètre qui influence la cinétique de l'ensemble des protéines cellulaires, parmi lesquelles les enzymes du métabolisme. La réponse des lipides totaux à la température n'est pas très claire (Hu *et al.*, 2008), ce qui traduit la complexité de l'action de ce paramètre. Une augmentation des lipides totaux a pu être observée en réponse à une diminution de la température, ainsi qu'aux températures extrêmes (Ras *et al.*, 2013). Dans d'autres cas, la teneur en lipides totaux est maximale à la température optimale de croissance et une forte corrélation avec le taux de croissance est observée (Roleda *et al.*, 2013 ; Vítová *et al.*, 2015). La composition en acides gras des lipides, mieux connue, est fortement influencée par la température. Le degré d'insaturation augmente avec la température pour permettre à la cellule de conserver une bonne fluidité membranaire (Renaud *et al.*, 2002). Enfin, il n'existe que très peu d'information sur la réponse des différentes classes de lipides à la température (lipides de réserves, lipides membranaires, etc.).

Les faibles températures semblent augmenter la teneur en β-carotène chez *Dunaliella salina* (Gomez et Gonzalez, 2005). Néanmoins, les observations sont souvent divergentes, et il existe trop peu de résultats à ce jour pour dégager une tendance significative. De plus, il est

très probable que la production de β-carotène soit davantage fonction d'un niveau de stress oxydatif de la cellule (forte concentration en radicaux libres) que la réponse spécifique d'un paramètre abiotique (Krol *et al.*, 1997).

8.3. Le dioxyde de carbone

La disponibilité en substrat carboné influence en tout premier lieu le taux de croissance. L'aération de cultures denses avec uniquement de l'air (0,04 % de CO_2) n'étant pas suffisante, il est nécessaire d'injecter de 2 à 5 % de CO_2 dans l'air bullé (Vítová *et al.*, 2015). De plus en plus souvent, l'injection de CO_2 est asservie à un pH de consigne pour satisfaire la demande en carbone. D'une manière générale, l'accumulation des lipides est réduite par une limitation en CO_2. Inversement, les lipides de réserves semblent positivement corrélés avec l'augmentation de la teneur en CO_2 de l'air injecté, cet effet étant exacerbé par une carence en azote (Gordillo *et al.*, 1998). Certaines études ont mis en évidence que des stress de pH basique, en réduisant la croissance, entraînaient une augmentation de la teneur en lipides totaux. Ces mêmes stress exacerberaient également les effets de la carence minérale sur l'accumulation de lipides totaux ou de réserve (Santos *et al.*, 2012).

8.4. La carence en azote, déclencheur de la synthèse des lipides

La carence en azote a été la plus étudiée. La plupart des microalgues y répondent en surproduisant des lipides de réserve (Griffiths et Harrison, 2009 ; Hu *et al.*, 2008). L'absence d'azote inorganique dans le milieu entraîne un arrêt de la synthèse de protéines et donc de la division cellulaire (Breuer *et al.*, 2012). La photosynthèse continue néanmoins de fonctionner sur le pool préexistant d'enzymes, entraînant une fixation excédentaire d'énergie et de carbone. Les effets résultants du déséquilibre entre flux de carbone et d'azote sont partiellement compensés par une production accrue de molécules énergétiques, riches en carbone mais non azotées, comme les lipides, le β-carotène ou encore l'amidon. Chez *Neochloris oleoabundans* par exemple, la carence en azote multiplie par 4 la concentration des lipides par unité de biomasse. La carence entraîne également une augmentation du rapport lipides de réserve/lipides membranaires. Enfin, elle modifie la répartition des acides gras, leur degré d'insaturation décroissant en réponse à la diminution des acides gras polyinsaturés au profit d'acides gras saturés, et particulièrement de l'acide oléique (Breuer *et al.*, 2012).

Si la carence en azote augmente la teneur en lipides de réserve, elle diminue parallèlement le taux de croissance de la biomasse (Breuer *et al.*, 2012 ; Bonnefond *et al.*,

2017), de sorte que la productivité en lipides (Taux de croissance × Concentration en lipides par unité de biomasse × Biomasse) ne s'en trouve pas forcément augmentée. La production industrielle de lipides procède souvent en deux étapes. Dans un premier temps, les cultures sont placées en conditions optimales de croissance pour leur permettre d'atteindre rapidement des biomasses importantes. Dans un deuxième temps, une carence en azote est provoquée, qui stoppe la croissance mais augmente la concentration de lipides. Une autre approche consiste à induire une limitation en azote plutôt qu'une carence. Cette condition est obtenue en renouvelant le milieu de culture et donc l'azote apporté de manière sub-optimale. Cela permet de stimuler la production de lipides tout en maintenant une croissance significative (Lacour *et al.*, 2012 ; Rodolfi *et al.*, 2009).

8.5. Autres carences, mêmes résultats

La carence en phosphore peut également induire une accumulation de lipides. Chez *Nannochloropsis* sp., par exemple, cette carence entraîne une augmentation de la teneur en lipides de 200 % (Rodolfi *et al.*, 2009). Le phosphore est l'un des constituants majeurs des acides nucléiques. Son absence déclenche, comme pour l'azote, un arrêt rapide de la production de macromolécules (ARN, ADN, protéines) et de la croissance, ainsi qu'un déséquilibre des flux de carbone et d'énergie entraînant une accumulation de molécules de réserve, non phosphatées. Se met alors en place une importante restructuration des membranes plasmiques. Les phospholipides, leurs constituants principaux, disparaissent au profit de glycolipides non phosphatées et de bétaïnes (Guschina et Harwood, 2006). Chez certaines espèces (*Scenedesmus* sp., *Chlorella ellipsoidea*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella primolecta*, *Haematococcus pluvialis*…), cette carence modifie le type de carbone de réserve, les microalgues accumulant des lipides au lieu d'amidon (Vítová *et al.*, 2015).

Chez les diatomées, la carence en silice entraîne également une très forte accumulation de lipides. Chez *Cyclotella cryptica*, les teneurs en lipides totaux et neutres se retrouvent multipliées par deux (Sriharan *et al.*, 1991).

La carence en soufre, plus rarement étudiée, a sur le métabolisme des effets analogues à ceux d'une carence en phosphate. La division cellulaire est très rapidement stoppée, principalement à cause de l'arrêt de la réplication de l'ADN. La carence en soufre semble avoir un effet très marqué sur la suraccumulation d'amidon. L'effet semble moins marqué sur les lipides, mais peu d'études existent sur le sujet (Vítová *et al.*, 2015).

Points clés

• Il existe différents systèmes de culture adaptés à l'espèce de microalgues cultivée et aux molécules d'intérêt cibles : les *bassins ouverts à haut rendement* (aussi appelés « *open ponds* » ou « *raceways* ») et les *photobioréacteurs fermés*.
• Les photobioréacteurs sont plus productifs que les *raceways* (productivités > 40 gMS/m^2/j) mais les frais de production associés sont importants.
• L'*amido*n et les *lipides* sont les principaux constituants biochimiques de stockage de l'énergie chez les microalgues.
• Le *métabolisme* des microalgues est déterminé par l'espèce de la microalgues et par les conditions de culture.
• Il est possible de favoriser la surproduction d'amidon et/ou de lipides en appliquant un *stress environnemental* lors de la culture.
• Facteurs pouvant favoriser la *production de lipides* :
– augmentation de l'intensité lumineuse ;
– baisse de température ;
– augmentation de la teneur en CO_2 injecté ;
– carence en azote ou en phosphore.

À noter : la composition des lipides (notamment la composition en acides gras) dépend également des conditions de culture.

9. Conclusion

Les microalgues constituent une ressource à peine explorée. Malgré la grande biodiversité de ces organismes dont le nombre estimé d'espèces va de plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions, seulement quelques-unes sont cultivées à ce jour à l'échelle industrielle. La capacité de nombreuses espèces à fixer du CO_2 et à le stocker efficacement sous forme de polysaccharides et de lipides est particulièrement intéressante. Les microalgues ont jusqu'à présent été cultivées pour des applications à haute valeur ajoutée, notamment pour des pigments et des antioxydants. Les procédés de culture devront donc évoluer pour permettre une réduction des coûts de production et de l'impact environnemental. De nombreux verrous doivent encore être levés tout au long de la chaîne de valeur pour que les microalgues puissent ainsi offrir une ressource variée et abondante à la chimie verte.

Commenté [p8]: quelques-unes ?

BIBLIOGRAPHIE

Amaro HM, Guedes AC, Malcata FX (2011). Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. Appl Energy, 88 (10) : 3402-10.

Baldauf SL (2008). An overview of the phylogeny and diversity of eukaryotes. J Syst Evol, 46 (3) : 263-73.

Ben-Amotz A, Lers A, Avron M (1988). Stereoisomers of β-carotene and phytoene in the alga Dunaliella bardawil. Plant Physiol, 86 (4) : 1286-91.

Bonnefond H, Moelants N, Talec A, et al. (2017). Coupling and uncoupling of triglyceride and beta-carotene production by Dunaliella salina under nitrogen limitation and starvation. Biotechnol Biofuels, 10 : 25.

Breuer G, Lamers PP, Martens DE, et al. (2012). The impact of nitrogen starvation on the dynamics of triacylglycerol accumulation in nine microalgae strains. Bioresour Technol, 124 : 217-26.

Britton G (1995). Structure and properties of carotenoids in relation to function. FASEB J, 9 : 1551-8.

Cadoret JP, Bernard O (2008). La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis. J Soc Biol, 202 : 201-11.

Cardozo KH, Guaratini T, Barros MP, et al. (2007). Metabolites from algae with economical impact. Comparative Biochem Physiol Part C, 146 : 60-78.

Chisti Y (2007). Biodiesel from microalgae. Biotechnol Adv, 25 : 294-306.

Davidi L, Katz A, Pick U (2012). Characterization of major lipid droplet proteins from Dunaliella. Planta, 236 : 19-33.

de Jesus Raposo MF, de Morais RMSC, de Morais AMMB (2013). Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. Life Sci, 93 : 479-86.

Del Campo JA, García-González M, Guerrero MG (2007). Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: current state and perspectives. Appl Microbiol. Biotechnol, 74 : 1163-74.

de Rosbo G, Bernard O (2014). Evaluation du gisement potentiel de ressources algales pour l'énergie et la chimie en france a horizon 2030. Rapport ADEME.

Ghosh T, Paliwal C, Maurya R, Mishra S (2015). Microalgal rainbow colours for nutraceutical and pharmaceutical applications. In: Bahadur B, Rajam MV, Sahijram L, Krishnamurthy KV. Plant biology and biotechnology. Springer, New Delhi, p. 777-791.

Gomez PI, Gonzalez MA (2005). The effect of temperature and irradiance on the growth and carotenogenic capacity of seven strains of Dunaliella salina (Chlorophyta) cultivated under laboratory conditions. Biol Res, 38 : 151-62.

Gordillo F, Goutx M, Figueroa F, Niell F (1998). Effects of light intensity, CO_2 and nitrogen supply on lipid class composition of Dunaliella viridis. J Appl Phycol, 10 : 135-44.

Gouveia L, Oliveira AC (2009). Microalgae as a raw material for biofuels production. J Ind Microbiol Biotechnol, 36 : 269-74.

Griffiths MJ, Harrison STL (2009). Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. J Appl Phycol, 21 : 493-507.

Grobbelaar JU (2009). Factors governing algal growth in photobioreactors: the "open" versus "closed" debate. J Appl Phycol, 21 : 489-92.

Guihéneuf F, Fouqueray M, Mimouni V, et al. (2010). Effect of UV stress on the fatty acid and lipid class composition in two marine microalgae Pavlova lutheri (Pavlovophyceae) and Odontella aurita (Bacillariophyceae). J Appl Phycol, 22 : 629-38.

Guschina IA, Harwood JL (2006). Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. Prog Lipid Res, 45 : 160-86.

Hildebrand M, Abbriano RM, Polle JE, et al. (2013). Metabolic and cellular organization in evolutionarily diverse microalgae as related to biofuels production. Curr Opin Chem Biol, 17 : 506-14.

Ho SH, Ye X, Hasunuma T, Chang JS, Kondo A (2014). Perspectives on engineering strategies for improving biofuel production from microalgae—a critical review. Biotechnology advances, 32 : 1448-59.

Commenté [p9]: référence non appelée

Hu Q, Sommerfeld M, Jarvis E, et al. (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. Plant J, 54 : 621-39.

Koller M, Muhr A, Braunegg G (2014). Microalgae as versatile cellular factories for valued products. Algal Res, 6 : 52-63.

Krol M, Maxwell DP, Huner NPA (1997). Exposure of Dunaliella salina to low temperature mimics the high light-induced accumulation of carotenoids and the carotenoid binding protein (Cbr). Plant Cell Physiol, 38 : 213-6.

Lacour T, Sciandra A, Talec A, et al. (2012). Neutral lipid and carbohydrate productivities as a response to nitrogen status in Isochrysis sp. (T-Iso; Haptophyceae): starvation versus limitation. J Phycol, 48 : 647-56.

Ladygin, VG (2014). Biogenesis and possible modification of carotenoid composition in the eyespot of Chlamydomonas reinhardtii mutants. Microbiology, 83 : 30-8.

Lamers PP, Janssen M, De Vos RCH, et al. (2008). Exploring and exploiting carotenoid accumulation in Dunaliella salina for cell-factory applications. Trends Biotechnol, 26 : 631-8.

Lamers PP, van de Laak CC, Kaasenbrood PS, Lorier J, Janssen M, De Vos RC, Bino RJ, Wijffels RH. Carotenoid and fatty acid metabolism in light-stressed Dunaliella salina. Biotechnology and bioengineering, 106 : 638-48.

Langley NM, Harrison STL, Van Hille RP (2012). A critical evaluation of CO_2 supplementation to algal systems by direct injection. Biochem Engin J, 68 : 70-5.

Laurienzo P (2010). Marine polysaccharides in pharmaceutical applications: an overview. Marine Drugs, 8 : 2435-65.

Marchetti J, Bougaran G, Le Dean L (2012). Optimizing conditions for the continuous culture of Isochrysis affinis galbana relevant to commercial hatcheries. Aquaculture, 326-329 : 106-15.

Markou G, Nerantzis E (2013). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. Biotechnol Adv, 31 : 1532-42.

Mata TM, Martins AA, Caetano NS (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. Renew Sustain Energy Rev, 14 : 217-32.

Naidoo T, Zulu N, Maharajh DM, Lalloo R (2013). Value added products from microalgae. CRC Press.

Norsker NH, Barbosa MJ, Vermuë MH, Wijffels RH (2011). Microalgal production—a close look at the economics. Biotechnol Adv, 29 : 24-7.

Panda B, Mallick N (2007). Enhanced poly-β-hydroxybutyrate accumulation in a unicellular cyanobacterium, Synechocystis sp. PCC 6803. Lett Appl Microbiol, 44 : 194-8.

Pulz O, Broneske J, Waldeck P (2013). IGV GmbH experience report, industrial production of microalgae under controlled conditions: innovative prospects. In: A. Richmond, Q. Hu. Handbook of microalgal culture: applied phycology and biotechnology, Second Edition. Wiley-Blackwell, p. 445-460.

Ras M, Steyer J, Bernard O (2013). Temperature effect on microalgae: a crucial factor for outdoor production. Rev Environ Sci Biotechnol, 12 : 153-64.

Renaud SM, Thinh LV, Lambrinidis G, Parry DL (2002). Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. Aquaculture, 211 : 195-214.

Richmond A (2008). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. John Wiley & Sons.

Rodolfi L, Zittelli GC, Bassi N, et al. (2009). Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. Biotechnol Bioeng, 102 : 100-12.

Roleda MY, Slocombe SP, Leakey RJG, et al. (2013). Effects of temperature and nutrient regimes on biomass and lipid production by six oleaginous microalgae in batch culture employing a two-phase cultivation strategy. Bioresour Technol, 129 : 439-49.

Rumin J, Bonnefond H, Saint-Jean, et al. (2015). The use of fluorescent Nile red and BODIPY for lipid measurement in microalgae. Biotechnol Biofuels, 8 : 1-16.

Santos M, Janssen M, Lamers PP, et al. (2012). Growth of oil accumulating microalga Neochloris oleoabundans under alkaline-saline conditions. Bioresour Technol, 104 : 593-9.

Shaish A., Avron M, Pick U, Ben-Amotz A (1993). Are active oxygen species involved in induction of béta-carotene in Dunaliella bardawil. Planta, 190 : 363-8.

Siaut M, Cuiné S, Cagnon C, et al. (2011). Oil accumulation in the model green alga Chlamydomonas reinhardtii: characterization, variability between common laboratory strains and relationship with starch reserves. BMC Biotechnol, 11 : 7.

Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A (2006). Commercial applications of microalgae. J Biosci Bioeng, 101 : 87-96.

Sriharan S, Bagga D, Nawaz M (1991). The effects of nutrients and temperature on biomass, growth, lipid production, and fatty acid composition of Cyclotella cryptica Reimann, Lewin, and Guillard. Appl Biochem Biotechnol, 28-29 : 317-26.

Tredici MR (2004). Mass production of microalgae: photobioreactors. In: A. Richmond. Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology. John Wiley & Sons, p. 178-214.

Van Wagenen J, Miller TW, Hobbs S, et al. (2012). Effects of light and temperature on fatty acid production in Nannochloropsis Salina. Energies, 5 : 731-40.

Vítová M, Bišová K, Kawano S, Zachleder V (2015). Accumulation of energy reserves in algae: From cell cycles to biotechnological applications. Biotechnol Adv, 33 (6 Pt 2) :1204-18.

Wijffels RH, Barbosa MJ, Eppink MHM (2010). Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels. Biofuels, Bioprod Bioref, 4 : 287-95.

Figure 7.1. Principaux produits issus des microalgues par secteur d'application et valeur ajoutée.

Figure 7.2. Arbre phylogénétique représentant les principales lignées eucaryotes. Les taxons de microalgues sont indiqués en vert (modifié d'après Baldauf, 2008).

Figure 7.3. Composition des microalgues et applications industrielles.

Figure 7.4. Systèmes ouverts de culture de microalgues à différentes échelles. A : champs de *raceways* pour la culture de spiruline à grande échelle (bassins ouverts de 0,4 ha chacun), Calipatria, Californie. B : *Raceway* pilote (6,4 m^2), pour l'étude de *Dunaliella salina* sous serre, Villefranche-sur-Mer, France. C : système mécanique de roue à aubes pour mélanger.

Figure 7.5. Exemples de géométries de photobioréacteurs pour la culture de microalgues. Photobioréacteurs (A) « biocoil », (B) annulaires verticaux, (C) de type colonne à bulles (Scolabit), (D) tubulaires disposés sur une surface réfléchissante, (E) tubulaires horizontaux, (F, G, H) plans, (I) toriques, (J) photobioréacteur tubulaire délimité par un volume cylindrique annulaire fermé.

Figure 7.6. (A) Schéma simplifié de la synthèse des différents lipides complexes chez les microalgues eucaryotes (Hu et al., 2008). (B) Vision d'ensemble des voies d'anabolisme des lipides. G3P : glycéraldéhyde 3-phosphate ; ACCase : acétyl-CoA carboxylase ; TE : thioestérase (modifié à partir de Ho et al. (2014) .)

Figure 7.7. Classification fonctionnelle des lipides.

Figure 7.8. Organisation schématique et détaillée d'un lipide complexe.

Figure 7.9. Voies métaboliques de la synthèse *de novo* d'acide gras (d'après Hu *et al.*, 2008).

Figure 7.10. Voies métaboliques de la synthèse des différents caroténoïdes (d'après Lamers *et al*., 2008).

Figure 7.11. A : détection des triglycérides à l'aide du fluorochrome Nile red. La fluorescence rouge est due à la chlorophylle, la fluorescence jaune représente les gouttelettes lipidiques. B : image de microscopie électronique à transmission de *C. reinhardtii*, mutant sans amidon. (L) représente les gouttelettes lipidiques (Siaut *et al*., 2011).

Figure 7.12. (A) formule topologique d'une molécule de β-carotène. (B) réaction simplifiée entre le β-carotène et les radicaux libres (d'après Britton, 1995).

Commenté [p10]: quelle référence ?

Commenté [p11]: idem

Commenté [p12]: merci de fournir l'autorisation de reproduction

Commenté [ob13R12]: Demande faite, en attente de réponse