

## Les microalgues marines : source alternative d'acide eicosapentaénoïque (EPA) et d'acide docosahexaénoïque (DHA)

Oléagineux, Corps Gras, Lipides. Volume 11, Numéro 2, 118-22, MARS/AVRIL 2004, Sources

**Auteur(s)** : Gaëlle PENCREAC'H, Marie DEVOS, Laurent POISSON, Josiane HERAULT, Céline LOISEAU, Françoise ERGAN

*Laboratoire d'Applications des Lipases de l'Université du Maine, Institut Universitaire de Technologie de Laval, Département Génie Biologique, 52, rue des Drs Calmette et Guérin, BP 2045, 53020 Laval Cedex 9*

*Tél. : 02 43 59 49 62*

*Fax : 02 43 59 49 58*

*<gaille.pencreach@univ-lemans.fr>*

**Résumé** : Les lipides de microalgues marines sont riches en acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5) et en acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6), deux acides gras hautement insaturés de la série  $\omega$ 3 (AGHI- $\omega$ 3), et représentent aujourd'hui une source alternative potentielle face aux huiles de poissons. Les microalgues synthétisent de l'EPA et/ou du DHA dans des proportions relatives variables selon leur classe taxonomique. D'autre part, pour une même espèce, les teneurs en ces acides gras dépendent fortement des conditions de culture. De part leur métabolisme photoautotrophe, la production de biomasse microalgale à grande échelle nécessite la conception de bioréacteurs spécifiques, les photobioréacteurs, qui représentent encore aujourd'hui un défi technologique. La poursuite de travaux de recherche, dans des domaines très divers, reste nécessaire pour confirmer la viabilité économique des procédés industriels de production d'EPA et de DHA par les microalgues.

**Summary** : Lipids from marine microalgae contain high amounts of eicosapentaenoic acid (EPA, C20:5) and docosahexaenoic acid (DHA, C22:6), two nutritionally important  $\omega$ 3 highly unsaturated fatty acids (HUFA- $\omega$ 3), and are nowadays considered as a potential alternative source to fish oils. Microalgae display variable relative amounts of EPA and DHA depending on the taxonomic class they belong to. Moreover, a given strain may produce highly variable amounts of these fatty acids in response to modifications of culture conditions. Because microalgae are photoautotrophic microorganisms, specific bioreactors, namely photobioreactors, were developed to ensure large biomass production. Numerous research works are still to be carried out in order to confirm economic feasibility of industrial production of EPA and DHA from microalgae.

**Mots-clés** : microalgues, EPA, DHA

**Keywords** : microalgae, EPA, DHA

## ARTICLE

L'acide eicosapentaénoïque (EPA, C20:5  $\omega$ 3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA, C22:6  $\omega$ 3) sont deux acides gras hautement insaturés de la série  $\omega$ 3 (AGHI- $\omega$ 3) dont l'importance nutritionnelle est reconnue et qui présentent de fortes potentialités en terme d'applications thérapeutiques [1, 2]. Les huiles de poissons, issues de l'industrie de la pêche, sont actuellement la principale source commerciale de ces deux acides gras. Toutefois, alors que ces huiles trouvent de nouvelles applications (complément alimentaire en aquaculture, intégration dans les margarines), les ressources halieutiques marines se raréfient du fait d'une activité de pêche intensive. De nouvelles sources d'EPA et de DHA doivent donc être recherchées afin de répondre, dans le futur, à la demande croissante du marché de ces AGHI- $\omega$ 3.

Les AGHI- $\omega$ 3 contenus dans les lipides de poissons proviennent initialement des microalgues marines, ou phytoplancton, qui en sont les producteurs primaires au départ de la chaîne alimentaire. Les microalgues constituent donc aujourd'hui une alternative aux huiles de poissons comme source d'EPA et de DHA.

Outre leur capacité à synthétiser *de novo* ces acides gras, les microalgues offrent plusieurs avantages par rapport aux huiles de poissons. Elles sont cultivables *in vitro* dans des conditions contrôlées ce qui, d'une part, permet la production d'une biomasse de composition biochimique constante et, d'autre part, élimine les risques de pollution chimique de la biomasse. En outre, contrairement aux huiles de poissons, les lipides de microalgues ne contiennent pas ou peu de cholestérol et ne présentent pas d'odeur désagréable. Enfin, les lipides microalgaux ont un profil d'acides gras plus simple que celui des huiles de poissons, ce qui limite les étapes de séparation des acides gras d'intérêt.

### **Les microalgues d'intérêt**

Le terme « microalgues » décrit le vaste ensemble des microorganismes unicellulaires composant le phytoplancton, ensemble très hétérogène en terme de morphologie et de physiologie. Il regroupe des organismes eucaryotes mais également des bactéries photosynthétiques, appelées cyanobactéries.

Les microalgues se développent aussi bien dans les milieux aquatiques marins qu'en eaux douces ou saumâtres et au niveau de divers habitats terrestres. La majorité a un métabolisme photoautotrophique, synthétisant des composés organiques à partir du CO<sub>2</sub> atmosphérique et de l'énergie solaire. Certaines toutefois, comme *Cryptocodinium cohnii*, sont hétérotrophes, vivant au contact des sédiments en décomposition.

Leur rôle écologique est primordial : elles sont, d'une part, à la base de la chaîne alimentaire et d'autre part, elles participent dans une large mesure à la fixation du CO<sub>2</sub> et à la production de l'O<sub>2</sub> atmosphérique.

Les lipides des cyanobactéries [3] et des microalgues d'eau douce [4, 5], bien que riches en acide  $\alpha$ -linoléique (C18:3  $\omega$ 3), ne contiennent généralement pas d'EPA ni de DHA. *Monodus subterraneus*, une microalgue d'eau douce, fait cependant exception avec une forte proportion d'EPA parmi les acides gras totaux [6].

Ainsi, les principales microalgues d'intérêt comme sources potentielles d'EPA et de DHA sont issues du milieu marin. Parmi les centaines de milliers d'espèces de microalgues marines existantes, seul un faible nombre a été étudié et, parmi celles-ci, quelques-unes ont montré un intérêt comme sources potentielles d'EPA et de DHA, de par leur teneur élevée en ces deux acides gras et leur capacité à se développer *in vitro*. Elles sont disponibles commercialement auprès de différentes collections de cultures dont une liste a été publiée par Pulz *et al.* [7].

La classification taxonomique des algues eucaryotes contient 14 phylums [7]. Il existe des variations importantes dans la teneur en AGHI- $\omega$ 3 entre ces différentes classes de microalgues [8] suggérant que chaque classe possède ou non l'équipement enzymatique spécifique permettant la synthèse de ces acides gras à partir de l'acide  $\alpha$ -linoléique [3] (*figure 1*).

Parmi les microalgues productrices d'AGHI- $\omega$ 3, on peut distinguer celles synthétisant uniquement de l'EPA de celles synthétisant de l'EPA et du DHA, dans des proportions qui varient ensuite selon l'espèce et les conditions de culture. D'après Henderson [3] les microalgues ne produisant que de l'EPA seraient déficientes dans les activités élongase et désaturase de la voie de synthèse du DHA à partir de l'EPA (*figure 1*). Les Bacillariophytes (ou diatomées) constituent la famille de microalgues la plus vaste avec environ 100 000 espèces réparties en 250 genres. Elles prédominent souvent dans le phytoplancton marin. Leurs lipides sont caractérisés par une faible teneur en DHA, voire parfois une absence totale de cet acide gras, alors que les quantités d'EPA sont habituellement importantes [3, 8]. Une revue bibliographique récente concernant la production d'EPA par les microalgues a d'ailleurs souligné l'intérêt particulier des diatomées comme organismes producteurs [9]. Parmi 14 espèces présentées, une seule possède un faible taux d'EPA, les proportions pour les 13 autres variant de 6,8 à 34,5 % des acides gras totaux. Le DHA n'est pas détectable chez 9 espèces et les proportions varient de 0,3 à 3 % chez les 4 autres. Les espèces *Skeletonema costatum* et *Phaeodactylum tricoratum* présentent les plus fortes proportions d'EPA (34,5 et 29,2 %, respectivement) et une absence totale de DHA. Les Rhodophytes ainsi que les Eustigmatophytes produisent également des lipides riches en EPA et déficients en DHA. Les Rhodophytes sont des organismes en majorité macroscopiques. Seules quelques espèces sont unicellulaires. Parmi celles-ci *Porphyridium purpureum* (anciennement *cruentum*) [10-12] possède une forte potentialité pour la production d'EPA. Les espèces d'Eustigmatophytes d'intérêt sont *Monodus subterraneus*, une microalgue d'eau douce, avec environ 34 % d'EPA [6, 9] et quelques espèces des genres *Nannochloropsis* et *Nannochloris* avec 15 à 35 % d'EPA [4, 9, 13]. Les Chlorophytes ne synthétisent pas ou peu d'acides gras hautement insaturés à 20 et 22 atomes de carbone [14]. Toutefois, les lipides de *Chlorella minutissima* peuvent contenir jusqu'à 45 % d'EPA avec une déficience en DHA [6, 9]. Le DHA est l'acide gras caractéristique des lipides des Dinoflagellées [15], une vaste famille de microalgues comprenant 550 genres et 4 000 espèces. Yongmanitchai et Ward [4] ont rassemblé les données concernant 22 espèces. Les proportions de DHA varient entre 12 et 34 % des acides gras totaux. Il est à noter que, le plus souvent, l'EPA est également présent dans des proportions faibles (< 5 %) pour 14 souches mais jusqu'à 20 % pour d'autres. *Cryptocodinium cohnii*, une Dinoflagellée hétérotrophe, est particulièrement intéressante car elle contient jusqu'à 51 % de DHA alors que l'EPA est totalement absent [16].

L'exploitation industrielle de cette microalgue est développée par la société *Martek Biosciences Corporation* (Columbia, Etats-Unis). Elle commercialise le produit *Dhasco*<sup>®</sup>, composé de triglycérides riches en DHA issus de *Cryptocodinium cohnii*. Il est préconisé pour la supplémentation des laits

maternisés afin qu'ils constituent un apport en DHA dans l'alimentation du nourrisson au même titre que le lait maternel.

Plusieurs microalgues de la famille des Prymnesiophytes (ou Haptophytes) constituent également une source potentielle de DHA. L'EPA est également souvent présent, à des teneurs généralement plus élevées que chez les Dinoflagellées. *Isochrysis galbana* est l'espèce la plus étudiée du fait de son exploitation en aquaculture. Elle est en effet reconnue pour sa grande qualité nutritionnelle pour les espèces piscicoles, à laquelle contribue une teneur élevée en EPA et DHA. L'analyse de la littérature montre que les proportions relatives de ces deux AGHI- $\omega$ 3 sont très variables d'une étude à l'autre, probablement du fait des différences entre les souches et les conditions de culture utilisées. Selon les cas, le DHA est soit le seul AGHI- $\omega$ 3 produit [14, 17] soit il est majoritaire [18, 19] ou minoritaire [20-22] par rapport à l'EPA. De même que *Isochrysis galbana*, *Pavlova lutheri*, une autre espèce de Prymnesiophytes, produit de l'EPA et du DHA en quantité importante et en proportions relatives variables selon les études [6, 23]. Les principales espèces de microalgues d'intérêt pour la production d'EPA et/ou de DHA sont rassemblées dans le *tableau 1*.

**Tableau 1.** Principales espèces de microalgues d'intérêt pour la production d'EPA et de DHA.

Phylum	Espèces	AGHI- $\omega$ 3 produit	
		EPA	DHA
Bacillariophytes	<i>Skeletonema costatum</i> <i>Phaeodactylum tricornutum</i>	+	-
Rhodophytes	<i>Porphyridium purpureum</i>	+	-
Eustigmatophytes	<i>Monodus subterraneus</i> <i>Nannochloropsis oculata</i>	+	-
Chlorophytes	<i>Chlorella minutissima</i>	+	-
Dinoflagellées	<i>Cryptecodinium cohnii</i>	-	+
Prymnesiophytes	<i>Isochrysis galbana</i>	+	+
	<i>Pavlova lutheri</i>		

Les lipides de microalgues sont composés de lipides neutres et de lipides polaires (glycolipides et phospholipides) dans des proportions variables en fonction des conditions de culture. Les lipides polaires sont généralement plus riches en EPA et DHA que les lipides neutres qui contiennent principalement des acides gras saturés et monoinsaturés. *Cryptecodinium cohnii* fait exception avec des triglycérides très riches en DHA [3]. La répartition de l'EPA et du DHA au sein des lipides polaires varie selon l'espèce de microalgue considérée. Chez *Isochrysis galbana* [24] et plusieurs espèces de Dinoflagellées [15], le DHA est un acide gras majoritaire des phospholipides alors qu'il est en faible proportion dans les glycolipides. Inversement, l'EPA chez *Porphyridium purpureum* [25] et *Skeletonema costatum* [26] est plutôt présent dans les glycolipides.

## Optimisation des procédés pour la production d'EPA et de DHA par les microalgues

En laboratoire, les microalgues sont cultivées sur des milieux à base d'eau de mer complémentée par des micronutriments (vitamines, minéraux...) ou sur des milieux artificiels. Les cultures sont réalisées en flacons (*figure 2*) ou en bioréacteurs de faible capacité volumétrique avec un apport lumineux obtenu grâce à des tubes fluorescents situés à proximité. Dans ces conditions, l'influence de plusieurs paramètres de culture sur la production d'AGHI- $\omega$ 3 a été étudiée. En particulier, il a été montré que la proportion relative d'EPA et de DHA parmi les acides gras totaux varie en fonction de l'âge de la culture, avec des teneurs moins élevées dans les cellules les plus âgées. En culture en « batch », cela se traduit par une teneur en AGHI- $\omega$ 3 plus importante en phase exponentielle de croissance qu'en phase stationnaire. En culture continue, il a été montré que les lipides sont plus riches en AGHI- $\omega$ 3 aux taux de dilution les plus élevés [27, 28]. Ce phénomène s'explique par le fait que les cellules âgées (en fin de croissance lors d'une culture en batch ou à faible taux de dilution en continu) accumulent les lipides neutres, qui représentent une forme de stockage d'énergie, au détriment des lipides polaires. Ces derniers sont les principaux constituants des membranes chloroplastiques (glycolipides) et cellulaires (phospholipides), et leur synthèse est donc maximale en période de forte croissance et de forte activité photosynthétique. Or, comme nous l'avons vu précédemment, les AGHI- $\omega$ 3 sont le plus souvent associés aux lipides polaires des membranes dont ils assurent la fluidité. La température affecte également la production d'EPA et de DHA dans le sens d'une augmentation aux basses températures de culture. Ainsi la quantité d'EPA produite par cellule chez *Porphyridium purpureum* est six fois plus élevée à 8 °C qu'à 25 °C [12]. Toutefois, la croissance cellulaire à basse température peut être fortement ralentie, ce qui limite le rendement global en AGHI- $\omega$ 3, exprimé en masse d'acide gras par volume de culture. Pour tenir compte de ces deux phénomènes antagonistes, Jiang et Chen [29] ont tout d'abord cultivé *Cryptocodinium cohnii* à 25 °C pendant 48 h pour assurer une croissance maximale puis ont appliqué une baisse de température jusqu'à 15 °C pour augmenter la teneur en DHA en fin de croissance.

La composition du milieu de culture influence également de façon importante dans la teneur en EPA et DHA des microalgues. La teneur en DHA d'une même souche d'*Isochrysis galbana*, cultivée sur 8 milieux classiquement utilisés en laboratoire, peut varier du niveau de traces à 25 % des acides gras totaux [30]. Dans l'objectif d'une exploitation industrielle des microalgues comme source d'AGHI- $\omega$ 3, la production de biomasse doit pouvoir être réalisée en grande quantité et avec de fortes productivités. Le métabolisme photosynthétique des microalgues implique l'apport d'énergie lumineuse, ce qui a nécessité le développement de technologies spécifiques par rapport à celles traditionnellement employées pour la culture des microorganismes hétérotrophes. Le système le plus ancien est celui en bassins ouverts, inspirés des conditions naturelles de développement des microalgues. Ce sont des bassins de plusieurs milliers de m<sup>3</sup> situés soit en extérieur pour une utilisation de la lumière solaire soit en intérieur avec un éclairage artificiel. Si ces bassins ont un coût de construction faible et sont simples d'un point de vue technologique, ils présentent toutefois certains inconvénients [31]. Les densités cellulaires obtenues restent faibles et les coûts de récolte de la biomasse diluée se révèlent importants. D'autre part, les cultures en système ouvert sont sujettes à des contaminations par d'autres algues ou par des bactéries marines souvent indésirables. Le développement de photobioréacteurs fermés, autorisant un contrôle des paramètres de culture et des conditions axéniques, a fait l'objet de nombreux programmes de recherche [32, 33] mais constitue encore aujourd'hui un défi technologique [34]. L'une des principales difficultés rencontrées pour les photobioréacteurs de grandes dimensions est l'apport suffisant de lumière au niveau de

chaque cellule microalgale au sein de la culture. En effet, l'intensité de la lumière pénétrant dans une culture cellulaire décroît rapidement dès lors que l'on s'éloigne de la périphérie du réacteur. Ce phénomène est d'autant plus marqué que la densité cellulaire est forte. Ainsi, les cellules situées au centre du réacteur ne reçoivent plus suffisamment de lumière pour leur croissance. Pour résoudre ce problème, le bioréacteur doit présenter une grande surface spécifique de transfert de l'énergie lumineuse [34], c'est-à-dire un rapport surface/volume important. Cela a été obtenu en concevant des photobioréacteurs tubulaires ou plans, constitués, respectivement, de longs tubes ou de parallélépipèdes rectangles de faible épaisseur en plexiglas, dans lesquels circule la culture de microalgues. Les photobioréacteurs peuvent être solaires ou artificiels. Si la lumière solaire est moins coûteuse que la lumière artificielle, elle possède l'inconvénient d'être soumise à une forte variabilité d'intensité en fonction des heures de la journée, des saisons et des régions.

La biomasse obtenue en système fermé présente un coût de revient globalement supérieur à celle provenant de systèmes ouverts. Cependant, le potentiel de production de biomolécules à hautes valeurs ajoutées, telles que l'EPA et le DHA, à partir d'une biomasse parfaitement maîtrisée d'un point de vue quantitatif et qualitatif, peut justifier des coûts de revient élevés [31]. Une alternative actuellement étudiée à la culture en photobioréacteurs de microalgues est la culture hétérotrophique, c'est-à-dire en absence de lumière mais en présence d'un substrat organique comme source de carbone et d'énergie, ou en mixotrophie, c'est-à-dire en présence de ces deux éléments. Une revue récente fait le bilan de ces modes de culture pour la production d'EPA par les microalgues [9]. Bien que certaines microalgues parviennent à se développer en conditions hétérotrophiques, les croissances restent souvent faibles [6]. D'autre part, il apparaît que la teneur en AGHI- $\omega$ 3 dans ces conditions est supérieure ou inférieure par rapport aux cultures en photoautotrophie selon l'espèce de microalgue considérée [35]. Des rendements élevés en biomasse et en EPA ont toutefois été obtenus en mixotrophie avec la microalgue *Phaeodactylum tricoratum* [36], démontrant l'intérêt de ce type de culture dans certains cas.

Une autre voie de recherche pour améliorer les productivités en EPA et DHA des cultures de microalgues est l'obtention de microorganismes mieux adaptés aux exigences technologiques et économiques des procédés industriels. Plusieurs études ont été réalisées dans ce sens, empruntant des approches différentes. Pour obtenir une souche microalgale surproductrice d'EPA, Molina Grima *et al.* [37] ont développé un programme de sélection phénotypique. Par prélèvement puis sélection de cellules isolées d'*Isochrysis galbana* sur deux générations, une souche produisant deux fois plus d'EPA (en % de matière sèche) que la souche initiale a été obtenue. Takeyama *et al.* [38] ont appliqué le principe de l'ingénierie métabolique, c'est-à-dire la modification des voies métaboliques par génie génétique, pour obtenir une cyanobactérie productrice d'EPA. Ils ont en effet introduit le groupe de gènes nécessaire à la synthèse d'EPA provenant de la bactérie marine *Shewanella* sp. dans la cyanobactérie *Synechococcus* sp., qui naturellement ne produit pas cet acide gras. De même, l'introduction du gène codant pour un transporteur du glucose dans une souche de *Phaeodactylum tricoratum*, naturellement photoautotrophe obligatoire, a permis la culture de cette algue en hétérotrophie [39]. La connaissance précise des enzymes impliquées dans les voies de synthèse des acides gras hautement insaturés est nécessaire pour améliorer ce type d'approche. Ainsi, des études récentes, réalisées chez *Isochrysis galbana* et *Pavlova lutheri*, ont abouti à l'identification et la caractérisation d'une élongase [40] et d'une désaturase [41], respectivement.

## Conclusion

Aujourd'hui les microalgues sont reconnues comme représentant une source intéressante d'EPA et de DHA. Cependant, la viabilité économique des procédés à base de microalgues face au marché des huiles de poisson reste encore à préciser. En effet, les microalgues sont des microorganismes difficiles à cultiver à l'échelle industrielle ce qui entraîne un coût de production de la biomasse relativement élevé. L'optimisation des procédés de production de l'EPA et du DHA par les microalgues nécessite des améliorations aussi bien en ce qui concerne les souches d'intérêt que les procédés de culture. Malgré ces points faibles concernant les niveaux de production, la purification d'acides gras d'intérêt à partir de lipides microalgaux fait déjà l'objet de recherches [42, 43]. En particulier, des moyens d'obtenir des lipides enrichis en AGHI- $\omega$ 3 par traitement enzymatique à l'aide de lipases ou de phospholipases, sont à l'étude [17].

## RÉFÉRENCES

1. HORROCKS LA, YEO YK. Health benefits of docosahexaenoic (DHA). *Pharmacol Res* 1999 ; 40 : 211-25.
2. UAUY R, VALENZUELA A. Marine oils : The health benefits of n-3 fatty acids. *Nutrition* 2000 ; 16 : 680-4.
3. HENDERSON RJ. The production of n-3 polyunsaturated fatty acids in marine microorganisms. *Lipid Technol* 1999 ; 5-10.
4. YONGMANITCHAI W, WARD OP. Omega-3 fatty acids : alternative sources of production. *Proc Biochem* 1989 ; 24 : 117-25.
5. PIORRECK M, BAASCH KH, POHL P. Biomass production, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids of freshwater green and blue-green algae under different nitrogen regimes. *Phytochemistry* 1984 ; 23 : 207-16.
6. VAZHAPILLY R, CHEN F. Eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid production potential of microalgae and their heterotrophic growth. *J Am Oil Chem Soc* 1998 ; 75 : 393-7.
7. PULZ O, SCHEIBENBOGEN K, GROB W. Biotechnology with cyanobacteria and microalgae. In : *Biotechnology*, Vol. 10. H-J Rehm, G Reed, eds., Weinheim : Wiley-VCH 2001 ; 105-36.
8. BROWN MR. Nutritional value and use of microalgae in aquaculture. In : *Avances en Nutricion Acuicola VI Memorias del VI Simposium Internacional de Nutricion Acuicola*, 2002 ; Le Cruz-Suarez, D Ricque-Marie, M Tapia-Salazar, MG Gaxiola-Cortes, N Simoes, eds., 3-6 de septiembre del 2002. Cancun, Quinata Roo, Mexico.
9. WEN ZY, CHEN F. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnol Adv* 2003 ; 21 : 273-94.
10. REBOLLOSO FUENTES MM, ACIEN FERNANDEZ GG, SANCHEZ PEREZ JA, GUIL GUERRERO JL. Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*. *Food Chem* 2000 ; 70 : 345-53.

- 11.** SHIRAN D, KHOZIN I, HEIMER YM, COHEN Z. Biosynthesis of eicosapentaenoic acid in the red microalga *Porphyridium cruentum*. I : The use of externally supplied fatty acids. *Lipids* 1996 ; 31 : 1277-82.
- 12.** NUUTILA AM, AURA AM, KIESVAARA M, KAUPPINEN V. The effect of salinity, nitrate concentration, pH and temperature on eicosapentaenoic acid (EPA) production by the red unicellular alga *Porphyridium purpureum*. *J Biotechnol* 1997 ; 55 : 55-63.
- 13.** CHINI ZITTELLI G, LAVISTA F, BASTIANINI A, RODOLFI L, VINCENZINI M, TREDICI MR. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors. *J Biotechnol* 1999 ; 70 : 299-312.
- 14.** BROWN MR, JEFFREY SW, VOLKMAN JK, DUNSTAN GA. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 1997 ; 151 : 315-31.
- 15.** LEBLOND JD, CHAPMAN PJ. Lipid class distribution of highly unsaturated long chain fatty acids in marine dinoflagellates. *J Phycol* 2000 ; 36 : 1103-8.
- 16.** JIANG Y, CHEN F, LIANG SZ. Production potential of docosahexaenoic acid by the heterotrophic marine dinoflagellate *Cryptocodinium cohnii*. *Proc Biochem* 1999 ; 34 : 633-7.
- 17.** POISSON L, ERGAN F. Docosahexaenoic acid ethyl esters from *Isochrysis galbana*. *J Biotechnol* 2001 ; 91 : 75-81.
- 18.** RENAUD SM, THINH LV, LAMBRINIDIS G, PARRY DL. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* 2002 ; 211 : 195-214.
- 19.** PERNET F, TREMBLAY R, DEMERS E, ROUSSY M. Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis* sp. grown in a semicontinuous system. *Aquaculture* 2003 ; 221 : 393-406.
- 20.** FIDALGO JP, CID A, TORRES E, SUKENIK A, HERRERO C. Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*. *Aquaculture* 1998 ; 166 : 105-16.
- 21.** OTERO A, GARCIA D, MORALES ED, ARAN J, FABREGAS J. Manipulation of the biochemical composition of the eicosapentaenoic acid-rich microalga *Isochrysis galbana* in semicontinuous cultures. *Biotechnol Appl Biochem* 1997 ; 26 : 171-7.
- 22.** BANDARRA NM, PEREIRA PA, BATISTA I, VILELA MH. Fatty acids, sterols and  $\alpha$ -tocopherol in *Isochrysis galbana*. *J Food Lipids* 2003 ; 10 : 25-34.
- 23.** DUNSTAN GA, VOLKMAN JK, BARRETT SM, GARLAND CD. Changes in the lipid composition and maximisation of polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. *J Appl Phycol* 1993 ; 5 : 71-83.
- 24.** SUKENIK A, WAHNON R. Biochemical quality of marine unicellular algae with special emphasis on lipid composition. I. *Isochrysis galbana*. *Aquaculture* 1991 ; 97 : 61-72.



25. LOPEZ ALONSO D, BELARBI EH, RODRIGUEZ-RUIZ J, SEGURA CI. Acyl lipids of three microalgae. *Phytochemistry* 1998 ; 47 : 1473-81.
26. BERGÉ JP, GOUYGOU JP, DUBACQ JP, DURAND P. Reassessment of lipid composition of the diatom, *Skeletonema costatum*. *Phytochemistry* 1995 ; 39 : 1017-21.
27. SAOUDI-HELIS L, DUBACQ JP, MARTY Y, SAMAIN JF. Influence of growth rate on pigment and lipid composition of the microalga *Isochrysis* aff. *galbana* clone T.iso. *J Appl Phycol* 1994 ; 6 : 315-22.
28. MOLINA GRIMA E, SANCHEZ PEREZ JA, GARCIA CAMACHO F, FERNANDEZ SEVILLA JM, ACIEN FERNANDEZ FG. Effect of growth rate on the eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid content of *Isochrysis galbana* in chemostat culture. *Appl Microbiol Biotechnol* 1994 ; 41 : 23-7.
29. JIANG Y, CHEN F. Effects of temperature and temperature shift on docosahexaenoic acid production by the marine microalga *Crythecodinium cohnii*. *J Am Oil Chem Soc* 2000 ; 77 : 613-7.
30. SANCHEZ S, MARTINEZ M, ESPINOLA F. Biomass production and biochemical variability of the marine microalga *Isochrysis galbana* in relation to culture medium. *Biochem Eng J* 2000 ; 6 : 13-8.
31. MULLER-FEUGA A. *Microalgues marines : les enjeux de la recherche*, IFREMER, Plouzané, 1997.
32. MOLINA GRIMA E, FERNANDEZ J, ACIEN FERNANDEZ FG, CHISTI Y. Tubular photobioreactor design for algal cultures. *J Biotechnol* 2001 ; 92 : 113-31.
33. PULZ O. Photobioreactors : production systems for phototrophic microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* 2001 ; 57 : 287-93.
34. CORNET JF. Le technoscope : les photobioréacteurs. *Biofutur* 1998 ; 176 : 1-10.
35. TAN CK, JOHNS MR. Screening of diatoms for heterotrophic eicosapentaenoic acid production. *J Appl Phycol* 1996 ; 8 : 59-64.
36. CERON GARCIA MC, FERNANDEZ SEVILLA JM, ACIEN FERNANDEZ FG, MOLINA GRIMA E, GARCIA CAMACHO F. Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricornutum* on glycerol : growth rate and fatty acid profile. *J Appl Phycol* 2000 ; 12 : 239-48.
37. MOLINA GRIMA E, SANCHEZ PÉREZ JA, GARCIA CAMACHO F, ROBLES MEDINA A, GIMÉNEZ GIMÉNEZ A, LOPEZ ALONSO D. The production of polyunsaturated fatty acids by microalgae : from strain selection to product purification. *Proc Biochem* 1995 ; 30 : 711-9.
38. TAKEYAMA H, TAKEDA D, YAZAWA K, YAMADA A, MATSUNAGA T. Expression of the eicosapentaenoic acid synthesis gene cluster from *Shewanella* sp. in a transgenic marine cyanobacterium, *Synechococcus* sp. *Microbiology* 1997 ; 143 : 2725-31.
39. ZASLAVSKAIA LA, LIPPMEIER JC, SHIH C, EHRHARDT D, GROSSMAN AR, APT KE. Trophic conversion of an obligate photoautotrophic organism through metabolic engineering. *Science* 2001 ; 292 : 2073-5.

- 40.** QI B, BEAUDOIN F, FRASER T, STOBART AK, NAPIER JA, LAZARUS CM. Identification of a cDNA encoding a novel C18-D<sup>9</sup> polyunsaturated fatty acid-specific elongating activity from the docosahexaenoic acid (DHA)-producing microalga, *Isochrysis galbana*. *FEBS Lett* 2002 ; 510 : 159-65.
- 41.** TONON T, HARVEY D, LARSON TR, GRAHAM IA. Identification of a very long chain polyunsaturated fatty acid D<sup>4</sup>-desaturase from the microalga *Pavlova lutheri*. *FEBS Lett* 2003 ; 553 : 440-4.
- 42.** ROBLES MEDINA A, GIMENEZ GIMENEZ A, GARCIA CAMACHO F, SANCHEZ PEREZ JA, MOLINA GRIMA E, CONTRERAS GOMEZ A. Concentration and purification of stearidonic, eicosapentaenoic, and docosahexaenoic acids from cod liver oil and the marine microalga *Isochrysis galbana*. *J Am Oil Chem Soc* 1995 ; 72 : 575-83.
- 43.** COHEN Z, COHEN S. Preparation of eicosapentaenoic acid (EPA) concentrate from *Porphyridium cruentum*. *J Am Oil Chem Soc* 1991 ; 68 : 16-9.

## Illustrations

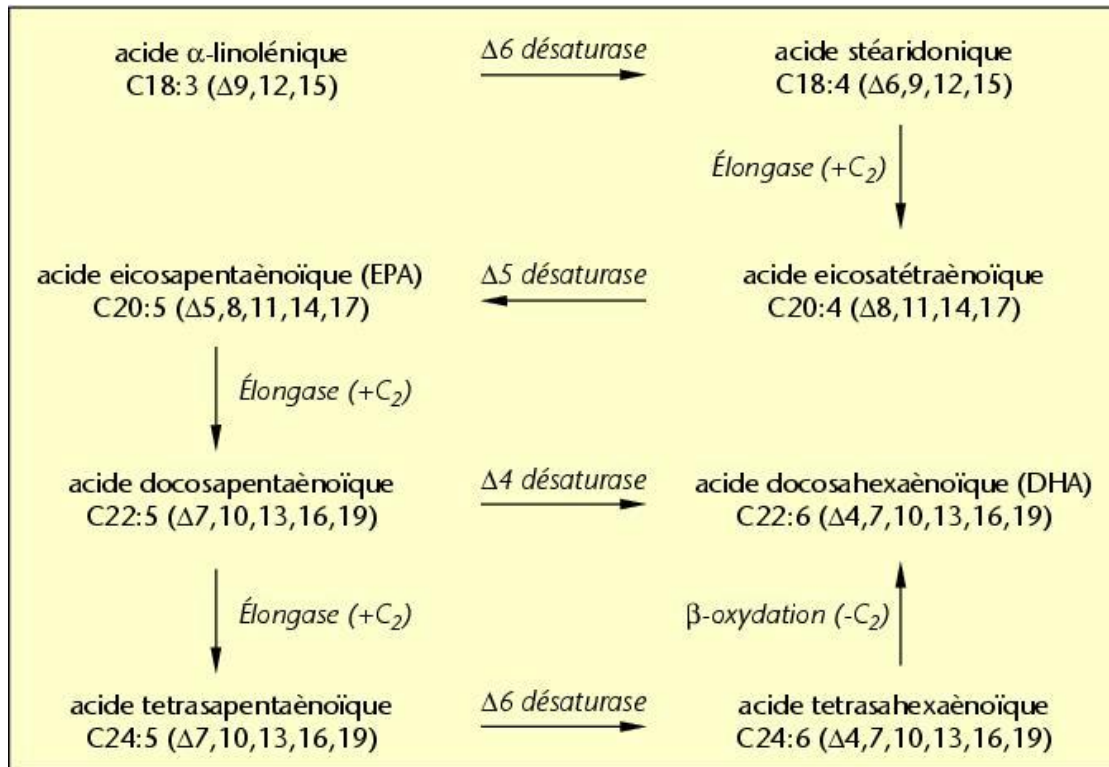


Figure 1. Étapes de synthèse de l'EPA et du DHA à partir de l'acide  $\alpha$ -linoléinique (d'après [3]).



Figure 2. Culture de microalgues en flacons en laboratoire.