

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTÉ : TECHNOLOGIE

DÉPARTEMENT : GÉNIE DES PROCÉDÉS

MÉMOIRE DE MASTER

Présenté par : BELMOKHTAR Ibtissam

DOMAINE : Sciences et Technologies

FILIÈRE : Génie des Procédés

OPTION : Génie des Procédés de l'Environnement

Thème

**EXTRACTION DES LIPIDES A PARTIR DE MICROALGUE POUR
UTILISATION COMME BIOCARBURANT**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Mme BOUARAR Fahima	MCB	Président
Mr CHAREF Mahmoud	MCB	Examineur
Mr. TAOUTI Mohamed Benabdallah Mr. GHOBRINI Djillali	Pr (Attaché de recherches-URAER)	Rapporteur Co-rapporteur

Promotion : 2022

Dédicaces

Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

A l'homme, mon précieux offre du dieu, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père KADDOUR.

A la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit Non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse: mon adorable mère NACIRA.

**A ma chère sœur IMANE
Mes frères OUSSAMA, ABED ELMOUMEN, MOSSAB.**

A mes belle- sœurs FATIMA, HADJER.

A ma fidèle amie BOUCHRA et MAROUA qui m'a soutenu dans mes moments difficiles.

REMERCIEMENTS

En premier lieu, j'exprime mon profond remerciement à ALLAH le tout puissant qui nous a donné la force, le courage, la volonté et la santé durant toutes ces années d'études.

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biomasse à l'Unité de Recherches Appliquées en Energies Renouvelables (URAER, Ghardaïa) A cet égard, je remercie le directeur Dr. D. DJAFER de m'avoir donné l'opportunité de travail au sein de l'unité.

Je tiens à remercier particulièrement mon promoteur Monsieur D. GHOBRIINI attaché de Recherches à l'Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables (URAER, Ghardaïa) de m'avoir accepté au Laboratoire de BM, proposé le sujet de mon projet de fin d'étude et de m'avoir donné l'opportunité de travailler au sein de son projet. Sa haute compétence, ses qualités humaines et ses conseils judicieux ont été pour moi une source inestimable de réconfort et d'encouragement pour l'accomplissement de ce travail.

Je remercie sincèrement le Pr. M.B. TAOUTI pour avoir accepté d'encadrer ce projet de fin d'étude pour la partie de l'université de Laghouat. J'ai beaucoup appris avec lui au cours de ces années de ma formation grâce à ses connaissances et à sa patience. Je lui exprime toute ma reconnaissance pour tout le soutien qu'il a pu m'apporter. Sa disponibilité et son aide m'a été d'un grand apport dans l'accomplissement de ce travail. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

J'adresse aussi mes vifs remerciements aux membres des jurys Mme BOUARAR Fahima et Mr CHAREF Mahmoud pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.

Sans oublier d'dresser mes remerciements au chef du département de Génie des procédés et l'ensemble des enseignants du département pour m'avoir conseillé, orienté le long de ma carrière universitaire.

Enfin, je tiens à remercier également tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin pour la réalisation de ce mémoire.

Sommaire

Sommaire

<i>Dédicaces</i>	
REMERCIEMENTS	
<i>Sommaire</i>	
<i>Liste des Acronymes et Abréviations</i>	
<i>Introduction générale</i>	1
<i>Chapitre 1 : Synthèse bibliographique</i>	4
<i>I.1 Généralités sur les biocarburants</i>	5
<i>I.1.1 Biomasse, une source d'énergie alternative aux ressources fossiles</i>	5
<i>I.1.2 Procédés d'extraction des lipides pour une application biodiesel</i>	7
<i>I.1.2 Caractéristiques du biodiesel</i>	8
<i>I.1.3 Normes du Biodiesel</i>	8
<i>I.1.4 Comparaison entre le diesel et le biodiesel</i>	9
<i>I.1.5 Avantages et les inconvénients de biocarburants</i>	9
<i>I.2 Microalgues</i>	10
<i>I.2.1 Définition</i>	10
<i>I.2.2 Caractéristiques des microalgues</i>	11
<i>I.2.3 Diversité de familles et d'espèces</i>	11
<i>I.2.4 Culture des microalgues</i>	12
<i>I.2.5 Modes de nutrition des microalgues</i>	13
<i>I.2.6 Composition biochimique des microalgues</i>	14
<i>I.2.7 Teneurs en lipides des microalgues</i>	15
<i>I.2.8 Récolte des microalgues</i>	15
<i>I.2.9 Extractions des lipides chez les microalgues</i>	16
<i>I.2.10 Culture des microalgues dans le monde</i>	18

I.2.11 Applications environnementales	18
I.3. Lactosérum	19
I.3.1 Généralités	19
I.3.2 Valorisation du lactosérum	20
Chapitre 2 : Matériels et Méthodes	22
II.1 Echantillonnage	23
II.1.1 Souche utilisée	23
II.1.2 Milieu de culture	23
II.1.3 Composition chimique du milieu BG11	24
II.1.5 Préparation de milieu de culture gélosé pour des cultures en boîtes de Pétri	25
II.1.6 Milieu de culture à base d'effluent laitier	26
- Prétraitement de l'effluent laitier	26
- Caractéristiques de lactosérum	27
II.1.7 Procédé de culture de <i>Chlorella sp.</i> en condition hétérotrophe (pré-culture)	28
II.2 Traitement de la biomasse	31
II.2.1 Cinétique de croissance de la souche jaune <i>Chlorella sp.</i> par la méthode gravimétrique	31
II.2.2 Détermination du taux de glucose	32
II.2.4 Récolte	33
II.2.5 Extractions de lipides	33
II.2.6 Transestérification	35
Chapitre 3 : Résultats et discussions	38
III.1 Développement de la souche <i>Chlorella sp.</i>	39
III.1.1 Pré-culture (culture mère)	39
III.1.2 Etude de la culture	39
III.2 Evolution des sucres	42
III.3 Paramètre de croissance	43

<i>III.4 Extraction des lipides</i>	43
<i>III.5 Transestérification et caractéristiques du biodiesel produit</i>	45
<i>Conclusion générale</i>	46
<i>Références Bibliographiques</i>	46
<i>Webographie</i>	46
<i>Résumé</i>	

Liste des Figures

Figure I.1 : Mix énergétique mondiale.....	5
Figure I.2 : Concept de production d'huile de micro-algues visant à obtenir du biodiesel	7
Figure I.3 : Structure de quelques microalgues	11
Figure I.4 : Bassins de culture de microalgues. A gauche : Bassin en boucle fermée. A droite : bassins circulaires d'environ 500 m ² , production de chlorelle	12
Figure I.5 : Photographies de différentes installations de PBR tubulaires. A gauche : PBR hélicoïdal, vertical. A droite : PBR tubulaire horizontal immergé dans l'eau	13
Figure I.6 : Structure chimique d'un TAG et d'un PL	15
Figure I.7 : Triglycéride et un phospholipide	17
Figure I.8 : Réaction de la transestérification d'un triglycéride	17
Figure I.9 : Réaction générale de la Transestérification.....	18
Figure I.10 : Coagulation du lait	19
Figure I.11 : Différents procédés de valorisation de lactosérum.....	21
Figure II.1 : : <i>Chlorella sp.</i> en culture dans des boîtes de Pétri	23
Figure II.2 : Hotte à flux laminaire verticale	24
Figure II.3 : Agitateur magnétique	25
Figure II.4 : Image de l'autoclave utilisé	26
Figure II.5 : Boîte de pétri contenant le milieu de culture.....	26
Figure II.6 : Lactosérum avant (A) et après (B) traitement	27
Figure II. 7 : Lance d'inoculation	29
Figure II. 8 : Agitateur orbitale modèleWisdSHO-2D	29
Figure II. 9 : Milieux de culture utilisés pour la culture de la souche jaune de <i>Chlorella sp.</i>	30
Figure II. 10 : Appareil vortex utilisé.....	31
Figure II. 11 : Réfractomètre model ATAGO PAL-79S (BRIX).....	32
Figure II. 12 : Biomasse humide après centrifugation.....	33
Figure II. 13: Protocole d'extraction des lipides à partir des microalgues par broyage à bille.....	34
Figure II. 14 : Phase d'extraction des lipides (biomasse en présence des solvants)	35
Figure II. 15 : Evaporation de la phase organique	35
Figure II. 16 : Procédure de la transestérification.....	37
Figure III. 1: Milieux préparés pour l'étude de la cinétique de croissance de <i>Chlorella sp.</i>	39
Figure III. 2 : Culture de la souche jaune <i>Chlorellasp.</i> sur l'agitateur orbitale	40
Figure III. 3 : Changement de la couleur des milieux à la fin de l'expérience	40
Figure III. 4 : Courbe de croissance de <i>Chlorellasp.</i> sur les différents milieux de cultures testés.....	41
Figure III. 5 : Variation de la concentration de glucose en fonction du temps	42

Liste des Tableaux

Tableau I.1 : Classification des biocarburants..... 6

Tableau I.2 : Propriétés physicochimiques du biodiesel de micro-algues, du petro-diesel et du biodiesel 8

Tableau I.3 : Propriétés du biodiesel issu de micro-algues selon la norme EN 14214..... 9

Tableau I.4 : Différents modes trophiques pouvant être utilisés par les micro-algues..... 14

Tableau I.5 : Compositions biochimiques des micro-algues..... 14

Tableau I.6 : Différents types de lactosérum..... 19

Tableau I.7 : Composition générale de lactosérum doux et acide 20

Tableau II.1 : Composition globale du milieu de culture 24

Tableau II.2 : Paramètres physico-chimiques de lactosérum après traitement 27

Tableau II. 3 : Composition des milieux de culture utilisés pour l'étude de la cinétique de croissance de *Chlorella sp.* (Couleur jaune) 30

Tableau III. 1 : Tableau III.1 : Résultats de la productivité et du taux de croissance de la souche jaune *Chlorella sp.* dans les milieux testés..... 43

Tableau III.2 : Résultats de la quantité des lipides extraite pour les différents milieux 44

Liste des Acronymes et Abréviations

AA : Acide Arachidonique
ADN : Acide Désoxyribonucléique
AGL : Acides Gras Libres
AGPI: Acides Gras Poly-Insaturés
APG: Alkylpolyglucoside
ASTM: American Society for Testing And Materials
ATP: Adénosine Triphosphate
BF3-Méthanol: Trifluoridemethanol
BG11: Blue Green
C3P : Triose-Phosphates
C5P : Pentose-Phosphates
C₆H₁₂O₆ : Glucose
CRBM : Centre de Recherche en Biologie Cellulaire de Montpellier
DAG : Diacylglycérol
DBO : Demande Biochimique Enoxygène
DCO : Demande Chimique en Oxygène
DHA : Docosahexaenoicacid
DOC: Dissolved organic carbon
EIA: Energy Information Administration
EN: European Norm
EPA: Eicosapentaenoic Acid
FAO: Food and Agriculture Organization
GAPDH: Glyceraldehyde-3-Phosphate Déshydrogénase
GC-MS: Gas Chromatography Mass Spectroscopy
GL : Glycolipide
GLA : Aacidey-Linolénique
HPLC : High Performance LiquidChromatography
IC : Indice de Cétane
IFP : Institut Français du Pétrole
KT : Kilo Tonnes
MAG : Monoacylglycérol
NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate
NREL : National RenewableEnergyLaboratory

PBR : Photos Bioréacteurs

PE : Point d'Écoulement

Pe : Point d'éclair

PGK : Phosphoglycérokinase

pH : Potentiel D'hydrogène

PL : Phospholipides

PPM : Partie Par Million

PT : Point de Trouble

tpm : tour par minute

RUBP : RibuloseBiphosphate

Rubisco : Ribulose Bis Phosphate Carboxylase Oxygénase

SCP : Single CellProtein

TAG : Triacylglycérol

TBT : Tributylétain

TDS : Temps De Séjour

UF : Ultrafiltration

URAER : Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables UV : Ultraviolet

DW : Lactosérum.

Introduction générale

Les combustibles d'origine fossiles représentent actuellement la principale source énergétique utilisée dans le monde pour combler les besoins des populations en énergie [1]. Fait en sorte que ses réserves risquent de diminuer dans un futur proche. Ainsi, la dépendance des pays consommateurs vis-à-vis des pays producteurs ne fera que s'accroître [2]. Le secteur des transports demeure celui le plus problématique étant donné l'absence, actuellement, de moyens permettant de remplacer efficacement le pétrole.

Les impacts environnementaux liés à leur utilisation sont nombreux et en lien direct avec la problématique des changements climatiques et l'émission des gaz à effet de serre (GES) [1], dont le dioxyde de carbone (CO₂), gaz lié aux changements climatiques.

Ces facteurs ainsi que l'instabilité des cours du pétrole ont incité les politiques et par conséquent les chercheurs à trouver, de façon urgente, des sources alternatives au pétrole. Les principales alternatives au pétrole pour les transports sont liées à l'électricité, aux gaz ou aux biocarburants. Ces derniers issus de la biomasse, ils sont classés en trois générations. La troisième génération tente de s'affranchir du sol via l'utilisation de micro-organismes qui sont les microalgues. Déjà utilisées dans l'alimentaire, les cosmétiques et les fertilisants.

Les microalgues sont des micro-organismes photosynthétiques qui convertissent la lumière du soleil, l'eau ainsi que le dioxyde de carbone en biomasse algale. De nombreuses espèces de microalgues sont extrêmement riches en huile; les technologies actuelles permettent de transformer cette huile en biodiesel [3].

Chlorellavulgaris est une microalgue verte qui a la capacité de produire des composés ayant un potentiel énergétique comme les lipides (source de biodiesel). En effet, par sa division cellulaire rapide (temps de duplication d'environ 8h) et son pouvoir à accumuler des lipides jusqu'à 32 % de son poids sec, cette microalgue attire l'attention de plusieurs laboratoires dans le monde au point de devenir une espèce modèle [4].

Selon les experts, le principal obstacle aux biocarburants de troisième génération est le coût. En fait, le "algocarburants" n'est pas assez compétitif pour concurrencer les carburants conventionnels. Cependant, de nombreuses recherches sont en cours dans l'industrie pour remédier à cette lacune et trouver des moyens de réduire le coût de la culture des algues.

En Algérie, 13 860 tonnes de lactosérum sont produites annuellement. C'est le principal sous-produit obtenu lors de la fabrication du fromage. Cela en fait un environnement riche en nutriments. Ce sous-produit est l'une des émissions industrielles les plus polluantes de l'industrie laitière. En effet, rejeter le lactosérum directement dans les cours d'eau (rivières, rivières, etc.) réduit les niveaux d'oxygène dissous, problèmes d'eutrophisation et de toxicité qui altèrent les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques [5].

Dans ce contexte, l'objectif de notre travail est de démontrer l'intérêt des microalgues comme alternative aux énergies fossiles en évaluant et en utilisant le lactosérum comme milieu de culture des microalgues natives *Chlorellavulgaris*.

Ce mémoire s'articule sur les chapitres suivants :

- **Chapitre 1 : Synthèse bibliographique**

Dans ce chapitre, nous donnons un aperçu sur les combustibles fossiles ainsi que l'intérêt pour les différentes sources d'énergie alternatives.

- **Chapitre 2 : Matériels et méthodes**

Ce chapitre traite la description des matériaux et les méthodes expérimentales qui ont rendu cette étude pratique.

- **Chapitre 3 : Résultats et discussions**

Nous présentons dans le troisième chapitre les différents résultats expérimentaux trouvés lors de la réalisation de ce travail.

Enfin, nous clôturons ce travail par une conclusion générale et quelques perspectives pour sa poursuite.

Chapitre 1 : Synthèse bibliographique

I.1 Généralités sur les biocarburants

I.1.1 Biomasse, une source d'énergie alternative aux ressources fossiles

Les énergies fossiles (charbon, pétrole et gaz) occupent une place prédominante dans notre quotidien. Elles sont utilisées notamment pour les transports, la production d'électricité ou encore le chauffage. Si actuellement, elles ont un rôle essentiel dans nos usages, elles sont aussi à l'origine des émissions de CO₂. Les énergies fossiles représentent aujourd'hui plus des trois quarts de la consommation mondiale d'énergie primaire (80%) dans les transports, l'industrie et l'habitat (Figure I.1) [6].

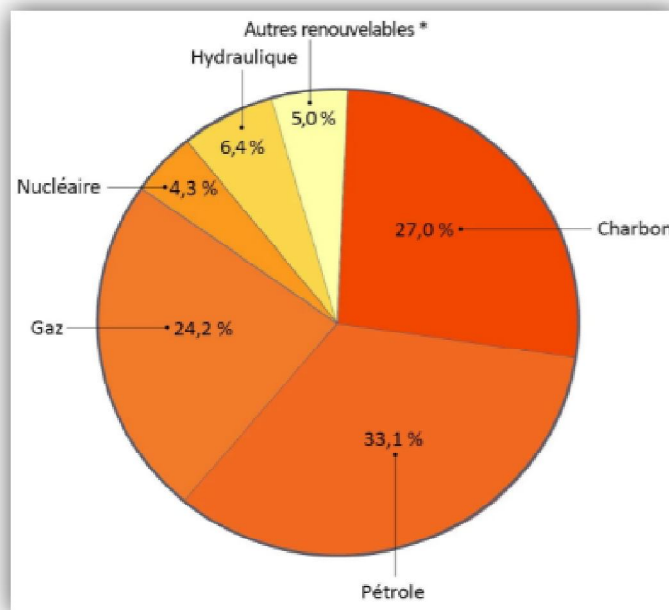


Figure I.1 : Mix énergétique mondiale [6]

À l'heure où le réchauffement climatique constitue une problématique environnementale inévitable, la question de l'utilisation des énergies fossiles revient fortement sur la table. La revue scientifique « Environnement research » a publié une étude en 2018. Des chercheurs ont estimé que La pollution de l'air provoquée par les énergies fossiles a été responsable de plus de 8 millions de morts prématurées en 2018, soit 20% des adultes décédés dans le monde.

Face à ces différents enjeux énergétiques, économiques et écologiques, de nouvelles technologies renouvelables et non génératrices de gaz à effet de serre sont recherchées. Les biocarburants issus de la biomasse peuvent remplacer les carburants fossiles, et ils sont divisés en trois générations.

- La première génération utilisait des cultures traditionnellement utilisées comme nourriture comme sources de biomasse, comme le maïs, la canne à sucre et même les céréales.

- Le substrat de départ pour la deuxième génération est la biomasse lignocellulosique, comme les résidus forestiers ou agricoles.
- La troisième génération essaie de se libérer du sol en utilisant de micro-organismes.

Le tableau I.1 regroupe ces biocarburants selon leurs générations.

Tableau I.1 : Classification des biocarburants

	Source	Avantage	Inconvénient
1^{ère} Génération	Fabriqué avec des produits alimentaires (maïs, betterave, colza)	- Réduction du rejet de CO ₂ par rapport aux combustibles fossiles	- Réduire la production alimentaire - La déforestation
2^{ème} Génération	Fabriqué avec des composants ligno-cellulosique (bois, feuilles, pailles...etc.)	- Déjà une solution à certains côtés négatifs de la 1 ^{ère} génération	- Les substrats nécessitent de faire pousser des plantes ou d'utiliser des déchets, ce qui concurrence les cultures alimentaires
3^{ème} Génération	Fabriqué avec des micro-organismes (microalgues)	- Production des lipides beaucoup plus efficacement que les générations précédentes	- Le coût de procédé d'extraction

Nous nous intéressons ici à la 3^{ème} génération de biocarburants et plus particulièrement aux micro-algues, Tel que discuté précédemment les biocarburants de première génération ont un potentiel limité à remplacer les carburants d'origine fossile utilisés dans le transport. Cependant, depuis quelques années, les recherches ont permis des avancées dans de nouveaux domaines, tel celui de la production de biodiesel à partir des micro-algues. Il semblerait d'ailleurs qu'il s'agisse du seul biocarburant permettant éventuellement de complètement remplacer le diesel, et ce, sans affecter les ressources alimentaires, la consommation d'eau et la détérioration des sols cultivables [7]. En effet, les microalgues possèdent plusieurs avantages dont l'importante capacité de production de biomasse par hectare, la fréquence de récolte très importante, la diminution de l'utilisation d'eau potable ainsi que celle d'émission de gaz à effet de serre.

Les microalgues et les cyanobactéries sont des organismes photosynthétiques qui utilisent la lumière du soleil comme source d'énergie pour fixer le dioxyde de carbone. Les lipides accumulés par les micro-algues, pouvant atteindre jusqu'à 80 % de leur poids sec, sont principalement sous forme de triglycérides. Ces derniers peuvent ensuite être utilisés pour produire du biodiesel via une réaction appelée transestérification [7-8].

I.1.2 Procédés d'extraction des lipides pour une application biodiesel

Le potentiel des micro-algues à visée biodiesel est maintenant bien établi. Cette voie suscite l'intérêt et l'espoir des chercheurs. La Figure I.2 décrit le concept de production d'huile de microalgues en vue d'obtenir du biodiesel. Ce procédé comporte une étape de production de biomasse microalgale, de récolte, concentration, d'extraction des lipides puis transformation en biodiesel.

L'étape d'extraction de l'huile algale demeure une étape critique dans la production de biocarburants pour laquelle des efforts importants sont à apporter. Compte tenu de la taille des micro-algues, les techniques de pressage à froid, utilisées dans le domaine des oléagineux, sont inefficaces. D'autre part, le procédé d'extraction est affecté par la présence d'eau à tous les stades et toutes les échelles du procédé.

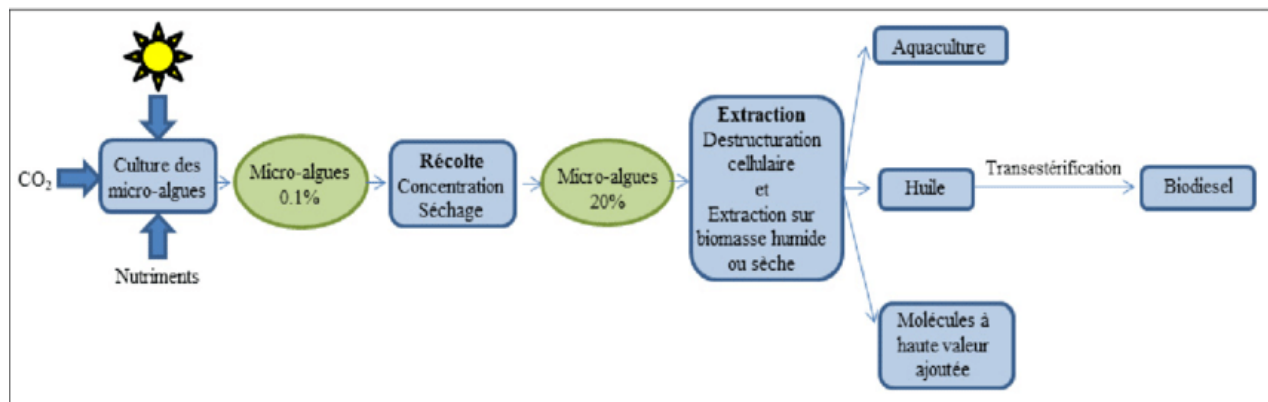


Figure I.2 : Concept de production d'huile de microalgues visant à obtenir du biodiesel

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

Parmi ces techniques, il existe :

- L'extraction par solvant organique
- L'extraction par CO₂ supercritique
- L'extraction par eau sub-critique

Il reste que l'extraction par solvant est la plus utilisée. Dans cette technique, les lipides des micro-algues sont stockés au sein des cellules qui peuvent être protégées par une épaisse paroi. Leur extraction nécessite donc souvent une étape visant à rompre les parois cellulaires afin de les rendre accessibles aux solvants. Pour ce faire, plusieurs traitements sont possibles : le broyage, les ultrasons, les micro-ondes, les chocs osmotiques, la lyse enzymatique...etc [9-10]. Les lipides sont généralement extraits par un solvant organique non miscible à l'eau tels que le n-hexane, chloroforme, éther de pétrole ou d'un mélange de solvants [11].

Lors d'un processus de dissolution, les molécules de solvant et de soluté doivent avoir assez d'affinité pour que ces dernières se répartissent de manière uniforme dans le solvant.

I.1.2 Caractéristiques du biodiesel

Les propriétés physicochimiques les plus concernées du biodiesel sont le point d'éclair (Pe; point d'éclair), le point de trouble (PT; point de trouble), le point d'écoulement (PE; point d'écoulement), la viscosité cinématique, l'indice de cétane (CI), les valeurs d'acidité, la teneur en cendres sulfatées, résidus carbonés, teneur en eau et sédiments, glycérol libre et total, température limite de filtration, corrosion de la bande de cuivre, stabilité et densité oxydative [12-13]. Le tableau I.2 résume ces propriétés

Tableau I.2 : Propriétés physicochimiques du biodiesel de micro-algues, du petro-diesel et du biodiesel

Propriété du carburant	Diesel	Biodiesel	Biodiesel issu de micro-algues
Pouvoir calorifique (MJ/Kg)	40 à 45	40 à 42	41
Indice de cétane	40 à 55	45 à 70	39-54
Viscositécinématique (mm ² /s)	1,9 à 3,8	2,8 à 5,7	3,87-5,2
Densité (15.5°C)	0,81 à 0,89	0,86 à 0,89	0,864
Soufre (%masse)	0,01 à 0,04	0.0000 à 0.0024	0,0069
Point éclair (°C)	60 à 80	96 à 190	115-204
Point de trouble (°C)	-20 à 0	-3 à 15	Non rapportés
Point d'écoulement (°C)	-35 à -15	-5 à 10	
Stabilité à l'oxydation (h)		3 max	

I.1.3 Normes du Biodiesel

Les normes européennes (norme européenne (EN) 14214) et américaines (American Society for Testing and Materials (ASTM) D6751-10) diffèrent dans certains niveaux de biodiesel. Par exemple, la norme EN 14214 précise que la teneur en esters polyinsaturés (>4 liaisons) et en esters d'acide linoléique doit être respectivement inférieure à 1 % (mol/mol) et 12 % (mol/mol). Ces limitations sont importantes pour la production de biodiesel par les micro-algues, car la composition en esters est souvent riche en composés polyinsaturés et donc au-dessus de ces niveaux [14-15].

Tableau I.3 : Propriétés du biodiesel issu de microalgues selon la norme EN 14214

Paramètre	Norme EN 14214
Indice de cétane	> (47-51)
Viscosité cinématique	< (5-6 mm ² / s), 40°C
Stabilité oxydative	3-6 h

I.1.4 Comparaison entre le diesel et le biodiesel

Le diesel est un carburant liquide utilisé dans les moteurs diesel. Il est généralement dérivé du pétrole brut. Le diesel ou le pétrodiesel est produit en distillant du pétrole brut entre 200°C et 350°C à la pression atmosphérique. Le biodiesel est un carburant développé à partir d'huile végétale ou de graisse animale et fonctionne dans un moteur diesel. Ces carburants sont fabriqués en tant qu'alternatives plus écologiques et plus propres à l'essence et au diesel. Le biodiesel est composé d'ester alkylique (méthylique, éthylique ou propylique) à longue chaîne. Il est fabriqué en combinant une réaction chimique avec un alcool produisant des esters d'acides gras.

D'après les comparaisons effectuées, nous pouvons dire que le biodiesel est un carburant très proche du diesel, tant au niveau des caractéristiques qu'au niveau de l'énergie libérée. De plus, nous remarquons également que lors de l'utilisation, la pollution du biodiesel est largement plus faible que celle du diesel normal. (Site web [1])

I.1.5 Avantages et les inconvénients de biocarburants

- Avantages

Renouvelables : il faut des milliers d'années pour produire des combustibles fossiles tandis que la matière première des biocarburants est renouvelable beaucoup plus rapidement.

Sécurité : en réduisant la dépendance sur les sources d'énergies étrangères, les pays peuvent protéger l'intégrité de leurs ressources énergétiques et se libérer des influences extérieures.

Biodégradabilité : Les biocarburants sont facilement biodégradables et beaucoup moins dangereux à manipuler que les carburants traditionnels.

Faible émission de carbone : lorsque les biocarburants sont brûlés, ils produisent significativement moins de carbone et beaucoup moins de toxine. C'est une alternative plus sûre pour préserver la qualité atmosphérique (site web [2])

- Inconvénients

Production d'énergie : Les biocarburants ont un rendement énergétique plus faible que les carburants traditionnels et nécessitent donc une plus grande quantité pour produire le même niveau d'énergie.

Coût élevé : Raffiner les biocarburants pour produire de l'énergie plus efficace et construire des usines de fabrication nécessaires pour augmenter les quantités de biocarburants nécessitera un investissement initial important.

Disponibilité : Les biocarburants ne sont pas encore disponibles facilement pour les consommateurs et la plupart des véhicules ne sont pas équipés pour fonctionner avec des biocarburants.

Odeur : Selon le type de biocarburant, on est parfois confronté lors de la production à des odeurs indésirables (**site web [2]**).

I.2 Microalgues

I.2.1 Définition

Les microalgues sont des organismes microscopiques unicellulaires photosynthétiques qui se développent dans les milieux fortement aqueux et sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone (CO₂) en un ensemble de produits organiques. La taille d'une micro-algue varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres.

L'existence des micro-algues et plus précisément des cyanobactéries remontent à plus de trois milliards d'années. En utilisant l'énergie solaire, elles produisirent de l'oxygène qui s'accumula lentement dans l'atmosphère primitive, atmosphère hostile riche en gaz carbonique et en méthane. L'enrichissement en oxygène de l'atmosphère primitive conduisit à la création de la couche d'ozone, qui protège la Terre des rayonnements solaires ultraviolets, et provoqua des modifications du climat et de la composition de la croûte terrestre. Ces changements ont ainsi permis une colonisation des continents par de nouvelles formes de vie animale et végétale [16].



Figure I.3 : Structure de quelques microalgues

I.2.2 Caractéristiques des microalgues

La majorité des microalgues sont dites photo-autotrophes ou autotrophes. Elles tirent leur énergie de la lumière par photosynthèse et leur principale source nutritive est le CO₂ en solution dans l'eau. Leur relative simplicité et la petitesse de leur taille permettent d'effectuer une photosynthèse très efficace. Elles convertissent ainsi l'énergie lumineuse en lipides et en hydrates de carbone, des formes plus condensées et stables d'énergie. Comme chez les végétaux terrestres, certaines espèces de microalgues peuvent accumuler, dans certaines conditions de culture, le carbone fixé, sous forme de lipides appelés triglycérides. Les lipides stockés constituent alors une réserve de carbone pour la micro-algue. En conditions normales, ces teneurs restent faibles, et les lipides sont principalement constitués de phospholipides et de glycolipides (constituants des membranes). Cependant, certaines espèces sont capables d'accumuler jusqu'à 80 % de leur poids sec en lipides [7].

Cependant, certaines espèces de microalgues sont capables de se développer en absence de lumière, elles sont dites hétérotrophes. Dans ce cas elles se développent en mode fermé dans des bioréacteurs semblables à des fermenteurs et se nourrissent d'une source de carbone organique [17].

I.2.3 Diversité de familles et d'espèces

Les micro-algues sont très diversifiées et environ 30 000 espèces ont déjà été caractérisées. Ce nombre représente moins de 10 % du total existant estimé. En 2000, près d'une cinquantaine seulement ont été étudiées en détails et une dizaine d'espèces seulement ont été exploitées au niveau industriel et commercial. Les scientifiques ont analysé les micro-algues pour les

distinguer et les diviser en plusieurs classes selon des critères généraux comme la pigmentation, la structure biologique et le métabolisme.

Ces micro-organismes constituent un groupe très diversifié, dans lequel nous retrouvons des espèces procaryotes (micro-algues bleues ou cyanobactéries) et eucaryotes (microalgues vertes, rouges et brunes). Les microalgues eucaryotes possèdent une structure cellulaire végétale classique compartimentée, avec ou sans paroi cellulosique, et avec des pigments photosynthétiques renfermés dans les chloroplastes [18].

I.2.4 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. La culture des micro-algues à grande échelle peut être conduite selon deux modes, soit à l'aide de bassins ouverts à haut rendement (raceway) ou dans une enceinte transparente fermée utilisant la lumière naturelle ou artificielle (photo-bioréacteur) [19].

- Culture en milieu ouvert ou raceway

Les systèmes de culture en milieu ouvert (bassins, « raceways ») sont des étangs de recirculation en boucle fermée avec une profondeur de quelques dizaines de centimètres. Ce sont des technologies simples et présentant peu d'investissement initial (Figure I.4). Le mélange et la circulation du milieu sont possibles grâce à une roue à aube : le flux est guidé par la vitesse de rotation de cette roue. Un bullage permet un apport en CO₂.



Figure I.4 : Bassins de culture de micro-algues. A gauche : Bassin en boucle fermée. A droite : bassins circulaires d'environ 500 m², production de chlorelle

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

Le photo-bioréacteur tubulaire (PBR) est une association de plusieurs tubes transparents en plastique ou en verre (Figure I.5). La source de lumière peut être naturelle ou artificielle. Les tubes sont généralement de 10 cm de diamètre, facilitant la pénétration de la lumière à l'intérieur du tube. Ce milieu clos et hermétique évite les contaminations extérieures et permet la production de biomasse à large échelle [19-20]. L'injection d'air permet de fournir du carbone sous forme de CO₂, de brasser le milieu et d'évacuer les poches d'oxygène toxique pour les micro-algues. Un système de dégazage est nécessaire pour évacuer l'oxygène accumulé toxique pour les micro-algues. La suspension micro-algale circule du réservoir jusqu'aux tubes qui vont capter la lumière puis des tubes vers le réservoir. La culture se fait de façon continue. Dans le cas de la lumière naturelle, l'arrangement des tubes se fait souvent du nord vers le sud pour assurer un ensoleillement maximal et parallèle ou horizontal pour que chaque tube puisse recevoir le même taux d'ensoleillement [21].

La lumière artificielle des PBR est techniquement réalisable mais elle représente un coût important comparé à la lumière naturelle. Le contrôle de la température est un élément important à prendre en compte pour les photo-bioréacteurs. Un système d'échangeur de chaleur est nécessaire pour refroidir le milieu de culture qui est recyclé.



Figure I.5 : Photographies de différentes installations de PBR tubulaires. A gauche : PBR hélicoïdal, vertical. A droite : PBR tubulaire horizontal immergé dans l'eau

I.2.5 Modes de nutrition des microalgues

Les algues sont autotrophes ou phototrophes, c'est-à-dire qu'elles utilisent la lumière (par la photosynthèse) et le gaz carbonique (CO₂) pour générer de l'énergie sous forme d'ATP (adénosine triphosphate) et de sucres pour assurer leur croissance. Cependant, les algues sont capables de modifier leurs modèles de nutriments en fonction des changements des conditions environnementales dans lesquelles elles poussent (tableau I.4). Ils peuvent passer d'un

métabolisme à un autre en fonction de l'environnement [22]. En plus des autotrophes, on peut également distinguer deux autres types trophiques : hétérotrophe et mixte.

Tableau I.4 : Différents modes trophiques pouvant être utilisés par les micro-algues

Modes Trophiques	Nutriments	Moléculesgénérées	Voies métaboliques
Autotrophe	H ₂ O, CO ₂ , et sels minéraux	O ₂ et composésorganiques	Photosynthèse
Hétérotrophe	Matièreorganique et O ₂	H ₂ O, CO ₂ et composés organique	Respiration
Mixotrophe	H ₂ O, CO ₂ , O ₂ , sels minéraux et matière organique	O ₂ , H ₂ O, CO ₂ et composés organiques	Photosynthèse et Respiration

I.2.6 Composition biochimique des microalgues

L'intérêt des micro-algues se traduit par la diversité de leurs composants biochimiques. La principale différence entre cette biomasse et les autres plantes est qu'elle est riche en lipides, protéines, polysaccharides, vitamines, pigments et antioxydants. Le tableau I.5 répertorie la composition chimique de certaines espèces de micro-algues.

Tableau I.5 : Compositions biochimiques des micro-algues

Micro-algues	Protéines (%)	Polysaccharides (%)	Lipides (%)
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliellasalina</i>	57	32	6
<i>Porphyridiumcruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Spirulinaplatisensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Synechococcus sp.</i>	63	15	11

Les micro-algues représentent une excellente source de presque toutes les vitamines essentielles : B1, B6, B12, C, E, K1, et avec une large gamme de pigments, fluorescents ou non, elles agissent également comme antioxydant. Outre la chlorophylle (0,5 à 1 % de la matière sèche), qui est le principal pigment photosynthétique de toutes les algues photosynthétiques, il existe une gamme de pigments complémentaires de type caroténoïde (0,1 à 0,2 % de la matière sèche) et des protéines phycobilis (Phycoérythrine et Phycocyanine).

Plusieurs types de micro-algues sont riches en protéines, peptides et acides aminés (entre 12% et 65% de matière sèche), ce qui est l'une des principales raisons pour lesquelles elles sont considérées comme des sources non conventionnelles de protéines dans l'alimentation humaine et animale (pisciculture).

Ils se divisent en deux classes distinctes selon leur polarité : d'une part, les lipides neutres regroupent les acylglycérols (monoacylglycérol ou MAG, diacylglycérol ou DAG, triacylglycérol ou TAG) et les acides gras libres (FFA), d'autre part D'une part , il peut être divisé en deux : les glycolipides (GL) et les phospholipides (PL). Les MAG et les DAG sont dérivés de la dégradation des TAG [11].

La molécule TAG est constituée d'un motif glycérol avec trois fonctions hydroxyle sur lesquelles trois chaînes d'acides gras sont estérifiées, tandis que la molécule PL possède un groupe phosphate sur l'une des trois fonctions hydroxyle (Figure I.6)

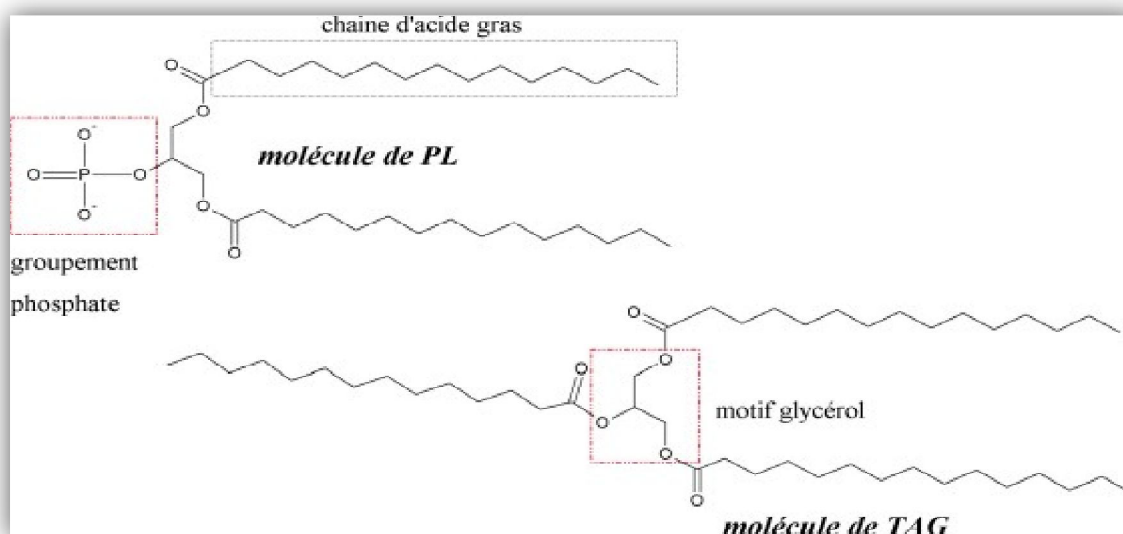


Figure I.6 : Structure chimique d'un TAG et d'un PL

I.2.7 Teneurs en lipides des microalgues

Les propriétés des lipides sont des données importantes pour la production de biodiesel. En effet, certaines micro-algues peuvent contenir jusqu'à 93 % (g de lipides/g de matière sèche) de phospholipides et de glycolipides. De plus, certaines micro-algues peuvent également contenir d'autres types de lipides, tels que des lipides insaponifiables, des caroténoïdes et d'autres éléments (chlorophylle) considérés comme des sous-produits. Par conséquent, le rendement de la réaction de transestérification dépend de la nature du lipide.

I.2.8 Récolte des microalgues

En effet, les micro-algues sont souvent de la taille d'un micron et leur récolte n'est pas aisée. Cette étape peut être coûteuse et représente une part économique importante du coût d'un procédé à l'échelle industrielle [16]. La récolte peut être réalisée par centrifugation, filtration, floculation, sédimentation ou flottation.

- Centrifugation

Cette technique de concentration utilise la force centripète pour séparer les micro-algues du milieu par une simple différence de densité. Dans ce cas, le rendement de centrifugation est de 90 % et la récupération est directement liée au débit réglé en amont. La méthode est rapide et efficace, et est l'une des méthodes les plus largement utilisées à l'échelle industrielle.

- Sédimentation

Le tassement est une technique qui repose sur le principe de la gravité. Les cellules en suspension dans le milieu seront soumises à la gravité, formant un sédiment de particules solides en partie inférieure et une phase liquide en partie supérieure. De grandes micro-algues denses peuvent être récoltées par sédimentation, comme la spiruline. L'ajout de flocculants peut augmenter significativement la vitesse de sédimentation [23-24].

- Filtration

Dans cette méthode, la suspension de micro-algues est passée à travers un filtre, ne laissant que les cellules. Il existe différentes formes de filtration : la microfiltration, la filtration sous vide, la filtration sous pression, l'ultrafiltration et la filtration tangentielle.

- Flocculation

Lorsque la flocculation est associée à une sédimentation ou à une filtration, son efficacité est significativement améliorée [23]. Le but de cette étape est de connaître les lipides, notamment les acides gras, présents dans les cellules d'algues.

I.2.9 Extractions des lipides chez les microalgues

L'extraction a été réalisée en deux étapes :

- La première consiste à mettre en contact un solvant d'extraction composé de chloroforme et de méthanol avec de la biomasse algale séchée préalablement broyée en une poudre fine. Le mélange a ensuite été placé dans un bain-marie à 65°C pendant 24 heures.
- La deuxième étape correspond à l'étape de filtrage. Après 24 heures au bain-marie, le mélange sera filtré pour éliminer les résidus solides. Le filtrat obtenu est ensuite placé sous une hotte aspirante pour évaporer le solvant d'extraction. Les lipides obtenus sont ensuite placés au réfrigérateur, suivi d'une transestérification.

Les lipides présents dans les cellules d'algues peuvent être divisés en deux grandes catégories, les lipides neutres (réserve) et les lipides polaires (structure). Les triglycérides, également appelés triacylglycérols (TAG), appartiennent au premier groupe, tandis que les phospholipides et les glycolipides (Figure I.7) appartiennent au second groupe.

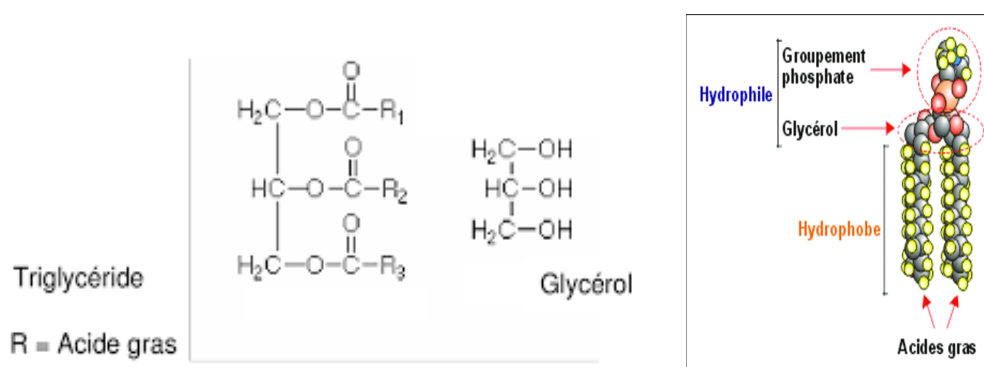


Figure I.7 : Triglycéride et un phospholipide

En fait, selon certains chercheurs, les TAG ont un meilleur potentiel de conversion en biodiesel en raison de leur concentration plus élevée en acides gras et de l'absence de groupes phosphate. Dans le cas des phospholipides, la présence de groupements phosphate rend le gazole de moins bonne qualité et plus difficile à purifier.

Le TAG est converti en biodiesel par transestérification, ce qui donne des esters alkyles d'acides gras [25].

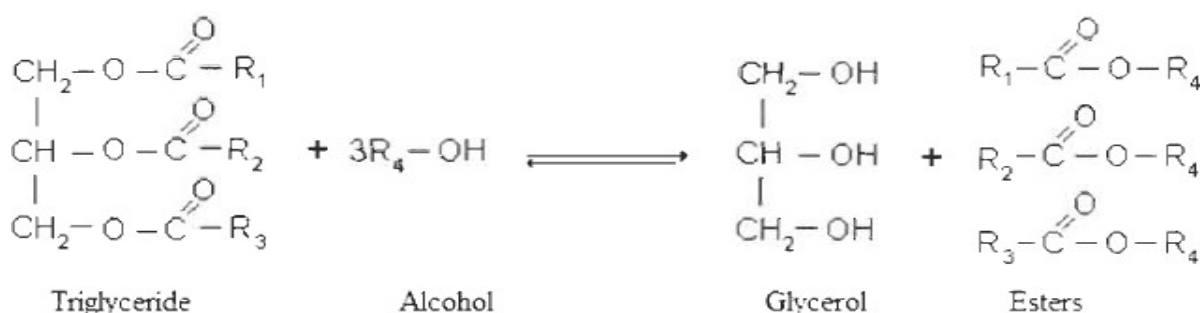


Figure I.8 : Réaction de la transestérification d'un triglycéride

La transestérification (Figure I.9) est une technique classique de production de biodiesel. Une fois le solvant d'extraction évaporé, les lipides algaux sont mis en contact avec le transestérifiant trifluorure de bore méthanol ou BF₃-méthanol. Le mélange est ensuite placé dans un bain marie à 65°C pendant 20 min. Une fois le tube refroidi, une solution saturée de NaCl et de l'hexane sera ajoutée. Cela permet de récupérer les esters méthyliques d'acides gras dans la phase organique (hexane). Une étape de centrifugation est réalisée pour séparer la phase aqueuse (BF₃-méthanol + NaCl) et la phase organique (hexane).



Figure I.9 : Réaction générale de la Transestérification

I.2.10 Culture des microalgues dans le monde

La production de micro-algues a considérablement augmenté dans le monde. Elle est passée de 5000 tonnes par an à plus de 10000 tonnes en 5 ans [26]. Cultures de biomasse à grande échelle riches en protéines, vitamines, sels minéraux, pigments, antioxydants, acides gras polyinsaturés à longue chaîne. Principalement dédiées aux industries cosmétiques et des compléments alimentaires [27-28].

I.2.11 Applications environnementales

- Traitement des eaux usées

Les micro-algues sont capables d'absorber une grande partie des nutriments nécessaires à leur croissance, ce qui leur permet d'éliminer certains éléments présents dans les eaux usées. Par conséquent, ils peuvent réduire les niveaux de phosphate et de nitrate. Ils sont détoxifiants et décontaminants, et peuvent agir de deux manières : directement grâce à leur capacité à fixer les métaux lourds, ou indirectement en apportant aux bactéries de l'oxygène dissous qui élimine l'eau contaminée. Des travaux ont été menés pour éliminer les métaux lourds présents dans les eaux usées [29] et pour dégrader les polluants toxiques comme le tributylétain « TBT » de la *Chlorella* [30].

- Remédiation du CO₂

L'un des principaux avantages des cultures de micro-algues réside dans la capacité de la photosynthèse à absorber le dioxyde de carbone, qui est ensuite converti en biomasse, en lipides ou en produits biologiques de valeur. Ainsi, le dioxyde de carbone émis par les centrales thermiques, la sidérurgie, la cimenterie, la pétrochimie ou tout autre secteur peut être utilisé pour la culture industrielle des microalgues. Cela permet de réduire les émissions de gaz à effet de serre, de produire des carburants au bilan carbone neutre et des bioproduits recyclables

- Applications en bioénergie

Les microalgues peuvent être une importante source d'énergie. Comme toute biomasse, ces substances riches en lipides permettront la production de biodiesel. Certaines micro-algues sont

riches en sucres, qui peuvent ensuite être utilisés pour produire du bioéthanol. D'autres peuvent générer du biogaz par digestion anaérobie.

I.3. Lactosérum

I.3.1 Généralités

Le lactosérum est un sous-produit de l'industrie fromagère [31]. Le lactosérum est un produit que les Bédouins ont découvert dans le transport. L'acidification par coagulation thermique se traduit par la formation d'une phase liquide au-dessus du caillé [32] (Figure I.10). Le lactosérum est très fermentescible et friable, il représente 90 fois le volume de lait cru utilisé en fromagerie et en est le principal sous-produit [33]. Il contient environ 50 % des nutriments du lait de départ : protéines solubles, lactose, vitamines et minéraux [34].

Le terme lactosérum désigne un liquide jaune-vert translucide qui est séparé du caillé [35] après coagulation par un acide ou séparation de la caséine par un procédé enzymatique utilisant de la présure ou de la présure [36].



Figure I.10 : Coagulation du lait

Le lactosérum est formé d'eau, de lactose, de protéines globulaires solubles et de sels minéraux. Deux grandes classes de lactosérums sont souvent distinguées en fonction du coagulant employé (tableau I.6).

Tableau I.6 : Différents types de lactosérum

Type	pH	Production
Lactosérum doux	6,5 - 6,7	- Fromagerie à pâte pressée - Fromagerie à pâte cuite - Caséinerie présure
Lactosérum acide	4,5 - 5,5	- Fromagerie à pâte fraîche - Fromagerie à pâte molle - Caséinerie acide

La composition du lactosérum et ses caractéristiques organoleptiques sont variables selon le type de lactosérum (doux ou acide), la provenance du lait (vache, chèvre, brebis), le régime alimentaire de l'animal producteur de lait, la traitement utilisé, période de l'année et stade de lactation. Le tableau suivant regroupe la composition générale du lactosérum.

Tableau I.7 : Composition générale de lactosérum doux et acide

	Lactosérum doux	Lactosérum acide
Liquide %	93,5	94
Extrait sec %	6,5	6,00
	Composition en g/l	
Lactose	76,00	74,00
Protéines	13,50	12,00
Cendres	8,00	12,00
Acidelactique	1,80	1,80
Matièregrasse	1,00	0,50
	Matière minérale	
Ca%	0,60	1,80
P %	0,60	1,50

I.3.2 Valorisation du lactosérum

Environ 50 % de la production mondiale de lactosérum est transformée en divers produits alimentaires, dont environ 45 % sont utilisés directement sous forme liquide, 30 % sont utilisés sous forme de poudre, 15 % sont utilisés dans le lactose et ses dérivés, et le reste est utilisé dans la fabrication de concentré de protéines de lactosérum [37]. En effet, trois options différentes d'utilisation de lactosérum peuvent être envisagées (Figure I.11).

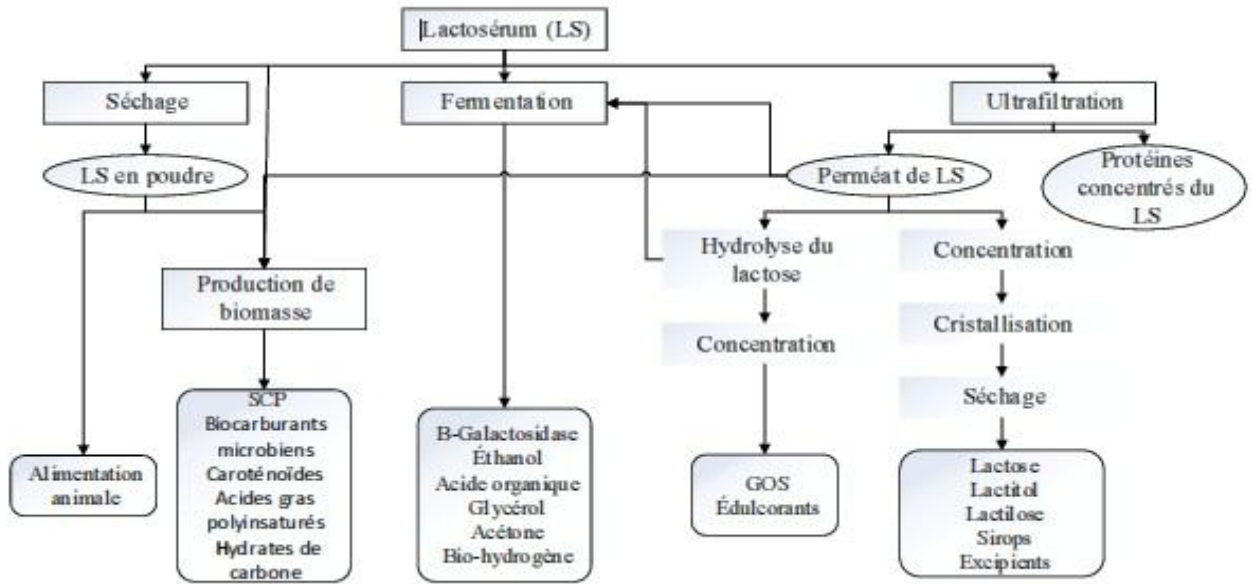


Figure I.11 : Différents procédés de valorisation de lactosérum

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

II.1 Echantillonnage

Les expérimentations ont été effectuées au niveau de laboratoire de Biotechnologie des microalgues à l'Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables URAER (Ghardaïa).

Les expériences se sont concentrées sur la culture d'une espèce isolée localement qui est « *Chlorella sp.* ». Les expériences menées à l'échelle du laboratoire visaient à mieux comprendre le comportement des cultures d'algues pures dans différentes conditions de culture.

II.1.1 Souche utilisée

Nous avons utilisé la souche de *Chlorella sp.*, qui a été isolée dans la région de Metlili-Ghardaïa. Elle a été disponible au niveau du laboratoire de biotechnologie des microalgues de (URAER). Ces derniers ont été réactives sur un milieu nommé BG11 d'isolement dans des boîtes de Pétri (figure II.1).

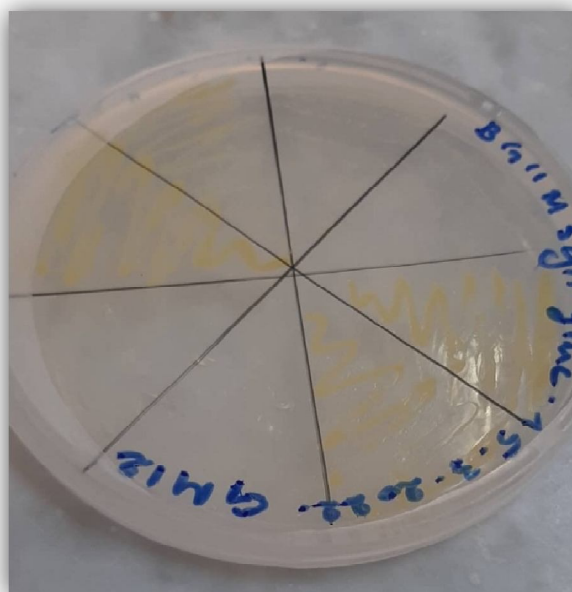


Figure II.1 : : *Chlorella sp.* en culture dans des boîtes de Pétri

II.1.2 Milieu de culture

Le milieu BG11 a été utilisé pour la culture et le maintien de la souche *Chlorella sp.* réactive. Le choix de ce milieu a été justifié par son efficacité, qui a été rapportée dans des travaux similaires pour la culture d'espèces du genre *Chlorella* [4].

Le milieu BG11 est à base de sels minéraux. Il est simple et fonctionne avec toutes les souches de microalgues, principalement vertes et cyanobactéries [4]. Ce milieu est utilisé pour favoriser la prolifération du plus grand nombre d'espèces possible. En effet, BG11 favorise la croissance des algues dans le sol, les eaux douces, les eaux chaudes et les plans d'eau marins.

II.1.3 Composition chimique du milieu BG11

La composition chimique du milieu est représentée dans le tableau II.1.

Tableau II.1 : Composition globale du milieu de culture

Composants	Concentrations dans le milieu (mg/L [eau distillée])
$(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ (l'urée)	1100
KH_2PO_4	238
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	204
$\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_8\text{N}_2\text{NaFe}$ (EDTA)	40
CaCl_2	88

II.1.4 Condition aseptique et travail sous une hotte à flux laminaire vertical

L'allumage de l'appareil (Figure II.2) doit être effectué à vitesse minimale pendant 5 minutes. Il faut ensuite le nettoyer avec de l'alcool à 90°. Allumez la lampe ultraviolette (UV) pendant 30 minutes après cette opération. De plus, ces opérations sont effectuées avant chaque opération pour minimiser les risques de contamination [38].



Figure II.2 : Hotte à flux laminaire verticale

II.1.5 Préparation de milieu de culture gélosé pour des cultures en boîtes de Pétri

Le milieu utilisé pour la culture de la souche de *Chlorella sp.* dans les boîtes de Pétri est un milieu solidifié par de l'agar à 15% [4]. La préparation par l'addition des sels minéraux est faite dans un bécher sous agitation (Figure II.3). Le pH est ajusté à 7,4 avant autoclavage avec du H₂SO₄.

Le milieu préparé est stérilisé au niveau de l'autoclave à 110°C pendant 20 minutes [4]. L'autoclave utilisé est de marque SANO Clav (Figure II.4). Après autoclavage, et au niveau de la hotte, le milieu est versé sur des boîtes de Pétri puis laissé à refroidir (Figure II.5).

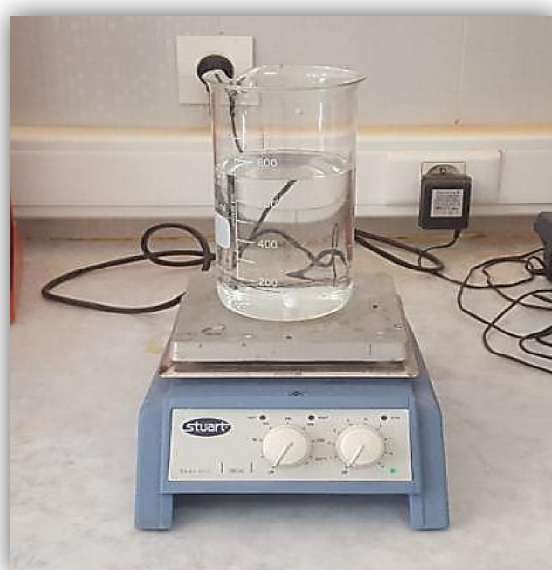


Figure II.3 : Agitateur magnétique



Figure II.4 : Image de l'autoclave utilisé



Figure II.5 : Boite de pétri contenant le milieu de culture

II.1.6 Milieu de culture à base d'effluent laitier

Le lactosérum utilisé est un déchet de type agroindustriel, qui a été collecté au niveau d'une laiterie locale de la région de Ghardaïa. Il a été traité au niveau du laboratoire de biotechnologie des microalgues (URAER).

- Prétraitement de l'effluent laitier

Avant d'utiliser le lactosérum, il faut d'abord passer par une procédure de traitement et le préparer pour être un milieu de culture approprié.

Nous l'avons d'abord déposé dans l'autoclave à 110 °C, après on le filtre pour éliminer les particules fines du caillé de lactosérum. Ensuite, nous le refroidissons pendant 24 heures. Le pH devient alors égal à 4,8. Une fois refroidi à température ambiante, nous allons ajuster le pH

jusqu'à 7 par l'addition d'une solution de NaOH sous agitation puis on l'autoclave de nouveau pendant 15 minutes à 110°C (Figure II.6) [39].

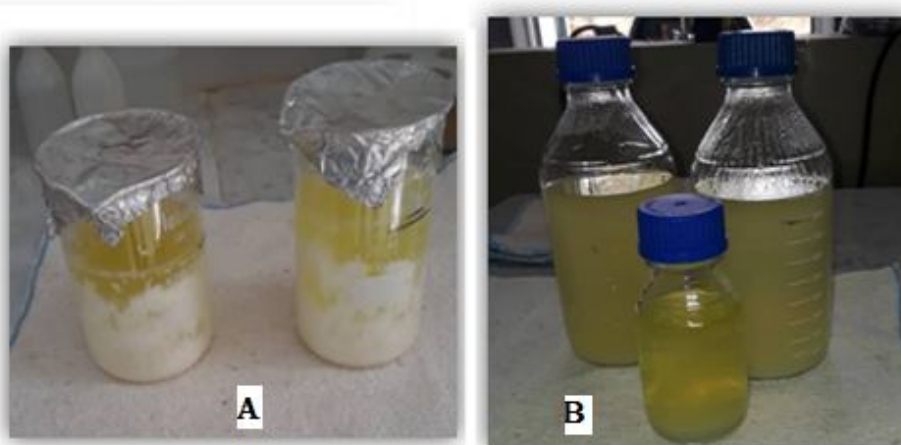


Figure II.6 : Lactosérum avant (A) et après (B) traitement

- Caractéristiques de lactosérum

Les mesures des paramètres physico-chimiques, du lactosérum après son traitement, ont été effectuées au niveau du laboratoire de la société « ALGERIENNE DES EAUX » (ADE). Le tableau II.2 résume ces propriétés physico chimiques.

Tableau II.2 : Paramètres physico-chimiques de lactosérum après traitement

Paramètres	Effluent laitiers
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
Ca^{2+} (mg/l)	/
Mg^{2+} (mg/l)	65,12
SO_4^{-2} (mg/l)	323,9
Na^+ (mg/l)	2833,33
K^+ (mg/l)	1722,22
NH_4^+ (mg/l)	/

II.1.7 Procédé de culture de *Chlorella sp.* en condition hétérotrophe (pré-culture)

- Conditions de travail

Avant chaque culture, des conditions de travail en aseptise doivent être respectées, car la technique demande beaucoup de soin. Le travail doit être effectué dans une zone stérile (hotte à flux laminaire) à proximité du bec bunsen. La flamme produite par le brûleur à gaz en raison de la chaleur dégagée par celui-ci produit une surface stérile (20 cm de diamètre) au tour de celle-ci. Il est alors possible de travailler dans des conditions aseptiques [38].

- Préparation de la pré-culture

La pré-culture correspond à l'adaptation de la souche aux conditions de culture à venir. Ses étapes de propagation sont réalisées à partir des échantillons contenus dans les boîtes de pétri est réalisée comme suit :

Selon la littérature [40], pour une pré-culture réussie, 10^8 cellules/ml de la souche doivent être inoculées dans 250ml de milieu. Dans notre cas, l'opération a été réalisée à l'aide d'une lance d'inoculation (Figure II.7). Par conséquent, des souches de *Chlorella sp.* cultivées en boîtes de Pétri ont été inoculées dans le milieu BG11 additionné de 10 g/l de glucose dans deux flacons d'Erlenmeyer de 500ml. Ceux-ci sont scellés avec des bouchons en papier après ajustement du pH à 7,4 et sont autoclavés (120°C, 20 min). Les cultures ont été incubées sur un agitateur orbital standard (Wisd SHO-2D) à 150 tpm et stockées à (30 ± 2) °C à l'abri de la lumière (Figure II.8). L'inoculation a été réalisée au niveau de la hotte à flux laminaire, juste autour de la flamme du brûleur pour éviter toute contamination bactérienne.

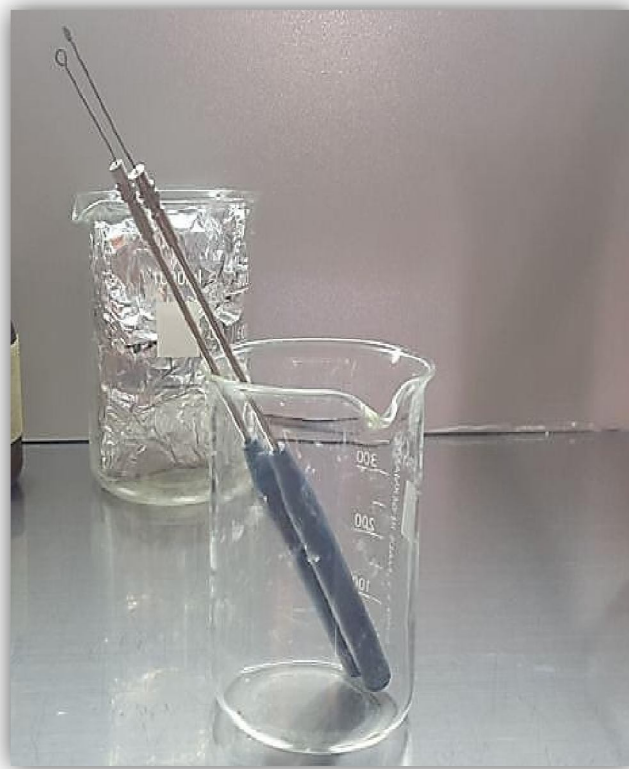


Figure II. 7 : Lance d'inoculation

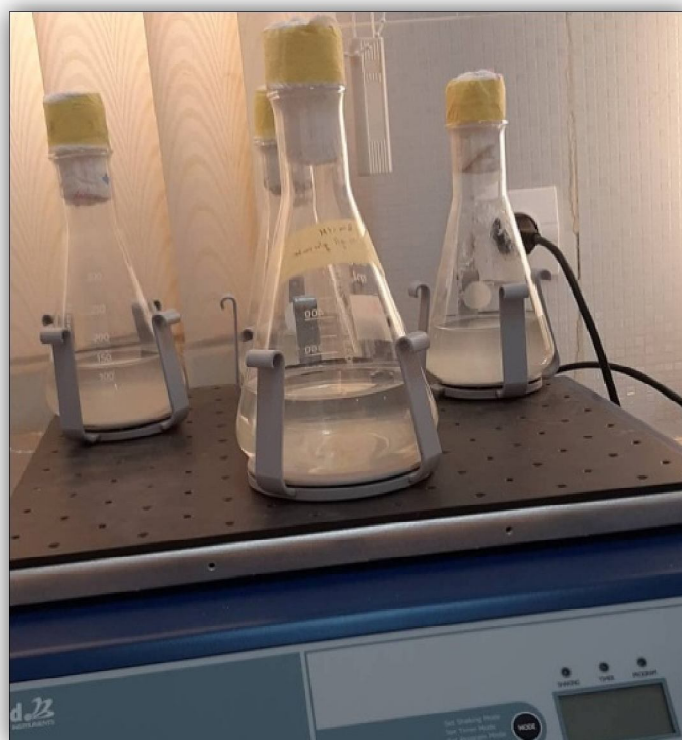


Figure II. 8 : Agitateur orbitale modèle WisdSHO-2D

II.1.8 Culture de la souche jaune de *Chlorella sp.*

La souche jaune de *Chlorella sp.* a été cultivée dans trois milieux, BG11 (composition dans le tableau II.1) et lactosérum avec différentes concentrations de sel initialement additionné de 10 g/L de glucose, et ajusté à pH 7 avant autoclavage en utilisant les compositions et les combinaisons présentées dans le tableau II.3. Les cultures ont été réalisées dans des erlenmeyers. Les milieux ont été autoclavés à 120°C pendant 20 minutes. Après ensemencement du milieu, les erlenmeyers ont été placés à (30 ± 1) °C sans lumière sur un agitateur orbital à 150 tpm pendant 5 jours. Pour cette étape, chaque milieu contenait 10 % (v/v) de l'inoculum [4]. De plus, deux cultures ont été initiées simultanément, avec une répétition pour chaque condition (Figure II.9).



Figure II. 9 : Milieux de culture utilisés pour la culture de la souche jaune de *Chlorella sp.*

Tableau II. 3 : Composition des milieux de culture utilisés pour l'étude de la cinétique de croissance de *Chlorella sp.* (Couleur jaune)

Erlenmeyers (250 mL)	Milieu	Supplément
Un volume de 125 mL	Lactosérum DW1	KH ₂ PO ₄ 0,0625g/L, MgSO ₄ 0,0625 g/L, peptone de soja 0,4375 g/l 10g/L glucose
Un volume de 125 mL	Lactosérum DW2	KH ₂ PO ₄ 0,0625g/L, MgSO ₄ 0.03125 g/L, peptone de soja 0,875 g/l 10g/L glucose
Un volume de 125 mL	BG11 MB	10g/L glucose

II.2 Traitement de la biomasse

Les expériences de culture ont été réalisées pour vérifier le comportement de la souche jaune *Chlorella sp.* dans les milieux BG11 et lactosérum. Vérifier son évolution (cinétique de croissance, glycémie, etc.).

II.2.1 Cinétique de croissance de la souche jaune *Chlorella sp.* par la méthode gravimétrique

Un échantillonnage périodique a été effectué quotidiennement sur les cultures pour déterminer les courbes de croissance au niveau des différents milieux utilisés. Selon la littérature [39], l'étude de la cinétique de croissance par gravimétrie consiste à prélever 2 mL de milieu de chaque culture et à des moments différents, à l'aide de pipettes stériles. Après séchage dans un four Memmert à 100 ° C pendant 24 h, le volume collecté est placé dans les Eppendorf pré-pesé. Les Eppendorf ont été centrifugés à 60000 tpm pendant 10 minutes dans une centrifugeuse. Leculot est lavé à l'eau distillée, puis passé au vortex (figure II.10), puis centrifuger à nouveau à 60 000 rpm pendant 10 minutes. Chaque mesure est répétée 3 fois. Après 24 heures de séchage, les Eppendorf ont été pesés et la biomasse a été déterminée selon la formule suivante [4] :

$$\text{Biomasse (g)} = m - m_0 \dots \dots \dots \text{II.1}$$

m : masse de l'Eppendorf contenant la biomasse algale

*m*₀ : masse de l'Eppendorf vide



Figure II. 10 : Appareil vortex utilisé

II.2.2 Détermination du taux de glucose

Afin de déterminer la concentration de glucose au niveau des milieux de culture. Lors des différentes étapes de notre étude, un réfractomètre électronique « BRIX » model ATAGO PAL-79S (Figure II.11) a été utilisé pour tracer une courbe d'étalonnage en fonction de la concentration en masse du glucose. A noté que le blanc utilisé durant nos différents tests sera l'eau distillée. Ainsi, la valeur affichée par le réfractomètre a été appliqué au niveau de la courbe étalon pour trouver la concentration du sucre au niveau des milieux de cultures.



Figure II. 11 : Réfractomètre model ATAGO PAL-79S (BRIX)

Le suivie du taux de glucose pour les cultures réalisées a été effectué en parallèle avec la cinétique de croissance. Par ailleurs, le taux de glucose a été déterminé à l'aide de la gamme étalon précédemment réalisée.

II.2.3 Paramètres de croissance

Selon la littérature [39], les paramètres de croissance utilisée pour évaluer la culture sont, la productivité et le taux de croissance spécifique. Ces deux paramètres sont calculés selon les formules suivantes :

➤ **Productivité** :
$$P = \frac{C_{\max} - C_0}{t_{\max} - t_0} \quad (g.L^{-1}.h^{-1}) \dots \dots \dots II.2$$

➤ **Taux de croissance spécifique** :
$$\mu = \frac{\ln(C_{\max} / C_0)}{t_{\max} - t_0} \quad (h^{-1}) \dots \dots \dots II.3$$

II.2.4 Récolte

Une fois la culture terminée, la biomasse algale est récoltée. Le but de cette étape est de récupérer un maximum de biomasse pour une extraction ultérieure des lipides afin de les quantifier. La récolte est basée sur une méthode donnée par Shen et collaborateur publiée en 2009. Au total, deux centrifugations ont été réalisées. La première centrifugation (15 min, 6000 rpm) sépare la biomasse de son milieu. Une deuxième centrifugation (15 min, 6000 rpm) permet de nettoyer la biomasse en ajoutant de l'eau distillée (éliminant au maximum les traces du milieu). Après l'étape de centrifugation, la biomasse algale humide a été récupérée pour être utilisée dans la prochaine étape (Figure II.12).



Figure II. 12 : Biomasse humide après centrifugation

II.2.5 Extractions de lipides

L'extraction a été réalisée suivant le protocole de ZHU [41] avec légères modifications par Ghobrini [4] pour l'adapter aux conditions de travail. Le procédé d'extraction est montré dans l'organigramme suivant :

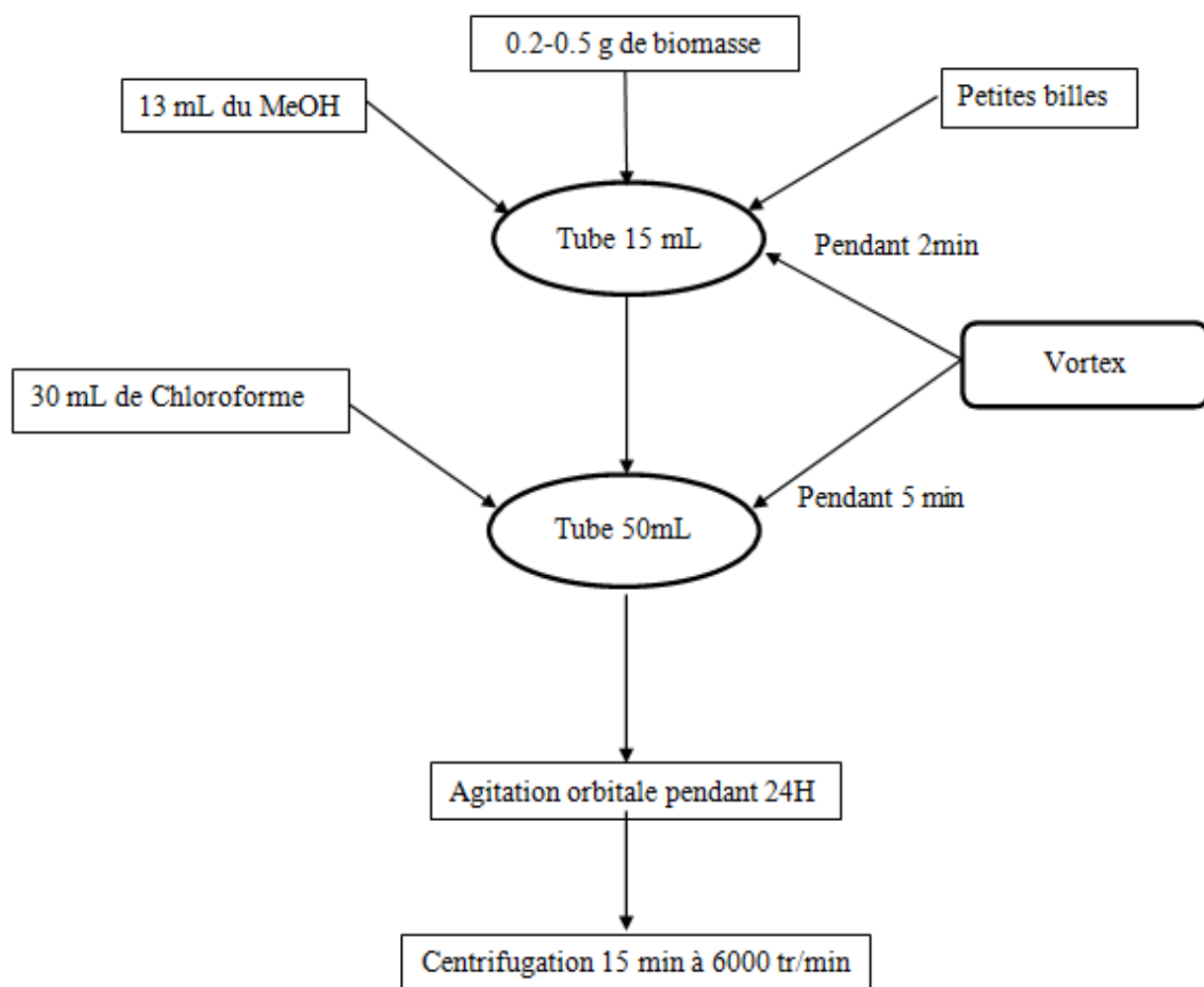


Figure II. 13: Protocole d'extraction des lipides à partir des microalgues par broyage à bille

Laver le tube de 15 ml deux fois avec 5 ml de méthanol pour récupérer toute la biomasse dans le tube de 50 ml. Utiliser une micropipette pour récupérer le surnageant dans un bécher de 100 ml pré-séché et pesé. La phase organique est évaporée sous ventilation dans une étuve à 45°C (Figures II.14 et II.15).

Après pré-pesée du bécher après passage à l'étuve puis calcul du poids du même bécher contenant l'extrait lipidique après évaporation du solvant, la teneur en lipides en (g) peut être calculé selon l'équation suivante :

$$Teneur(\%) = \frac{m_h}{m_{bio}} \cdot 100 \dots \dots \dots II.4$$

m_h : masse d'huile

m_{bio} : masse de la biomasse

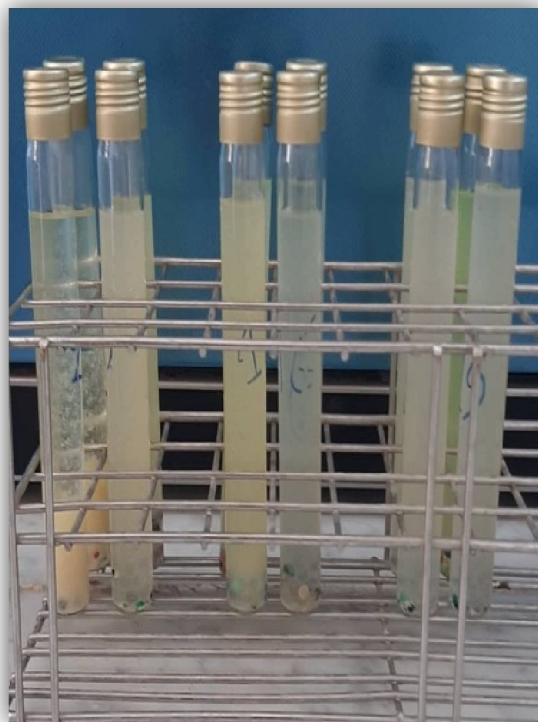


Figure II. 14 : Phase d'extraction des lipides (biomasse en présence des solvants)



Figure II. 15 : Evaporation de la phase organique

II.2.6 Transestérification

Selon la littérature [4], pour hydrolyser les liaisons esters, un mélange (lipide /méthanol) acidifié par environ 4 % d'acide sulfurique a été mis sous agitation dans une ampoule pré-pesée à 55 °C pendant 2 heures. Enfin de réaction, la solution est transférée dans une ampoule à décanter contenant 10mL d'hexane. Après l'agitation (chaque 3min pendant 20min), nous

séparons le glycérol du biodiesel. Ce dernier est transféré dans une ampoule à décanter et lavé avec 10mL d'eau préchauffer à 50°C 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 pendant une nuit (Figure II.16). Le biodiesel produit est ensuite récupéré et le rendement de la réaction est calculé selon la formule suivante :

$$R(\%) = \frac{m_b}{m_h} \cdot 100 \dots \dots \dots II.5$$

m_b : *masse du biodiesel*

m_h : *masse d'huile*

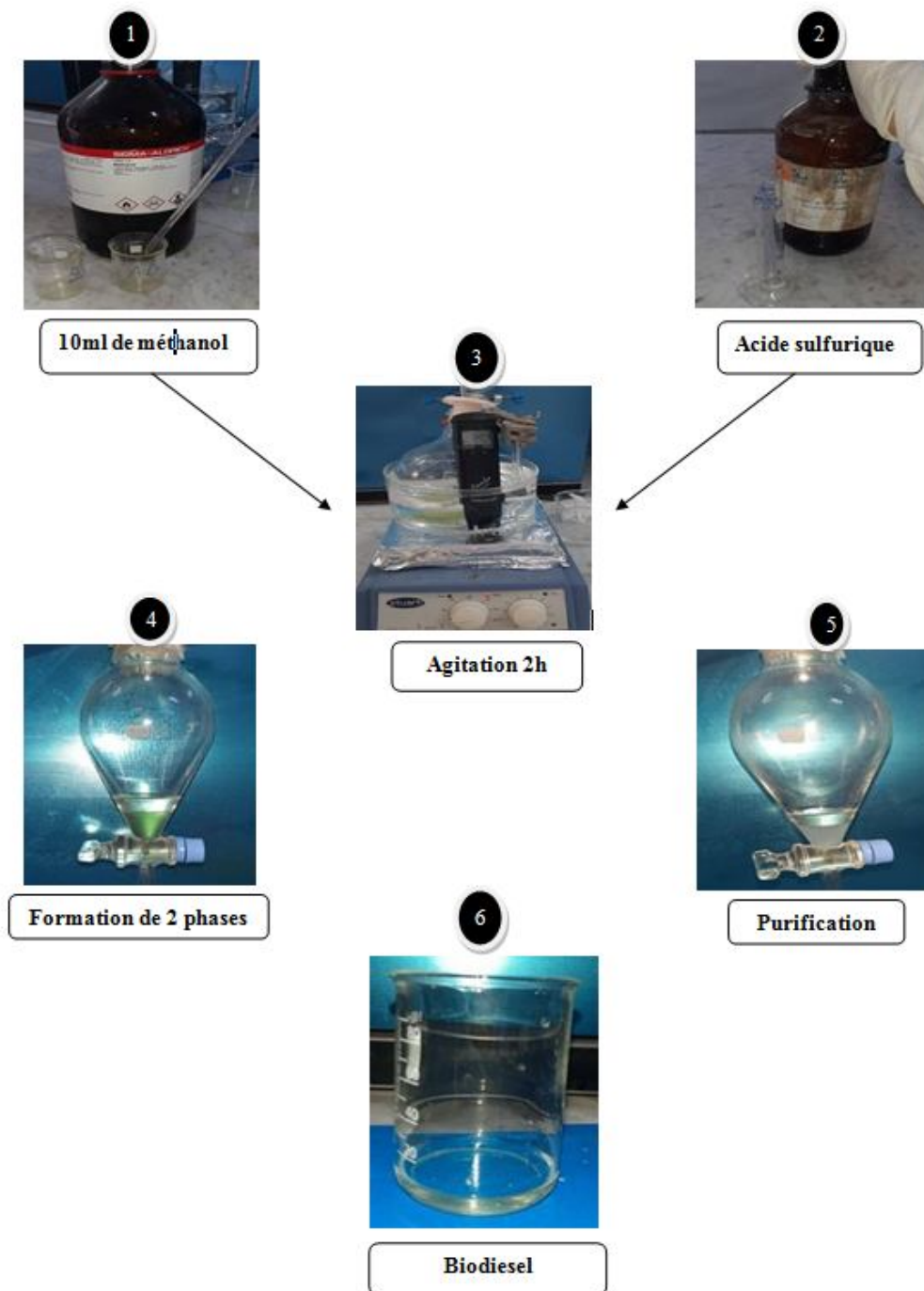


Figure II. 16 : Procédure de la transestérification

Chapitre 3 : Résultats et discussions

III.1 Développement de la souche *Chlorella sp.*

Nous avons utilisé la méthode gravimétrique pour étudier la cinétique de croissance de la souche *Chlorella sp.* [4].

III.1.1 Pré-culture (culture mère)

Pour initier les paramètres de l'étude, et pour permettre l'inoculation des cultures de *Chlorellasp.* à partir des boîtes de Pétri. Des précultures sont initiées au niveau d'Erlenmeyer pour l'adaptation de la souche *Chlorella sp.* aux milieux de culture. Nous avons réalisé une pré-culture de 5 jours dans 250ml de milieu BG11 additionné de 10 g/l de glucose dans deux flacons Erlenmeyer de 500ml.

III.1.2 Etude de la culture

Les cultures de *Chlorellasp.* ont été réalisées dans les différents milieux de culture à base d'effluents laitiers (DW) et à base de milieu synthétique BG11, additionné de 10 g/L de glucose. La culture a duré 5 jours (voir Matériels et méthodes pour les conditions de niveau de culture) (figure III.1).



**Figure III. 1: Milieux préparés pour l'étude de la cinétique de croissance de *Chlorella sp.*
(Au début de l'expérience)**

Le but de ce test est le suivi de l'évolution de la croissance de la souche jaune *Chlorellasp.* sur les deux milieux (effluent et synthétique) comme décrit les figures ci-dessous.



Figure III. 2 : Culture de la souche jaune *Chlorellasp.* sur l'agitateur orbitale (Après 3 jours de culture)



Figure III. 3 : Changement de la couleur des milieux à la fin de l'expérience (Après 5 jours de culture)

Le changement de la couleur au niveau du milieu de lactosérum DW1, le mieux développé, été très impressionnante par rapport aux autres milieux, et cela se résume dans les résultats qui suivent. La figure III.4 montre la variation de la biomasse de la souche jaune *Chlorellasp.* en fonction du temps pour les différents milieux de cultures utilisés.

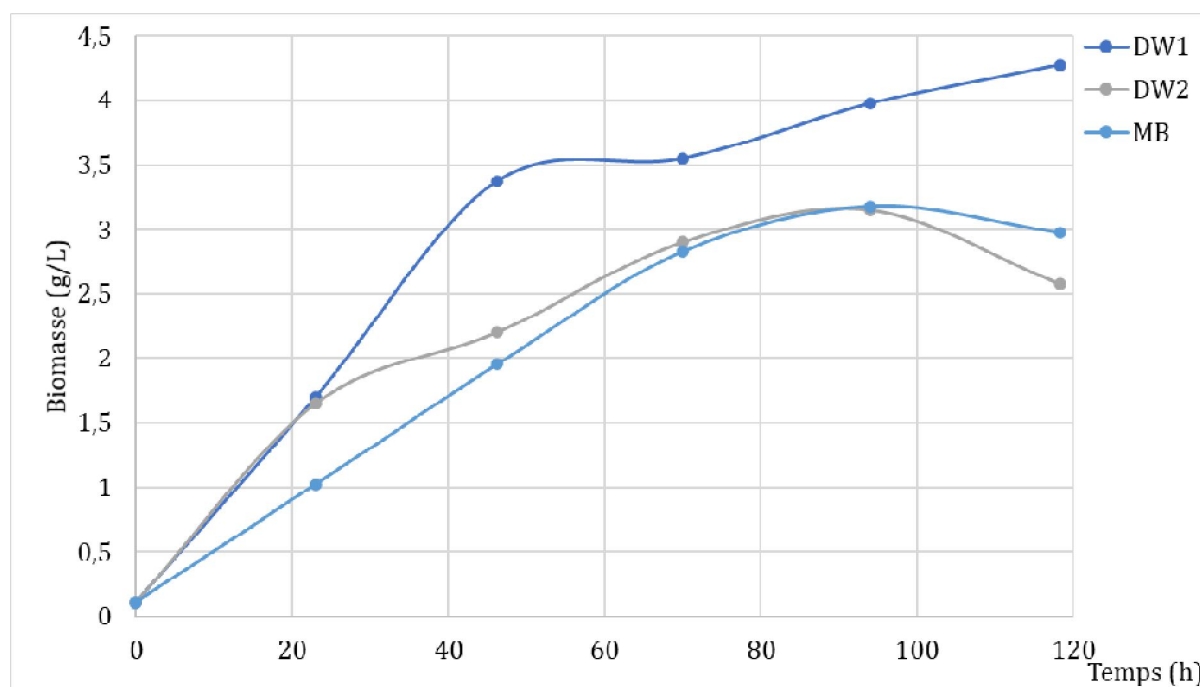


Figure III. 4 : Courbe de croissance de *Chlorellasp.* sur les différents milieux de cultures testés

Au cours de notre étude, nous avons constaté que la souche de chlorell peut se développer au niveau du lactosérum. Les résultats obtenus ont été supérieures comparativement au développement de la souche sur le milieu BG11. En effet, l'addition de l'azote, du phosphore et du magnésium au milieu du lactosérum a fait augmenter la biomasse de telle sorte que les résultats obtenus ont été supérieurs par rapport au milieu BG11.

D'ailleurs, nous remarquons qu'après trois jours, nous avons atteint la phase stationnaire avec une concentration de l'ordre de 3,55g/L au niveau du lactosérum modifier DW1 en présence de potassium (KH_2PO_4), d'azote (peptone) et de magnésium ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$). Tandis qu'au niveau du milieu BG11 la biomasse avoisine les 2,825g/L. Cela signifie que l'ajout des trois sels influe positivement sur la production de biomasse. Ce résultat est en accord avec celui trouvé par Ghobrini [38], où l'ajout de certains sels au niveau du lactosérum est indispensable pour un bon rendement des cultures. Ces sels participent de manière directe et/ou indirecte dans le développement cellulaire comme indique [42]:

- La fabrication des chaînes d'ADN,
- La formation des protéines (acides aminés),
- La division cellulaire,
- Les échanges cellulaires,
- La formation de l'ATP.

En outre, nous avons obtenu un bon résultat en termes de production de biomasse algale avec un taux de (4,275g/L) dans le cas du lactosérum mais qui peut correspondre à des contaminations apparues à la fin de la culture.

III.2 Evolution des sucres

En général, les concentrations en sucre dans les trois milieux ont diminué progressivement au cours de l'expérience (Figure III.5). Cependant, ce taux de déclin était plus rapide dans le milieu BG11 que dans les autres milieux. De plus, la concentration en sucre dans le milieu de lactosérum DW1 a diminué plus rapidement que dans le milieu de lactosérum DW2. Par conséquent, le taux de sucre résiduel à la fin de l'expérience n'atteint jamais 0. De plus, pour le milieu BG11, il s'est stabilisé à 0,2 comme valeur minimale.

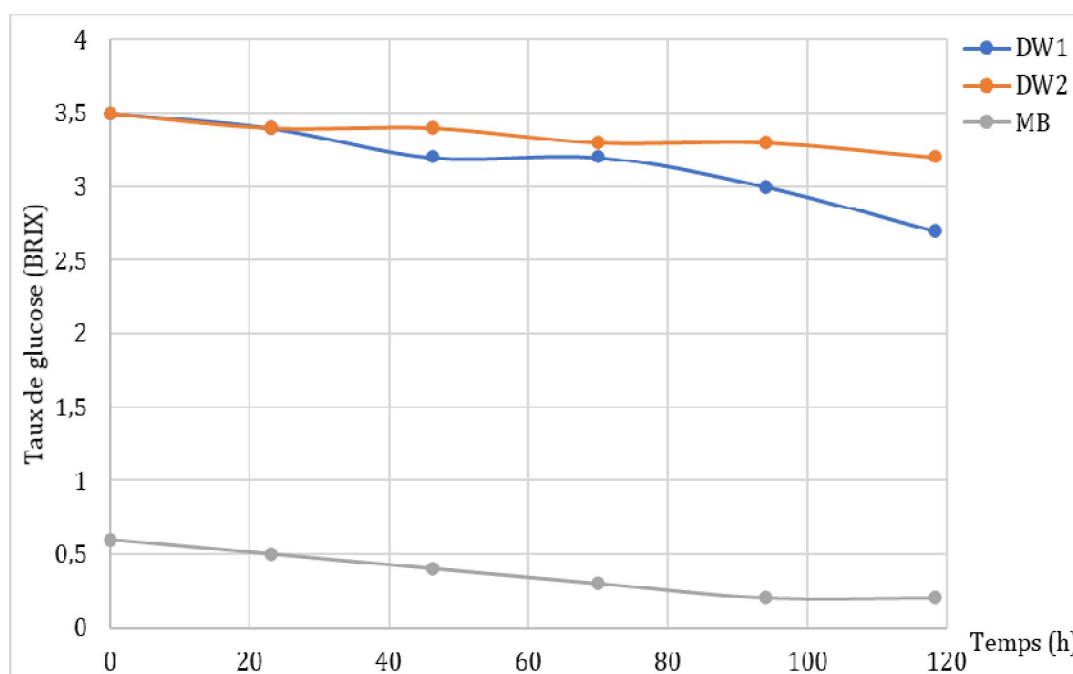


Figure III. 5 : Variation de la concentration de glucose en fonction du temps

Les résultats obtenus montrent que pour BG11 la teneur en sucre se stabilise à 0,2, tandis que pour le lactosérum la teneur en sucre s'arrête à 2,7. Ce qui signifie que le lactosérum contient aussi majoritairement des sucres complexes, principalement du lactose (voir tableau I.7).

Par conséquent, comme les cellules de *Chlorella* sp. ne consomment que les sucres simples tels que le glucose [39], une grande quantité de sucres reste dans le milieu, il est donc préférable d'hydrolyser les sucres présents dans le lactosérum et de les utiliser comme matières organiques assimilables par *Chlorella* pour éviter l'ajout de glucose à la base, réduisant ainsi les coûts de production.

III.3 Paramètre de croissance

- **Calcul de la productivité :** Selon l'équation II.2
$$P = \frac{C_{\max} - C_0}{t_{\max} - t_0}$$

Par exemple pour la formulation DW1 :
$$P = \frac{3,975 - 0,1091}{94 - 0} = 0,0411 \text{ g.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$$

- **Calcul du taux de croissance spécifique :** Selon l'équation II.3
$$\mu = \frac{\ln(C_{\max} / C_0)}{t_{\max} - t_0}$$

Toujours pour la même formulation DW1 :
$$\mu = \frac{\ln(3,975 / 0,1091)}{90 - 0} = 0,0382 \text{ h}^{-1}$$

Le tableau III.1 donne les résultats calculés pour la productivité et du taux de croissance pour les différents milieux utilisés

Tableau III.1 : Résultats de la productivité et du taux de croissance de la souche jaune *Chlorella sp.* dans les milieux testés

Milieu	Lactosérum (DW1)	Lactosérum (DW2)	BG11 (MB)
Productivité (g.L⁻¹.h⁻¹)	0,0411	0,03235	0,0326
Taux de croissance spécifique (h⁻¹)	0,0382	0,0118	0,0119

A travers les résultats obtenus dans le tableau ci-dessus, nous pouvons noter que le milieu à base de lactosérum (DW1) a enregistré une productivité P=0,0411 g/L.h et un taux de croissance $\mu=0,0382 \text{ h}^{-1}$ plus élevés que ceux enregistrés dans d'autres milieux.

Cela signifie que nous pouvons proposer ce milieu (le lactosérum) modifié avec certains sels ajoutés comme alternative au milieu traditionnel. Ceci corrobore les résultats obtenus par certains chercheurs, notamment celui de Ghobrini [38] qui ont constaté que les milieux synthétiques étaient moins compétitifs que les résidus de l'industrie laitière.

III.4 Extraction des lipides

Le but de cette étape est d'obtenir des lipides, notamment des acides gras présents dans les cellules d'algues. L'extraction est faite par broyage à bille selon le protocole de ZHU et al. [41] modifié par Ghobrini et al. [4].

La teneur en lipides et la productivité ont été analysées pour comprendre l'effet des différentes conditions de culture sur cette dernière. Le tableau III.2 montre la quantité de lipides extraits pour les différents milieux utilisés.

Tableau III.2 : Résultats de la quantité des lipides extraite pour les différents milieux

Milieu	DW1	DW2	BG11
m (lipide) (g)	0,0634	0,0493	0,035
Biomasse Algale humide (g)	1,4	0,9573	0,9558
Proportion (%)	4,539	5,154	3,662

Pour calculer la proportion des lipides pour chaque milieu seul, nous avons utilisé

l'équation II.4 : $Teneur(\%) = \frac{m_h}{m_{bio}} \cdot 100$

A titre d'exemple pour le milieu BG11 : $Teneur(\%) = \frac{0,035}{0,9558} \cdot 100 = 3,663\%$

Les résultats obtenus ont montré que la qualité des lipides extraits était meilleure dans le milieu lactosérum additionné d'azote de phosphore et de magnésium, ce qui implique que l'ajout des trois sels augmentait la qualité des lipides dans ces cultures. Alors que pour le milieu BG11, la quantité de lipides extraits dans les mêmes conditions de travail était légèrement inférieure par rapport aux milieux à base de lactosérum.

Nous avons donc obtenu de faibles résultats en termes de rendement par rapport à la quantité de biomasse utilisée. Les billes et le méthanol sont utilisés dans ce processus pour casser les parois et perforer la membrane et faire ressortir le maximum de lipides. Cependant, l'utilisation du chloroforme vise à former des complexes avec les lipides, facilitant ainsi leur extraction. Certains auteurs suggèrent :

- Il existe plusieurs techniques d'extraction des microalgues. La valeur du produit recherché doit être dans le prix par baril. Des sous-produits compétitifs et résultants peuvent rendre le processus plus rentable.
- L'extraction et la récolte affectent actuellement la rentabilité du processus de production de biodiesel en raison des coûts élevés généralement associés aux technologies disponibles aujourd'hui.

- Cependant, certaines observations peuvent être faites. En fait, la centrifugation est aujourd'hui la technique la plus utilisée au niveau de la technologie disponible pour la récolte des microalgues [43] ; [44] ; [45]. Comme il est très coûteux et énergivore, il ne deviendra la voie privilégiée que pour les produits à forte valeur ajoutée, notamment les nutraceutiques et les cosmétiques. Le biodiesel étant un produit de faible valeur, la centrifugation peut entraîner une hausse significative du prix de ce biocarburant. La production de biodiesel à partir de microalgues à métabolisme hétérotrophe devant se concentrer sur la commercialisation de sous-produits à forte valeur de revente, cette orientation peut permettre la rentabilité de technologies telles que la centrifugation. De plus, comme la technologie n'entraîne pas de contamination chimique ni de modification de la composition cellulaire des microalgues, il s'agit d'une technique efficace pour produire des sous-produits de grande valeur pouvant être utilisés dans l'alimentation humaine et animale, en particulier les aliments nutritifs. La technologie est également applicable à la production de biodiesel à grande échelle.
- Des techniques telles que la filtration peut être utilisée, mais uniquement pour les microalgues formant des colonies ou filamenteuses comme la spiruline ou *Miractiniumsp.* En fait, des microalgues de très petit diamètre comme la Chlorelle. Obstrue le filtre utilisé et doit être remplacé fréquemment. Par conséquent, ces opérations entraînent une augmentation des coûts et une augmentation du temps nécessaire à la récolte.

III.5 Transestérification et caractéristiques du biodiesel produit

A partir des résultats du tableau II.2, le calcul de la quantité des lipides totale extraite pour les trois milieux nous donne une valeur de 0,1477g

Ainsi vient la quantité de biodiesel obtenu qui est calculée comme suit :

$$m(\text{biodiesel}) = m - m_0 = 53,5163 - 53,4896 = 0,0267 \text{ g}$$

$$m_0 : \text{masse du becher vide} = 53,4896 \text{ g}$$

La teneur en lipides : Selon l'équation II.4, la teneur en lipides est donnée par :

$$\text{Teneur}(\%) = \frac{m_h}{m_{bio}} \cdot 100 = \frac{0,1477}{3,3132} \cdot 100 = 4,46\%$$

De ce fait, le rendement obtenu de la réaction de Transestérification est de :

$$R(\%) = \frac{m_b}{m_h} \cdot 100 = \frac{0,0267}{0,1477} \cdot 100 = 18,08\%$$

Les résultats obtenus lors de ce travail montrent que cela veut dire que le totale de notre biomasse contient en moyenne 4,46% de son poids en lipide, avec un rendement de transestérification de 18,08%.

Conclusion générale

Le but de ce travail était d'évaluer l'effet de deux milieux (c'est-à-dire BG11 et lactosérum) sur la productivité de la biomasse et la production de lipides dans la souche jaune *Chlorellavulgaris* G12. Les résultats démontrent que l'utilisation de lactosérum peut remplacer l'utilisation de milieux synthétiques tels que BG11 pour la culture de souches de *Chlorella* localement isolées. En effet, l'ajout de sources d'azote et de magnésium au lactosérum, hydrolysé ou non, a augmenté les rendements en biomasse, significativement supérieurs de 0,0411 g/L.h et 0,03235 g/L.h, respectivement, par rapport au milieu BG11 avec une productivité de 0,0326 g/L.h. g/h.

Ainsi, le recyclage des déchets laitiers, par leur utilisation, peut d'une part réduire le coût de production de la biomasse algale, en effet, cette dernière a à terme un impact significatif sur le prix du biodiesel algal, mais d'autre part, peut réduire ces émissions, tout en réduisant considérablement son impact sur l'environnement. Par ailleurs, il est important de souligner que la culture de micro-algues en mode hétérotrophe permet : d'augmenter la productivité de la culture, de réduire le temps de culture, d'éviter la contamination, et de réduire le coût de production en l'absence de lumière. Par conséquent, dans l'ensemble, les résultats obtenus dans ce projet se sont avérés très satisfaisants et ont le potentiel de montrer que la valorisation des eaux usées de l'industrie alimentaire est toujours faisable et rentable.

Pour faire notre travail, il serait plus judicieux d'utiliser un logiciel comme Design Expert pour faire des prédictions statistiques afin de déterminer la concentration optimale et la concentration de sel à ajouter au lactosérum pour augmenter la productivité. De plus, l'utilisation de la chromatographie liquide à haute performance permettra de déterminer la proportion et le type de sucres dans le lactosérum, ce qui permettra non seulement de mieux utiliser ses sucres, mais aussi de mieux quantifier et mieux suivre la teneur. sucre pendant la culture. De même, l'utilisation de la GC-MS permettra de déterminer la qualité des acides gras présents au niveau des objets souches que nous étudions, ce qui permettra une estimation plus ciblée de ceux-ci.

Références bibliographiques

- [1] I.CANTIN, « La production de biodiesel à partir des micro-algues ayant un métabolisme hétérotrophe », (2010) s. d.97.
- [2] M.CHAMOUMI, « Optimisation de la production du biodiesel à partir d'huiles de micro-algues et d'huiles usées », (2013), <https://savoirs.usherbrooke.ca/handle/11143/6164>.
- [3] Y.CHISTI, « Le biodiesel algal l'emporte sur le bioéthanol », (24 janvier 2008) s. d., 9.
- [4] D.GHOBRINI , 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
- [5] AREVALO, A.T. Etude environnementale comparative des procédés de valorisation du lactosérum. (2017) 97 p
- [6] A.DESCHAMPS, « Quel est l'impact des énergies fossiles ? », Fhe France (blog), (5 octobre 2021), <https://fhe-france.com/enr/impact-energie-fossiles>.
- [7] CHISTI, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology advances*, vol.25, p. 294-306.
- [8] CADORET, J-P., Bernard, O. (2008). La production de biocarburant lipidique avec des micro-algues : promesses et défis. *Journal de la société biologique*, vol.202, n°3, p. 201-211.
- [9] EHIMEN, E.A., Sun, Z., Carrington, G.C., 2012. Use of Ultrasound and Co-Solvents to Improve the In-Situ Transesterification of Microalgae Biomass. *Procedia Environmental Sciences* 15, 47–55.
- [10] KOBERG, M., Cohen, M., Ben-Amotz, A., Gedanken, A., (2011). Biodiesel production directly from the microalgae biomass of *Nannochloropsis* by microwave and ultrasound radiation. *Bioresource Technology* 102, 4265–4269.
- [11] BLIGH, E.G., Dyer, W.J., (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Biochemistry and Cell Biology* 37, 911–917
- [12] FERNANDO, S., KARRA, P., HERNANDEZ, R. and JHA, S.K. Effect of incompletely converted soybean oil on biodiesel quality. *Energy*, (2007), volume 32, p. 844-851.
- [13] KNOTHE, G. KRAHL, J. et GERPEN, J. V. Cetane numbers-heat of combustion-why vegetable oils and their derivatives are suitable as a diesel fuel, *The biodiesel handbook*. Campaign, Illinois, USA: AOCS Press, (2005), p.72-80.
- [14] JOHNSON, M.B. et WEN, Z. Production of biodiesel fuel from the microalga *Schizochytrium limacinum* by direct Transesterification of algal biomass. *Energy Fuels*, (2009), volume 23, p. 5179-5183.
- [15] KOBERG, M., COHEN, M., BEN-AMOTZ, A. and GEDANKEN, A. Biodiesel production directly from the microalgae biomass of *Nannochloropsis* by microwave and ultrasound radiation. *Bioresource Technology*, (2011), volume 102, p. 4265-4269.

- [16] C.DEJOYE, « Eco-extraction et analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant », s. d., 177.
- [17] PEREZ-GARCIA, O., Escalante, F.M.E., de-Bashan, L.E., Bashan, Y., 2011. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research* 45, 11–36.
- [18] M.CAVALLA, (2000). Les Algues, les micro-algues. URL http://mcavalla.free.fr/rsr/Algues_operon.pdf
- [19] PULZ, O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*(2021) 57, 287–293.
- [20] CARVALHO, A.P., Meireles, L.A., Malcata, F.X.,. Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. *Biotechnol. Prog.* (2006).22, 1490–1506.
- [21] S. MIRON, A., Contreras G mez, A., GarcaCamacho, F., Molina Grima, E., Chisti, Y.,. Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae. *Journal of Biotechnology.* (1999). 70, 249–270.
- [22] PEREZ-GARCIA, O., Escalante, F.M.E., de-Bashan, L.E., Bashan, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products. *Water Research.* (2011).45, 11–36.
- [23] CHEN M., CHEN X., LIU T. ZHANG W. Subcritical Ethanol Extraction of Lipid from Wet Microalgae Paste of *Nannochloropsis* sp. *Journal of Bio based Materials and Bioenergy* 5, (2011), p.385.
- [24] UDUMAN, N., QI, Y., DANQUA, M.K., HOADLEY, A.F.A. Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement. *Chemical Engineering Journal*162: (2010),p 935–940.
- [25] VIEITEZ, C. JACHMANIN, F., CARDOZO, L., OLIVEIR.J.V. Non-Catalytic Production of Ethyl Esters Using Supercritical Ethanol in Continuous Mode. In *Biodiesel – Feed stocks, Production and Applications*, Z. Fang, Ed. In Tech, (2012).
- [26] V.HARMELEN, T., OONK, H. Microalgae bio fixation processes: applications et potential contributions to greenhouse gas mitigation options. *Apeldoorn, TNO Built Environment Geosciences:* (2006).
- [27] PULZ, O., GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology* 65: (2004), p.635-648.
- [28] SPOLAORE, P., JOANNIS-CASSAN, C., DURAN, E. ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101: (2006), p.87-96.
- [29] P.VELA, H.V., PEÑA-CASTRO, J.M., CAÑIZARES-VILLANUEVA, R.O. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere* 64, (2006), p1-10.
- [30] LUAN, T.G., JIN, J., CHAN, S.M.N., WONG, Y.S., TAM, N.F.Y. Biosorption and

- biodegradation of tributyltin (TBT) by alginate immobilized *Chlorella vulgaris* beads in several treatment cycles. *ProcessBiochemistry* 41, (2006), p.1560-1565
- [31] JOUAN, P. Lactoprotéines et lactopeptides : propriétés biologiques. Ed. Quae. INA. (2002). 127p.
- [32] D.WITT, J.-N. Manuel De l'Enseignant sur le lactosérum et les produits de lactosérum. 1ère édition. Bruxelles, Belgique : EuropeanWheyProducts Association, (2001).
- [33] MOLETTA, R., Gestion des problèmes environnementaux dans les IAA. Paris : Tech et Doc, (2002), 600p.
- [34] T. Pack Processing System, Manuel de transformation du lait, Suede : (1995), 442 p.
- [35] JOUAN, P. Lactoprotéines et lactopeptides : propriétés biologiques. Ed. Quae. INA. (2002). 127p.
- [36] HESLOT, H. L'ingénierie des protéines et ses applications. Lavoisier Tec et Doc, (1996). p. 424-432.
- [37] MARWAHA, S. and KENNEDY J.F. Review: whey pollution problem and potential utilization. *International Journal of Food Science &Technology*, 23(4), (1988), p. 323-336.
- [38] D.Ghobrini, Tomáš Brányik, Leila Kebbab, Bastien Poutout, et Kamal Aïboud. 2018. Cultivation of *Chlorella vulgaris* using medium from a dairy effluent. Publisher IEEE Xplore 02 May (2019). Published in: 2018 6th International Renewable and Sustainable Energy Conference (IRSEC) Rabat, Morocco, Morocco. <https://doi10.1109/IRSEC.2018.8702962>
- [39] D.Ghobrini, T.Potocar, J.Smolova, Ga.Krausova, S.Yakoub-Bougdal and T..Brányik.(2020). Heterotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using saline waste water from the demineralization of cheese whey. *Biotechnology Letters* 42(2): 209–217.
- [40] D. Ghobrini, K. Aïboud, L. Kebbab, L. Koumad et S. Yakoub-Bougdal. 2012. Production de bioéthanol à partir de rebuts de dattes par fermentation en milieu solide *Revue des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa* (2012) 109 – 114.
- [41] ZHU, M., ZHOU, P.P., YU, L.J. Extraction of lipids from *Mortierella alpina* and enrichment of arachidonic acid from the fungal lipids. *Bioresour. Technol.*, août (2002) vol. 84, no. 1, p.93- 95.
- [42] RICHMOND, A. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview. *Hydrobiologia* 512: (2004), p.33-37.
- [43] BENEMANN, JR. CO₂ mitigation with microalgae systems. *Energy Conversion et Management* 38: S475-S479 Benemann J, Feasibility analysis of photobiological hydrogen production. (1997).

[44] MOHN, F.H. Experiences and strategies in the recovery of biomass from mass cultures of microalgae. *Algae biomass*, (1980), p. 547-571.

[45] RICHMOND, A., BECKER, E.W. Technological aspects of mass cultivation, a general outline. *CRC handbook of microalgal mass culture*, (1986), p.199-243.

Webographie

- **Site web [1]** <https://tpehuilesalimentairesusagees.wordpress.com/comparaison-avec-le-diesel-2/>.
- **site web [2]** <http://www.energienouvelable.fr/biocarburant.php>

عنوان المذكرة : استخلاص الدهون من الطحالب الدقيقة لاستخدامها كوقود حيوي

المؤطر: التاوتي محمد بن عبد الله

الإسم: ابتسام

اللقب : بلمختار

المؤطر المساعد: غبريني جيلالي

ملخص: يبدو أن الطحالب الدقيقة تستبدل طاقاؤها بالوقود . هاته النباتات المجهرية يمكن زراعتها بطرق مختلفة لإنتاج الوقود الحيوي. كان الهدف من هذا العمل تقييم إنتاجية الكتلة الحيوية و الدهون لسلسلة الكلوريل في ظل ظروف غيرية التغذية. توضح النتائج ان استخدام مصل اللبن يمكن ان يحل محل وسائط معنادة لزراعة سلاسة اللوريل المعزولة محليا. في الواقع، ادت اضافة مصادر النيتروجين و المغنيسيوم والبوتاسيوم الى مصل اللبن الى زيادة انتاجية الكتلة الحيوية بمقدار 0.0411 جم / لتر.ساعة و 0.03235 جم / لتر.ساعة على التوالي، مقارنة مع الوسط المعناد بتركيز 0.0326 جم / لتر. ساعة . زد على ذلك كانت جودة الدهون افضل بكثير.

كلمات مفتاحية: كلوريل فيلغاريس،وقود الديزل الحيوي،التغذية المغايرة،مصل اللبن،جنوب الجزائر

Memory title: Extraction of lipids from microalgae for use as biofuel.

Name: BELMOKHTAR First name: Ibtissam Directed by : TAOUTI Mohamed Benabdallah

Co-directed by: GHOBRINI Djillali

Abstract: Microalgae appear to replace fossil fuels with biofuel production. These microscopic plants have the potential to be cultivated in a variety ways to produce biofuels. The objective of this work was to evaluate the biomass and lipid productivity of *Chlorella* strains under heterotrophic conditions. The results demonstrate that the use of whey can replace the use of synthetic media such as BG11 for the cultivation of locally isolated *Chlorella* strains. In fact, the addition of nitrogen, magnesium and potassium sources to whey significantly increased biomass yield by 0.0411 g/L.h and 0.03235 g/L.h, respectively, compared to BG11 medium at a concentration of 0.0326 g/L.h. Additionally, fat quality was better.

Key words : *Chlorella vulgaris*, biodiesel, heterotrophy, whey, southern Algeria.

Titre du mémoire : Extraction des lipides à partir de microalgues pour utilisation comme biocarburant.

Nom: BELMOKHTAR Prénom: Ibtissam Encadreur: TAOUTI Mohamed Benabdallah

Co-Encadreur : GHOBRINI Djillali

Résumé : Les microalgues semblent remplacer énergétiquement les combustibles fossiles. Ces plantes microscopiques ont le potentiel d'être cultivées de différentes manières pour produire des biocarburants. L'objectif de ce travail était d'évaluer la biomasse et la productivité lipidique des souches de *Chlorella* en conditions hétérotrophes. Les résultats montrent que l'utilisation de lactosérum peut remplacer l'utilisation de milieux synthétiques tels que BG11 pour la culture de souches de *Chlorella* localement isolées. En fait, l'ajout de sources d'azote, de magnésium et de potassium au lactosérum a augmenté de manière significative le rendement en biomasse de 0,0411 g/L.h et 0,03235 g/L.h respectivement par rapport au milieu BG11. De plus, la qualité de la graisse était meilleure.

Key words : *Chlorella vulgaris*, biodiesel, hétérotrophie, lactosérum, sud algérien.