

MILIEU DE CULTURE ANTI-ADHÉSION

DOMAINE DE L'INVENTION

La présente invention concerne un procédé culture de microorganismes, en particulier
5 de protistes, réalisé de manière à prévenir l'adhésion des microorganismes sur les parois
des réacteurs dans lesquels la culture est réalisée.

ETAT DE LA TECHNIQUE

Les micro-organismes ont tendance à adhérer aux parois lors des cultures de longues
10 durées (de plusieurs jours à plusieurs mois). Ce phénomène dit de « fouling » est bien
connu. Il a des conséquences très néfastes tant sur la productivité des cultures que sur la
longévité du matériel qui doit régulièrement être nettoyé. Les cellules qui adhèrent aux parois
des bioréacteurs réduisent la quantité de lumière pénétrant à l'intérieur, elles peuvent mourir
par manque de ressources (nutriments, oxygène...etc) et provoquer ainsi le développement
15 d'organismes nécrophages.

Certains matériaux génèrent moins d'adhérences que d'autres mais aucun ne permet
de s'affranchir des inconvénients cités ci-dessus.

La salinité du milieu dans lequel circulent les microorganismes et la nature de la paroi
qui le contient peuvent avoir une incidence sur l'adhésion des microorganismes à la paroi.
20 Ainsi, il a été montré que l'ajout de chlorure de fer favorise les phénomènes d'adhésion de
microalgues du genre *Chlorella* sur les parois de verre (Nordin J. & al., 1967).

Il existe des méthodes dites actives de travail en surface tel que les systèmes
mécaniques de type grattoir (Wet Labs/Sea-Bird BioWiper), jet d'eau sous pression, ultrason,
les biocides comme chlore ou brome (Alconox), les détergents anioniques pour le lavage
25 manuel, les radiations UV.

Il est possible de construire une paroi « anti-fouling » intégrée (C-Spray YSI). Cela peut
être une surface composée d'un biocide qui libère progressivement l'élément neutralisant du
biofilm dans le milieu. Ces systèmes avec biocides sont généralement composés de sels de
cuivre, il libère le Cu^{2+} qui interfère avec les enzymes sur les membranes empêchant leur
30 division (YSI 6-Series Anti-Fouling Kits).

Ces méthodes sont difficiles à mettre en œuvre car il est difficile de libérer les bonnes
doses de produits en fonction de la croissance avec un risque de déploiement trop rapide du
biofilm. Une fois le biofilm formé, le produit est moins efficace. Par ailleurs l'efficacité de ces
techniques chimiques est basée sur la mort des microalgues, donc au détriment de leur
35 croissance.

Il reste le besoin d'un moyen d'éviter l'agréation des microorganismes cultivés dans
des réacteurs tout en conservant voire en améliorant les propriétés de croissance et l'activité

biologique de ces microorganismes.

EXPOSE DE L'INVENTION

Pour résoudre ce problème technique, l'invention concerne l'utilisation d'un agent
5 floculant dans le milieu de culture pendant la culture des microorganismes pour prévenir
l'adhésion des microorganismes sur les parois des réacteurs dans lesquels la culture est
réalisée.

L'invention concerne aussi un procédé de culture de microorganismes dans un milieu
de culture approprié pour leur croissance, caractérisé en ce que le milieu de culture
10 comprend une quantité appropriée d'un agent floculant pour prévenir l'adhésion des
microorganismes sur les parois des réacteurs dans lesquels la culture est réalisée.

DESCRIPTION DES FIGURES

La figure 1 représente la viabilité des microalgues avec différentes concentrations de
15 chlorure de fer.

La figure 2 représente la viabilité des microalgues avec différentes concentrations de
chlorure de zinc.

La figure 3 représente la viabilité des microalgues avec différentes concentrations
d'amidon

20 La Figure 4 représente la production de biomasse de la même microalgue dans deux
conditions, avec et sans agent floculant FeCl_3 . Les conditions de températures, pH,
luminosités sont les mêmes.

La Figure 5 représente les points disposés sur la paroi de la colonne transparente
employée comme réacteur pour la mesure de la capacité de passage de la lumière à travers
25 la colonne.

La Figure 6 représente l'efficacité de 3 flocculants. Il s'agit de 2 éléments inorganiques
dont le FeCl_3 , le ZnCl_2 et un élément organique, l'amidon de pomme de terre.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

30 L'invention concerne la culture de microorganismes. Ces procédés de cultures de
microorganismes et les microorganismes cultivés sont bien connus de l'homme du métier.

Il s'agit notamment de bactéries, de levures ou encore de protistes, plus
particulièrement de microalgues. Selon un mode particulier et préféré de réalisation de
l'invention, les microorganismes cultivés sont des protistes.

35 Par « protistes », on entend tous les microorganismes unicellulaires eucaryotes. Les
microalgues (Chlorophytes telles que *Chlorella*, *Senedesmus*, *Tetraselmis*, *Haematococcus* ;
Charophytes, *chrysophytes* dont les diatomées ; *Nannochloropsis* ; *Euglenophytes* telle que

Euglena, *Phacus*; *Rodophytes* dont *Galdieria*...etc), les champignons unicellulaires (*Thrautochytrides* telle que *Schizochytrium*, *Aurantiochytrium* ...etc), les cyanobactéries (*Anabaena*, *Nostoc*, *Microcystis*, *Arthrospira*, *Spirulina*...) ou les flagellés hétérotrophes (*Cryptocodium* etc.) font partie du groupe des protistes.

- 5 Lorsque les microalgues sont du genre *Chlorella*, elles pourront être choisies parmi les espèces *C. acuminata*, *C. angustoeilipsoidea*, *C. anitrata*, *C. antarctica*, *C. aureoviridis*, *C. autotrophica*, *C. botryoides*, *C. caldaria*, *C. candida*, *C. capsulata*, *C. chlorelloides*, *C. cladooniae*, *C. coelastroides*, *C. colonialis*, *C. communis*, *C. conductrix*, *C. conglomerata*, *C. desiccata*, *C. ellipsoidea*, *C. elongata*, *C. emersonii*, *C. faginea*, *C. fusca*, *C. glucotropha*, *C.*
 10 *homosphaera*, *C. infusionum*, *C. kessleri*, *C. koettlitzii*, *C. lacustris*, *C. lewinii*, *C. lichina*, *C. lobophora*, *C. luteo-viridis*, *C. marina*, *C. miniata*, *C. minor*, *C. minutissima*, *C. mirabilis*, *C. mucosa*, *C. mutabilis*, *C. nocturna*, *C. nordstedtii*, *C. oblonga*, *C. oocystoides*, *C. ovalis*, *C. paramecii*, *C. parasitica*, *C. parva*, *C. peruviana*, *C. photophila*, *C. pituita*, *C. pringsheimii*, *C. protothecoides*, *C. pulchelloides*, *C. pyrenoidosa*, *C. regularis*, *C. reisigii*, *C. reniformis*, *C.*
 15 *rotunda*, *C. rubescens*, *C. rugosa*, *C. saccharophila*, *C. salina*, *C. simplex*, *C. singularis*, *C. sorokiniana*, *C. spaerckii*, *C. sphaerica*, *C. stigmatophora*, *C. subsphaerica*, *C. terricola*, *C. trebouxioidea*, *C. vanniellii*, *C. variabilis*, *C. viscosa*, *C. volutis*, *C. vulgaris*, *C. zopfingiensis*.
 Avantageusement selon l'invention les algues du genre *Chlorella* pourront être des algues choisies parmi les espèces *C. sorokiniana* ou *C. vulgaris*.

- 20 Lorsque les microalgues sont du genre *Euglena*, elles pourront être choisies entre autres parmi les espèces *E. viridis*, *E. gracilis*, *E. limosa*, *E. globosa*, *E. prowsei*, *E. polymorpha*.

- Lorsque les microalgues sont du genre *Scenedesmus*, elles pourront être choisies parmi les espèces *S. abundans*, *S. aciculatus*, *S. aculeolatus*, *S. aculeotatus*, *S. acuminatus*,
 25 *S. acutiformis*, *S. acutus*, *S. aldavei*, *S. alternans*, *S. ambuehlui*, *S. anhuiensis*, *S. anomalus*, *S. antennatus*, *S. antillarum*, *S. apicaudatus*, *S. apiculatus*, *S. arcuatus*, *S. aristatus*, *S. armatus*, *S. arthrodesmiformis*, *S. arvernensis*, *S. asymmetricus*, *S. bacillaris*, *S. baculiformis*, *S. bajacalifornicus*, *S. balatonicus*, *S. basiliensis*, *S. bernardii*, *S. bicaudatus*, *S. bicellularis*, *S. bidentatus*, *S. bijuga*, *S. bijugatus*, *S. bijugus*, *S. brasiliensis*, *S.*
 30 *breviaculeatus*, *S. brevispina*, *S. caribeanus*, *S. carinatus*, *S. caudato-aculeolatus*, *S. caudatus*, *S. chlorelloides*, *S. circumfusus*, *S. coalitus*, *S. costatogranulatus*, *S. crassidentatus*, *S. curvatus*, *S. decorus*, *S. denticulatus*, *S. deserticola*, *S. diagonalis*, *S. dileticus*, *S. dimorphus*, *S. disciformis*, *S. dispar*, *S. distentus*, *S. ecornis*, *S. ellipsoideus*, *S. ellipticus*, *S. falcatus*, *S. fenestratus*, *S. flavescens*, *S. flexuosus*, *S. furcosus*, *S. fuscus*, *S.*
 35 *fusiformis*, *S. gracilis*, *S. graevenitzii*, *S. grahneisii*, *S. granulatus*, *S. gujaratensis*, *S. gutwinski*, *S. hanleyi*, *S. helveticus*, *S. heteracanthus*, *S. hindakii*, *S. hirsutus*, *S. hortobagyi*, *S. houlensis*, *S. huangshanensis*, *S. hystrix*, *S. incrassatulus*, *S. indianensis*, *S. indicus*, *S.*

- inermis*, *S. insignis*, *S. intermedius*, *S. javanensis*, *S. jovais*, *S. jugalis*, *S. kerguelensis*, *S. kissii*, *S. komarekii*, *S. lefevrei*, *S. linearis*, *S. littoralis*, *S. longispina*, *S. longus*, *S. luna*, *S. lunatus*, *S. magnus*, *S. maximus*, *S. microspina*, *S. minutus*, *S. mirus*, *S. morzinensis*, *S. multicauda*, *S. multiformis*, *S. multispina*, *S. multistriatus*, *S. naegellii*, *S. nanus*, *S. notatus*, *S.*
- 5 *nygaardii*, *S. oahuensis*, *S. obliquus*, *S. obtusiusculus*, *S. obtusus*, *S. olvalternus*, *S. oocystiformis*, *S. opoliensis*, *S. ornatus*, *S. ovalternus*, *S. pannonicus*, *S. papillosum*, *S. parisiensis*, *S. parvus*, *S. peccensis*, *S. pectinatus*, *S. perforatus*, *S. planctonicus*, *S. plarydiscus*, *S. platydiscus*, *S. pleiomorphus*, *S. polessicus*, *S. polydenticulatus*, *S. polyglobulus*, *S. polyspinosus*, *S. praetervisus*, *S. prismaticus*, *S. producto-capitatus*, *S.*
- 10 *protuberans*, *S. pseudoarmatus*, *S. pseudobernardi*, *S. pseudodenticulatus*, *S. pseudogranulatus*, *S. pseudohystrix*, *S. pyrus*, *S. quadrialatus*, *S. quadricauda*, *S. quadricaudata*, *S. quadricaudus*, *S. quadrispina*, *S. raciborskii*, *S. ralfsii*, *S. reginae*, *S. regularis*, *S. reniformis*, *S. rostrato-spinosus*, *S. rotundus*, *S. rubescens*, *S. scenedesmoides*, *S. schneppii*, *S. schroeteri*, *S. securiformis*, *S. semicristatus*, *S. semipulcher*, *S.*
- 15 *sempervirens*, *S. senilis*, *S. serrato-perforatus*, *S. serratus*, *S. serrulatus*, *S. setiferus*, *S. sihensis*, *S. smithii*, *S. soli*, *S. sooi*, *S. spicatus*, *S. spinoso-aculeolatus*, *S. spinosus*, *S. spinulatus*, *S. striatus*, *S. subspicatus*, *S. tenuispina*, *S. terrestris*, *S. tetradesmiformis*, *S. transilvanicus*, *S. tricostatus*, *S. tropicus*, *S. tschudyi*, *S. vacuolatus*, *S. variabilis*, *S. velitaris*, *S. verrucosus*, *S. vesiculosus*, *S. westii*, *S. weberi*, *S. wisconsinensis*, *S. wuhanensis*, *S.*
- 20 *wuhuensis*. Avantageusement selon l'invention les algues du genre *Scenedesmus* pourront être des algues choisies parmi les espèces *S. obliquus* ou *S. abundans*.

Lorsque les microalgues sont des diatomées, elles pourront être choisies parmi les genres suivants : *Nitzschia*, *Navicula*, *Gyrosigma*, *Phaeodactylum*, *Thalassiosira*...etc.

- Lorsque les microalgues sont du genre *Nitzschia*, elles pourront être choisies parmi
- 25 les espèces *N. abbreviata*, *N. abonensis*, *N. abridia*, *N. accedens*, *N. accommodata*, *N. aciculariformis*, *N. acicularioides*, *N. acicularis* (comprenant toutes ces variétés), *N. acidoclinata*, *N. actinastroides*, *N. actydropihila*, *N. acula*, *N. acuminata* (comprenant toutes ces variétés), *N. acuta*, *N. adamata*, *N. adamatoides*, *N. adapta*, *N. adducta*, *N. adductoides*, *N. admissa*, *N. admissoides*, *N. aequalis*, *N. aequatorialis*, *N. aequora*, *N. aequorea*, *N.*
- 30 *aerophila*, *N. aerophiloides*, *N. aestuari*, *N. affinis*, *N. africana*, *N. agnewii*, *N. agnita*, *N. alba*, *N. albicostalis*, *N. alexandrina*, *N. alicae*, *N. allanssonii*, *N. alpina*, *N. alpinobacillum*, *N. amabilis*, *N. ambigua*, *N. americana*, *N. amisaensis*, *N. amphibia*, *N. amphibia* (comprenant toutes ces variétés), *N. amphibioides*, *N. amphicephala*, *N. amphilepta*, *N. amphioxoides*, *N. amphioxys* (comprenant toutes ces variétés), *N. amphiplectans*, *N. amphiprora*, *N.*
- 35 *amplectens*, *N. amundonii*, *N. anassae*, *N. andicola*, *N. angularis* (comprenant toutes ces variétés), *N. angulata*, *N. angustata* (comprenant toutes ces variétés), *N. angustatula*, *N. angustiforaminata*, *N. aniae*, *N. antarctica*, *N. antillarum*, *N. apiceconica*, *N. apiculata*, *N.*

- archibaldii*, *N. arcuata*, *N. arcula*, *N. arcus*, *N. ardua*, *N. aremonica*, *N. arenosa*, *N. areolata*,
N. armoricana, *N. asperula*, *N. astridiae*, *N. atomus*, *N. attenuata*, *N. aurantiaca*, *N. aurariae*,
N. aurica, *N. auricula*, *N. australis*, *N. austriaca*, *N. bacata* (comprenant toutes ces variétés),
N. bacillariaeformis, *N. bacilliformis*, *N. bacillum*, *N. balatonis*, *N. balcanica*, *N. baltica*, *N.*
5 *barbieri* (comprenant toutes ces variétés), *N. barkleyi*, *N. barronii*, *N. barrowiana*, *N.*
bartholomei, *N. bathurstensis*, *N. bavarica*, *N. behrei*, *N. bergii*, *N. beyeri*, *N. biacrua*, *N.*
bicapitata (comprenant toutes ces variétés), *N. bicuneata*, *N. bifurcata*, *N. bilobata*
(comprenant toutes ces variétés), *N. birostrata*, *N. biscalpta*, *N. bita*, *N. bizertensis*, *N.*
blankaartensis, *N. bombiformis*, *N. borealis*, *N. bosumtwiensis*, *N. braarudii*, *N. brebissonii*
10 (comprenant toutes ces variétés), *N. bremensis* (comprenant toutes ces variétés), *N. brevior*,
N. brevirostris, *N. brevissima* (comprenant toutes ces variétés), *N. brevistriata*, *N. brightwellii*,
N. brittonii, *N. brunoii*, *N. bryophila*, *N. buceros*, *N. bukensis*, *N. bulnheimiana*, *N.*
buschbeckii, *N. calcicola*, *N. caledonensis*, *N. calida* (comprenant toutes ces variétés), *N.*
californica, *N. campechiana*, *N. capensis*, *N. capitata*, *N. capitellata* (comprenant toutes ces
15 variétés), *N. capuluspalae*, *N. carnicobarica*, *N. carnico-barica*, *N. challengerii*, *N. chalonii*, *N.*
chandolensis, *N. chardezii*, *N. chasei*, *N. chauhanii*, *N. chungara*, *N. chutteri*, *N. circumsuta*,
N. clarissima, *N. clausii*, *N. clementei*, *N. clementia*, *N. clevei*, *N. closterium* (comprenant
toutes ces variétés), *N. coarctata*, *N. cocconeiformis*, *N. communis* (comprenant toutes ces
20 variétés), *N. commutata*, *N. commutatoides*, *N. compacta*, *N. compressa* (comprenant toutes
ces variétés), *N. concordia*, *N. confinis*, *N. conformata*, *N. confusa*, *N. congolensis*, *N.*
constricta (comprenant toutes ces variétés), *N. consummata*, *N. corpulenta*, *N. costei*, *N.*
coutei, *N. cretica*, *N. cucumis*, *N. cursoria*, *N. curta*, *N. curvata*, *N. curvilineata*, *N.*
curvipunctata, *N. curvirostris* (comprenant toutes ces variétés), *N. curvula* (comprenant
toutes ces variétés), *N. cuspidata*, *N. cylindriciformis*, *N. cylindrus*, *N. dakariensis*, *N.*
25 *davidsonii*, *N. dealpina*, *N. debilis*, *N. decipiens*, *N. delauneyi*, *N. delicatissima*, *N. delicatula*,
N. delognei, *N. denticula* (comprenant toutes ces variétés), *N. denticuloides*, *N. desertorum*,
N. diana, *N. diaphana*, *N. diducta*, *N. didyma*, *N. dietrichii*, *N. dilatata*, *N. diluviana*, *N.*
dippelii, *N. directa*, *N. diserta*, *N. disputata*, *N. dissipata* (comprenant toutes ces variétés), *N.*
dissipatoides, *N. distans* (comprenant toutes ces variétés), *N. distantoides*, *N. divaricata*, *N.*
30 *divergens*, *N. diversa*, *N. diversecostata*, *N. doljensis*, *N. draveillensis*, *N. droebakensis*, *N.*
dubia (comprenant toutes ces variétés), *N. dubiformis*, *N. dubioides*, *N. ebriensis*, *N. eglei*,
N. elegans, *N. elegantula*, *N. elegens*, *N. elliptica*, *N. elongata*, *N. entomon*, *N. epiphytica*, *N.*
epiphyticoides, *N. epithemiformis*, *N. epithemioides*, *N. epithemoides* (comprenant toutes ces
variétés), *N. epsilon*, *N. erlandssonii*, *N. erosa*, *N. etoshensis*, *N. examinanda*, *N. eximia*, *N.*
35 *famelica*, *N. fasciculata*, *N. febigeri*, *N. ferox*, *N. ferrazae*, *N. fibula-fissa*, *N. filiformis*
(comprenant toutes ces variétés), *N. flexa*, *N. flexoides*, *N. fluminensis*, *N. fluorescens*, *N.*
fluvialis, *N. fogedii*, *N. fonticola* (comprenant toutes ces variétés), *N. fonticoloides*, *N.*

- fonticula, *N. fontifuga*, *N. forfica*, *N. formosa*, *N. fossalis*, *N. fossilis*, *N. fragilariiformis*, *N. franconica*, *N. fraudulenta*, *N. frauenfeldii*, *N. frequens*, *N. frickei*, *N. frigida* (comprenant toutes ces variétés), *N. frustuloides*, *N. frustulum* (comprenant toutes ces variétés), *N. fruticosa*, *N. fundi*, *N. fusiformis*, *N. gaarderi*, *N. gaertnerae*, *N. gandersheimiensis*, *N.*
- 5 *garrensis*, *N. gazellae*, *N. geitleri*, *N. geitlerii*, *N. gelida* (comprenant toutes ces variétés), *N. geniculata*, *N. gessneri*, *N. gieskesii*, *N. gigantea*, *N. gisela*, *N. glabra*, *N. glacialis* (comprenant toutes ces variétés), *N. glandiformis*, *N. goetzeana* (comprenant toutes ces variétés), *N. gotlandica*, *N. graciliformis*, *N. gracilis* (comprenant toutes ces variétés), *N. gracillima*, *N. graciloides*, *N. gradifera*, *N. graeffii*, *N. grana*, *N. grandis*, *N. granii* (comprenant
- 10 toutes ces variétés), *N. granulata* (comprenant toutes ces variétés), *N. granulosa*, *N. groenlandica*, *N. grossestriata*, *N. grovei*, *N. gruendleri*, *N. grunowii*, *N. guadalupensis*, *N. guineensis*, *N. guttula*, *N. gyrosigma*, *N. habirshawii*, *N. habishawii*, *N. hadriatica*, *N. halteriformis*, *N. hamburgiensis*, *N. hantzschiana* (comprenant toutes ces variétés), *N. harderi*, *N. harrissonii*, *N. hassiaca*, *N. heidenii*, *N. heimii*, *N. hemistriata*, *N. heteropolica*, *N.*
- 15 *heufferania*, *N. heufferiana* (comprenant toutes ces variétés), *N. hiemalis*, *N. hiengheneana*, *N. hierosolymitana*, *N. hoehnkii*, *N. holastica*, *N. hollerupensis*, *N. holsatica*, *N. hamburgiensis*, *N. hudsonii*, *N. hummii*, *N. hungarica* (comprenant toutes ces variétés), *N. hustedti*, *N. hustedtiana*, *N. hyalina*, *N. hybrida* (comprenant toutes ces variétés), *N. hybridaeformis*, *N. ignorata* (comprenant toutes ces variétés), *N. iltisii*, *N. impressa*, *N.*
- 20 *improvisa*, *N. incerta*, *N. incognita*, *N. inconspicua*, *N. incrustans*, *N. incurva* (comprenant toutes ces variétés), *N. indica*, *N. indistincta*, *N. inducta*, *N. inflatula*, *N. ingenua*, *N. inimasta*, *N. innominata*, *N. insecta*, *N. insignis* (comprenant toutes ces variétés), *N. intermedia* (comprenant toutes ces variétés), *N. intermissa*, *N. interrupta*, *N. interruptestriata*, *N. invicta* (comprenant toutes ces variétés), *N. invisata*, *N. invisitata*, *N. iranica*, *N. irregularis*, *N.*
- 25 *irremissa*, *N. irrepta*, *N. irresoluta*, *N. irritans*, *N. italica*, *N. janischii*, *N. jelineckii*, *N. johnmartinii*, *N. juba*, *N. jucunda*, *N. jugata* (comprenant toutes ces variétés), *N. jugiformis*, *N. kahlii*, *N. kanakarum*, *N. kanayae*, *N. kavirondoensis*, *N. kerguelensis*, *N. kimberliensis*, *N. kittlii*, *N. kittonii*, *N. knysnensis*, *N. kolaczekii*, *N. kotschyi*, *N. kowiensis*, *N. krachiensis*, *N. krenicola*, *N. kuetzingiana* (comprenant toutes ces variétés), *N. kuetzingii*, *N. kuetzingioides*,
- 30 *N. kurzeana*, *N. kurzii*, *N. kützingiana* (comprenant toutes ces variétés), *N. labella*, *N. labuensis*, *N. lacrima*, *N. lacunarum*, *N. lacunicola*, *N. lacus-karluki*, *N. lacustris*, *N. lacuum*, *N. laevis*, *N. laevisissima*, *N. lagunae*, *N. lagunensis*, *N. lamprocampa* (comprenant toutes ces variétés), *N. lanceola* (comprenant toutes ces variétés), *N. lanceolata* (comprenant toutes ces variétés), *N. lancettula*, *N. lancettuloides*, *N. lange-bertalotii*, *N. latens*, *N. latestriata*, *N.*
- 35 *latiuscula*, *N. lauenbergiana*, *N. lauenburgiana*, *N. lecointei*, *N. leehyi*, *N. legleri*, *N. lehyi*, *N. leistikowii*, *N. lesbia*, *N. lesinensis*, *N. lesothensis*, *N. leucosigma*, *N. levidensis* (comprenant toutes ces variétés), *N. liebethuthii* (comprenant toutes ces variétés), *N. ligowskii*, *N. limicola*,

- N. limulus*, *N. linearis* (comprenant toutes ces variétés), *N. lineata*, *N. lineola*, *N. linkei*, *N. lionella*, *N. littoralis* (comprenant toutes ces variétés), *N. littorea*, *N. longa*, *N. longicollum*, *N. longirostris*, *N. longissima* (comprenant toutes ces variétés), *N. lorenziana* (comprenant toutes ces variétés), *N. lucisensibilis*, *N. lunaris*, *N. lunata*, *N. lurida*, *N. luzonensis*, *N.*
- 5 *macaronesica*, *N. macedonica*, *N. macera*, *N. machardyae*, *N. macilenta* (comprenant toutes ces variétés), *N. magnacarina*, *N. mahihaensis*, *N. mahoodii*, *N. maillardii*, *N. major*, *N. majuscula* (comprenant toutes ces variétés), *N. makarovae*, *N. manca*, *N. mancoides*, *N. manguini*, *N. marginata*, *N. marginulata* (comprenant toutes ces variétés), *N. marina*, *N. martiana*, *N. maxima*, *N. media*, *N. medioconstricta*, *N. mediocris*, *N. mediterranea*, *N.*
- 10 *metzeltinii*, *N. microcephala* (comprenant toutes ces variétés), *N. migrans*, *N. minuta*, *N. minutissima*, *N. minutula*, *N. miramarensis*, *N. miserabilis*, *N. mitchelliana*, *N. modesta*, *N. moissacensis* (comprenant toutes ces variétés), *N. mollis*, *N. monachorum*, *N. monoensis*, *N. montanestris*, *N. morosa*, *N. multistriata*, *N. nana*, *N. natalensis*, *N. natans*, *N. nathorsti*, *N. navicularis*, *N. navis-varingica*, *N. navrongensis*, *N. neglecta*, *N. nelsonii*, *N. neocaledonica*,
- 15 *N. neoconstricta*, *N. neofrigida*, *N. neogena*, *N. neotropica*, *N. nereidis*, *N. nicobarica*, *N. nienhuisii*, *N. normannii*, *N. notabilis*, *N. nova*, *N. novae-guineaensis*, *N. novae-guineensis*, *N. novaehollandiae*, *N. nova-zealandia*, *N. nyassensis*, *N. oberheimiana*, *N. obesa*, *N. obliquecostata*, *N. obscura*, *N. obscurepunctata*, *N. obsidialis*, *N. obsoleta*, *N. obsoletiformis*, *N. obtusa* (comprenant toutes ces variétés), *N. obtusangula*, *N. oceanica*, *N. ocellata*, *N.*
- 20 *oliffi*, *N. omega*, *N. osmophila*, *N. ossiformis*, *N. ostenfeldii*, *N. ovalis*, *N. paaschei*, *N. pacifica*, *N. palacea*, *N. palea* (comprenant toutes ces variétés), *N. paleacea*, *N. paleaeformis*, *N. paleoides*, *N. palustris*, *N. pamirensis*, *N. panduriformis* (comprenant toutes ces variétés), *N. pantocsekii*, *N. paradoxa* (comprenant toutes ces variétés), *N. parallela*, *N. pararostrata*, *N. partita*, *N. parvula* (comprenant toutes ces variétés), *N. parvuloides*, *N.*
- 25 *paxillifer*, *N. peisonis*, *N. pelagica*, *N. pellucida*, *N. pennata*, *N. peragallii*, *N. perindistincta*, *N. perminuta*, *N. perpusilla* (comprenant toutes ces variétés), *N. perspicua*, *N. persuadens*, *N. pertica*, *N. perversa*, *N. petitiana*, *N. philippinarum*, *N. pilum*, *N. pinguescens*, *N. piscinarum*, *N. plana* (comprenant toutes ces variétés), *N. planctonica*, *N. plicatula*, *N. plioveterana*, *N. polaris*, *N. polymorpha*, *N. ponciensis*, *N. praecurta*, *N. praefossilis*, *N. praereinholdii*, *N.*
- 30 *princeps*, *N. procera*, *N. prolongata* (comprenant toutes ces variétés), *N. prolongatoides*, *N. promare*, *N. propinqua*, *N. pseudepiphytica*, *N. pseudoamphioxoides*, *N. pseudoamphioxys*, *N. pseudoamphyoxys*, *N. pseudoatomus*, *N. pseudobacata*, *N. pseudocapitata*, *N. pseudocarinata*, *N. pseudocommunis*, *N. pseudocylindrica*, *N. pseudodelicatissima*, *N. pseudofonticola*, *N. pseudohungarica*, *N. pseudohybrida*, *N. pseudonana*, *N. pseudoseriata*,
- 35 *N. pseudosigma*, *N. pseudosinuata*, *N. pseudostagnorum*, *N. pubens*, *N. pulcherrima*, *N. pumila*, *N. punctata* (comprenant toutes ces variétés), *N. pungens* (comprenant toutes ces variétés), *N. pungiformis*, *N. pura*, *N. puriformis*, *N. pusilla* (comprenant toutes ces variétés),

- N. putrida*, *N. quadrangula*, *N. quickiana*, *N. rabenhorstii*, *N. radícula* (comprenant toutes ces variétés), *N. rautenbachiae*, *N. recta* (comprenant toutes ces variétés), *N. rectiformis*, *N. rectilonga*, *N. rectirobusta*, *N. rectissima*, *N. regula*, *N. reimeri*, *N. reimerii*, *N. reimersenii*, *N. retusa*, *N. reversa*, *N. rhombica*, *N. rhombiformis*, *N. rhopalodioides*, *N. richterae*, *N. rigida*
- 5 (comprenant toutes ces variétés), *N. ritscheri*, *N. robusta*, *N. rochensis*, *N. rolandii*, *N. romana*, *N. romanoides*, *N. romanowiana*, *N. rorida*, *N. rosenstockii*, *N. rostellata*, *N. rostrata*, *N. ruda*, *N. rugosa*, *N. rupestris*, *N. rusingae*, *N. ruttneri*, *N. salinarum*, *N. salinicola*, *N. salpaespinosae*, *N. salvadoriana*, *N. sansimoni*, *N. sarcophagum*, *N. scabra*, *N. scalaris*, *N. scaligera*, *N. scalpelliformis*, *N. schoenfeldii*, *N. schwabei*, *N. schweikertii*, *N. scutellum*, *N.*
- 10 *sellingii*, *N. semicostata*, *N. semirobusta*, *N. separanda*, *N. seriata* (comprenant toutes ces variétés), *N. serpenticola*, *N. serpentiraphe*, *N. serrata*, *N. sibula* (comprenant toutes ces variétés), *N. sigma* (comprenant toutes ces variétés), *N. sigmaformis*, *N. sigmatella*, *N. sigmoidea* (comprenant toutes ces variétés), *N. silica*, *N. silicula* (comprenant toutes ces variétés), *N. siliqua*, *N. similis*, *N. simplex*, *N. simpliciformis*, *N. sinensis*, *N. sinuata*
- 15 (comprenant toutes ces variétés), *N. smithii*, *N. sociabilis*, *N. socialis* (comprenant toutes ces variétés), *N. solgensis*, *N. solida*, *N. solita*, *N. soratensis*, *N. sp.*, *N. spathulata* (comprenant toutes ces variétés), *N. speciosa*, *N. spectabilis* (comprenant toutes ces variétés), *N. sphaerophora*, *N. spiculoides*, *N. spiculum*, *N. spinarum*, *N. spinifera*, *N. stagnorum*, *N. steenbergensis*, *N. stellata*, *N. steynii*, *N. stimulus*, *N. stoliczkiana*, *N. stompsii* (comprenant
- 20 toutes ces variétés), *N. strelnikovae*, *N. stricta*, *N. strigillata*, *N. striolata*, *N. subaccommodata*, *N. subacicularis*, *N. subacuta*, *N. subamphioxioïdes*, *N. subapiculata*, *N. subbacata*, *N. subcapitata*, *N. subcapitellata*, *N. subcohaerens* (comprenant toutes ces variétés), *N. subcommunis*, *N. subconstricta*, *N. subcurvata*, *N. subdenticula*, *N. subfalcata*, *N. subfraudulenta*, *N. subfrequens*, *N. subfrustulum*, *N. subgraciloides*, *N. subinflata*, *N.*
- 25 *subinvicta*, *N. sublaevis*, *N. sublaceolata*, *N. sublica*, *N. sublinearis*, *N. sublongirostris*, *N. submarina*, *N. submediocris*, *N. subodiosa*, *N. subpacifica*, *N. subpunctata*, *N. subromana*, *N. subrostrata*, *N. subrostratoïdes*, *N. subrostroïdes*, *N. subsalsa*, *N. subtilioïdes*, *N. subtilis* (comprenant toutes ces variétés), *N. subtubicola*, *N. subvitrea*, *N. suchlandtii*, *N. sulcata*, *N. sundaensis*, *N. supralitorea*, *N. tabellaria*, *N. taenia*, *N. taeniiformis*, *N. tantata*, *N. tarda*, *N.*
- 30 *taylorii*, *N. temperei*, *N. tenella*, *N. tenerifa*, *N. tenuiarcuata*, *N. tenuirostris*, *N. tenuis* (comprenant toutes ces variétés), *N. tenuissima*, *N. tergestina*, *N. terrestris*, *N. terricola*, *N. thermalis* (comprenant toutes ces variétés), *N. thermaloides*, *N. tibetana*, *N. tirstrupensis*, *N. tonoensis*, *N. towutensis*, *N. translucida*, *N. tropica*, *N. tryblionella* (comprenant toutes ces variétés), *N. tsarenkoi*, *N. tubicola*, *N. tumida*, *N. turgidula*, *N. turgiduloides*, *N. umaïensis*,
- 35 *N. umbilicata*, *N. umbonata*, *N. vacillata*, *N. vacua*, *N. valdecostata*, *N. valdestriata*, *N. valens*, *N. valga*, *N. valida* (comprenant toutes ces variétés), *N. vanheurckii*, *N. vanoyei*, *N. vasta*, *N. ventricosa*, *N. vermicularioides*, *N. vermicularis* (comprenant toutes ces variétés),

N. vermicularoides, *N. vexans*, *N. victoriae*, *N. vidovichii*, *N. vildaryana*, *N. villarealii*, *N. virgata*, *N. visurgis*, *N. vitrea* (comprenant toutes ces variétés), *N. vivax* (comprenant toutes ces variétés), *N. vixnegligenda*, *N. vonhauseniae*, *N. vulga*, *N. weaveri*, *N. weissflogii*, *N. westii*, *N. williamsiii*, *N. wipplingeri*, *N. witkowskii*, *N. wodensis*, *N. woltereckii*, *N.*
 5 *woltereckoides*, *N. wuellerstorffii*, *N. wunsamiae*, *N. yunchengensis*, *N. zebuana*, *N. zululandica*.

Avantageusement selon l'invention, les algues du genre *Nitzschia* pourront être des algues choisies parmi les espèces *N. sp.*

Lorsque les microalgues sont du genre *Haematococcus*, elles pourront être choisies
 10 parmi les espèces *H. allmanii*, *H. buetschlii*, *H. capensis*, *H. carocellus*, *H. droebakensis*, *H. grevillei*, *H. insignis*, *H. lacustris*, *H. murorum*, *H. pluvialis*, *H. salinus*, *H. sanguineis*, *H. thermalis*, *H. zimbabwiensis*.

Lorsque les microalgues sont du genre *Aurantiochytrium*, elles pourront être choisies parmi les espèces: *A. limacinum*, *A. mangrovei*

15 Lorsque les microalgues sont du genre *Schizochytrium*, elles pourront être choisies parmi les espèces: *S. aggregatum*, *S. limacinum*, *S. mangrovei*, *S. minutum*, *S. octosporum*.

Lorsque les microalgues sont du genre *Cryptothecodinium*, elles pourront être choisies parmi les espèces: *C. cohnii*, *C. setense*.

Lorsque les microalgues sont du genre *Tetraselmis*, elles pourront être choisies
 20 parmi les espèces: *T. alacris*, *T. apiculata*, *T. arnoldii*, *T. ascus*, *T. astigmatica*, *T. bichlora*, *T. bilobata*, *T. bolosiana*, *T. chui*, *T. contracta*, *T. convolutae*, *T. cordiformis*, *T. desikacharyi*, *T. elliptica*, *T. fontiana*, *T. gracilis*, *T. hazenii*, *T. helgolandica*, *T. impellucida*, *T. incisa*, *T. inconspicua*, *T. indica*, *T. levis*, *T. maculata*, *T. marina*, *T. mediterranea*, *T. micropapillata*, *T. rubens*, *T. striata*, *T. subcordiformis*, *T. suecica*, *T. tetrabrachia*, *T. tetrathele*, *T. verrucosa*,
 25 *T. viridis*, *T. wettsteinii*.

Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, les protistes sont choisis parmi celles des genres *Chlorella*, *Galdieria*, *Euglena*, *cyanobacteria* et diatomées.

Les méthodes de cultures de microorganismes sont également bien connues de l'homme du métier, qu'elles soient en mode auxotrophe, hétérotrophe ou mixotrophe
 30 (références). Les milieux de cultures employés pour ces différents modes de culture adaptés aux différents microorganismes précités sont également bien connus de l'homme du métier (référence).

L'invention est particulièrement adaptée pour des cultures dites de longues durées (de plusieurs jours à plusieurs mois), sujettes au phénomène d'adhésion des microorganismes
 35 aux parois des réacteurs dans lesquels ils sont cultivés.

Les réacteurs employés pour ces différents modes de culture sont également connus de l'homme du métier, tels que dans les colonnes à bulles, les « airlifts » (Lesson: Industrial

Applications of Microbes, Dr. Parvinder Kaur, page 11-12), les fermenteurs (Tryton™), les photobioréacteurs tubulaires (Schott, Synoxis Algae) les « raceways » et les bioréacteurs.

Les parois des bioréacteurs sont en matériaux connus de l'homme du métier, notamment en plastique flexible, en acier inoxydable, en béton ou en brique.

5 L'invention est particulièrement adaptée aux cultures réalisées dans des réacteurs comprenant au moins une paroi transparente pour laisser passer la lumière, qu'il s'agisse de lumière naturelle ou de lumière artificielle, en mode autotrophe ou en mode mixotrophe.

Les parois transparentes à la lumière, bien connues de l'homme du métier, peuvent être en verre, en borosilicate, en plastique de type polyméthacrylate de méthyle (PMMA),
10 polychlorure de vinyle (PVC), polyéthylène (PE) en particulier polyéthylène basse densité (PE-LD), polycarbonate, polystyrène (PS). De manière avantageuse, les parois transparentes sont en PMMA, en PVC, en PE ou en polycarbonate.

L'invention est en particulier adaptée pour des réacteurs à parois transparentes de type colonnes à bulles en mode autotrophe pour la culture de microalgues, comme des puits à
15 carbone. Ces puits à carbone sont des colonnes à bulles ou « air lifts » pour faire croître des microalgues en mode auxotrophe et dans lequel on fait passer l'air ambiant dont le dioxyde de carbone est absorbé par les microorganismes comme source de carbone. En se multipliant elles dépolluent l'atmosphère en absorbant du dioxyde de carbone. De tels systèmes sont notamment décrits dans WO 2014/063229 ou WO 2017/077061.

20 Pour se diviser la microalgue a besoin de lumière. La disponibilité en lumière dans le milieu est indispensable au développement des microalgues. Or, l'adhésion sur les parois du réacteur diminue la lumière disponible et les capacités de croissance, et donc d'absorption du carbone des microalgues.

Le puits de carbone correspond à une colonne de volume variable contenant des
25 microalgues qui vont pouvoir capter entre 1 et 10000 tonnes de CO₂ par an.

Dans certains cas, la lumière ne provient pas de l'extérieur du bioréacteur par des parois transparentes, mais la lumière est apportée à l'intérieur du bioréacteur en plongeant des sources de lumières étanches dans la cuve. Par exemple, un système de contre-pâles lumineuses peut être utilisé (WO2014/174182). L'invention permet alors de réduire
30 l'adhérence des cellules sur la source de lumière.

En limitant l'adhésion, on augmente la disponibilité en lumière dans le bioréacteur. Par conséquent les microalgues maintiennent leurs capacités de croissance et on réduit les coûts de nettoyage des colonnes.

Les microalgues employées dans ces puits de carbone sont généralement choisis
35 parmi les microalgues chlorophylliennes ou non mais aussi d'autre microorganisme ayant généralement des membranes externes négatives. Ces microorganismes ayant généralement des membranes externes négatives et susceptibles d'être employés dans des

puits de carbone sont bien connus de l'homme du métier, en particulier parmi celles des genres *Chlorella*, *Galdieria*, *Euglena*, cyanobacteria et diatomées.

Le milieu de culture employé comprend le « BG-11 growth media », décrit et commercialisé par UTEX (UTEX Culture Collection of Algae, 205 W. 24th St, Biological Labs
5 218, The University of Texas at Austin (F0402), Austin, TX 78712 USA). Pour une culture autotrophe, le milieu de culture ne comprend pas de source de carbone autre que le dioxyde de carbone contenu dans l'air qui passe dans le milieu de culture. Toutefois, pour amorcer la croissance des microalgues ou la relancer, on peut temporairement ajouter une source de carbone autre que le dioxyde de carbone, comme du glucose.

10 Le débit en air ambiant dans le milieu de culture correspond à un débit allant de 0,3 à 0,5 vvm. L'air extérieur contenant du CO₂ passe à travers un bulleur pour être injecté dans la colonne. L'air injecté peut également provenir de fumée d'usine (par exemple des usines d'incinération) qui contiennent entre 1 et 20% de CO₂.

Lorsque la quantité de biomasse maximum est atteinte, le puits de carbone est
15 vidangé. Enfin, le puits est de nouveau rempli avec du milieu pour être inoculé avec des microalgues.

Les agents flocculants sont bien connus de l'homme du métier. Ils sont généralement employés à la fin de la culture des microorganismes, ajoutés au mout de fermentation lorsque la culture est terminée pour faciliter la séparation de la biomasse du milieu de culture
20 (Hanotu J. & al., 2012). Ces ajouts une fois la culture terminée ne sont généralement pas préjudiciable à l'usage des microalgues récupérées, par exemple pour des aliments destinés à l'aquaculture (US 2013/205850).

Ces agents flocculants sont organiques ou inorganiques, tels que le chitosane, les arboxyméthylcelluloses, des amidons ou dérivés d'amidons comme l'amidon de riz, l'amidon
25 de maïs, l'amidon de tapioca, la dextrine jaune, l'amidon de pomme de terre, l'amidon pré-gélatinisé ou l'amidon cationique pour les flocculants organiques, ou le sulfate d'aluminium, le chlorure de calcium, chlorure de zinc ou chlorure de fer pour les flocculants inorganiques.

Contrairement aux usages de l'état de la technique, l'utilisation des agents flocculants
30 selon l'invention se fait pendant la culture, dans le milieu de culture, non pas pour favoriser la séparation de la biomasse du milieu de culture, mais pour favoriser le maintien de cette biomasse dans le milieu de culture en prévenant son adhésion sur les parois des réacteurs.

Les agents flocculants selon l'invention doivent pouvoir être employés sans affecter les capacités de croissance et l'activité biologique des microorganismes cultivés. En effet les
35 tests de viabilités ont révélé que les agents flocculants et le chlorure de fer en particulier ne perturbent pas la croissance des microalgues. (Figures 1, 2 et 3)

L'homme du métier saura sélectionner par de simples essais de laboratoire les agents

floculants les mieux adaptés aux microorganismes cultivés et à leurs conditions de culture.

De manière préférée, les agents floculants employés dans le milieu de culture selon l'invention sont choisis parmi le chlorure de zinc et le chlorure de fer, plus préférentiellement le chlorure de fer. Ces agents floculants sont disponibles sur le marché, notamment sous les
5 noms iron(III) chloride, chlorure de fer(III), chlorure ferrique, perchlorure de fer chez des fournisseurs comme VWR et Sigma.

L'homme du métier saura déterminer par de simples essais de laboratoire la quantité appropriée d'agent floculant nécessaire pour prévenir l'adhésion des microorganismes aux parois.

10 L'homme du métier saura déterminer la quantité de floculant à ajouter, en particulier pour obtenir une efficacité de floculation (pourcentage de biomasse sédimenté par rapport à la biomasse totale) d'au moins 10%, de manière avantageuse d'au moins 30%. En effet, l'efficacité de floculation change en fonction du floculant pour une même concentration. La composition de milieu de culture et la souche de microorganisme utilisée peut également
15 avoir un impact sur l'efficacité de floculation. Ces ajustements font partie des travaux de mise au point de routine connus de l'homme du métier.

De manière avantageuse, la quantité d'agent floculant dans le milieu de culture va de 50 à 450 mg/L, plus particulièrement de 150 à 350 mg/L.

L'ajout d'agent floculants dans le milieu de culture peut conduire à la formation
20 d'agrégats cellulaires en suspension. De manière à prévenir ou limiter cette formation d'agrégats, la culture sera faite dans des conditions usuelles d'agitation, comme une agitation mécanique ou bien passive telle que dans une colonne à bulle ou un réacteur « air lift ».

L'ajout d'agent floculant dans le milieu de culture peut être fait à tout moment pendant
25 la culture de manière à prévenir ou limiter la formation d'adhésion sur les parois du réacteur. De manière préférentielle, l'agent floculant est ajouté dans le milieu de culture dès le début du procédé de culture et maintenu dans ce milieu de culture jusqu'à la fin de la culture.

L'invention concerne également un milieu de culture approprié pour la culture de microorganismes, caractérisé en ce qu'il comprend de 50 à 450 mg/L, plus particulièrement
30 de 150 à 350 mg/L d'agent floculant tel que défini précédemment, en particulier de chlorure de fer.

EXEMPLES

On effectue deux cultures de microalgues, un témoin sans agent floculent et une avec
35 l'agent floculant FeCl₃.

Matériels et Méthodes

Microalgues

Les microalgues employées dans cet exemple viennent de l'espèce *Chlorella sorokiniana*.

Milieu de culture

Un milieu de type BG-11 growth media (UTEX) a été utilisé.

5 *Conditions de culture*

Les colonnes ont été inoculées à 0.5 g/L de microalgue. La température est restée constante à 30°C. La luminosité a été fixée à 500 $\mu\text{Einstein/m}^2/\text{s}$. Le pH est stabilisé à 6.3 jusqu'à 160 heures (témoin) 189 heures (FeCl_3) puis n'est plus régulé, le pH va monter à 8 pour se stabiliser à ce niveau jusqu'à la fin de l'expérience. Il a été choisi de ne plus réguler le pH car un pH élevé permet d'augmenter les capacités de collage des microalgues aux parois.

Récupération de la biomasse

La biomasse est récupérée avec une pompe, on obtient la biomasse en suspension ainsi que celle restée au fond de la colonne. Ensuite on ajoute un volume d'eau à la colonne afin de décoller les microalgues restées sur les parois. Une mesure de masse sèche est effectuée sur chacun des lots.

Passage de la lumière

L'analyse de la capacité de passage de la lumière à travers la colonne est mesurée sur 24 points disposés sur la paroi de la colonne comme représentés sur la Figure 5. Ces mesures exprimées en $\mu\text{Einstein/m}^2/\text{s}$.

Résultats

La Figure 4 permet de montrer la différence de production de biomasse avec et sans agent floculant. Pour l'expérience effectuée avec le floculant, on note que jusqu'à 1 g/L de biomasse supplémentaire dans le milieu de culture comparé à la même culture sans agent floculant. Cette biomasse supplémentaire est due aux non-collages des microalgues sur la paroi.

En fin d'expérience on fait la distinction entre la biomasse dans le milieu de culture et celle collée sur les parois.

30 Dans le cadre de l'expérience sans FeCl_3 , la biomasse totale en suspension dans le milieu représente 14,7 g et la biomasse restée au fond de la colonne s'élève à 5,6 g. La biomasse collée aux parois est de 1,013 g ce qui représente 4.74 % de la biomasse totale.

Dans le cadre de l'expérience avec FeCl_3 , la biomasse totale en suspension dans le milieu représente 18 g et la biomasse restée au fond de la colonne s'élève à 1,11 g. La biomasse collée aux parois est de 0,043 g ce qui représente 0.22 % de la biomasse totale.

On constate une plus grande quantité de biomasse en suspension avec l'utilisation du FeCl_3 ou 94% de la biomasse en suspension contre 69% dans le témoin.

Tableau 1 Proportion de MS dans les 3 zones de la colonne

	Témoin (g)	Témoin % Biomasse	FeCl3 (g)	FeCl3 % Biomasse
MS Milieu	14,700	68,769	18,050	94,17
MS au fond	5,663	26,492	1,075	5,61
MS paroi	1,013	4,739	0,043	0,22
Total	21,376	100,000	19,168	100,00

Les résultats de l'analyse du passage de la lumière à travers les parois de la colonne
5 sont donnés dans le Tableau 2 ci-dessous.

Les mesures de la lumière ont été effectuées sur 24 points comme présenté sur la
représentation schématique de la colonne en Figure 5. La lumière a été mesurée sur une
colonne propre sans microalgues, sur une colonne témoin avec microalgues et une colonne
contenant du FeCl3 avec des microalgues.

10

Tableau 2: Mesure de 24 points sur la colonne

Point	µmol par point Témoin	µmol par point FeCl3	µmol par point colonne propre	Différence FeCl3 %	Différence Témoin %
A	120	214	295	-27,46	-59,32
B	125	252	314	-19,75	-60,19
C	236	232	289	-19,72	-18,34
D	200	198	228	-13,16	-12,28
E	13	204	287	-28,92	-95,47
F	109	263	298	-11,74	-63,42
G	189	248	274	-9,49	-31,02
H	128	192	225	-14,67	-43,11
I	143	233	307	-24,10	-53,42
J	213	254	317	-19,87	-32,81
K	223	236	270	-12,59	-17,41
L	191	189	225	-16,00	-15,11
M	143	244	302	-19,21	-52,65
N	200	256	297	-13,80	-32,66
O	204	233	262	-11,07	-22,14
P	175	190	212	-10,38	-17,45
Q	156	246	291	-15,46	-46,39
R	199	257	299	-14,05	-33,44
S	198	235	268	-12,31	-26,12

T	175	186	223	-16,59	-21,52
U	123	196	293	-33,11	-58,02
V	199	242	302	-19,87	-34,11
W	222	226	280	-19,29	-20,71
X	193	185	228	-18,86	-15,35
			Moyenne	-17,56	-36,77

Sur les 12 points qui constituent la partie inférieure de la colonne, la pénétration de la lumière est 2.78 fois plus importante avec la présence de FeCl₃.

Tableau 3: Mesure des 12 points de la moitié inférieure de la colonne

Point	μmol par point Témoin	μmol par point FeCl3	FeCl3/Témoin
A	120	214	1,78
B	125	252	2,02
E	13	204	15,69
F	109	263	2,41
I	143	233	1,63
J	213	254	1,19
M	143	244	1,71
		Moyenne	3,78

5

L'ensemble des résultats montre une amélioration des cultures de microorganismes dues à la présence d'un agent flocculant dans le milieu de culture, due à la prévention de l'adhésion des microorganismes sur les parois des réacteurs.

Des résultats similaires seront obtenus avec d'autres microorganismes dans d'autres conditions de culture en mode hétérotrophe ou mixotrophe, en particulier dans le cas de cultures de longues durées, en particulier pour la culture de Chlorella, Galdieria, Euglena, cyanobacteria, diatomées.

10

RÉFÉRENCES

- L. Delauney, C. Compere & M. Lehaitre, Biofouling protection for marine environmental sensors - Ocean Science, 6, 503–511, 2010
- 5 – J. Hanotu, H.C. Hemaka Bandulasena & W.B. Zimmerman, Microflotation Performance for Algal Separation, Biotechnology and Bioengineering, 2012; 109:7, 1663-1673
- J.S. Nordin, H.M. Tsuchiya & A.G. Fredrickson, Interfacial Phenomena Governing Adhesion of Chlorella to Glass Surfaces, Biotechnology and Bioengineering, 1967 ; IX, 545-558
- 10 – Nicholas B. Wyatt, Lindsey M. Gloe, Patrick V. Brady, John C. Hewson, Anne M. Grillet, Matthew G. Hankins & Phillip I. Pohl, Critical Conditions for Ferric Chloride-Induced Flocculation of Freshwater Algae - Biotechnol. Bioeng. 2012; 109: 493–501.
- Suchitra Rakesh, Sudhir Saxena, Dolly W. Dhar, Radha Prasanna & Anil K. Saxena, Comparative evaluation of inorganic and organic amendments for their flocculation efficiency of selected microalgae - - Springer Science+Business Media Dordrecht 2013
- 15 – Yeong Hwan Seo, Mina Sung, Bohwa Kim & Jong-In Han, Ferric chloride based downstream process for microalgae based biodiesel production - DOI: 10.1016/j.biortech.2015.01.004
- WO 2014/063229
- 20 – WO2014/174182
- WO 2017/077061
- US 2013/205850

REVENDICATIONS

1. Procédé de culture de microorganismes dans un milieu de culture approprié pour leur croissance, caractérisé en ce que le milieu de culture comprend une quantité appropriée d'un agent flocculant pour prévenir l'adhésion des microorganismes sur les parois des réacteurs dans lesquels la culture est réalisée.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisés en ce que l'agent flocculant est choisi parmi le chlorure de fer ou le chlorure de zinc.
3. Procédé selon l'une des revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que le milieu de culture comprend de 50 à 450 mg/L d'agent flocculant.
4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que l'agent flocculant est ajouté au milieu de culture en début de culture et maintenu jusqu'à la fin de la culture.
5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le réacteur est un puits de carbone.
6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que la culture est réalisée en mode autotrophe ou en mode mixotrophe et le réacteur comprend au moins une paroi transparente à la lumière.
7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que la paroi transparente à la lumière est polyméthacrylate de méthyle (PMMA), en polychlorure de vinyle (PVC), polyéthylène (PE) ou en polycarbonate.
8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que les microorganismes sont choisis parmi les protistes.
9. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que les microorganismes sont des microalgues choisies parmi microalgues chlorophylliennes.
10. Utilisation d'un agent flocculant dans le milieu de culture pendant la culture des microorganismes pour prévenir l'adhésion des microorganismes sur les parois des réacteurs dans lesquels la culture est réalisée.
11. Utilisation selon la revendication 10, caractérisé en ce que l'agent flocculant est choisi parmi le chlorure de fer ou le chlorure de zinc.
12. Utilisation selon l'une des revendications 10 ou 11, caractérisée en ce que les microorganismes sont choisis parmi les protistes
13. Utilisation selon la revendication 12, caractérisée en ce que les microorganismes sont des microalgues choisies parmi microalgues chlorophylliennes.
14. Milieu de culture approprié pour la culture de microorganismes, caractérisé en ce qu'il comprend de 50 à 450 mg/L d'agent flocculant choisi parmi le chlorure de fer ou le chlorure de zinc.