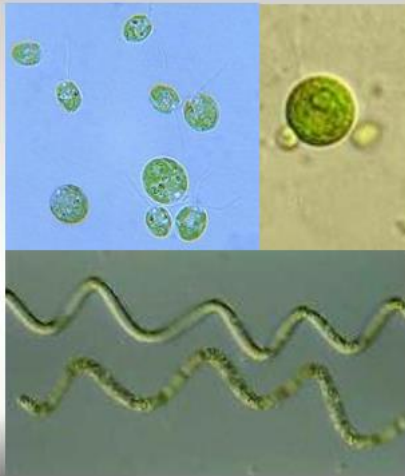


# De l'échelle laboratoire à l'échelle industrielle : détermination d'une méthodologie universelle pour la mise en production de microalgues et cyanobactéries méconnues



$$r_X = \rho\phi A - \mu S \frac{K_T}{K_T + G} X = \rho\phi A - \frac{J_{NADH} M_X}{U_{NADH-X}} \frac{K_T}{K_T + G} X$$

*Alexandra BUSNEL*

*Jérémy PRUVOST  
Sébastien JUBEAU*

# Présentation du laboratoire GEPEA

GEPEA : GENIE des Procédés Environnement – Agroalimentaire (190 personnes)



4 axes de recherche :

- Ingénierie de l'Énergie
- Ingénierie de l'Environnement
- Matrices et Aliments
- Bioprocédés appliqués aux microalgues

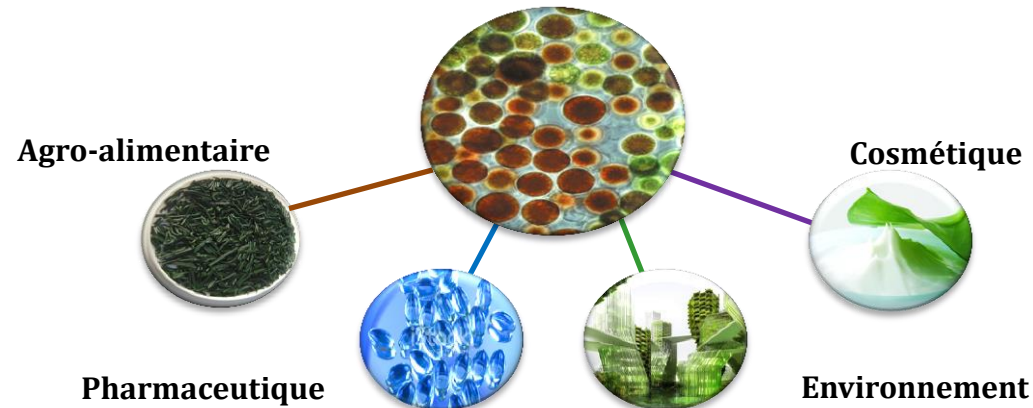
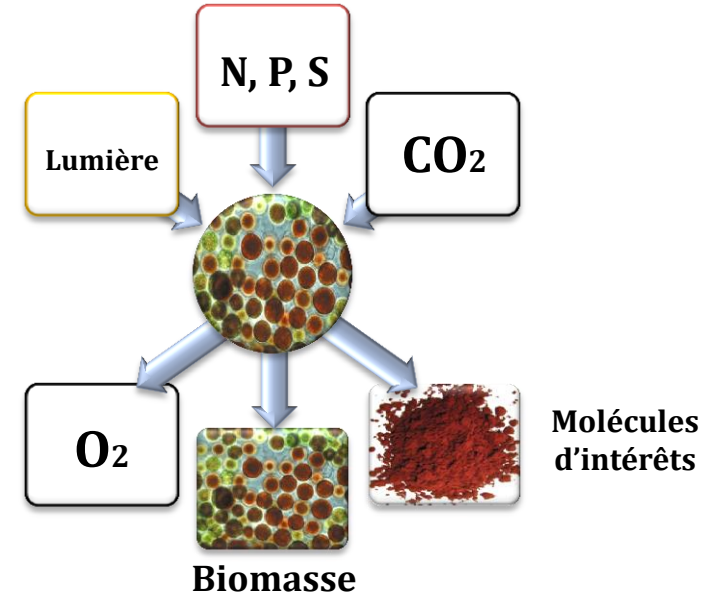


**ALGO SOLIS**  
MICROALGAE R&D FACILITY

# Pourquoi les microalgues ?

## Intérêts des microalgues

- Production de métabolites originaux
- Alternative viable pour la biosynthèse
- Pas de compétitions sur les surfaces fourragères
- Croissance plus rapide que les plantes



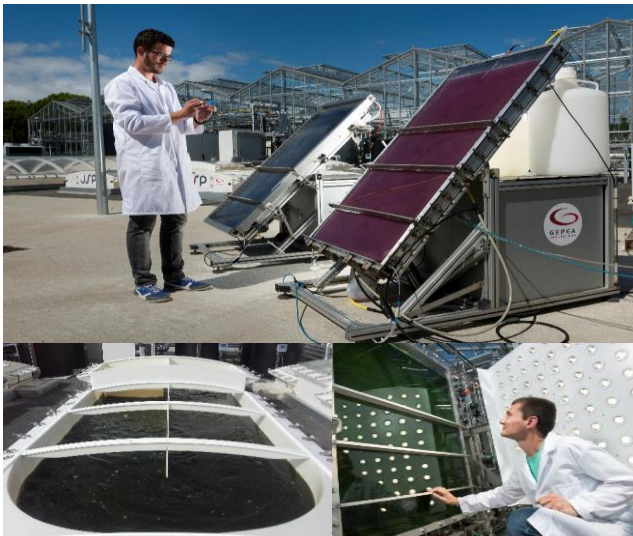


# Verrous du scale-up des cultures de microalgues



Au laboratoire, recherche :

- Des conditions optimales de croissance
- Etude de la lumière
- Etude de l'adaptabilité de la souche aux conditions de cultures



A Algosolis, étude de robustesse en extérieur

# Présentation du laboratoire GEPEA

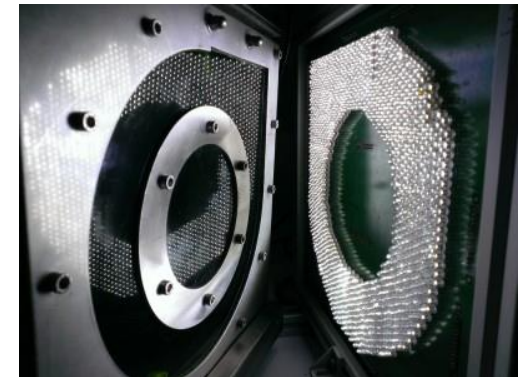


&

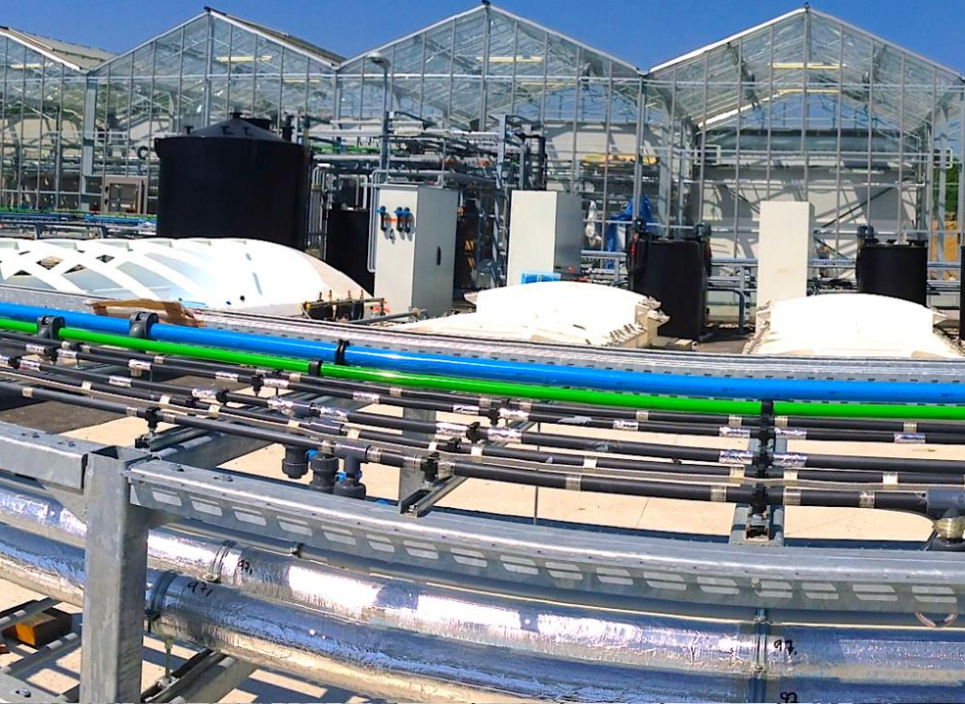


## 3 types de services :

- Sélection et optimisation de souches
  - Portefeuille de souches industrielles
  - Screening de nouvelles souches
  - Optimisation de souches par forçage physiologique contrôlé
- Développement et optimisation de procédés
  - Culture, récolte et bioraffinage
  - Procédés de récolte et d'extraction de molécules d'intérêt
  - Bio-remédiation d'effluents / recyclage de milieux de culture
- Production
  - Production et caractérisation de biomasse brute (sèche ou humide)
  - Production de biomasse raffinée (ingrédients, substances actives, huiles et sucres pour la nutrition et la cosmétique, chimie verte, bio-kérosène, bio-diesel...)







**ALGO SOLIS**  
MICROALGAE R&D FACILITY



Paramètres  
limitants

Photolimitation

Modélisation

Scale UP



## A – Méthodologie d'analyse de ces milieux de culture : macros éléments

Calcul des besoins en C,H,O,N,S,P de la souche de Spiruline :



*Arthrospira platensis* (Cornet et al., 1998).



Pour atteindre 1 g L<sup>-1</sup> de biomasse

C	4,44E <sup>-02</sup> mol L <sup>-1</sup>
N	8,37E <sup>-03</sup> mol L <sup>-1</sup>
S	1,97E <sup>-04</sup> mol L <sup>-1</sup>
P	1,54E <sup>-04</sup> mol L <sup>-1</sup>

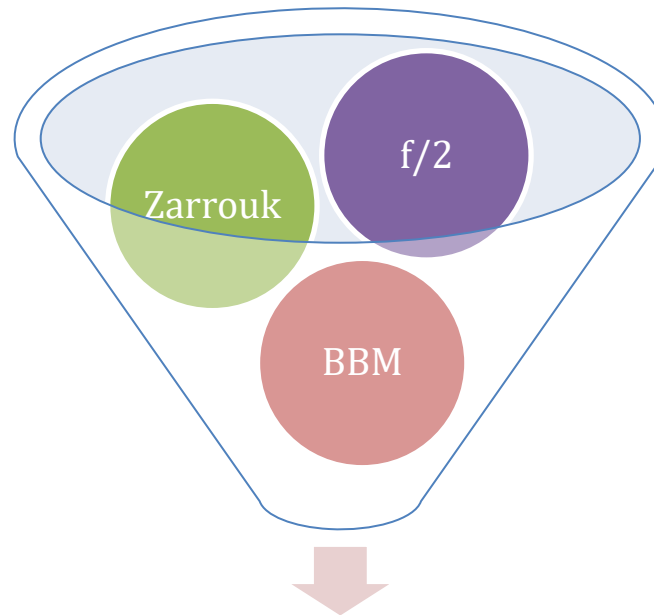
Appliquer ces concentrations au milieu de conservation



## B – Méthodologie d'analyse de ces milieux de culture : micros éléments

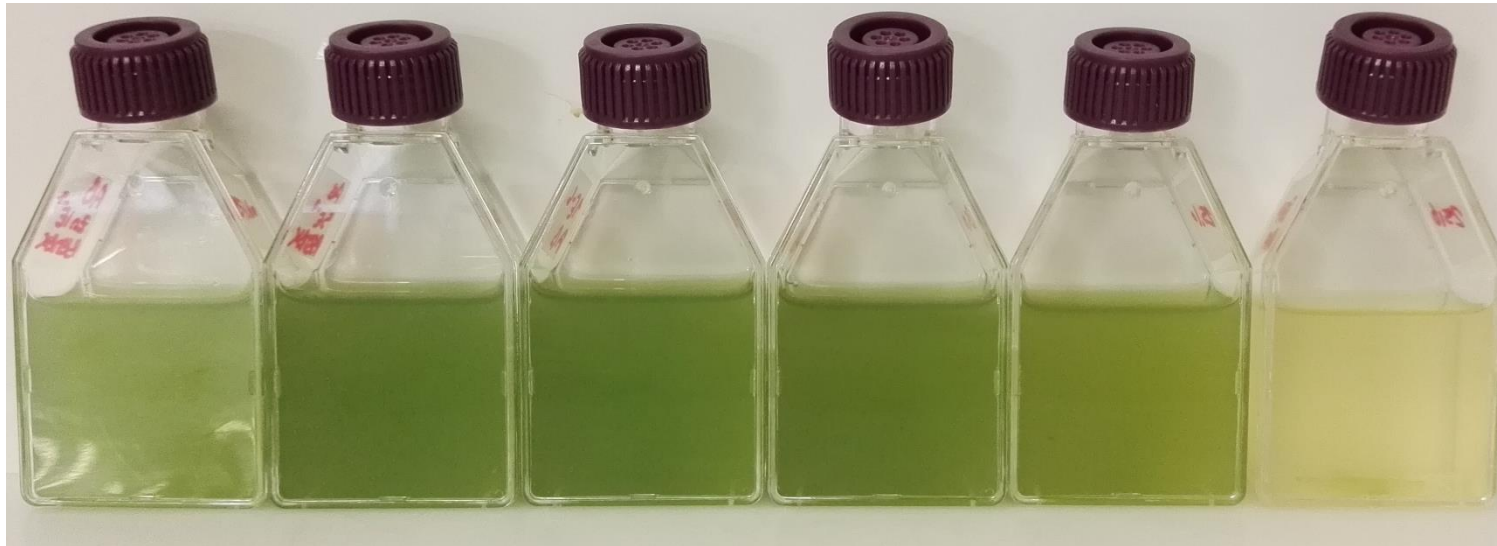
Recherches bibliographiques :

- Milieux de production/milieux conservation
- Utilité des microéléments pour la cellule

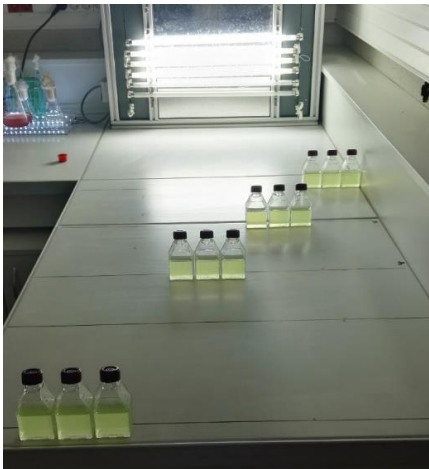


Réaliser un milieu sur mesure

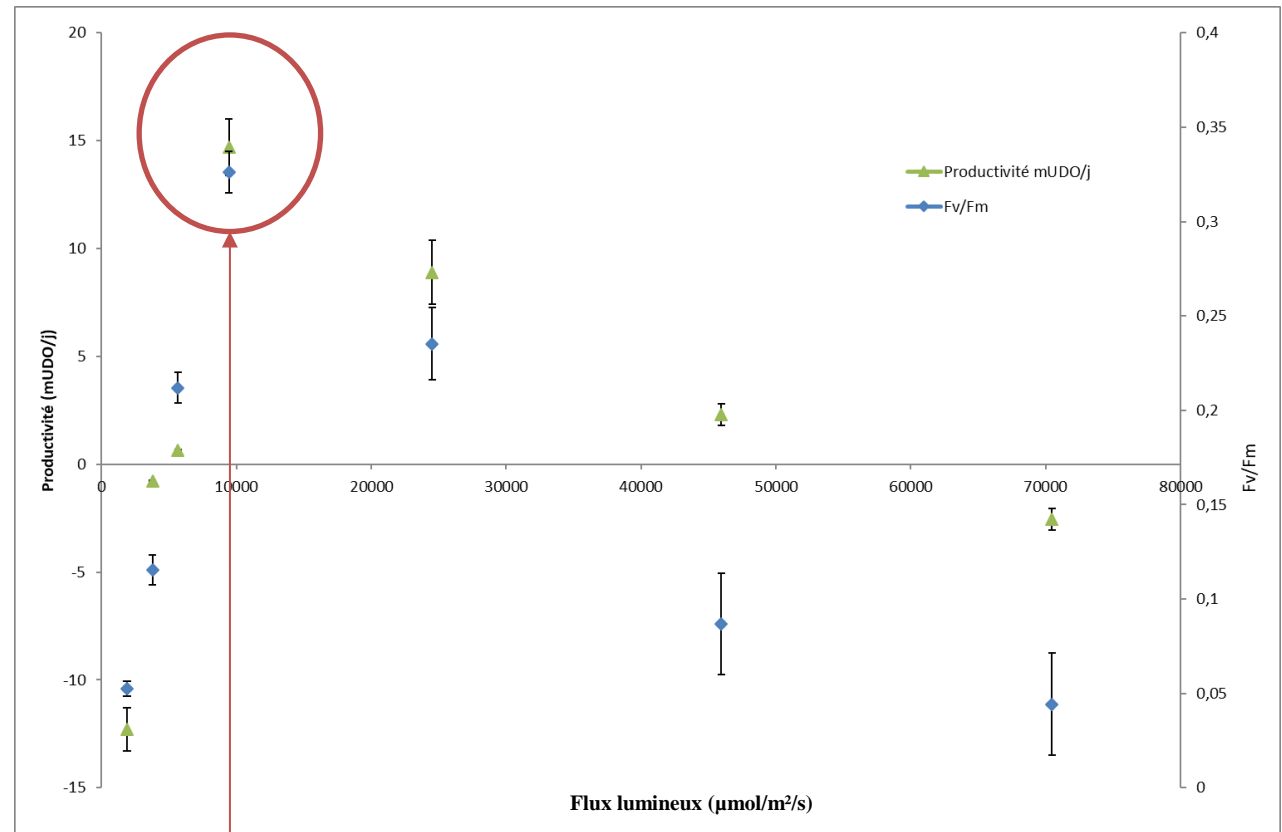
## B – Méthodologie d'analyse de ces milieux de culture : micros éléments



## C – Méthodologie d'analyse de l'impact de la lumière : Réponse biologique



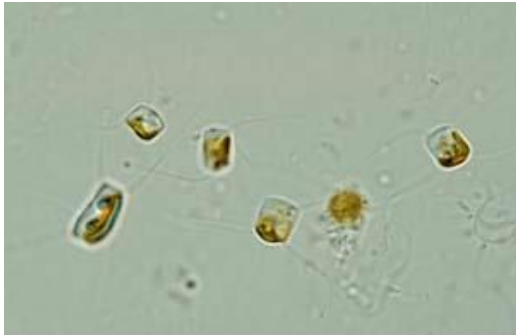
Appréciation visuelle, mesure de DO750 et Fv/Fm



$$q_{\text{opt}} = 10 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$$



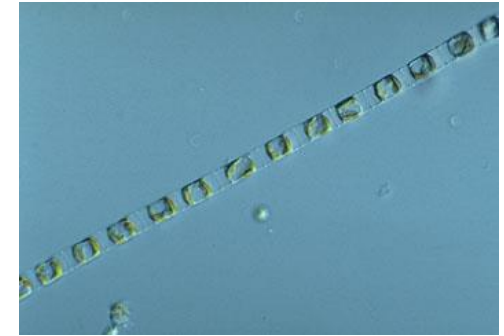
## D – Cisaillement : théorie



*Chaetoceros muelleri* Freshwater Algae Culture  
Collection of the Institute of Hydrobiology



*Haslea ostrearia* FR CNRS 3473 IUML, Mer-  
Molécules-Santé (MMS)



*Skeletonema costatum* Data base of marine  
diatom in Japan coastal waters

Etude de l'impact des contraintes de cisaillements sur *Haslea ostrearia*

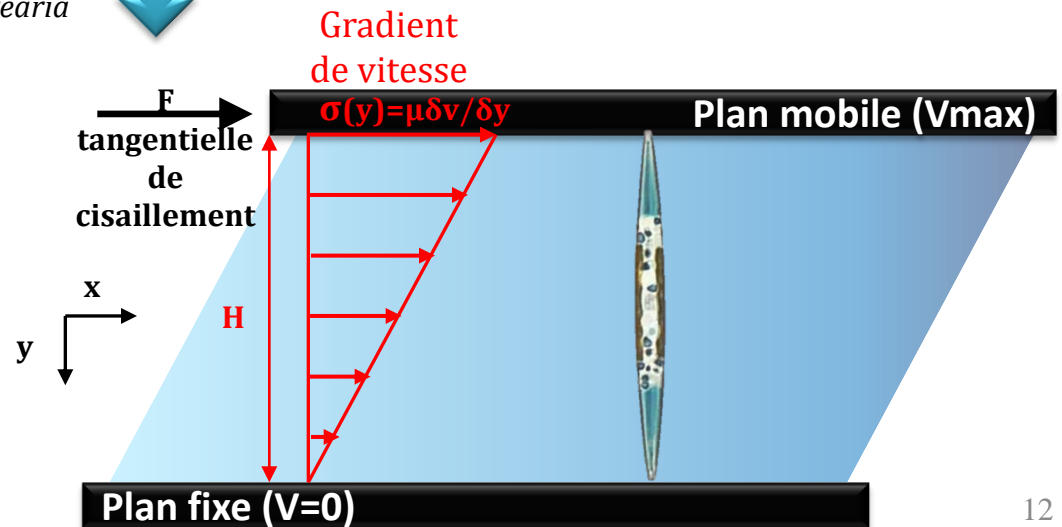


### Cisaillement du milieu (fluide):

$$\tau = \mu * \dot{\gamma}$$

$$\tau = F / S$$

$$\dot{\gamma} = V_{max} / H$$

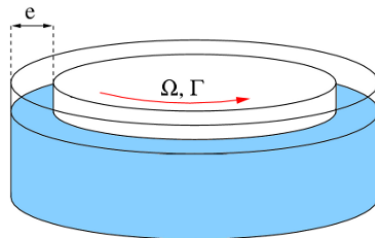
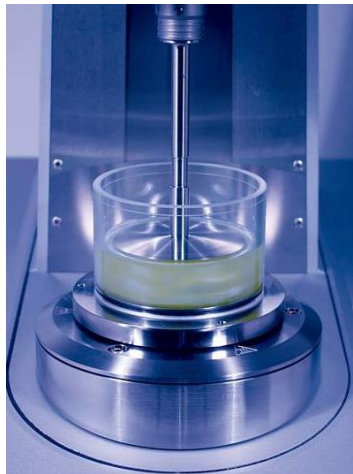


Écoulement d'un fluide en régime laminaire

## D – Cisaillement résultats

Utilisation du rhéomètre ( $\gamma = 30000 \text{ s}^{-1}$ )

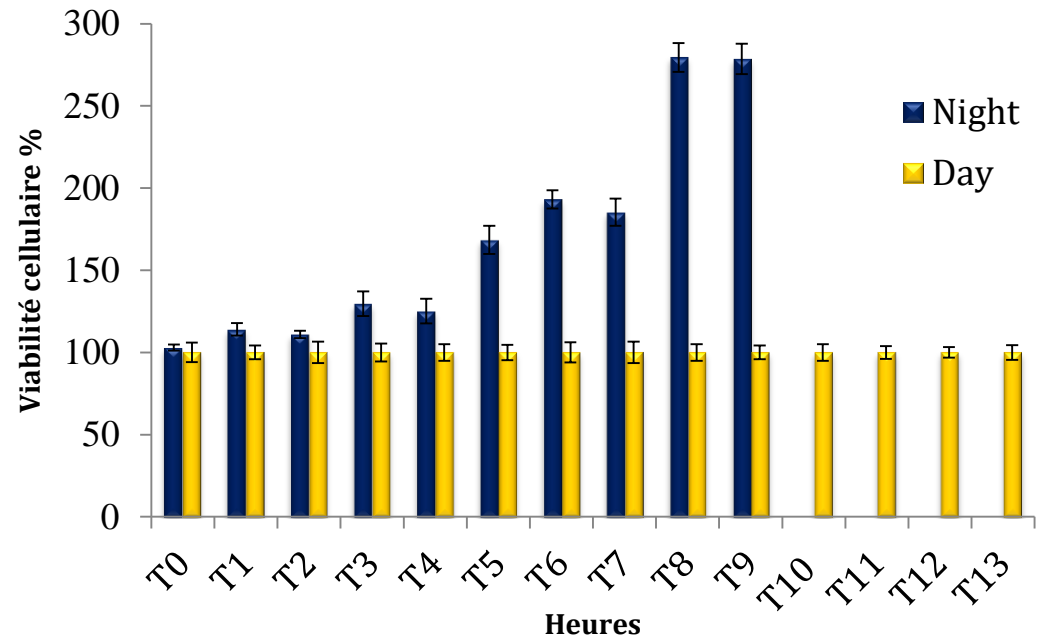
Outil de mesure de viscosité en cellule de couette



Entrefer (e) : 100 $\mu\text{m}$

Application constant d'un taux de cisaillement

*Haslea ostrearia* : Cell viability at day/night cycle



- **En jour:** la cellule n'est pas impactée par les cisaillements
- **En nuit:** taux de division cellulaire 1,5/jour donc pas impacté par les cisaillements

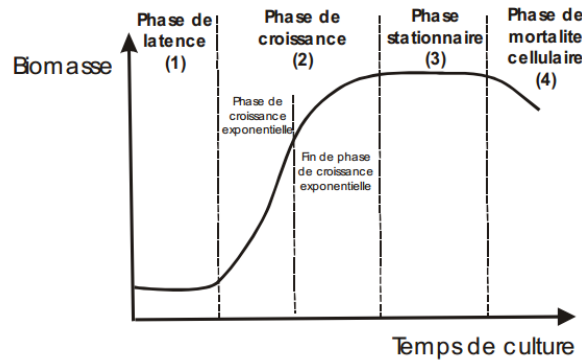
➔ La souche n'est pas sensible aux cisaillements

# Atteindre la photolimitation

Qu'est ce que la photolimitation ?



Fonctionnement batch  
*Porphyridium cruentum*



Fraction volumique éclairée <sup>(1)</sup>

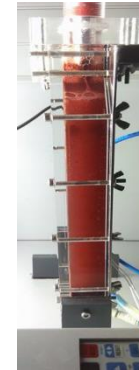
$$\gamma = \frac{V_l}{V_R} = \frac{V_{(A > A_c)}}{V_R}$$

(1)



Photoinhibition  
( $\gamma > 1$ )

(2)



Régime Cinétique  
( $\gamma = 1$ )

(3/4)



Photolimitation  
( $\gamma < 1$ )



Voir la lumière comme un substrat

Lumière est le réactif limitant = photolimitation



# Atteindre la photolimitation

Déterminer les paramètres opératoires pour une croissance optimale : Carbone

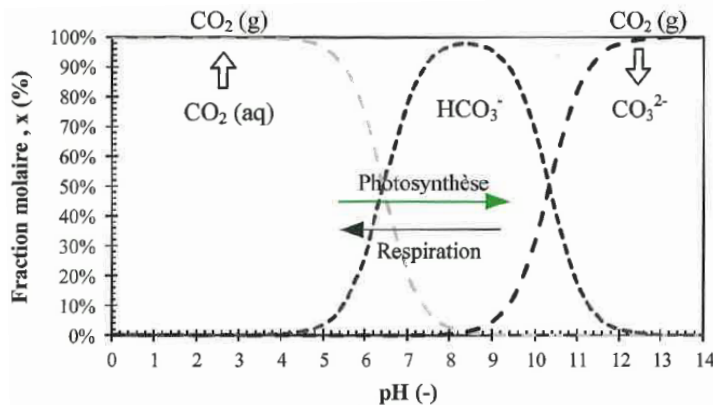
pH optimal

Température optimale

Interaction



Quantité de carbone inorganique dissout



Température	Solubilité (Kg. m <sup>-3</sup> )
10	2,37
15	2,01
20	1,72
25	1,50

Représentation des fractions molaires dissout du carbone minéral dans l'eau en fonction du pH (Kaplan et al., 1986)

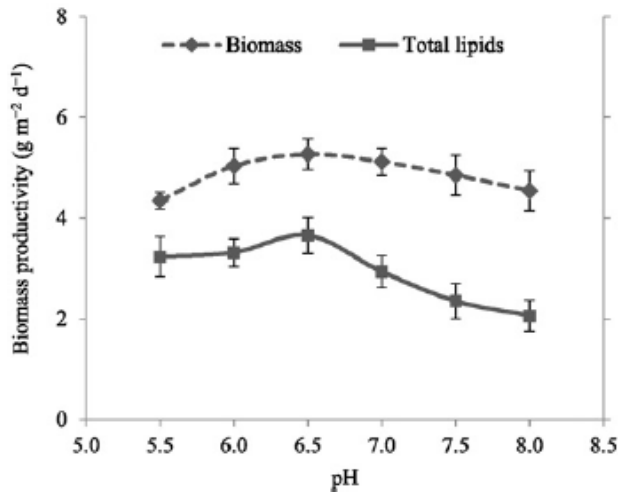
Evolution de la solubilité en fonction de la température, PCO<sub>2</sub>=380ppm (donées Visual Minteq). (LE GOUIC, 2013)

Détermination des pH et températures de fonctionnement avant le CID

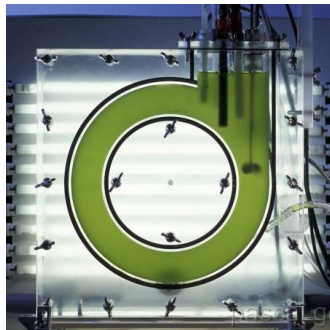
# Atteindre la photolimitation

Déterminer les paramètres opératoire de croissance optimales

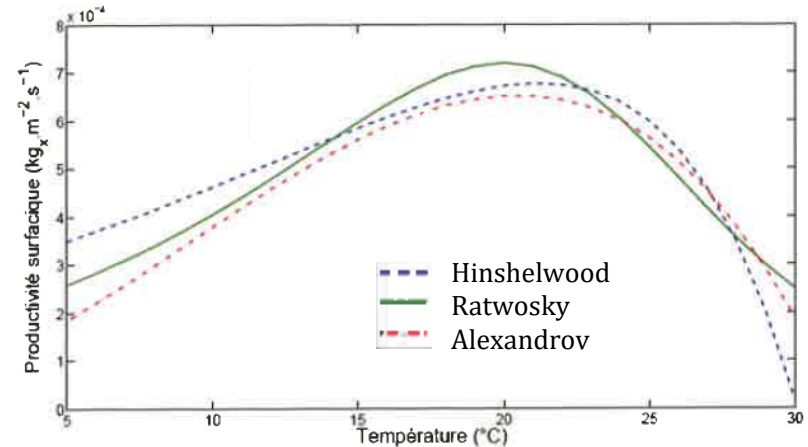
pH optimal



Evolution de la biomasse et des lipides totaux en fonction du pH de culture (Jin et al., 2016)



Température optimale

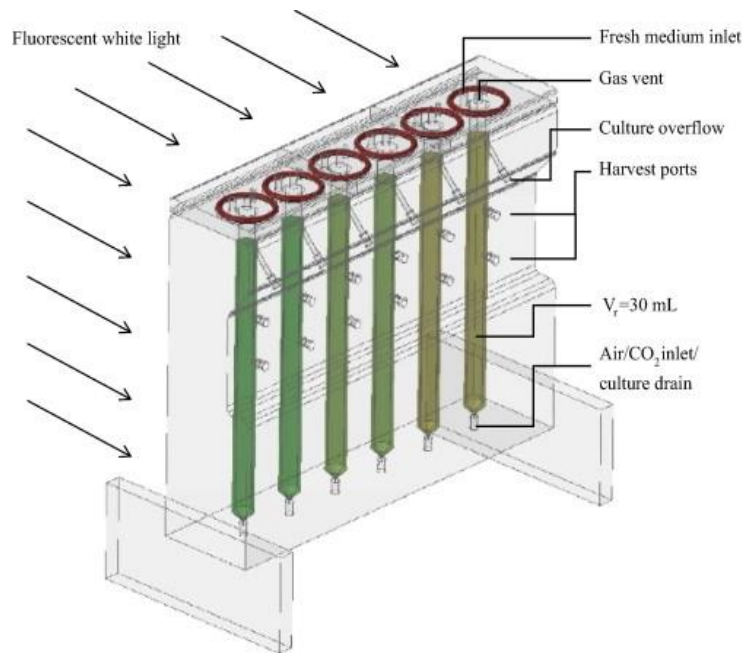


Prédiction de la productivité surfacique de *Chlorella vulgaris* en fonction de la température de culture (PFD=130  $\mu\text{mol. m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) (Souliès 2014)

Obtention des températures et pH optimaux de croissance

# Atteindre la photolimitation

Utilisation des bancs de criblage EOSS (Efficient overproducing screening system-PBR) :



*Schéma d'EOSS 1. (Taleb, 2015)*

Première mise en continu des souches :

- Screening de milieu de culture
- Screening de CID (à pH et T fixés)
- Pression de sélection de la souche (fonction du temps de résidence)

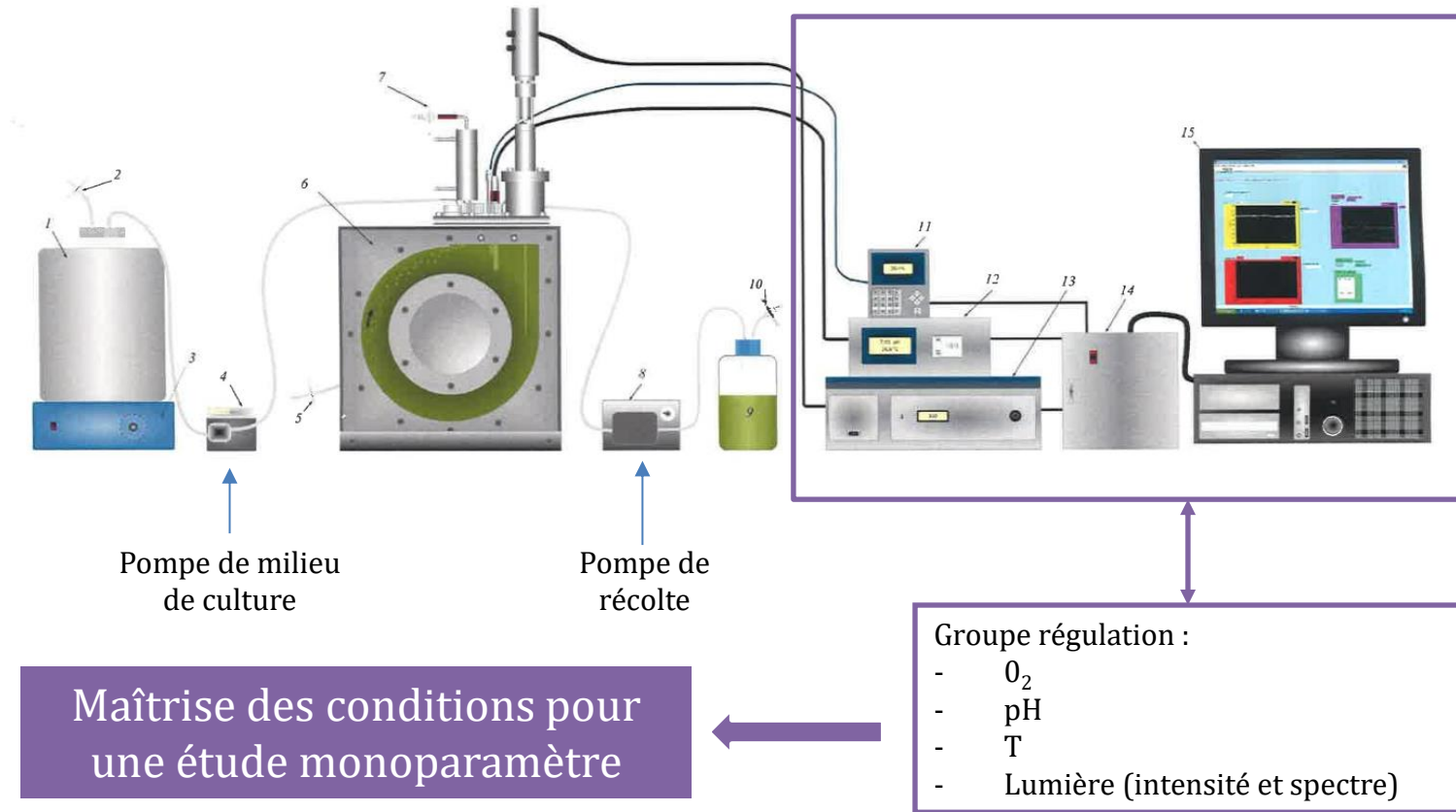


Adaptation de la souche à la production

Détermination des conditions optimales

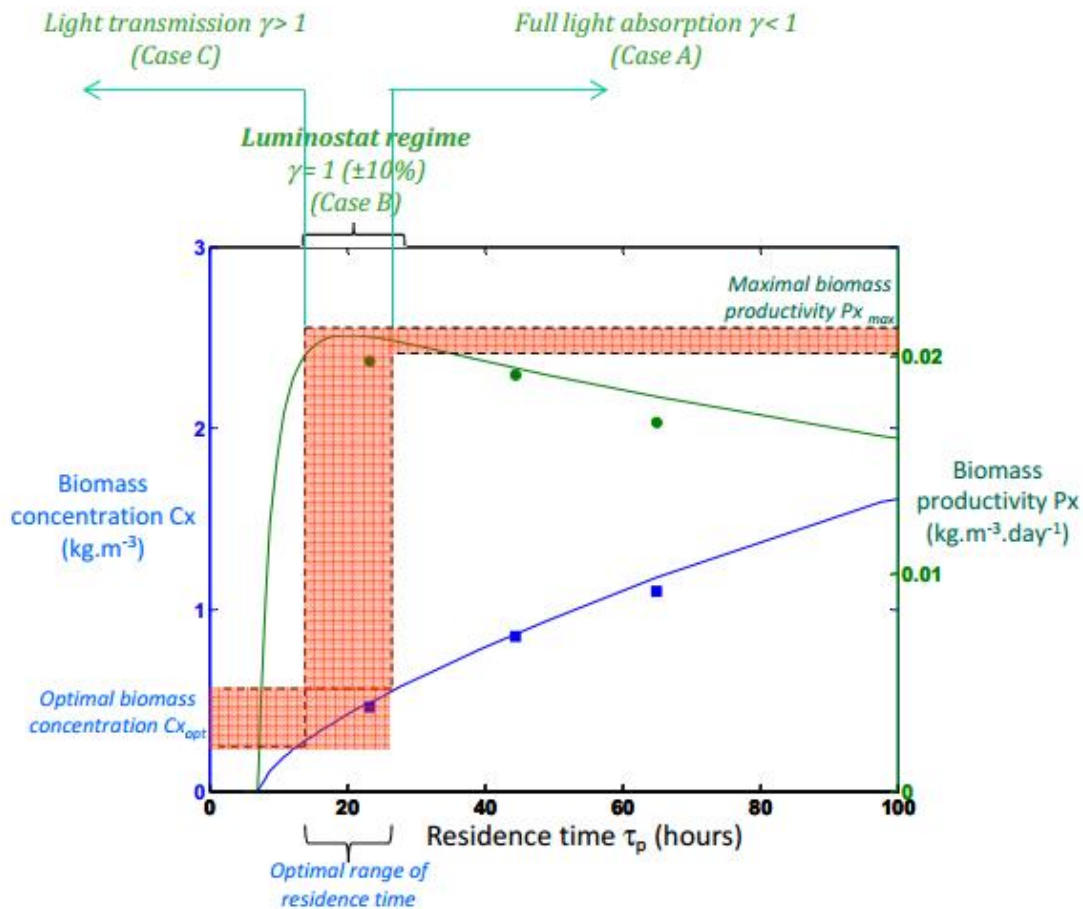


## Réacteur torique : Outil fiable pour la modélisation de culture de microalgues

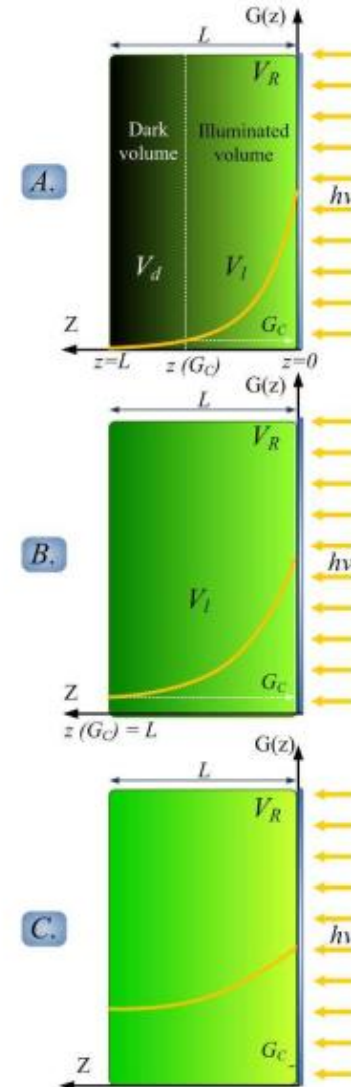


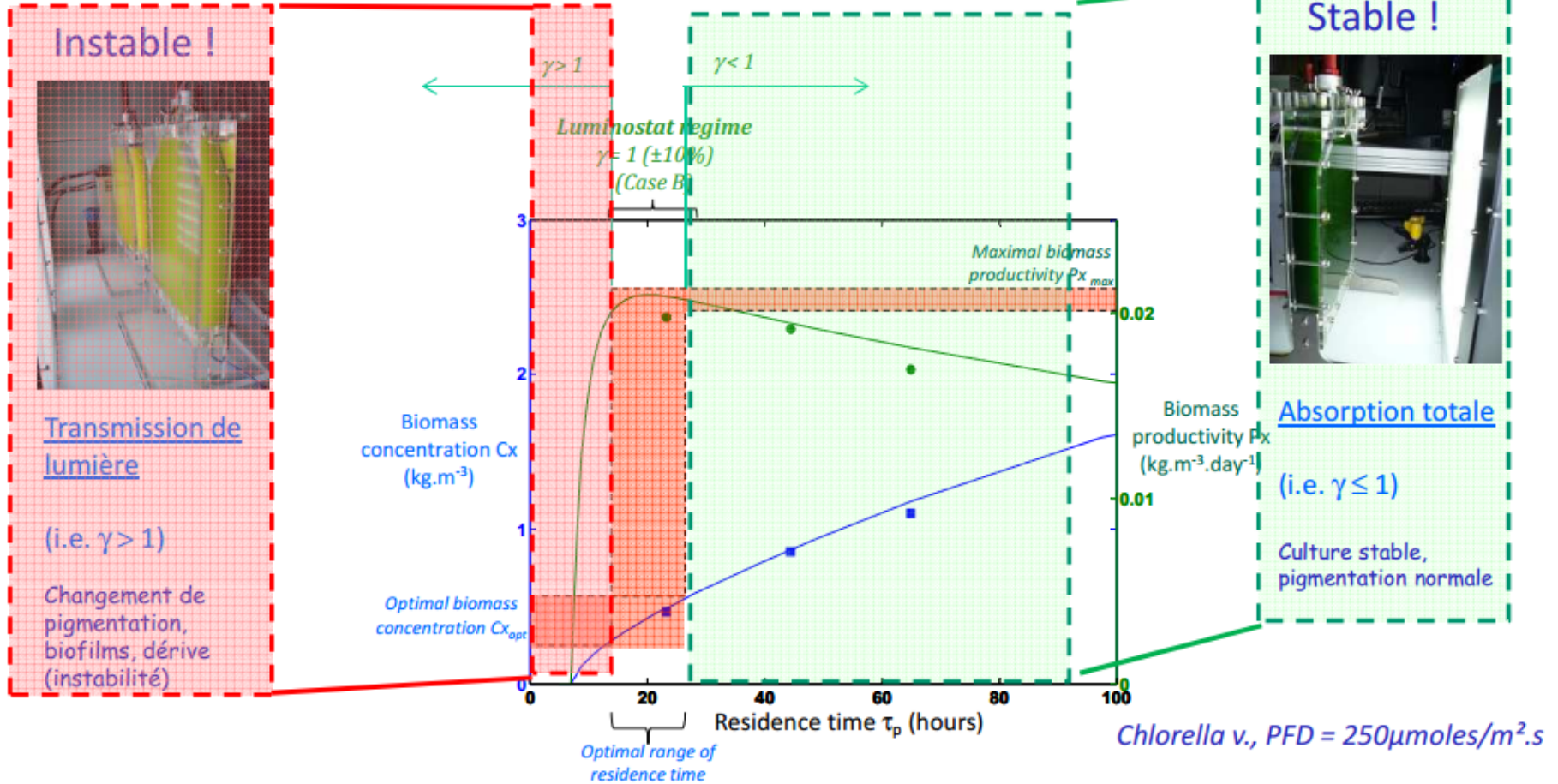
# Modélisation : Biomasse

Takache et al., *Biotechnology Progress*, 2012.



$\gamma = 1$  : a simple but relevant formula to optimize productivity

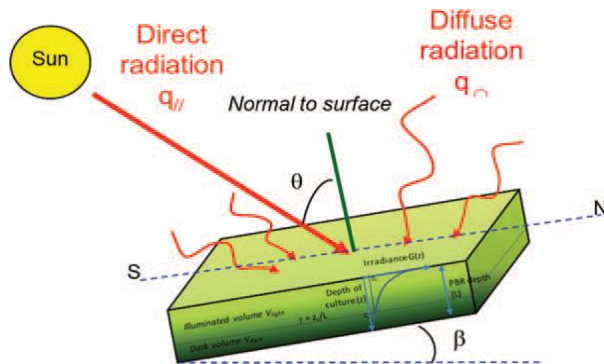




Détermination des conditions optimales : Biomasse



## Méthodologie d'analyse de l'impact de la lumière : Adimensionnalisation de la lumière



Le comportement de la lumière au sein de la culture est fonction :

- La géométrie du système de culture
- La géométrie du panneau de lumière
- La composition pigmentaire

Ex : Système solaire (A.Artu, 2017) **Vitesse spécifique d'absorption de photons<sup>(1)</sup>**

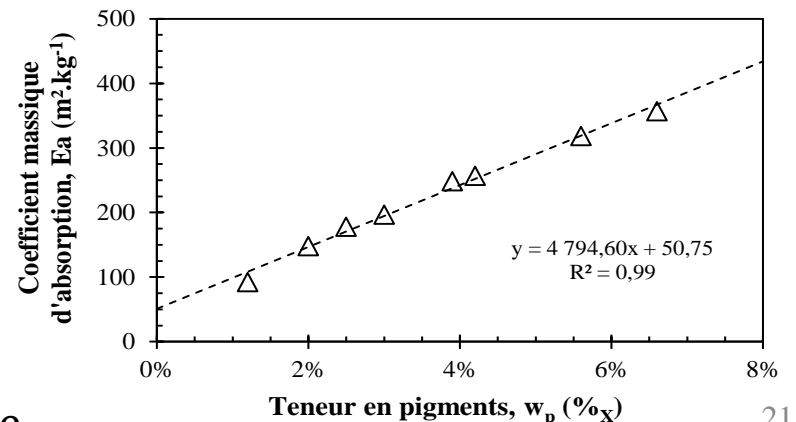
$$\mathcal{A}_{(z)} = G_{(z)} \cdot E a_{\lambda} = \frac{\mathbf{q} \cdot \mathbf{a}}{[\mathbf{X}]} \quad (\mu\text{mol}_{\text{hm}} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$$

**Irradiance locale G ( $\mu\text{mol}_{\text{hm}} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ )**

**modèle à deux flux<sup>(2)</sup> :**

$$\frac{G_{\text{col}(z)}}{q_{//}} = \frac{2}{\cos \theta} \frac{(1 + \alpha)e^{-\delta_{\text{col}}(z-L)} - (1 - \alpha)e^{\delta_{\text{col}}(z-L)}}{(1 + \alpha)^2 e^{\delta_{\text{col}}L} - (1 - \alpha)^2 e^{-\delta_{\text{col}}L}}$$

**Coefficient d'absorption massique E a<sup>(3)</sup> ( $\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}$ )**



**$\mathcal{A}_{(z)}$  paramètre de scale-up pour la lumière**

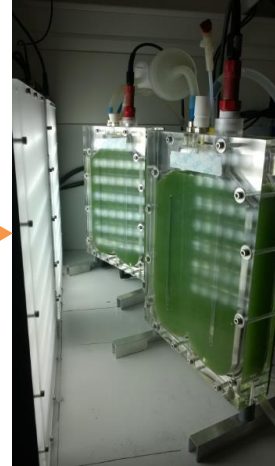
## Scale UP :



10mL



30mL



1L



3m<sup>3</sup>

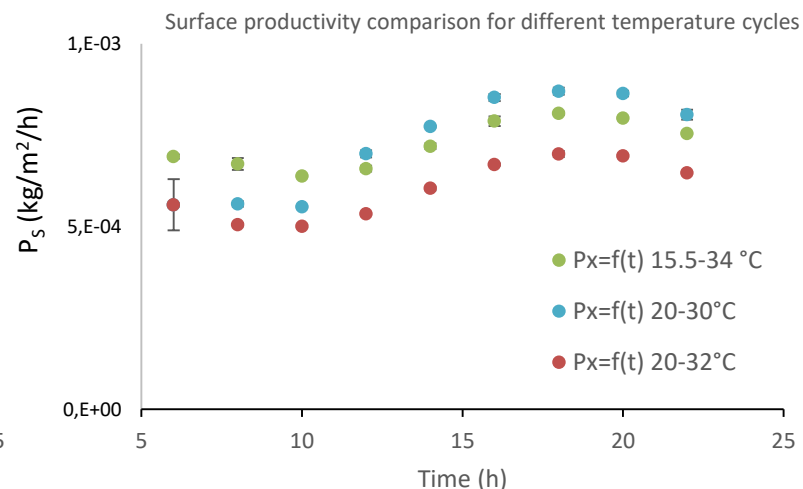
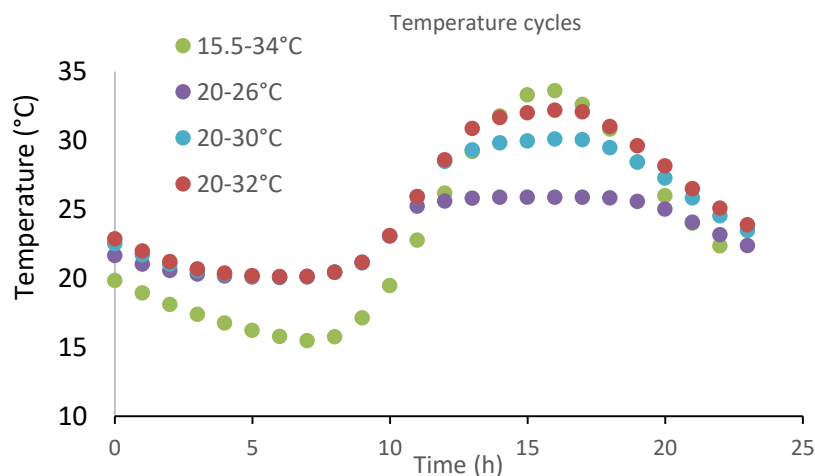
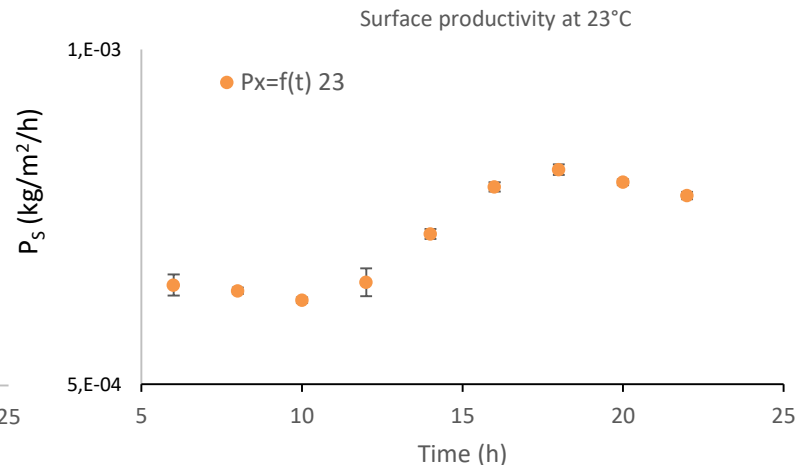
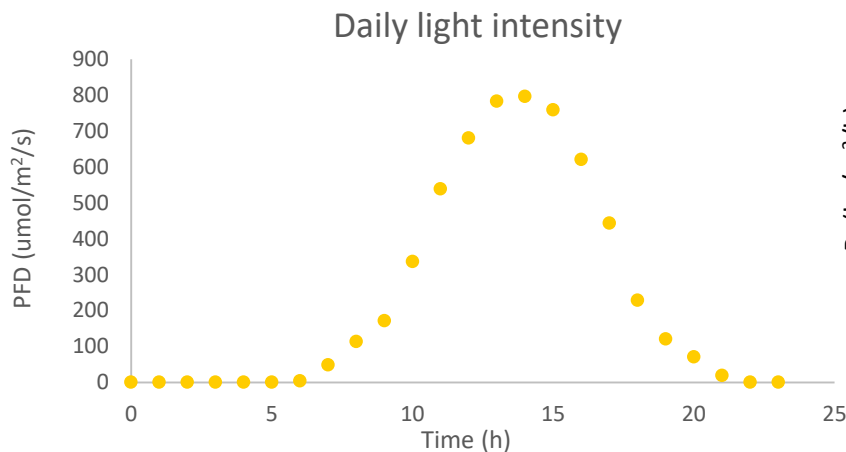
### Objectif, diminuer les coûts de production :

- Grands volumes
- Lumière solaire
- Optimiser la thermorégulation



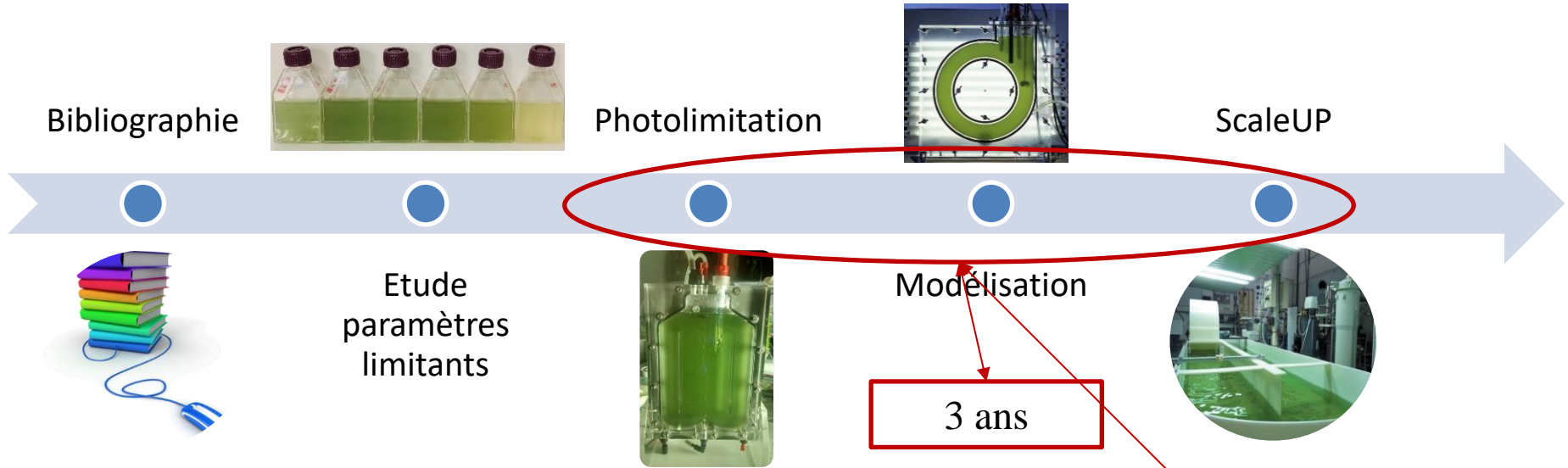
Connaître l'impact de ces changements sur la productivité

## Etude de la robustesse en conditions solaires (*Chlorella vulgaris*)

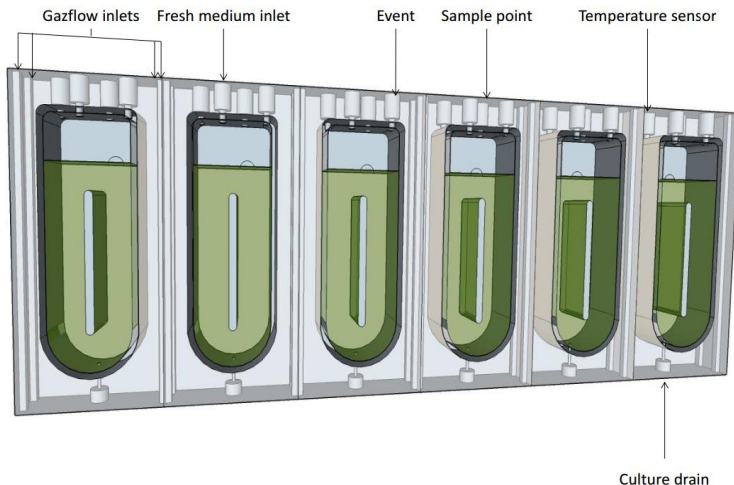


Anticiper les comportements cellulaires en conditions solaires

# Bilan temporel



## Création d'un nouveau photobioréacteur de criblage : EOSS 2



Permet la modélisation :

- Milieu de culture
- Température (fixe ou cycles)
- Flux de lumière (fixe ou cycles)
- Taux de dilution

**6 mois**



Ocean Atlantic

La Baule

Saint-Nazaire

GEPEA I (CRTT)



Plateforme R&D  
AlgoSolis

Polytech'Nantes  
Ecole d'ingénieur  
Département Genie des Procédés et Bioprocédés



UNIVERSITÉ DE NANTES



Merci pour votre  
attention

[alexandra.busnel@univ-nantes.fr](mailto:alexandra.busnel@univ-nantes.fr)

[www.gepea.fr](http://www.gepea.fr)

- (1) Pruvost, J., J. -F. Cornet, and J. Legrand. 2008. "Hydrodynamics Influence on Light Conversion in Photobioreactors: An Energetically Consistent Analysis."
- (2) Pruvost, Jeremy, J. F. Cornet, Vincent Goetz, and Jack Legrand. 2012. "Theoretical Investigation of Biomass Productivities Achievable in Solar Rectangular Photobioreactors for the Cyanobacterium *Arthrospira Platensis*."
- (3) Kandilian, Pruvost, Artu, Lemasson, Legrand, and Pilon. 2016. "Comparison of Experimentally and Theoretically Determined Radiation Characteristics of Photosynthetic Microorganisms."
- (4) Analyse des flux métaboliques *Biologie systémique Chlamydomonas reinhardtii Métabolisme en croissance et en restriction azotée Métabolisme énergétique Photobioréacteur Réseau métabolique Traceurs radioactifs*, Arnaud Maltzoff, 2013,
- (5) Contribution à l'étude hydrodynamique et à la modélisation des photobioréacteurs à haute productivité volumique, Antoine Souliès, 2014
- (6) Conception, mise en oeuvre et modélisation d'un photobioréacteur à membrane pour l'étude du comportement de la cyanobactérie *Arthrospira platensis* en microgravité, Guillaume Cogne, 2003
- (7) Production de microalgues en photobioréacteurs solaires, Antoinette Kazbar, 2017
- (8) Etude, l'optimisation et la modélisation de la production autotrophe d'hydrogène par *Chlamydomonas reinhardtii* en photobioréacteur, Camille Lemasson, 2016
- (9) Modélisation des flux métaboliques en vue de la production d'exopolysaccharides chez *Arthrospira platensis*, Myriam Philippe, 2017,
- (10) Analyse et optimisation de l'apport de carbone en photobioréacteur, Benjamin Le Gouic, 2013
- (11) Caractérisation et modélisation de la réponse biologique aux régimes fluctuants de lumière induits par l'hydrodynamique en photobioréacteurs, Hosni Takachen 2006