

INFLUENCE DES MÉTHODES DE RÉCOLTE DE LA MICROALGUE *Dunaliella salina* DUNADZ1 SUR QUELQUES PARAMÈTRES NUTRITIONNELS

YAICHE ACHOUR Hafsa^{1,2,*}, SAADI Sid Ahmed¹, DOUMANDJI Amel³, ATTAL Fella-Sara^{4,5}, BOURAS Nouredine^{1,6}, ZITOUNI Abdelghani¹

⁽¹⁾Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens (LBSM)

Ecole Normale Supérieure de Kouba, Alger, Algérie

⁽²⁾Ecole Supérieure des Sciences de l'Aliment et des Industries Agroalimentaires,
Beaulieu, El Harrach, Algérie

⁽³⁾Département Agro-alimentaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Université de Blida 1, Algérie

⁽⁴⁾Laboratoire de Technologie Alimentaire et Nutrition Humaine, Département de Technologie
Alimentaire, Ecole Nationale Supérieure Agronomique, Alger, Algérie

⁽⁵⁾Institut des Sciences et Techniques Appliquées, Université de Blida 1, Blida, Algérie

⁽⁶⁾Département de Biologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre
Université de Ghardaia, Algérie

*E-mail: hafsa_yah@hotmail.fr

(Received 04 February 2021 – Accepted 14 June 2021)

Résumé.- La microalgue *Dunaliella salina* représente une ressource prometteuse, notamment pour la production de β -carotène. Cependant, sa récolte est actuellement un obstacle compte à son exploitation à grande échelle, ce qui fait du choix de la méthode de récolte une étape primordiale et déterminante. Ce travail a pour objectif l'étude de l'efficacité de deux méthodes de récolte de la biomasse, la centrifugation et la floculation à différents pH et leurs effets sur la qualité nutritionnelle de la biomasse collectée. La récolte par centrifugation a été effectuée à six différentes rotations. Les valeurs de pH testées pour la récolte par floculation sont de 4; 6,5; 8,5; 10; 10,5; 11,5 et 12. L'effet de la méthode de récolte sur la qualité de la biomasse est estimé à travers le dosage des protéines et des carbohydrates ainsi que l'analyse du profil des acides gras qui est effectuée par Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG) après une transméthylation. Une récupération totale de la biomasse a été obtenue par floculation à un pH basique au-delà de 10,5. Tandis que pour la centrifugation le maximum de récupération était de $94,85 \pm 0,47\%$ à 2500 rpm pendant 10 min. Les teneurs les plus élevées en protéines et en carbohydrates ont été détectées dans la biomasse récoltée par centrifugation et qui sont de $54,51 \pm 0,27\%$ MS et $18,13 \pm 1,11\%$ MS, respectivement. Cependant, la biomasse récoltée par floculation présente un taux quatre fois plus faible en protéines ($13,39 \pm 0,13\%$ MS) et un taux six fois plus faible en carbohydrates ($3,02 \pm 0,22\%$ MS). Les teneurs en acides gras dans la biomasse récoltée par floculation ont aussi été affectées, certains ont même disparu. La méthode de récolte peut affecter la qualité nutritionnelle de la biomasse, il est donc nécessaire de choisir avec soin la méthode à adopter.

Mots clés: *Dunaliella salina*, biomasse, récolte, centrifugation, floculation, qualité nutritionnelle.

EFFECTS OF HARVESTING METHODS ON THE NUTRITIONAL PROFILE OF THE MICROALGAE *Dunaliella salina* DUNADZI

Abstract.- *The microalgae Dunaliella salina is a valuable resource, especially for β -carotene production. However, the biomass harvesting is currently an obstacle for its large-scale exploitation, which makes the choice of the harvesting method an essential and decisive step. The aim of this work is to study the efficiency of two harvesting methods, centrifugation and flocculation at different pH and their effects on the nutritional quality of the harvested biomass. For the centrifugation six rotations were tested. The pH values tested for flocculation were 4; 6.5; 8.5; 10; 10.5; 11.5 and 12. The effect of the harvesting method on the biomass quality is estimated by the determination of proteins, carbohydrates and fatty acids profile which is carried out by Gas Chromatography (GC) after transmethylation. Total biomass recovery was obtained by flocculation at a basic pH above 10.5. While a maximum recovery of $94.85 \pm 0.47\%$ at 2500 rpm for 10 min was obtained for centrifugation. The highest proteins and carbohydrates amounts were detected in the biomass harvested by centrifugation, $54.51 \pm 0.27\%$ DM and $18.13 \pm 1.11\%$ DM, respectively. However, the biomass harvested by flocculation has a protein amount four times lower ($13.39 \pm 0.13\%$ DM) and for the carbohydrates content six times lower ($3.02 \pm 0.22\%$ DM). The fatty acid contents in the biomass harvested by flocculation were also affected, some have even disappeared. The harvesting method can affect the nutritional quality of the biomass, so it is necessary to choose carefully the method to be adopted.*

Key words: *Dunaliella salina, biomass, harvesting, centrifugation, flocculation, nutritional quality.*

Introduction

Les microalgues sont des microorganismes eucaryotes, unicellulaires et photosynthétiques. Elles sont très diversifiées et sont représentées par plusieurs milliers d'espèces potentiellement utilisables dans divers domaines [1]. Leur diversité ouvre de nombreuses possibilités de valorisation. En revanche, il n'y a qu'une dizaine d'espèces qui sont cultivées à l'échelle industrielle, avec une prédominance de *Chlorella* et *Dunaliella*, ainsi que de la spiruline, cyanobactérie classée autrefois parmi les *Cyanophyceae* ou algues bleues [2].

Dunaliella salina est une microalgue verte halophile, appartenant à l'ordre des *Chlamydomonadales* et à la famille des *Dunaliellaceae*. Elle est retrouvée dans plusieurs écosystèmes, principalement les eaux salines [3]. La principale caractéristique morphologique chez le genre *Dunaliella* est l'absence de paroi cellulaire. Cependant, les cellules sont entourées d'une enveloppe fine de nature glycoprotéique [4]. *Dunaliella salina* est considérée comme la source naturelle la plus riche en pigments caroténoïdes, notamment le β -carotène [5]. Dans des conditions de stress, *D. salina* produit des teneurs élevées en β -carotène, pouvant atteindre jusqu'à 10% de son poids sec [6]. Chez *D. salina*, différents facteurs de stress peuvent déclencher la caroténogénèse, tels qu'une forte salinité, une forte intensité lumineuse, une déficience en nutriments, etc. [7-9].

Le choix de la méthode de récolte des microalgues dépend de l'espèce étudiée, de la taille cellulaire, de la densité de la biomasse dans le milieu de culture et de la valeur du produit fini désiré (lipides, pigments, composés antioxydants, etc.) [10-13]. La qualité de la biomasse obtenue doit être prise en considération lors du choix de la méthode de récolte. Cette qualité ne doit pas être affectée, ni contenir des éléments toxiques [14,15].

Le coût de la récolte de biomasse représente 20 à 30% du coût total de la production [16, 17]. La quantité de biomasse dans la culture est faible (inférieur à 1 g/l), ce qui rend le processus de récupération de cette biomasse assez coûteux, d'où la nécessité de développer une méthode efficace et moins cher.

La culture de *D. salina* est une culture diluée (~ 0,5 g/l), sa densité est variable selon les conditions de culture, elle se situe autour de 1,1. En effet, ces conditions empêchent la décantation rapide des cellules. Tous ces paramètres rendent la récolte de *D. salina* l'un des principaux obstacles au développement de sa production, notamment pour les marchés de produits à faible valeur ajoutée, d'où la nécessité au recours à des méthodes de récolte adaptées [18].

La centrifugation est une méthode très utilisée pour la récolte de la biomasse de toutes les espèces de microalgues. Elle présente l'avantage d'être applicable même pour les microalgues dont la taille cellulaire est petite (3 - 30 μm) [19,20]. En comparaison avec d'autres méthodes de récolte, la centrifugation offre plusieurs avantages: le taux de biomasse récupéré est élevé, la biomasse obtenue est exempte de résidus de produits chimiques et/ou de produits toxiques (cas de la floculation en utilisant des produits chimiques) et la composition des cellules n'est pas altérée [21].

En revanche, la floculation est un procédé dans lequel les particules en solution se rejoignent afin de former des agrégats appelés «flocs» [12]. La floculation a été proposée par plusieurs auteurs comme étant une technique efficace pour la récolte des microalgues. Elle peut être utilisée à grande échelle et peut être appliquée sur plusieurs espèces de microalgues [22,23].

Dans cette étude l'efficacité de deux méthodes de récolte de la biomasse, la centrifugation et la floculation à différents pH, a été évaluée de point de vue récupération de biomasse ainsi que l'effet sur la qualité nutritionnelle de la biomasse récoltée.

1.- Matériel et méthodes

1.1.- Souche de microalgue et conditions de culture

La souche de *D. salina* DunaDZ1 utilisée lors de cette étude a été isolée des eaux du Zahrez Chergui (wilaya de Djelfa, Algérie) et elle a été identifiée à travers la taxonomie classique et moléculaire [24]. La mise à l'échelle est réalisée en multipliant le volume des cultures par un facteur de 4 à 5 à chacune des étapes en passant d'un volume de 50 à 250 ml, puis à 1 L, et en dernier, à 20 L (fig. 1). Toutes les cultures sont incubées devant une source lumineuse d'intensité $120 \mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ et à une température avoisinant les 22°C . Le milieu de culture utilisé dans cette étude est le milieu f/2 avec ajustement de la salinité à 1 M.

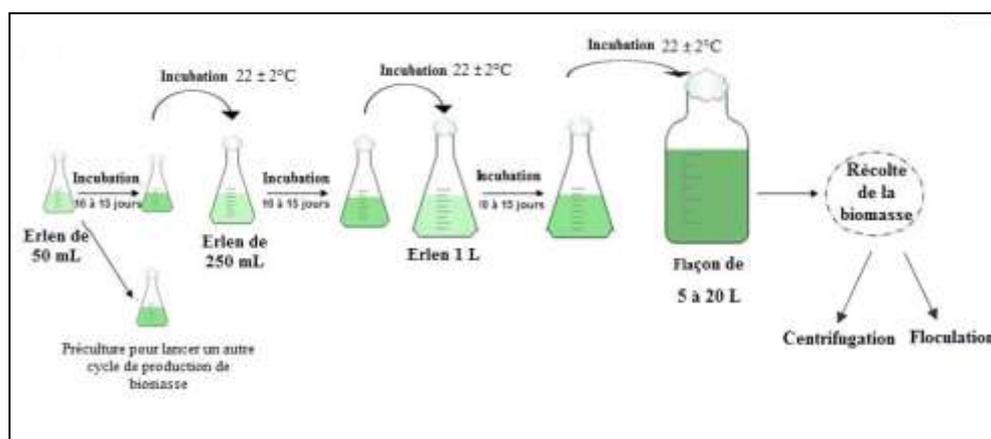


Figure1.- Mise à l'échelle de la culture de la souche *D. salina*

1.2.- Récolte de la biomasse

Deux méthodes de récolte de la biomasse de la souche Duna DZ1 ont été testées, par centrifugation et par floculation en ajustant le pH de la culture. Le volume de la culture utilisé dans cette partie est de 50 ml pour chaque expérience.

1.3.- Par centrifugation

Les tests de récolte par centrifugation ont été menés en faisant varier deux paramètres, à savoir, le nombre de tours par minute (rpm) et le temps. Six vitesses ont été testées: 500, 600, 1000, 1200, 2000 et 2500 rpm et cela pendant 3, 5 et 10 min. Les expériences ont été menées en duplicata. La centrifugeuse utilisée est réfrigérée à 4°C. L'absorbance à 680 nm est mesurée sur la culture initiale, avant de commencer les tests de récupération par centrifugation, puis sur le surnageant après chaque test. Les meilleures conditions de récolte par centrifugation ont été retenues pour des analyses ultérieures.

1.4.- Par floculation

Cette partie consiste en la modification du pH de la culture afin de déterminer le pH optimal de la récolte de la souche *D. salina* DunaDZ1. Le pH de la suspension microalgale a été ajusté par l'ajout d'une solution d'acide sulfurique (H_2SO_4) 1 M pour les pH acides, ou par l'ajout d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1 M pour les pH basiques. Les valeurs de pH testées lors de cette expérience sont: 4; 6,5; 8,5; 10; 10,5; 11,5 et 12. Un volume précis de la culture a été mis dans des béchers, puis le pH est ajusté sous une agitation continue à l'aide d'un agitateur magnétique. Une fois que le pH voulu est atteint, une agitation vigoureuse est appliquée à 1000 rpm pendant 5 min, suivie d'une agitation faible de 100 rpm durant 2 min. Lorsque l'agitation est interrompue, le floc commence à décanter. Afin d'évaluer l'effet de différents pH sur la récolte de la souche DunaDZ1, la densité optique à 680 nm du surnageant a été mesurée à différents intervalles de temps: 10; 20; 35; 55; 95 et 140 min. Après avoir sélectionné le meilleur pH de récolte, la biomasse obtenue à partir de ce traitement a été retenue pour la suite des analyses.

1.5.- Efficacité de récupération

Après chaque méthode de récolte, l'efficacité (E) de récupération ou de floculation est évaluée en mesurant la densité optique à 680 nm de la culture initiale, et celle du surnageant après traitement. Cette efficacité est calculée par la formule suivante [22]:

$$E \% = (1 - A/B) \times 100 \dots \dots \dots (1)$$

Avec:

A: densité optique à 680 nm du surnageant après traitement.

B: densité optique à 680 nm de la culture initiale avant traitement.

Toutes les biomasses obtenues par différents traitements de récolte ont été lyophilisées dans un lyophilisateur (Chaist) puis conservées à -20°C jusqu'à l'analyse.

1.6.- Analyses des protéines et des carbohydrates

La méthode employée lors du dosage des protéines est la méthode colorimétrique de LOWRY *et al.* (1951) [25]. Une quantité de 5 mg de biomasse lyophilisée est additionnée de 200 µL d'acide trichloroacétique (TCA) à 24%. Le mélange est placé dans un bain Marie à 95°C pendant 15 min. Après refroidissement, 600 µL d'eau distillée sont ajoutées. Par la suite, le mélange est centrifugé à 1500 rpm pendant 20 min. Le surnageant est écarté et le culot est resuspendu dans 0,5 ml de réactif de Lowry. Ce mélange est incubé à 55°C pendant 4 h, puis centrifugé de nouveau à 1500 rpm pendant 20 min. Le surnageant peut être conservé à -20°C jusqu'à l'analyse. Au moment de l'analyse, 100 µl de surnageant sont mis en réaction, dans des tubes Eppendorfs avec 950 µL de réactif de Lowry, puis sont mélangés par inversion. Après un repos de 10 min à température ambiante, 0,1 ml de réactif de Folin ciocalteu est ajouté. Le mélange est vortexé immédiatement. Après 30 min, l'absorbance est lue à 660 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible (Jenway 6705). Les teneurs des biomasses en protéines sont déterminées en se référant à une gamme étalon de 0 à 300 µg/ml, préparée à partir d'une solution mère de sérum albumine bovine à 2,5 mg/ml.

La méthode de dosage des carbohydrates utilisée est celle de DUBOIS (1956) [26]. C'est une méthode colorimétrique qui permet la détermination des glucides totaux. Les liaisons glycosidiques des polysaccharides sont hydrolysées à chaud en présence d'acide sulfurique. Les monosaccharides obtenus sont déshydratés pour former du furfural à partir des pentoses ou hydroxyméthylfurfural à partir des hexoses, lesquels interagissent avec du phénol par condensation pour former des composés de coloration orange-jaune qui absorbent à 490 nm.

1.7.- Extraction des lipides et dosage des acides gras par chromatographie en phase gazeuse (CPG)

L'extraction des lipides est effectuée en utilisant la méthode de BLIGH ET DYER (1959) [27]. L'analyse du profil des acides gras est effectuée par CPG après transméthylation. Une masse de lipide d'environ 50 mg est mise en réaction avec 1 ml de H₂SO₄ 6% dans du méthanol. Le mélange est soniqué (sonificateur Transsonic T700) à température ambiante pendant 60 min. Après évaporation du méthanol, les méthylesters sont resuspendus dans 1 ml de chloroforme. L'échantillon est ainsi prêt pour être analysé par CPG.

Les acides gras méthylesters sont identifiés par une chromatographie en phase gazeuse de type Chrompack CP9002, équipée d'une colonne capillaire DB23 (50% cyanopropyl), 30 m × 0,32 mm × 0,25 µm. L'injection de 3 µl de l'échantillon a été faite avec le mode split. La température de l'injecteur est de 250°C, et le gaz vecteur utilisé est l'azote. La température du four est maintenue à 70°C pendant 2 min, puis augmentée progressivement à 220°C avec une marge de 4°C/min. Cette température est maintenue pendant 10 min.

2.- Résultats et discussion

2.1.- Récolte de la biomasse de *D. salina* DunaDZ1 par centrifugation

La centrifugation est une méthode très utilisée pour la récolte de la biomasse de toutes les espèces de microalgues [19, 20].

La séparation de la biomasse du milieu de culture est évaluée par le calcul de l'efficacité de la récupération qui est exprimée en pourcentage. Les résultats sont illustrés dans la figure 2. L'efficacité de la récupération augmente avec l'augmentation du nombre de rotation et du temps. Un maximum de récupération de $94,85 \pm 0,47\%$ a été enregistré pour un nombre de tours de 2500 rpm pendant 10 min. La plus faible récupération est de $74,37 \pm 0,74\%$, obtenue par la rotation la plus faible (500 rpm) et la durée la plus courte, de 3 min. Ces résultats sont comparables à ceux de HEASMAN *et al.* (2000) [28]. Il est constaté qu'à des nombres de rotations élevés (supérieurs à 2500 rpm) l'intégrité de la souche est touchée et la plupart de ses cellules ont éclaté.

HEASMAN et DIEMAR (2000) [28] ont évalué la récolte par centrifugation de 9 espèces de microalgues. Ils ont enregistré une récupération de biomasse de 60 et de 100% pour des rotations de 1300 et 13000 rpm, respectivement. A une récupération de 100% de biomasse, le taux de viabilité des cellules était de 88,92%, pour deux espèces de microalgues, *Pavlova lutheri* et *Isochrysis* sp. Les résultats obtenus par centrifugation sont aussi dépendants des espèces de microalgues à récupérer. Il n'existe pas une méthode de récolte universelle qui pourrait être appliquée pour toutes les souches de microalgues, en donnant les mêmes résultats [17].

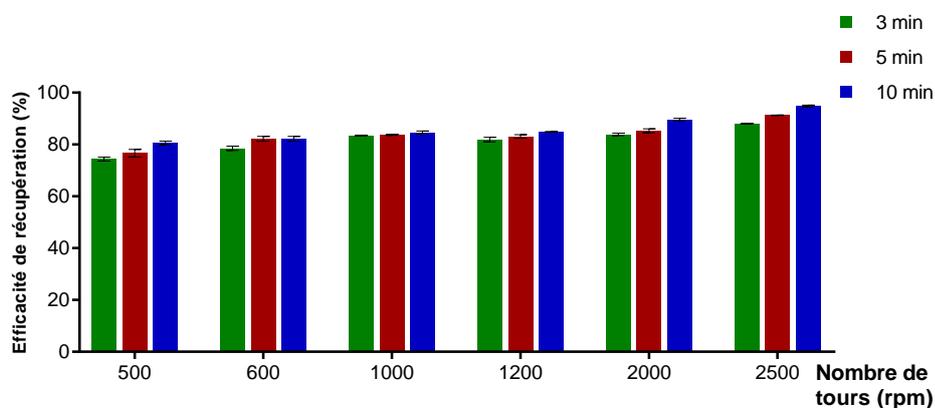


Figure 2.- Efficacité de la récupération de la biomasse par centrifugation.

2.2.- Récolte de la biomasse de *D. salina* DunaDZ1 par floculation

La floculation en fonction du pH est une méthode peu coûteuse pour la récolte de la biomasse des microalgues. Il est de ce fait intéressant d'évaluer l'efficacité de cette méthode. Des pH acides (4 et 6,5) et basiques (8,5; 10; 10,5; 11,5 et 12) ont été testés sur la biomasse de *D. salina* DunaDZ1. Une récupération de 100% de biomasse a été obtenue à des pH basiques (10,5; 11,5 et 12). En revanche, à des pH acides l'efficacité atteinte est de $63,65 \pm 0,24$ et $68,3 \pm 0,38\%$, pour des pH de 4 et 6,5, respectivement. A un pH de 10, l'efficacité de récupération est de $86,79 \pm 0,56\%$. A pH 10,5 la récupération totale de la biomasse est atteinte au bout de 35 min seulement, comparativement aux pH 11,5 et 12 (55 min). Il est constaté à partir de ces résultats que les pH basiques sont plus efficaces pour la floculation que les pH acides (fig. 3).

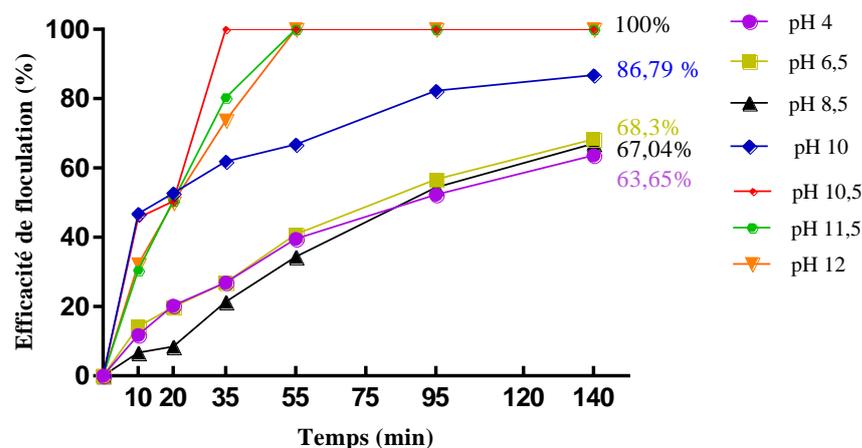


Figure 3.- Efficacité de floculation en fonction du pH et du temps de la biomasse de la souche *D. salina* DunaDZ1.

La floculation est obtenue en fonction du pH, mais aussi de la densité des cellules et de la concentration des ions Mg^{2+} dans le milieu de culture [29]. La floculation de la biomasse est achevée quand des pH basiques sont appliqués. Dans l'eau naturelle, les microalgues sont chargées négativement, ce qui empêche les cellules de se joindre. Quand le NaOH est ajouté pour atteindre des pH basiques de 10, 11 ou 12, une quantité importante de charges positives est ajoutée dans le milieu provoquant ainsi une neutralisation du milieu. La force de répulsion entre les cellules devient nulle, ce qui permet à ces dernières de former des agrégats appelés floc. Le floc ainsi formé précipite par la suite, après la précipitation des ions Mg^{2+} et Ca^{2+} qui se trouvent dans le milieu [30].

Une étude a été menée par Pirwitz *et al.* (2015) sur la floculation due au pH de la microalgue *Dunaliella salina* (CCAP19/18). Cette étude a abouti à un maximum de récupération à un pH de 12 [15]. PEREZ *ET AL.* (2017) ont enregistré une récupération totale de la biomasse à partir d'un pH de 11 pour la diatomée *Skeletonema costatum*, tandis que pour la diatomée *Chaetoceros gracilis*, une récupération de 100% a été enregistrée pour des pH supérieurs à 10,5 [30].

2.3.- Effet des méthodes de récolte sur la qualité nutritionnelle de la biomasse

La caractérisation de la biomasse obtenue en utilisant les conditions qui ont abouti à une meilleure récupération, par centrifugation (2500 rpm pendant 10 min) et par floculation (à pH 10,5) a été réalisée afin de détecter si la qualité nutritionnelle de la

biomasse a été affectée par ces techniques de récolte.

2.4.- Effet sur la quantité des protéines et des carbohydrates

La figure 4 montre les taux de protéines et de carbohydrates exprimés en pourcentage de matière sèche. La teneur la plus élevée en protéines qui est de $54,51 \pm 0,27\%$ de matière sèche (%MS) a été détectée dans la biomasse récoltée par centrifugation. Cependant, la biomasse récoltée par floculation présente un taux quatre fois plus faible par rapport à la biomasse récoltée par centrifugation, ce taux étant de $13,39 \pm 0,13\%$ MS.

Comme pour les protéines, la teneur en carbohydrates est aussi affectée par la floculation. Le taux de carbohydrates est de $3,02 \pm 0,22\%$ MS pour la biomasse récoltée par floculation et de $18,13 \pm 1,11\%$ MS pour la biomasse récoltée par centrifugation.

2.5.- Effet sur le profil des acides gras

Les résultats du profil des acides gras présents dans les biomasses collectées par centrifugation et par floculation sont illustrés dans le tableau I.

Les acides gras majoritaires dans le profil de la biomasse de la souche *D. salina* DunaDZ1 sont l'acide palmitique (C16:0) et l'acide caproïque (C6:0). La quantité de ces acides gras est meilleure dans la biomasse récoltée par centrifugation et il en est de même pour les autres acides gras. De ce fait, la biomasse récoltée par centrifugation comporte le taux le plus élevé en acides gras monoinsaturés (14,29%) par comparaison à celle obtenue par floculation à pH 10,5, qui est de 6,83%. Il en est de même pour les acides gras saturés (61,10% par centrifugation et 49,81% par floculation) (tableau I et figure 4). Un acide gras important, l'acide gadoléique (C20:1), n'a pas été détecté dans la biomasse récoltée par floculation. Toutes les teneurs en acides gras monoinsaturés sont significativement plus élevées dans la biomasse récoltée par centrifugation. En revanche, les teneurs en acides gras polyinsaturés n'ont été presque pas influencées par la méthode de récolte.

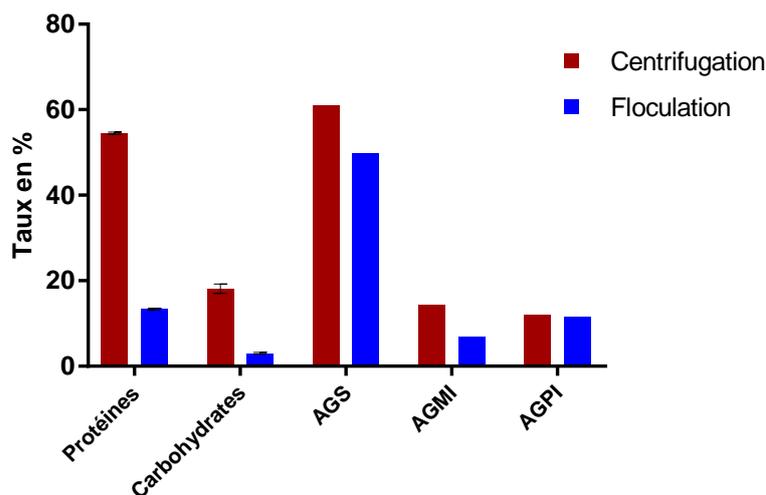


Figure 4.- Influence de la centrifugation et de la floculation sur la quantité de protéines, de carbohydrates et des acides gras de la souche DunaDZ1.
AGS: acides gras saturés; AGMI: acides gras monoinsaturés; AGPI: acides gras polyinsaturés.
Floculation: biomasse récoltée par floculation à pH 10,5.
Centrifugation: biomasse récoltée par centrifugation à 2500 rpm pendant 10 min.

Tableau I.- Profil des acides gras de la biomasse de la souche *D. salina* DunaDZ1 récoltée par centrifugation et par floculation

Acides gras	Récolte par centrifugation (%)	Récolte par floculation (%)
Acide caproïque C6:0	23,22	17,96
Acide caprique C10:0	0,63	0
Acide laurique C12:0	2,87	2,17
Acide myristique C14:0	2,13	1,9
Acide myristoléique C14:1	1,32	0,34
Acide palmitique C16:0	24,25	20,25
Acide palmitoléique C16:1 n-7	2,9	1,46
Acide stéarique C18:0	7,56	6,53
Acide oléique C18:1 n-9	5,51	2,73
Acide élaidique C18:1 Trans	3,3	2,3
Acide linoléique C 18:2 n-6	2,65	2,33
Acide linoléique C18:3 n-3	9,34	9,19
Acide arachidique C20:0	0,44	0
Acide gadoléique C20:1	1,26	0
Acides gras saturés (AGS)	61,10	49,81
Acides gras monoinsaturés (AGMI)	14,29	6,83
Acides gras polyinsaturés (AGPI)	11,99	11,52

En comparaison avec d'autres méthodes de récolte, la centrifugation offre plusieurs avantages: le taux de biomasse récupéré est élevé, la biomasse obtenue est exempte de résidus de produits chimiques et/ou de produits toxiques et la composition des cellules n'est pas altérée [21].

La qualité de la biomasse obtenue doit être prise en considération lors du choix de la méthode de récolte. Cette qualité ne doit pas être affectée, ni contenir des éléments toxiques. En revanche, dans l'étude, les taux de protéines et de carbohydrates ont été largement affectés par la floculation. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que le NaOH interagit avec les cellules de la souche DunaDZ1 en se liant à la membrane cellulaire formant ainsi une couche, ce qui rend difficile la pénétration des solvants d'extraction à l'intérieur de la cellule, d'où l'obtention de taux assez faible de protéines et de carbohydrates [14, 15].

Les taux d'acides gras dans la biomasse récoltée par floculation ont aussi été affectés, ce qui montre que l'usage du NaOH n'est pas adéquat. Borges *et al.* (2016) ont réalisé une étude sur la floculation de la biomasse de la microalgue marine *Nannochloropsis oculata* en calibrant le pH par l'ajout du NaOH. Ces auteurs ont montré que certains acides gras importants, tels l'acide eicosapentaénoïque (C 20:5) et l'acide eicosatetraénoïque (C 20:4), ont disparu de la biomasse récoltée par floculation. Ils ont également montré que les taux de lipides sont largement affectés par l'ajout du NaOH, avec des teneurs dix fois moindres que le témoin (biomasse récupérée par centrifugation) [31].

Conclusion

Une étude sur l'efficacité de deux méthodes de récoltes a permis de retenir la centrifugation comme étant la meilleure méthode de récupération de la biomasse de *D. salina* DunaDZ1. La méthode par floculation, par ajustement du pH, s'avère efficace du point de vue quantité récupérée, mais inefficace de point de vue qualité nutritionnelle de la biomasse récoltée. En effet, cette méthode affecte d'une manière très remarquable non seulement la quantité des protéines et des carbohydrates cellulaires, mais aussi le profil des acides gras.

Dédicace

Les remerciements vont à notre ancien directeur de laboratoire (Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens) le défunt Professeur Nasserline SABAOU (1956-2019), sans lui ce travail n'aurait pas vu le jour.

Références

- [1].- Lü J., Sheahan C., Fu P., 2011- Metabolic engineering of algae for fourth generation biofuels production. *Energy & Environmental Science*, 4: 2451-2466.
- [2].- Amor H. B., 2015- Etude et optimisation de bioaccumulation de Mg^{2+} dans les microalgues «*Chlorella vulgaris*». Thèse de doctorat en génie des procédés, Université Paris-Saclay, 216 p.
- [3].- Oren A., 2014- The ecology of *Dunaliella* in high-salt environments. *Journal of Biological Research*, 21, Pp 23.
- [4].- Borowitzka M., Siva C., 2007 - The taxonomy of the genus *Dunaliella* (*Chlorophyta*, *Dunaliellales*) with emphasis on the marine and halophilic species. *Journal of Applied Phycology*, 19: 567–590.
- [5].- Zhang J., Sun Z., Sun P., Chen T., Chen F., 2014 - Microalgal carotenoids: Beneficial effects and potential in human health. *Food Funct*, 5: 413-425.
- [6].- Ben-Amotz A., Polle J. r. E. W., Subba Rao D. V. 2009 - The alga *Dunaliella*: biodiversity, physiology, genomics and biotechnology, Place, xvii, 555 p.
- [7].- Pasqualetti M., Bernini R., Carletti L., Crisante F., Tempesta S., 2010 - Salinity and nitrate concentration on the growth and carotenoids accumulation in a strain of *Dunaliella salina* (*Chlorophyta*) cultivated under laboratory conditions. *Transitional Waters Bulletin*, 4: 94-104.
- [8].- Xu Y., Ibrahim I. M., Harvey P. J., 2016 - The influence of photoperiod and light intensity on the growth and photosynthesis of *Dunaliella salina* (*Chlorophyta*) CCAP 19/30. *Plant Physiology and Biochemistry*, 106: 305-315.
- [9].- Ismaiel M. M. S., El-Ayouty Y. M., Said A. A., Fathey H. A., 2018 - Transformation of *Dunaliella parva* with PSY gene: Carotenoids show enhanced antioxidant activity under polyethylene glycol and calcium treatments. *Biocatalysis and Agricultural*

Biotechnology, 16: 378-384.

- [10].- Rawat I., Kumar R. R., Mutanda T., Bux F., 2011 - Dual role of microalgae: phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied energy*, 88: 3411-3424.
- [11].- Misra R., Guldhe A., Singh P., Rawat I., Stenström T. A., Bux F., 2015 - Evaluation of operating conditions for sustainable harvesting of microalgal biomass applying electrochemical method using non sacrificial electrodes. *Bioresource Technology*, 176: 1-7.
- [12].- Uduman N., Qi Y., Danquah M. K., Forde G. M., Hoadley A., 2010 - Dewatering of microalgal cultures: a major bottleneck to algae-based fuels. *Journal of renewable and sustainable energy*, 2: 012701.
- [13].- Amaro H. M., Guedes A. C., Malcata F. X., 2011 - Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. *Applied energy*, 88: 3402-3410.
- [14].- Ríos S. D., Castañeda J., Torras C., Farriol X., Salvadó J., 2013 - Lipid extraction methods from microalgal biomass harvested by two different paths: screening studies toward biodiesel production. *Bioresource Technology*, 133: 378-388.
- [15].- Pirwitz K., Rihko-Struckmann L., Sundmacher K., 2015 - Comparison of flocculation methods for harvesting *Dunaliella*. *Bioresource Technology*, 196: 145-152.
- [16].- Dassey A. J., Theegala C. S., 2013 - Harvesting economics and strategies using centrifugation for cost effective separation of microalgae cells for biodiesel applications. *Bioresource Technology*, 128: 241-245.
- [17].- Barros A. I., Gonçalves A. L., Simões M., Pires J. C., 2015 - Harvesting techniques applied to microalgae: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41: 1489-1500.
- [18].- Besson A., Guiraud P., 2013 - High-pH-induced flocculation–flotation of the hypersaline microalga *Dunaliella salina*. *Bioresource Technology*, 147: 464-470.
- [19].- Gultom S., Hu B., 2013.- Review of microalgae harvesting via co-pelletization with filamentous fungus. *Energies*, 6: 5921-5939.
- [20].- Milledge J. J., Heaven S., 2013 - A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12: 165-178.
- [21].- Singh G., Patidar S., 2018 - Microalgae harvesting techniques: A review. *Journal of Environmental Management*, 217: 499-508.
- [22].- Ummalyma S. B., Mathew A. K., Pandey A., Sukumaran R. K., 2016 - Harvesting of microalgal biomass: Efficient method for flocculation through pH modulation. *Bioresource Technology*, 213: 216-221.

- [23].- Liu J., Zhu Y., Tao Y., Zhang Y., Li A., Li T., Sang M., Zhang C., 2013 - Freshwater microalgae harvested via flocculation induced by pH decrease. *Biotechnol Biofuels*, 6: 98-98.
- [24].- Yaiche Achour H., Doumandji A., Bouras N., Sabaou N., Assunção P., 2018 - Isolation, molecular identification and the carotenogenesis process of the microalgae *Dunaliella salina* strain DunaDZ1 isolated from an Algerian salt lake. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 19: 399-407.
- [25].- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J., 1951 - Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, 193: 265-275.
- [26].- Dubois M., Gilles K. A., Hamilton J. K., Rebers P. t., Smith F., 1956 - Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28: 350-356.
- [27].- Bligh E. G., Dyer W. J., 1959 - A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37: 911-917.
- [28].- Heasman M., Diemar J., O'connor W., Sushames T., Foulkes L., 2000 - Development of extended shelf-life microalgae concentrate diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs—a summary. *Aquaculture Research*, 31: 637-659.
- [29].- García-Pérez J. S., Beuckels A., Vandamme D., Depraetere O., Foubert I., Parra R., Muylaert K., 2014 - Influence of magnesium concentration, biomass concentration and pH on flocculation of *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, 3: 24-29.
- [30].- Pérez L., Salgueiro J. L., Maceiras R., Cancela Á., Sánchez Á., 2017 - An effective method for harvesting of marine microalgae: pH induced flocculation. *Biomass and Bioenergy*, 97: 20-26.
- [31].- Borges L., Caldas S., Montes D'Oca M. G., Abreu P. C., 2016 - Effect of harvesting processes on the lipid yield and fatty acid profile of the marine microalga *Nannochloropsis oculata*. *Aquaculture Reports*, 4: 164-168.