

MICRO-ORGANISMES PRODUCTEURS DE LIPIDES

Techniques conventionnelles et innovantes, et solvants alternatifs pour l'extraction des lipides de micro-organismes

Maryline Abert Vian, Céline Dejoye Tanzi et Farid Chemat^a

Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, INRA, UMR 408, GREEN Extraction Team, 84000 Avignon, France

Reçu le 24 juin 2013 – Accepté le 22 juillet 2013

Résumé – Cette revue propose un panorama complet des connaissances actuelles sur les microorganismes sources de lipides utilisés comme biocarburant. Elle fournit les éléments nécessaires à la compréhension de la culture des microorganismes (micro-algues, levures, bactéries et champignons) et de leur capacité à accumuler les lipides. Des techniques conventionnelles et innovantes ainsi que des solvants alternatifs pour extraire les lipides ont été détaillés.

Mots clés : Lipides / microorganismes / levures / champignons / bactéries / micro-algues / culture / extraction

Abstract – **Conventional and innovative techniques, and alternative solvents for extraction of lipids from microorganisms.** This review presents a complete picture of current knowledge on microorganisms as sources of lipids used as bio fuel. It provides the necessary background about the culture of the microorganisms (microalgae, yeast, bacteria, and fungi) and their ability to accumulate lipids. Conventional and innovative techniques and alternative solvents for extraction of lipids from microorganisms have been detailed. A special focus has been done for lipids from microalgae.

Keywords: Lipids / microorganisms / yeast / fungi / bacteria / microalgae / culture / extraction

Introduction

Les fluctuations rapides de prix du pétrole et des ressources de base ainsi que les changements climatiques de plus en plus associés aux émissions de gaz à effet serre (GES) ont stimulé le développement de sources d'énergies alternatives et renouvelables comme la biomasse, le solaire et l'éolien. Les principales alternatives au pétrole pour les transports sont liées à l'électricité, au gaz ou aux biocarburants. Les biocarburants issus des produits de l'agriculture suscitent de grandes attentes. Mais plusieurs facteurs les empêchent de répondre significativement aux besoins énergétiques du secteur stratégique des transports. Selon la demande actuelle, il serait impossible de subvenir aux besoins en carburants avec des sources agricoles sans provoquer d'importantes répercussions environnementales et sociales. Selon le National Research Council aux États-Unis (NRC), la production de biocarburants en Amérique du Nord et en Europe sera bientôt limitée par les besoins massifs et excessifs en terres agricoles. De plus, les rendements actuels des cultures conventionnelles ne permettent pas de produire assez de biocarburants pour remplacer significativement les carburants fossiles. Il faut noter que ces estimations sont basées sur des technologies et des niveaux de consommation en évolution. L'impact

environnemental des biocarburants conventionnels n'est pas aussi positif qu'escompté.

Face à cette situation, plusieurs alternatives ont été identifiées. L'utilisation des micro-organismes tels que les bactéries, les micro-algues, les champignons et les levures a été envisagée pour la production de lipides (Tab. 1). La première huile issue d'un micro-organisme (le champignon *Mucor circinelloides*) a été mise sur le marché en 1985 et était vendue pour sa forte teneur en acide γ -linoléinique, un acide gras polyinsaturé (C18:3n6), mais le procédé n'était pas économiquement viable. Désormais, les huiles produites par ces micro-organismes oléagineux sont considérées comme des ressources renouvelables, d'intérêt, et prometteuses pour la production de biodiesel. L'utilisation des micro-organismes pour la production de biodiesel présente plusieurs avantages. Elle dispose d'une importante productivité en biomasse et permet de s'affranchir de la contrainte du sol liée à l'utilisation de plantes de grandes cultures (colza, tournesol). Les procédés de production de biomasse dans des enceintes confinées et contrôlées permettent d'obtenir des cultures de micro-organismes plus performantes grâce à la combinaison d'approches de génie microbiologique et de génie génétique. En effet, la maîtrise des paramètres de culture obtenue par des approches d'ingénierie métabolique permet l'optimisation de la production de lipides en fermenteurs.

^a Correspondance : farid.chemat@univ-avignon.fr

Tableau 1. Les teneurs en lipides de différents micro-organismes.

Micro-organismes	Teneur en lipides (% poids sec)
Bactérie	
<i>Arthrobacter</i> AK 19	78
<i>Rhodococcus ruber</i>	19
<i>Nocardia corallina</i>	13
<i>Cyanobacteria</i> sp.	48
Champignons	
<i>Absidia corymbifera</i>	27
<i>Cunninghamella japonica</i>	60
<i>Entomophthora coronata</i>	43
<i>Aspergillus terreus</i>	57
Levures	
<i>Lipomyces starkeyi</i>	63
<i>Rhodotorula glutinis</i>	72
<i>Trichosporon pullulans</i>	65
<i>Penicillium spinulosum</i>	64
Micro-algues	
<i>Nannochloropsis oculata</i>	25
<i>Haematococcus pluvialis</i>	23
<i>Botryococcus braunii</i>	25
<i>Tetraselmis</i> sp.	14

1 Les micro-organismes sources de lipides

1.1 Les micro-algues

Depuis plusieurs années, de nombreuses espèces de micro-algues sont étudiées et testées dans le monde. Certaines présentent des rendements en biomasse prometteurs avec des teneurs particulièrement élevées en lipides. De plus, leurs rendements énergétiques à l'hectare sont plus de dix fois supérieures à ceux des meilleures cultures terrestres. La plus grande part du concept d'algocarburants repose sur la reproduction en mode accéléré du processus photosynthétique opéré par les micro-algues dans les mers. Les technologies qui exploitent ce concept ne nécessitent donc pas d'irrigation, pas de grandes quantités d'eau potable, pas de pesticides ou d'immenses surfaces de terres cultivables. De plus, ces technologies peuvent être appliquées à l'épuration d'eaux usées et à la captation du CO₂ industriel issu de centrales au charbon ou d'autres procédés.

1.2 Les Bactéries

Chez les bactéries, le taux en lipides est généralement assez faible, leurs teneurs peuvent varier de 20 à 40 % poids sec. Les principaux avantages des bactéries sont leur rapidité de développement ainsi que la simplicité de leur méthode de culture. En tant qu'alternative, les bactéries « oléagineuses » et plus particulièrement le groupe des actinomycètes peuvent être utilisées comme ressources renouvelables. Les bactéries appartenant à ce groupe sont capables de synthétiser de forts taux d'acides gras à partir d'une simple source de carbone comme le glucose sous conditions de cultures strictes et ainsi accumuler des lipides intracellulaires comme les triglycérides (Abu Yousuf *et al.*, 2012).

1.3 Les Levures

Chez les levures, l'accumulation de l'huile dans les corps lipidiques est dépendante des conditions de culture comme le ratio C/N, la source d'azote, la concentration en sels dans le milieu de culture. De plus, les souches utilisées peuvent être choisies en fonction de leur capacité naturelle à stocker les lipides. Les levures oléagineuses les plus connues sont *Candida*, *Cryptococcus*, *Rhodotorula*, *Rhizopus*, *Trichosporon* et *Yarrowia*. Ces espèces peuvent accumuler un taux en lipides de 40 % de leurs poids sec et en conditions de carence, elles sont capables de stocker plus de 70 % de lipides (Coelho *et al.*, 2010 ; Beopoulos *et al.*, 2011).

1.4 Les Champignons

Les champignons sont également considérés comme des micro-organismes favorables pour la production de lipides. Ils sont capables d'accumuler des triacylglycérols, riche en acides gras polyinsaturés ou ayant une structure spécifique. L'acide oléique (18:1) et linoléique (18:2) ainsi que l'acide palmitique (16:0) ou palmitoléique (C16: 1) sont le plus souvent les acides gras majoritaires retrouvés dans ce type de micro-organismes (Ravikumar *et al.*, 2012). Il existe également plusieurs espèces de champignons capables de stocker de forts taux de lipides ; par exemple le champignon filamentueux *Mortierella alliacea* accumule principalement de l'acide arachidonique sous forme de triglycérides dans son mycélium (Rossi *et al.*, 2011).

La recherche dans ce domaine ne cesse d'évoluer, cependant les micro-algues sont aujourd'hui les micro-organismes les plus étudiées pour une application en biocarburant. Elles font l'objet de nombreux projets en cours aussi bien à l'échelle nationale qu'internationale.

Nous détaillerons par la suite à titre d'exemple la culture, la récolte et l'extraction des lipides à partir de micro-algues. Parmi les microorganismes, les micro-algues sont les plus étudiés en recherche et développement aussi bien dans le recherche publique que dans le développement industriel, avec une grande maturité de compréhension des mécanismes pour la culture et l'extraction. Ces dix dernières années, un grand nombre d'articles et de brevets traitent de la culture et de l'extraction des micro-algues, qui vont être repris pour leur essentiel dans les travaux futures pour la culture et l'extraction des lipides à partir des autres microorganismes (levures et bactéries) qui sont très peu étudiés pour l'instant. L'extraction des microorganismes subit les mêmes problématiques mais aussi aura des solutions similaires.

2 Les micro-algues : des micro-organismes prometteurs

L'existence des micro-algues et plus précisément des cyanobactéries remonte à plus de trois milliards d'années. En utilisant l'énergie solaire, elles produisent de l'oxygène qui s'accumule lentement dans l'atmosphère primitive, riche en CO₂ et en méthane. L'enrichissement en oxygène de l'atmosphère primitive conduisit à la création de la couche d'ozone, qui protège la Terre des rayonnements solaires ultraviolets, et provoqua des modifications du climat et de la composition de la

Tableau 2. Productivité surfacique et teneur lipidique de différentes espèces de micro-algues (Griffiths and Harrison, 2009 ; Mata *et al.*, 2010).

	<i>Chlorella</i> <i>sp.</i>	<i>Spirulina</i> <i>platensis</i>	<i>Botryococcus</i> <i>braunii</i>	<i>Haematococcus</i> <i>pluvialis</i>	<i>Dunaliella</i> <i>salina</i>
Taux de croissance (g/m ² /jour)	1.61–25	1.5–51	3	10.2–36.4	1.6–38
Teneur lipidique (% matière sèche)	18–57	4–17	25–75	25	6–25

croûte terrestre. Ces changements ont ainsi permis une colonisation des continents par de nouvelles formes de vie animale et végétale.

La majorité des micro-algues sont dites photo-autotrophes ou autotrophes. Elles tirent leur énergie de la lumière par photosynthèse et leur principale source nutritive est le CO₂ en solution dans l'eau. Elles convertissent ainsi l'énergie lumineuse en lipides et en hydrates de carbone, des formes plus condensées et stables d'énergie. Certaines espèces de micro-algues peuvent accumuler, dans certaines conditions de culture, le carbone fixé, sous forme de lipides appelés triglycérides. Les lipides stockés constituent alors une réserve de carbone pour la micro-algue. En conditions normales, ces teneurs restent faibles, et les lipides sont principalement constitués de phospholipides et de glycolipides (constituants des membranes). Cependant certaines espèces sont capables d'accumuler jusqu'à 70 % de leur poids sec en lipides en laboratoire mais les concentrations lipidiques avoisinent le plus souvent 8 à 40 % (Hu *et al.*, 2008 ; Rodolfi *et al.*, 2009) (Tab. 2).

3 Les modes de cultures des micro-algues

La production de micro-algues est en forte augmentation à travers le monde. La production annuelle est estimée à 6 000 tonnes par an de matière sèche (Person *et al.*, 2011). La culture des micro-algues à grande échelle peut être conduite selon deux modes, soit à l'aide de bassins ouverts à haut rendement, le raceway ou dans une enceinte transparente fermée utilisant la lumière naturelle ou artificielle, le photo-bioréacteur.

3.1 Culture en milieu ouvert ou raceway

Les systèmes de culture en milieu ouvert (bassins, « raceways », cuves), sont des étangs de recirculation en boucle fermée avec une profondeur de quelques dizaines de centimètres, sont des technologies simples et présentant peu d'investissement initial (Fig. 1). Le mélange et la circulation du milieu sont possibles grâce à une roue à aube et un bullage permet un apport en CO₂. La température du milieu fluctue selon les cycles diurnes (nuit) et saisonniers. Toutefois peu d'espèces de micro-algues peuvent être cultivés en milieu ouvert de manière mono-spécifique. Pour toute culture en milieu ouvert la principale contrainte est le risque de contamination par d'autres espèces de micro-algues ou d'autres microorganismes comme des bactéries. Les rendements atteints avec ces systèmes ne



Fig. 1. Raceway - Université de Wageningen AlgaeParc (<http://www.sustainableguernsey.info>).

sont pas optimaux à cause de la difficulté à contrôler les facteurs environnementaux (hauteur de la lame d'eau, échauffement du bassin, phénomènes d'évaporation, etc.). La concentration en biomasse pour ce type de culture est généralement peu élevée car l'agitation du milieu est faible et des zones non agitées peuvent subsister.

3.2 Culture en milieu fermé ou photo-bioréacteur tubulaire (PBR)

Le photo-bioréacteur tubulaire est une association de plusieurs tubes transparents en plastique ou en verre. La source de lumière peut être naturelle ou artificielle. Ce milieu clos et hermétique évite les contaminations extérieures et permet la production de biomasse à large échelle (Pulz, 2001 ; Carvalho *et al.*, 2006). L'injection d'air permet de fournir du carbone sous forme de CO₂, de brasser le milieu et d'évacuer les poches d'oxygène toxique pour les micro-algues. Dans le cas de la lumière naturelle, l'arrangement des tubes se fait souvent du nord vers le sud pour assurer un ensoleillement maximal et parallèle ou horizontal pour que chaque tube puisse recevoir le même taux d'ensoleillement (Sánchez Mirón *et al.*, 1999). La lumière artificielle des PBR est techniquement réalisable mais elle représente un coût important comparé à la lumière naturelle. Le contrôle de la température est un élément important à prendre en compte pour les photo-bioréacteurs. Un système d'échangeur de chaleur est nécessaire pour refroidir le milieu de culture qui est recyclé. Les systèmes fermés permettent



Fig. 2. Photobioréacteur tubulaire – Université de Wageningen AlgaeParc (<http://www.sustainableguernsey.info>).

d'exploiter une gamme de micro-algues plus larges, d'atteindre de meilleurs rendements et de s'affranchir des problèmes de contaminations. Les coûts de production via cette méthode sont cependant beaucoup plus élevés qu'en bassin ouvert. Ce mode de culture est réservé aux micro-algues à hautes valeurs ajoutées (Fig. 2).

4 Les procédés d'extraction des lipides de micro-organismes

Le potentiel des micro-algues à visée biodiesel est maintenant bien établi. Cette voie suscite l'intérêt et l'espoir des chercheurs. La Figure 3 décrit le concept de production d'huile de micro-algues en vue d'obtenir du biodiesel. Ce procédé comporte une étape de production de biomasse micro-algale, de récolte, concentration, d'extraction des lipides puis transformation en biodiesel.

L'étape d'extraction demeure une étape critique dans la production de biocarburants pour lesquelles des efforts importants sont à apporter. Compte tenu de la taille des micro-algues, les techniques de pressage à froid, utilisées dans le domaine des oléagineux, sont inefficaces. D'autre part, le procédé d'extraction est affecté par la présence d'eau à tous les stades et toutes les échelles du procédé. Nous savons que l'eau et les lipides sont d'excellents candidats à la formation d'une émulsion. En outre, il a été prouvé que sécher la biomasse au niveau industriel n'est pas envisageable d'un point de vue énergétique et économique (Lardon *et al.*, 2009). Il est donc aujourd'hui primordial d'orienter les recherches vers l'utilisation de biomasse algale humide contenant 80 % d'eau dans les procédés d'extraction.

Aujourd'hui on recense de nombreuses méthodes d'extraction de la fraction lipidique de la biomasse algale. Ces techniques sont, cependant, davantage dédiées à l'échelle du laboratoire que dans un but de production industrielle ; elles servent tout de même de point de départ au développement d'un procédé d'extraction industriel.

Parmi ces techniques, il existe :

- l'extraction par solvant organique ;

- l'extraction en conditions élevées en pression et température ;
- l'extraction sub-critique.

4.1 L'extraction par solvant organique

Les lipides des micro-algues sont stockés au sein des cellules qui peuvent être protégées par une épaisse paroi. Leur extraction nécessite donc souvent une étape visant à rompre les parois cellulaires afin de les rendre accessibles aux solvants. Pour ce faire, il est possible d'utiliser des traitements très variés : le broyage, les ultrasons (Ehimen *et al.*, 2012 ; Kim *et al.*, 2013), les micro-ondes (Koberg *et al.*, 2011), les chocs osmotiques, les lyses enzymatiques, etc. (Yoo *et al.*, 2012 ; Cho *et al.*, 2013). Le choix de la technique d'éclatement dépend principalement des caractéristiques cellulaires et du taux de matière sèche de la « pâte » algale.

Les lipides sont généralement extraits par un solvant organique non miscible à l'eau tel que le n-hexane, le chloroforme, l'éther de pétrole, etc. ou d'un mélange de solvants sur la base de la méthode développée par Bligh et Dyer (1959).

L'extraction peut également être optimisée par une intensification des conditions de température et de pression permettant ainsi d'augmenter le pouvoir de solvation du solvant mis en jeu (Walker *et al.*, 1999 ; Chen *et al.*, 2011).

Toutefois les procédures mettant en jeu des solvants organiques d'origine pétrolière ont des limites car elles nécessitent une biomasse sèche et, par ailleurs, ne sont pas toujours transposable à l'échelle industrielle du fait des volumes de solvant mis en jeu et de leur toxicité vis-à-vis de l'opérateur et de l'environnement. Actuellement, le n-hexane est utilisé industriellement pour extraire les lipides qu'ils soient d'origine végétale ou marine. Cependant, compte tenu des problèmes environnementaux et de santé publique qu'il pose, il est urgent d'explorer des alternatives à ces solvants d'origine pétrolière.

4.2 L'extraction en condition de haute température et haute pression

De façon générale, le mécanisme est le suivant : en condition de pression et de température élevées, les composés organiques deviennent miscibles avec le solvant. Puis, une seconde étape de diminution de la température et de la pression permet de séparer facilement le solvant et les produits extraits. Plusieurs techniques d'extraction se basant sur ce mécanisme existent :

- **À l'eau sub-critique** : cette technique, utilisant de l'eau juste en dessous de la température critique et à une pression suffisamment élevée pour rester à l'état liquide (Soto Ayala and Luque de Castro, 2001), a déjà été utilisée pour l'extraction sélective de composés de micro-algues (Herrero *et al.*, 2006). Les avantages de cette technique est l'utilisation de l'eau comme solvant, ce qui rend inutile l'étape de séchage et constitue un procédé propre. La durée d'extraction est courte, les produits extraits sont de haute qualité et les agents d'extraction sont de faibles coûts. Cependant la consommation énergétique n'est pas négligeable.

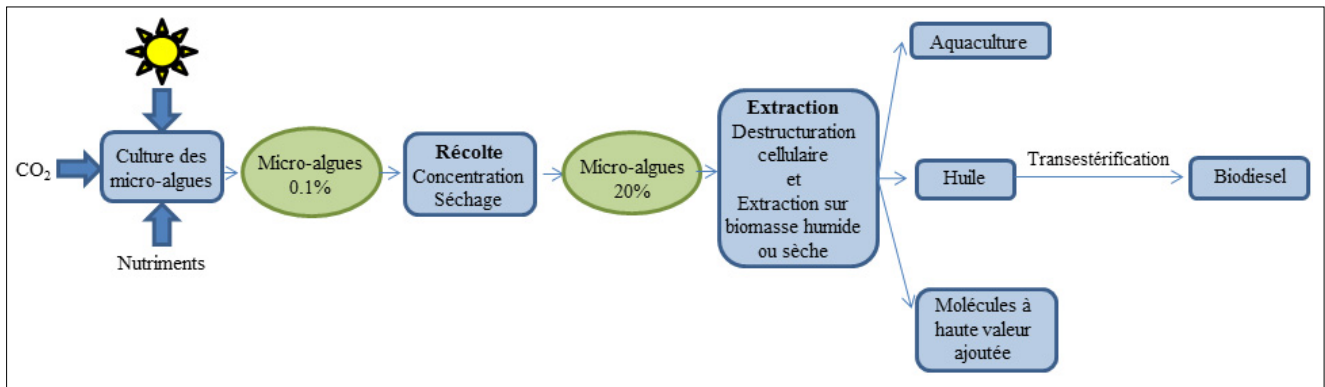


Fig. 3. Concept de production d'huile de micro-algues visant à obtenir du biodiesel.

- Aux fluides supercritiques** : ce procédé se base sur l'augmentation de la capacité de solvation des agents d'extraction au-dessus de leur point critique. L'un des principaux agents utilisés est le CO₂, mais l'on peut aussi citer l'éthane, l'eau, le méthanol... (Herrero *et al.*, 2006). Le CO₂ à l'état supercritique est le plus utilisé notamment pour ces conditions critiques facilement accessibles ($T_c = 31,1\text{ °C}$ et $P_c = 72,9\text{ atm}$). Par ailleurs, il est peu coûteux, non toxique, ininflammable et chimiquement inerte. La technologie au CO₂ supercritique apparaît comme adaptée à l'extraction de lipides à partir de micro-algues pour les raisons suivantes : (1) le pouvoir solvant à géométrie variable, (2) le transfert de matière favorisé et (3) l'obtention d'extrait sans résidus de solvant.

4.3 Procédé biocompatible

Il existe, par ailleurs, un procédé d'extraction de lipides de micro-algues humides biocompatible qui permet de garder les cellules vivantes lors de l'étape d'extraction. Dans ce cas, les algues sont mises en contact avec un solvant organique d'extraction, le décane, et on procède à une opération d'extraction liquide/liquide, suivie d'une séparation de phases. Les algues traitées sont ensuite remises en culture, avec dans certains cas des taux de survie proches de 100 %. Ce procédé est appelé le « milking » (Hejazi and Wijffels, 2004).

Conclusion

L'exploitation des ressources énergétiques fossiles est devenue problématique pour le maintien de l'équilibre environnemental mondial. Ainsi, les recherches de solutions alternatives durables efficaces se sont accélérées mais la majorité des solutions s'avèrent limitées sur les plans qualitatifs et quantitatifs. Les filières alternatives agroalimentaires et forestières, par exemple, ne peuvent fournir qu'une fraction de l'insatiable demande en biocarburants sans provoquer des famines, déstabiliser les sols ou menacer la biodiversité.

En regard de cette situation, le concept des micro-organismes et plus spécifiquement des micro-algues, longtemps maintenu à un niveau théorique par la simplicité et la

disponibilité des énergies fossiles, a émergé comme une solution alternative idéale. En effet, les micro-algues lipidiques possèdent un double atout. D'abord leur teneur en huile, qui peut aller jusqu'à 80 % de la matière sèche. Leur productivité peut atteindre des valeurs très élevées, entre 20 et 80 tonnes d'huile par hectare, contre deux à peine pour le colza ou le tournesol. Le deuxième avantage de ces micro-organismes est leur développement qui ne nécessite pas de terres arables ou de sources d'eau potable et peut aider à absorber le CO₂ issu de divers procédés tout en purifiant des eaux usées. Néanmoins, la production de biocarburant à partir de micro-algues devra, pour être viable, lever des verrous sur l'ensemble de la filière, de l'identification d'espèces d'intérêt, à l'extraction des lipides et des autres composés valorisables.

Références

- Abu Yousuf, M. Hoque, M. Asraful Jahan, D. Pirozzi. 2012. Technology and Engineering of Biodiesel Production: a Comparative Study between Microalgae and Other Non-Photosynthetic Oleaginous Microbes.
- Beopoulos A, Haddouche R, Kabran P, Dulermo T, Chardot T, Nicaud J-M. 2011. Identification and characterization of DGA2, an acyltransferase of the DGAT1 acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase family in the oleaginous yeast *Yarrowia lipolytica*. New insights into the storage lipid metabolism of oleaginous yeasts. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93: 1523–1537.
- Bligh EG, Dyer WJ. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Biochem. Cell Biol.* 37: 911–917.
- Carvalho AP, Meireles LA, Malcata FX. 2006. Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. *Biotechnol. Prog.* 22: 1490–1506.
- Chen M, Chen X, Liu T, Zhang, W. 2011. Subcritical Ethanol Extraction of Lipid from Wet Microalgae Paste of *Nannochloropsis* sp. *J. Biobased Mater. Bioenergy* 5: 385–389.
- Cho H-S, Oh Y-K, Park S-C, Lee J-W, Park J-Y. 2013. Effects of enzymatic hydrolysis on lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. *Renew. Energy* 54: 156–160.
- Coelho MaZ, Amaral PFF, Belo I. 2010. *Yarrowia lipolytica*: an industrial workhorse.
- Ehimen EA, Sun Z, Carrington GC. 2012. Use of Ultrasound and Co-Solvents to Improve the In-Situ Transesterification of Microalgae Biomass. *Procedia Environ. Sci.* 15: 47–55.

- Griffiths MJ, Harrison STL. 2009. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. *J. Appl. Phycol.* 21: 493–507.
- Hejazi MA, Wijffels RH. 2004. Milking of microalgae. *Trends Biotechnol.* 22: 189–194.
- Herrero M, Cifuentes A, Ibañez E. 2006. Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae: A review. *Food Chem.* 98: 136–148.
- Hu C-C, Lin J-T, Lu F-J, Chou F-P, Yang D-J. 2008. Determination of carotenoids in *Dunaliella salina* cultivated in Taiwan and antioxidant capacity of the algal carotenoid extract. *Food Chem.* 109: 439–446.
- Person J, Mathieu D, Sassi J-F, Lecurieux-Belfond L, Gandolfo R, Boyen C, Lépine O, Pruvost J, Potin P, Deslandes E, Chagvardieff P, Findeling A, Legrand J, Cadoret J-P, Bernard O. 2011. *Algues, filières du futur (Livre turquoise)*, Romainville: AdebioTech. ed. AdebioTech.
- Kim Y-H, Park S, Kim MH, *et al.* 2013. Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Chlorella vulgaris* using [Bmim][MeSO₄]. *Biomass Bioenergy* 56: 99–103.
- Koberg M, Cohen M, Ben-Amotz A, Gedanken A. 2011. Bio-diesel production directly from the microalgae biomass of *Nannochloropsis* by microwave and ultrasound radiation. *Bioresour. Technol.* 102: 4265–4269.
- Lardon L, Hélias A, Sialve B, Steyer J-P, Bernard O. 2009. Life-Cycle Assessment of Biodiesel Production from Microalgae. *Environ. Sci. Technol.* 43: 6475–6481.
- Mata TM, Martins AA, Caetano NS. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 14: 217–232.
- Pulz O. 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57: 287–293.
- Ravikumar K, Dakshayini J, Girisha S. 2012. Biodiesel Production from Oleaginous Fungi. *Int. J. Life Sci.* 6.
- Rodolfi L, Chini Zittelli G, Bassi N *et al.* 2009. Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.* 102: 100–112.
- Rossi M, Amaretti A, Raimondi S, Leonardi A. 2011. Getting Lipids for Biodiesel Production from Oleaginous Fungi. In: Stoytcheva M, ed. *Biodiesel – Feedstocks and processing technologies*. InTech.
- Sánchez Mirón A, Contreras Gómez A, Garcia Camacho F, Molina Grima E, Chisti Y. 1999. Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae. *J. Biotechnol.* 70: 249–270.
- Soto Ayala R, Luque de Castro M. 2001. Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible essential oils. *Food Chem.* 75: 109–113.
- Walker TH, Cochran HD, Hulbert GJ. 1999. Supercritical carbon dioxide extraction of lipids from *Pythium irregulare*. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 76, 595–602.
- Yoo G, Park W-K, Kim C-W, Choi Y-E, Yang J-W. 2012. Direct lipid extraction from wet *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using osmotic shock. *Bioresour. Technol.*

Cite this article as: Maryline Abert Vian, Céline Dejoye Tanzi, Farid Chemat. Techniques conventionnelles et innovantes, et solvants alternatifs pour l'extraction des lipides de micro-organismes. OCL 2013, 20(6) D607.