



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة غرداية

N°d'enregistrement

Université de Ghardaïa

/...../...../...../.....

كلية العلوم والتكنولوجيا

Faculté des Sciences et de la Technologie

قسم هندسة الطرائق

Département de Génie des Procédés

Mémoire de fin d'étude, en vue de l'obtention du diplôme

**Master**

Domaine: Sciences et Technologie

Filière : Génie des Procédés

Spécialité: Génie Chimique.

**Thème**

Culture de microalgue verte sur les effluents  
liquides laitiers pour la production de biodiésel

Présenté par:

Asma SALAG

Meriem BRIHMET

Devant le jury composé de:

GHOBRINI Djillali	A.R	URAER	Encadrant
MANSOURI Khaled	MCB	Univ.Ghardaia	Co-encadrant
KHANE Yasmina	MCB	Univ.Ghardaia	Examineur
LAHOUEL Nacera	A.R	URAER	Examineur

Année universitaire 2021/2022



# Dédicace

*Je m'incline devant Dieu tout puissant qui m'a ouvert*

*La porte du savoir et m'a aidé la franchir.*

*C'est avec grand plaisir que je dédie cet humble travail*

*A ma grand-mère, grand-père*

*À ma mère je dédie ma vie toute entière car sans toi je n'aurai*

*été ce que je suis aujourd'hui.*

*À mon frère Mohammed*

*A ma tante, je la remercie d'avoir cru en moi et en mes capacités*

*Mes amis*

*Tous mes enseignants surtout Mr Khaled Mansouri et tous ceux  
qui m'ont consacré du temps, patience, et conseils surtout dans*

*Les Moments difficiles.*

*Salag Asma*





# Dédicace

*Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères au monde  
pour moi.*

*À la plus belle personne que Dieu a créé sur terre, ma source de  
tendresse, de générosité et de patience pour son soutien tout au  
long de ma vie scolaire, Ma mère!*

*Mon pilier qui m'a toujours soutenue pour que je puisse arriver au  
bout de mes objectifs, mon père!*

*À ma sœur Ilham et ses filles Zahra et Safaa, que j'aime beaucoup,  
À Ma cousine Khadidja qui je considère comme ma deuxième sœur  
À mon frère aîné Smail et à mon petit frère Mohammed.*

*A ma grand-mère, que Dieu lui donne longue vie, mes tantes.*

*Merci aux gens qui m'ont soutenu avec la belle parole, Vous avez  
toutes mes prières.*

*À mes amies qui ont été toujours dans mes hauts et mes bas, la  
distance ne nous a jamais éloigné ou séparé*

*Brihmet Meriem*



# *Remerciements*

En premier lieu, nous exprimons nos profonds remerciements à **ALLAH** tout puissant qui nous a donné la force, le courage, la volonté et la santé durant toutes ces années d'études.

Nous tenons à remercier nos deux familles respectives, pour leur affection inégalable et leur soutien. Sans leurs encouragements, nous n'aurions pu mener à bien ce travail.

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de Biomasse, à l'Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables de Ghardaïa (URAER), ainsi nous remercions le directeur **Dr. Djelloul DJAFER** de nous avoir accepté au sein de l'unité.

Nos sincères remerciement à notre encadrant et maître de stage **Mr GHOBRI**  
**Djilali** de nous avoir guidé et encouragé durant ce travail, pour la confiance qu'il nous a transmis et d'avoir mis à notre disposition tout son savoir-faire et ses qualités intellectuelles, professionnelles et humaines.

Nos remerciements vont au **Dr. Khaled MANSOURI** pour avoir accepté de co-encadrer ce travail et pour son aide et son soutien moral.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à **M<sup>me</sup> Naima Hellali** et **Mr ADAMO Youcef** de l'Université de Ghardaïa de nous avoir fait l'honneur de présider le jury.

Nos remerciements vont aussi aux examinateurs **M<sup>me</sup> KHANE Yasmina** et **M<sup>me</sup> LAHOUEL Nacéra** d'avoir accepté de juger ce travail, ainsi que de leur honorable présence.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à **M<sup>me</sup> OULAD HADJ YUCEF Khadidja** ingénieure à l'URAER - Ghardaïa pour son aide fourni durant la réalisation de ce travail.

Nous remercions tous **les enseignant(e)s** de notre cursus universitaire qui ont contribué à notre formation.

Nos sentiments de reconnaissance et nos remerciements vont également à toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à la réalisation de ce travail.

Et à tous ceux que nous avons oubliés

## **Résumé :**

L'augmentation de la consommation de pétrole fossile, largement utilisé par le secteur des transports, et la grande fluctuation des prix ainsi que, la pollution qui en résultant, ont rendu nécessaire la recherche d'alternatives renouvelables. Sur cette base, les microalgues semblent être une alternative aux carburants fossiles par la production des biocarburants, aux nombreux avantages dont un rendement élevé en biomasse et des lipides de type TAG, important pour la production de biocarburants. Cette étude visait à évaluer les rendements en biomasse et en lipides de la souche *Chlorella* sp.

Les résultats ont montré que l'utilisation du lactosérum peut remplacer l'utilisation de milieu synthétique tel que le BG11 pour la culture de la souche de *Chlorella* sp. isolée localement. En fait, le milieu à base de lactosérum utilisé seul ou additionné de petite quantité de phosphate et/ou de magnésium ont augmenté de manière significative la productivité en biomasse, 0.0220 g/L.h, 0.0217 g/L.h et 0.0190 g/L.h, par rapport au milieu BG11, où la productivité était de 0,0180 g/L.h. La quantité de lipides produite est meilleure dans le cas où le lactosérum est additionné de magnésium et le pourcentage était dans de l'ordre de 19,08 % de la biomasse algale sèche.

**Mots clés :** Microalgae, *Chlorella*, lipides, lactosérum, la biomasse.

## ملخص:

إن الزيادة في استهلاك النفط الأحفوري الذي يستخدمه قطاع النقل على نطاق واسع، والتقلبات الكبيرة في الأسعار وكذلك التلوث الناتج عنها، جعلت من الضروري البحث عن بدائل متجددة. على هذا الأساس، يبدو أن الطحالب الدقيقة بديل للوقود الأحفوري من خلال إنتاج الوقود الحيوي، مع العديد من المزايا بما في ذلك إنتاجية عالية من الكتلة الحيوية ودهون من نوع TAG، والتي تعتبر مهمة لإنتاج الوقود الحيوي.

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم إنتاجية الكتلة الحيوية والدهون لسلالة (*Chlorella sp*)، وأظهرت النتائج أن استخدام مصّل اللين يمكن أن يحل محل استخدام الوسط الصناعي مثل BG11 لزراعة سلالة (*Chlorella sp*) المعزولة محلياً.

في الواقع، فإن الوسط المعتمد على مصّل اللين المستخدم بمفرده أو مكماً بكمية صغيرة من الفوسفاتو / أو المغنيسيوم زاد بشكل كبير من إنتاجية الكتلة الحيوية، 0.0220 جم / لتر ساعة، 0.0217 جم / لتر ساعة و. 0.0190 مقارنةً بالوسط الصناعي حيث كانت الإنتاجية 0.0180 جم / لتر / ساعة. تكون كمية الدهون المنتجة أفضل في حالة إضافة مصّل اللين بالمغنيزيوم كانت النسبة في حدود 19.08% من الكتلة الحيوية للطحالب الجافة.

**الكلمات المفتاحية:** الطحالب الدقيقة، مصّل اللين، الكتلة الحيوية، كلوريل، الدهون.

## **Abstract :**

The increase in the consumption of fossil oil, widely used by the transport sector, and the great fluctuation in prices as well as the resulting pollution, have made it necessary to try to find renewable alternatives. On this basis, microalgae appear to be an alternative to fossil fuels through biofuel production, with many advantages including high biomass yield and TAG-type lipids, important for biofuel production. This study aimed to evaluate the biomass and lipid yields of the strain of *Chlorella sp.*

The results showed that the use of whey can replace the use of synthetic medium such as BG11 for the cultivation of the isolated strain of *Chlorella*. In fact, the whey-based medium used alone or supplemented with a small amount of phosphate and/or magnesium significantly increased the biomass productivity, respectively, 0.0220 g/L.h, 0.0217 g/L.h and 0.0190 g/L.h, compared to culture in BG11 medium, where the productivity was 0.0180 g/L.h. The amount of lipid produced is better in the case where the whey is supplemented with magnesium and the percentage was in the order of 19.08% of the dry algal biomass.

**Key words:** Microalgae, *Chlorella*, lipid, whey, biomass.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.1</b>	Productivité de quelques espèces de microalgues.....	6
<b>Tableau I.2</b>	Caractéristiques de la microalgue <i>Chlorella vulgaris</i> .....	8
<b>Tableau I.3</b>	Comparaison entre les différents modes de fonctionnement appliqués à des cultures de micro-algues .....	13
<b>Tableau I.4</b>	La composition générale de différents espèces microalgale (% de matière sèche).....	15
<b>Tableau I.5</b>	Certains espèces de microalgues avec leurs produits et domaines d'application.....	18
<b>Tableau I.6</b>	La composition des lactosérums .....	24
<b>Tableau II.1</b>	La composition du milieu de BG11.....	33
<b>Tableau II.2</b>	Milieux de culture utilisés pour l'étude de la cinétique de croissance de <i>Chlorella</i> sp.....	39
<b>Tableau III.1</b>	Résultat des analyses du lactosérum .....	47
<b>Tableau III.3</b>	Résultats de la teneur en lipides totaux extraits au niveau des différents milieux .....	55

## Liste des figures

<b>Figure I.1</b>	Quelques exemples de microalgues :Haematococcus, Staurastrum, Spirulina et Chlorellavulgaris.....	<b>6</b>
<b>Figure I.2</b>	Observation microscopique de Chlorellavulgaris.....	<b>8</b>
<b>Figure I.3</b>	Variété de configurations des systèmes ouverts : A bassin de type « raceway » employ pour la culture de Spirulina platensis en Californie – B : bassin circulaire à pivot central pour la culture de Chlorella à Taiwan – C : larges bassins non agités utilisés pour la culture de Dunaliella salina en Australie.....	<b>10</b>
<b>Figure I. 4</b>	Photographie des Photobioréacteurs tubulaires « A» et plats « B ».....	<b>11</b>
<b>Figure I.5</b>	Représentation schématique du mode de culture de microalgue.....	<b>11</b>
<b>Figure I.6</b>	Courbe de croissance.....	<b>12</b>
<b>Figure I.7</b>	Les microalgues en tant que système de production inépuisable & Applications.....	<b>16</b>
<b>Figure I.8</b>	Schéma du principe de production du biodiesel à partir des microalgues.....	<b>20</b>
<b>Figure I.9</b>	Réaction de transestérification.....	<b>21</b>
<b>Figure I.10</b>	Organigramme de l'obtention des principaux types de lactosérums issus de la première transformation du lait.....	<b>23</b>
<b>Figure I.11</b>	Structure moléculaire du lactose.....	<b>24</b>
<b>Figure II.1</b>	Photographie présentant l'aspect macroscopique de Chlorella sp. sur le milieu BG 11.....	<b>32</b>
<b>Figure II.2</b>	Préparation des prècultures .....	<b>34</b>
<b>Figure II.3</b>	Les étapes de traitementlactosérum .....	<b>36</b>
<b>Figure II.4</b>	La culture de Chlorella sp. dans différents milieux de culture testés....	<b>38</b>
<b>Figure II.5</b>	Récolté la biomasse des algale.....	<b>40</b>
<b>Figure II.6</b>	Organigramme d'extraction des lipides à partir de biomasse microalgale.....	<b>42</b>
<b>Figure II.7</b>	Premières étapes d'extraction des lipides par la voie humide .....	<b>42</b>
<b>Figure II.8</b>	Deuxièmes étapes d'extraction des lipides par la voie humide.....	<b>43</b>
<b>Figure II.9</b>	Transestérification pour production de biodiesel. ....	<b>44</b>
<b>Figure III. 1</b>	Courbe d'étalonnage pour la détermination de taux du glucose (g/L)....	<b>48</b>

## Liste des figures

<b>Figure III.2</b>	Préculture de Chlorellasp.....	<b>49</b>
<b>Figure III.3</b>	Culture de la souche Chlorellasp. sur l'agitateur orbital dans les milieux testés.....	<b>49</b>
<b>Figure III.4</b>	Changement de la couleur des milieux à la fin de l'expérience (Après 4 jours de culture).....	<b>50</b>
<b>Figure III.5</b>	Evolution de la concentration en biomasse dans les différents milieux étudiés.....	<b>51</b>
<b>Figure III.6</b>	Evolution de la concentration en biomasse dans les différents milieux étudiés.....	<b>52</b>
<b>Figure III.7</b>	Les productivités enregistrées dans différents milieux testés.....	<b>53</b>
<b>Figure III.8</b>	Taux de croissance spécifique dans différents milieux de culture testés.	<b>54</b>
<b>Figure III.9</b>	Aspect de biodiesel.....	<b>56</b>

## Liste des abréviations

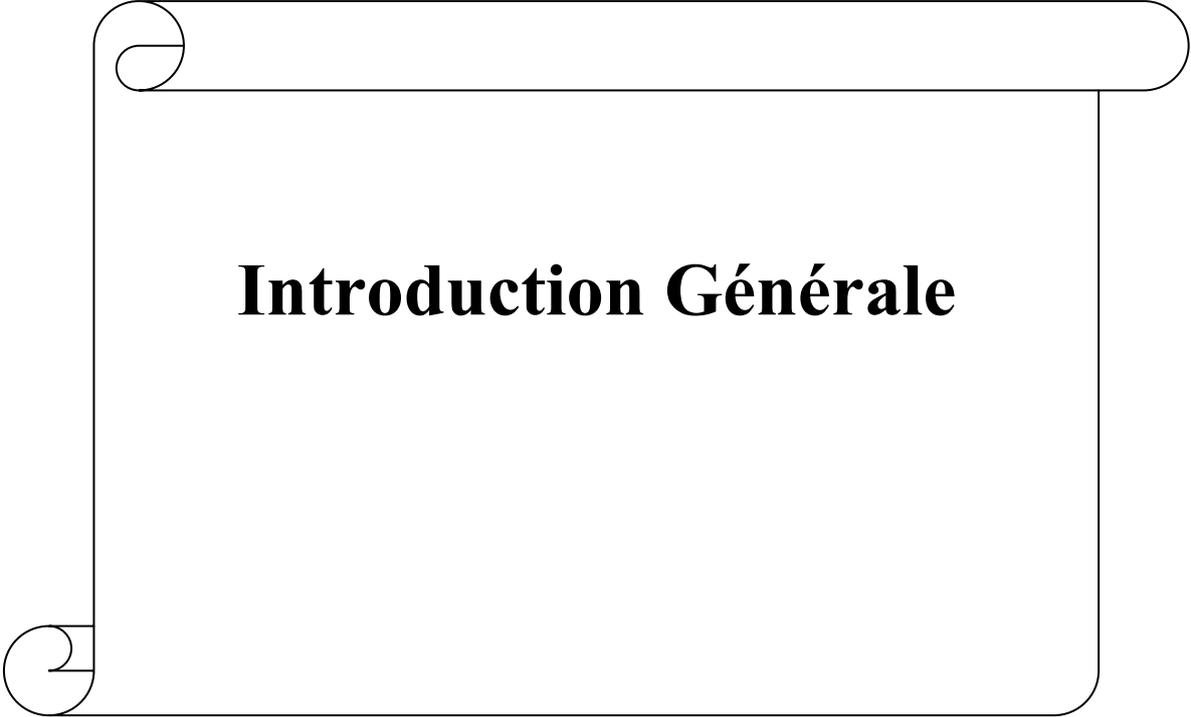
<b>AND</b>	Acide désoxyribonucléique.
<b>ASTM</b>	American Society for Testing Materials.
<b>BG11</b>	Blue Green.
<b>DOC</b>	Dissolved Organic Carbon.
<b>DW</b>	Dairy wastewater (lactosérum).
<b>EMHV</b>	Esters méthyliques d'huiles végétales.
<b>EN</b>	Norme Européenne.
<b>FAME</b>	Fatty Acid Methyl Ester (Esters Méthyliques d'acides gras).
<b>DAG</b>	Diacylglycérol.
<b>GC-MS</b>	Gas Chromatography -Spectrométrie de masse.
<b>GL</b>	Glycolipide.
<b>MAG</b>	Monoacylglycérol .
<b>PL</b>	Phospholipides.
<b>TAG</b>	Triacylglycéride.
<b>TEP</b>	Tonne d'Equivalent Pétrole

# Tableau de matières

Dédicace	
Remerciements	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
Introduction générale.....	<b>1</b>
<b>Chapitre I :Synthèse Bibliographique</b>	
I.1 Définition des microalgues.....	<b>5</b>
I.1.1 Chlorella vulgaris .....	<b>7</b>
I.2 Culture des microalgues .....	<b>8</b>
I.2.1 Systèmes ouverts ou raceway .....	<b>9</b>
I.2.2 Systèmes fermés "photobioréacteurs" .....	<b>10</b>
I.3 Mode de culture .....	<b>11</b>
I.3.1 Mode batch .....	<b>12</b>
I.3.2 Mode continue.....	<b>12</b>
I.3.3 Mode semi continue .....	<b>13</b>
I.4 Récolte .....	<b>13</b>
I.5 Composition biochimique .....	<b>14</b>
I.6 Application des microalgues .....	<b>18</b>
I.6.1 Applications en bio-énergie .....	<b>19</b>
I.6.1.1 Production de biodiesel .....	<b>19</b>
I.7 Extraction des lipides .....	<b>20</b>
I.8 Définition de la transestérification .....	<b>21</b>
I.9 Lactosérum.....	<b>22</b>
I.9.1 Utilisation du lactose par les microalgues .....	<b>24</b>
<b>Chapitre II :Matériel et méthodes</b>	
II.1 Matériel biologique.....	<b>32</b>

## Tableau de matières

II.2 Méthodes.....	32
II.2.1 Préparation du milieu de culture.....	33
II.2.2 Culture hétérotrophe de Chlorella sp .....	34
II.3 Préparation des préculture (culture mère).....	34
II.4 Préparation du lactosérum pour la culture algale .....	35
II.4.1 Traitement du lactosérum.....	35
II.4.2 Méthode de Paramètres chimique .....	36
II.5 Culture de la souche localement isolée Chlorella sp .....	38
II.6 Cinétique de croissance de Chlorella sp.....	39
II.7 Mesure du taux de glucose.....	39
II.8 Récolte, extraction et transestérification .....	40
II.8.1 Récolte .....	40
II.8.2 Extraction .....	40
II.8.3 Transestérification acide des lipides et production de biodiesel.....	43
<b>Chapitre III : Résultats et discussions</b>	
III.1 Analyse de lactosérum .....	47
III.2 Résultat de taux du glucose.....	47
III.3 Développement de la souche de Chlorella sp. Surles différents milieux testés...	48
III.3.1 Résultats de la préculture (culture mère) .....	48
III.3.2 Étude de la culture de souche jaune de Chlorella sp. localement isolée.....	49
III.3.3 Évolution des sucres.....	52
III.3.4 Calcule la productivité .....	53
III.3.5 Taux de croissance spécifique .....	54
III.4 Extraction des lipides .....	54
III.5 Transestérification pour produire le biodiesel.....	56
Conclusion .....	60
Annexe .....	62



# **Introduction Générale**

## Introduction générale

---

Les ressources fossiles que sont le pétrole, le charbon et le gaz représentent la majorité de l'énergie utilisée dans le monde. Elles sont principalement utilisées dans des domaines comme le transport, l'industrie ou encore l'alimentation. En termes de chiffres, les énergies fossiles représentent 81 % de l'énergie mondiale consommée dont 33% proviennent du pétrole [1].

La consommation du pétrole, principale source d'énergie fossile, conduit à l'épuisement des ressources de carburant et impacte les changements climatiques dus aux émissions de gaz à effet serre que laissent craindre de possibles crises énergétiques et environnementales [2].

Les biocarburants issus de la biomasse peuvent être une alternative aux énergies fossiles et ils sont classés en trois générations. La première génération utilise comme source de biomasse les cultures qui sont traditionnellement destinées à l'alimentation, par exemple le maïs, la canne à sucre ou encore les céréales. Le substrat de départ pour la seconde génération est la biomasse lignocellulosique comme les résidus forestiers ou agricoles. La troisième génération tente de saffranchir du sol via l'utilisation de micro-organismes [2].

Nous nous intéressons ici à la 3<sup>ème</sup> génération de biocarburants et plus particulièrement aux microalgues, car la culture de ces dernières est actuellement en plein essor. Les 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération d'agro carburants utilisent des terres arables, engendrent de la déforestation et augmentent la consommation d'eau et le prix des denrées alimentaires [3].

Ces biocarburants augmentent aussi la pollution du fait de l'utilisation de pesticides et d'engins agricoles afin d'augmenter leur productivité. Ces différents problèmes ne s'appliquent pas à la 3<sup>ème</sup> génération de biocarburants. Plusieurs avantages découlent de la 3<sup>ème</sup> génération comme une capacité de production de biomasse plus importante et des fréquences de récoltes plus élevées. Les microalgues présentent une bonne adaptation aux changements de milieu et contrairement aux plantes terrestres, elles ont un taux de croissance beaucoup plus élevé. En effet, elles sont capables de doubler leur croissance en 3,5 heures [4,5]. Leur production est continue sur toute l'année car elles ne dépendent pas des saisons, cela permet d'avoir une plus grande quantité d'huile produite comparativement aux carburants de 1<sup>ère</sup> et 2<sup>ème</sup> génération.

La culture intensive de ces microorganismes pour produire de l'énergie présente un avenir prometteur afin de répondre aux différents problèmes liés aux énergies fossiles. En effet

l'huile présente dans les cellules algales peut être transformée en biodiesel après extraction [6]. De plus, cette teneur en lipide leurs confère un pouvoir calorifique intéressant [7].

## Introduction générale

---

Le frein majeur de cette génération de biocarburant est son coût. En effet, les « algocarburants » ne sont pas encore assez compétitifs pour rivaliser avec les carburants traditionnels. Cependant, le secteur fait l'objet de nombreuses études afin d'améliorer ce point négatif. L'objectif de ce mémoire est de montrer la possibilité d'utiliser les microalgues pour la production du biodiesel, avec l'utilisation du lactosérum comme support de culture d'une microalgue du genre *Chlorella* localement isolée.

Le travail est divisé en trois chapitres classés comme suit :

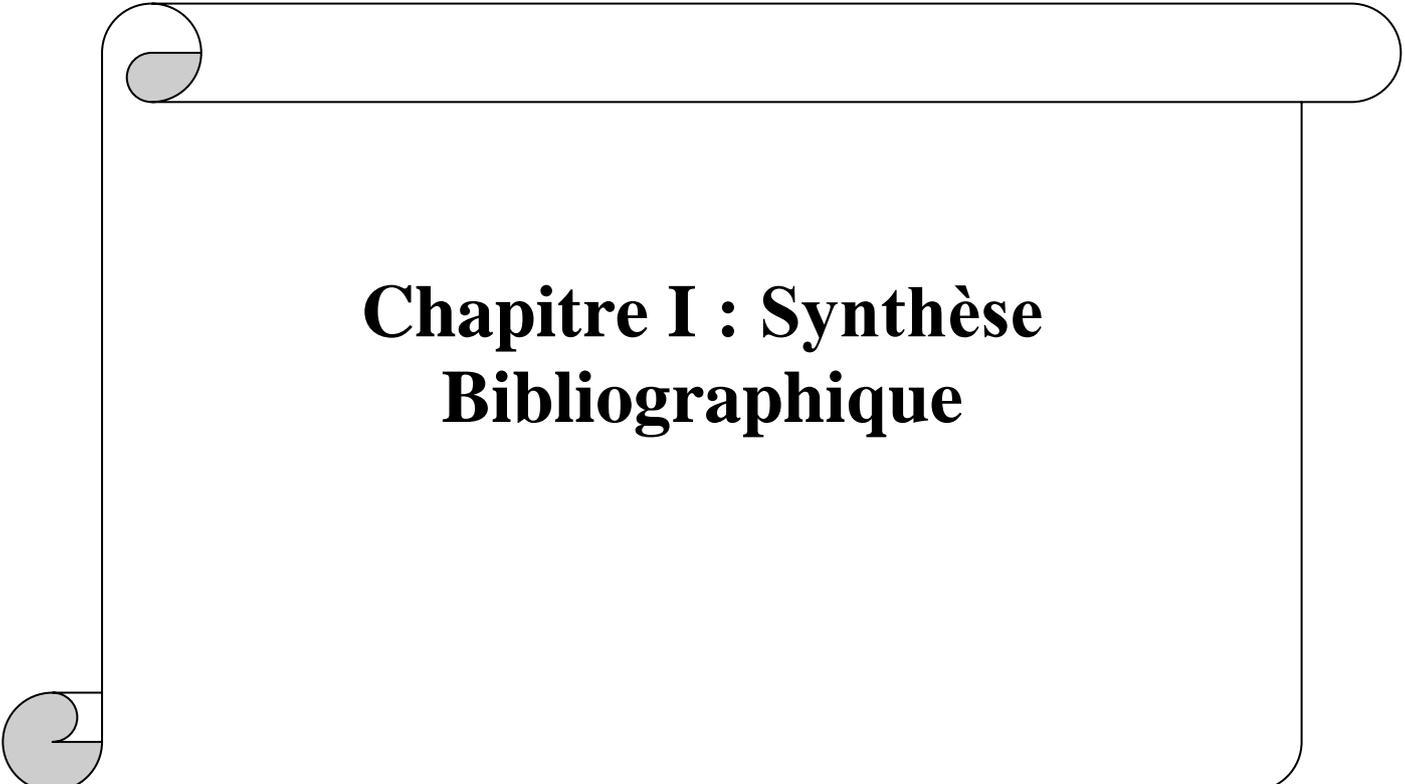
- 1<sup>er</sup> chapitre: synthèse bibliographique sur les microalgues, ainsi que leurs différentes applications.
- le 2<sup>ème</sup> chapitre : les matériels et méthodes expérimentales pour réaliser ce travail.
- le 3<sup>ème</sup> chapitre : les résultats expérimentaux et discussion.

## Références bibliographiques

---

### Références bibliographiques

- [1] Shafiee S. and Topal E. 2009. When will fossil fuel reserves be diminished?. *Energy Policy*, vol. 37, no. 1, pp. 181- 189.
- [2] GHOBRIINI D .and AIBOUD K and KEBBAB L.and KOUMAD L. and YAKOUB-BOUGDAL S 2012. Bioethanol production from waste of date by solid state fermentation. *Revue des Energies Renouvelables*, SIENR'12 Ghardaïa, 2012, p. 109 –114
- [3] GHOBRIINI D. and BRANYIK T. and KEBBAB L .and POUTOUT B. and AIBOUD K. 2019). Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Medium From a Dairy Effluent. *IEEE Explore (Conférences Publication)*. DOI : 10.1109/IRSEC.2018.8702962.
- [4] Mata T. M. and Martins A. A., and Caetano N. S. "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 14, no. 1 , pp. 217-232.
- [5] Demirbas A. and Demirbas M. *FAlgae Energy*. London: Springer London, 2010.
- [6] Demirbas A. and Demirbas 2011, "Importance of algae oil as a source of biodiesel," *Energy Convers. Manag.* , vol. 52, no. 1, pp. 163-170.
- [7] Pittman J. K. and Dean A. P. and Osundeko 2011. "The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources," *Bioresour. Technol.*, vol. 102, no.1, pp. 17-25.



**Chapitre I : Synthèse  
Bibliographique**

## I.1. Définition des microalgues

Les microalgues sont des organismes microscopiques eucaryotes photosynthétiques vivant dans les mers, les océans, les eaux douces et les eaux saumâtres [1, 2]. Les microalgues présentent une diversité bien supérieure à celle des plantes terrestres. Les estimations du nombre d'espèces vont de 50 000 à un million d'espèces [3], dont 30 000 sont connues à l'heure actuelle et seulement une dizaine est cultivée [4].

Les lipides présents dans les microalgues peuvent eux être utilisés dans le but de produire du biodiesel [5]. Ces organismes constituent un groupe polyphylétique et très diversifié de procaryotes (les algues bleues ou cyanobactéries) et eucaryotes (où l'on retrouve les algues vertes, rouges et brunes). Le classement en divisions est basé sur diverses propriétés telles que la pigmentation, la nature chimique des produits de stockage issus de la photosynthèse, l'organisation des membranes photosynthétiques et d'autres caractéristiques morphologiques [6]. Les principales exigences de croissance des microalgues sont un milieu aqueux, de l'énergie lumineuse, une température adéquate, une source de carbone organique ou inorganique et des nutriments. La lumière représente l'un des principaux facteurs limitant la culture des microalgues [7]. Ces dernières ont besoin de lumière comme source d'énergie pour convertir l'eau et le dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) absorbés en biomasse, grâce au processus de la photosynthèse [8]. Les microalgues présentent divers avantages dans le domaine de production des biocarburants, à savoir :

- Leur croissance est rapide et fait d'elles une importante source renouvelable pour l'énergie [1, 9].
- Leur conversion photonique est élevée (environ 3 à 8% face à 0,5% pour les végétaux terrestres), ce qui fait un rendement important par hectare [1, 10].
- Leur séquestration de  $\text{CO}_2$  est élevée [1, 11].
- Elles sont capables de croître dans un milieu aqueux salin, eaux usées ou eaux saumâtre et se nourrissent de l'azote et phosphore qui se trouvent en général dans les eaux polluées [1].
- Leur culture peut se faire dans des terres en friche [1]. selon Demirbas [10] affirment qu'une ferme mesurant un hectare sur des terres en friche peut produire plus de 10 à 100 fois d'huile par rapport à toute autres sources connues produisant l'huile.

Tableau I.1 : Productivité de quelques espèces de microalgues [12].

Espèce	Taux de croissance maximum ( $J^{-1}$ )	Temps de dédoublement (Jour)
<i>Botryococcus braunii</i>	0,2	3.4
<i>Chlamydomona reinhardii</i>	3.8	0.2
<i>Chlorella vulgaris</i>	1.8	0.4
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	3.5	0.2
<i>Isochrysis galbana</i>	2.0	0.3
<i>Navicula muralis</i>	2.6	0.3
<i>Pleurochrysis carterae</i>	0.7	1.1
<i>Rhodomonas salina</i>	0.6	1.2
<i>Spirulina platensis</i>	0.5	1.4
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	2.5	0.3

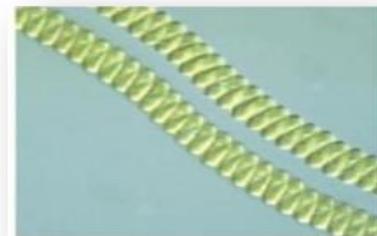
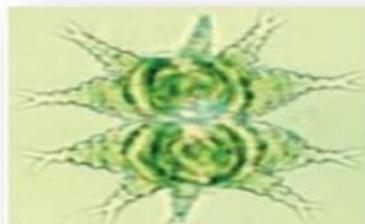
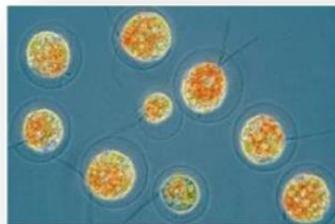


Figure I.1 : Quelques exemples de microalgues:

*Haematococcus*, *Staurastrum*, *Spirulina* et *Chlorellavulgaris* [5].

### I.1.1 *Chlorella vulgaris*

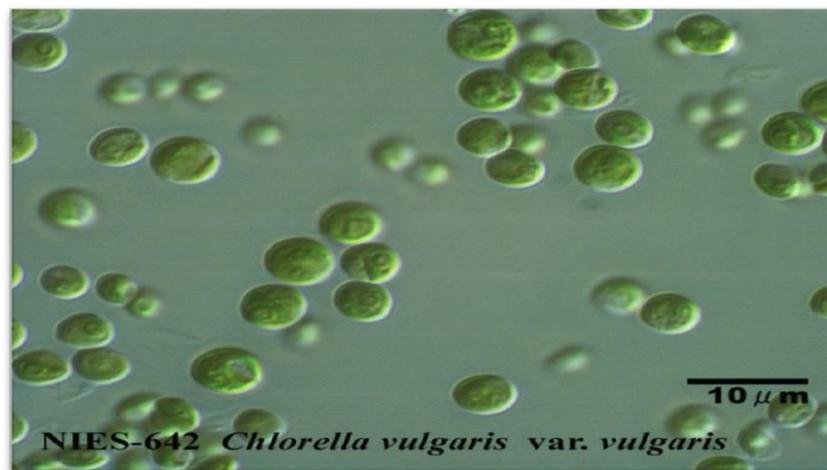
*Chlorella vulgaris* est une algue verte découverte en 1890 par le biologiste hollandais BEYERINCK Et depuis 1919. C'est une chlorophycée unicellulaire non-mobile qui mesure entre 2 et 10  $\mu\text{m}$  de diamètre avec un noyau bien spécifique et une membrane cellulosique et se présente sous deux formes ronde ou ellipsoïdale (figure I. 2). Elle contient un chloroplaste pariétal qui se compose des caroténoïdes, de la chlorophylle a et b, un pyrénoloïde, des thylakoïdes, du matériel génétique et des grains d'amidon .

Elle est présente de façon ubiquiste dans l'environnement aquatique et se trouve également dans les sols. Elle peut être cultivée dans un milieu organique ou inorganique simple. Sur le plan physiologique, elle est également tolérante à une large gamme de pH. Elle a un taux de croissance rapide, *Chlorella* se retrouve en eau douce et possède des mécanismes d'assimilation des nutriments qui lui permettent généralement de dominer sur les autres espèces [13].

*Chlorella* est constituée de 50 à 60% de protéines, de nombreux minéraux (cuivre, fer, magnésium,...), d'acides gras dont certains oméga-3 et de pigments tels que la chlorophylle qui représente de 2 à 4% de son poids sec. La biomasse est récoltée par filtration membranaire, centrifugée afin d'obtenir une "pâte algale" à 20% de matière sèche puis lyophilisée. Plus d'étude—son applicabilité comme source d'énergie et pour l'alimentation humaine [14]. Elle présente également un intérêt pour la co-valorisation de lutéine et de colorants alimentaires [13].

**Tableau I.2 :** Caractéristiques de la microalgue *Chlorella vulgaris*.

Groupe taxonomique	Chlorococcales
Dimensions	<10 $\mu\text{m}$ de forme sphérique (observation au microscope)
Membrane	Membrane plasmique bicouche lipidique
Composition de la paroi	Paroi cellulosique (résistance mécanique) Glucosamine Sucres neutres Acides uroniques Protéines Divers

**Figure I.2 :** Observation microscopique de *Chlorellavulgaris*.

## I.2 Culture des microalgues :

La production de microalgues est en forte augmentation à travers le monde. La production annuelle est estimée à 6 000 tonnes par an de matière sèche [15]. L'importance de la culture des microalgues se résume dans la découverte et la revalorisation des espèces microalgales qui existent naturellement dans les écosystèmes et qui ont suscité un intérêt notable par leur profil biochimique qui dépend de l'espèce microalgale et aux paramètres environnementaux, et plus particulièrement, parce que certaines d'entre elles contiennent des molécules uniques. Ces microorganismes photosynthétiques se développent très rapidement, par la transformation d'environ 10% de l'énergie solaire en biomasse avec un dédoublement de 0,3 à 3 fois plus et

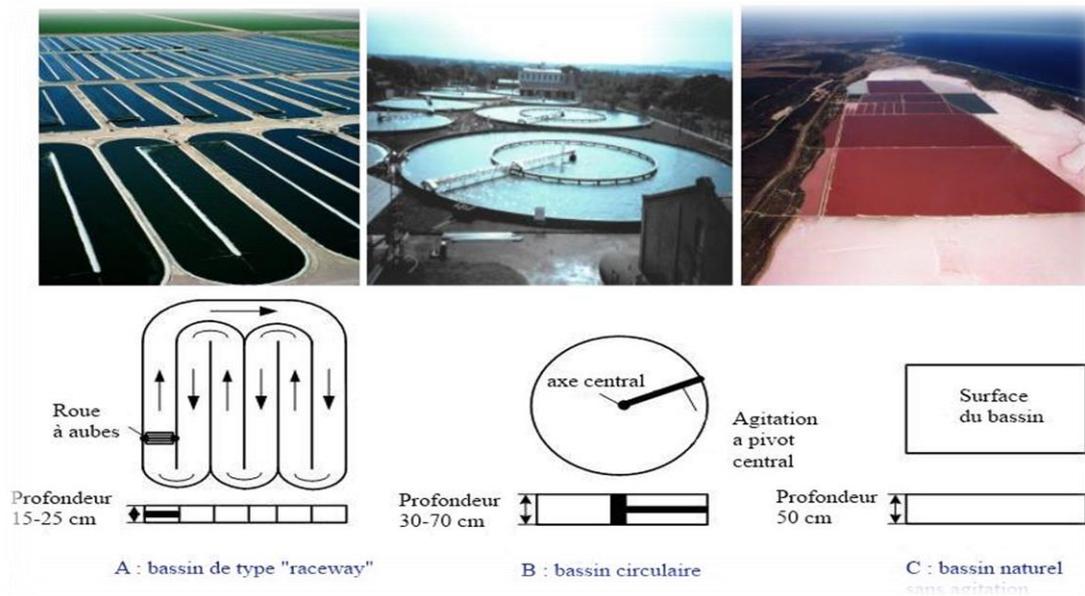
un rendement théorique estimé d'environ 77g/biomasse/m<sup>2</sup>/jour, [16 , 17] 1. La culture des microalgues utilisant la lumière du soleil peut être effectuée soit dans des bassins à ciel ouvert ou dans des photobioréacteurs en forme de tube, rectangle, réacteur à agitation continue ou autre forme [10]. Concernant la nutrition, la plupart des microalgues sont photoautotrophes, c'est-à-dire elles utilisent le CO<sub>2</sub> et qu'elles tirent leur énergie de la photosynthèse. Or, il existe aussi des microalgues hétérotrophes qui sont capables de se développer sans utiliser l'énergie solaire, mais une source de carbone organique [2], c'est le cas de *Chlorella vulgaris* et *Chlorella protothecoides* [18].

Les microalgues de métabolisme hétérotrophe sont principalement cultivées dans des bioréacteurs fermés appelés fermenteurs en absence de rayonnement solaire. Pour assurer leur croissance, elles doivent être en présence d'un substrat organique [18].

### **I.2.1 Systèmes ouverts ou raceway :**

Ces systèmes sont plus anciens et simples pour la culture des microalgues. Ils sont sous forme de chemin à roulement où une ou plusieurs roues à aube sont placées pour permettre la nutrition de toutes les cellules algales. Les chemins à roulement sont en général faits en béton coulé ou sont creusés directement dans le sol et recouverts d'une couche en plastique pour empêcher la pénétration du milieu de culture dans le sol. Ce type de système est caractérisé par sa simplicité technique, sa facilité d'exploitation et une durée de vie assez importante [19].

Ces systèmes sont les moins énergivores et ont une maintenance et un nettoyage facile [20]. Malgré leur faible productivité, les systèmes ouverts utilisent généralement de la lumière naturelle, il n'y a donc pas de coût associé à l'apport de lumière. Cependant, les microalgues sont soumises aux variations journalières et saisonnières de la température et de l'intensité lumineuse, mais la principale contrainte reste le risque de contamination. La biomasse est, quant à elle, récoltée à la fin du cycle de recirculation. Ce type de configuration est connu sous l'appellation bassin de type « raceway ». On peut distinguer trois types de ce dernier : bassin de type raceway, circulaire et naturel. ( figure I. 3.)



**Figure I.3 :** Variété de configurations des systèmes ouverts

**A** Bassin de type « raceway » employé pour la culture de *Spirulina platensis* en Californie – **B**: Bassin circulaire à pivot central pour la culture de *Chlorella* à Taiwan – **C**: larges bassins non agités utilisés pour la culture de *Dunaliella salina* en Australie [21].

### I.2.2 Systèmes fermés photobioréacteurs :

Les photobioréacteurs sont des réacteurs fabriqués à partir de matériaux transparents. Leur conception est basée sur la surface éclairée, l'efficacité du mélange et le contrôle des paramètres de culture (température, teneur en dioxyde de carbone et en oxygène, pH), pour atteindre une productivité maximale. Les systèmes fermés ont été conçus pour pallier les problèmes des bassins [20]. L'utilisation des photobioréacteurs revient plus chère que les systèmes d'étang à ciel ouvert. Cependant, ils nécessitent moins de lumière et d'espace pour la culture des microalgues. Les scientifiques préfèrent l'utilisation des photobioréacteurs, car ils assurent la croissance d'une seule espèce d'algue sans qu'elle rentre en compétition avec une autre espèce ou qu'elle soit contaminée [10].

Il existe différents types de photobioréacteurs. Selon Demirbas [10] leurs technologies de design sont très variables et dépendent fortement de l'ingénieur qui les a conçus et de l'espèce à cultiver. Les photobioréacteurs tubulaires semblent être les plus satisfaisants de point de vue production de la biomasse algale convertie en biocarburants dont la quantité varie entre 2 et 5 g/L [2, 10]. Les photobioréacteurs existent sous de nombreuses formes, mais ils peuvent être séparés en plusieurs catégories : les photobioréacteurs plans, les photobioréacteurs

cylindriques, les photobioréacteurs « Plastic bag » et un type particulier de réacteurs pour la culture de microalgues en l'absence de lumière (les fermenteurs) par exemple. (Figure I.4)



Figure I.4 : Photographie des Photo bioréacteurs tubulaires-

### I.3 Mode de culture :

Pour produire des microalgues, on distingue trois modes de cultures : le mode batch ou discontinu, le mode continu et le mode semi-continu. (Figure 5). Selon les contraintes associées au raffinage et/ou à la physiologie de la souche, certains modes de culture seront préférés à d'autres.

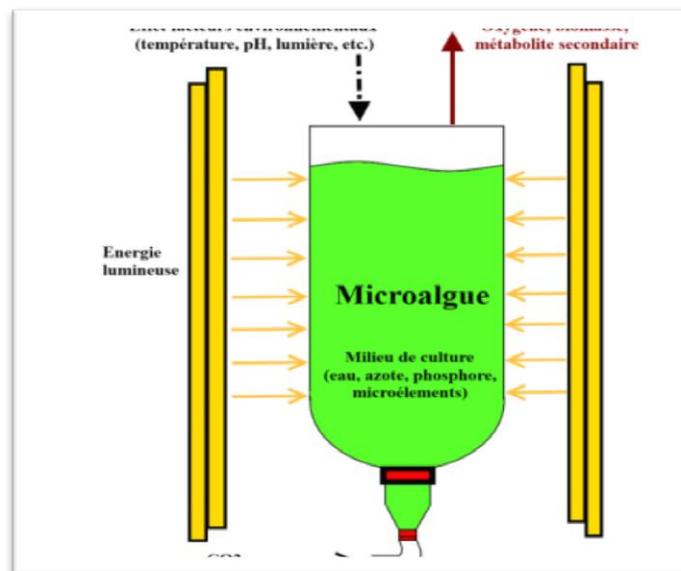


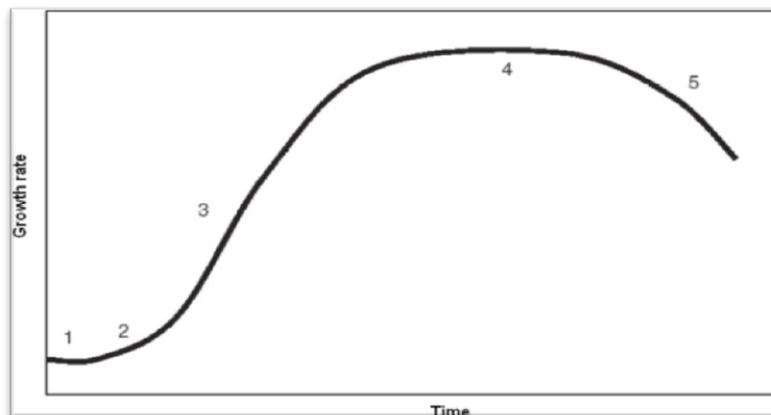
Figure I.5 : Représentation schématique d'un mode de culture des microalgues.

Il existe trois principaux modes de fonctionnement lesquels sont :

### I.3.1 Mode batch :

Dans ce mode opératoire, on peut observer cinq phases de croissance (figure I.6) [22]:

- Phase 1 « La phase de latence » : les cellules s'adaptent aux nouvelles conditions de culture.
- Phase 2 « La phase d'accélération »: les cellules ont accumulé des composés intracellulaires.
- Phase 3 «La phase exponentielle» ; Les cellules se multiplient très vite en observant une croissance exponentielle en fonction du temps. La vitesse de croissance de la culture est maximale. Les conditions du milieu sont optimales pour la croissance cellulaire.
- Phase 4 «La phase stationnaire» ; La concentration des microalgues reste constante.
- Phase 5 « la phase de déclin» ; Un des éléments essentiels manque (lumière, azote, phosphore, carbone...); la vitesse de décroissance diminue et compense juste la mortalité.



**Figure I.6 :** Courbe de croissance.

- 1) phase de latence, 2) phase d'accélération, 3) phase exponentielle, 4) phase stationnaire, 5) phase de déclin [23].

### I.3.2 Mode continue :

Le mode continu se caractérise par un apport permanent en milieu nutritif afin de maintenir le volume de culture constant. C'est ce mode qui permet d'obtenir les productivités les plus importantes car l'atténuation lumineuse peut être maintenue à l'optimal lorsque l'apport de lumière est constant. Il existe deux types de mode continu : le mode chemostat et le mode turbidostat.

Le but de la culture en continu est de maintenir la concentration cellulaire à l'intérieur du réacteur stable. La culture est débutée en mode batch jusqu'à ce que la concentration cellulaire souhaitée soit obtenue, puis le milieu de culture est injecté en continu. Ainsi, théoriquement, la culture se trouvera continuellement en phase exponentielle de croissance [22].

### I.3.3 Mode semi continue :

Le dernier mode de culture existant est le mode semi-continu. Le mode semi-continu est un mode où la récolte se fait à intervalle plus rapproché qu'en mode discontinu si bien qu'on se rapproche d'un mode continu, une récolte toute les heures [24].

Les différents avantages et inconvénients des modes de fonctionnement sont récapitulés dans le tableau suivant:

**Tableau I.3 :** Comparaison entre les différents modes de fonctionnement appliqués à des cultures de micro-algues [25].

Mode	Coût	Faisabilité technique	Productivité en biomasse	Effet limitant du substrat	Contamination de la culture
<b>Batch</b>	faible	simple	faible	important	Faible
<b>Fed-batch</b>	moyen	moyen	moyen	moyen	Moyen
<b>Continu</b>	moyen	moyen	moyen	moyen	Moyen

### I.4 Récolte :

La récolte des microalgues représente un facteur économique important pour la production de biodiesel, puisqu'il s'agit d'une étape limitant dans la production de biocarburants. Le but de cette étape est de récupérer le maximum de biomasse afin de réaliser par la suite une extraction des lipides pour les quantifier et les analyser. La récolte est basée sur la méthode de Shen et collaborateur [26]. Certaines estimations permettent de conclure que la récolte représente de 20 à 30 % du coût total de production du biodiesel [27]. Ces coûts importants

sont dus, entre autres, au très petit diamètre des algues (de 2 à 20  $\mu\text{m}$  de diamètre) ainsi qu'à la faible concentration en biomasse atteinte dans les technologies de production [28]. Les défis les plus importants sont donc de permettre d'atteindre une concentration importante de microalgues, en utilisant de nouvelles techniques efficaces et peu coûteuses. La biomasse algale peut être concentrée en utilisant diverses méthodes comme la centrifugation, la filtration, la floculation et la flottation. La filtration nécessite l'utilisation d'une membrane de cellulose modifiée ainsi que d'une pompe. Les microalgues de très faible densité peuvent ainsi être retenues par la membrane. Cependant, cette technique est limitée par le volume traité puisque la succion exercée par la pompe entraîne fréquemment l'obstruction de la membrane [29]. Ce procédé est plus adapté pour les grandes microalgues telles que *Coelastrum proboscideum* et *Spirulina platensis* mais ne peut pas récupérer les plus petites comme *Scenedesmus*, *Dunaliella* et *Chlorella*.

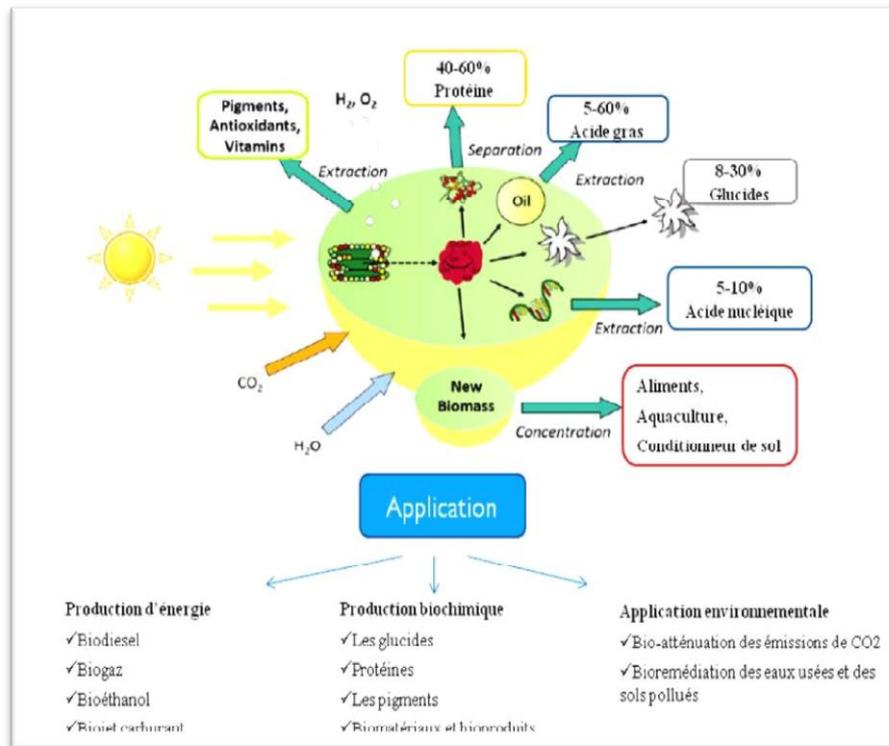
### **I.5 Composition biochimique :**

Les microalgues ont été reconnues comme une matière première, dite de troisièmegénération, non seulement parce qu'elles éliminent le dioxyde de carbone de l'atmosphère, maisaussi parce qu'elle est une source inépuisable d'une variété de bioproduit, sous diverses forme, tels que des composants cellulaires ou des matériaux de stockage, dont les principales biomolécules comprennent les protéines, les polysaccharides ainsi que les lipides (Tableau I. 4) [30].

**Tableau I.4** : Composition biochimique générale de différentes espèces microalgales [39].

<b>Espèces</b>	<b>Protéines</b> (% de matière sèche)	<b>Glucides</b> (% de matière sèche)	<b>Lipides</b> (% de matière sèche)
<i>Anabaena cylindrica</i>	43–56	25–30	4–7
<i>Aphanizomenonflosaquae</i>	62	23	3
<i>Chlamydomonas reinhardii</i>	48	17	21
<i>Cholrellapyrenoidosa</i>	57	26	2
<i>Cholrella vulgaris</i>	51–58	12–17	14–22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8
<i>Euglena gracilis</i>	39–61	14–18	14–20
<i>Porphyridiumcruentum</i>	28–39	40–57	9–14
<i>Prymnesiumparvum</i>	28–45	25–33	22–38
<i>Scenedesmusobliquus</i>	50–56	10–17	12–14
<i>Scenedesmusquadricauda</i>	47	-	1,9
<i>Scenedesmusdimorphus</i>	8–18	21–52	16–40
<i>Spirogyrasp.</i>	6–20	33–64	11–21
<i>Arthrospira maxima</i>	60–71	13–16	6–7
<i>Spirulinaplatensis</i>	46–63	8–14	4–9
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11
<i>Tetraselmismaculate</i>	52	15	3

Par conséquent, ils ont un potentiel énorme dans une grande variété d'applications (Figure I.7). L'intérêt des microalgues se manifeste par la diversité de leur composition biochimique, mais également par des particularités qui justifient l'utilisation de certains procédés de production.



**Figure I.7 :** Les microalgues en tant que système de production inépuisable & Applications [31].

L'absence de paroi autour des cellules de *Dunaliella* et l'existence de globules de  $\beta$ -carotène extraplastidiaux permettent l'extraction de ce métabolite par des procédés utilisant des chocs osmotiques, ou des réacteurs biphasiques usant la diffusion du pigment à l'aide de solvants (do-décane), sans perte de viabilité [32].

Les microalgues représentent une source importante de quasi toutes les vitamines essentielles : B1, B6, B12, C, E, K1, et possèdent un large panel de pigments, fluorescents ou non, pouvant aussi avoir un rôle d'antioxydants. En plus de la chlorophylle (0,5 à 1 % de la matière sèche) qui est le pigment photosynthétique primaire chez toutes les algues photosynthétiques, on trouve toute une gamme de pigments supplémentaires de type

caroténoïdes (0,1 à 0,2 % de la matière sèche) et phycobili-protéines (phycoérythrine et phycocyanine).

Les pigments principalement exploités sont la phycocyanine, de la *spiruline* (colorant bleu), la phycoérythrine (couleur rouge) du *Porphyridium purpureum*, l'astaxanthine d'*Haematococcus pluvialis* ou le bêta-carotène de *Dunaliella salina*. Elles peuvent accumuler plus de 50 % de leur poids sec en lipides.

Ces derniers sont principalement constitués de triglycérides, de phospholipides, et de glycolipides [33]. La microalgue *Odontella aurita* est par exemple une source importante d'acides gras insaturés.

Par ailleurs, l'huile extraite de *Schizochytrium* a été récemment autorisée en tant que nouvel ingrédient alimentaire. A l'heure actuelle, la richesse en lipides des microalgues et leur relative facilité de production font de ces dernières une source intéressante pour les secteurs de la pétrochimie afin de produire des biocarburants. Certaines microalgues ont des constituants pariétaux particuliers tels que des polysaccharides sulfatés, pouvant donner des oligosaccharides, du  $\beta$ -glucane ou des glycoprotéines impliqués dans des processus d'agrégation cellulaire, utilisables comme biofloculants [32].

D'autres encore peuvent produire des molécules à activité antivirales, antibiotiques, ou anti-prolifératrices chez l'homme [33]. Les lipides marins peuvent être classés selon deux catégories différentes basées en fonction de leur polarité : d'une part, les lipides neutres comprenant les acylglycérols (monoacylglycérol ou MAG, diacylglycérol ou DAG, triacylglycérol ou TAG) et les acides gras libres (AGL) et d'autre part, les lipides polaires qui peuvent être subdivisés en deux ; les glycolipides (GL) et les phospholipides (PL).

Les MAG et les DAG proviennent de la dégradation des TAG. En effet, en conditions de carence, les TAG vont s'accumuler et constituer un élément de réserve pour la microalgue alors que les GL et les PL sont dits lipides de constitution. Une cellule carencée en macronutriment comme l'azote, va stocker le flux de carbone provenant de la photosynthèse sous forme de lipides. Les TAG constituent les lipides de choix pour une application en biodiesel [34].

## I.6 Application des microalgues :

La diversité des espèces et la richesse en métabolites permet un large panel d'applications impliquant ainsi de nombreux secteurs industriels. Les algues microscopiques jouent un rôle important dans de nombreux domaines (Tableau I. 5).

**Tableau I.5 :** Certains espèces de microalgues avec leurs produits et domaines d'application [35].

Espèces	Produits	Domaines d'application
<i>Spirulina</i> Cyanobactérie	Phycocyanine Biomasse	Aliments naturels Cosmétique
<i>Chlorella vulgaris</i> Chlorophycée	Biomasse	Aliments naturels Suppléments alimentaires Substituts alimentaires
<i>Dunaliella salina</i> Chlorophycée	$\beta$ -carotène	Aliments naturels Suppléments alimentaires Substituts alimentaires
<i>Haematococcus pluvialis</i> Chlorophycée	Astaxanthine	Aliments naturels Suppléments alimentaires Substituts alimentaires
<i>Odontella aurita</i> Bacillariophycée	AGPI	Pharmaceutique Cosmétique Aliments pour enfants
<i>Porphyridium cruentum</i> Rhodophycée	Polysaccharides	Pharmaceutique Cosmétique Nutrition
<i>Isochrysis galban</i> Chlorophycée	AGPI	Nutrition animale
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> Bacillariophycée	Lipides AGPI	Nutrition Production de carburants
<i>Lyngbya majuscula</i> Cyanobactérie	Immunomodulateur	Pharmaceutique Nutrition
<i>Muriellopsis</i> sp. Chlorophycée	Lutéine	Aliments naturels Suppléments alimentaires Substituts alimentaires

Les microalgues sont utilisées en agriculture comme engrais biologique pour la fertilisation des sols pauvres, en particulier les sols sahariens squelettiques, dont la structure est amoindrie par l'abondance des ions sodium dans l'eau d'irrigation, ce qui engendre des conditions asphyxiantes très défavorables; ainsi l'apport d'algues microscopiques riches en azote à ce type de sol, peut corriger l'insuffisance en matières organiques. Par ailleurs, les microalgues constituent également un gisement prometteur de molécules d'intérêt pour de

nombreux secteurs d'activité tels que la santé, la pharmacie, la cosmétologie, l'agroalimentaire et la chimie et les énergies renouvelables.

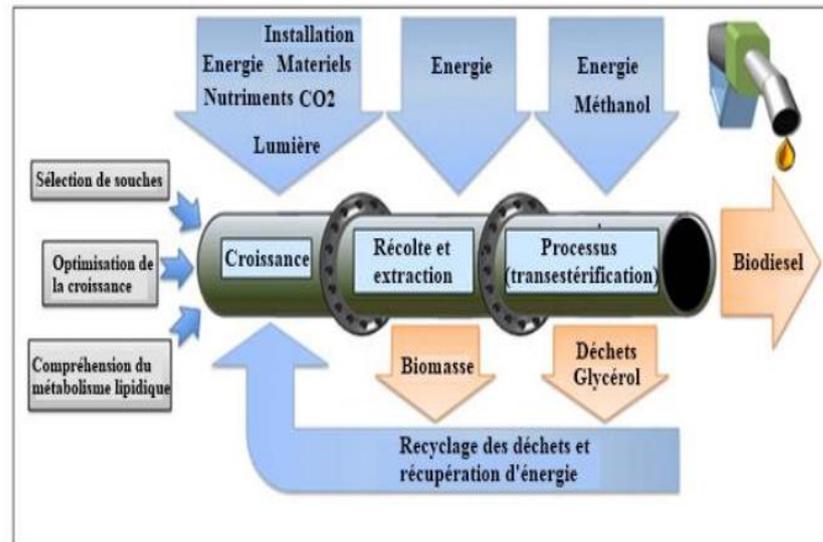
### **I.6.1 Applications des microalgues en bioénergie :**

Les microalgues se présentent comme une alternative aux énergies d'origine fossile pour réduire les émissions de gaz à effet de serre (GES) et assurer une indépendance énergétique [36]. La valorisation de la biomasse algale peut se traduire par la production de bioénergie sous forme d'électricité et/ou de chaleur par combustion directe, ou sous forme de biométhane après méthanisation ou sous forme de biocarburant ou d'hydrogène. Cependant, cette valorisation ne sera concurrentielle qu'avec une forte productivité de biomasse, une possibilité de récolte mécanique simple et un coût de production plus réduit que les procédés mettant en œuvre d'autres types de biomasse [37].

Les microalgues servent à la fabrication de biodiesel, parmi les autres biocarburants de troisième génération figure les alcools, comme le bio-propanol, le bio-butanol ou le bioéthanol, qui, compte tenu du manque d'expérience de leur production, ne devraient pas être présents sur le marché des carburants avant 2050 [38].

#### **I.6.1.1 Production de biodiesel :**

Le biodiesel est un carburant propre qui peut être mélangé au diesel fossile, du fait que leurs propriétés physiques sont similaires et compatibles [39]. Le contenu lipidique dans les microalgues dépend des conditions de culture. Une carence en nitrate est utilisée pour orienter le métabolisme vers l'accumulation de lipides, notamment des triacylglycérols (TAG), intéressants pour la production de biodiesel [40] (Figure I.8).



**Figure I.8 :** Schéma du principe de production du biodiesel à partir des microalgues.

Les microalgues contiennent une mixture d'acides gras insaturés, notamment l'acide palmitoléique, l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide linoérique ainsi que des acides gras saturés, à titre d'exemple, l'acide palmitique et l'acide stéarique [39].

Les souches microalgales comme *Chlorella vulgaris*, *Spirulinamaxima*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Nannochloropsis* sp, *Neochloris oleoabundans*, *Scenedesmus obliquus*, *Nitzschia* sp., *Schizochytrium* sp., *Chlorella protothecoides*, *Dunaliella tertiolecta* ont été sélectionnées par plusieurs auteurs comme étant les espèces les plus productives de point de vue lipides, autrement dit comme meilleures sources pour la production du biodiesel [39].

### I.7 Extraction des lipides :

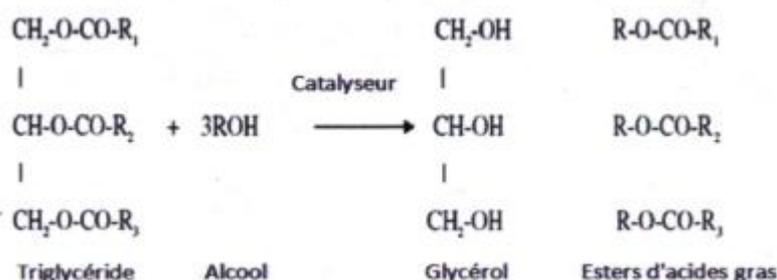
L'extraction des lipides (séparation des lipides à partir de la biomasse) est une étape critique dans la production de biodiesel. L'extraction des lipides des microalgues implique généralement l'utilisation de solvants organiques tels que les alcanes (hexane, heptane), les alcools (méthanol, éthanol, propanol), les solvants chlorés (chloroforme, dichlorométhane), et solvants alternatifs tels que le CO<sub>2</sub> super critique, éthers, esters. Le chloroforme et le méthanol ont été jugés plus efficaces pour l'extraction des lipides à partir de microorganismes [40-44]. Les lipides sont extraits et sont convertis en biodiesel par une réaction de transestérification. Lors de cette réaction, les triglycérides réagissent avec un alcool, généralement le méthanol, pour former des esters d'acides gras (le biodiesel) et du glycérol comme sous-produit. En plus du biodiesel, la biomasse résiduelle et le glycérol sont valorisables afin de diversifier les sources de profits. Le glycérol séché peut servir de

déshydratant chimique ou encore être utilisé dans les produits pharmaceutiques et cosmétiques, ainsi que dans l'industrie chimique. La biomasse résiduelle peut être convertie par différents procédés en biocarburants [45].

La technique conventionnelle d'extraction implique la concentration de la biomasse en pâte, son séchage, suivi d'une extraction aux solvants sélectifs, (hexane ou encore le chloroforme, benzène, cyclohexane, acétone, etc.). Le solvant organique détruit la cellule et solubilise les lipides en fonction de son affinité. Le chloroforme a une affinité pour les lipides polaires (constitués principalement de phospholipides, de stérols et de sphingolipides) et les lipides neutres (constitués principalement de triglycérides, d'esters, de stérols de cires estérifiées et de cétones). L'hexane tend plutôt à extraire majoritairement les lipides neutres. L'hexane est généralement le solvant de choix en raison de son affinité, de son rendement et de son faible coût. La combinaison de solvants à une technique de broyage mécanique ou physique permet également d'augmenter le rendement d'extraction [46]. Les lipides sont séparés du solvant par un procédé de distillation. Le solvant est récupéré et peut être réutilisé pour d'autres extractions [47].

### I.8 Définition de la transestérification :

La transestérification est une réaction de triglycérides avec un alcool, en présence ou non d'un catalyseur (l'hydroxyde de potassium ou l'hydroxyde de sodium pour accélérer la réaction), pour former des esters d'acide gras (biodiésel) et du glycérol comme sous-produit [48,49]. Le méthanol et l'éthanol, qui sont les alcools les plus appropriés, forment respectivement un ester méthylique et un ester éthylique. On utilise habituellement le méthanol, car il est le moins cher des alcools (Figure I. 9) [50-52].



**Figure I.9 :** Réaction de transestérification [53].

En termes de proportion, la réaction requiert 3 moles d'alcool par mole de triglycérides pour produire 3 moles de biodiésel et de glycérol. Comme la réaction est réversible, l'alcool

doit être ajouté en excès pour favoriser la formation d'esters d'acide gras, et le ratio est généralement de 6:1 alcool/huile [54]. La transestérification peut se faire dans des conditions supercritiques ou subcritiques, assistée par des ultrasons ou des micro-ondes, en présence d'enzymatique ou de catalyseur acide ou basique [48.50].

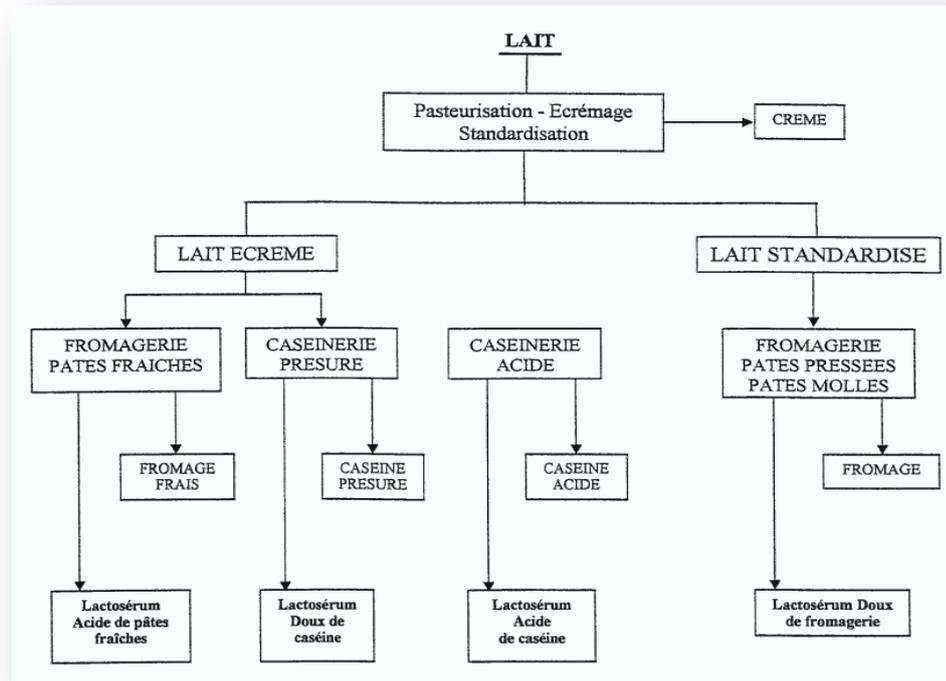
Les premières applications de cette réaction ont eu lieu durant la deuxième guerre mondiale pour fabriquer la glycérine qui était un composant essentiel des matières explosives. Les esters des acides gras sont des liquides dont la viscosité est entre 7 et 11 fois inférieure à ceux de l'huile mère [55-57], en plus leur point de fusion et leur point trouble sont nettement inférieurs à celle de l'huile mère [55,56]. A côté de ces caractéristiques, les esters des acides gras ont des propriétés proches de celles du gasoil tel l'indice de cétane qui est meilleur que celui du gasoil [58-60], leur point éclair assez élevé assure une sécurité lors de leur manipulation [59,61,62].

On ajoute à ces caractéristiques leur biodégradabilité, leur basse toxicité [58-60,63], en plus leur origine leur offre l'avantage d'être renouvelables avec un bilan de CO<sub>2</sub> nul. Toutes ces caractéristiques les rendent attractives comme des carburants alternatifs pour les moteurs diesel et on leur donnait le nom de biodiesel.

## **I.9 Lactosérum :**

Le lactosérum, aussi appelé petit lait, est la partie liquide issue de la coagulation du lait. Il est composé à 94% (V/V) d'eau, 4-5% (m/V) de lactose et 0,5-1% (m/V) de protéines lactières, de vitamines et de minéraux [64] (Figure I.10). C'est le principal produit secondaire obtenu lors de la fabrication du fromage.

À l'intérieur de ce procédé, le filtrat, ou concentré de protéines de lactosérum, peut être directement ajouté aux fromages et au yaourt afin d'en augmenter la valeur nutritive et la qualité des produits, ou encore séché et vendu sous la forme d'une poudre alimentaire. En effet, les protéines de lactosérum ( $\beta$ -lactoglobuline,  $\alpha$ -lactalbumine, immunoglobuline, albumine sérique bovine, lactoferrine, lactoperoxydase et glycomacropeptide) sont des aliments fonctionnels et produits de santé reconnus [65].



**Figure I.10 :** Organigramme de l'obtention des principaux types de lactosérums issus de la première transformation du lait [67].

Cependant, il est à noter qu'aucune stratégie de valorisation du lactosérum n'atteindra cet objectif sans valoriser le lactose car ce dernier représente plus de 75% des solides dissous du lactosérum [64].

Le lactosérum est caractérisé par son état physique liquide, son pH: 6 à 6,5 , sa couleur vert jaunâtre, qui est due à la présence de la riboflavine (vitamine B2), sa richesse en lactose, en protéines solubles, en sels minéraux et en vitamines hydrosolubles et par sa sensibilité à diverses fermentations [66]. Sa composition varie selon origine [67]. Les variations sont données par le tableau :

Tableau I.6 :La composition de lactosérums

composition	g/L
Matière sèche totale	50 à 65 g/l
Lactose	39à 48 g/l
acide lactique	1à8 g/l
matière grasse	0.5à 3 g/l
sels minéraux	3à 6 g/l
matières azotées	6à8 g/l

### I.9.1 Utilisation du lactose par les microalgues :

Jusqu'à ce jour, les essais de culture de microalgues effectués avec le lactose comme source de DOC se sont avérés peu concluants [68.69.70.71]. En effet, la présence de lactose dans le milieu de culture des algues testées ne semble pas stimuler leur croissance comparativement aux contrôles. Toutefois, certaines espèces de microalgues présentent une activité  $\beta$ -galactosidase [72]. Cette enzyme est responsable du clivage du disaccharide lactose (Figure I. 11) en ses deux constituantes : le glucose et le galactose. La présence d'une telle activité enzymatique chez ces espèces de microalgues mixotrophes leur permet théoriquement de pouvoir utiliser le lactose pour leur croissance.

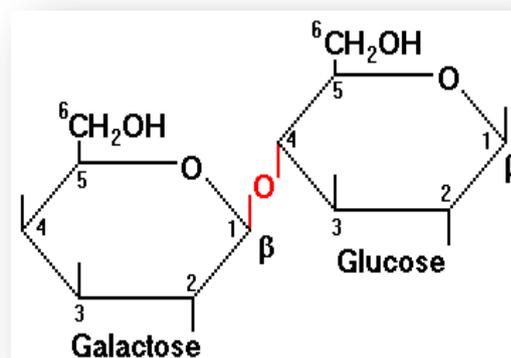


Figure I.11 :Structure moléculaire du lactose.

De plus, la présence de lactosérum dans le milieu de culture a déjà permis de stimuler la croissance des microalgues *Anacystis nidulans*, *Nannochloris* sp., *Dunaliella tertiolecta* et *Euglena gracilis* [73,74]. Cette stimulation pourrait être attribuable à l'utilisation du lactose

et/ou aux autres constituantes du lactosérum. En effet, il a récemment été démontré que l'ajout d'une poudre de lactosérum brut au milieu de culture pouvait stimuler la croissance de *Chlorella vulgaris* [75]. Cette stimulation pourrait être due à la présence de certains nutriments tels le phosphore et calcium. Une hydrolyse préalable du lactose a également permis de stimuler significativement les rendements de biomasse et le taux de croissance de culture de cette espèce grâce à l'utilisation du glucose et du galactose comme source de DOC en conditions mésotrophes [75, 76]

## Références bibliographiques

---

- [1] Gouveta L. 2011. Microalgae as a Feedstock for Biofuels, London: Springer, pp. 1 – 69, 2011.
- [2] Becerra Celis G.P.2009. ‘Proposition de Stratégies de Commande pour la Culture de Microalgues dans un Photobioréacteur Continu’, Thèse de Doctorat, Ecole Centrale des Arts et Manufactures’ 243 p.
- [3] MATA T.M. and MARTINS A.A. and CAETANO N.S. 2010. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, Jan.2010 vol. 14, no. 1, p.217-232.
- [4] GHOBRI D. and AIBOUD K. and YAKOUB-BOUGDAL S. 2014. Effect of red and far-red light on biomass productivity on *Chlorella vulgaris* cultivated on photobioreactor. BioTech 2014 and Czech-Swiss symposium, 11 – 14 Jun 2014, Praha Czech Republic.
- [5] <http://algue-production-energie.e-monsite.com/pages/la-production-d-energie/la-production-d-energie.html>.
- [6] Khan, M. I and. Shin, J. Hand. Kim, J. D. 2018. The promising future of microalgae: current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed , and other products. *Microbial Cell Factories*.17(1): 1-21
- [7] PERSON J. 2010. Livre turquoise – Algues, filières du futur. *Édition AdebioTech*, Romainville, 163 p.
- [8] Ozkurt, L, 2009. Qualifying of safflower and algae for energy. *Energy Education Science and Technology*. 23 : 145-151.
- [9] Belkadi M.E.A. 2009. ‘Etude Technique pour la Valorisation Énergétique des Microalgues’, Mémoire de Magister en Management des Projets Énergétique, Université M’Hamed Bougara, Boumerdes, 49 p.
- [10] Demirbas A. and Demirbas M.F.2010. ‘Algae Energy: Algae as a New Source of Biodiesel’, London, Springer, pp. 29 – 47.
- [11] Świątek Z. ‘Algae – Feedstock of the Future’, *Archivum Combustionis*, Vol. 30, N°3, pp.
- [12] Cadoret J.-P and. Bernard O. 2008. La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis, *J. Soc. Biol.*,202, 201- 211.  
-ANONYME1, 2004) [http : //WWW.La chlorelle \(ou \*Chlorella\*\), aliment miracle ou fabulations .html](http://WWW.La-chlorelle-(ou-Chlorella),-aliment-miracle-ou-fabulations.html)
- [13] CRIBIQ, Algocarburant. 2011. Volet 3: Récolte-fractionnement de la biomasse-Séparation des huiles, Consortium de recherche et innovations en bioprocédés industriels du Québec(CRIBIQ),45 p.
- [14] Phukan M. M. and Chutia R. S. and Konwar B. K. and Kataki R. 2011. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock, *Applied Energy*. -<http://www.shigen.nig.ac.jp/algae/images/strainsimage/nies-0642.jpg>
- [15] Pulz, O., 2001. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 57, 287–293.

## Références bibliographiques

---

- [16] Khan, M. I. and Shin, J. H. and Kim, J. D. (2018). The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and other products. *Microbial Cell Factories*, 17(1), 1–21. <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0879-x>.
- [17] Cadoret, J.-P. and Bernard, O. (2008). La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis. *Journal de La Société de Biologie*, 202(3), 201–211. <https://doi.org/10.1051/jbio:2008022>.
- [18] Cantin I. 2010 'La Production de Biodiesel à Partir des Micro Algues ayant un Métabolisme Hétérotrophe', Canada, Centre Universitaire de Formation en Environnement, Université de Sherbrooke, 87 p.
- [19] Moheimani N.R.. 2005. The culture of coccolithophorid algae for carbon dioxide bioremediation. PhD, Murdoch University, Perth, Australia.
- [20] Brennan L. and Owende P., 2010. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14: 557-577.
- [21] Chen H. and Jiang J.G., 2009. Osmotic responses of *Dunaliella* to the changes of salinity. *J. Cell. Physiol*, 219: 251-258.
- [22] Andersen R.A. (2005). *Algal culturing techniques*. Elsevier Academic Press.
- [23] Richmond A. (2004). *Handbook of Microalgal Culture. Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Science.
- [24] Salomez M., 2009, opportunités de développement de la filière microalgues à l'île de la Réunion. P32.
- [25] Chen, F. and Johns, M.R. A. 1995. Strategy for high cell density culture of heterotrophic microalgae with inhibitory substrates. *Journal of Applied Phycology*, Volume 7, Number 1, pp. 43-46.
- [26] Ying Shen Z. P. 2009. "Effect of nitrogen and extraction method on algae lipid yield. *Int J Agric Biol Eng*," *Int. J. Agric. Biol. Eng.*, vol. 2, no. 1.
- [27] Pienkos, P.T. and A. Darzins, 2009, The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuels, bioproducts & biorefining*, 3, 4, pp. 431-440.
- [28] Li, Y. and Horsman, M. and Wu, N. and Lan, C.Q. et Dubois-Calero, N. (2008). Biofuels from Microalgae. *Biotechnology progress*, vol. 24, n° 4, p. 815-820.
- [29] PNUE. 2009. Vers la production et l'utilisation durables des ressources : Evaluation des biocarburants. Rapport du Groupe international d'experts sur la gestion durable des ressources, 96p.
- [30] Trivedi, J. and Aila, M. and Bangwal and D.P. and Kaul, S. and Garg, M.O., 2015. Algae based biorefinery—How to make sense? *Renew. Sustain. Energy Rev.* 47, 295–307. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.03.052>.

## Références bibliographiques

---

- [31] Hariskos, I., and Posten, C. (2014). Biorefinery of microalgae - opportunities and constraints for different production scenarios. *Biotechnology Journal*, 9(6), 739–752. <https://doi.org/10.1002/biot.201300142>
- [32] JENCK J. and LEPINE O. and LEGRAND J. and DRENO P. and GRIZEAU D. and DUPRE C. 2011. 'Valorisation Industrielle des Micro Algues Photosynthétiques', Ed., Technique de l'ingénieur, 13 p.
- [33] PERSON J., 2010. Livre turquoise – Algues, filières du futur. Édition Adebitech, Romainville, 163 p.
- [34] Hu, Q. and Sommerfeld, M. and Jarvis and E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., Darzins, A., 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. *Plant J.* 54, 621–639. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03492.x>
- [35] Pulz, O. et Gross, W.; (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65, 635–648.
- [36] BECERRA-CELIS, G. P., 2009. Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un photobioréacteur continu. Thèse de Doctorat, Ecole supérieure d'électricité, Gif-sur-Yvette (France).
- [37] FILALI, 2012. Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique du CO<sub>2</sub>. Ecole supérieure d'Électricité / Supelec, Paris, 224 p.
- [38] Document Technique, 'PNUE. Vers la Production et l'Utilisation Durables des Ressources: Evaluation des Biocarburants', Rapport du Groupe International d'Experts sur la Gestion Durable des Ressources, 96 p., 2009.
- [39] Gouveta L. 2011. *Microalgae as a Feedstock for Biofuels*, London: Springer, 2011, pp. 1 – 69. Source: <http://www.researchalgae.com>.
- [40] Jenck J. and Lépine O. and Legrand J. and P. Dreno, D. Grizeau and C. 2011. Dupré, 'Valorisation Industrielle des Micro Algues Photosynthétiques', Ed., Technique de l'Ingénieur, 13 p.
- [41] Vicente, G., Bautista, L.F., Rodriguez, R., Gutiérrez, F.J., Sédaba, I., Ruiz-Vézquez, R.M., TorresMartinez, S., Garre, V., 2009a. Biodiesel production from biomass of an oleaginous fungus. *Biochemical Engineering Journal* 48, 22-27.
- [42] Cheirsilp, B. and Cheirsilp, B. and Suwannarat, W., Niyomdechâ, R., 2011-1.. Mixed culture of oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and microalga *Chlorella vulgaris* for lipid production from industrial wastes and its use as biodiesel feedstock. *New Biotechnology* 28, 362-368.
- [43] Cheng, C.-H., Du, T.-S., Pi, H.-C. and Jang, S.-M., Lin, Y.-H. and Lee, H.-T., 2011-. Comparative study of lipid extraction from microalgae by organic solvent and supercritical CO<sub>2</sub>. *Bioresource Technology* 102, LOISL-1015.
- [44] Boyd, A. R., Champagne, P., McGinn, P.J., MacDougall, K. M., Melanson, J. E., Jessop, P.G., 2012. Switchable hydrophilicity solvents for lipid extraction from microalgae for biofuel production. *Bioresource Technology* 118, 628-63.
- [45] Cooney M. J. and Young G. Pate and R., 2011 Bio-oil from photosynthetic microalgae: Case study, *Bioresource Technology*, 102, 166-177.

## Références bibliographiques

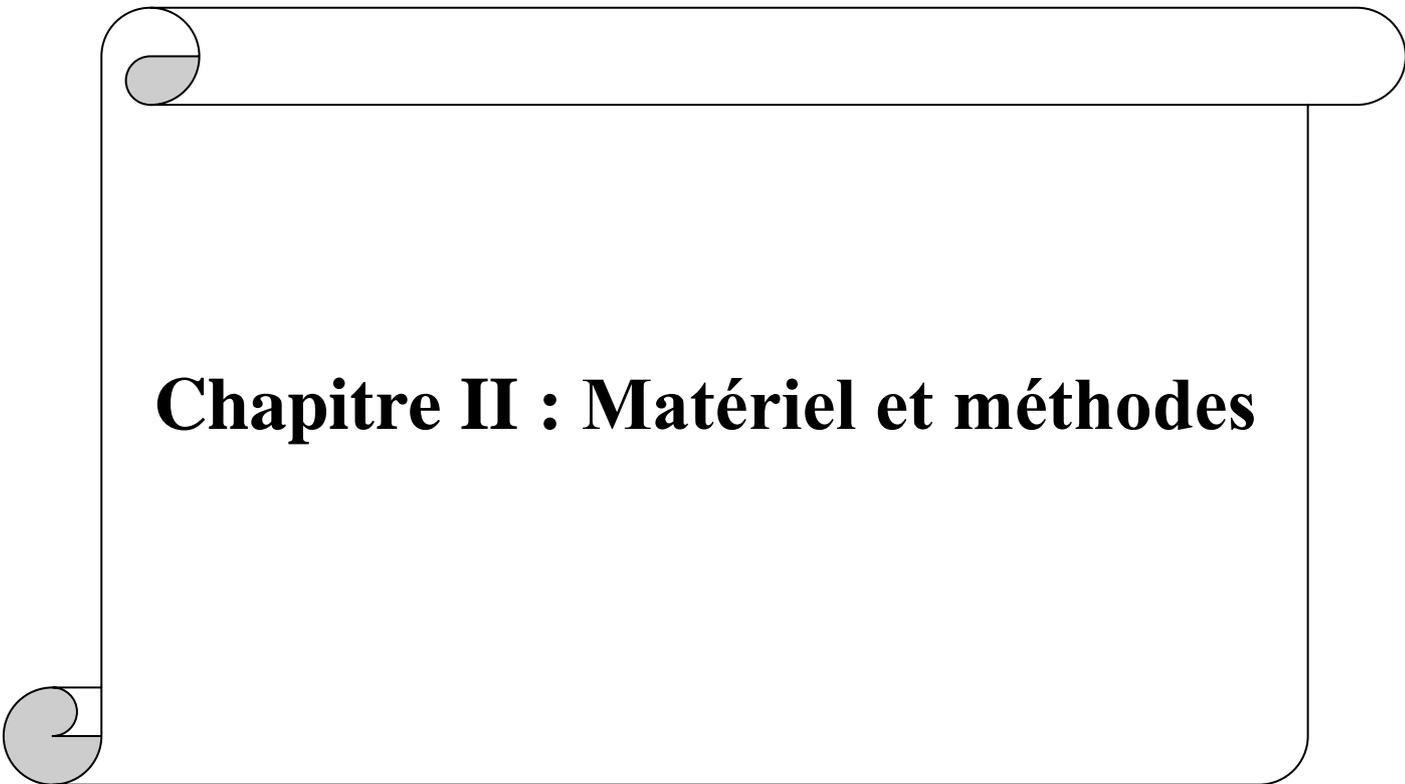
---

- [46] Gong Y. and Jiang M., 2011. Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel, *Biotechnology Letters*, 1-16.
- [47] Singh J. and Gu S., 2010 Commercialization potential of microalgae for biofuels production, *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2010,14, 2596-2610.
- [48] Andrade J. E. and Perez A. and Sebastian P. J. and Eapen D. 2011 A review of bio-diesel production processes, *Biomass and Bioenergy*, 35, 1008-1020.
- [49] Demirbas A. 2010. Use of algae as biofuel sources, *Energy Conversion and Management*, 51, 2738-2749.
- [50] Huang G. and Chen F. and Wei D. and Zhang X. and Chen G. 2010. Biodiesel production by microalgal biotechnology, *Applied Energy* 2010, 87, 38-46.
- [51] Greenwell H. C. and Laurens L. M. L. and Shields R. and Lovitt R. W. and Flynn K. J. n. 2010. Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges, *Journal of The Royal Society Interface*, 7, 703-726.
- [52] Durrett T. P. and Benning C. and Ohlrogge J. 2008. Plant triacylglycerols as feedstocks for the production of biofuels, *The Plant Journal*. 54, 593-607.
- [53] Leung D. Y. C. and Wu X. and Leung M. K. H. 2010. A review on biodiesel production using catalyzed transesterification, *Applied Energy* 2010, 87, 1083-1095.
- [54] Peralta Y. and Sanchez E. and Kafarov V. 2010. Exergy analysis for third generation biofuel production from microalgae biomass, *Chemical Engineering Transactions* 21, 1363-1368.
- [55] Phan A. N., Phan T. M., Biodiesel production from waste cooking oils, *Fuel* 2008; 87: 3490–3496
- [56] Agarwal A. K., Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines, *Progress in Energy and Combustion Science* 2007; 33: 233–271
- [57] Predojevic Z. J., The production of biodiesel from waste frying oils: A comparison of different purification steps, *Fuel* 2008; 87: 3522–3528.
- [58] Knothe G., Biodiesel and renewable diesel: A comparison, *Progress in Energy and Combustion Science* 2010; 36: 364–373
- [59] Rakopoulos C.D., Antonopoulos K.A., Rakopoulos D.C., Hountalas D.T., Giakoumis E.G., Comparative performance and emissions study of a direct injection Diesel engine using blends of Diesel fuel with vegetable oils or bio-diesels of various origins, *Energy Conversion and Management* 2006; 47: 3272–3287
- [60] Balat M., Balat H., A critical review of bio-diesel as a vehicular fuel, *Energy Conversion and Management* 2008; 49: 2727–2741.
- [61] Srivastava P.K., Verma M., Methyl ester of karanja oil as an alternative renewable source energy, *Fuel* 2008; 87: 1673–1677
- [62] Graboski M. S. & McCormick R. L., Combustion of fat and vegetable oil derived fuels in diesel engines, *Progress in Energy and Combustion Sciences*. 1998; 24: 125-164.
- [63] Demirbas A., Biofuels sources, biofuel policy, biofuel economy and global biofuel projections, *Energy Conversion and Management* 2008 a; 49: 2106–2116.
- [64] Smithers, G.W. 2008. Whey and whey proteins—From ‘gutter-to-gold’. *International Dairy Journal*, 18(7), 695-704.
- [65] Solak, B.B., Akin, N. 2012. Health benefits of whey protein: a review. *Journal of food science and engineering*, 2, 129-137.
- [66] Saadaoui L. - Le lactosérum Algérien : aspect compositionnel, thèse de DES. Université de Constantine, 1981

## Références bibliographiques

---

- [67] Boudier.J.F. et al. - Actualités scientifiques et techniques en industries agro-alimentaires Association pour la promotion de l'industrie agricole, N°21, 1987.
- [68] Garci, M.C.C., Sevilla, J.M.F., Fernandez, F.G.A., Grima, E.M., Camacho, F.G. 2000. Mixotrophic growth of *Phaeodactylum tricornutum* on glycerol: growth rate and fatty acid profile. *Journal of Applied Phycology*, 12(3-5), 239-248.
- [69] Samejima, H., Myers, J. 1958. On the heterotrophic growth of *Chlorella pyrenoidosa*. *Journal of General Microbiology*, 18(1), 107-17.
- [70] Theriault, R.J. 1965. Heterotrophic Growth and Production of Xanthophylls by *Chlorella pyrenoidosa*. *Applied Microbiology*, 13(3), pp. 402-416.
- [71] Wang, Y., Peng, J. 2008 Growth-associated biosynthesis of astaxanthin in heterotrophic *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta). *World J Microbiol Biotechnol* 24, pp. 1915–1922.
- [72] Davies, C.M., Apte, S.C., Peterson, S.M., Stauber, J.L. 1994. Plant and algal interference in bacterial beta-d-galactosidase and beta-d-glucuronidase assays. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(11), 3959-3964.
- [73] Durmus, N., Tasli, O., Kadioglu, A. 1999. The Effect of Whey on the Growth of some Algae. *Fresenius Envir. Bull.*, 8, pp. 296-303..
- [74] Freyssinet, G., Nigon, V. 1980. Growth of *Euglena gracilis* on Whey. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 9, 295-303.
- [75] Abreu, A.P., Fernandes, B., Vicente, A.A., Teixeira, J., Dragone, G. 2012. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. *Bioresource Technology*, 118(0), 61-66.
- [76] Jean-Michel Bergeron Girard " UTILISATION DU LACTOSÉRUM DANS UN PROCÉDÉ DE CULTURE DE MICROALGUES MIXOTROPHES POUR LA PRODUCTION DE BODIESEL," Thèse de doctorat , UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE, (Québec) Canada, 2014.



## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

Le présent travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Biomasse de l'Unité de Recherche Appliquée en Energies renouvelables (URAER), Ghardaïa.

### **II.1 Matériel biologique :**

Le matériel biologique de cette étude est la souche microalgale *Chlorella* sp. Qui provient de la collection (algorithme) du laboratoire de Biomasse de l'Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables UAREAR (Ghardaia). Elle a été isolée en mois de Janvier 2019 à partir d'un échantillon d'eau prélevé d'un bassin qui appartient aux travaux d'un puits de forage d'eau situé à Metlili dans la wilaya de Ghardaïa



**Figure 1.** Photographie présentant l'aspect macroscopique de *Chlorella* sp. sur le milieu

BG 11

### **II.2 Méthodes :**

La souche de *Chlorella* sp., de couleur jaune, a été isolée sur le milieu de culture à base de sels minéraux BG11 (tableau II.1)

Tableau II.1 : Composition du milieu BG11

Composants	Concentrations dans le milieu (mg/L [eau distillée])
$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (l'urée)	1100
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	238
$\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$	204
$\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}_8\text{N}_2$ (EDTA)	40
$\text{CaCl}_2$	88
$\text{H}_3\text{BO}_3$	0,832
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,946
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	3,294
$\text{CoSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,616
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	2,678
$(\text{NH}_4)_6\text{MO}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,172
$(\text{NH}_4)\text{VO}_3$	0,0014

Ce milieu convient à toutes les souches de microalgues, principalement, vertes et aux cyanobactéries. En supposant l'existence, même en faible concentration, d'espèces particulières, ce milieu est utilisé pour favoriser la prolifération du plus grand nombre d'espèces possible. En effet, le milieu BG11 favorise la croissance des algues du sol, des eaux douces, thermales et des eaux mère.

Avant la préparation de milieu BG11, elle est conseillée de préparer des solutions mères concentrées pour une meilleure utilisation des sels.

### II.2.1 Préparation du milieu de culture :

Pour maintenir la souche de *Chlorella* sp réactive sur son milieu dans des boîtes de Pétrie. Le milieu BG 11 est solidifié par de l'agar à 15% et ajusté le pH à 7 avant autoclavage avec du NaOH 1N. Par ailleurs, du  $\text{NaNO}_3$  est mis dans le milieu à la place de l'urée car l'urée est thermolabile (instable à des températures élevées). Le milieu préparé est autoclavé à 121°C pendant 15 minutes pour assurer sa stérilisation. Après autoclavage, le milieu est écoulé dans des boîtes de Pétrie puis laissé à refroidir au niveau de la hotte

### II.2.3 Culture hétérotrophe de *Chlorella* sp :

Les techniques de culture des microalgues exigent beaucoup de soins. Le travail doit s'effectuer dans une zone stérile (lahotte à flux laminaire) à proximité du bec Benzène la flamme crée autour d'elle une sphère stérile grâce à la chaleur qu'elle dégage (20cm de diamètre). Il est alors possible de travailler en conditions stériles dans cette sphère.

#### II.2.3.2 Préparation des préculture (culture mère) :

Afin de faire l'inoculation à partir des échantillons de microalgues contenus dans des boîtes de Pétri. Une préculture, phase d'adaptation de la souche et de sa multiplication, a été réalisée comme suit : selon Ghobrini [1], pour réussir une préculture, une quantité de  $10^8$  cellules/ ml de la souche doit être inoculée dans 250 ml de milieu. A cet effet, la souche de *Chlorella* sp en culture en milieu solide, a été inoculée à hauteur de  $10^8$  cellules/ml dans 250 ml du milieu BG11, additionné de 10 g/l de glucose et cela au niveau de la hotte pour éviter toute contamination bactérienne. Dans cette opération deux Erlenmeyers de 500 ml ont été utilisés. Ces derniers sont hermétiquement scellés avec des bouchons en papier. Le pH est ajusté à 7 avant autoclavage ( $110\text{ }^\circ\text{C}$ , 15 min)[2]. En outre, les précultures sont incubées sur un agitateur orbital type (Wisd SHO-2D) à 150 tr/min et sont maintenues à l'obscurité à une température de  $(30 \pm 2)\text{ }^\circ\text{C}$  (Figure II. 2).



**Figure II.2 :** Préparation des précultures.

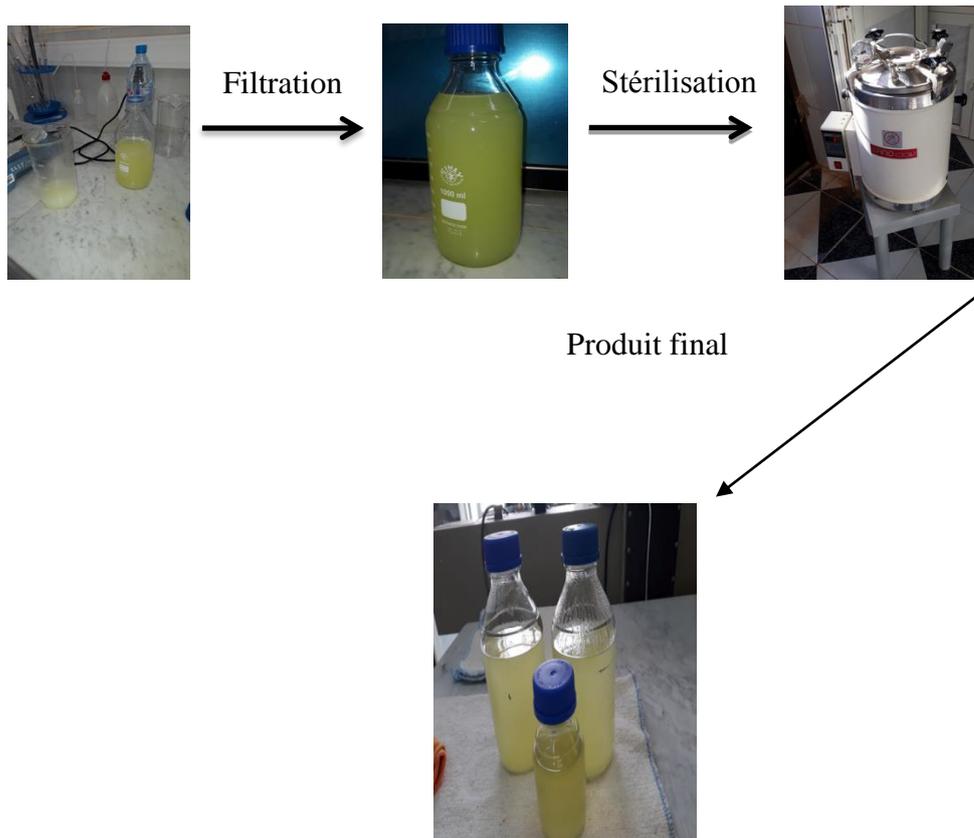
## II.4 Préparation du lactosérum pour la culture algale :

Le lactosérum utilisé est de type acide pH=5,2. Il est collecté au niveau d'une usine de production de lait locale Elalouani de la région de Ghardaïa . Le lactosérum conservé dans un réfrigérateur à 4°C. Pour son utilisation et pour une productivité de la souche sélectionnée, le pH du milieu a été ajusté à 7,4 par du NaOH 5M.

### II.4.1 Traitement du lactosérum :

Avant son utilisation, le lactosérum collecté doit suivre une batterie de traitement, afin de le rendre utilisable par la souche de *Chlorella sp.* Localement isolée. A cet effet, le lactosérum sera préparé comme décrit par comme suit (Figure II.3) :

- L'effluent est autoclavé à 110°C pendant 15 minutes puis filtré à travers un tissu pour séparer la matière solide du liquide.
- Après un repos de 24 dans un réfrigérateur, le pH de l'effluents est élevé à 7.4 avec du NaOH (5M). Ensuite, il est chauffé à 80 °C pendant 10 min sous agitation magnétique.
- Le lactosérum est autoclavé à 110 °C pendant 15 minutes, puis il est filtré une deuxième fois.
- Enfin, le lactosérum obtenu, de couleur jaune clair, est conservé au réfrigérateur à (4 °C) avant son utilisation.



**Figure II.3 :** Les étapes de traitement du lactosérum

#### **II.4.2 Méthode de Paramètres chimique :**

La méthode de quelque exemple comment manipulès et calculer:

##### **Azote ammoniacal selon le norme : unité : mg/l NH<sub>4</sub>:**

La présence d'azote ammoniacal (NH<sub>4</sub>) dans une eau traduit un processus de dégradation incomplète de la matière organique. Une première méthode de détermination se fait par la mise en oeuvre d'une réaction colorée et d'un dosage en spectrophotométrie d'absorption moléculaire. Elle permet de doser des concentrations faibles pour les eaux de consommation et les eaux de rivières.

Une deuxième méthode de dosage permet de doser des concentrations plus importantes notamment dans les eaux industrielles ou résiduaires en mettant en oeuvre un dosage

volumétrique après entraînement à la vapeur en milieu basique. L'analyse se poursuit par un dosage titrimétrique avec un acide titré.

**-Manipulation:**

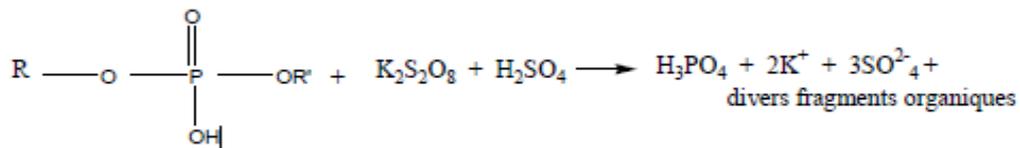
Dans une fiole jaugée de 50 ml, 40 ml de l'échantillon + 4 ml réactif colore + réactif + additif de Dichloroisocyanurate de sodium elle 40 min \_\_\_\_\_ 1 h après donne le mélange dans la Appareil spectrométrique le nombre maximum 0.5 mg/l Dichloroisocyanurate.

**Phosphates:**

**-Manipulation:**

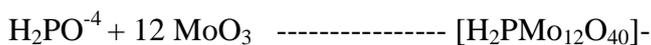
Pour doser les phosphates, on a utilisé le réactif des phosphates. Celui-ci est un mélange de thiosulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>), d'acide ascorbique et de l'oxyde de molybdène. Comme le phosphate existe sous plusieurs formes, celle qui est organique doit être préalablement minéralisée. Les ions phosphates réagissent avec l'oxyde de molybdène pour donner un complexe phosphomolybdique jaune qui réagira à son tour avec l'acide ascorbique en donnant les espèces de molybdène colorées en bleu et dosées par colorimétrie. Ainsi on observe les réactions ci-après :

Conversion des différentes formes du phosphore :



(R et R' sont les groupement organiques)

Formation du complexe phosphomolybdique:



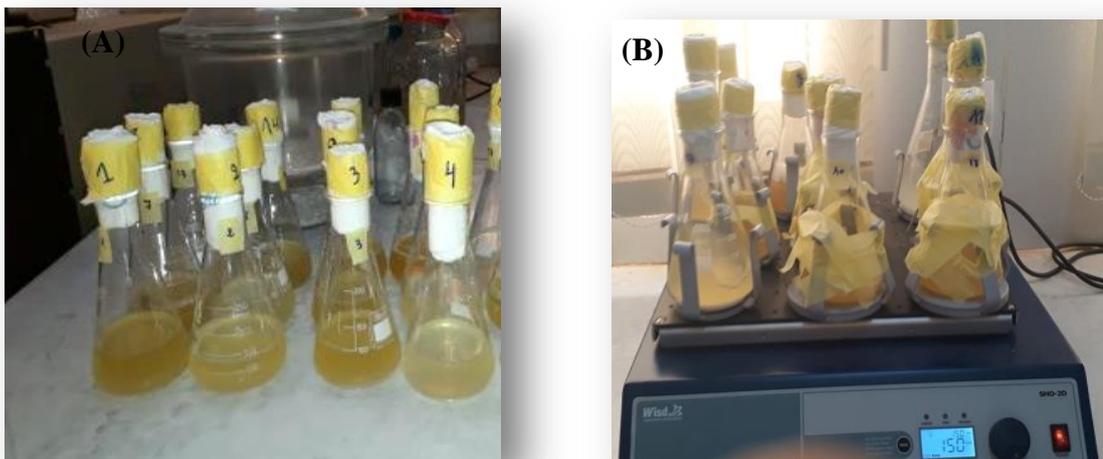
Formation des espèces du molybdène:



### II.5 Culture de la souche localement isolée *Chlorella* sp :

La souche *Chlorella* sp. a été cultivée, en hétérotrophie, dans deux types de milieux à savoir le BG11 et différentes combinaisons du lactosérum (Tableau II.2). Tous les milieux ont été initialement supplémentés de 10 g/L de glucose et le pH est ajusté à 7.

Les cultures ont été réalisées dans des erlenmeyers, scellés par des bouchons en papier et autoclavés à une température de 110°C pendant 15 minutes. Une fois les milieux autoclavés, sont inoculés, puis les erlenmeyers sont placés sur l'agitateur orbitale à (150 tr/min ; 30°C) à l'obscurité pendant 5 jours. Pour cette phase chaque milieu de culture contient un volume d'inoculum de 10% (v/v) [2]. Les cultures ont été réalisées en doubles, lancées simultanément, une répétition pour chaque condition (Figure II .4).



**Figure II.4 :** La culture de *Chlorella* sp. dans différents milieux de culture testé

**Tableau II.2** :Milieux utilisés pour l'étude de la cinétique de croissance de *Chlorella* sp.

Erlenmeyers	Milieux de culture	Supplément
DW1	Lactosérum	- KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (1 g/L) - Glucose (10 g/L)
DW2	Lactosérum	- MgSO <sub>4</sub> (0.50 g/L), - Glucose (10 g/L)
DW3	Lactosérum	- Glucose (10 g/L)
MB	BG11	- Glucose (10 g/L)

## II.6 Cinétique de croissance de *Chlorella* sp :

Des prélèvements réguliers sont effectués quotidiennement sur les cultures afin de déterminer la courbe de croissance de la souche isolée au niveau des différents milieux testés. Et selon Ghobrini et al [3]. L'étude de la cinétique de croissance par la méthode gravimétrique consiste à prélever 2 ml de milieu de chaque culture et à différents temps. Les volumes recueillis sont mis dans des Eppendorf de 2 ml pré-pesés et séchés 24 h à 105°. Les Eppendorf sont centrifugés pendant 10 minutes à 140000 tr/min. Le surnageant est récupéré pour l'analyse de l'évolution du taux de glucose. Le culot est lavé avec de l'eau distillée, mélangé dans un agitateur vortex, il subit une deuxième centrifugation dans les mêmes conditions. L'opération a été réalisée trois fois pour chaque mesure. Après 24h de séchage les Eppendorf est pesés et la biomasse est déterminée.

## II.7. Mesure du taux de glucose :

Le suivie du taux de glucose, dans les différentes cultures, est effectué en parallèle avec la cinétique de croissance. Ainsi, pour la détermination de la concentration de glucose au niveau des milieux de culture lors des différents prélèvements, nous avons utilisé un réfractomètre électronique model (ATAGO PAL- 79S)

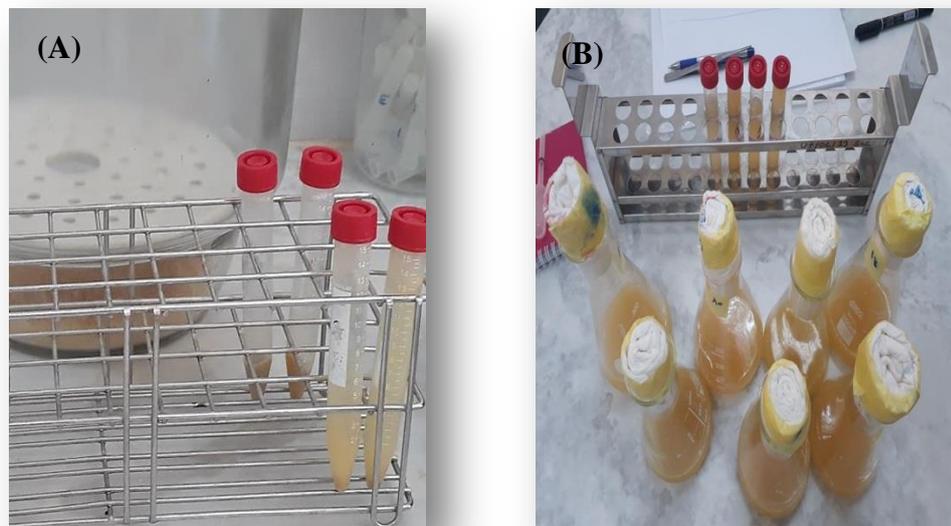
Pour une meilleure appréciation des résultats, nous avons tracé une gamme étalon de la variation de la concentration du glucose à l'aide de témoins préparés à cet effet. La valeur affichée par le réfractomètre a été appliqué au niveau de la courbe étalon pour avoir un repère sur l'évolution de la concentration du sucre au niveau des milieux à base de lactosérum et synthétique.

## II.8 Récolte, extraction et transestérification :

### II.8.1. Récolte :

Une fois les cultures effectuées, la biomasse algale a été récoltée. Le but de cette étape est de récupérer le maximum de biomasse afin de réaliser par la suite une extraction des lipides pour les quantifier et les transestérifier. La récolte est basée sur la méthode de Shen et collaborateur publiée en 2009. Cette est effectuée pour toutes les expériences par centrifugation (15 min, 6000 tr/min). Au total, deux centrifugations réalisées. La première centrifugation permet de séparer la biomasse de son milieu de culture.

La deuxième centrifugation permet le rinçage (éliminer au maximum les traces du milieu de culture) de la biomasse par l'ajout d'eau distillée. Après l'étape de centrifugation, la biomasse algale humide a été récupérée (Figure II.5).



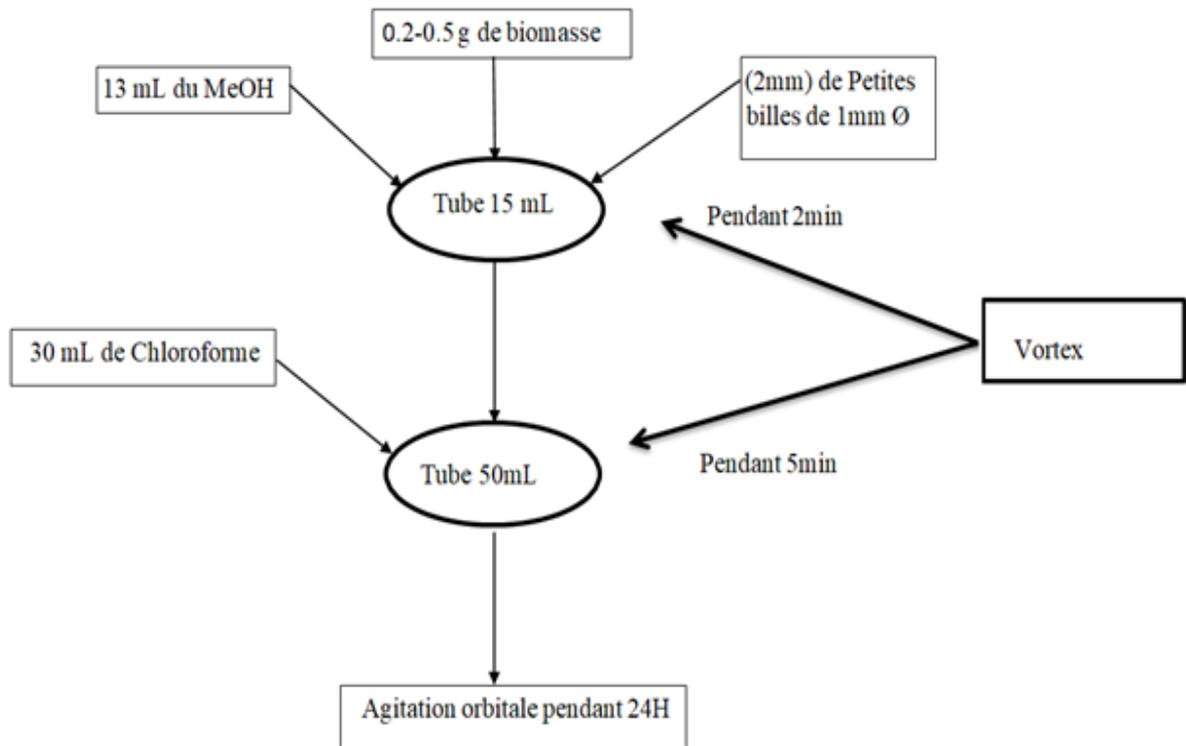
**Figure II.5 :** Récolté la biomasse des algues.

### II.8.2. Extraction :

La méthode de Bligh et Dyer [4]. est utilisée pour déterminer la teneur en lipides à partir de la biomasse de *Chlorella* sp. Il s'agit d'une méthode d'extraction aux solvants (chloroforme, méthanol et eau).

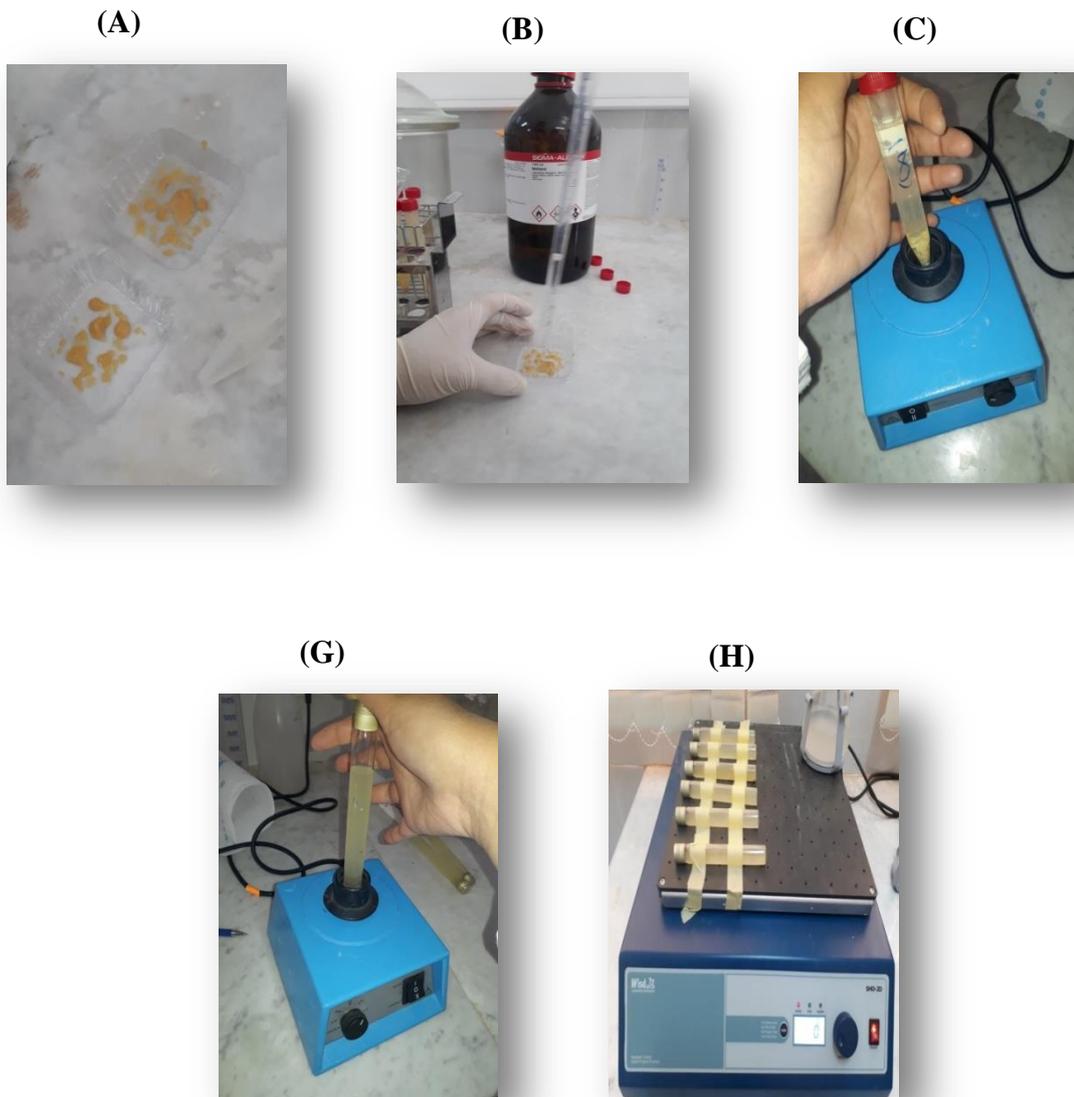
Dans le cas des microalgues qui possèdent généralement des teneurs en lipides supérieures à 10 %, la méthode de Bligh et Dyer entraîne souvent une sous-estimation de la teneur. La modification apportée consiste à augmenter le ratio solvants / Biomasse et permet de récupérer davantage de lipides (rendement d'extraction supérieur à 95 %) contenus dans un échantillon donné.

Ainsi, basé sur le protocole de Bligh and Dyer légèrement de petite modifié par Ghobrini , l'extraction est réalisée comme suit (Figure II.6):



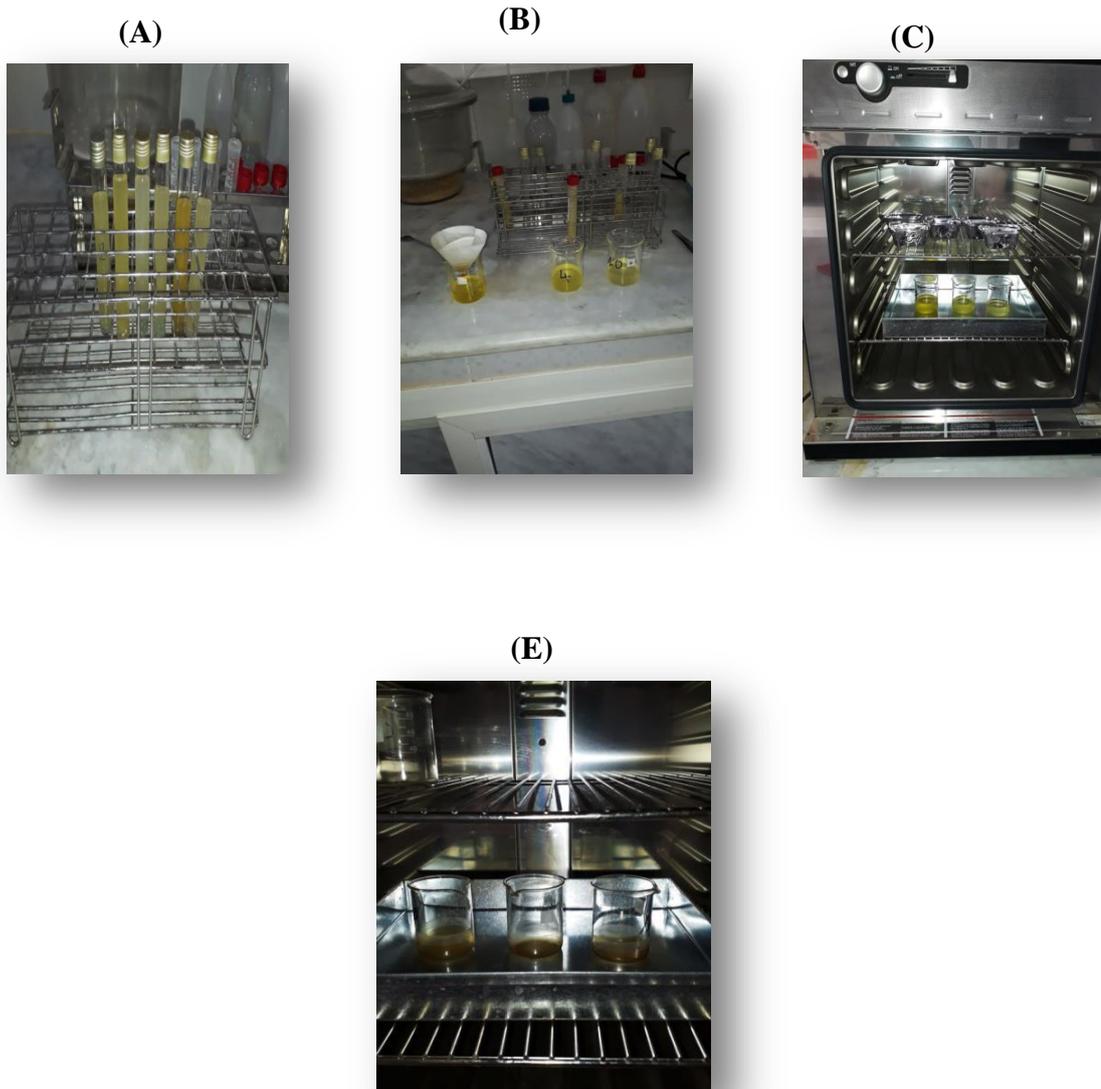
**Figure II.6 :** Organigramme d'extraction des lipides à partir de biomasse microalgale.

La masse algale humide a été récupérée dans les tubes de 15 ml avec méthanol. Après homogénéisation, le mélange est transféré dans des tubes à essai. Ce dernier contient des billes de 1 mm de diamètre et du chloroforme. Les tubes sont placés sur un agitateur orbital pendant 24H (Figure II. 7).



**Figure II.7 :** Premières étapes d'extraction des lipides par la voie humide

Par la suite, les tubes sont centrifugés (5 min, 6000 tr/min) et les surnageants sont filtrés à l'aide de papier Wattman. Récupérés filtra la phase organique dans des béchers pré-pesés, (la phase organique ) est laissée s'évaporer dans une étuve à 40 °C pendant 24h (Figure II.8).



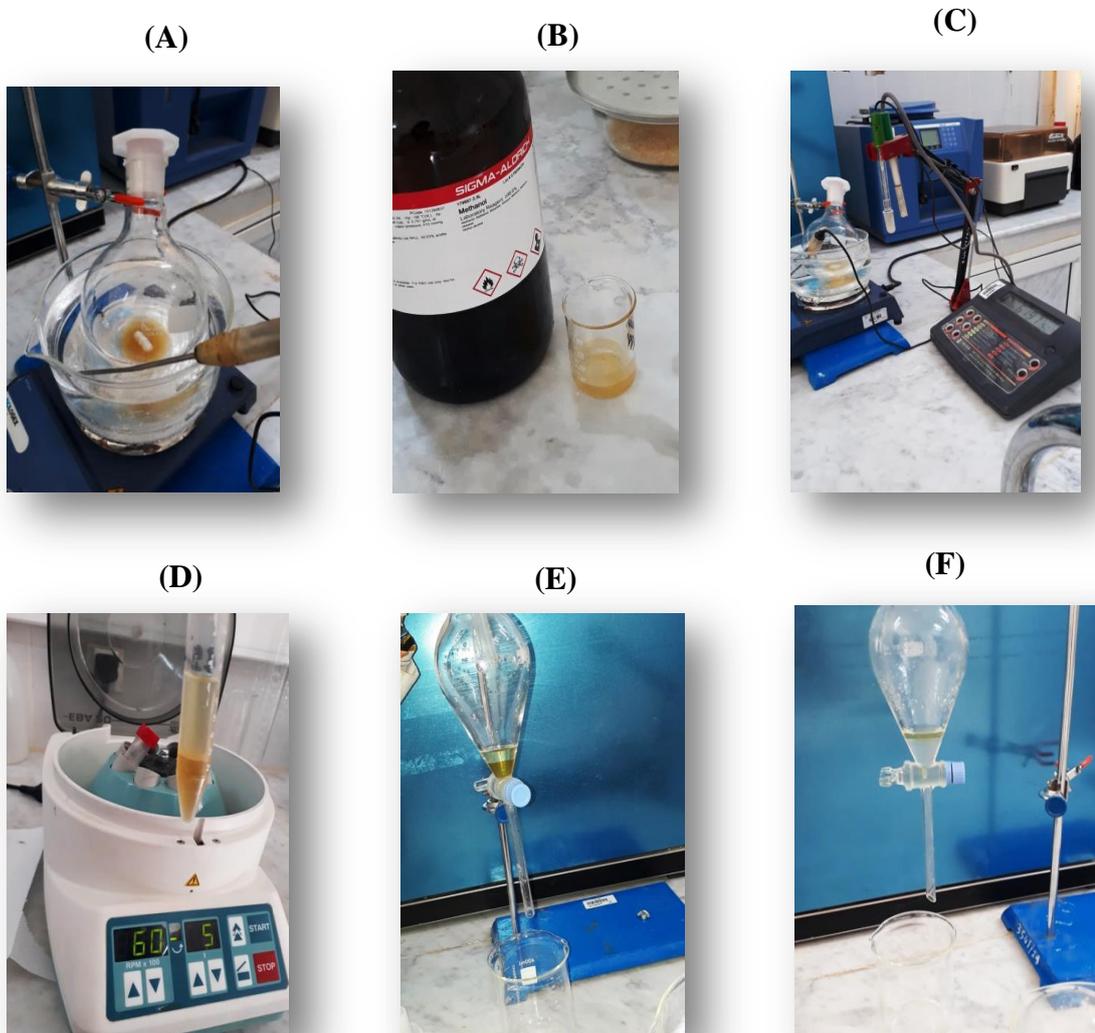
**Figure II. 8 :** Deuxième étapes d'extraction des lipides par la voie humide.

Afin de déterminer le poids des lipides totaux contenus dans la biomasse algale au niveau des différents milieux testés, nous avons procédé au calcul du poids des béchers vides et avec l'extrait lipidique sec après évaporation des solvants. La teneur en lipides exprimée en (g) est donnée (annexe 2). Ainsi, la teneur en lipide est donnée (annexe 2).

### **II.8.3 Transestérification acide des lipides et production de biodiesel :**

Les échantillons de lipides ont convertis en esters méthyliques d'acides gras (FAME) selon la méthode de [5]. Et petite modification par Ghobrini. Ainsi, pour former des esters méthyliques d'acides gras, un mélange de lipides – méthanol acidifié par environ 4 % d'acide sulfurique a été mis sous agitation dans une ampoule à décanté à 50 °C pendant 2 heures A la

fin de la réaction, la solution est transférée dans une ampoule à décanter contenant 20ml d'hexane. Après agitation et séparation du glycérol et du biodiesel, ce dernier est transféré dans une ampoule à décanter et est lavé avec 10 ml d'eau déminéraliser afin de neutraliser l'acide et d'éliminer le méthanol en excès. La séparation des phases organique (biodiesel) et aqueuse se fait à température ambiante (Figure II. 9).



**Figure II.9 :** Transestérification pour production de biodiesel.

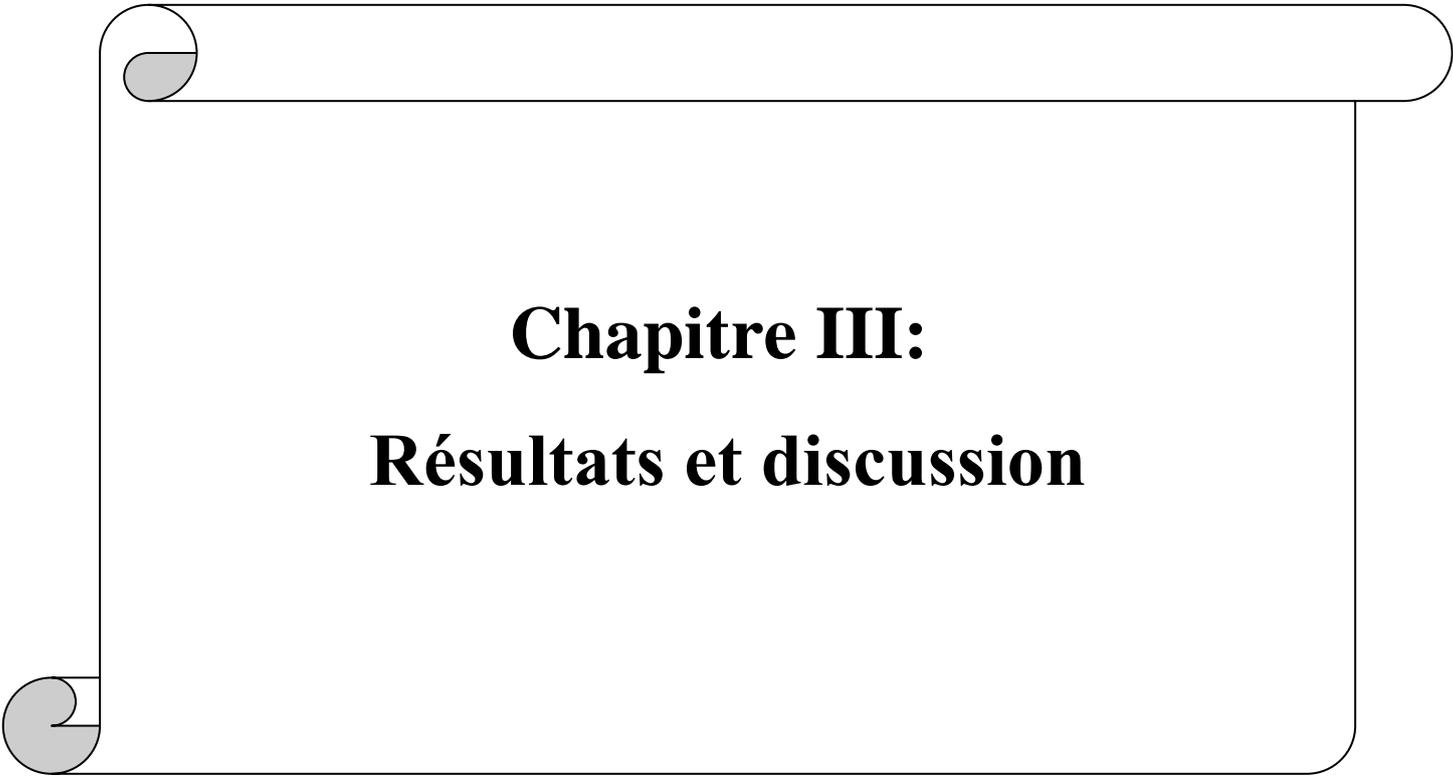
Le rendement de la réaction est calculé selon la formule dans l'annexe 2.

## Références bibliographiques

---

### Références bibliographiques

- [1] Ghobrini D. 2012. Unite ´de Recherche Applique ´ en Energies Renouvelables, ‘Production de bioéthanol à partir de rebuts de dattes par fermentation en milieu solide’, Centre de De ´veloppement des Energies Renouvelables,SIENR’12 Ghardaïa () 109 – 114 .
- [2] Ghobrini D. and Yakoub-Bougda.S. lDe ´partement de Biologie, Faculte ´des SciencesBiologiques et des Sciences Agronomiques, Universite ´Mouloud Mammeri, 15000 Tizi-Ouzou, Alegria.
- [3] GHOBINI D., BRANYIK T., KEBBAB L., POUTOUT B. and AIBOUD K. Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Medium From a Dairy Effluent. *IEEE Explore* (Conférences Publication) (2019). DOI : 10.1109/IRSEC.2018.8702962
- [4] Bligh, E. Gand Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.
- [5] Zhang, Y.and Li, Y.and Zhang, X .and Tan, T. (2015). Biodiesel production by direct transesterification of microalgal biomass with co-solvent. *Bioresource Technology*, 196, 712–715.



**Chapitre III:**  
**Résultats et discussion**

### III.1. Analyse de lactosérum

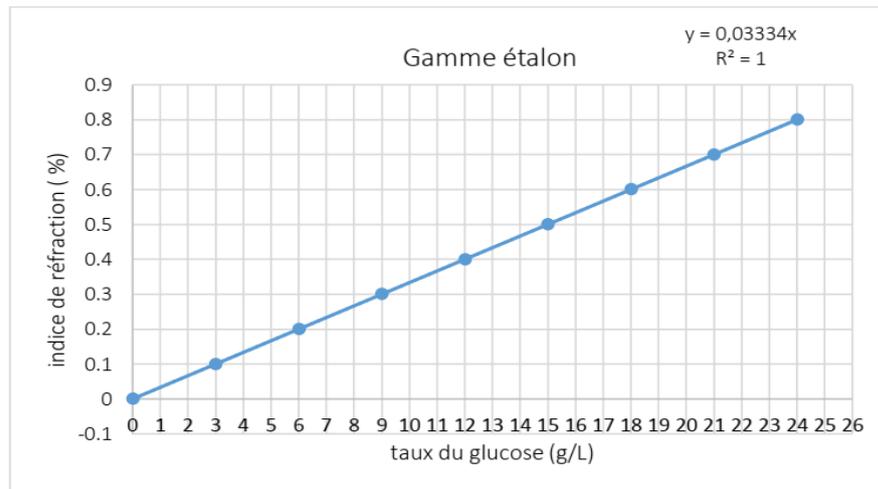
Le tableau III.1 montre les résultats des analyses physico-chimiques de l'effluent laitier réalisé à l'ADE. Il ressort après analyse des données, que le lactosérum est acide (pH = 5.87) avec présence d'ions polluants.

**Tableaux III. 1.** Résultat des analyses du lactosérum

Paramètres physiques	Concentration
	Effluent laitier
Turbidité (NTU)	68.5
Conductivité ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ )	13350
Salinité	9.3
Température °C	17.2
Ph	5.87
TDS (mg/l)	268
Paramètres chimique	
$\text{Ca}^{2+}$ (mg/l)	0
$\text{Mg}^{2+}$ (mg/l)	65.124
$\text{SO}_4^{-2}$ (mg/l)	323.9
$\text{Na}^+$ (mg/l)	2833.33
$\text{K}^+$ (mg/l)	1722.22

### III.2 Résultat de taux du glucose :

A l'aide du Réfractomètre nous avons obtenu des résultats qui nous permettent de tracer la courbe d'étalon (Tableau III.2) dans l'annexe 2, et (Figure III.1). Cela nous a permis d'avoir la concentration en sucres au niveau du lactosérum mais aussi au niveau des milieux de culture utilisés afin de suivre les variations des taux des glucides.



**Figure III.1** : Courbe d'étalonnage pour la détermination de taux du glucose (g/L).

Le réfractomètre électronique nous indique des chiffres décimaux, pour lesquels chaque 0.1 d'indice de réfraction correspond 3 unités de glucose .

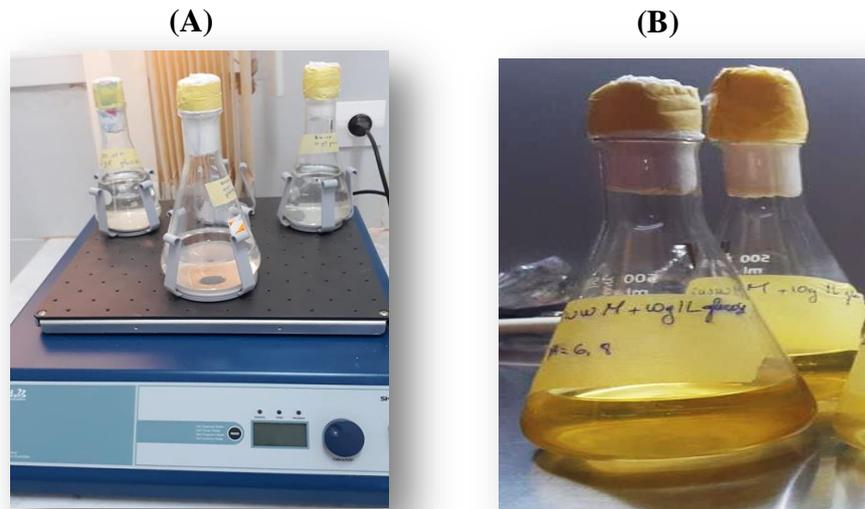
### III.3 Développement de la souche de *Chlorella* sp. Surles différents milieux testés :

La méthode gravimétrique est utilisée, pour étudier la cinétique de croissance de la souche *Chlorella* sp.

#### III.3.1 Résultats de la préculture (culture mère) :

L'objectif de ce test est de multiplier la souche de *Chlorella* sp. localement isolée avant de procéder à la culture au niveau des différents milieux utilisés. Cela rendra plus facile le développement de la souche citée ci-dessous.

La préculture en condition hétérotrophe a duré 5 jours, durant lesquelles aucune contamination n'a été rapportée au niveau des deux répétitions (Figure III.2)



**Figure III.2 :** Préculture de *Chlorella* sp.

### III.3.2 Étude de la culture de souche jaune de *Chlorella* sp. localement isolée

La culture hétérotrophe est réalisée en mode batch au niveau de quatre milieux dont trois sont à base d'effluents laitiers et un milieu synthétique le BG11. Les milieux ont été supplémentés de 10 g/l de glucose (voire les conditions de culture au niveau des matériels et méthodes). Les culture sont été effectués sur une période de 4 jours et les résultats ( Figure III.3)

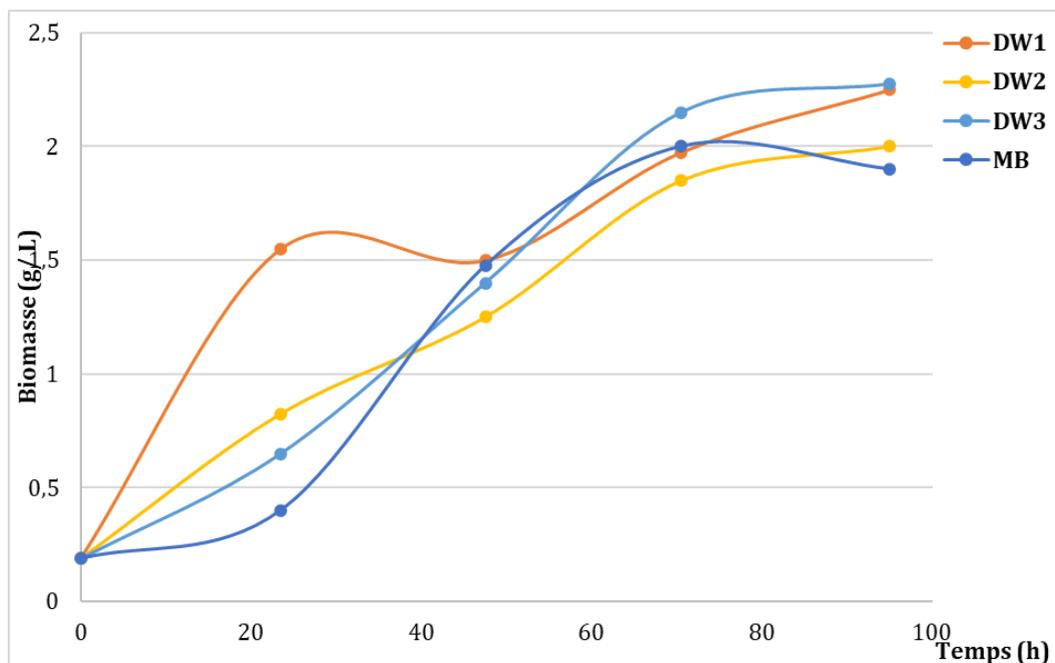


**Figure III.3 :** Culture de la souche *Chlorella* sp. sur l'agitateur orbital dans les milieux testés.



**Figure III.4 :** Changement de la couleur des milieux à la fin de l'expérience  
(Après 4 jours de culture).

La figure (III. 5) renseigne sur les courbes de croissance de *Chlorella* sp. tracés pour les différents milieux de cultures testés en fonction de temps.



**Figure III.5 :** Evolution de la concentration en biomasse dans les différents milieux étudiés.

Au cours de cette étude, nous que la souche de *Chlorella* sp. peut se développer avec succès au niveau du lactosérum. De même, les résultats obtenus en présence du lactosérum seul (DW3) ont été supérieurs comparativement au développement de la souche sur le milieu BG11(BM) (2 g/L). A cet effet, l'addition de source de phosphore et de magnésium au milieu à base d'effluent laitier (DW1 et DW2) n'a pas augmenté la concentration en biomasse finale, mais les résultats restent comparables aux résultats obtenus sur le milieu BG11. Ainsi, après 4 jours de culture, nous avons atteint la phase stationnaire avec une concentration de l'ordre de 2.275 g/L au niveau du lactosérum seul, alors que, l'addition de phosphore (P) et de magnésium (Mg) ont induit 2.25 et 2 g/L, respectivement. Tandis qu'au niveau du milieu BG11 la biomasse avoisine les 2g/L. Cela signifie que l'ajout des deux sels n'influe pas positivement sur la production de biomasse.

Selon GHOBINI et al [1], l'addition de sels au niveau des milieux à base d'effluents laitiers n'est pas indispensable pour un bon rendement des cultures. Ainsi, pour une meilleure utilisation du lactosérum comme support de culture de simple dilution des milieux avec l'ajout de l'eau distillée pourrait faire augmenter la production de biomasse.

Toutefois, la composition des milieux à base de lactosérum dépend essentiellement des procédés de production. En effet, les sels minéraux comme l'azote, le phosphore et le magnésium participent de manière directe et/ou indirecte dans le développement cellulaire comme par exemple dans [2]:

- La fabrication des chaînes d'ADN ;
- La formation des protéines (acides aminés) ;
- La division cellulaire
- La production d'ATP

Les résultats obtenus, sont inférieurs à ceux obtenus par GHOBINI et al [1] sur le même milieu avec *Chlorella vulgaris* où le taux de production de la biomasse sur les effluents laitiers sans addition de source minérale était 5g/L dans les mêmes conditions de culture.

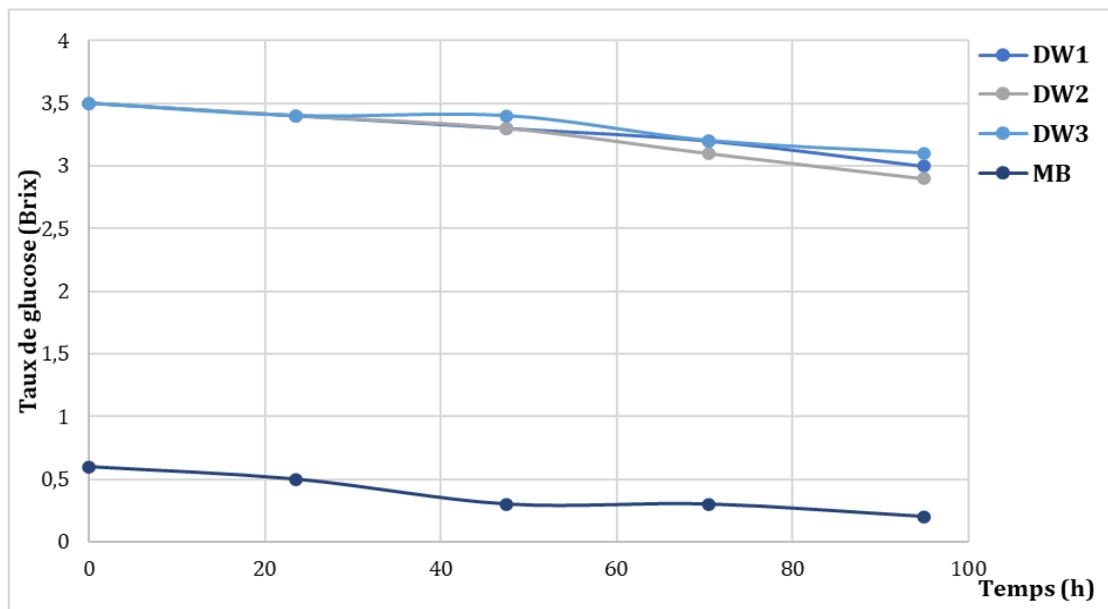
La comparaison de nos résultats avec d'autres auteurs qui utilisent le lactosérum comme milieu de culture permet de faire ressortir ce qui suit : GANA et al [3]. Ont travaillé sur la valorisation du lactosérum par la production de levures lactiques avec les procédés de fermentation discontinue et continue, ils ont testé la croissance des levures isolées sur un milieu YPLS. Ils ont obtenu une très bonne croissance de *Kluyveromyces fragilis*. La biomasse produite est de 11 g/L, la totalité du lactose est consommée au bout de 10 heures, le

taux de croissance atteint  $0,35 \text{ h}^{-1}$ , ainsi, le rendement final est égal à 55 %. Selon les travaux de plusieurs auteurs [4], cette levure se présente comme le microorganisme le plus adapté à la production de biomasse. Le milieu utilisé (YPLS) contient comme source de carbone, le lactose à raison de 2 %, de l'extrait de levure à 0,1 % et 2 % de peptone. En second lieu, ils ont utilisé un milieu à base de lactosérum doux. Ce dernier subit une déprotéinisation par chauffage ajusté à 20 g/L de lactose. BOYAVAL *et al* [5]. Ont travaillé sur la production d'acide lactique à partir de perméat de lactosérum par fermentation continue en réacteur à membrane (ultrafiltration), ils ont obtenu un faible taux de croissance pour la biomasse (de l'ordre de 1 g/kg), ce résultat a été confirmé par la suite lors d'un essai en milieu plus concentré (14g/kg).

### III.3.3 Évolution des sucres :

L'évolution de la teneur en sucre est donnée en unités de (brix) suite à la détermination par le réfractomètre, car les valeurs obtenues ne peuvent pas être transposées en g/L par l'utilisation de la courbe étalon. En effet, les valeurs du réfractomètre correspondaient à 2et/ou3 g/L de glucose.

À travers la courbe obtenue, nous remarquons que la concentration en sucre dans les trois milieux diminue progressivement au cours de l'expérience (figure III. 6). Cependant, cette diminution est plus rapide dans le milieu BG11 par rapport aux autres milieux. De plus, les taux des sucres résiduels à la fin de l'expérience n'atteignent jamais 0, d'ailleurs il se stabilise à 0,3 pour le milieu BG11 comme valeur minimale.

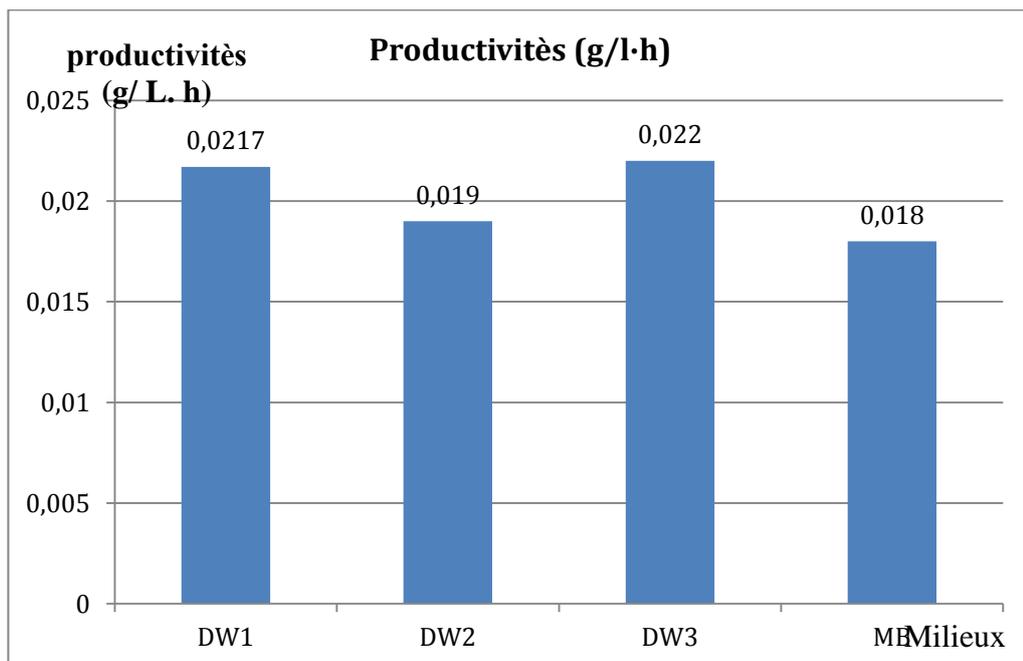


**Figure III. 6 : Variation** de la concentration en glucose en fonction du temps.

Les résultats montrent que pour le BG11 le taux du sucre se stabilise à 0,2 %, alors que pour le lactosérum, le taux du sucre s'arrête à 3% ce qui signifie que le lactosérum contient aussi des sucres qui sont majoritairement complexes, principalement du lactose (voir la composition du lactosérum). De ce fait, les cellules de *Chlorella* sp. ne consomment que les sucres simples comme le glucose, une grande quantité de sucre reste dans le milieu. A cet égard, il serait préférable d'hydrolyser les sucres présents au niveau du lactosérum et de s'en servir comme matière organique assimilable par les chlorelles afin de se passer de l'ajout du glucose dans le milieu et ainsi réduire les coûts de production [6].

### III.3.4 Calcule la productivité :

La productivité en biomasse de *Chlorella* sp. est calculée dans les différents milieux testés. Un exemple de calcul est donné dans l'annexe 2 pour le milieu DW1 et les résultats sur les autres milieux sont donnés dans la (figure III. 7)



**Figure III.7 :** Les productivités enregistrées dans différents milieux testés.

A partir des résultats obtenus, il est clair que le lactosérum seul est le milieu le plus productif. En effet, comme pour la concentration en biomasse l'addition des sels au lactosérum n'a pas induit une productivité élevée. Par ailleurs, le milieu BG11 est le milieu qui a induit la plus faible productivité. A cet effet, nous pouvons présenter le milieu DW3

comme étant une alternative pouvant remplacer les milieux traditionnels de synthèse pour la culture de la souche de *Chlorella sp.* localement isolée. Ceci confirme les résultats obtenus par plusieurs chercheurs notamment ceux de GHOBINI et al [1]. où les milieux de synthèse se sont avérés moins compétitifs que les résidus de l'industrie laitière.

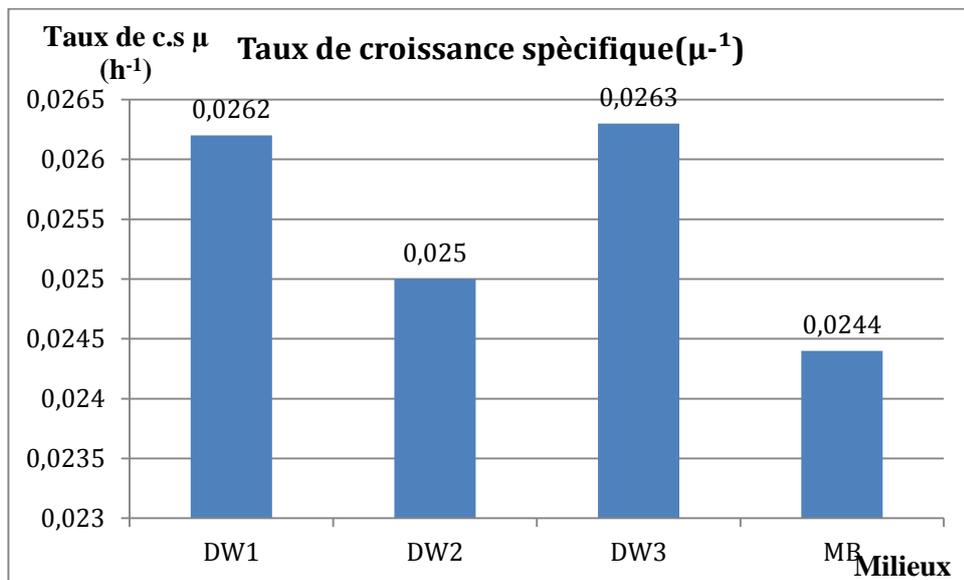
**III.3.5. Taux de croissance spécifique :**

Selon GHOBINI et al [6], le taux de croissance spécifique chez *Chlorella pest* calculé au niveau des différents milieux testés en fonction de l'équation (2)

Equation (2) :  $\mu(h^{-1}) = \ln\left(\frac{\frac{C_{max}}{C_{initial}}}{\frac{T_{max}}{T_{initial}}}\right)$  ..... Équ(2)

Un exemple de calcul est donné dans l'annexe 2 pour le milieu DW1 et les résultats sur les autres milieux sont donnés dans la( figure8).

Exempel (2) :  $\mu(h^{-1}) = \ln\left(\frac{2.25}{\frac{0.1875}{95-0}}\right) = 0.0262(h^{-1})$



**Figure III.8 ;** Taux de croissance spécifique dans différents milieux de culture testés.

**III.4. Extraction des lipides :**

L'extraction est réalisée selon le protocole de Bligh et Dyer [8] et modifié par GHOBINI et al 1]. Comme décrit dans les matériels et méthodes.

Une analyse de la teneur en lipides totaux est effectuée, afin de déterminer l'impact des différentes conditions de culture sur ces dernières. Le (tableau III.3) présente les milieux de culture utilisés ayant servi pour l'extraction des lipides avec la masse et la proportion de ces derniers par rapport à la biomasse algale utilisée pour chaque milieu étudié.

Un exemple de calcul est donné ci-dessous pour le milieu DW1 et les résultats sur les autres milieux sont donnés dans le tableau 5.

Pour calculer la proportion des lipides de chaque milieu, nous avons utilisé formule suivante :

$$\text{Teneur}\% = \frac{m_{\text{lipide}}}{m_{\text{sec}}} \times 100 \dots\dots\dots \text{Équ}(3)$$

$$\text{Teneur \% (DW1)} = \frac{0.0209}{0.25} \times 100 = 8.36\%$$

**Tableau III. 3 :** Résultats de la teneur en lipides totaux extraits au niveau des différents milieux.

<b>Milieux</b>	<b>DW1</b>	<b>DW2</b>	<b>DW3</b>
m (lipide)(g)	0.0209	0.0477	0.0317
Biomasse algale sec (g)	0.25	0.25	0.25
Proportion(%)	8.36	19.08	12.68

Les résultats montrent que la quantité des lipides extraite est importante dans le cas de culture sur le milieu de lactosérum additionné de magnésium (DW2), cela veut dire que l'ajout du Mg a fait augmenter la quantité de lipide dans ces cultures. Tandis que pour les cultures sur le milieu (DW1) additionné de phosphore (P), la quantité de lipides extraite dans les mêmes conditions de travail est moyennement faible par rapport à ceux obtenus sur les milieux DW2 et DW3. Toutefois, les résultats que nous avons obtenus sont proportionnellement faibles par rapport à la quantité de biomasse produite. L'utilisation des billes et le méthanol dans ce procédé n'ont pas été efficace pour faire casser les parois et faire perforer la membrane et faire sortir le maximum de lipides dans nos conditions de biomasse humide. Même avec l'addition du chloroforme qui d'ordinaire former un complexe avec les lipides et facilités leur extraction.

### III.5. Transestérification pour produire le biodiesel :

A partir des résultats du Tableau (III.3), la somme de la quantité des lipides produits au cours de cette étude nous donne : 0.1003g.

- La teneur en lipides est calculée dans l'annexe 2 :
- Le rendement de la réaction de transestérification est calculé selon la formule suivante :

$$R\% = \left(\frac{m_b}{m_h}\right) \times 100 \dots\dots\dots \text{Équ(5)[11].}$$

$m_b$  : masse du biodiesel

$m_h$  : masse d'huile = la somme de toute les masses d'huile obtenues après extraction sur tous les milieux

$$R\% = \left(\frac{0.059}{0.1003}\right) \times 100 = 58.82\%$$



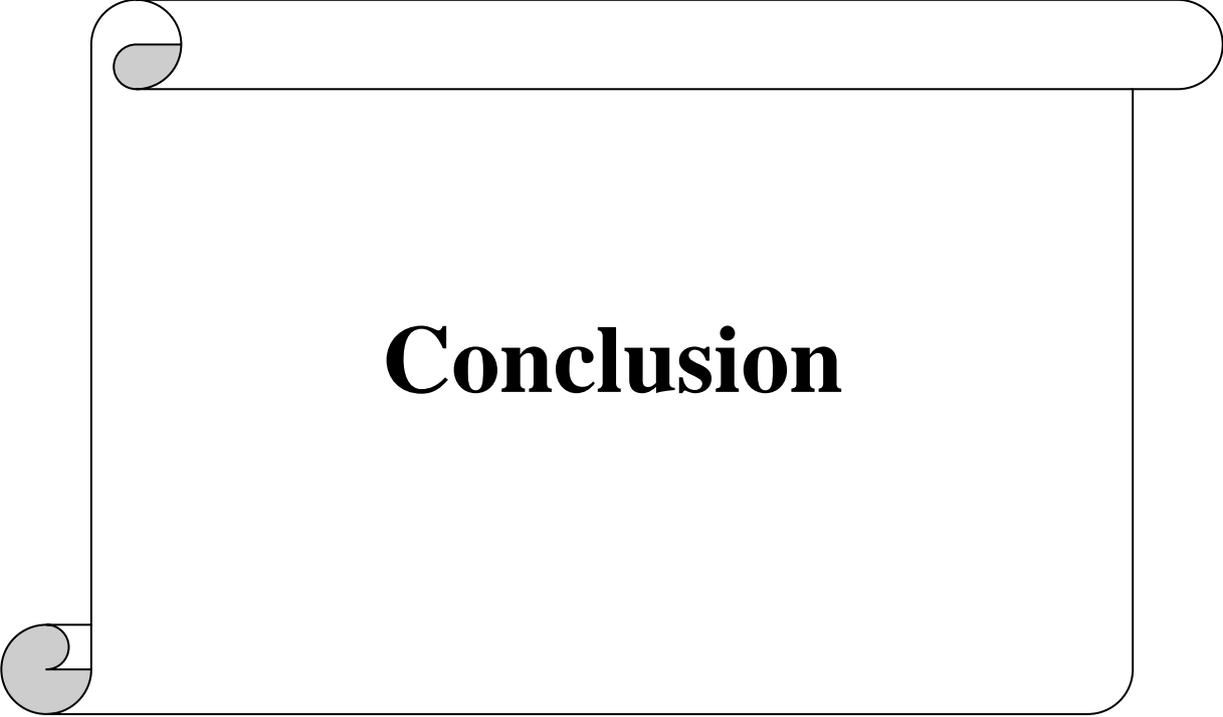
**Figure III.9 :** Aspect de biodiesel.

Les résultats obtenus montrent que 58% des huiles se sont convertis en biodiesel cela veut dire que seuls 58 % de lipides étaient convertibles en biodiesel, les autres lipides ne sont pas des type triglycérides (TAG).

## Références bibliographiques

---

- [1] GHOBRINI D. and KEBBAB L. et AIBOUD K. 2018. Journée d'étude en biochimie : Composés biologiques actifs synthétisés par les microalgues, Le 29 Janvier 2018, Ghardaïa, Université de Ghardaïa.
- [2] Richmond A. (2004). Handbook of Microalgal Culture. Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science
- [3] GANA, S., TOUZI, A. Valorisation du Lactosérum par la Production de Levures Lactiques avec les Procédés de Fermentation Discontinue et Continue : Milieux de culture, Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation – Biomasse, 5158, 2001, p.52.
- [4] VANANUVAT, J. and KINSELLA, J. Production of Yeast Protein from Crude Lactose by *Saccharomyces fragilis* Batch Cultures Studies', Journal of Food Science, 1975, Vol 40, p.330-341.
- [5] BOYAVAL, P., TERRE, S., CORRE, C. Production d'acide lactique à partir de perméat de lactosérum par fermentation continue en réacteur à membrane : Le Lait, INRA Editions, hal-00929119 ; 1988, p.75.
- [6] GHOBRINI D., BRANYIK T., KEBBAB L., POUTOUT B. and AIBOUD K. Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Medium From a Dairy Effluent. *IEEE Explore* (Conférences Publication) (2019). DOI : 10.1109/IRSEC.2018.8702962
- [7] Djillali Ghobrini, Tomáš Potocar, Jana Smolova, Gabriela Krausova, Saliha Yakoub-Bougdal and Tomáš Brányik. 2020. Heterotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using saline waste water from the demineralization of cheese whey. *Biotechnology Letters* 42(2): 209–217. (Ghobrini et al., 2019).
- [8] Bligh, E. G and Dyer, W. J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911-917.
- [9] CANTIN, Isabelle. La production de biodiesel à partir des microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe : Rendement des procédés d'extraction et de récolte, p52. Thèse de maître : Environnement : Canada : Université de Sherbrooke : 2010
- [10] PIENKOS, P.T. DARZINS, A. The promise and challenges of microalgal-derived biofuels. *Biofuels, Bioproducts and Bio refining*, vol. 3, n° 4, 2009, p.431-440
- [11] Djillali Ghobrini, Tomáš Brányik, Saliha Yakoub-Bougdal, Kamal Aïboud, Leila Kebab, Djamel Daoud, Nacéra Lahouel Rachid Bouarab, Mohammed Oumsalem, and Lyes Zanoun, 2019. Production of biodiesel from locally isolated yellow strain of *Chlorella* sp. using dairy effluent.



# **Conclusion**

## Conclusion

---

La culture de ces microalgues pour produire de l'énergie présente un avenir prometteur afin de répondre aux différents problèmes liés aux énergies fossiles. Cependant, le frein majeur de cette génération de biocarburant est son coût. Ainsi, les « algocarburants » ne sont pas encore assez compétitifs pour rivaliser avec les carburants traditionnels.

Dans cette optique, l'objectif général du présent travail est de produire du biodiesel algal à partir de culture de souche de *Chlorella* sp. localement isolée sur les effluents laitiers. Les données obtenues ont été évalués aux cultures sur un milieu synthétique BG11.

Les résultats ont montré que l'utilisation du lactosérum peut remplacer l'usage d'un milieu de synthèse comme le BG11 pour la culture de la souche de chlorelle localement isolée. En effet, l'utilisation du lactosérum seul (DW3) dans nos conditions a permis l'obtention, après 4 jours de culture, une concentration en biomasse de l'ordre de 2.275 g/L, alors que, l'addition de phosphore (P) et de magnésium (Mg) ont induit 2.25 et 2 g/L, respectivement, sur les milieux (DW1) et (DW2). Tandis qu'au niveau du milieu BG11 la biomasse avoisine les 2 g/L.

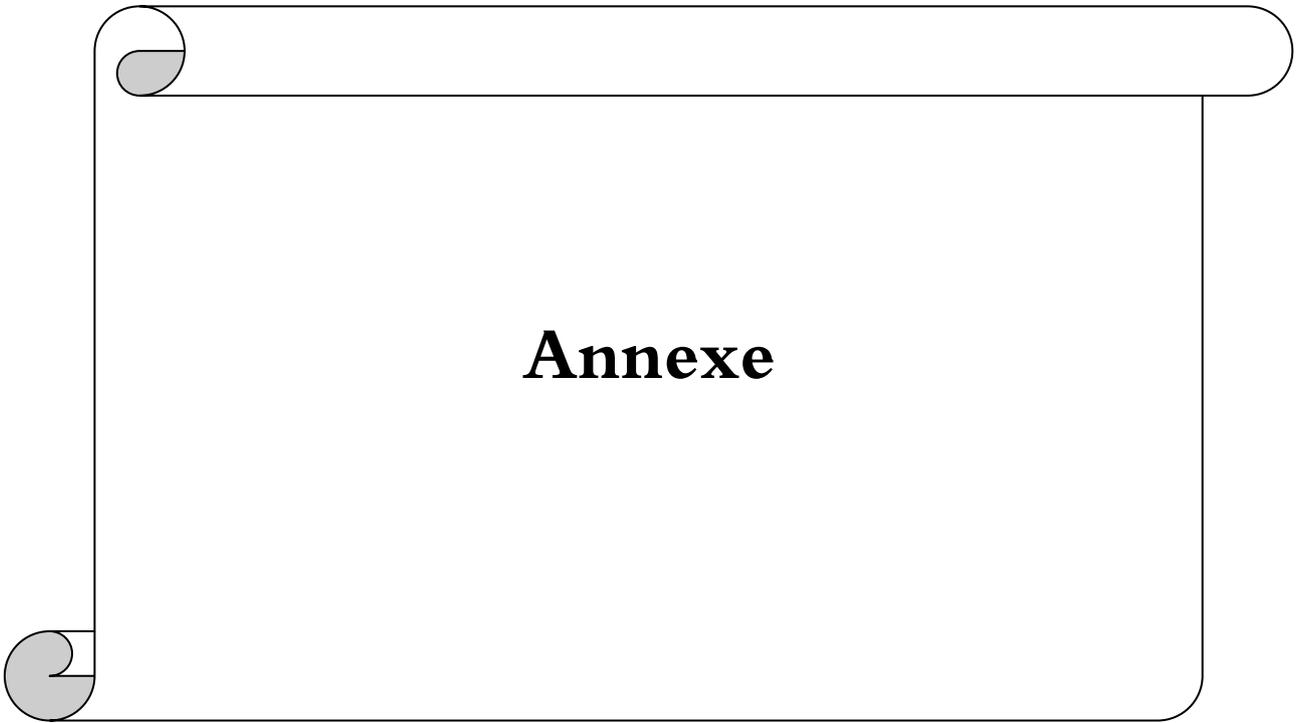
Par ailleurs, les résultats montrent que la teneur en lipides extraite est importante dans le cas de culture sur le milieu à base de lactosérum additionné de magnésium (DW2) (T= 19.08 %). Tandis que pour les cultures sur le milieu (DW1) additionné de phosphore (P), la teneur de lipides extraite (8.36 %) dans les mêmes conditions de travail était moyennement faible par rapport à celle obtenue sur les milieux DW2 et DW3(12.68%).

En outre, les résultats du rendement en biodiesel obtenus lors de ce travail montrent que 58% des huiles se sont convertis en biodiesel cela veut dire que seuls 58 % de lipides extraits de la souche *Chlorella* sp.étaient convertibles en biodiesel.

Le travail effectué ouvre des perspectives multiples:

- L'utilisation de l'HPLC qui facilitera la détermination du taux et du type de sucres présents au niveau du lactosérum, et cela, pour une meilleure utilisation de ses sucres.
- La CPG-SM permettra de déterminer le type d'acides gras présents au niveau de la souche microalgue pour faciliter l'aspect application de biodiésel.

-



**Annexe**

## Annexe

---

### Annexe 1 :

**Tableau 2:** Résultats de la courbe d'étalonnage.

<b>Taux du glucose</b>	<b>Indice de réfraction</b>
<b>0</b>	0
<b>3</b>	0,1
<b>6</b>	0,2
<b>9</b>	0,3
<b>12</b>	0,4
<b>15</b>	0,5
<b>18</b>	0,6
<b>21</b>	0,7
<b>24</b>	0,8

## Annexe

### Annexe 2 :

Biomasse(g)=Poids de l'Eppendorf contenant la biomasse algale - Poids de l'Eppendorf vide

Poids de lipide (g) = Poids du bécher contenant l'extrait – Poids du bécher vide

Equation (1): Teneur % =  $\left(\frac{m_h}{m}\right) \times 100$  .....Équ(1).

Avec : m : biomasse ;  $m_h$ : masse d'huile.

R% =  $\left(\frac{m_b}{m_h}\right) \times 100$  .....Équ(2) ; Avec :  $m_b$ : masse du biodiesel ;  $m_h$  : masse d'huile

Equation (1):  $P = \frac{(C_{\max} - C_{\text{initial}})}{(T_{\max} - T_{\text{initial}})}$  .....Équ(1)[7]

Exemple (1) :

$$p = \frac{(2.25 - 0.1875)}{(95 - 0)} = 0.0217 \text{ g/l.h}$$

Poids lipide (g) = Poids du bécher contenant l'extrait (l'huile) - Poids

Equation (4): Teneur% =  $\left(\frac{m_h}{m}\right) \times 100$  .....Équ(4)

Exemple (4): Teneur% =  $\frac{0.1003}{0.75} \times 100 = 13.37\%$

- $m_h$ : masse de l'huile (g) = Poids du bécher contenant l'extrait (l'huile) - Poids du bécher vide.

m: biomasse algale utilisé pour l'extraction.