



SODIM

Société de développement de l'industrie maricole inc.

*Développement d'une technologie de
production de microalgues et de produits à
valeur ajoutée*

Rapport de projet

Dossier n° 710.150

Rapport commandité par la SODIM

Décembre 2007

**DÉVELOPPEMENT D'UNE TECHNOLOGIE DE PRODUCTION DE MICRO-ALGUES
ET DE PRODUITS À VALEUR AJOUTÉE**

Projet SODIM # 710,150

RAPPORT DE PROJET

Présenté à

**Société de développement de l'industrie maricole
SODIM
137-3, rue de la Reine
Gaspé (QC) G4X 1T5 Canada**

Par

**RÉAL FOURNIER
Université du Québec à Rimouski (UQAR)
Institut des sciences de la mer (ISMER)
310, allée des Ursulines, Rimouski (QC) G5L 3A1 Canada**

Décembre 2007

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES.....	2
RÉSUMÉ	3
1. INTRODUCTION.....	4
2. MÉTHODES	4
2.1 RAPPEL DE LA TECHNOLOGIE	4
2.2 PRODUCTION DES MICRO-ALGUES	6
2.3 PRÉPARATION DES PRODUITS CONCENTRÉS.....	7
2.3.1 <i>Concentré liquide</i>	7
2.3.2 <i>Concentré en pâte</i>	7
2.4 PRODUCTIVITÉ DES CULTURES ET PROFIL LIPIDIQUE DES MICRO-ALGUES	7
3. RÉSULTATS ET DISCUSSION.....	8
3.1 PRODUCTIVITÉ SPÉCIFIQUE	8
3.2 QUALITÉ CHIMIQUE DES MICRO-ALGUES	10
3.2.1 <i>Effet de la saison et de l'âge de la culture</i>	10
3.2.2 <i>Conservation en concentré liquide réfrigéré et en pâte congelée</i>	12
4. CONCLUSION	13
5. REMERCIEMENTS	15
6. LISTE DES TABLEAUX.....	16
7. LISTE DES FIGURES	24

RÉSUMÉ

Un système de production de micro-algues marines en photobioréacteurs tubulaires et un procédé de fabrication de concentrés de micro-algues par filtration tangentielle ont été développés à l'Institut des sciences de la mer de Rimouski (UQAR-ISMER) durant les dernières années. Dans le but d'optimiser cette technologie et de mieux connaître les paramètres qui régissent la productivité et la qualité des micro-algues, nous avons mené durant les deux dernières années une série de tests pour vérifier les variations de la productivité biologique des cultures et de la qualité chimique des micro-algues dans les photobioréacteurs selon l'âge des cultures (effet du vieillissement en photobioréacteur) et selon la période de l'année (effet de la qualité de l'eau de mer selon les saisons). Nous avons aussi suivi le profil des lipides et des acides gras poly-insaturés des micro-algues *Isochrysis galbana* (Tiso), *Pavlova lutheri* (Mono) et *Nannochloropsis* pour vérifier si les produits concentrés liquides et les pâtes de ces différentes espèces subissaient des modifications pendant le procédé de traitement (filtration, centrifugation) et pendant la conservation (réfrigération, congélation). Les résultats ont montré que la productivité des cultures ne varie pas avec les saisons. Les fluctuations de la productivité observées à long terme sont imputables à la stratégie de production. Le vieillissement des cultures en photobioréacteur ne provoque pas de modification notable du profil lipidique des micro-algues pour des durées allant jusqu'à quatre mois. Cependant la productivité d'une culture de *Isochrysis galbana* maintenue en photobioréacteur pendant 8 mois affiche une baisse de sa productivité d'environ 30% (densité cellulaire) que nous suggérons être une conséquence de l'accumulation de métabolites des micro-algues sur les parois des photobioréacteurs. Le traitement des micro-algues pour en faire des produits concentrés en liquide (filtration tangentielle) et en pâte (filtration tangentielle et centrifugation) permet de conserver le profil lipidique des micro-algues. Nous avons ainsi conservé des concentrés liquides de *Nannochloropsis* sur une période de 9 semaines sans observer de modifications du profil des lipides. Ces résultats permettent de conclure qu'il est possible de maintenir des cultures de micro-algues sur de longues périodes (plus de 3 mois) en conservant la productivité biologique et la qualité des micro-algues. Des concentrés liquides de micro-algues peuvent être obtenus et conservés pendant de longues périodes (jusqu'à 9 semaines) en maintenant intacts le profil et le contenu lipidique.

1. INTRODUCTION

Une usine pilote de production de micro-algues marines a été mise en place à la station aquicole de l'UQAR-ISMER à Rimouski en 2004-2005. Ces installations sont l'aboutissement de la phase 1 d'un projet de R&D réalisé dans le but de valoriser la technologie portant sur l'optimisation de la production des micro-algues en photobioréacteurs et le développement de produits pour l'aquaculture. La phase II du projet de R&D constituait la suite logique des activités de la phase I. D'une façon générale, la phase II devait permettre de poursuivre les objectifs qui devaient mener, dans un horizon de 12 à 18 mois, à la création d'une entreprise vouée à la fabrication de produits de micro-algues pour la nutrition des invertébrés en aquaculture et d'évaluer les opportunités pour des produits à valeur ajoutée issus de la biomasse algale. Les objectifs de la phase II devaient aussi permettre d'optimiser la productivité globale de l'usine pilote et de standardiser et raffiner les procédures d'opération. De plus, la recherche de nouveaux partenaires industriels et institutionnels devait permettre de compléter le programme d'évaluation des produits entrepris pendant la phase I.

Les partenaires réunis pour financer la phase II du projet de R&D étaient Valorisation Recherche Québec (VRQ), la société de valorisation VALEO sec., la Société de développement de l'industrie maricole (SODIM) et l'UQAR-ISMER. Ce rapport fait état des résultats relatifs aux aspects du projet relevant du plan d'action de la SODIM regroupés sous le thème «Développement et amélioration des procédés». Il aborde plus particulièrement les aspects de la variabilité de la productivité biologique et de la qualité chimique des micro-algues.

2. MÉTHODES

2.1 Rappel de la technologie

La technologie de production de micro-algues comprend 2 composantes :

1. Le système de production **PEPPA** (Procédé à Efficacité Prolongée pour la Production d'Algues) constitué de :

- A. Le photobioréacteur (PBR) ou chambre de croissance des algues (figure 1). L'unité de base du PBR est constituée d'un module de 6 cylindres en acrylique de 17 cm de diamètre par 213 cm de hauteur inter-reliés dans une base commune. Le volume utile d'un module de production est de 260 L. Le module de production est conçu de telle sorte qu'il peut être rapidement démonté en ses composantes (base, couvercle, cylindres) pour l'entretien. Le PBR est fermé hermétiquement par des attaches qui compressent des joints toriques sur la base et dans le couvercle. En production, les modules sont rangés côte à côte et des rampes d'éclairage sont insérées entre chaque module de façon à ce que les PBR soient éclairés sur les 2 côtés. Ces rampes d'éclairage sont construites d'un cadre de plastique dans lequel sont logés 6 tubes fluorescents verticaux qui viennent s'aligner sur chacun des cylindres du PBR.
- B. L'unité de traitement des liquides du PEPPA (figure 2) possède la particularité de pouvoir effectuer la filtration et la stérilisation du milieu nutritif et des solutions de nettoyage et de stérilisation en une seule étape grâce à l'utilisation d'une membrane d'ultrafiltration à fibres creuses. La fine porosité de la membrane (10 000 à 200 000 daltons) et sa grande surface (5 à 9 m²) permettent de stériliser parfaitement et rapidement de grands volumes de liquide. La membrane est installée dans le système pour opérer en mode de filtration tangentielle.
2. Le système de concentration **SCAFT** (Système de Concentration d'Algues par Filtration Tangentielle)

La SCAFT (figure 3) utilise une membrane d'ultrafiltration à fibres creuses pour concentrer les micro-algues. La configuration de la cartouche permet de réaliser une filtration tangentielle de la culture en éliminant progressivement l'eau de la culture et en concentrant les cellules dans un réservoir de concentration. Le réservoir de concentration est alimenté en culture fraîche à un débit équivalent au débit trans-membranaire de la cartouche. La culture est re-circulée dans le système jusqu'à ce que le facteur de concentration désiré soit atteint. Le

prototype industriel du SCAFT peut traiter environ 1000 litres de culture à l'heure et atteindre des facteurs de concentration de 100 à 500.

2.2 Production des micro-algues

Les micro-algues produites de façon routinière à l'usine pilote et utilisées lors des tests ont été sélectionnées sur la base de leur popularité en tant que constituantes des différentes diètes alimentaires utilisées en écloserie commerciale et en recherche. Ce sont les *Prymnesiophyceae Isochrysis galbana* (Tiso) et *Pavlova lutheri* (Mono) et l'*Eustigmatophyceae Nannochloropsis oculata*. Les souches proviennent du Provasoli-Guillard National Center for Marine Phytoplankton (CCMP) de Boothbay Harbour (ME, USA). Les micro-algues sont maintenues en souches pures dans une salle de collection. Les cultures de démarrage (en erlenmeyers de 250 ml et 500 ml et en touries de 20 L) servant à l'ensemencement des PBR sont produites de façon axénique avec le médium de culture f/2 (sous aération pour les touries de 20 L). Les PBR sont d'abord nettoyés au savon puis à l'acide chlorhydrique (5%) avant d'être montés. Ils sont alors remplis d'une solution à 500 ppm d'hypochlorite de sodium (NaOCl) qui stérilise toutes les parties intérieures entrant en contact avec la culture. Après une période minimum de 2 heures et maximum de 24 heures, la solution de NaOCl est retirée et les PBR sont remplis du médium de culture filtré et stérilisé dans le système de filtration tangentielle. Les PBR sont ensuite ensemencés de façon aseptique avec une tourie de 20 L de l'espèce désirée injectée à l'aide d'une pompe à entraînement magnétique. Les cultures sont maintenues en production semi-continue à la température de la pièce (20-23°C) sous un éclairage au néon de type Daylight de 85 watts fournissant une intensité lumineuse de 3000 à 4000 lux. Les cultures sont aérées au taux d'environ 1 L d'air/min/100 L de culture. Du CO₂ est ajouté pour obtenir un rapport Air : CO₂ de 99 : 1. La fréquence des productions est de 2 à 4 jours selon les besoins et la période de la semaine. Dépendamment de la fréquence des productions, de 30% jusqu'à 90% de la culture est prélevé. Du médium frais est ensuite introduit dans les PBR pour le prochain cycle de production.

2.3 Préparation des produits concentrés

2.3.1 Concentré liquide

Les volumes de micro-algues recueillis lors des productions sont d'abord stockés dans un réservoir de 2 m³ à la température ambiante en attendant leur traitement qui se fait généralement à l'intérieur des 2 heures suivant la récolte. La culture stockée est ensuite acheminée vers le réservoir de concentration du SCAFT par une pompe à entraînement magnétique. Une valve à flotte placée dans le réservoir de concentration contrôle le débit entrant. Selon le besoin, les micro-algues sont traitées par espèces (produit mono-spécifique) ou par mélange d'espèces (cocktail de 2 espèces ou plus). Les résultats rapportés dans ce document concernent les produits mono-spécifiques constitués de Tiso, de Mono et de *Nannochloropsis*. Les cultures sont concentrées dans le SCAFT jusqu'à un facteur de 150X à 300X dépendamment de la concentration initiale de la culture et de l'espèce. Les concentrations finales des produits sont ajustées à environ 1,8 x 10⁹ cell/ml pour Tiso, 1,6 X 10⁹ cell/ml pour Mono et 4,0 X 10⁹ cell/ml pour *Nannochloropsis*. Le concentré en vrac est ensuite placé sur un agitateur magnétique et des acides alimentaires sont ajoutées pour réduire la prolifération bactérienne pendant la période de conservation. Le concentré est ensuite embouteillé dans des contenants en polyéthylène de 1 L fermés hermétiquement et stockés au réfrigérateur entre 2°C et 4°C.

2.3.2 Concentré en pâte

La mise en pâte des micro-algues se fait à partir du concentré liquide. Le concentré est centrifugé sur une centrifugeuse Avanti-J20-XPI de Beckman-Coulter sous les conditions suivantes : 4-6°C, 3000-5000 rpm, 15-30 minutes, selon l'espèce. Un cryoprotecteur est ajouté à la pâte en vrac puis le tout est mélangé au mélangeur électrique jusqu'à l'obtention d'une pâte lisse et homogène. La pâte est ensuite mise en pot en format de 250 g et de 500 g puis congelée à -20°C.

2.4 Productivité des cultures et profil lipidique des micro-algues

Le type de production semi-continue avec récolte de la culture à intervalle régulier se prête bien à la mesure de la productivité par le suivi du taux de croissance spécifique. Le

taux de croissance spécifique est une mesure de la capacité d'une culture à se régénérer dans un intervalle de temps donné. Il se calcule par la formule

$$\mu (J^{-1}) = \frac{\ln (C_1 / C_0)}{T_1 - T_0}$$

Où C_0 et C_1 sont les densités cellulaires (cell/ml) aux temps T_0 et T_1 et $T_1 - T_0$ est le temps (jours) écoulé entre C_0 et C_1 . Les densités cellulaires sont mesurées au compteur de particules Z-2 de Beckman-Coulter.

Les profils lipidiques ont été établis à partir des analyses du contenu lipidique des micro-algues au Iatroscan pour les grandes classes de lipides et en chromatographie en phase gazeuse (GC) pour les acides gras.

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Productivité spécifique

La quantité de données accumulées depuis la mise en opération de l'usine pilote à l'été de 2004 nous a permis d'observer des fluctuations de la productivité des cultures que nous supposons associées à des variations de la qualité de l'eau de mer avec les saisons. Les premières productions réalisées lors de la mise en opération de l'usine pilote avaient permis d'observer de telles fluctuations de la productivité entre l'été 2004 et le printemps 2005. L'objectif ici était de vérifier si ces fluctuations étaient réellement liées à des variations de la qualité de l'eau de mer avec les saisons et si elles affectaient les espèces de micro-algues produites en routine à l'usine. Pour ce faire, nous avons suivi la productivité des cultures entre septembre 2005 et septembre 2007. Le suivi a été réalisé sur les 3 principales espèces produites à l'usine pilote soit Tiso, Mono et *Nannochloropsis*.

L'analyse du tableau 1 ne permet pas de dégager un patron net de variations associables aux saisons à l'intérieur d'une même année. Les variations du taux de croissance spécifique observées apparaissent aléatoirement à l'intérieure d'une même année et d'une année à l'autre, laissant supposer qu'il n'y a pas d'effet de la qualité de

l'eau de mer sur la productivité des cultures. Les figures 4, 5 et 6 montrent la variation du taux de croissance spécifique pour chacune des espèces, respectivement Tiso, Mono et *Nannochloropsis*. Les courbes de tendance indiquent qu'il y a eut augmentation de la productivité entre le début et la fin de la période du suivi, cela de façon plus évidente pour Tiso et Mono. Une telle augmentation à long terme ne reflète pas nécessairement une amélioration de la qualité de l'eau de mer. Il pourrait s'agir d'une conséquence de la maîtrise de l'art. Il faut se rappeler que le projet pilote a été mis en place en 2003 et que les tests de production n'ont débuté qu'en 2004. Il serait donc logique d'observer une augmentation de la productivité du système au fur et à mesure de l'expertise acquise en production. L'examen des courbes de productivité montre effectivement des variations moins grandes en 2007.

Un autre facteur qui peut faire varier la productivité, à court terme cette fois, est la stratégie de production appliquée. Les cycles de production variaient de 2 à 4 jours selon plusieurs impératifs dont les fins semaine, les périodes de congé et la volonté de d'optimiser la tâche de travail. La stratégie de production a des effets significatifs sur la productivité des cultures. La dynamique de croissance d'une culture en production semi-continue exige qu'on ne la dilue pas à un point tel qu'elle revienne en phase de latence après chaque production. Pour conserver une culture dans la fenêtre de productivité optimale, il faut que la récolte, donc le taux de dilution, permette à la culture de revenir à la phase exponentielle de croissance après chaque production. Dans un système productif comme le PEPPA, la productivité optimale est atteinte lorsqu'on récolte environ 30% à 50% du volume des cultures quotidiennement selon les espèces. Une stratégie qui ferait en sorte que la technique de production sorte de sa fenêtre de productivité optimale aurait comme conséquence une baisse de la productivité globale. On peut observer un tel cas à la figure 7 alors qu'on a volontairement diminué la productivité de la culture pour la période du congé des Fêtes (décembre 2006). Les fluctuations à court terme de la productivité observées durant ce projet pourraient donc être en partie explicables par les modifications à court terme de la stratégie de production en cours d'année.

3.2 Qualité chimique des micro-algues

La composition chimique des micro-algues est le reflet des conditions de production des cultures et de traitement des produits concentrés (liquide ou pâte). Le profil lipidique en particulier et ses modifications constituent des indices révélateurs de la qualité des conditions offertes pendant la production, la transformation et le stockage des produits. Cet aspect du projet avait une signification particulièrement importante puisqu'il s'agissait de démontrer que la qualité des produits de micro-algues (concentrés liquides et pâtes) se maintenait durant les processus de production et de conservation. Les acides gras à longues chaînes ou acides gras poly-insaturés (AGPI), à cause de leur rôle essentiel dans la nutrition des invertébrés, ont été particulièrement investigués. Ces analyses nous ont fourni en plus des informations relatives à la composition en acides gras oméga-3, plus particulièrement en acide eicosapentaénoïque (EPA) et en acide docosahexaénoïque (DHA) et aussi en acide arachidonique (ARA) (n-6) des micro-algues que nous produisons de façon routinière. Ces informations nous permettront de faire un premier ciblage de nos micro-algues pour leur potentiel à produire plus ou moins de ces produits.

L'objectif de cette série d'échantillonnage était de vérifier si il survient une modification du profil des acides gras des micro-algues pendant la transformation (concentration, centrifugation, congélation) et en cours de conservation des concentrés liquides et des pâtes. Sachant que la technologie de production permet de maintenir des cultures sur de longues périodes, nous devons aussi vérifier si l'âge d'une culture avait un effet sur le profil des acides gras. De plus, la possibilité de suivre une même culture sur une longue période permettait aussi de vérifier un éventuel effet de la qualité de l'eau de mer avec le changement des saisons.

3.2.1 Effet de la saison et de l'âge de la culture

Une des particularités intéressantes du système de production PEPPA est qu'il permet d'atteindre une longévité substantiellement accrue des cultures relativement aux méthodes de production dites conventionnelles. Par exemple, un test nous a permis de maintenir en production une culture de Tiso en PBR pendant une période de plus de 8 mois avant de l'arrêter volontairement (figure 7). Nous avons observé pendant cette

période une diminution de la productivité de la culture d'environ 30% (densité cellulaire) qui a commencé à se manifester après le troisième mois. L'examen de la figure 7 ne permet pas de mettre en évidence des fluctuations de la productivité liées à la période de l'année. Cette diminution de la productivité serait probablement attribuable au vieillissement de la culture dont la conséquence serait l'accumulation de produits métaboliques inhibiteurs sur les parois du PBR (polysaccharides par exemple), accumulation qui contribuerait en outre à réduire, à la longue, le passage de la lumière vers l'intérieur du PBR. La baisse importante de productivité observée en décembre 2006 est attribuable à un ralentissement contrôlé de la productivité pendant la période du congé des Fêtes.

Nous avons effectué un échantillonnage des cultures des trois espèces que nous produisons en routine de façon à vérifier si le vieillissement d'une culture en PBR induisait une modification du profil lipidique des micro-algues. Pour simplifier la présentation, nous avons regroupé les résultats sous les trois grandes classes d'acides gras soit les saturés (SFA), les mono-insaturés (MUFA) et les poly-insaturés (PUFA). Les PUFA sont présentés selon leur composition en oméga-3 totaux (n-3), en EPA, en DHA et en ARA (n-6). Des échantillons ont été prélevés à différents temps entre l'ensemencement des cultures jusqu'à 8 semaines d'âge pour *Nannochloropsis* et jusqu'à 15 et 17 semaines respectivement pour Mono et Tiso.

Ces résultats montrent que le vieillissement en PBR pour Tiso, Mono et *Nannochloropsis* n'induit pas de modification notable de la composition relative des acides gras et que la composition en acides gras poly-insaturés n-3 pour ces espèces n'est pas modifiée avec l'âge de la culture (tableaux 2, 3 et 4) ni avec le changement des saisons. D'une façon générale, la proportion des acides gras n-3 varie entre 29 % et 40 % pour Tiso, entre 34 % et 43 % pour Mono et entre 22 % et 25 % pour *Nannochloropsis*. On observe aussi le maintien à un niveau relativement stable des proportions relatives des EPA et DHA pour ces 3 espèces. Ce résultat indique que la méthode de culture permet de produire des lots de micro-algues comparables au niveau du profil lipidique et de la proportion relative des acides gras poly-insaturés pour des périodes minimales allant de 2 à 4 mois en PBR pour *Nannochloropsis*, Tiso et Mono, les 3 principales espèces

produites à l'usine pilote. Ils ne permettent pas d'identifier un effet de la qualité de l'eau de mer avec le changement des saisons sur la composition lipidique des micro-algues.

3.2.2 Conservation en concentré liquide réfrigéré et en pâte congelée

Le concentré de micro-algues vivantes est le principal produit mis au point durant ce projet pilote. Il constitue un produit intéressant pour la nutrition en aquaculture du fait que de grands volumes de culture (plusieurs milliers de litres) peuvent être expédiés vers le client sous forme de concentré en petit volume (1 à 10 litres). Pour en tirer le maximum d'avantage, le concentré doit présenter deux caractéristiques : 1/ Conserver intact son profil lipidique pendant la préparation et 2/ Avoir une durée de vie suffisamment longue pour permettre de réduire le nombre d'expéditions, minimisant ainsi les frais de manutention et de transport. Les pâtes sont considérées comme un produit de seconde qualité du fait que les micro-algues y sont congelées. Elles servent habituellement comme supplément dans une diète à base d'algues fraîches ou pour l'eau verte dans les élevages de larves de poissons marins.

Nous avons suivi la modification du profil des acides gras entre les PBR et les diverses étapes de la production (concentration-réfrigération-congélation). Ces résultats sont exposés aux tableaux 5, 6 et 7 respectivement pour Tiso (PBR-concentré liquide-pâte), *Nannochloropsis* (PBR-concentré liquide-pâte) et Mono (PBR-pâte). À la lumière de ces résultats, il apparaît que de Tiso et *Nannochloropsis*, cette dernière résiste mieux au traitement mécanique de la concentration ainsi qu'à la conservation réfrigérée. Effectivement, la proportion des acides gras et surtout des n-3 n'est pas modifiée entre le PBR et après 42 jours de conservation réfrigérée et 37 jours de congélation (tableau 6). L'EPA subit cependant une baisse de 23 % à 17 % en congélation. Une baisse comparable de l'EPA est aussi observée chez Mono dans la pâte congelée pendant 63 jours (tableau 7). Chez Tiso, la proportion de n-3 est nettement plus faible après 16 jours de conservation en réfrigération, passant de 40 % à 27 %. Une baisse importante est aussi observée en congélation, la proportion de n-3 passant de 40 % à 20 % (tableau 5). Il faut cependant noter l'importance des écart-types des valeurs au jour 0 (PBR) qui rendent la comparaison à la limite du seuil non significatif. Les proportions d'EPA et de DHA demeurent par contre sensiblement inchangées pendant cette période pour le concentré liquide et pour la pâte de Tiso.

Mis à part des variations de l'échantillonnage et de l'analyse, nous ne pouvons suggérer d'autres explications pour les variations du profil observé chez Tiso. Un biais important est aussi observé pour l'ARA chez *Nannochloropsis* (tableau 6) entre le PBR et la pâte congelée à 37 jours (4,0 % et 7,0 % respectivement au jour 0 et au jour 37). Une telle augmentation est inexplicable compte tenu que les n-3 et n-6 sont des produits du métabolisme et qu'une augmentation de leur quantité ne peut logiquement survenir dans un produit où les cellules ne sont pas vivantes. La figure 8 (conservation de *Nannochloropsis* en concentré Liquide) permet d'observer que la quantité de acides gras pour un même concentré varie de façon aléatoire et importante entre 0,5 et plus de 0,8 g/10⁶ cellules d'un échantillonnage à l'autre pendant toute la période de 63 jours de ce test. Ceci suggère qu'une part des variations observées pourrait être due à la méthode et à l'analyse.

Ces résultats sont particulièrement intéressants dans leur ensemble puisqu'ils montrent que les produits de micro-algues en concentré et en pâte peuvent se conserver sur de longues périodes sans modification importante de la composition relative en acides gras poly-insaturés. De même, la technique de concentration par circulation en circuit fermé de la culture dans un système de filtration tangentielle ne semble pas affecter de façon importante la qualité des cellules.

4. CONCLUSION

Les travaux menés lors de cette partie du projet ont permis de documenter deux aspects importants pour le développement de la technologie de production de micro-algues, soit la variation de la productivité du système de production associée à la qualité de l'eau de mer et au vieillissement des cultures en photobioréacteur, et la variation de la qualité des micro-algues associée aux opérations de préparation des concentrés liquides et des pâtes ainsi que leur conservation. Les fluctuations observées entre les saisons, en cours d'année et d'une année à l'autre n'apparaissent pas associées à des variations de la qualité de l'eau de mer. Elles seraient plutôt la conséquence des changements de la stratégie de production qui font en sorte que les cultures sont parfois menées en dehors de la fenêtre de productivité optimale. Le vieillissement des cultures en photobioréacteur pendant de longues périodes amène une diminution de la productivité qui se manifeste

après une période d'environ trois mois. Cette diminution de la productivité serait probablement due à l'accumulation de métabolites des micro-algues sur les parois des PBR et, conséquemment, d'une réduction de transmission de la lumière à travers les parois. Malgré quelques anomalies attribuables à des variations dans l'échantillonnage et l'analyse, il ressort que le profil lipidique des micro-algues et les proportions relatives d'acides gras, de n-3, de DHA, de EPA et de ARA est relativement stable dans les PBR entre les étapes de la préparation (filtration, centrifugation) et en conservation (réfrigération, congélation). Ces résultats sont particulièrement intéressants puisqu'ils nous permettent de rallonger la période de durée de vie des concentrés liquides. D'une façon générale, ces résultats confirment qu'il est possible de produire des concentrés de micro-algues qui conservent sensiblement les mêmes caractéristiques lipidiques que les cultures fraîches.

5. REMERCIEMENTS

Des remerciements sont adressés à Brigitte Hamilton et Jean-Bruno Nadalini pour leur support technique et professionnel ainsi qu'à Richard St-Louis et Diadié Diouf pour les analyses de lipides. Nous remercions la SODIM pour son support financier sans lequel cet aspect important du projet n'aurait pu être documenté.

6. LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1. Suivi du taux de croissance spécifique mensuelle () pour les 3 principales espèces produites à l'usine pilote entre septembre 2005 et septembre 2007 (n=12 à 15).
.....13
- Tableau 2. Profil lipidique de *Nannochloropsis oculata* produite en mode semi-continu pendant une période de 8 semaines (écart-type entre parenthèses).....14
- Tableau 3. Profil lipidique de *Pavlova lutheri* (Mono) produite en mode semi-continu pendant une période de 15 semaines (écart-type entre parenthèses).....15
- Tableau 4. Profil lipidique de *Isochrysis galbana* (Tiso) produite en mode semi-continu pendant une période de 17 semaines (écart-type entre parenthèses).....16
- Tableau 5. Évolution de la proportion relative des acides gras chez *Isochrysis galbana* (Tiso) entre la culture fraîche (PBR), le concentré liquide réfrigéré à 2°C et la pâte congelée à -20°C (écart-type entre parenthèses) (PBR=dans le photobioréacteur).....17
- Tableau 6. Évolution de la proportion relative des acides gras chez *Nannochloropsis oculata* entre la culture fraîche (PBR), le concentré liquide réfrigéré à 2°C et la pâte congelée à -20°C (écart-type entre parenthèses) (PBR=dans le photobioréacteur).....18
- Tableau 7. Évolution de la proportion relative des acides gras chez *Pavlova lutheri* (Mono) entre la culture fraîche (PBR) et la pâte congelée à -20°C pendant une période de 9 semaines (écart-type entre parenthèses) (PBR=dans le photobioréacteur).....19

Tableau 1. Suivi du taux de croissance spécifique mensuelle () pour les 3 principales espèces produites à l'usine pilote entre septembre 2005 et septembre 2007 (n=12 à 15).

Croissance instantanée μ (J ⁻¹)						
Date	<i>Isochrysis galbana</i>		<i>Pavlova lutheri</i>		<i>Nannochloropsis</i>	
	mensuelle	annuelle	mensuelle	annuelle	mensuelle	annuelle
05-sept	0,4				0,59	
05-oct	0,44		0,47		0,51	
05-nov	0,31		0,28		0,53	
05-déc	0,35	0,43	0,51	0,52	0,37	0,46
06-janv	0,46		0,44		0,45	
06-févr	0,34		0,38		0,49	
06-mars	0,37		0,39		0,41	
06-avr	0,38				0,36	
06-mai	0,55		0,47		0,48	
06-juin	0,57		0,45		0,51	
06-juil	0,49		0,46		0,63	
06-août	0,76		0,63		0,26	
06-sept	0,42		0,45		0,47	
06-oct	0,42		0,54		0,63	
06-nov	0,45		0,5		0,44	
06-déc	0,54	0,48	0,55	0,48	0,53	0,47
07-janv	0,45		0,62		0,6	
07-févr	0,54		0,36		0,41	
07-mars	0,48		0,47		0,55	
07-avril	0,53		0,43		0,45	
07-mai	0,41		0,54		0,48	
07-juin	0,46		0,48		0,51	
07-juillet	0,53		0,57		0,43	
07-août	0,44	0,48	0,45	0,49	0,54	0,50

Tableau 2. Profil lipidique de *Nannochloropsis oculata* produite en mode semi-continu pendant une période de 8 semaines (écart-type entre parenthèses).

Acides gras	Proportions relatives			
	Jour 3	Jour 21	Jour 28	Jour 53
Saturés totaux	31,6 (6,0)	34,5 (0)	34,5 (0,1)	35,6 (0,3)
Mono-insaturés totaux	38,5 (4,6)	36,6 (0,1)	32,0 (0,3)	30,6 (0,6)
Poly-insaturés totaux	29,9 (1,4)	28,7 (0,1)	33,6 (0,2)	33,9 (0,4)
n-3 totaux	22,6 (2,1)	21,5 (0,1)	25,3 (0,1)	24,9 (0,3)
EPA	22,6 (2,1)	21,5 (0,1)	25,3 (0,1)	24,9 (0,3)
DHA	0	0	0	0
ARA	4,0 (0,2)	3,7 (0)	4,9 (0,1)	5,4 (0,1)
EPA+DHA	22,6 (2,1)	21,5 (0,1)	25,3 (0,1)	24,9 (0,3)

Tableau 3. Profil lipidique de *Pavlova lutheri* (Mono) produite en mode semi-continu pendant une période de 15 semaines (écart-type entre parenthèses).

Acides gras	Jour 3	Proportions relatives		
		Jour 47	Jour 91	Jour 105
Saturés totaux	25,1 (1,0)	28,1 (0,7)	32,1 (3,2)	32,5 (1,5)
Mono-insaturés totaux	35,4 (0,8)	33,5 (0,5)	30,2 (7,6)	19,4 (0,1)
Poly-insaturés totaux	39,5 (1,1)	38,5 (0,3)	37,7 (4,4)	48,1 (1,4)
n-3 totaux	37,8 (3,3)	36,8 (0,1)	34,3 (4,2)	42,6 (1,8)
EPA	22,9 (0,4)	21,6 (0,1)	21,1 (1,7)	17,7 (0,1)
DHA	12,9 (0,2)	5,3 (0,2)	7,2 (0,7)	8,5 (0,2)
ARA	0,3 (0,1)	0,3 (0)	0,1 (0,2)	0,1 (0,2)
EPA+DHA	35,8 (0,3)	26,9 (0,3)	28,3 (2,4)	26,2 (0,1)

Tableau 4. Profil lipidique de *Isochrysis galbana* (Tiso) produite en mode semi-continu pendant une période de 17 semaines (écart-type entre parenthèses).

Acides gras	Proportions relatives			
	Jour 3	Jour 25	Jour 95	Jour 118
Saturés totaux	39,7 (15,0)	42,4 (0,3)	32,9 (0,7)	33,3 (0,1)
Mono-insaturés totaux	17,2 (0,7)	21,9 (0,5)	20,5 (0,4)	19,3 (0,2)
Poly-insaturés totaux	43,2 (14,2)	35,7 (0,9)	46,7 (1,1)	47,4 (0,2)
n-3 totaux	40,3 (13,5)	29,1 (0,6)	40,0 (0,2)	33,3 (0,3)
EPA	1,0 (0,3)	1,1	1,4 (0,1)	1,4 (0,1)
DHA	9,5 (1,0)	6,4 (0,5)	8,0 (0,4)	7,4 (0)
ARA	0	0,1 (0,1)	0,8 (1,1)	0,6 (0,1)
EPA+DHA	10,5 (1,3)	7,4 (0,5)	9,3 (0,3)	8,8 (0,1)

Tableau 5. Évolution de la proportion relative des acides gras chez *Isochrysis galbana* (Tiso) entre la culture fraîche (PBR), le concentré liquide réfrigéré à 2°C et la pâte congelée à -20°C (écart-type entre parenthèses) (PBR=dans le photobioréacteur).

Acides gras	PBR Jour 0	Jour 16		Jour 195 Pâte
		Concentré	Pâte	
Saturés totaux	39,7 (15,0)	39,8 (0,5)	47,8 (7,0)	38,4 (1,2)
Mono-insaturés totaux	17,2 (0,7)	25,6 (0,4)	26,4 (1,8)	26,6 (0)
Poly-insaturés totaux	43,2 (14,2)	34,5 (0,1)	25,8 (5,2)	35,1 (1,2)
n-3 totaux	40,3 (13,5)	26,7 (0,1)	20,3 (3,9)	29,0 (0,9)
EPA	1,0 (0,3)	0,6 (0)	0,5 (0,1)	1,5 (0,1)
DHA	9,5 (1,0)	9,5 (0,1)	7,4 (1,3)	8,6 (0,5)
ARA	0	0,2 (0,1)	0	0,6 (0,1)
EPA+DHA	10,5 (1,3)	10,1 (0,1)	7,9 (1,4)	10,2 (0,6)

Tableau 6. Évolution de la proportion relative des acides gras chez *Nannochloropsis oculata* entre la culture fraîche (PBR), le concentré liquide réfrigéré à 2°C et la pâte congelée à -20°C (écart-type entre parenthèses) (PBR=dans le photobioréacteur).

Acides gras	PBR Jour 0	Concentré liquide				Pâte Jour 37
		Jour 1	Jour 7	Jour 21	Jour 42	
Saturés totaux	31,6 (6,0)	26,1	23,9 (2,7)	27,7 (0,8)	26,3 (0,2)	30,6 (4,4)
Mono-insaturés totaux	38,5 (4,6)	40,8	40,2 (0,8)	40,3 (1,7)	41,0 (0,2)	34,6 (3,4)
Poly-insaturés totaux	29,9 (1,4)	33,1	35,8 (3,5)	32,0 (0,8)	32,7 (0,1)	34,8 (0,9)
n-3 totaux	22,6 (2,1)	26,3	28,6 (2,4)	24,9 (0,8)	25,3 (0,1)	23,1 (0,6)
EPA	22,6 (2,1)	23	24,1 (2,2)	21,8 (0,9)	23,3 (0,2)	16,8 (2,1)
DHA	0	0,7	1,1 (0,1)	1,0 (0,1)	0,5 (0,1)	1,7 (0,4)
ARA	4,0 (0,2)	4	4,0 (0,4)	3,8 (0,1)	4,1 (0,1)	7,0 (0,8)
EPA+DHA	22,6 (2,1)	23,7	25,3 (2,0)	22,8 (0,8)	23,8 (0,1)	18,5 (1,8)

Tableau 7. Évolution de la proportion relative des acides gras chez *Pavlova lutheri* (Mono) entre la culture fraîche (PBR) et la pâte congelée à -20°C pendant une période de 9 semaines (écart-type entre parenthèses) (PBR=dans le photobioréacteur).

Acides gras	PBR Jour 0	Pâte Jour 63
Saturés totaux	25,1 (1,0)	33,9 (0,8)
Mono-insaturés totaux	35,4 (0,8)	26,3 (1,6)
Poly-insaturés totaux	39,5 (1,1)	39,8 (0,9)
n-3 totaux	37,8 (3,3)	36,9 (0,2)
EPA	22,9 (0,4)	18,0 (0,5)
DHA	12,9 (0,2)	7,7 (0)
ARA	0,3 (0,1)	0,6 (0,1)
EPA+DHA	35,8 (0,3)	25,8 (0,5)

7. LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Le prototype pilote du photobioréacteur du PEPPA. Six cylindres d'acrylique en communication dans une base de polyéthylène. Le volume utile est de 260 litres.....21
- Figure 2. L'unité de traitement des liquides pour la préparation du milieu de culture. Une cartouche à membrane d'ultrafiltration à fibres creuses permet de réaliser la filtration et la stérilisation du milieu de culture en une seule étape.....22
- Figure 3. Le système de concentration d'algues par filtration tangentielle (SCAFT).....23
- Figure 4. Évolution du taux de croissance spécifique mensuelle de *Isochrysis galbana* (Tiso) entre septembre 2005 et septembre 2007 (courbe de tendance logarithmique)..24
- Figure 5. Évolution du taux de croissance spécifique mensuelle de *Pavlova lutheri* entre septembre 2005 et septembre 2007 (courbe de tendance logarithmique).....25
- Figure 6. Évolution du taux de croissance spécifique mensuelle (j^{-1}) chez *Nannochloropsis* entre septembre 2005 et septembre 2007 (courbe de tendance logarithmique).....26
- Figure 7. *Isochrysis galbana* (Tiso) maintenue en photobioréacteur en mode de production semi-continue pendant une période de 8 mois (courbe de tendance logarithmique).....27
- Figure 8. Évolution du poids des acides gras, des n-3, des n-6, de l'ARA, de l'EPA et du DHA dans un concentré liquide de *Nannochloropsis* conservé à 2°C pendant une période de 63 jours.....28



Figure 1. Le prototype pilote du photobioréacteur du PEPPA. Six cylindres d'acrylique en communication dans une base de polyéthylène. Le volume utile est de 260 litres.



Figure 2. L'unité de traitement des liquides pour la préparation du milieu de culture. Une cartouche à membrane d'ultrafiltration à fibres creuses permet de réaliser la filtration et la stérilisation du milieu de culture en une seule étape.



Figure 3. Le système de concentration d'algues par filtration tangentielle (SCAFT).

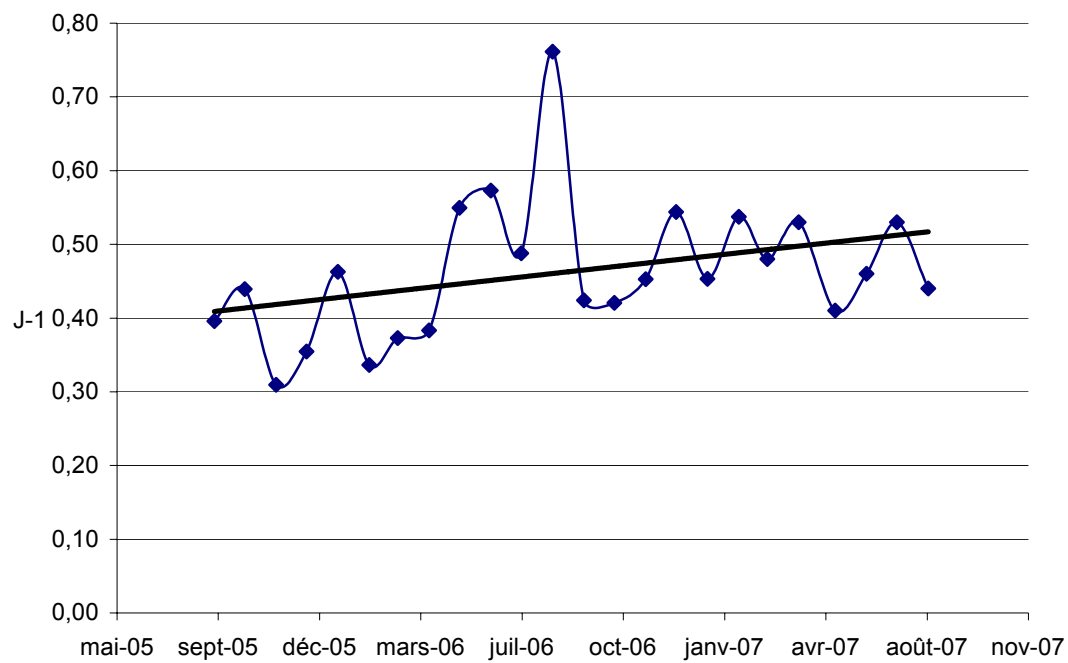


Figure 4. Évolution du taux de croissance spécifique mensuelle de *Isochrysis galbana* (Tiso) entre septembre 2005 et septembre 2007 (courbe de tendance logarithmique).

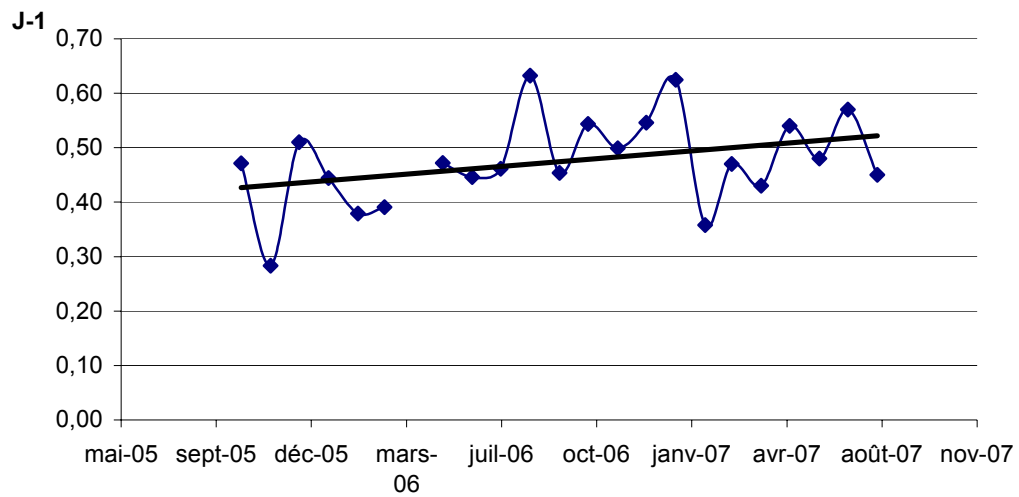


Figure 5. Évolution du taux de croissance spécifique mensuelle de *Pavlova lutheri* entre septembre 2005 et septembre 2007 (courbe de tendance logarithmique).

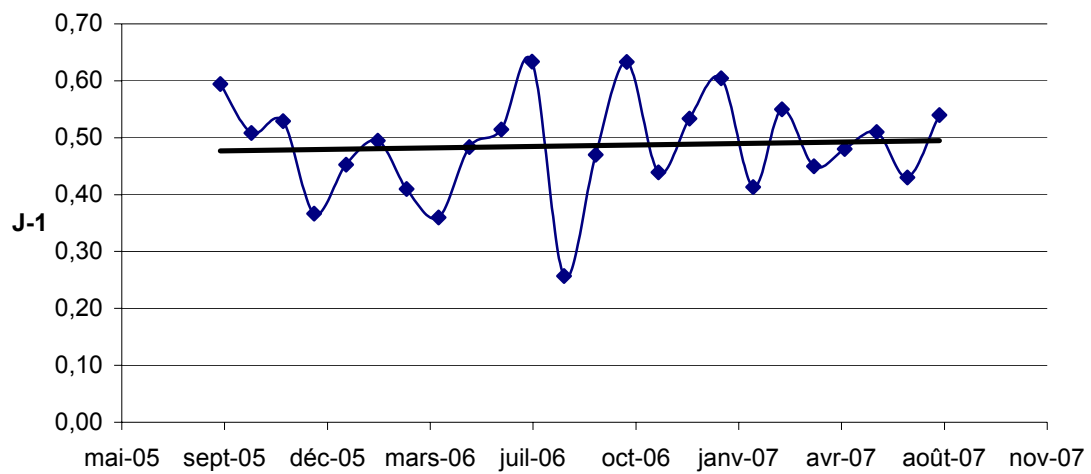


Figure 6. Évolution du taux de croissance spécifique mensuelle (j^{-1}) chez *Nannochloropsis* entre septembre 2005 et septembre 2007 (courbe de tendance logarithmique).

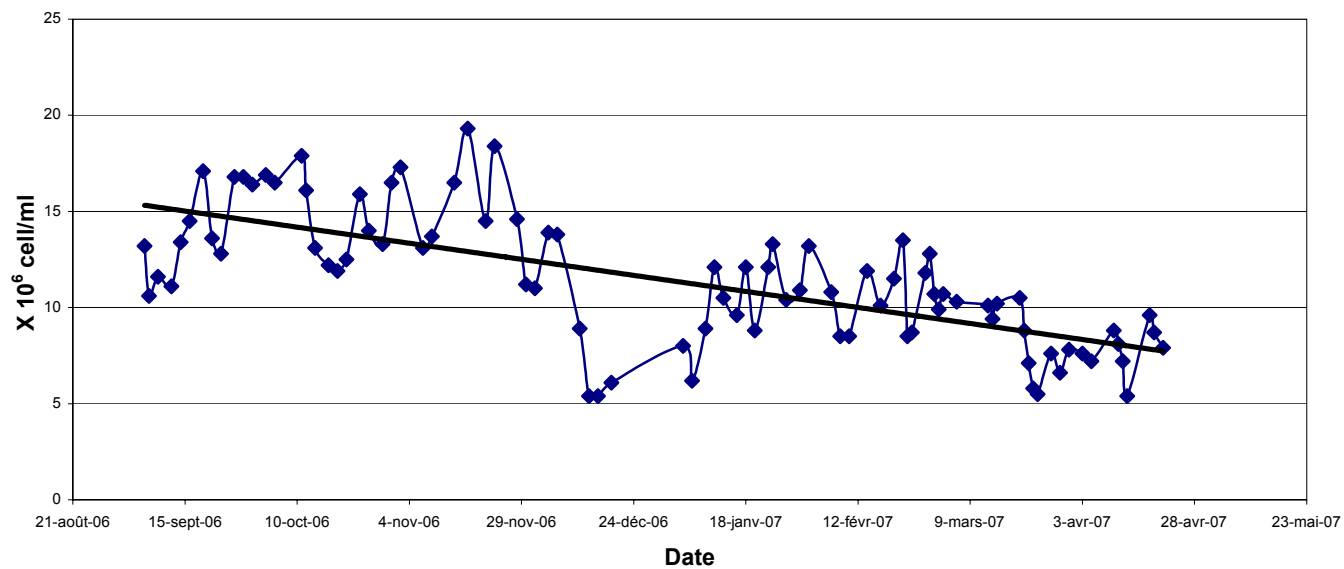


Figure 7. *Isochrysis galbana* (Tiso) maintenue en photobioréacteur en mode de production semi-continue pendant une période de 8 mois (courbe de tendance logarithmique).

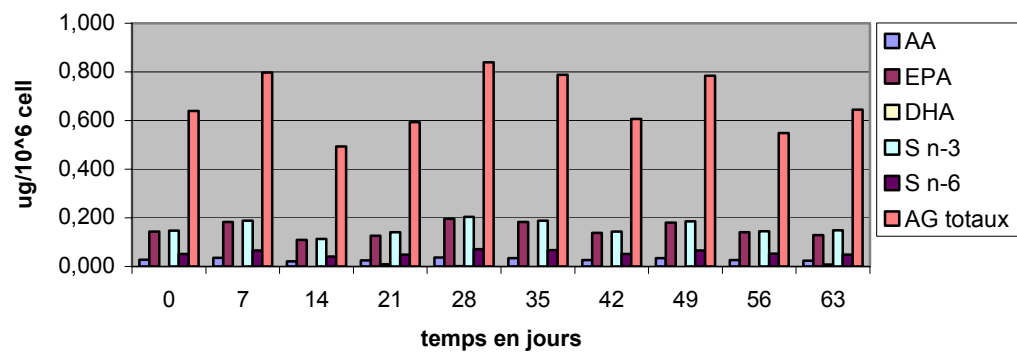


Figure 8. Évolution du poids des acides gras, des n-3, des n-6, de l'ARA, de l'EPA et du DHA dans un concentré liquide de *Nannochloropsis* conservé à 2°C pendant une période de 63 jours.