METHODE D'INJECTION DU CO2 ET ELIMINATION DE L'O2 DANS UN REACTEUR BIOLOGIQUE

DOMAINE DE L'INVENTION

La présente invention concerne un procédé de culture de microorganismes dans un réacteur biologique dont le milieu de culture comprend du dioxyde de carbone (CO_2) comme source de carbone. L'alimentation en CO_2 dans le réacteur biologique est régulée grâce à un contacteur membranaire.

ETAT DE LA TECHNIQUE

Les procédés de culture des microorganismes sont bien connus de l'homme du métier. La culture peut se faire à l'échelle du laboratoire dans des boites de Petri ou à une échelle industrielle dans des réacteurs biologiques. La culture des microorganismes nécessite de reproduire les conditions du milieu d'origine pour une croissance optimale. Ainsi, la présence de substrats organiques est essentielle. D'autres paramètres doivent aussi être reproduits, comme la luminosité, la température, la pression, le taux d'humidité, le pH, ou encore les concentrations en gaz.

De nombreux microorganismes utilisent le dioxyde de carbone comme source de carbone. En particulier, les cultures autotrophes ne comprennent pas d'autre source de carbone que le CO_2 contenu dans l'air. Le CO_2 est transformé en dioxygène (O_2) et éliminé dans l'atmosphère. Cependant, il a été mis en évidence qu'une concentration trop importante en CO_2 conduit à l'acidification du milieu de culture et une diminution du pH. En parallèle, une quantité trop importante de O_2 dans le milieu de culture conduit à une diminution de la croissance des microorganismes, et favorise le développement des bactéries. La régulation de la concentration en CO_2 et en O_2 dans les milieux de culture des microorganismes est donc essentielle au bon développement de ces derniers.

Afin de réguler les flux en CO_2 et O_2, de nombreux dispositifs existent tels que les membranes (Y.S. Lai *et al.*, Algal Research **2020**, *52*, 102098 ; US 2021/053012), les bulleurs à membrane ou colonnes à bulles, les bulleurs en céramique, ou encore les pierres de diffuseurs de bulles, etc. Malgré que ces méthodes présentent un bon taux de transfert, des pertes de matière sont observées. D'autres part, ces dispositifs conduisent souvent à des phénomènes de coalescence sur les parois du bioréacteur, les pâles, les dispositifs lumineux

ou encore les bulleurs, aboutissant notamment à l'obstruction des arrivées d'air/gaz et la diminution de l'apport de lumière.

Par ailleurs, lorsque la désorption de l'O_2 est effectuée via une agitation périodique (séquences de grosse bulles, agitation mécanique douce avec des pales de type banane), il est nécessaire d'envoyer un fort débit d'air avec peu de CO_2 (98% d'air) pour obtenir des concentrations en CO_2 dissous adaptées ce qui accentue les contraintes de cisaillements dans le milieu.

Il serait souhaitable de pouvoir éviter ces phénomènes qui perturbent le développement des souches. Il existe donc un besoin de développer un procédé de culture pour les microorganismes dans lequel les flux de CO_2 et de O_2 sont régulés de manière optimale et dans lequel les problèmes liés à l'utilisation des dispositifs existant sont minimes, voire nuls.

Au regard des enjeux environnementaux liés à la production de CO_2 relâché dans l'atmosphère, notamment liés à la production de gaz riches en CO_2, tels les effluents gazeux industriels, il a été envisagé d'utiliser ces gaz pour alimenter des réacteurs biologiques pour la croissance de microorganismes capables de croitre avec le CO_2 comme seule source de carbone. Cette dépollution des gaz, appelée également décarbonation, est notamment décrits dans les demandes de brevets WO2018/060197, WO 2019/101899 ou WO2021/165621. Si ces procédés ont montré une bonne efficacité pour consommer le CO_2 apporté par les gaz à décarboner, il reste à les améliorer de manière à éviter qu'une partie du CO_2 non consommé soit relarguée dans l'atmosphère.

Les inventeurs ont ainsi développé un procédé de culture des microorganismes comprenant du CO_2 comme source de carbone et comprenant une étape de culture dudit microorganisme dans un réacteur biologique permettant d'améliorer l'alimentation en CO_2, en particulier pour la décarbonation des gaz industriels.

EXPOSE DE L'INVENTION

La présente invention concerne un procédé de culture des microorganismes comprenant du CO_2 comme source de carbone et comprenant une étape de culture dudit microorganisme dans un réacteur biologique comprenant des moyens d'alimentation en CO_2 et caractérisé en ce que les moyens d'alimentation en CO_2 comprennent un contacteur membranaire pour la régulation des flux de CO_2 et O_2 dans le milieu de culture, le flux de CO_2 étant dirigé vers le milieu de culture, et le flux de O_2 étant dirigé vers l'extérieur du milieu de culture.

Dans le cadre de la présente invention, les microorganismes sont essentiellement des bactéries, des levures et des protistes.

Le procédé de culture comprend avantageusement les étapes :

(a) La culture des microorganismes, et

(b) La récupération de la biomasse produite par lesdits microorganismes.

L'invention concerne également l'utilisation d'un contacteur membranaire pour la régulation des flux de CO_2 et de O_2 dans un procédé de culture de microorganismes dans lequel le CO_2 est une source de carbone dans le milieu de culture.

Le procédé de culture selon l'invention est particulièrement adapté pour la décarbonation d'un gaz riche en CO_2.

L'invention concerne aussi un procédé de décarbonation d'un gaz riche en CO_2 qui comprend l'injection dudit gaz dans un réacteur biologique, ledit réacteur biologique comprenant un milieu de culture et des microorganismes capables de croitre dans ledit milieu de culture avec le CO_2 comme seule source de carbone et des moyens d'alimentation en CO_2, caractérisé en ce que les moyens d'alimentation en CO_2 comprennent un contacteur membranaire pour la régulation des flux de CO_2 et O_2 dans le milieu de culture, le flux de CO_2 étant dirigé vers le milieu de culture, et le flux de O_2 étant dirigé vers l'extérieur du milieu de culture.

Enfin, l'invention concerne un dispositif de fermentation de microalgues comprenant un réacteur de fermentation, des moyens d'alimentation en CO_2, et le cas échéant des moyens d'éclairage, caractérisé en ce que les moyens d'alimentation en CO_2 comprennent un contacteur membranaire pour la régulation des flux de CO_2 et de O_2 dans lequel le flux de CO_2 est dirigé vers le milieu de culture et le flux de O_2 est dirigé vers l'extérieur du milieu de culture.

BREVE DESCRIPTION DES FIGURES

La **figure 1** représente un mode de culture des microorganismes en présence d'un contacteur membranaire.

Les **figure 2** représente un contacteur membranaire selon l'invention (**figure 2A**) et une vue en coupe d'une membrane de transfert du contacteur membranaire (**figure 2B**).

Les **figures 3A et 3B** sont des représentations des phénomènes se produisant au niveau de la membrane de transfert du contacteur membranaire selon l'invention, notamment des phénomènes de diffusion (**figure 3A**) et des flux

de dioxyde de carbone (CO_2), du dioxygène (O_2) et du milieu de culture (**figure 3B**).

La **figure 4** représente la vitesse du milieu dans le contacteur membranaire en fonction de la productivité de la biomasse déterminée à 0,2 kg/m^3/J.

La **figure 5** représente la vitesse du milieu dans le contacteur membranaire en fonction de la productivité de la biomasse déterminée à 0,79 kg/m^3/J.

La **figure 6** représente la variation de la pression de CO_2 dans la membrane de transfert du contacteur membranaire en fonction de la quantité de CO_2 dans le milieu de culture.

La **figure 7** représente la quantité de CO_2 à injecter dans le milieu de culture en fonction de la température du milieu et de la pression dans la membrane de transfert du contacteur membranaire.

La **figure 8** est une représentation schématique d'un contacteur membranaire selon un mode de réalisation de l'invention.

La **figure 9** est un graphique montrant l'évolution dans le temps de la pression en O_2 (PO2) dans le milieu de culture.

La **figure 10** est un graphique présentant les résultats de densité optique (DO) et de productivité journalière (basée sur la DO) de *Chlorella sorokiniana* cultivée dans un bioréacteur équipé d'un contacteur membranaire conformément à l'invention comparés aux résultats obtenus avec *Chlorella sorokiniana* cultivée dans un bioréacteur contrôle ne comprenant pas de contacteur membranaire.

DESCRIPTION DETAILLEE DE L'INVENTION

La présente invention concerne un procédé de culture de microorganismes dans un milieu de culture comprenant du dioxyde de carbone (CO_2) comme source de carbone et comprenant une étape de culture du microorganisme dans un réacteur biologique comprenant des moyens d'alimentation en CO_2, caractérisé en ce que les moyens d'alimentation en CO_2 comprennent un contacteur membranaire pour la régulation des flux de CO_2 et de dioxygène (O_2) dans le milieu de culture et dans lequel le flux de CO_2 est dirigé vers le milieu de culture et le flux de O_2 est dirigé vers l'extérieur du milieu de culture.

Les méthodes de culture des microorganismes sont bien connues de l'homme du métier, qu'elles soient en mode hétérotrophe, autotrophe ou mixotrophe.

La culture des microorganismes fait intervenir de nombreux paramètres comme la nature et la composition milieu de culture lui-même mais également des

facteurs extérieurs qui doivent être contrôlés et régulés tout au long du processus comme la luminosité, la température, la pression, le taux d'humidité, le pH, les concentrations en gaz dans le réacteur, etc.

Les milieux de cultures, essentiels au développement des microorganismes, sont bien connus de l'homme du métier, qui saura déterminer et adapter la quantité et la nature des substrats pour leur culture, comme par exemples les sources de carbone, d'azote, d'oxygène, de phosphore, etc ; les minéraux, tels que le calcium, le fer, magnésium, le potassium, le sodium, le souffre, etc ; les oligo-éléments (bore, zinc, cuivre, cobalt, etc) ; en fonction du ou des microorganismes cultivés, de la taille du réacteur, de la quantité de biomasse désirée, etc.

L'invention est particulièrement adaptée pour les procédés de culture dans un réacteur biologique. Dans le cadre de la présente invention, on entend par réacteur biologique, un réacteur au sein duquel se développent des phénomènes biologiques, tels qu'une croissance de cultures ou microorganismes pures ou d'un consortium de microorganismes, dans des domaines très variés tels que le traitement d'effluents ou la production de biomasse contenant des molécules d'intérêts.

Les réacteurs biologiques sont bien connus de l'homme du métier, et sont généralement constitués d'une cuve fermée dans laquelle est monté un élément de brassage ou d'agitation destiné à favoriser l'homogénéisation du contenu de la cuve. Le brassage ou l'agitation du contenu de la cuve peut également se faire via une pompe liquide qui induit un flux de circulation du milieu de culture à l'intérieur de la cuve.

L'invention est particulièrement adaptée pour une culture en mode autotrophe, ladite culture comprenant le dioxyde de carbone (CO_2) comme source de carbone et une source de lumière. Le procédé de culture comprend donc aussi en outre une phase d'illumination.

Les réacteurs biologiques peuvent aussi comprendre des moyens d'illumination, dont l'apport de lumière peut se faire en continu ou de manière cyclique (WO2019/034792, WO2021/160776). Il est entendu dans le cadre de la présente invention que l'homme du métier saura adapter la vitesse d'agitation et la quantité de lumière pour obtenir des conditions optimales de culture.

Les réacteurs biologiques comprennent aussi généralement une entrée et une sortie d'air permettant un échange de gaz entre l'extérieur et l'intérieur du réacteur.

L'entrée d'air peut ainsi être couplée avec un dispositif, tel qu'une pompe, afin d'injecter un gaz dans le milieu de culture. Le gaz injecté est choisi parmi les gaz nécessaires au développement des microorganismes en culture dans ledit réacteur biologique. Il s'agit notamment du dioxyde de carbone (CO_2), du monoxyde de carbone (CO), du dioxygène (O_2), ou encore du diazote (N_2), ou un mélange de ceux-ci. Dans un mode de réalisation préféré, le gaz injecté dans le milieu de culture est du dioxyde de carbone.

Le dioxyde de carbone injecté dans le réacteur est apporté via un débit d'air ambiant ou encore via une source extérieure comme les gaz industriels, les processus de fermentation ou des bouteilles de gaz.

Le CO_2 est ainsi dissout dans le milieu de culture et consommé par les microorganismes tandis que de l'O_2 est produit. Ce dernier est éliminé au niveau de la sortie d'air du réacteur biologique.

Il est à noter que les réacteurs peuvent être équipés d'autres dispositifs ou appareillages utilisés pour le contrôle et la régulation du réacteur et de la croissance des microorganismes. On peut notamment citer l'emploi de sondes ou capteurs pour la mesure des différents paramètres de culture comme par exemple : la température, le pH, la pression à l'entrée et à la sortie du réacteur, etc.

Selon l'invention, afin de réguler les flux de gaz, et notamment le flux de CO_2 à l'intérieur du réacteur biologique, on emploie un ou plusieurs contacteurs membranaires.

Un contacteur membranaire est un dispositif comprenant au moins deux circuits de circulation de fluides séparés par une membrane de transfert. Les fluides circulants dans ledit contacteur membranaire sont aussi désignés sous le nom de fluide(s) de circulation. Le contacteur membranaire comprend ainsi un premier circuit de circulation d'un premier fluide de circulation pour l'alimentation en dioxyde de carbone (CO_2), appelé fluide d'alimentation en CO_2 en contact avec une première face de la membrane de transfert, et un deuxième circuit de circulation d'un deuxième fluide de circulation pour la réception du CO_2, appelé fluide de réception en CO_2, en contact avec la deuxième face de la membrane de transfert. Chaque circuit de circulation de fluide est indépendant l'un de l'autre, et peuvent être fermé ou ouvert.

Dans un mode de réalisation, le circuit de circulation du fluide de réception de CO_2 est un circuit fermé. Dans une autre mode de réalisation, le circuit de circulation du fluide de réception de CO_2 et le circuit de circulation du fluide

d'alimentation en CO_2 sont des circuits fermés afin d'assurer des conditions optimales de croissance des microorganismes. En référence à la **Figure 1**, le circuit du fluide de réception de CO_2 (3) et (4) et le circuit du fluide d'alimentation en CO_2 (6) et (7) sont des circuits fermés pour lesquels les échanges entre les deux fluides se font au niveau du contacteur membranaire (2).

Le fluide d'alimentation en CO_2 est sous la forme de gaz, préférentiellement un mélange air/ CO_2 comprenant au moins 5% de CO_2, voir au moins 25% de CO_2, plus préférentiellement au moins 50% de CO_2 et toujours plus préférentiellement au moins 75% de CO_2. Avantageusement, le fluide d'alimentation est du CO_2 gazeux dont la teneur est de 100% de CO_2.

Le fluide de réception du CO_2 est préférentiellement sous la forme liquide selon l'invention. Il s'agit plus particulièrement du milieu de culture. Dans ce cas, le fluide de réception du CO2 comprend les microorganismes et les nutriments nécessaires à leur croissance.

Ainsi, selon l'invention, le contacteur membranaire permet d'assurer l'échange de molécules de CO_2 entre un fluide d'alimentation en CO_2, de préférence sous forme de gaz, et le fluide de réception de CO_2, qui est le milieu de culture, à travers une membrane, dite membrane de transfert.

Au sein du contacteur membranaire, les deux fluides, le fluide d'alimentation en CO_2 et le fluide de réception du CO_2, sont en circulation.

La circulation du fluide d'alimentation en CO_2 peut être assurée par tous les moyens connus de l'homme du métier, notamment en utilisant une source de CO_2 déjà sous pression ou grâce à un compresseur à gaz qui permet d'assurer un flux régulier dans le contacteur membranaire. En parallèle, la circulation du fluide de réception de CO_2, *i.e.* du milieu de culture, est permise grâce à la rotation des pales dans le réacteur biologique ou via le pompage du milieu de culture qui est ensuite réinjecté dans le réacteur biologique grâce à une pompe. On utilisera alors préférentiellement une pompe à vide.

Avantageusement, l'utilisation d'un contacteur membranaire selon l'invention permet un processus d'injection du CO_2 qui ne génère pas de contraintes de cisaillements délétères dans le réacteur ce qui évite la formation de mousse dans la culture.

Dans un mode de réalisation, les flux du fluide d'alimentation en CO_2 et du fluide de réception du CO_2 sont parallèles. Dans un autre mode de réalisation les flux sont perpendiculaires. Encore, dans un autre mode de réalisation, les flux sont

croisés. Préférentiellement, les flux du fluide d'alimentation en CO_2 et du fluide de réception en CO_2 sont croisés, c'est-à-dire que le fluide d'alimentation en CO_2 et le fluide de réception en CO_2 circulent dans des directions opposées.

En référence à la **figure 2**, le contacteur membranaire (1) comprend ainsi une entrée (20) ou (21) et une sortie (20) ou (21) pour un premier fluide de circulation, ainsi qu'une entrée (22) ou (23) et une sortie (22) ou (23) pour un deuxième fluide de circulation. Ces deux fluides sont séparés par une membrane de transfert (30). Le contacteur membranaire comprend donc aussi deux circuits de circulation : un premier circuit de circulation d'un premier fluide de circulation en contact avec une première face de la membrane et un deuxième circuit de circulation du deuxième fluide de circulation en contact avec une deuxième face de la membrane.

La membrane permet ainsi de promouvoir le contact entre les deux fluides de circulation sans avoir un contact physique direct. Les propriétés de la membrane déterminent la nature et les caractéristiques des échanges entre les deux fluides de circulation.

La membrane peut être une membrane poreuse ou non poreuse aussi appelée membrane dense ou de pervaporation. Les membranes denses sont des membranes sans porosité créée. Elles se divisent en deux catégories : les membranes hydrophiles et les membranes organophiles.

Les membranes hydrophiles permettent le passage de l'eau et donc, par exemple, la déshydratation d'un solvant. Typiquement, ces membranes sont en matériau polymère (alcool polyvinylique) déposé sur un support poreux. Leurs caractéristiques géométriques sont identiques à celles de membranes d'ultrafiltration, par exemple. La mise en oeuvre de ces membranes se fait dans des modules plans essentiellement, le compartiment « perméat » étant mis en relation avec une enceinte sous vide partiel, de manière à maintenir la force agissante et à évacuer les produits de la séparation.

Les membranes organophiles sont essentiellement à base de silicones (PDMS polydiméthylseloxane) et, dans ce cas, c'est l'affinité du matériau silicone pour l'un ou plusieurs des composés du mélange qui permet un transfert sélectif à travers la membrane. On obtient ainsi des sélectivités très élevées, les flux de transfert demeurant en général faibles.

Les contacteurs membranaires se caractérisent par les membranes de transfert qui les composent, plus particulièrement par la configuration géométrique et la structure de ces membranes.

Les membranes peuvent être de configuration géométrique plane, spiralée, tubulaire ou de fibre creuses (*i.e.* tuyaux ou tubes).

Selon un mode préféré, la ou les membranes ont une configuration géométrique de fibres creuses. Avantageusement, le contacteur membranaire comprend plusieurs fibres dispersées en faisceaux de tubes. Le diamètre externe des membranes est supérieur à 50 μm, préférentiellement supérieur à 60 μm, encore plus préférentiellement supérieur à 70 μm. Dans un autre mode de réalisation, les membranes avec une configuration de fibres creuses ont un diamètre externe d'au moins 100 μm. Dans un autre mode de réalisation, le diamètre externe des membranes est inférieur à 2 mm, préférentiellement inférieur à 1,5 mm, plus préférentiellement inférieur à 1 mm. Avantageusement, le diamètre externe des membranes avec une configuration de fibres creuses est compris entre 100 μm et 1 mm. Le diamètre interne des membranes selon l'invention est préférentiellement inférieur à 900 μm, voire même inférieur à 850 μm. dans un mode de réalisation préféré, le diamètre externe des membranes avec une configuration de fibres creuses est compris entre 100 et 800 μm.

Le diamètre interne des membranes avec une configuration de fibres creuses est généralement inférieur à 1 mm, préférentiellement inférieur à 900 μm, inférieur à 800 μm, inférieur à 700 μm, inférieur à 600 μm, inférieur à 500 μm, inférieur à 400 μm, inférieur à 300 μm, inférieur à 200 μm, voire même inférieur à 100 μm. Dans un mode de réalisation, le diamètre interne des membranes avec une configuration de fibres creuses selon l'invention est compris entre 1 et 100 μm. Dans un autre mode de réalisation, le diamètre interne est compris entre 5 et 100 μm, préférentiellement entre 7 et 100 μm, encore plus préférentiellement entre 10 et 100 μm. Avantageusement, le diamètre interne des membranes avec une configuration de fibres creuses selon l'invention est compris entre 20 et 90 μm.

En référence à la **Figure 2A** et à la **Figure 8** et selon un mode de réalisation, le contacteur membranaire comprend une membrane de transfert en configuration de fibres creuses, celles-ci étant dispersées sous la forme d'un faisceau de tubes. En référence à la **Figure 2B**, la membrane (30) est dans une configuration de fibre creuse (ou tube) avec un diamètre interne et un diamètre externe. On peut ainsi

définir une face interne (31) et une face externe (32) de la membrane correspondant respectivement à la face à l'intérieur de la fibre (ou tube) et à la face extérieure de la fibre (ou tube).

Dans un mode de réalisation, le fluide de circulation d'alimentation en CO_2 circule à l'intérieur des fibres constituant la membrane et se trouve donc en contact avec la face interne de la membrane, tandis que le fluide de circulation de réception du CO_2 est en contact avec la face externe de la membrane. Dans un deuxième mode de réalisation préféré, le fluide de circulation d'alimentation en CO_2 est en contact avec la face externe de la membrane et le fluide de circulation de réception du CO_2 est à l'intérieur des fibres et est en contact avec la face interne de la membrane.

Dans la cadre de la présente demande, les membranes de transfert avec une configuration de fibres creuses sont des membranes microporeuses ou des membranes non-poreuses.

Dans un mode de réalisation la membrane de transfert du contacteur membranaire est une membrane poreuse, et comprend des pores dont le diamètre est inférieur à 10 μm. Avantageusement, la membrane poreuse est microporeuse, et présente des pores avec un diamètre inférieur à 8 μm, préférentiellement inférieur à 5 μm, voire même inférieur à 3 μm, plus préférentiellement inférieur à 2 μm. Dans un autre mode de réalisation, la membrane microporeuse comprend des pores dont le diamètre est supérieur à 0,001 μm, 0,002 μm, 0,003 μm, 0,004 μm, voire même supérieur à 0,005 μm. Avantageusement, le diamètre des pores de la membrane est ainsi compris entre 0,005 et 2 μm. Dans un mode de réalisation, le diamètre des pores est inférieur à 1 μm, voire inférieur à 0,5 μm et préférentiellement inférieur à 0,2 μm ou même inférieur à 0,1 μm. Dans un autre mode de réalisation, le diamètre des pores de la membrane est compris entre 0,005 et 0,1 μm. Encore, dans un autre mode de réalisation, le diamètre des pores est compris entre 0,008 et 0,09 μm, préférentiellement entre 0,009 et 0,07 μm, voire préférentiellement entre 0,01 et 0,06 μm, et plus préférentiellement entre 0,01 et 0,05 μm. Avantageusement, le diamètre des pores de la membrane est d'environ 0,01 μm, 0,02 μm, 0,03 μm, 0,04 μm ou 0,05 μm.

Dans un mode de réalisation préféré, la membrane de transfert du contacteur membranaire est une membrane dense. La diffusion des molécules se caractérise alors par un phénomène de diffusion à travers la membrane via l'adsorption des

molécules ayant une forte affinité avec la membrane. Ce mode de réalisation présente l'avantage de diminuer voire d'empêcher le colmatage de la membrane du contacteur membranaire avec les différents éléments transportés dans le milieu liquide (comme par exemple les débris cellulaires) par rapport à une membrane poreuse qui présente des zones d'accroche potentielles sur sa structure et permet ainsi de maintenir la même performance d'échanges gazeux au travers de la membrane sur toute la durée du procédé de culture.

Selon un mode de réalisation, la membrane de transfert est une membrane non poreuse de diamètre interne de 150 à 450 µm et de diamètre externe de 250 à 550 µm.

Selon un mode de réalisation, la membrane de transfert est une membrane poreuse de diamètre interne de 150 à 250 µm et de diamètre externe de 250 à 350 µm et comprenant des pores avec un diamètre de 20 à 40 µm.

Selon un autre mode de réalisation, la membrane de transfert est une membrane dense de diamètre interne de 350 à 450 µm et de diamètre externe de 5 à 100 mm.

Avantageusement, la membrane de transfert, poreuse ou dense, en particulier dense, a une épaisseur inférieure à 1000 µm, préférentiellement de 100 µm à 1000 µm.

L'utilisation d'un contacteur membranaire selon l'invention permet notamment d'assurer tout ou une partie des échanges entre deux fluides en circulation via la présence d'une membrane de transfert telle que définie ci-dessus. Le contacteur membranaire peut donc aussi être caractérisé par la surface d'échange entre les deux fluides en circulation.

Selon un mode de réalisation de l'invention, le contacteur membranaire présente une surface d'échange entre les deux fluides de circulation d'au moins 0.003 m^2/L de fluide de circulation de réception de CO_2, de préférence d'au moins 0.006 m^2/L. En parallèle, la surface d'échange entre les deux fluides en circulation est inférieure ou égale à 0.020 m^2/L par litre de fluide de circulation de réception de CO_2, de préférence inférieure ou égale à 0.017, voir même inférieure ou égale à 0.015 et préférentiellement inférieure ou égale à 0.012 m^2/L de fluide de circulation de réception de CO_2. Dans un autre mode de réalisation, le contacteur membranaire présente une surface d'échange comprise entre 0.003 et 0.012 m^2/L de fluide de circulation de réception de CO_2, préférentiellement entre 0.006 et 0.012 m^2/L de fluide de circulation de réception de CO_2.

Les matériaux utilisés pour la production des membranes de transfert sont généralement des polymères, comme par exemple le polyéthylène (PE), le polypropylène (PP), le polysulfone (PSu), le polyéther sulfone (PES), le polyfluorure de vinylidène (PVDF), le polytetrafluoroethylène (PTFE), le polyimide (PI), le polyamide (PA), le polycarbonate (PC), le polyacrylonitrile (PAN), et l'acétate de cellulose (CA). Les membranes de transfert peuvent aussi être fabriquées à partir de silicone ou dérivés de silicone. Dans le cadre de la présente demande, le terme silicone comprend les composés inorganiques formés d'une chaine d'atomes de silicium et d'oxygène et dont les atomes de silicium peuvent porter des groupements. On citera notamment les polymères appartenant à la famille des siloxanes, et plus particulièrement le polydiméthylsiloxane (PDMS) ou des compositions comprenant du polydiméthylsiloxane (PDMS), notamment un système ternaire composé de PDMS, d'eau et de tétrahydrofurane (THF). Avantageusement, les membranes de transfert de la présente demande sont fabriquées à partir de silicone, préférentiellement de PDMS, notamment lesdites membranes sont des membranes fines en PDMS d'épaisseur comprise entre 0.01 et 1.00 cm en feuille ou rouleau. Des exemples de membranes de transfert commerciales sont les membranes fines en silicone de type SSP-M823 chez SSP® ou PDMS de Saint-Gobain. De tels contacteurs membranaires et leurs principes de fonctionnement sont connus de l'homme du métier pour d'autres applications. Ils sont disponibles dans le commerce, notamment sous les références pervélys et 3M^{TM} liqui-Cel.

Les contacteurs membranaires sont ainsi définis comme des systèmes comprenant une ou plusieurs membranes de transfert et dont l'objectif est de promouvoir le contact entre deux fluides en circulation, et cela sans avoir un contact direct entre les deux fluides en circulation.

L'utilisation d'un contacteur membranaire selon l'invention permet notamment d'assurer tout ou une partie des échanges ioniques ou gazeux nécessaire à la croissance optimale des organismes situés dans le milieu de culture dans le bioréacteur.

En référence aux **Figures 3A et 3B**, au niveau de la membrane de transfert (30) du contacteur membranaire, le transfert de matière s'effectue selon un gradient de pression ou de concentration entre les deux fluides de circulation, le fluide de circulation d'alimentation en CO_2 et le fluide de circulation de réception du CO_2. Les molécules de CO_2 présentes dans le fluide de circulation

d'alimentation en CO_2 traversent la membrane de transfert du contacteur membranaire, qui sont consommées par les microorganismes et converties en molécules de O_2 dans le fluide de réception de CO_2. Les caractéristiques de la membrane et les différences de pression et de concentration entre les deux faces de la membrane résultent en ce que les molécules de O_2 traversent la membrane et se retrouvent dans le fluide d'alimentation en CO_2 puis sont éliminées du fluide d'alimentation en CO_2 par des techniques bien connues de l'homme du métier.

L'utilisation d'un contacteur membranaire selon l'invention permet notamment d'assurer tout ou une partie des échanges ioniques ou gazeux nécessaires à la croissance optimale des organismes situés dans le milieu de culture dans le bioréacteur, étant entendu que ledit contacteur membranaire est un dispositif couplé au bioréacteur et distinct de celui-ci. Ainsi, la croissance des organismes a lieu dans le bioréacteur et non dans le contacteur membranaire qui y est couplé et dans lequel le milieu de culture circule.

Préférentiellement, le contacteur membranaire présente des dimensions inférieures à celles du réacteur biologique auquel il est couplé. Le couplage d'un contacteur membranaire à un bioréacteur présente plusieurs avantages, notamment l'amélioration des échanges gazeux. En effet, lors de l'utilisation d'un contacteur membranaire, le CO_2 est apporté par perméation et se retrouve donc complétement dissous et réparti de manière homogène dans le milieu, alors qu'un apport de CO_2 par bullage conduit à un transfert de gaz uniquement à la surface de la bulle lors de son passage dans le milieu.

D'autre part, contrairement à un bullage de CO_2, lors de l'utilisation d'un contacteur membranaire il n'y a pas de désorption de CO_2 ou de limitation de la surface d'échange gaz/liquide due à l'effet de coalescence des bulles entre elles.

Enfin, l'utilisation d'un contacteur membranaire permet d'améliorer les échanges d'ions et de gaz, et par conséquent la consommation de CO_2 dans le milieu, du fait de la mise en circulation du milieu de culture. Cette mise en circulation est permise par la rotation des pale dans le bioréacteur ou le pompage du milieu de culture depuis le bioréacteur vers le contacteur membranaire. Le milieu de culture est ensuite réinjecter depuis le contacteur membranaire vers le bioréacteur.

Dans un mode de réalisation, illustré aux **Figures 2A** et **8,** le contacteur membranaire comprend une membrane de transfert de configuration en fibres creuses dispersées sous la forme d'un faisceau de fibres (ou tubes). Le contacteur

membranaire est ainsi divisé en deux espaces où circulent le fluide d'alimentation en CO_2 et le fluide de réception du CO_2, les deux espaces étant séparés par la membrane de transfert, en l'espèce la membrane de configuration en fibres creuses.

Dans un premier mode de réalisation, illustré à la **Figure 2A,** le fluide d'alimentation en CO_2 circule dans un premier espace (311) correspondant à l'intérieur des fibres creuses, le fluide circulant selon un flux entre l'entrée (20) ou (21) et la sortie (20) ou (21) du faisceau de fibres creuses. Selon ce mode de réalisation, le fluide de réception du CO_2 circule dans un deuxième espace (321) délimité par les parois étanches à l'eau du contacteur membranaire, le fluide circulant selon un flux entre l'entrée (22) ou (23) et la sortie (22) ou (23) du contacteur membranaire.

Dans un deuxième mode de réalisation préféré, illustré à la **Figure 8**, le contacteur membranaire comprend une membrane de transfert de configuration en fibres creuses dispersées sous la forme d'un faisceau de fibres (ou tubes). Selon ce mode de réalisation préféré, le fluide d'alimentation en CO_2 circule dans un premier espace (321) délimité par les parois étanches à l'eau du contacteur membranaire, le fluide circulant selon un flux appliqué entre l'entrée (22) ou (23) et la sortie (22) ou (23) du contacteur membranaire. En parallèle, le fluide de réception du CO_2 se trouve dans le deuxième espace (311) délimité par la membrane (à l'intérieur des fibres creuses) et circule selon un flux entre l'entrée (20) ou (21) et la sortie (20) ou (21) du faisceau de fibres creuses.

L'agencement de ce deuxième mode de réalisation présente l'avantage de limiter le phénomène de colmatage pouvant survenir lorsque le fluide de réception du CO_2 circule à l'extérieur des fibres creuses et que le fluide d'alimentation du CO_2 circule à l'intérieur des fibres, notamment lorsque le fluide de réception du CO_2 est le milieu de culture et le fluide d'alimentation du CO_2 est du CO_2 gazeux.

Préférentiellement, le contacteur membranaire est placé à l'extérieur du réacteur biologique. Le contacteur membranaire peut aussi être placé à l'intérieur du réacteur biologique. Au besoin, le contacteur membranaire peut être placé dans un boitier étanche, ce dernier pouvant être alors placé à l'intérieur ou à l'extérieur du réacteur biologique.

Les contacteurs membranaires permettent un apport efficace et homogène de CO_2 à l'ensemble des microorganismes dans les procédés de culture grâce au phénomène de diffusion à travers les membranes de transfert. Ces dernières

créent une séparation physique entre le fluide de circulation, notamment entre une phase gazeuse d'alimentation en CO_2 et un milieu de culture liquide récepteur de CO_2, permettant seulement à certaines molécules de traverser la membrane.

Dans un mode de réalisation, le gradient de pression ou de concentration en molécules de gaz résulte d'une surpression de la concentration en CO_2. L'homme du métier saura déterminer le débit en CO_2 à l'entrée du contacteur membranaire à appliquer afin de créer cette surpression, notamment en fonction du réacteur biologique et de la quantité de la biomasse désirée, sans que celle-ci n'affecte la culture des microorganismes.

Dans un autre mode de réalisation, le CO_2 est injecté à un débit régulier en fonction de la consommation de CO_2 nécessaire à la croissance des microorganismes. Le CO_2 consommé est ainsi transformé en molécules de O_2 qui diffusent à travers la membrane de transfert et conduisent à une augmentation de la pression dans la phase gazeuse du bioréacteur. Une valeur seuil de la concentration en O_2 peut éventuellement être déterminée par l'opérateur afin de programmer la libération des molécules de O_2 vers l'extérieur du contacteur membranaire et/ou du réacteur biologique via la sortie d'air.

Dans un autre mode de réalisation, une valeur seuil de la concentration en CO2 peut être déterminée par l'opérateur afin de programmer la libération du fluide d'alimentation en CO2 vers l'extérieur du contacteur membranaire seulement lorsque la concentration en CO2 dudit fluide d'alimentation descend en dessous de ladite valeur seuil afin de permettre le remplacement de la source de fluide d'alimentation en CO2 par une source de fluide d'alimentation en CO2 présentant une concentration en CO2 supérieure à ladite valeur seuil.Dans un autre mode de réalisation, le gradient de concentration résulte d'un déficit en molécules de O_2 dans la phase gazeuse. L'absence ou la faible concentration en molécules de O_2 peut être mise en œuvre notamment grâce à une pompe, préférentiellement une pompe à vide, qui élimine les molécules de O_2 du contacteur membranaire et/ou du réacteur biologique.

Dans le cadre de la présente demande, il est entendu que le contacteur membranaire et/ou le réacteur biologique peuvent/peut comprendre d'autres dispositifs et appareillages assurant la sécurité de la culture des microorganismes et des opérateurs.

La concentration en CO_2 est ainsi régulée par au moins un des dispositifs précédents, c'est à dire via un gradient de pression ou de concentration résultant

d'une surpression en CO_2 et/ou O_2 dans le contacteur membranaire, ou encore d'une faible concentration en O_2 dans le contacteur membranaire.

Préférentiellement, la concentration en CO_2 est régulée avec une surpression en CO_2 dans le dans le contacteur membranaire.

La pression dans le contacteur membranaire est suivie à l'aide d'un manomètre et modifiée grâce à une valve de régulation.

Il est à noter que la concentration en gaz dissous dans le milieu de culture dépend de la température du milieu de culture. Ainsi, plus la température est faible, plus la concentration en gaz dissous est importante et inversement.

Dans un mode de réalisation, la concentration en CO_2 dissout dans le milieu de culture est ainsi comprise entre 0 et 3500 mg/L. Dans un autre mode de réalisation, la concentration en CO_2 dissout est d'au moins 100 mg/L, voire au moins 200 mg/L, préférentiellement d'au moins 400 mg/L, plus préférentiellement d'au moins 600 mg/L. Dans un autre mode de réalisation, la concentration en CO_2 dissout dans le milieu de culture est inférieure à 3400 mg/L, voire inférieure à 3200 mg/L, préférentiellement inférieure à 3000 mg/L. Dans un autre mode de réalisation, la concentration en CO_2 dissout dans le milieu de culture est comprise entre 600 et 3000 mg/L, préférentiellement entre 600 et 2500 mg/L, plus préférentiellement entre 600 et 2000 mg/L. Avantageusement, la concentration en CO_2 dissout dans le milieu de culture est comprise entre 600 et 1500 mg/L, voire entre 800 et 1500 mg/L. Dans un mode de réalisation préféré, la concentration en CO_2 dissout est d'au moins 1000 mg/L, voire même d'au moins 1200 mg/L. Dans un mode de réalisation encore préféré, la concentration en CO_2 dissout est comprise entre 1000 mg/L et 1500 mg/L voire entre 1200 mg/L et 1500 mg/L. Dans ce dernier mode de réalisation, la température du milieu de culture est préférentiellement la température ambiante (*i.e.* 18°C à 25°C).

En parallèle, la quantité de O_2 dissout dans le milieu de culture est maintenue à une concentration inférieure à 35 g/m^3. Dans un mode de réalisation, la concentration en O_2 dissout dans le milieu de culture est inférieure à 34 g/m^3, voire 33 g/m^3, préférentiellement inférieur à 32 g/m^3, encore plus préférentiellement inférieure à 31 g/m^3. Dans un autre mode de réalisation, la quantité de O_2 dissout dans le milieu de culture est d'au moins 8 g/m^3. Dans un mode de réalisation préféré, la concentration en O_2 dissout dans le milieu de culture est comprise entre 8 et 30 g/m^3.

De manière avantageuse, la concentration en CO_2 dans le milieu de culture est régulée de manière à apporter la quantité nécessaire et suffisante à la culture des microorganismes, de manière que l'ensemble du CO_2 est consommé sans déperdition dans l'atmosphère. Pour cette régulation, le réacteur biologique est équipé d'un système de contrôle.

Des valeurs cibles sont déterminées et entrées dans le système de contrôle pour chacun des paramètres qui doit être contrôlés. Le système de contrôle mesure dans le milieu de culture les paramètres qui doivent être contrôlés. Notamment, le système de contrôle mesure le pH, la température et la concentration en CO_2 dissout dans le milieu de culture. Ces mesures de paramètres peuvent s'effectuer de manière continue ou discontinue.

Les valeurs des paramètres ainsi mesurées sont alors traitées et comparées aux valeurs cibles. Le cas échéant, le système de contrôle indique la présence d'un écart entre les valeurs mesurées et les valeurs cibles. Cette indication entraine l'ajustement, manuel ou automatique, du paramètre concerné, par exemple par l'ajout d'une solution acide ou basique dans le milieu de culture, le chauffage ou le refroidissement du milieu de culture et/ou l'augmentation ou la diminution de l'apport de CO_2 dans le milieu de culture.

En particulier, les seuls échanges gazeux entre le réacteur et l'environnement extérieur se font par le contacteur membranaire.

Selon un mode particulier de réalisation de l'invention, le CO_2 injecté provient d'un gaz riche en CO_2 que l'on cherche à traiter de manière à éliminer le CO_2, sans le relâcher dans l'atmosphère. En particulier le CO_2 est un effluent gazeux industriel riche en CO_2. En particulier, l'effluent gazeux industriel riche en CO_2 a été prétraité de manière à éliminer des microparticules et/ou des composants toxiques susceptibles d'affecter la culture des microorganismes.

A noter que les facteurs les plus influents pour les changements de concentration :

- en O_2 dissout sont la concentration initiale en O_2 dans le liquide et le débit du liquide dans le contacteur membranaire (voir Exemple 1 sur le modèle d'une culture de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur);

en CO_2 dissout dans le liquide sont la pression du CO_2 dans le fluide d'alimentation en CO_2 dans la contacteur membranaire, la teneur en CO_2 dans le fluide d'alimentation en CO_2 et la concentration initiale de CO_2 dissous dans le milieu de culture ; la température du liquide, le débit de gaz, le débit de liquide et

la concentration initiale en O_2 dans le liquide n'ont pas d'influence significative sur la rapidité de transfert de CO2 (voir Exemple 2 sur le modèle d'une culture de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur).

La **Figure 3** représente les flux en CO_2 et O_2 qui existent au niveau de la membrane de transfert du contacteur membranaire.

En référence aux **Figures 3**, au niveau de la membrane de transfert (30), des phénomènes d'échange entre les molécules de CO_2 et de O_2 se produisent. Alors que le CO_2 diffuse de l'intérieur vers l'extérieur des membranes, les molécules de O_2 traversent la membrane depuis le milieu de culture et sont éliminées en même temps que les molécules de CO_2 en excès. La **Figure 3B** représente un mode de réalisation où les flux de circulation sont croisés. Le fluide d'alimentation en CO_2 et le fluide de réception du CO_2 circulent dans des directions opposées.

Les microorganismes et les microorganismes cultivés sont bien connus de l'homme du métier. Il s'agit notamment de bactéries, levures, ou encore de protistes, et plus particulièrement des algues et des microalgues. Selon un mode préféré de réalisation, les microorganismes cultivés sont des protistes.

Par protiste, 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 tels que *Schizochytrium*, *Aurantiochytrium*, etc), les cyanobactéries (Anabaena, Nostoc, Microcistis, Arthrospira, Spirulina, etc) ou les flagellés hétérotrophes (*Crypthecodinium* etc.) font partie du groupe des protistes.

Dans un mode de réalisation, les microorganismes selon l'invention sont des algues et des microalgues appartenant préférentiellement aux classes des Chlorophytes, des Rodophytes, des Thraustochytrides et des Diatomées.

Lorsque les microalgues sont du genre Amphidinium, elles pourront être choisies parmi les espèces *Amphidinium acutum ,Amphidinium aloxalocium ,Amphidinium asymmetricum ,Amphidinium bipes ,Amphidinium carbunculus , Amphidinium carterae ,Amphidinium carteri,Amphidinium celestinum,Amphidinium coeruleum ,Amphidinium conradi , Amphidinium corallinum ,Amphidinium crassum ,Amphidinium cyaneoturba ,Amphidinium dubium ,Amphidinium elegans , Amphidinium extensum ,Amphidinium flagellans ,Amphidinium flexum ,Amphidinium fusiforme ,Amphidinium glaucum , Amphidinium globosum*

,Amphidinium hoefleri ,Amphidinium hyalinum ,Amphidinium incoloratum ,Amphidinium inflatum Amphidinium kesslitzi ,Amphidinium klebsii ,Amphidinium lacustre ,Amphidinium lanceolatum ,Amphidinium latum ,Amphidinium lilloense Amphidinium longum Amphidinium luteum Amphidinium machapungarum ,Amphidinium macrocephalum ,Amphidinium mammillatum ,Amphidinium massartii ,Amphidinium microcephalum ,Amphidinium operculatum ,Amphidinium ornithocephalum , Amphidinium ovoideum ,Amphidinium ovum ,Amphidinium pellucidum ,Amphidinium phthartum Skuja, ,Amphidinium psammophilum ,Amphidinium pseudogalbanum ,Amphidinium purpureum ,Amphidinium salinum Ruinen,Amphidinium schroederi , Amphidinium scissoides ,Amphidinium sphenoides ,Amphidinium steini ,Amphidinium stellatum ,Amphidinium subsalsum , Amphidinium tortum ,Amphidinium trochodinoides , Amphidinium turbo, Amphidinium vasculum, Amphidinium vittatum, Amphidinium wislouchii.

Lorsque les microalgues sont du genre Chlorella, elles pourront être choisies parmi les espèces *C. acuminata, C. angustoellipsoidea, C. anitrata, C. antarctica, C. aureoviridis, C. autotrophica, C. botryoides, C. caldaria, C. candida, C. capsulata, C. chlorelloides, C. cladoniae, 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. 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. reisiglii, C. reniformis, C. 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. trebouxioides, C. vannielii, 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.

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. polomorpha*.

Lorsque les microalgues sont du genre Scenedesmus, elles pourront être choisies parmi les espèces *S. abundans, S. aciculatus, S. aculeolatus, S.*

aculeotatus, S. acuminatus, S. acutiformis, S. acutus, S. aldavei, S. alternans, S. ambuehlii, 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. 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. fusiformis, S. gracilis, S. graevenitzii, S. grahneisii, S. granulatus, S. gujaratensis, S. gutwinskii, 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. naegelii, S. nanus, S. notatus, S. 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. pecsensis, 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. protuberans, S. pseudoarmatus, S. pseudobernardii, 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. schnepfii, S. schroeteri, S. securiformis, S. semicristatus, S. semipulcher, S. 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. 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 les espèces *N. abbreviata, N. abonuensis, N. abridia, N. accedens, N. accommodata, N. acicullariformis, N. acicularioides, N. acicularis* (comprenant toutes ces variétés), *N. acidoclinata, N. actinastroides, N. actydrophila, 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. 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. 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. barbieri* (comprenant toutes ces variétés), *N. barkleyi, N. barronii, N. barrowiana, N. bartholomei, N. bathurstensis, N. bavarica, N. behrei, N. bergii, N. beyeri, N. biacrula, N. bicapitata* (comprenant toutes ces variétés), . *bicuneata, N. bifurcata, N. bilobata* (comprenant toutes ces variétés), *N. birostrata, N. bisculpta, N. bita, N. bizertensis, N. blankaartensis, N. bombiformis, N. borealis, N. bosumtwiensis, N. braarudii, N. brebissonii* (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. brunoi, 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 variétés), *N. capuluspalae, N. carnicobarica, N. carnicobarica, N. challengeri, 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 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. creticola, 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. cylindriformis, N. cylindrus, N. dakariensis, N. 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. dianae, 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. divergens, N. diversa, N. diversecostata, N. doljensis, N. draveillensis, N. droebakensis, N. dubia* (comprenant toutes ces variétés), *N. dubiformis, N. dubioides, N. ebroicensis, 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. 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. 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 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. heuflerania, N. heufleriana* (comprenant toutes ces variétés), *N. hiemalis, N. hiengheneana, N. hierosolymitana, N. hoehnkii, N. holastica, N. hollerupensis, N. holsatica, N. homburgiensis, 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. 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. invisa, N. invisitata, N. iranica, N. irregularis, N. 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. kolaczeckii, N. kotschyi, N. kowiensis, N. krachiensis, N. krenicola, N. kuetzingiana* (comprenant toutes ces variétés), *N. kuetzingii, N. kuetzingioides, 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. laevissima, 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. 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. liebetruthii* (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. 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. 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, 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. 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. 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. 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, 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. radicula* (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* (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. 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* (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 toutes ces variétés), *N. strelnikovae, N. stricta, N. strigillata, N. striolata, N. subaccommodata, N. subacicularis, N. subacuta, N. subamphioxioides, 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. subinvicta, N. sublaevis, N. sublanceolata, N. sublica, N. sublinearis, N. sublongirostris, N. submarina, N. submediocris, N. subodiosa, N. subpacifica, N. subpunctata, N. subromana, N. subrostrata, N. subrostratoides, N. subrostroides, N. subsalsa, N. subtilioides, 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. 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. umaoiensis, 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. woltereckoides, N. wuellerstorfii, 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 parmi les espèces : *H. buetschlii, H. capensis, H.carocellus, H. droebakensis, H. grevilei, H. insignis, H. lacustris, H. murorum, H. pluvialis, H. salinus, H. sanguineis, H. thermalis, H. zimbabwiensis*.

=Lorsque les microalgues sont du genre Tetraselmis , elles pourront être choisies 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, T. viridis, T. wettsteinii*.

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

La culture des microorganismes peut se faire en absence ou en présence de source de carbone, et/ou en absence ou en présence de lumière. Le procédé selon l'invention est ainsi adapté à la culture des microorganismes en mode hétérotrophe, autotrophe ou mixotrophe. Dans un mode de réalisation préféré, les microorganismes sont des microalgues cultivés selon un mode autotrophe ou mixotrophe. Avantageusement, les microorganismes cultivés selon l'invention sont des microalgues autotrophes.

Le procédé de culture des microorganismes comprend la culture desdits microorganismes dans un réacteur biologique couplé au contacteur membranaire selon l'invention, et la récupération de la biomasse produite par les microorganismes. La biomasse produite pourra être utilisée pour la préparation de compositions pharmaceutiques, cosmétiques, nutraceutiques ou alimentaires.

L'invention concerne ainsi aussi l'utilisation d'un contacteur membranaire pour la régulation des flux en CO_2 et O_2 dans un procédé de culture des microorganismes dans lequel le CO_2 est une source de carbone dans le milieu de culture. Le contacteur membranaire peut être placé à l'intérieur ou à l'extérieur du réacteur biologique. Il est entendu que le contacteur membranaire peut éventuellement être placé dans un boitier, ce dernier étant à l'intérieur ou à l'extérieur du réacteur biologique. Préférentiellement, le contacteur membranaire est placé à l'intérieur du réacteur biologique. Les microorganismes et autres moyens de culture sont décrits précédemment.

L'invention concerne aussi un procédé de décarbonation d'un gaz riche en CO_2 qui comprend l'injection dudit gaz dans un réacteur biologique, ledit réacteur biologique comprenant un milieu de culture et des microorganismes capables de croitre dans ledit milieu de culture avec le CO_2 comme seule source de carbone et des moyens d'alimentation en CO_2, caractérisé en ce que les moyens d'alimentation en CO_2 comprennent un contacteur membranaire pour la régulation des flux de CO_2 et O_2 dans le milieu de culture, le flux de CO_2 étant dirigé vers le milieu de culture, et le flux de O_2 étant dirigé vers l'extérieur du milieu de culture.

De manière avantageuse, la concentration en CO_2 dans le milieu de culture est régulée de manière à apporter la quantité nécessaire et suffisante à la culture

des microorganismes, de manière que l'ensemble du CO_2 est consommé sans déperdition dans l'atmosphère.

En particulier, dans le procédé de décarbonation selon l'invention les seuls échanges gazeux entre le réacteur et l'environnement extérieur se font par le contacteur membranaire. Le réacteur est avantageusement clos.

Enfin, l'invention concerne un dispositif de fermentation de microorganismes, lesdits microorganismes étant des microalgues selon l'invention. Le dispositif de fermentation comprend :

(a) une cuve de fermentation ou réacteur biologique, et

(b) un moyen d'alimentation en CO_2, comprenant un contacteur membranaire selon l'invention permettant de réguler les flux de CO_2 et de O_2, le flux de CO_2 étant dirigé vers le milieu de culture et le flux de O_2 étant dirigé vers l'extérieur du milieu de culture.

En référence à la **Figure 1**, le dispositif comprend un contacteur membranaire (2) couplé au réacteur biologique (1). La circulation du fluide de réception du CO_2 (le flux du milieu de culture) contenu dans le réacteur biologique (3) et (4) est assuré grâce à une pompe disposée (5) entre le réacteur biologique et le contacteur membranaire. Des sondes ou des capteurs (10) et (11) de mesure peuvent être ajoutées au dispositif. Il s'agit notamment de sondes de mesure de CO_2 et de O_2.

Le contacteur membranaire est par ailleurs lié à une source de CO_2 qui induit un flux de CO_2 (fluide d'alimentation en CO_2) dans le contacteur membranaire (6) et (7). Le dispositif selon l'invention peut aussi comprendre une pompe à vide (8) afin de créer un flux de CO_2. Le dispositif peut comprendre par ailleurs une cuve tampon (9) permettant le stockage de CO_2. De préférence la cuve tampon est placée entre la source d'alimentation en CO_2 et le contacteur membranaire.

En référence à la **Figure 8**, le contacteur membranaire est connecté à la source de dioxyde de carbone (CO_2) au niveau de l'entrée du fluide d'alimentation en CO_2 (22). Le fluide d'alimentation en CO_2 sort du contacteur membranaire (23) et retourne selon le circuit fermé dans la cuve d'alimentation en CO_2 (9). En parallèle, le fluide de réception du CO_2 circule dans le contacteur membranaire depuis l'entrée (20) connectée au réacteur biologique (1) vers la sortie (21), cette dernière étant aussi reliée au réacteur biologique (1). Deux flux de circulation existent donc au sein du dispositif : un flux de circulation du fluide d'alimentation en CO_2 (6) et (7) et un flux de circulation du fluide de réception du CO_2 (3) et (4).

Ces deux flux circulent selon un circuit fermé et passent dans le contacteur membranaire où se produisent les échanges de matières entre les deux fluides.

Selon l'invention, le contacteur membranaire comprend une membrane de transfert, préférentiellement une membrane de transfert avec une configuration de fibres creuses. Dans ce mode de réalisation, la membrane de transfert à fibres creuses est choisie parmi les membranes microporeuses et les membranes denses. Préférentiellement, la membrane de transfert avec une configuration de fibres creuses est une membrane dense.

Dans le dispositif de fermentation, le contacteur membranaire peut être placé à l'intérieur ou à l'extérieur du réacteur. Il est entendu que le contacteur membranaire peut être placé dans un boitier, lui-même placé à l'intérieur ou à l'extérieur du réacteur biologique. Dans un mode de réalisation préféré, le contacteur membranaire est placé à l'extérieur du réacteur.

Selon un mode particulier de réalisation, le réacteur est clos, isolé de l'extérieur, les seuls échanges gazeux avec l'extérieur étant faits via le contacteur membranaire avec un apport en CO_2 et une évacuation de l'O_2.

EXEMPLES

Matériels et Méthodes

Détermination de la croissance cellulaire

Densité optique (DO)

Des mesures de DO sont faites en duplicat à 750 nm avec un spectrophotomètre (7315, JENWAY). La productivité journalière est calculée à partir de la DO et d'un coefficient de corrélation (CC) spécifique au microorganisme cultivé selon la formule suivante en particulier lorsque la concentration en biomasse est trop faible pour avoir une valeur précise de la masse sèche.

$$\text{Productivité (DO) (g.L}^{-1}\text{.jour}^{-1}\text{)} = \frac{(DO(jour\ J) - DO\ (jour\ J-1)) \times CC}{temps\ (jour\ J) - temps\ (jour\ J-1)} \times 24$$

Masse sèche (MS)

Des mesures de MS sont faites en duplicat à l'aide d'un collecteur en filtration sous vide. Pour cela, un échantillon est placé sur un préfiltre en fibre de verre AP40 (pores de 0,7 µm, Merck Millipore). La matière sèche filtrée est ensuite pesée après une incubation de 24 heures à 100°C. La valeur finale de MS est calculée selon la formule suivante.

$$\text{MS (g.L}^{-1}\text{)} = \frac{final\ mass - initial\ mass}{volume\ de\ l'échantillon}$$

La formule suivante est utilisée pour calculer la productivité journalière à partir de la MS.

Productivité (MS) ($g.L^{-1}.jour^{-1}$)= $\frac{(MS(jour\ J)-MS\ (jour\ J-1))}{temps\ (jour\ J)-temps\ (jour\ J-1)} \times 24$

EXEMPLE 1 : Variation de la quantité de dioxygène (O_2)

But : Eliminer l'O_2 dissous en fonction des caractéristiques géométriques et physico-chimiques du réacteur en faisant varier le débit du milieu dans le contacteur.

Conditions expérimentales : Culture d'une biomasse de *Chlorella vulgaris* avec un photobioréacteur dans lequel la surface d'émission de la lumière reste constante (250 m²). Le milieu de culture utilisé est décrit dans le Tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1

Nutriments	Concentration g/L
KNO3	8,888
NaH2PO4	1,238709677
CaCl2, 2H2O	0,04672
MgSO4, 7H2O	1,312
Fer EDTA	0,577

La quantité de photons émise par les surfaces de lumière varient de 1050 à 0 µmol photons/m²/s. Il n'y a pas de zone non éclairée dans le réacteur (fd=0).

Il est possible de déterminer la vitesse qui doit être appliquée au flux du milieu de culture sur les membranes de transfert en fonction de la quantité d'O_2 présente dans le milieu et de celle produite par les microalgues selon les configurations du photobioréacteur.

La concentration en dioxygène dissous doit être contrôlée entre 8 g/m^3 et 30 g/m^3. En effet, il a été constaté qu'une concentration d'oxygène dissous inférieur à 8 g/m^3 peut avoir un effet négatif sur la croissance des microalgues, tandis qu'une solubilité en O_2 supérieur à 30 g/m^3 peut induire une perte de la productivité de la biomasse sur *Chlorella vulgaris*.

La quantité d'O_2 produite est modélisée via la production de la biomasse avec la méthode suivante : $PO2 = \frac{YO2}{x} * PV$ où YO_2/x est égal à 1.5 kgO_2/kg de biomasse produite et PV est la productivité volumique.

Par conséquent, le flux du milieu dans le contacteur membranaire dépend de ΔO_2 correspondant à la formule suivante :

ΔO_2 (mg/L) = -0.79 – 0.66 * concentration O_2 initiale (mg/L) + 0.29 * vitesse du flux du milieu (L/min)

Cas A : le système est dimensionné pour produire 0.2 kg/m^3/jour et la production d'O_2 restera entre les bornes minimales et maximales souhaitables en O2 dissous. Afin d'atteindre la borne minimale, un débit de 15.72 L/min en O_2 est nécessaire (**Figure 4**).

La production d'O_2 reste raisonnable car elle reste dans les bornes tolérables pour effectuer une bonne photosynthèse. Il est tout de même possible de rester au plus proche de la borne minimale en ajustant le débit. Dans un second temps, si la productivité augmente, la production d'O_2 sera délétère pour les microalgues car au-dessus des bornes. Il faudra alors augmenter le flux dans les membranes de transfert pour atteindre la borne maximale souhaitable en O_2 dissous.

Cas B : le système est défini pour produire 0.79 kg/m^3/jour, la production d'O_2 sera au-delà de la borne maximale. Il faut donc diminuer la concentration en O_2 de 22.25 mg/L, grâce à un débit dans les membranes de transfert de l'ordre de 38.07 L/min (**Figure 5**).

Le **Tableau 1bis** résume les différents paramètres pour les systèmes A et B.

Tableau 1bis

	Productivité A	Productivité B
Productivité (gramme/Litre/Jour)	0,20	0,79
Borne Min O_2 (milligramme/Litre)	8	8
Borne Max O_2 (milligramme/Litre)	27	27
Entrée m O_2 (milligramme/Litre/heure)	12	49
ΔO_2 min (milligramme/Litre)	-4	-41
ΔO_2 max (milligramme/Litre)	15	-22
Débit (Q) pour Borne Min O2(Litre/minute)	16	non déterminée
Débit (Q) pour Borne Max O2(Litre/minute)	0	38

EXEMPLE 2 : Variation de la quantité de dioxyde de carbone (CO_2)

Il est possible d'augmenter ou de diminuer la quantité de CO_2 dissous en fonction de la quantité initialement présente dans le milieu de culture en faisant varier les conditions de pressions sur la membrane de transfert du contacteur. La variation de la quantité de CO_2 peut ainsi être définie selon l'équation suivante :

ΔCO_2 (mg/L) = 664,96 – 0,46 * concentration CO_2 initiale (mg/L) + 888,30 * pression (bar)

Si la concentration du milieu de cuture comprend une concentration de 100 mg/L de CO_2 et que l'on souhaite avoir une concentration constante en CO_2 dissous de 1200 mg/L, il faut combler le delta de CO_2 de 1100 mg/L avec une pression sur la membrane de transfert de l'ordre de 0,542 bar (**Figure 6**). Ce maintien en CO_2 devra être corrigé dans le temps en fonction de la quantité et des surfaces d'émissions des photons envoyées dans la cuve.

Différents paramètres sont modulables pour déduire des productivités dans un photobioreacteur. Ils sont pris en compte dans la modélisation ci-dessous du rendement surfacique d'un photobioréacteur.

$$\left\langle r'_X \right\rangle_{max} \cong (1-f_d)\ \rho_M \bar{\phi}' \frac{2\alpha}{1+\alpha} a_{light} \frac{K}{\left(\frac{\bar{n}+2}{\bar{n}+1}\right)} \ln\left[1+\frac{\left(\frac{\bar{n}+2}{\bar{n}+1}\right)\bar{q}_0}{K}\right]$$

$$= (1-f_d)\ \rho_M \bar{\phi}' \left\langle \boldsymbol{A} \right\rangle_{max} \frac{K}{\left(\frac{\bar{n}+2}{\bar{n}+1}\right)\bar{q}_0} \ln\left[1+\frac{\left(\frac{\bar{n}+2}{\bar{n}+1}\right)\bar{q}_0}{K}\right]$$

Avec :

- $(r'_X)_{max}$: rendement surfacique maximal du photobioréacteur
- K : constante de demi-saturation de la photosynthèse
- $a_{light} = a_{Lumière}$ et correspond au ratio entre la surface éclairée et le volume réel du photobioréacteur ($S_{Lumière}$ /Vr)
- Vr : volume réel
- ň : degré de collimation moyen du rayonnement incident
- fd : fraction sombre ou ratio de volume non éclairé sur le volume réel du photobioréacteur

- A : densité volumique de puissance rayonnante absorbée en µmolhv · m–3 · s–1
- ρ_M : rendement énergétique maximum de conversion de l'énergie lumineuse en énergie physico- chimique
- Qn : densité de flux moyenne de photon sur la surface du photobioréacteur
- h : constante de Planck
- v : fréquence
- Sx : production surfacique
- Px continu : production volumique
- Rendement corrigé = Px avec un facteur correctif de 20%

La production du photobioréacteur dépendra principalement des éléments suivants:

- La fraction sombre (fd)
- La production surfacique (Sx) due à la captation du flux de photons surfacique
- La production volumique (Px) fonction du flux de photons surfacique capté rapporté au volume total. Dans le cas présent, il est préférable de réduire au maximum la fraction non éclairée du réacteur et d'augmenter la surface recevant le flux de photons.

La quantité de CO_2 à apporter pour atteindre la cible et l'excès pour la croissance en microalgues est calculée selon la formule suivante :

$\Delta CO_2 * V_{réacteur}$ + (productivité biomasse * $V_{réacteur}$ * Assimilation kgCO2 par kgbiomasse)

Les paramètres de l'Exemple 2 sont résumés dans le **Tableau 2** ci-dessous.

Tableau 2

Cas géométrie réacteur		
Surface lumière (m^2)	25	25
Qn (µmolhv/m^2/s)	800,00	200,00
K (µmolhv/kgbiomasse/s)	30000,00	30000,00
Vr (m^3)	1,00	1,00
alight (m^{-1})	25,00	25,00
Fd (%)	0,00	0,00
Sx (kilogramme/mètre^2/Jour)	0,03	0,01

Px continu (kilogramme/m^3/Jour)	0,66	0,17
Rendement corrigé (kilogramme/m^3/Jour)	0,79	0,20
Assimilation ($kg_{CO2}/kg_{biomasse}$)	2,059	2,059
kg_{CO2}/biomasse/Jour	1,62552958	0,41041054
Concentration initiale CO_2 (mg/L)	100	100
Concentration cible CO_2 (mg/L)	1200	1200
ΔCO_2 (mg/L)	1100	1100
V (L)	1000	1000
Pression nécessaire pour cible CO_2 (bar)	0,542	0,542
Quantité de CO_2 à apporter pour atteindre la cible et l'excès pour la croissance en microalgues (kg_{CO2}/Jour)	2,726	1,510

EXEMPLE 3 : Quantité de CO2 à injecter dans le milieu de culture en fonction de la température et de la pression

But : Eliminer l'O_2 produit par la photosynthèse des microalgues via l'injection de CO_2 concentré qui va prendre le rôle d'un gaz vecteur.

Conditions expérimentales : Culture d'une biomasse de *Chlorella vulgaris* avec le milieu de culture décrit à l'Exemple 1 (Tableau 1) dans un photobioréacteur avec 25 m² de surface lumineuse et 1050 µmol photons/m^2/s d'émission surfacique. La production de biomasse est estimée à 1,03 kg/m^3/J soit une consommation de CO_2 de l'ordre de 2,12 $kgCO_2$/kgBiomasse/m^3/jour.

Le débit de CO_2 est réglé afin d'éliminer au moins 85% de O_2 initial produit. Les paramètres sont ensuite vérifiés via des manomètres et des débitmètres gazeux et liquide.

La pression gazeuse en O_2 du gaz intrant est maintenue inférieure à la pression gazeuse en O_2 du milieu de culture (PO_2 gaz intrant < PO_2 milieu de culture). La pression gazeuse en CO_2 du gaz intrant est maintenue supérieure à la pression gazeuse en CO_2 du milieu de culture (PCO_2 gaz intrant > PCO_2 milieu de culture).

La quantité de CO_2 injectée dépend de la température du milieu de culture, la concentration initiale du milieu du culture, de la pression admise dans la

membrane de transfert vectrice du CO_2 et de la différence de concentration en CO_2 entre les concentrations cible et initiale en CO_2.

Lorsque le milieu de culture est saturé en CO_2, une quantité de CO_2 supplémentaire doit être ajoutée afin de servir de vecteur pour l'O_2 mais également en prévision de la consommation en CO_2 par la biomasse. Cette méthode permet de maintenir une disponibilité en CO_2 maximale en fonction de la souche en corrélation avec sa consommation.

Le **Tableau 3** reprend les différents paramètres permettant le calcul de ΔCO_2 et de la pression de CO_2 nécessaire à atteindre pour obtenir une saturation en CO_2 dissous donnée et ce, en fonction de la température du milieu de culture. Ces paramètres permettent aussi le calcul de la quantité de CO_2 à ajouter pour la croissance des microalgues et l'élimination de l'O_2.

Tableau 3

	Température	° Celsius	20
		° Fahrenheit	68
	Densité CO_2 à	kg/m^3	1,82818281
	Concentration initiale en CO_2	mg/L	300
	Concentration cible en CO_2	mg/L	1200
	ΔCO_2	mg	900
	V	L	1000
	Quantité de CO_2 à apporter pour la cible	kg	0,9
	Pression en CO_2 nécessaire pour la cible	Bar	-0,263298
Régler Q pour ajuster % O_2 éliminé			
Quantité de CO_2 à apporter pour atteindre la cible et l'excès pour la croissance en microalgues		kg/Jour	3,02485775

Sur le même principe que dans l'exemple 2, les paramètres de l'exemple 3 sont résumés dans le **Tableau 4** ci-dessous.

Tableau 4

Cas géométrie réacteur	
Surface lumière (m^2)	25

Qn (µmolhv/m^2/s)	1050
K (µmolhv/kgbiomasse/s)	30000
Vr (m3)	1,00
A light (m-1)	25
Fd (%)	0
Sx (kilogramme/m^2/Jour)	0,03
Px continu (kilogramme/m^3/Jour)	0,86
Rendement corrigé (kilogramme/m^3/Jour)	1,03
Assimilation ($kgCO_2$/kgbiomasse)	2,059
$kgCO_2$/biomasse/Jour	2,12485775

EXEMPLE 4 : Culture de *Chlorella sorokiniana* avec et sans l'utilisation d'un contacteur membranaire pour l'apport de CO_2

Des cultures de *Chlorella sorokiniana* sont lancées dans deux bioréacteurs STR de 5 Litres (Pierre Guérin, volume de travail 3L). Le système comprend une pompe péristaltique (MasterFlex ® model 7518-00, Cole Parmer). Les deux réacteurs diffèrent seulement par le moyen utilisé pour apporter le CO_2 (la quantité de CO_2 apportée restant la même). L'un est équipé d'un contacteur membranaire selon l'invention et d'un moyen de bullage. Le contacteur membranaire est une structure de 200 mm par 550 mm comprenant une membrane de transfert avec une configuration de fibres denses silicone perméable aux gaz de diamètre interne d'environ 200µm et externe d'environ 300µm dans lesquels est mis à circuler le milieu de culture grâce à une pompe péristaltique WG600S, 400 rpm.

Une représentation schématique du contacteur membranaire utilisé est présentée en **Figure 8**.

Le deuxième bioréacteur (contrôle) n'est pas équipé avec un contacteur membranaire mais d'un système de bullage de CO_2.

La culture est maintenu pendant 7 jours sous une lumière d'intensité de 500µmol.m^{-2}.s^{-1} (white, 4000K).

Le milieu de culture utilisé est celui décrit à l'Exemple 1 (Tableau 1) et chaque bioréacteur est inoculé à un volume de 1.5% avec une biomasse incubée à partir de cryotubes (INOVA), OD visée 0.05.

Les paramètres de culture sont maintenus comme suit :

- pH : entre 7 et 8 :
- température : 30°C ;
- agitation : 200 rpm ;
- pression sur la membrane de transfert du contacteur : 0,1 bar, grâce à une valve de régulation et un manomètre;

Les premières 48 heures, la culture est alimentée en air ($1m^3.h^{-1}$) puis en CO_2 (0,05 L/min). De 1 à 3 fois par jour, un échantillon de 15 mL est prélevé pour des analyses DO and MS. Les paramètres de températures, pH et pression en CO_2 et en O2 sont suivis.

Après quelques jours, une différence de couleur entre les biomasses de chaque bioréacteur est visible à l'œil nu. Après 3 jours de culture, dans le cas du bioréacteur selon l'invention, une pression de CO_2 est appliquée sur la membrane de transfert du contacteur à l'aide d'une valve d'arrêt, d'abord de 0.05 bar, puis 0.20 bar puis 0.225 bar puis 0.25 bar. La pression en O_2 tend donc à diminuer à l'intérieur du réacteur. La pression de CO_2 appliquée cible a été déterminée selon la méthode décrite en Exemple 3 ci-dessus et permet de promouvoir les échanges gazeux (O_2 et CO_2) à travers la membrane de transfert.

Un graphique montrant l'évolution dans le temps de la pression en O_2 dans le milieu de culture est présenté en **Figure 9**. Il est à noter qu'une coupure électrique est survenue au jour 8. En conséquence, en plus de l'absence temporaire de lumière et d'agitation, la pompe permettant la circulation du milieu dans le contacteur a été interrompue. Cela est visible sur le graphique: au jour 8 un pic de la pression en O_2 est présent..

La croissance de *Chlorella sorokiniana* est visible dans les deux bioéracteurs. Les résultats de DO et productivité journalière (basée sur la DO) sont présentés en **Figure 10**. Cependant, dès le jour 4, la productivité journalière (basée sur la DO) est considérablement plus élevée pour la culture dans le bioréacteur selon l'invention par rapport au contrôle. Cette tendance est maintenue sur toute la durée de la culture. Compte tenu que la seule différence entre les deux bioréacteurs est l'utilisation ou non d'un contacteur membranaire conformément à l'invention, ces différences de productivité indiquent l'apport amélioré de CO_2 et l'élimination efficace de l'O_2.

Il est à noter que, pendant la culture, il n'y a eu qu'il encrassement modéré du contacteur membranaire et que le milieu a donc pu être brassé uniformément.

En outre, l'apparition de mousse semble avoir été limité dans le cas du bioréacteur équipé d'un contacteur membranaire selon l'invention.

Les productivités théoriques maximales sont atteintes au bout de 7 jours pour les 2 cultures (0.48/g/L/day pour l'invention et 0.14 pour le contrôle).

REVENDICATIONS

1. Procédé de culture d'un microorganisme dans un milieu de culture comprenant du CO_2 comme source de carbone et comprenant une étape de culture du microorganisme dans un réacteur biologique comprenant des moyens d'alimentation en CO_2, caractérisé en ce que les moyens d'alimentation en CO_2 comprennent un contacteur membranaire pour la régulation des flux de CO_2 et de O_2 dans le milieu de culture et dans lequel le flux de CO_2 est dirigé vers le milieu de culture et le flux de O_2 est dirigé vers l'extérieur du milieu de culture au travers de la membrane de transfert du contacteur membranaire.
2. Procédé de culture selon la revendication 1, caractérisé en ce que le contacteur membranaire comprend au moins deux circuits de circulation de fluide : un premier circuit de circulation d'un fluide d'alimentation en CO_2 et un deuxième circuit de circulation d'un fluide de réception de CO_2, et une membrane de transfert séparant lesdits circuits de circulation.
3. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que le contacteur membranaire comprend une membrane de transfert avec une configuration de fibre(s) creuse(s).
4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le contacteur membranaire comprend une membrane de transfert microporeuse ou une membrane de transfert non poreuse, préférentiellement une membrane de transfert non poreuse.
5. Procédé selon l'une des revendications 3 ou 4, caractérisée en ce que le diamètre externe de la ou des membrane(s) est compris entre 100 et 800 μm.
6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que le contacteur membranaire comprend une membrane de transfert microporeuse dont les pores ont un diamètre compris entre 0,01 et 0,05 μm.
7. Procédé selon l'une des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que le fluide d'alimentation du CO_2 circule à l'extérieur des fibres creuses.
8. Procédé selon l'une des revendications 2 à 7, caractérisé en ce que le fluide de réception en CO_2 circule à l'intérieur des fibres creuses.
9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que la concentration de CO_2 dans le milieu de culture est d'au moins 1000 mg/L.

10. Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que la quantité de O_2 dans le réacteur est inférieure à 35 g/m^3, préférentiellement entre 8 g/m^3 et 33 g/m^3.
11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que la concentration en CO_2 dans le milieu de culture est régulée de manière à apporter la quantité nécessaire et suffisante à la culture des microorganismes, l'ensemble du CO_2 étant consommé sans déperdition dans l'atmosphère.
12. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que les seuls échanges gazeux entre le réacteur et l'environnement extérieur se font par le contacteur membranaire.
13. Procédé selon l'une des revendications 1 à 12, caractérisé en ce que les microorganismes sont des bactéries, des levures ou encore de protistes, en particulier des microalgues.
14. Procédé selon l'une des revendications 1 à 13, caractérisé en ce que les microorganismes sont des microalgues cultivées en mode autotrophe.
15. Utilisation d'un contacteur membranaire défini selon l'une des revendications 1 à 13 pour la régulation des flux de CO_2 et de O_2 dans un procédé de culture de microorganismes dans lequel le CO_2 est une source de carbone dans le milieu de culture.
16. Utilisation selon la revendication 15, caractérisé en ce que le procédé de culture comprend l'utilisation d'un réacteur biologique comprenant un milieu de culture.
17. Utilisation selon la revendication 15, caractérisé en ce que le contacteur membranaire est placé dans le réacteur biologique.
18. Dispositif de fermentation de microalgues comprenant un réacteur de fermentation, des moyens d'alimentation en CO_2, et le cas échéant des moyens d'éclairage, caractérisé en ce que les moyens d'alimentation en CO_2 comprennent un contacteur membranaire pour la régulation des flux de CO_2 et de O_2 par lequel le flux de CO_2 est dirigé vers le milieu de culture et le flux de O_2 est dirigé vers l'extérieur du milieu de culture.
19. Dispositif selon la revendication 18, caractérisé en ce que le contacteur membranaire est défini selon l'une des revendications 2 à 14.
20. Dispositif selon l'une des revendications 18 ou 19, caractérisé en ce que le contacteur membranaire est placé dans le réacteur de fermentation.