

# Fractionnement de biomolécules issues des microalgues: exemple du couplage entre broyage et filtration membranaire

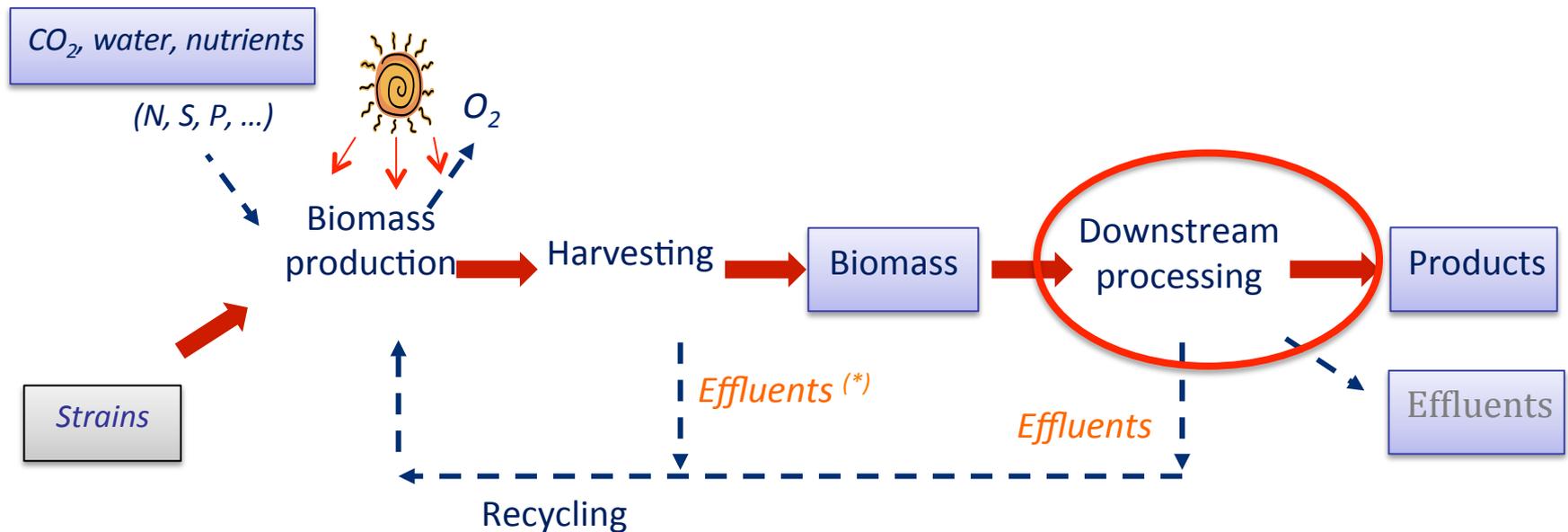
*Estelle Couallier, CNRS GEPEA*

*Journée Microalgues – CEBB - 2018*

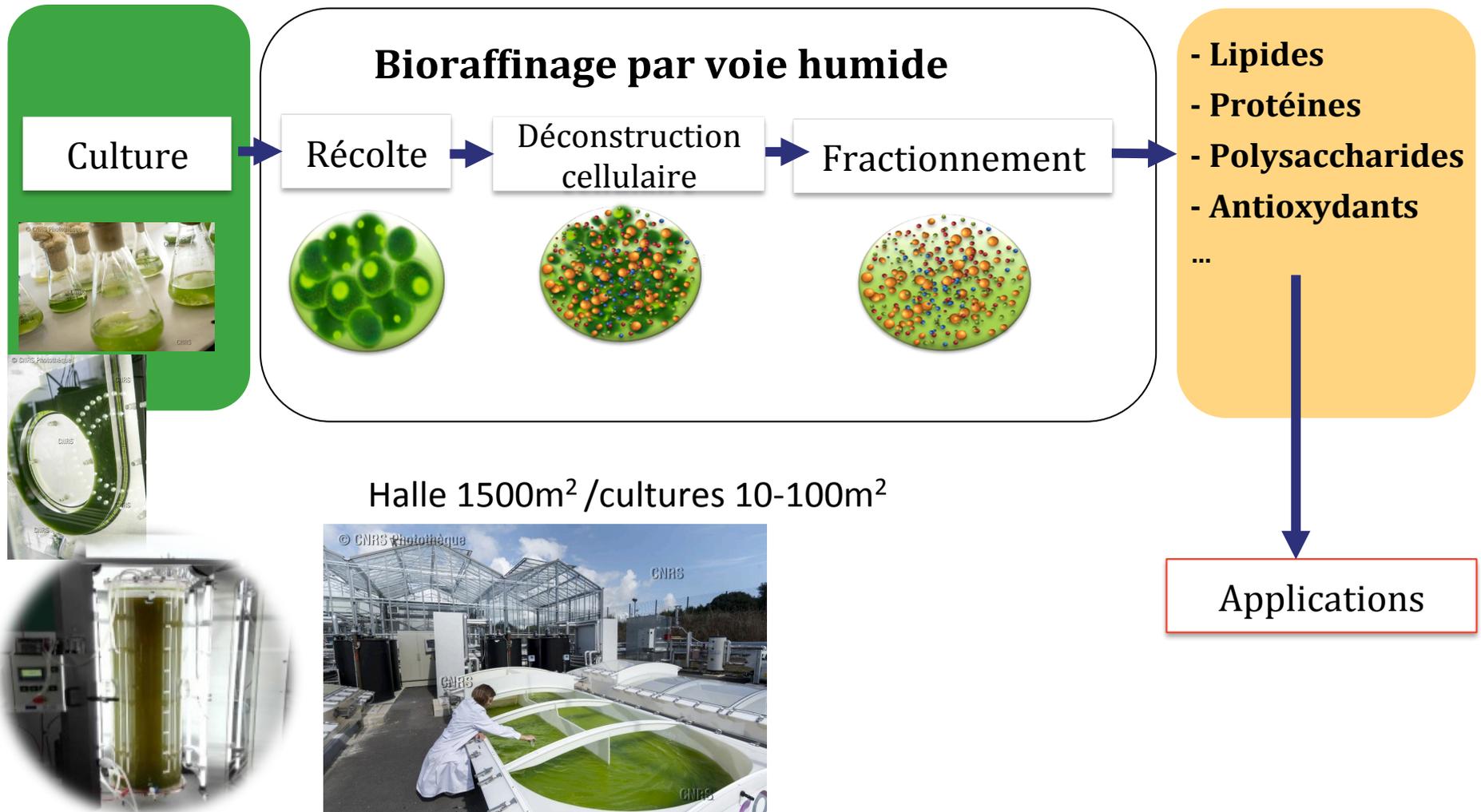
# Contexte: GEPEA

## équipe Bioprocédés Appliqués aux Microalgues

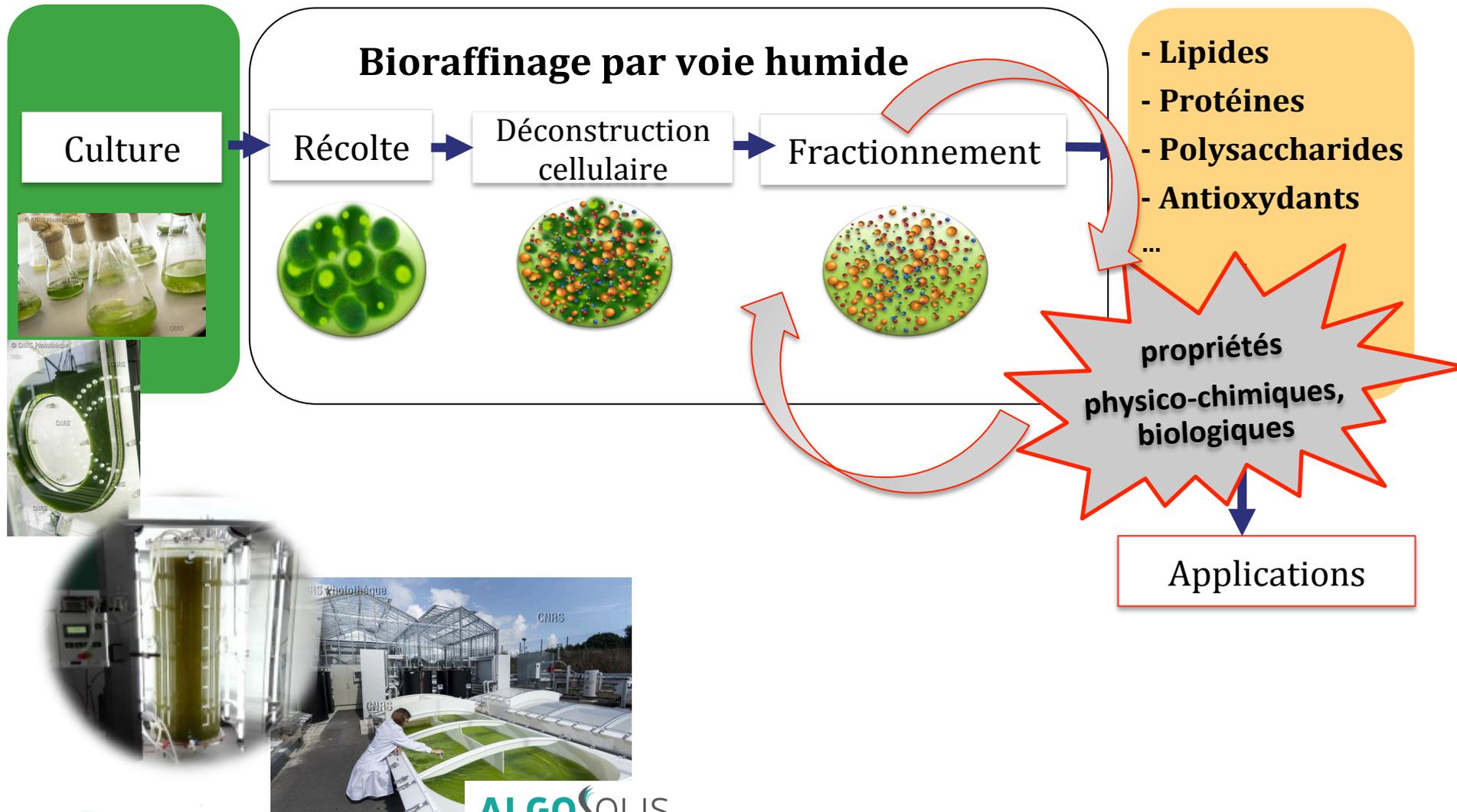
- Maîtriser et optimiser la bioréaction photosynthétique
- Développer, optimiser et contrôler les procédés de production et de **bioraffinage** des microalgues
- Intégrer les opérations unitaires pour une mise en place d'une exploitation industrielle optimisée



# Contexte: Bioraffinage par voie humide

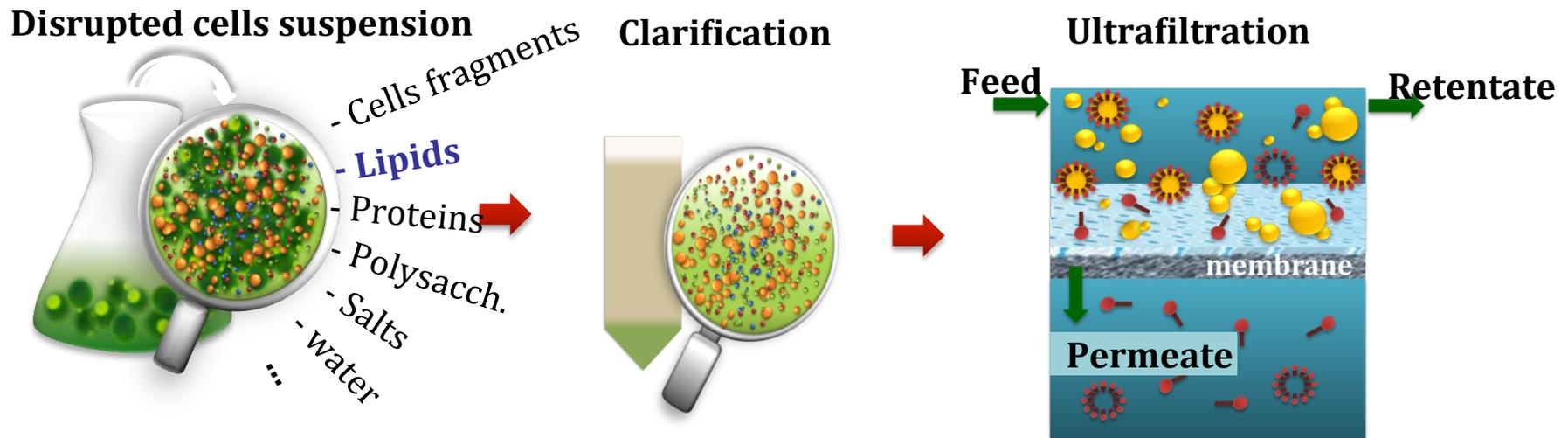


# Contexte: Bioraffinage par voie humide



# Contexte: cas étudié (213-2018)

- Développement du bioraffinage par voie humide (pas de séchage)
- Fractionnement membranaire des biomolécules (lipides, protéines)
- Biomasse: *p-chlorella kessleri* carencée pour produire des lipides



# Plan

- 1. Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?**
  - Ex: caractérisation des lipides (Clavijo, 2018)
  - détour: l'organisation des lipides en phase aqueuse (Clavijo 2017, Couallier 2018)
- 2. La filtration pour concentrer les lipides**
  - Filtration de mélanges modèles et réels
  - Filtration tangentielle et dynamique
- 3. Destruction cellulaire et filtration: un couplage à maîtriser**

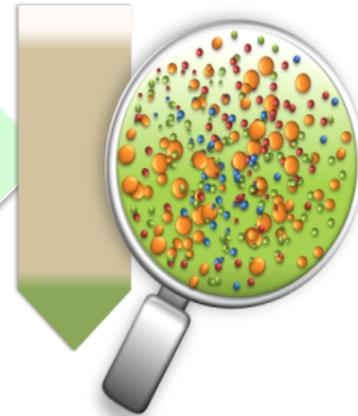
# Plan

- 1. Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?**
  - Ex: caractérisation des lipides (Clavijo, 2018)
  - détour: l'organisation des lipides en phase aqueuse (Clavijo 2017, Couallier 2018)
- 2. La filtration pour concentrer les lipides**
  - Filtration de mélanges modèles et réels
  - Filtration tangentielle et dynamique
- 3. Destruction cellulaire et filtration: un couplage à maîtriser**

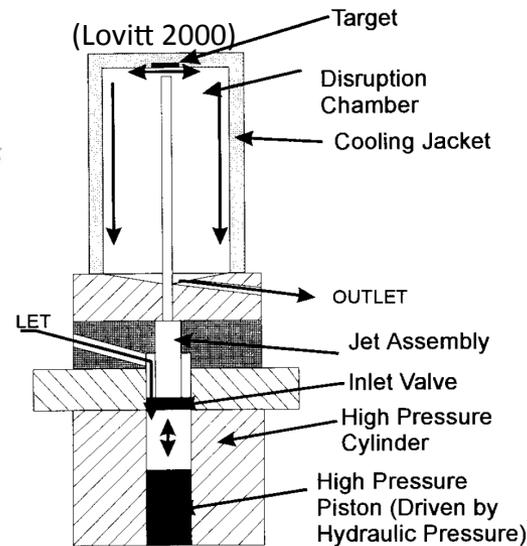
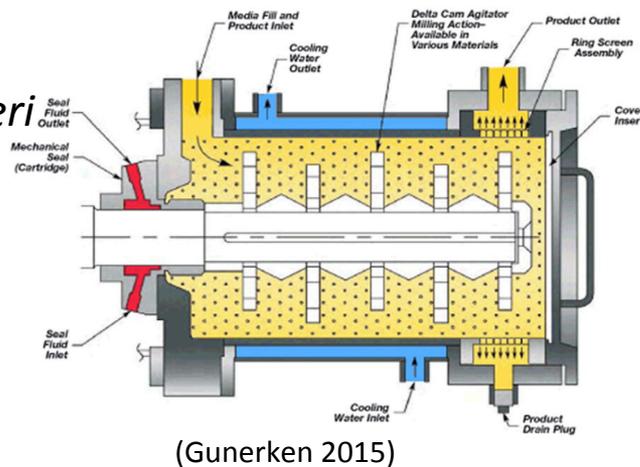
# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?



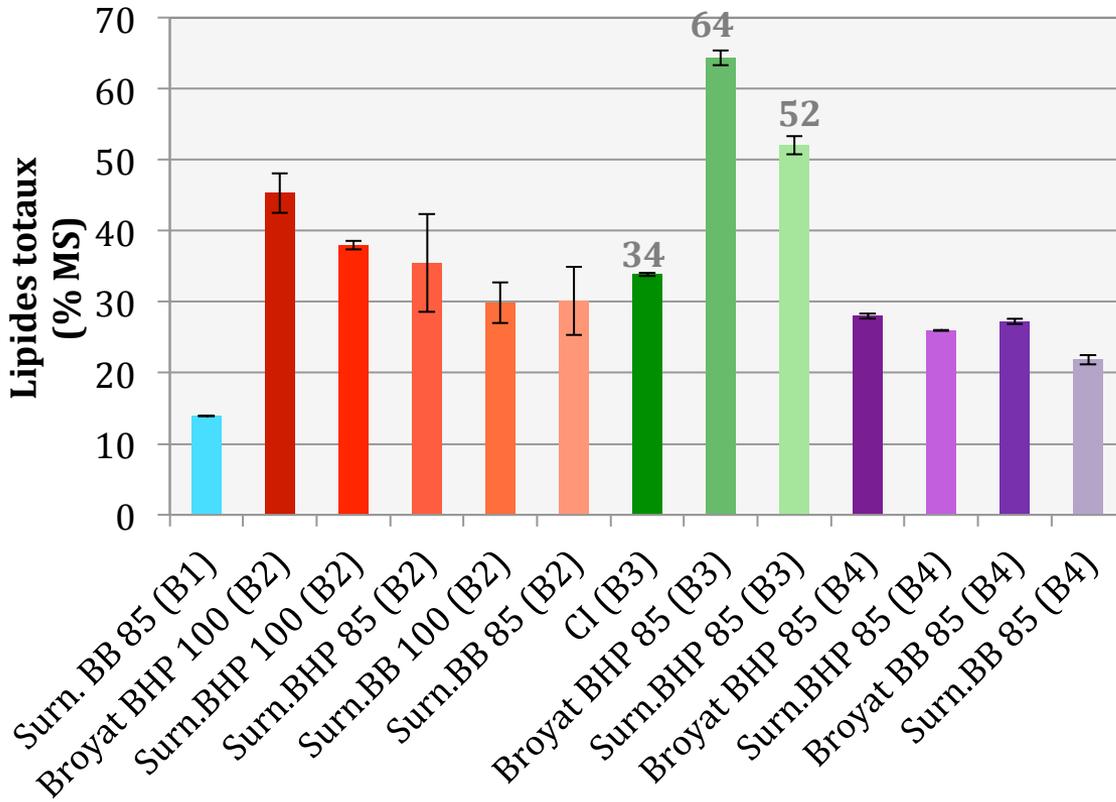
Broyage:  
Libération des molécules d'intérêt  
+ Risque de dégradation de leurs propriétés  
+ Risque de réorganisation: comment fractionner?



*P-chlorella kessleri*  
carencée



# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?



Le broyage favorise la disponibilité des lipides pour l'extraction



**Surnageant :**  
Contient entre 40 - 50 % des lipides des broyats



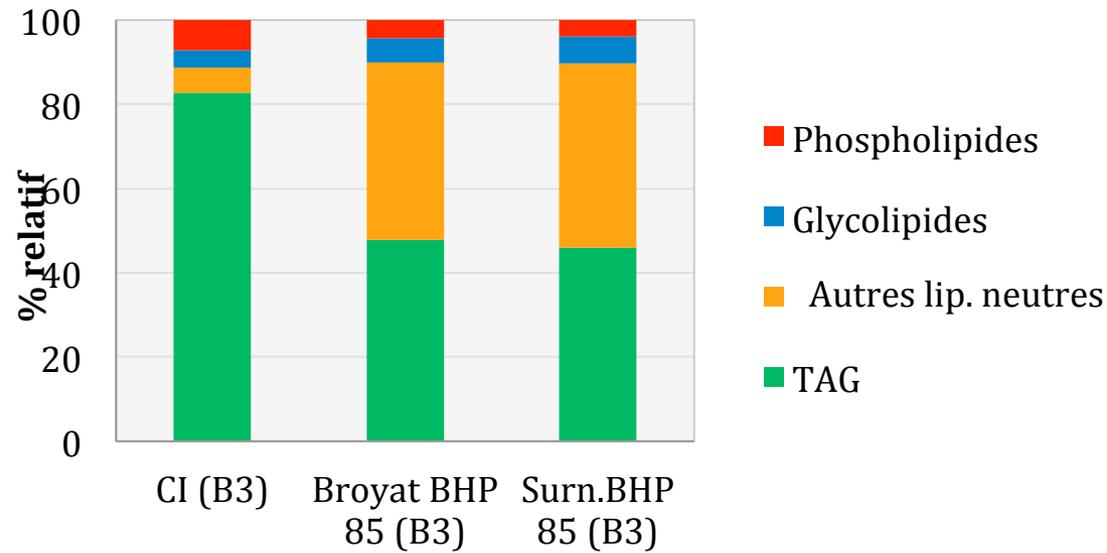
# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?

## Composition en acides gras tot.

Principalement **insaturés jusqu'à 3 insaturations** (monoinsaturés AGMI et polyinsaturés AGPI)

- Acide oléique (C18:1)
- Acide linoléique (C18:2)
- Acide  $\alpha$ -linoléique (C18:3)
- Acide palmitique (C16:0)

## Profil de lipides par classe (batch 3)



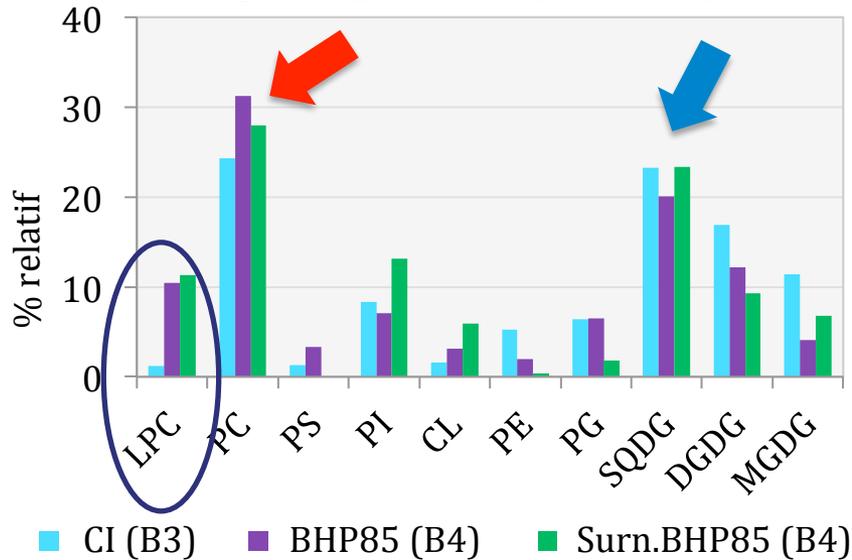
## Effet du broyage sur les classes des lipides

**Augmente** la proportion d'« **Autres lipides neutres** » :

**acides gras libres** → hydrolyse

# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?

## Lipides polaires (GL et PL)



Lipides polaires:  
Amphiphiles  
Propriétés tensioactives

LPC tensioactif +

**Phospholipide  
phosphatidylcholine (PC)**

**Glycolipides :  
SQDG>DGDG>MGDG**

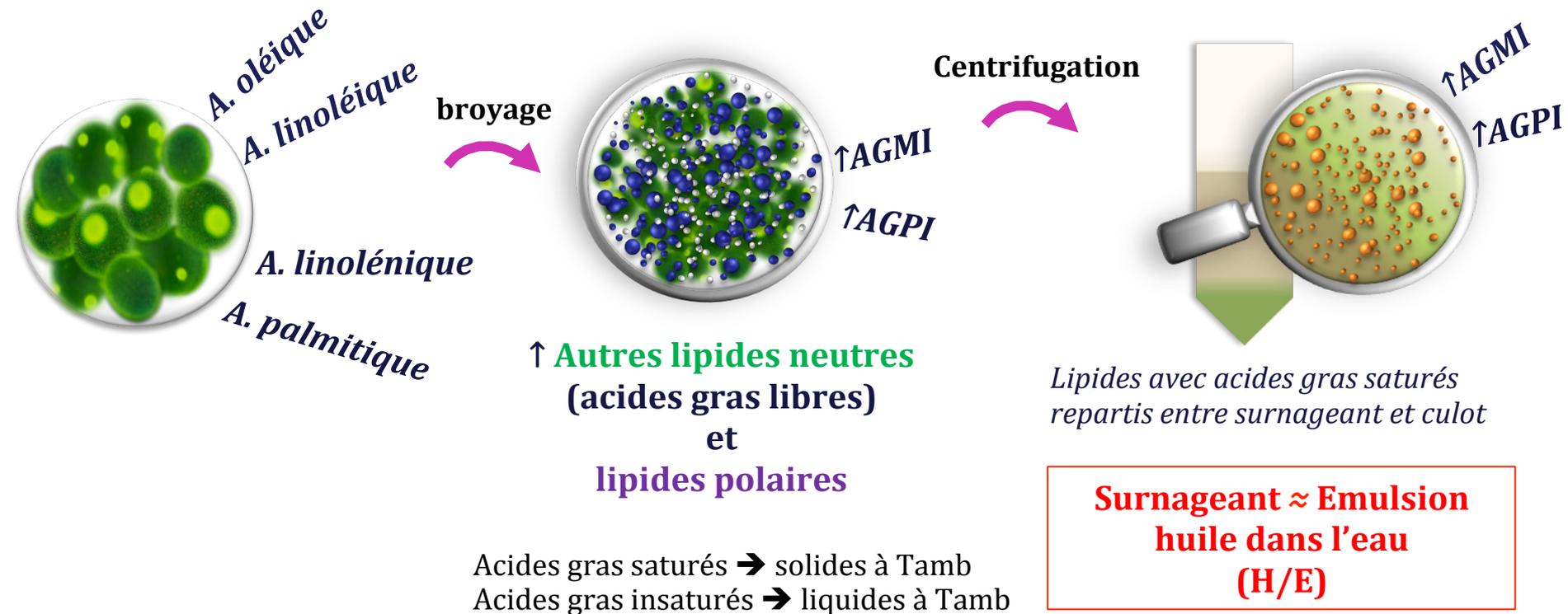
- **GL et PL** → **profils similaires** pour le broyat et le surnageant
- **Hydrolyse** possible de la **PC** après broyage par l'action des enzymes en **lysophosphatidylcholine**

# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?

Cellules intactes

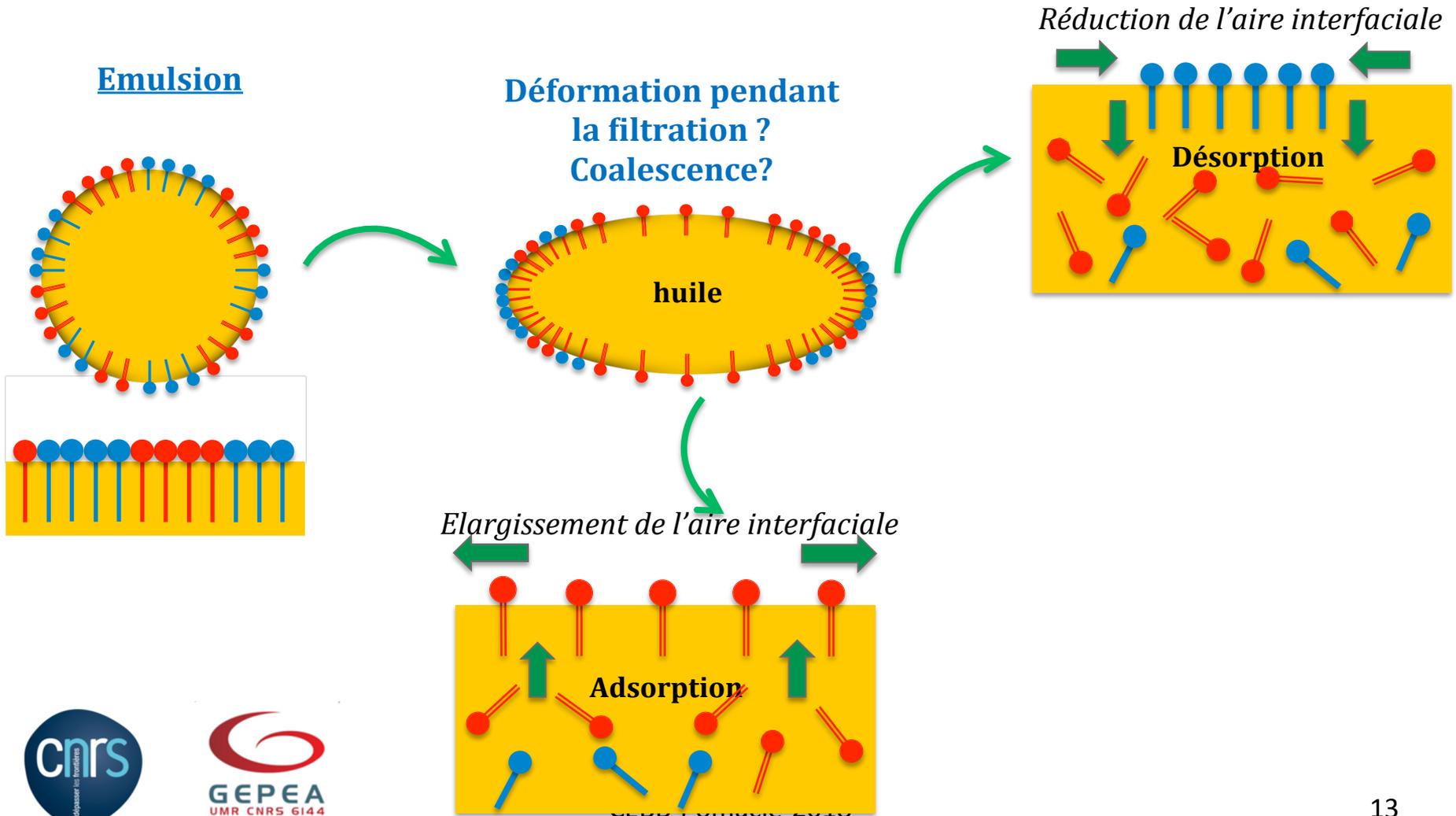
Broyat

Surnageant



# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?

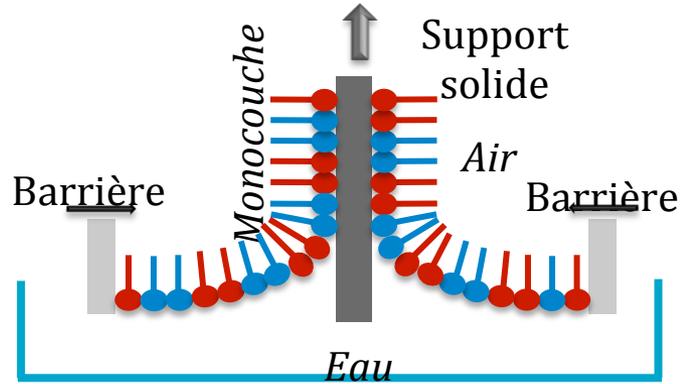
## Interface huile/eau dans le surnageant



# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?

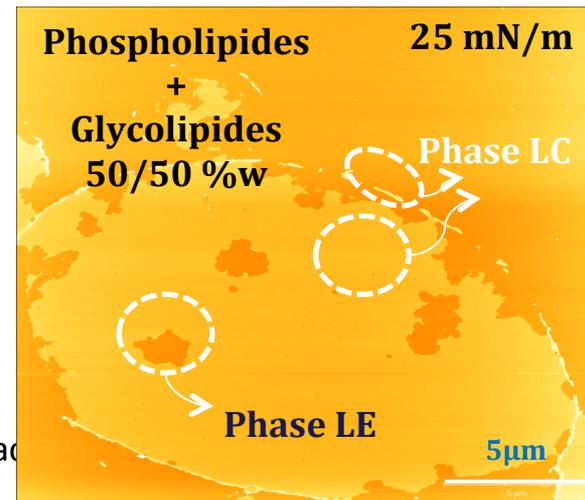
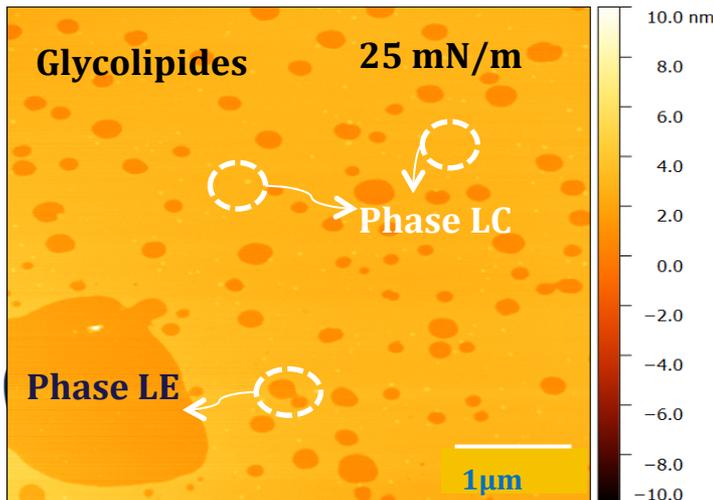
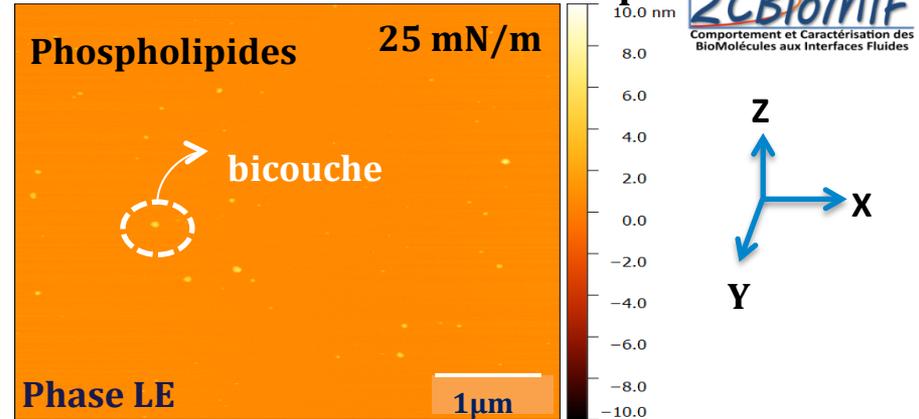
## Organisation des lipides tensioactifs à l'interface

### Méthode de Langmuir-Blodgett



Prélèvement de monocouche pour analyse en AFM

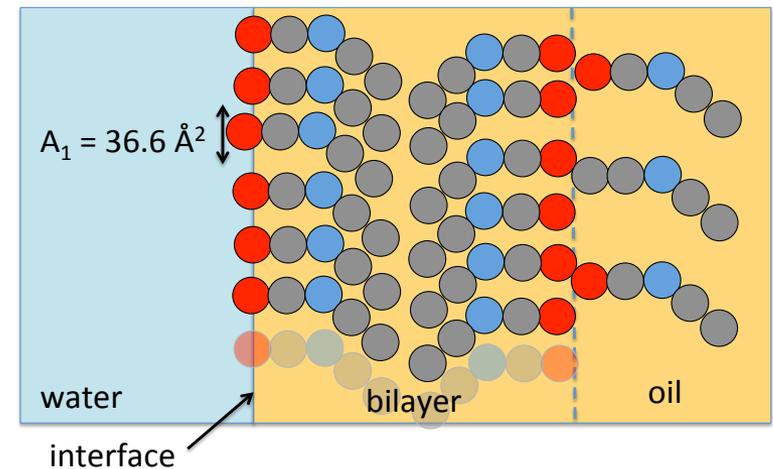
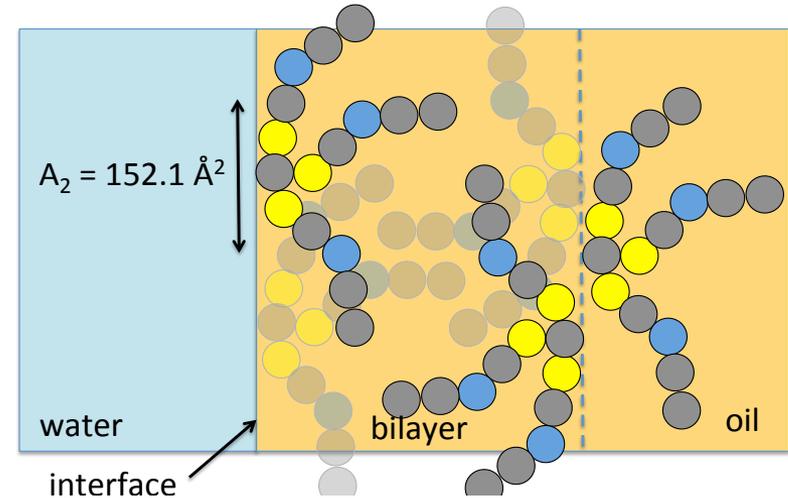
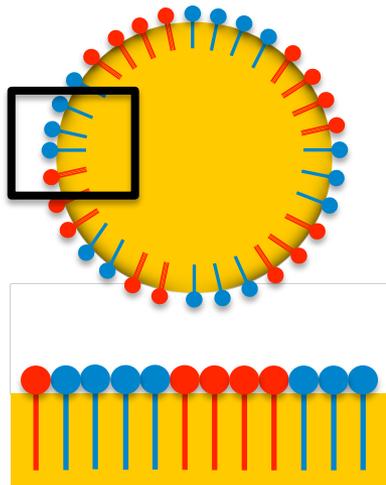
➔ Observations des films en **microscopie AFM**



Séparation partielle des phases  
➔ **résultat des interactions répulsives** entre les différents composés

# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés? Interface huile/eau dans le surnatant

Modélisation Moléculaire Gros Grain:  
Trioleate et acide oléique  
Validé expérimentalement  
(tension interfaciale et aire surfacique)  
→ Analyse de la structure de l'interface



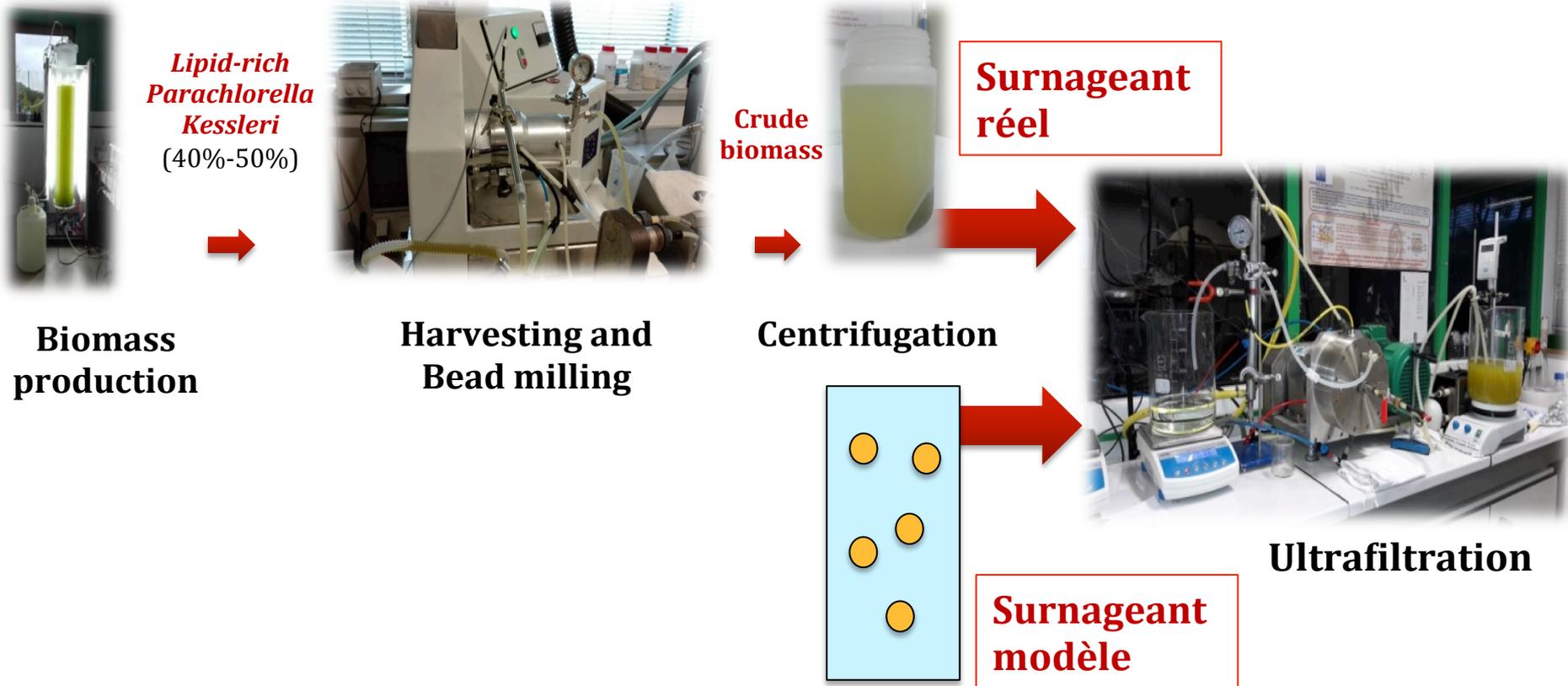
# 1-Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?

- Modifications au cours du broyage suivant les conditions opératoires
  - Composition globale (nature des composés libérés)
  - Organisation (émulsion, taille de gouttelettes, stabilité de l'interface)

# Plan

1. Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?
  - Ex: caractérisation des lipides (Clavijo, 2018)
  - détour: l'organisation des lipides en phase aqueuse (Clavijo 2017, Couallier 2018)
2. **La filtration pour concentrer les lipides**
  - Filtration de mélanges modèles et réels
  - Filtration tangentielle et dynamique
3. Destruction cellulaire et filtration: un couplage à maîtriser

## 2-La filtration pour concentrer les lipides



**Intérêt du surnageant modèle:**

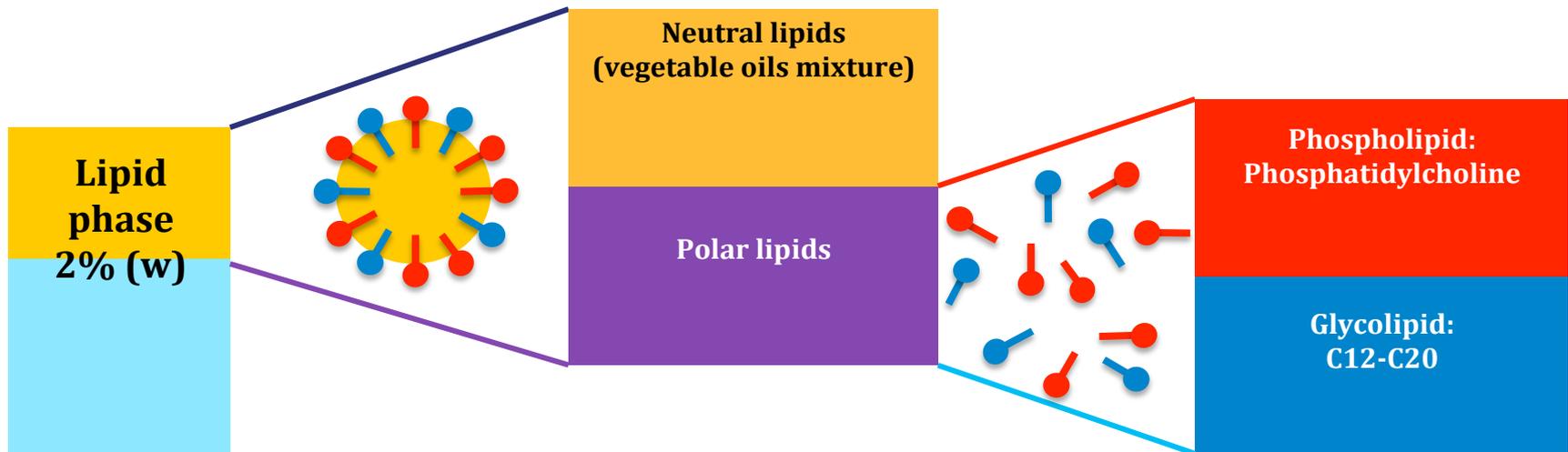
Quantité disponible

Mélange de composition maîtrisée

Nécessaires pour comparer  
Des essais de fractionnement

## 2-La filtration pour concentrer les lipides

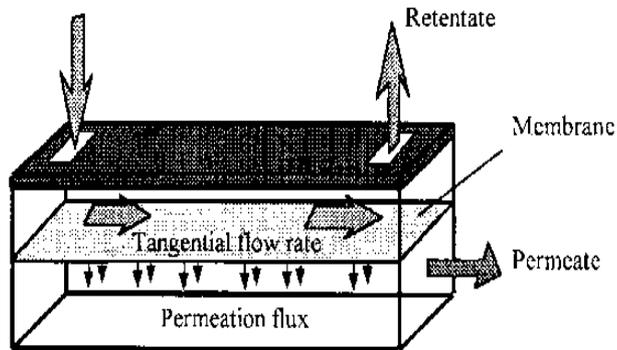
### Mélange modèle: biomasse préconcentrée, broyée et clarifiée



*Clavijo, E. and al., 2016*

# 2-La filtration pour concentrer les lipides

## Crossflow (CF) module (Orelis Rayflow Pleiade)



**Shear rate : 10,000 – 50,000 (s<sup>-1</sup>)**

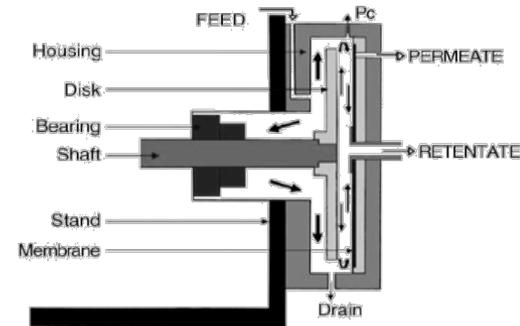
$$\dot{\gamma} = \frac{8}{e} \cdot v$$

$e$  = thickness of the module channel (m)

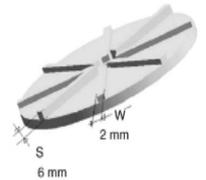
$v$  = flow velocity (m/s)

[Delaunay *et al.* 2008]

## Rotating disk (RD) module (UTC, DMI)



VANED DISK



**Shear rate: 10,000 – 500,000 (s<sup>-1</sup>)**

$$\dot{\gamma}_{\max} = 0.0296 \cdot \nu^{-\frac{4}{5}} \cdot (k\omega)^{\frac{9}{5}} \cdot R_d^{\frac{8}{5}}$$

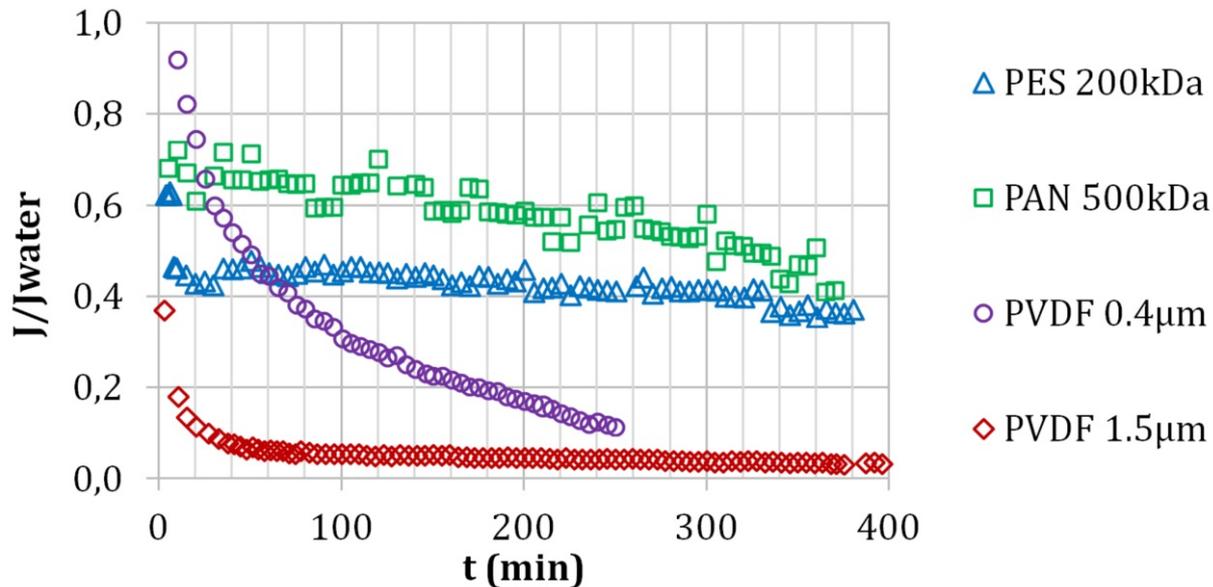
$k$  = velocity factor

(smooth disk = 0.42, vaned disk= 0.89)

[Bouzerar *et al.* 1999], [Frappart *et al.* 2006]

## 2-La filtration pour concentrer les lipides

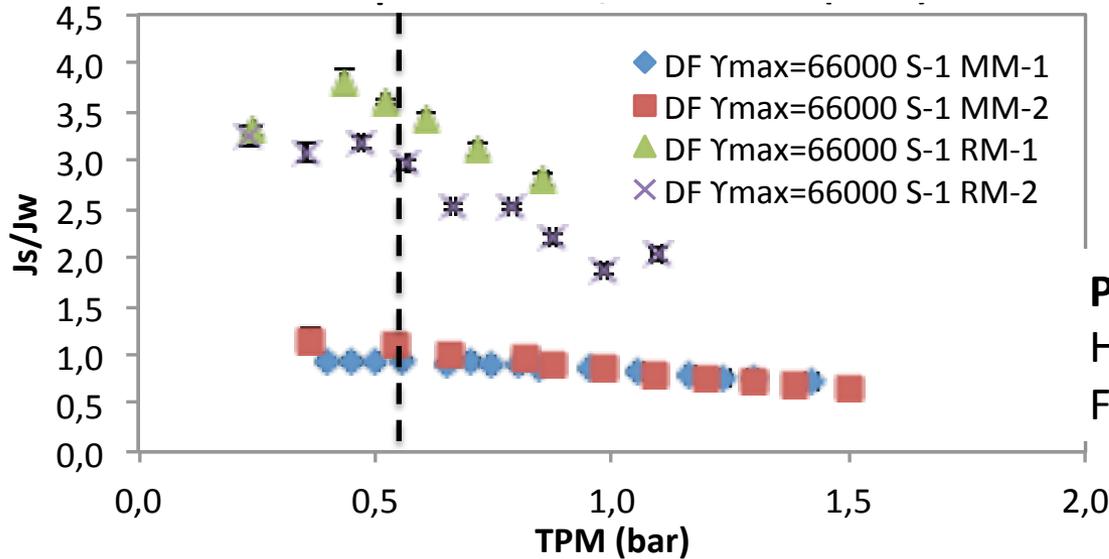
### Sélection de la membrane à l'aide du mélange modèle (filtration tangentielle)



- **Stabilité après conditionnement et compactage**
  - **Flux de perméat et stabilité du flux**
  - **Colmatage et résistances**
  - **Taux de rétention**
  - **Nettoyabilité**
- ➔: **PAN 500 kDa**

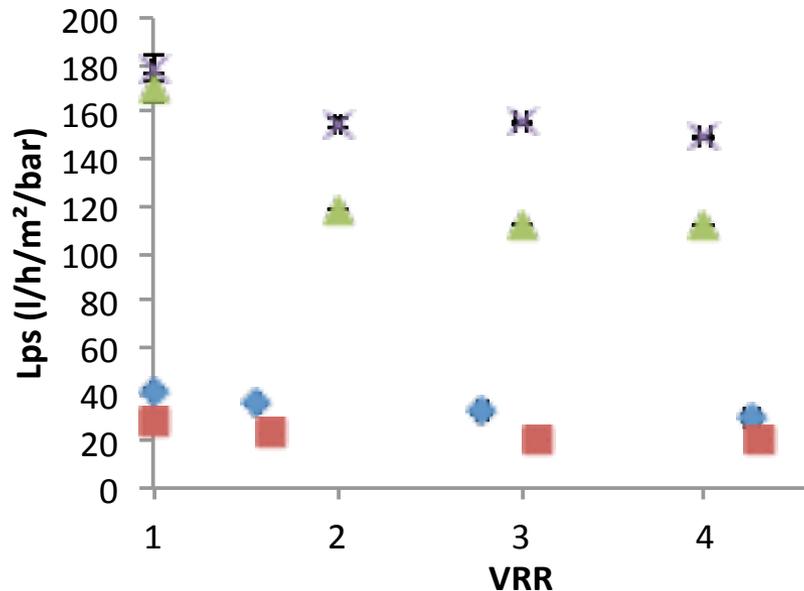
# 2-La filtration pour concentrer les lipides

## Résultats de filtration dynamique des mélanges modèles et réels



### Produits réels:

Hydrophilisation de la membrane  
Flux+ élevés car concentration + faible

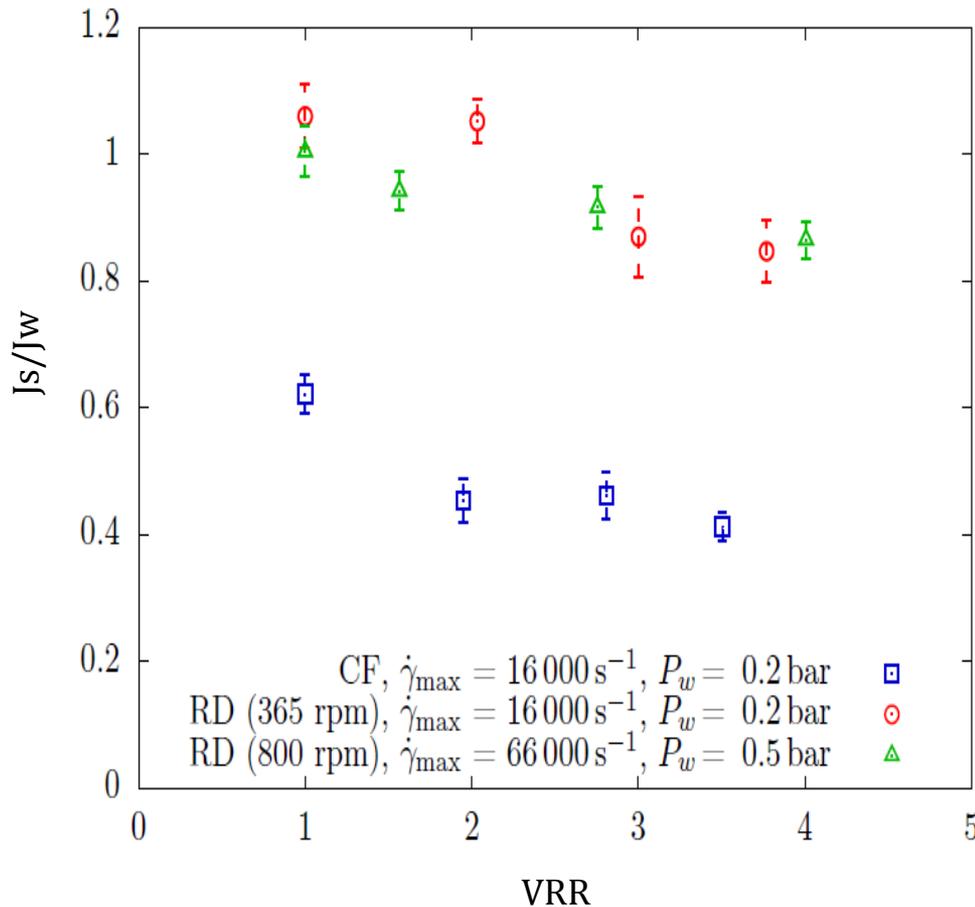


### Produits modèles:

Permettent d'obtenir des résultats répétables  
Et de sélectionner une membrane  
Tests à concentration élevée (MSx10)  
Conditions de filtration (pression critique) similaires  
Conditions validées

## 2-La filtration pour concentrer les lipides

### Comparaison des filtrations tangentielle et dynamique (mélange modèle)



Filtration dynamique:

-Limitation du colmatage

-Certaines conditions de cisaillement faciliteraient la coalescence

# Plan

1. Impact de la destruction cellulaire sur la nature et l'organisation des composés?
  - Ex: caractérisation des lipides (Clavijo, 2018)
  - détour: l'organisation des lipides en phase aqueuse (Clavijo 2017, Couallier 2018)
2. La filtration pour concentrer les lipides
  - Filtration de mélanges modèles et réels
  - Filtration tangentielle et dynamique
3. Destruction cellulaire et filtration: un couplage à maîtriser

# 3-Destruction cellulaire et filtration: un couplage à maîtriser

- **Essais complémentaires:**

- Culture de 2 souches: *Nannochloropsis gaditana* (eau de mer) et *Parachlorella kessleri* (eau douce)
- Broyeur à billes couplé à un traitement thermique et/ou ajout d'antioxydant
- Filtration tangentielle ou dynamique
- Suivi des protéines, des sucres, des lipides et des sels

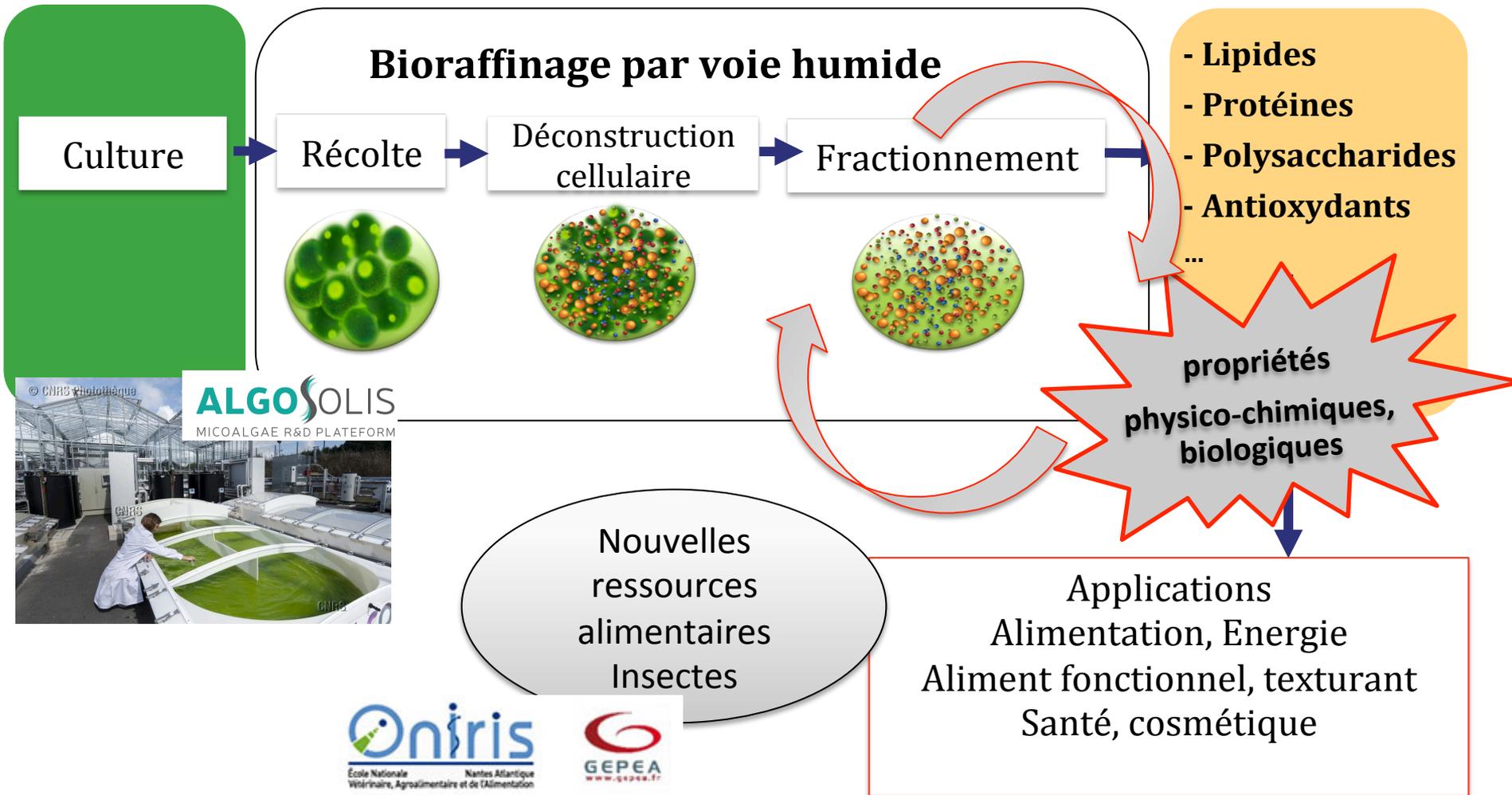
- **Premières tendances:**

- Très bonne rétention des lipides, pas de rétention des sels
- Rétention des protéines très dépendante des conditions de prétraitement (dénaturation)
- Fractionnement possible suivant les conditions

- **Projet à venir:**

- identification de l'organisation des lipides et protéines dans le broyat et surnageant en fonction des conditions de broyage et détermination de l'impact sur la sélectivité des membranes.

# Conclusion



# Remerciements

- **GEPEA – Équipe Bioprocédés Appliqués au Microlagues (16 Chercheurs/Enseignants Chercheurs – 7 ingénieurs/techniciens – 15 PhD )**
- Doctorants, post-doctorants
  - Erika Clavijo Rivera (2014-2017)
  - Liliana Villafaña López (2015-2017)
  - Shuli Liu (2017-2020)
  - Vinoth Kumar Raja (2018)
- Collaborations
  - GEPEA: Luc Marchal, Matthieu Frappart, Patrick Bourseau
  - SIMM: Cécile Monteux
  - INRA BIA: Alain Riaublanc
  - LCP Orsay: Bernard Rousseau
- Financements:



CEBB-Pomacle-2018

ADEME



Agence de l'Environnement  
et de la Maîtrise de l'Énergie

Atlantic ocean

La Baule

Saint-Nazaire

GEPEA lab. (CRTT)

AlgoSolis R&D facility

Polytech'Nantes  
Graduate school of the University of Nantes  
Process and Bioprocess Engineering



UNIVERSITÉ DE NANTES



Estelle Couallier

[estelle.couallier@univ-nantes.fr](mailto:estelle.couallier@univ-nantes.fr)



## INFRASTRUCTURE

- Surface de production 1500m<sup>2</sup>
- Halle de bioraffinage
- Salles préculture et laboratoire d'analyse
- PROCÉDES DE CULTURE : 10 à 100m<sup>2</sup>
- Raceways clos
- Photobioréacteurs intensifiés

## PROCÉDES DE RECOLTE

- Systèmes de préconcentration/ concentration
- Procédés de filtration et séparations membranaires
- Centrifugeuses

## PROCÉDES DE BIORAFFINAGE

- Destructeur cellulaire
- Procédés d'extraction
- Procédés de fractionnement

## CONDITIONNEMENT DE LA BIOMASSE

- Sécheurs
- Lyophilisateur
- Congélateurs

## Objectifs

- Etudes en conditions réelles et à une échelle représentative.
- Optimisation des briques du procédé d'exploitation (souches, technologies).
- Production sur effluents industriels (gaz, liquides).