



N° d'ordre :
N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE D'EL-OUED
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Licence Académique

Filière : Science biologique

Spécialité : Biochimie

THEME

**CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA PRODUCTION DU
BIOALCOOL (BIOETHANOL) PAR DES MICROALGUES
PHOTOSYNTETIQUE (ETUDE THEORIQUE)**

Promoteur :
Mr.KIRAM Abderrazak

Présenté par :
-GORI Aouatef
-KIRAM Rim
-LAOUAR Oum kelthoum
-RADOUAN Mouhamed Seghir

Année universitaire 2013/2014

Remerciement

Avant tout nous remercions ALLAH tout puissant pour la force et la patience pour atteindre notre étude.

D'abord, nous tenons à remercier très vivement nos chers parents pour leur aide, leur soutien et encouragement et ainsi que toutes les personnes qui ont aidés pour établir cette étude.

Nous tenons à exprimer notre gratitude à notre promotrice Mr KIRAM Abderrazak pour nous avoir dirigés, tout au long de ce travail

Nous tentons également remercie notre enseignant DEROUCHE Samir pour son soutien ses orientation et ses conseils.

Nous tentons remerciements, également les biochimistes KIRAM M^{ed} Nadjib, KIRAM Seif eddine.

Et aussi Nous tentons également remercie

le Prof Naji Nassima de spécialité biologie animale du 2^{ème} année Doctorat et le Prof Baggat Inasse de spécialité pharmacologie pour les grande efforts.

En fin, nous tenons à exprimer notre reconnaissance et nos remerciements à tous ceux qui ont aidé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste d'abréviation	
Introduction générale	
I-1 Définition du micro algue.....	03
I-2-Morphologie et caractères générales.....	04
I-3- Reproduction de micro algue	05
I-3-3- Croissance des micro algues.....	05
I-4-Classification des micro algues.....	07
I-5-composition chimique du micro algue.....	08
I-5-1-Une composition biochimique variable de micro algue.....	09
I-6 -Mode de nutrition des micro algues.....	11
I-7- Ecologie des micro algues.....	11
I-8- La biodiversité des microalgues.....	11
I-9- Les applications des microalgues.....	12
I-9-5- Production de bio méthane.....	13
I-9-6-Production de biocarburant.....	13
CHPITER II: GENERALITE SUR LES SUCRES	
II- 1-Définitin des sucres	15
II-2- Importance en Biologie des sucres	15
II-3- Classification des glucides	16
II-3-1- Les critères de classification des oses.....	16
II-3-2- Les osides	16
II-3-2-1 Définition	16
II-4-Métabolisme des glucides	19
II-4-1- La fermentation alcoolique (catabolisme)	19
II-4-2-La photosynthèse.....	19
II-4-2-1- Activité photosynthétique des micro algues.....	19
II-4-3-Cycle de Calvin en vue ensemble (anabolisme).....	21
II-5-Les sucre produit par le micro algues	22
CHAPITER III: LA PRODUCTION DE BIOETHANOLE PAR MICRO ALGUE	
III- 1-Définition de bio alcool Comme biocarburant.....	25
III-2-Définition de bio éthanol.....	26
III-3-La propriété de bioéthanol.....	26
III-4-Différents voies de production de bioéthanol.....	28
III-5-Le bioéthanol de troisième génération (par de micro algue).....	31
III-6-L'utilisation de bioéthanol.....	31
III-7-Les avantages liés à l'utilisation de bioéthanol.....	32
Chapitre IV : ISOLEMENT ET IDENTIFICATION DES MICROALGUES	

SOMMAIRE

IV-1-Le choix de l'espèce microalgualectant de sucres	33
IV-2- Prélèvement des microalgues	33
IV- 3- Isolement des microalgues.....	33
VI-4- Dosage des microalgues	35
IV-5 L'enrichissement des microalgues.....	36
IV-6-Mesure de la teneur du sucre	39
CHPITER V : CULTURE DES MICROALGUES	
V- La culture des microalgues.....	42
V-1-Les procédés de récolte et la concentration.....	42
V-1-1-Différents étapes de récolte de microalgues.....	42
V-1-1-1- Sédimentation gravitaire par différence de masse volumique	42
V-2-1-2 Technologies existantes.....	48
V--2-2- Systèmes clos.....	50
V-2-3-Les principes de conception de système de culture.....	51
V-4-Les procédés d'extraction.....	52

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Quelques exemples de micro algues: <i>Haematococcus</i> , <i>Staurastrum</i> ,	03
Figure 2	Diversité morphologique des microalgues	04
Figure 3	courbe de croissance des microalgues	06
Figure 4	classification des glucides	16
Figure 5	structure chimique d'oside	18
Figure 6	structure de la cellulose	18
Figure 7	structure de l'hémicellulose.	19
Figure 8	structure de la lignine	19
Figure 9	la photosynthèse des microalgues (phase claire)	21
Figure10	Schéma du Cycle de Calvin. Les nombreux intermédiaires entre le glycéraldéhyde 3-phosphate et le Ribulose 5-phosphate ne sont pas indiqués pour plus de clarté « la phase sombre »	21
Figure 11	<i>spirulinadunaliella</i>	24
Figure 12	sources de biomasse	30
Figure 13	conversion biochimique de la de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol	31
Figure 14	Ensemencements des microalgues à partir de la souche mère	40
Figure 15	Les différentes étape du déboulement de la culture de <i>Sprilina sp</i>	41
Figure 16	Filtration et récolte de <i>Sprilina sp</i>	42
Figure 17	Méthodologie d'extraction et purification des polysaccharides extras cellulaire	43
Figure 18	Différents temps de sédimentation	46

LISTE DES FIGURES

Figure 19	Principe de la filtration tangentielle	48
Figure 20	Comparaison des deux modes de filtration	49
Figure 21	Schéma d'un raceway et des flux associés à son fonctionnement.	52
Figure 22	Photobioréacteur à plans inclinés et à ciel ouvert	52
Figure 23	Réacteur cylindrique	54

LISTE DE TABLEAUX

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Composition des microalgues	09
Tableau 2	l'importance biologique des sucres.	16
Tableau 3	La propriété de bioéthanol	28
Tableau 4	Propriétés physico-chimiques	28
Tableau 5	Types d'éthanol par secteur industriel	33
Tableau 6	Composition des solutions mère de milieu Bold de base	34
Tableau 7	La composition de milieu de Hiri	36
Tableau 8	Comparaison de systèmes de récolte en fonction de leur objectif d'humidité finale	50

LES ABREVIATIONS

3PGA : Glycéraldéhyde-3 Phosphate

ABPG : Acide bi-Phosphoglycérique

ADP : Adénosine di-Phosphate

ALDPG : Aldéhyde Phosphoglycérique

C3P :5Trioses Phosphate

C5P: 3 Pentoses Phosphate

DAF: Flottation par air dissous

DHOAP : Dihydroxy acétone Phosphate

DIC: Détente Instantanée Contrôlée.

DO: Densité Optique

E100: Un carburant correspond à l'éthanol pur

E20: Un carburant contient donc 20% d'éthanol et 80% d'essence

ETBE: Ethyl Tertio Butyl Ether

Exx: Indique le pourcentage d'éthanol inclus dans le mélange

Fd :Ferredoxine

GAP : Acide Phosphoglycérique

GAPDH : Glycéraldéhyde phosphodéshydrogénase

MF: Microfiltration

Mn : **Enzyme** de décomposition de l'eau

NADPH : Hydrure de Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

OGM: Organisme génétiquement modifié

Pc :plastocynine

PGK: Phosphoglycérokinase

Pi: Phosphate inorganique

PRK: Phosphate Ribulose Kinase

PSI: Photosystème I

PSII : Photosystème II

Q :Plastoquinose

UF: Ultrafiltration

Introduction

Les fluctuations importantes du prix du baril de pétrole et la prise de conscience collective du caractère "non infini" des énergies fossiles ont fortement relancé l'intérêt général pour les biocarburants. Le remplacement d'une partie des carburants traditionnels par des produits issus de la biomasse répond à un triple enjeu : économique (indépendance énergétique), environnemental (effet de serre) et législatif .

En Europe, la part de marché très importante des véhicules engendre un déséquilibre de la balance pétrolière. Cela se traduit par des importations grandissantes de gazole et des exportations importantes d'essence. Bien qu'il soit généralement utilisé avec des carburants de type essence, l'utilisation de carburants enrichis en éthanol semble prometteuse pour réduire les émissions de particules à l'échappement des véhicules éthanol.

Pour ce la les chercheurs ont amélioré le techniques d'utilisation de la biomasse en trois génération. La première génération de biocarburant consiste à utiliser directement la biomasse végétale, alors que la deuxième génération met en œuvre, non plus les produits alimentaires, mais les sources ligno-cellulosiques des plantes (tiges, feuilles, bois etc). La troisième génération utilise quant à elle des micro-algues pour la production de biocarburant.

Les microalgues sont des microorganismes qui peuvent habiter dans des eaux salées, douces, saumâtres et même dans des eaux usées. A l'échelle microscopique, elles peuvent être observées séparément ou en formant des colonies. Selon leurs types et les conditions environnementales, les microalgues peuvent produire des quantités importantes de sucres et grâce à la photosynthèse.

Cette étude est une contribution bibliographique à la production est de bioalcool par des microalgue

Ce mémoire s'articule en cinq parties. Au **Chapitre I**, nous présenterons les microalgues et leur taxonomie .Le modes de nutrition chez les microalgues, leurs croissances, leur écologie et les différents domaines d'utilisation.

Le **deuxième Chapitre** présente les principales classes des sucres fermentescibles qui va donnée le filière bioéthanol après la processus de fermentation, puis les métabolisme de cette molécules.

Dans le **Troisième Chapitre**, les différents voies de production de bioéthanol le première, le deuxième et le troisième génération.

Le **Quatrième Chapitre** présente les techniques d'isolements et d'identification de microalgues productrices de bioéthanol.

Enfin, le **Cinquième Chapitre** présente les différents systèmes de culture des microalgues. Les principes de conception de système de culture comme : les facteurs limitants, l'apport de carbone et de minéraux et l'apport d'énergie lumineuse. Des comparaisons entre les différents modes de culture ont été effectuées de manière à apporter des éléments de compréhension notamment sur l'influence des propriétés carburant sur la combustion Ethanol.

I-1 Définition du micro algue

Les microalgues sont des algues microscopiques, unicellulaires ou pluricellulaires indifférenciées vivant en milieu aquatique. Ces sont des microorganismes photosynthétiques eucaryotes. Sont à tort regroupées dans le terme de micro algues. . Elles sont une des formes de vie les plus anciennes étant apparues sur terre .Elles ont une taille de l'ordre du micromètre. (Filali R ., 2012) dont la taille est comprise entre 1µm et 1mm. (Drira Z., 2009) et sont considérées comme des algues unicellulaires qui se développent en suspension principalement dans des solutions aqueuse. Ces microorganismes photosynthétiques sont considérés comme les premiers producteurs d'oxygène indispensable à la respiration de la majorité des êtres vivants. Leur existence remonte dans les océans à plus de trois milliards d'années ; ils sont à l'origine de la transformation de la composition atmosphérique (fixation de CO₂ et rejet de O₂) et ont permis la vie végétale et animale sur notre planète (figure 1). (Filali R ., 2012)

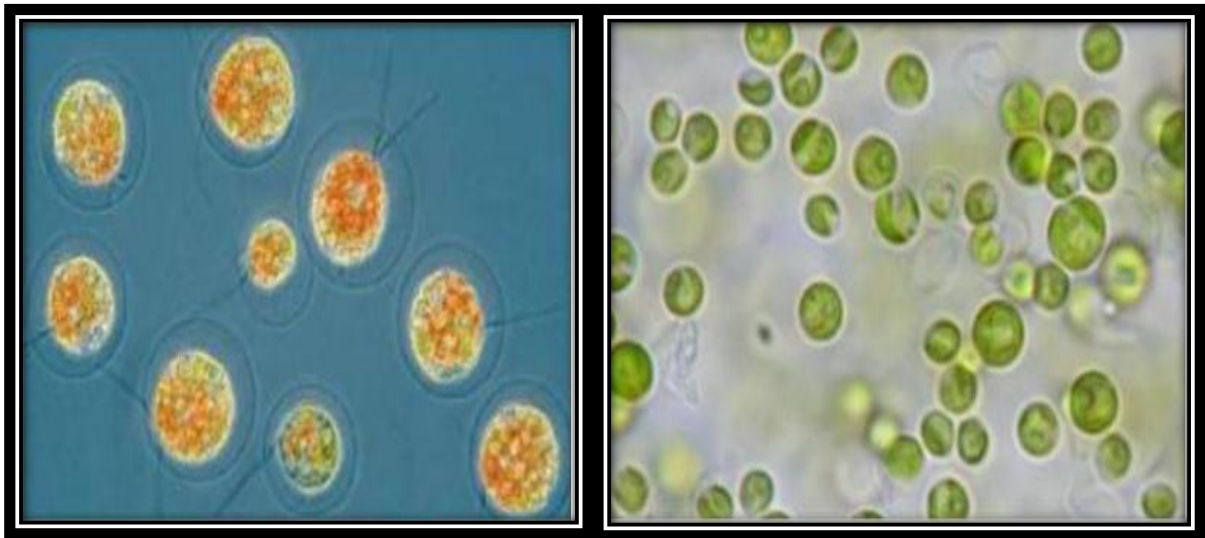


Figure1: Quelques exemples de micro algues: *Haematococcus*, *Staurastrum*, (Cadorte P et Beranard O ., 2010)

Comme chez les végétaux terrestres, certaines espèces peuvent accumuler, dans certaines circonstances, le carbone absorbé sous forme de carburant (principalement sucer), ce qui permet d'envisager d'utiliser ces microorganismes pour produire des biocarburants. (Cadorte P et Bernard O ., 2008)

I-2-Morphologie et caractères générales

Les principales caractéristiques de micro algues sont essentiellement simple caractéristiques morphologiques qui peuvent facilement être observée sous un microscope. La microalgue présente un noyau et une membrane plasmique contenant des organites essentiels à ses fonctionnements tels que les chloroplastes, les amyloplastes, les oléoplastes et les mitochondries. Elle contient trois principaux types des pigments qui sont les chlorophylles, les caroténoïdes et les phicobiliprotéines Les microalgues présentent des formes variables : souvent sphériques (*Porphyridium*), en forme de croissant (*Clostridium*), de spirale (*Arthrospira*), de gouttelette (*chlamydomonas*) et même d'étoile (*Staurastrum*)(figure 2). (Frank E ., 2010)

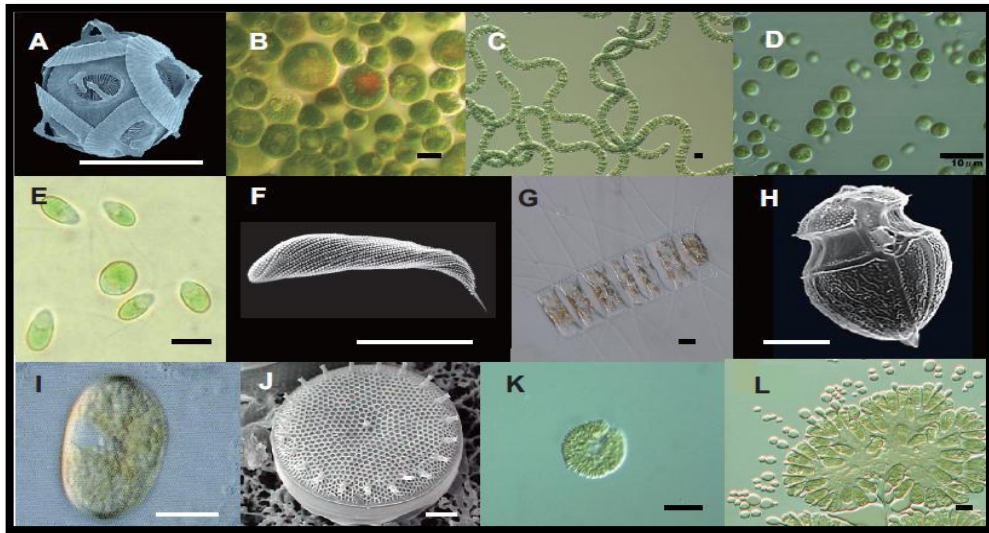


Figure2: Diversité morphologique des microalgues (Frank ; 2010)

A : *Gephyrocapsa* E : *Dunaliellatertiolecta* J : *Bacillariophyceae*

B : *Haematococcuslacustris* F : *Chaetoceroscalcitrans* K : *Raphidophyceae*

C : *Spirulinaplatensis* H : *Dinophysis acuminata* L : *Botryococcus*

D : *Chlorellavulgaris* I : *Alexandrium*

Elle présente un noyau et une membrane plasmique contenant des organites essentiels à son fonctionnement tel que les chloroplastes, les amyloplastes, les oléo plastes et les mitochondries. Elle contient trois principaux types de pigments qui sont les chlorophylles, les caroténoïdes et les phicobiliprotéines. Les microalgues présentent des formes variables : souvent sphériques (*Porphyridium*), en forme de croissant (*Clostridium*), de spirale (*Arthrospira*), de gouttelette (*chlamydomonas*) et même d'étoile (*Staurastrum*)Du point de vue nutrition, les microalgues sont majoritairement « *photoautotrophes* » mais elles peuvent

être également Un métabolisme autotrophe se traduit par l'utilisation d'une source de carbone inorganique comme le dioxyde de carbone ou le bicarbonate tandis que le métabolisme hétérotrophe est caractérisé par une consommation de carbone organique comme source de carbone pour leur développement; les mixotrophes utilisent les deux types de source de carbone . (Cavala M ., 2000) et caractéristique Elles sont des espèces aquatiques à structures relativement molles. Elles sont totalement dépourvues de lignines, ce qui pourrait en faire une biomasse très avantageuse pour un certain nombre de fermentations telles que la production de méthane ou même d'alcools à des fins énergétiques.(Cavala M ., 2000) .

I-3- Reproduction des microalgues

I-3-1- Reproduction asexuée :Elle peut être de 3 types :

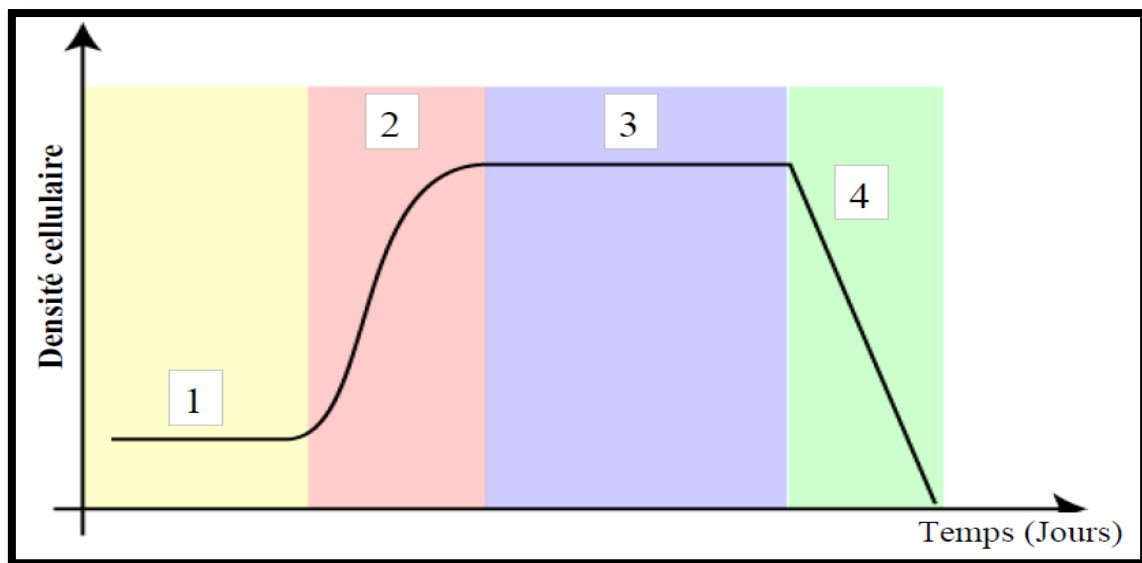
- ✓ **fragmentation :**Le thalle se sépare en deux parties qui redonneront chacune un nouveau thalle. (Baldauf S ., 2008)
- ✓ **sporulation :**Des spores peuvent être formées dans les cellules végétatives ordinaires ou dans des structures spécialisées appelées sporanges.(BaldaufS ., 2008)
- ✓ **scission binaire :** Division du noyau puis du cytoplasme. Là forme caractéristique du cénobe de *Scenedesmusquadricauda* provient de deux divisions successives par scission binaire. Les divisions suivantes provoquent la fragmentation de cette forme coloniale. Chez les cyanobactéries (*Oscillatoria*), des zones plus sensibles aux cassures sont présentes et favorisent ce mode de reproduction asexuée. (Baldauf S ., 2008)

I-3-2-Reproduction sexuée :Dans la reproduction sexuée, il y a fusion de gamètes mâle et femelle pour produire un zygotediploïde. Des œufs se forment dans les cellules réceptrices identiques aux cellules somatiques (*Spirogyra*) ou dans des cellules végétatives femelles peu modifiées nommées oogones (*Fucus*). Les spermatozoïdes sont produits dans des structures mâles spécialisées appelées anthéridies. (Baldauf S ., 2008)

I-3-3- Croissance : Les microalgues comme tous microorganismes ont une croissance se faisant en quatre phases (**figure 3**): une phase de latence (1), une phase exponentielle (2), une phase stationnaire (3) et une phase de déclin (4). (RymolefsC., 2012) .

- ✓ Une phase de latence (1), pendant laquelle la croissance des cellules est lente. La durée de cette phase dépend des volumes respectifs d'inoculum et de milieu de culture, et surtout de l'acclimatation de la culture mère aux nouvelles conditions dans le récipient de culture Cette phase serait davantage un artefact de transfert plutôt qu'une étape inhérente à la croissance.

- ✓ Une phase exponentielle (2), justement définie par le caractère exponentiel de la croissance. L'augmentation du nombre de cellules par unité de temps est alors proportionnelle au nombre de cellules présentes à l'instant. **(Rymolefs C., 2012)**
- ✓ Une phase stationnaire (3) qui perdure jusqu'à ce qu'un élément, dit « limitant » (le plus souvent un élément nutritif comme l'azote ou le phosphore), dont la concentration est plus faible par rapport aux besoins du phytoplancton, atteigne une valeur qui ne peut plus satisfaire la demande des cellules **(RymolefsC., 2012)**
- ✓ Une phase de déclin (4), aussi appelée phase de sénescence, se traduisant par la mort des cellules, lesquelles ne trouvent plus dans le milieu de culture les éléments nécessaires à leur survie. Elles libèrent alors leurs constituants cellulaires. **(Rymolefs C., 2012)**.



(1) : Phase de latence (2) : Phase exponentielle (3) : Phase stationnaire(4) : Phase de déclin

Figure 3 : courbe de croissance des microalgues. (Rymolefs ; 2012)

I-4-Classification des microalgues

Les microalgues sont très rarement regroupées en fonction de leur métabolisme énergétique ou encore en fonction de leur habileté à synthétiser les métabolites nécessaires, mais plutôt en fonction de leurs propriétés morphologiques. Il existe donc différentes classes taxonomiques de micro algues dont les principales sont les cyanophycées, les chrysophycées, les rhodophycées, les euglenophycées, les chlorophycées et les bacillariophycées **(BarberousseH, 2006)**.

I-4-1- Les Cyanophycées (algues bleues-vertes) : Les cyanophycées ou algues bleues-vertes sont des algues procaryotes très répandues ne possédant aucun noyau dont environ 7 500 espèces sont connues à ce jour. Elles sont habituellement de petites tailles, soit 10 m ou

moins, et peuvent être retrouvées dans pratiquement tous les habitats (eaux fraîches, eaux salées, eaux saumâtres et sols) étant donné leur aptitude à résister à des températures extrêmes et leur résistance à la dessiccation. Cependant, la majorité des algues bleues-vertes ont des températures optimales de croissance de 32 à 35°C. La principale restriction des cyanophycées provient du fait que ces dernières nécessitent la présence de lumière pour leur croissance et sont donc principalement des organismes autotrophes obligatoires. Certaines espèces seraient toutefois en mesure d'oxyder certains sucres en absence de lumière. Les cyanophycées emmagasinent principalement leur énergie sous forme d'amidon (amylose et amylopectine) ou encore sous forme d'huiles. (Cantiml.; 2010).

I-4-2- Les Chrysophycées (algues dorées): Les chrysophycées ou algues dorées sont généralement présentes dans les eaux douces. Cette classe est représentée par 150 genres et environ 800 espèces. Le mode de nutrition de ces algues est très varié, mais certaines d'entre elles possèdent un mode de nutrition hétérotrophe comme *Ochromonas danica* qui comprend un pourcentage de 27,4 % en acides gras et dont la source de carbone assimilée est le glucose. (Barberousse H., 2006).

I-4-3- Les Rhodophycées (algues rouges): Il existe près de 4 000 espèces d'algues rouges qui sont retrouvées dans les eaux saumâtres et salées et très rarement dans les eaux douces. Comme les phéophycées, cette classe ne comprend aucune algue de métabolisme hétérotrophe et la plupart d'entre elles sont photo autotrophes ou photo organotrophes. Bien que certaines espèces contiennent des acides gras, leur utilisation pour produire du biodiesel en absence de lumière ne semble pas envisageable (Barberousse H., 2006).

I-4-4- Les Euglenophycées: Il existe plus de 800 espèces d'euglenophycées qui sont retrouvées généralement dans les eaux saumâtres et douces. Les principales réserves de ces algues sont constituées de par amylon, une substance glucidique, et d'huiles. Les études réalisées à partir des euglenophycées démontrent que celles-ci possèdent une nutrition complexe et qu'il est difficile de définir des besoins nutritionnels communs pour plusieurs espèces. Une espèce en particulier, *Euglenagracilis*, peut croître en mode autotrophe et hétérotrophe. Lorsque cultivée en absence de lumière, un substrat contenant acétate, acides organiques, alcool ou sucres peut être utilisé. Cette espèce possède d'ailleurs un intérêt particulier quant à la production d'acides gras. (Person J., 2011)

I-4-5- Les chlorophycées (algues vertes): Les chlorophycées sont retrouvées dans tous les types d'habitat et l'amidon et l'huile constituent leurs principales réserves énergétiques. Parmi ce groupe, plusieurs micro algues possèdent un métabolisme photo autotrophe, photo

hétérotrophe et cham hétérotrophe .L'espèce la plus étudiée possédant un métabolisme cham hétérotrophe est *Chlorellavulgaris*. Cette espèce est très intéressante pour la production de biodiesel en raison de son pourcentage intéressant en acides gras. Les principales sources de carbone assimilables les ont sous forme de sucres et d'acide acétique. D'autres espèces faisant partie de cette classe ont un potentiel intéressant pour la production d'algocarburants dont notamment l'espèce *Chlorellaproteotheidoides* (**Barberousse H., 2006**)

I-4-6- Les bacillariophycées (diatomées): Les diatomées représentent souvent le groupe dominant de micro algues parmi les populations de phytoplancton et sont extrêmement répandues dans tous les types d'habitat .En effet, plus de 100 000 espèces sont connues et il en existerait plus de un million. Celles-ci sont unicellulaires et mesurent de 2 m à 1 mm Les diatomées emmagasinent leurs réserves sous forme de chrysolaminaran, un polysaccharide, ainsi que d'huiles. Elles sont d'ailleurs reconnues pour leur contenu enacides gras et pendant plusieurs années, les scientifiques croyaient que les lipides représentaient le production d'acides gras.(**Guiliana P et BecerraC., 2012**).

I-5-composition chimique des microalgues

En revanche, les microalgues sont généralement riches en vitamines et en substances économiquement intéressantes .Des modifications de la composition chimique apparaissent néanmoins en fonction du milieu, du mode de culture, ou du moyen de conservation. Les micro-algues présentent une très grande diversité de molécules au sein de leurs cellules .Cette biomasse se différencie principalement des autres végétaux par sa richesse en lipides, en protéines, en vitamines, en pigments et en antioxydants.(**Salomez M ., 2009**) .

Elles 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 phycobiliprotéines (phycoérythrine et phycocyanine). Les pigments principalement exploités sont la phycocyanine de la spiruline (colorant bleu), la phycoérythrine (couleur rouge) de *Porphyridiumpurpureum*, l'astaxanthine d'*Haematococcuspluvialis*ou le bêta-carotène de *Dunaliella salina*. Les micro-algues peuvent accumuler plus de 50% de leur poids sec en lipides. Ces derniers sont principalement constitués de triglycérides, de phospholipides, et de glycolipides. Le contenu élevé en protéines, peptides et acides aminés (entre 12 et 65% de matière sèche) de plusieurs espèces de micro-algues est une

des principales raisons pour les considérer comme une source non conventionnelle de protéines dans l'alimentation humaine et animale (pisciculture) (Francoi D., 2009)

Tableau1: Composition des microalgues (Becker W., 2004)

Composition en % du poids sec:	<i>Scenedesmus sp.</i>	<i>Spirulina sp.</i>	<i>Chlorella sp.</i>
Protéines brutes	50-56	50-62	55,5
Eau	4-8	4-10	7
Lipides	12-14	2-7	7,5
Glucides	10-17	16-18	17,8
Fibres brutes	3-10	0,1-0,9	3,1
Cendres	6-10	6,4-9,0	8,25
Acides aminés (en g/16 g N):			
Valine	6,2-7,2	6,5	5,1
Leucine	6,6-9,3	8,5	4
Isoleucine	3,2-4,4	6	3,4
Thréonine	4,8-5,8	4,6	3,2
Méthionine	1,4-1,5	1,4	1,8
Phénylalanine	3,6-4,6	5	4,5
Tryptophan	1,2-1,4	1,4	1,4
Lysine	5,0-5,7	4,6	7,8
Vitamines et autres (en mg/100 g MS):			
Acide ascorbique (C)	40	-	1,5
carotène	50	150	50,2
Acide pantothénique	1,2	360	1,12

I-5-1-Variabilité de la composition biochimique des microalgues

I-5-1-1- Les polysaccharides : Les microalgues rouges sont enrobées d'un polysaccharide hydrosoluble qui, lors de la phase stationnaire de croissance, s'accumule et rend le milieu de culture très visqueux. L'influence des paramètres environnementaux et la composition du milieu de culture sur la production de polysaccharides sont bien documentées. Ainsi, un

milieu de culture privé de nitrates et de sulfates inhibe complètement dans un cas et partiellement dans l'autre cas le développement cellulaire et, par conséquent, la sécrétion des polysaccharides extracellulaires chez *Rhodella*. Par ailleurs, ont observé une production importante de polysaccharides dans des conditions de cultures déficientes en azote et sulfate. Ont également montré qu'il existe une dépendance entre l'énergie lumineuse et la distribution spectrale de la lumière incidente sur le taux de production par *Porphyridiumruentum* de polysaccharides dans le milieu de culture. Il existe donc une gamme d'intensités lumineuses et de longueurs d'ondes, principalement la lumière bleue et la lumière rouge, dans laquelle il est possible d'accroître très significativement (de 10 à 50 %) le taux de sécrétion en polysaccharides. Par ailleurs, le stress mécanique ou hydrodynamique engendré par les pompes des photobioréacteurs ou un taux élevé de prélèvement de la biomasse s'opposent au développement des polysaccharides extracellulaires dans le milieu. Comme en attestent de nombreuses études, il est possible en fonction des conditions opératoires d'obtenir une production optimale de polymères au sein d'une photo bioréacteur. (RuizeG., 2005)

I-5-1-2- Les acides gras : les micro algues marines sont souvent riches en acide gras polyinsaturés à longue chaîne qui peuvent constituer entre 9 et 14 % de la masse sèche. Les Rhodophycées telles que *Porphyridium* contiennent majoritairement trois acides gras : un acide gras saturé, l'acide palmitique deux acides gras polyinsaturés, l'acide arachidonique et l'acide eicosapentaénoïque qui représentent respectivement 32,5 %, 20,0 % et 9,5 % des acides gras totaux. Puis ont montré que la teneur en acides gras polyinsaturés chez *Porphyridium* augmente fortement en fonction des conditions de culture, notamment pour des températures comprises entre 5 et 15°C. Il est alors possible d'orienter la production vers un taux optimal de lipides polyinsaturés en entreposant la biomasse dans une enceinte réfrigérée en sortie du photobioréacteur. Après cette étape d'enrichissement, les lipides sont extraits par un solvant organique usuel comme l'hexane ou le chloroforme (RuizeG., 2005)

I-5-1-3- La pigmentation : La coloration des microalgues, due à la présence combinée de caroténoïdes et d'un excès de phycoérythrine par rapport à la chlorophylle, est dépendante des conditions de culture. Des études *in vitro* ont montré que sous une faible énergie lumineuse, les algues augmentaient leur quantité de pigments. La nature de l'irradiation intervient également. En effet, les algues cultivées sous une lumière verte ajustent leur composition pigmentaire en produisant de la phycoérythrine. Le taux d'irradiation lumineux influe sur le pouvoir métabolique de la cellule et donc sur la quantité de pigments, mais pas seulement ont montré que la concentration en pigments est limitée lorsque que le taux d'azote est élevé dans

le milieu de culture. Il est également possible d'augmenter notablement le taux de phycoérythrine, dans le cas d'une culture en photo bioréacteur, en paramétrant un taux de renouvellement élevé du milieu (**Ruize G., 2005**)

I-6 -Mode de nutrition des microalgues

I-6-1- Autotrophe :C'est le mode de nutrition par lequel les algues élaborent, grâce à la photosynthèse,leur propre substance à partir des éléments minéraux dissous dans l'eau et du CO₂.Parmi les formes minérales de l'azote (NH₄⁺, NO₂⁻, NO₃⁻), c'est l'ammoniac qui est utilisé préférentiellement par de nombreuses algues , le nitrate et le nitrite devant être réduits avant leur assimilation. Certaines *Haematococcus* et certaines (**Baya., 2012**).

I-6-2- Hétérotrophe :C'est le mode de nutrition qui permet l'assimilation directe des substances organiques, de façon plus ou moins indépendante de la photosynthèse. La croissance algale à l'obscurité, sur des milieux contenant des matières organiques, est connue depuis longtemps. Les algues sont en effet capables d'utiliser et d'assimiler des substances organiques dissoutes et même particulaires par phagotrophie .Longtemps ignoré, ce mode de nutrition fait actuellement l'objet de nombreuses études, d'une part pour déterminer les différentes matières organiques que les algues peuvent utiliser, d'autre part pour étudier la signification écologique de ce mode de nutrition (**Baya D., 2012**)

I-6-3-Mixotrophes :Les algues mixotrophes sont les microorganismes susceptibles d'adopter soit l'autotrophie soit l'hétérotrophie comme mode de nutrition (**Baya D., 2012**)

I-7- Ecologie des microalgues

La production primaire en phytoplancton à la surface du globe est localisée dans les eaux riches en nutriment Les microalgues peuvent aussi bien vivre en eau salée, saumâtre ou douce. On les retrouve sur les continents et dans les océans. En plein océan, celles-ci se trouvent au niveau des remontées d'eaux froides profondes, Les microalgues sont présentes dans de nombreux écosystèmes. Elles peuvent résister à des conditions extrêmes. Elles peuvent vivre autant au niveau des volcans que des glaciers Un phénomène naturel survenant au large des côtes est celui de bloom phytoplancton que Lors qu'un apport de nutriment important apparaît dans une région par déversement d'engrais azotés par exemple, une croissance rapide des microalgues apparaît. Il s'agit d'une efflorescence algale localisée (**Rymolefs C., 2012**)

I-8- La biodiversité des microalgues

Les microalgues vivent dans les milieux fortement aqueux. Il existe 1100 genres de micro-algues dont 14000 espèces d'eau douce et 14000 d'eau salée. Ce sont des êtres photosynthétiques, c'est-à-dire qu'elles sont capables de produire de la matière organique à partir d'éléments minéraux grâce aux processus d'assimilation photosynthétique. Dès lors qu'elles disposent de la lumière, elles vont assimiler les éléments minéraux nutritifs comme le potassium, le sodium, le calcium et le magnésium, des oligo-éléments (molybdène, zinc, cuivre) et le CO₂ dissous dans l'eau pour produire leurs constituants cellulaires (Cadoret P et Beranrad O., 2010).

I-9- Les applications des microalgues

Au de la biodiversité et leurs propriétés biochimiques, les microalgues se révèlent très prometteuses pour de nombreuses applications dans des domaines variés tels que l'industrie pharmaceutique, agro-alimentaire, l'environnement et les énergies renouvelables (FilaliR., 2012).

I-9-1-Domaine alimentaire : Les microalgues constituent un réel apport nutritif. Ces microorganismes sont utilisés dans l'alimentation animale et humaine, et dans l'aquaculture. La biomasse peut être produite sous forme de poudre, tablettes, capsules, pastilles....) Au niveau de l'alimentation humaine, deux espèces de micro algues, *Chlorella* et *Spirulina*, dominent le marché mondial. L'apport de la biomasse micro algale peut se traduire par un effet général immuno-modulateur. La biomasse peut également être source d'aliments fonctionnels « alicaments » ; de fait, le marché des aliments fonctionnels représente un des marchés les plus dynamiques de l'industrie alimentaire (RuizeG., 2005)

I-9-2 Domaine pharmaceutique : Au vu de leur grande diversité biochimique, les microalgues représentent une source intéressante de molécules bioactives et de toxines utilisables dans le développement de nouveaux médicaments. Plusieurs études ont permis de mettre en évidence l'implication des microalgues dans le domaine pharmaceutique par l'identification de nouvelles molécules naturelles. Dans ce sens, la *tubercidine*, une molécule cytotoxique, a été identifiée chez la micro algue *Tolythrixbyssoides* ainsi que chez les cyanobactéries. (Baldauf S., 2008).

I-9-3-Domaine cosmétique : Plusieurs espèces de micro algues sont exploitées industriellement dans le domaine cosmétique, principalement les deux espèces *Arthrospira* et

Chlorella. Des extraits d'algues, ayant une activité antioxydant, sont exploités sur le marché dans la fabrication des produits de soin capillaire, du visage et de la peau ainsi que dans les crèmes solaires. De même, la synthèse de protéines à partir de la souche *Arthrospira* entraîne une réparation des premiers signes de vieillissement de la peau alors que des extraits de *Chlorellavulgaris* permettent de stimuler la synthèse du collagène dans le péqui induisant la réduction des rides. Les pigments issus des microalgues sont également utilisés dans le domaine cosmétique. (Baldauf S., 2008)

I-9-4-Domaine énergétique : Il est possible de décomposer l'utilisation des microalgues dans l'industrie en trois parties : la production de biomasse à but alimentaire, la production de molécules spécifiques dites à haute valeur ajoutée et les applications environnementales. La seconde s'intéresse à certains composés biochimiques des microalgues et regroupe la plupart des applications industrielles. (Guiliana P et Becerra C., 2009)

I-9-4-1 Production de bio méthane : Plusieurs recherches ont permis de vérifier la faisabilité technique et commerciale de la production de bio méthane à partir de la biomasse marine, avec un potentiel intéressant. Cependant, des verrous techniques tels que l'accessibilité des nutriments et les coûts de production élevés sont limitant. Un moyen permettant de réduire les coûts est par exemple le couplage avec la production de métabolites secondaires à haute valeur ajoutée. Des espèces telles que *Gracilaria sp.* et *Macrocystis* représentent d'excellents organismes producteurs de bio méthane. (Filali R., 2012)

I-9-4-2-Production de biocarburant : Considérant le contexte mondial actuel (hausse du prix du pétrole, raréfaction des ressources fossiles, production de gaz à effet de serre...), il est intéressant de considérer les micro algues comme source de production de différents types de biocarburant : bioéthanol (Guiliana P et Becerra C., 2009)

I-9-5- Production de biomasse à but alimentaire : L'utilisation des microalgues comme source de nourriture vient des pratiques ancestrales de populations sujettes à la famine. Les micro algues représentent aussi une source importante de presque toutes les vitamines essentielles et sont également riches en pigments. Alors que ces microorganismes sont bénéfiques dans la nutrition humaine, ils sont également incorporés dans l'alimentation d'animaux comme les poissons, les animaux domestiques ou d'élevage (Guiliana P et Becerra C., 2009).

I-9-6 Applications environnementales : Les caractéristiques biochimiques et physiologiques des microalgues sont aussi exploitées pour des applications concernant l'environnement : elles

se révèlent utiles pour dépolluer les eaux usées, pour capturer et valoriser et pour produire de l'énergie propre comme les biocarburants. (**Guiliana P et Becerra C. , 2009**)

II- 1-Définition des sucres

Historiquement appelés hydrates de carbone, sont une classe de molécules de la chimie organique. Il s'agit de polyalcools comportant une fonction aldéhyde (CHO) ou cétone (CO). (Hirsch M., 2004)

- ✓ de fonctions alcools (alcool secondaire, alcool primaire)
- ✓ d'une fonction aldéhyde ou cétonique (fonction carbonyle)
- ✓ parfois d'une fonction acide ou aminée. (Touitou Y., 2005)
- ✓ La plupart des glucides (sucre) répondent à la formule brute $(CH_2O)_n$ avec $n > 3$. (Hirsch M., 2004)

Les glucides (sucres) sont habituellement répartis entre oses (monosaccharides tel que le glucose, le galactose ou le fructose) et osides, qui sont des polymères d'oses (polysaccharides). Les disaccharides (diholosides), tel que le saccharose ou le lactose, font partie de cette dernière catégorie. Mais seules les monosaccharides et les disaccharides ont un pouvoir sucrant. (Benchoucha R., 2011), Les glucides forment 1 à 2% de la masse cellulaire. (Berrada S., 2009). La majeure partie des glucides de la planète est produite par la photosynthèse.

Les glucides peuvent être oxydés pour produire de l'énergie dans les processus métaboliques. Chez les animaux et les plantes, des polymères glucidiques (glycogène, amidon) servent de réservoir énergétique. D'autres polymères (cellulose, chitine...) sont aussi trouvés dans les parois cellulaires (rôle de protection). (Bakri Y., 2013)

II-2- Importance en Biologie des sucres

Tableau 2: l'importance biologique des sucres. (Touitou Y., 2005)

Rôle énergétique	Rôle structural	Rôle économique	La place du glucose
<ul style="list-style-type: none"> • 40 - 50 % des calories apportées par l'alimentation humaine • réserve énergétique dans le foie et les muscles (glycogène). 	<ul style="list-style-type: none"> • Eléments de soutien (cellulose), de protection et de reconnaissance dans la cellule. • Eléments de réserve des végétaux et animaux (amidon). • Constituants de molécules fondamentales: acides nucléiques. • un fort pourcentage de la biomasse 	<ul style="list-style-type: none"> • Cellulose : milliards de tonnes / an • Amidon, saccharose : millions de tonnes / an. 	<p>Les glucides</p> <p>6/48 Biochimie : structure des glucides et lipides - Pr Y. Touitou 2005 - 2006</p> <ul style="list-style-type: none"> • Principal carburant des tissus • Seul carburant du fœtus • Rôle fondamental car tous les glucides alimentaires sont absorbés sous forme de glucose ou convertis

II-3- Classification des glucides

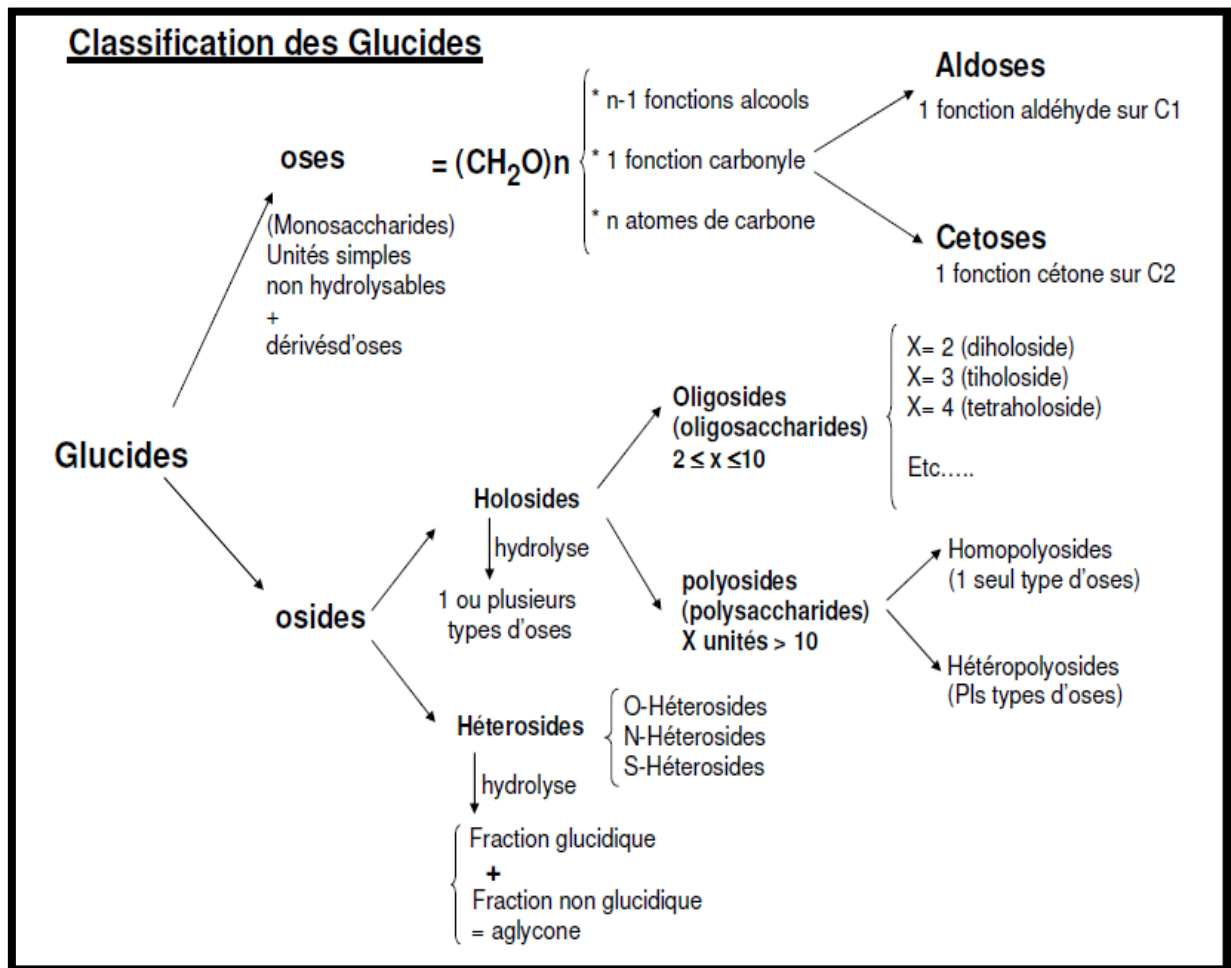


Figure 4: classification des glucides. (Bakri Y ., 2013)

On distingue les oses et les osides.

II-3-1- Les critères de classification des oses : Ces critères font appel au nombre d'atomes de carbone de l'ose et à la nature du carboxyle.

- ✓ Le nombre d'atomes de carbone : 3C (triose) ; 6C (hexose)
- ✓ La nature du carboxyle : Aldéhyde → Aldose ; Cétone → Cétose
- ✓ La combinaison de ces 2 critères caractérise l'ose :
- ❖ Aldopentose, Aldohexose, ...
- ❖ Cétopentose, Cétohexose, ... (Touitou Y ., 2005)

II-3-2- Les osides

II-3-2-1 Définition : Les osides sont des molécules dont l'hydrolyse fournit 2 ou plusieurs molécules d'oses. Ces oses sont identiques ou différents. (Figure 5).

On en distingue 2 grands groupes : Holosides et Hétérosides. (Touitou Y., 2005)

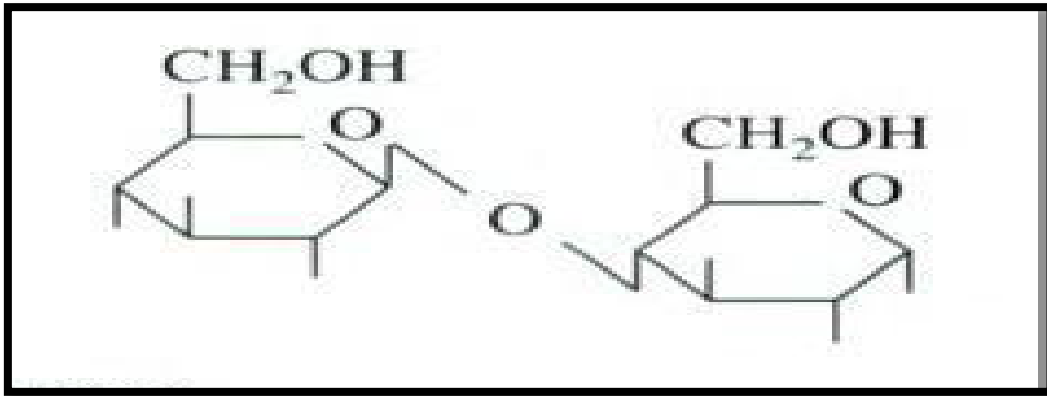


Figure 5 : structure chimique d'oside (Touitou Y., 2005)

II-3-2-1-1-Holosides

- ✓ Liaison de n molécules d'oses par des liaisons glycosidiques.
- ✓ Selon le nombre d'oses constitutifs : Di-, Tri, Tétra ... holosides.
- ✓ Oligosides : jusqu'à quelques dizaines d'oses.
- ✓ Polyosides : quelques centaines d'oses (cellulose, amidon). (Touitou Y., 2005)
- ✓ La **cellulose**:(polymère de glucose cristallin).(figure6), c'est la matière organique la plus abondante sur la Terre (50% de la biomasse).(Florian P., 2013)

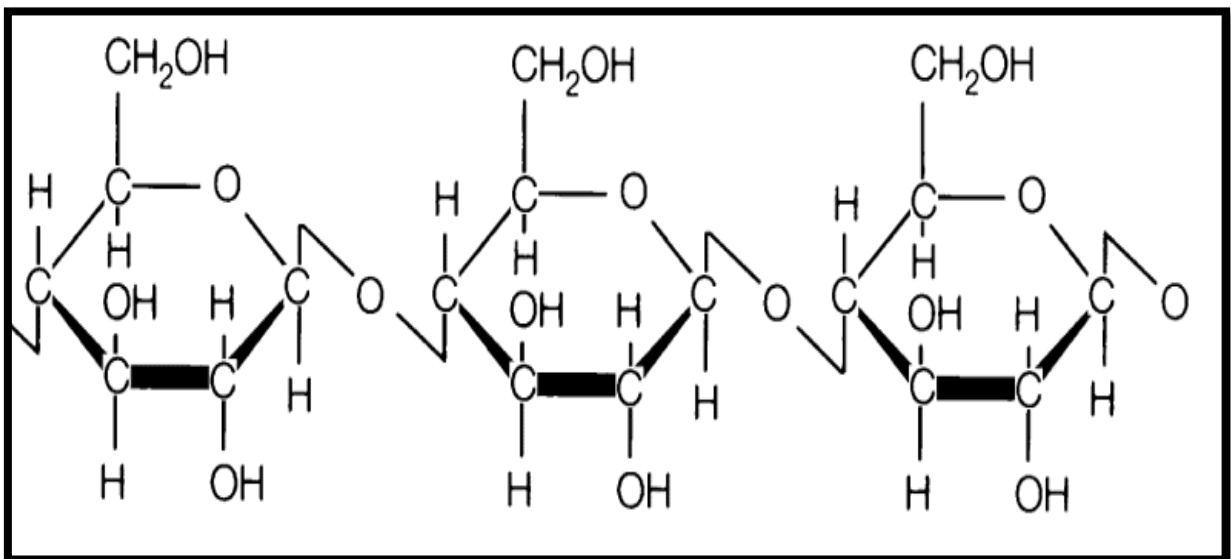


Figure 6 : structure de la cellulose (Florian P., 2013)

- ✓ **L'hémicellulose**:(polymère formé de xylose, de mannose, de glucose et de galactose) (figure 7).(Florian P., 2013)

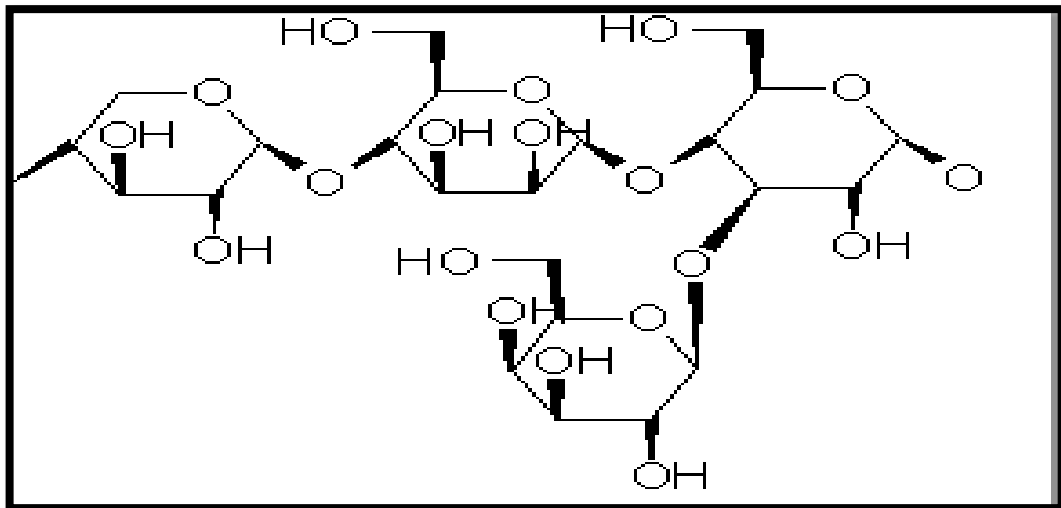


Figure 7 : structure de l'hémicellulose. (Florian P., 2013)

- ✓ La **lignine**:(composé de poly-aromatique, diffère en fonction de l'environnement) (FLORIAN.P, 2013)

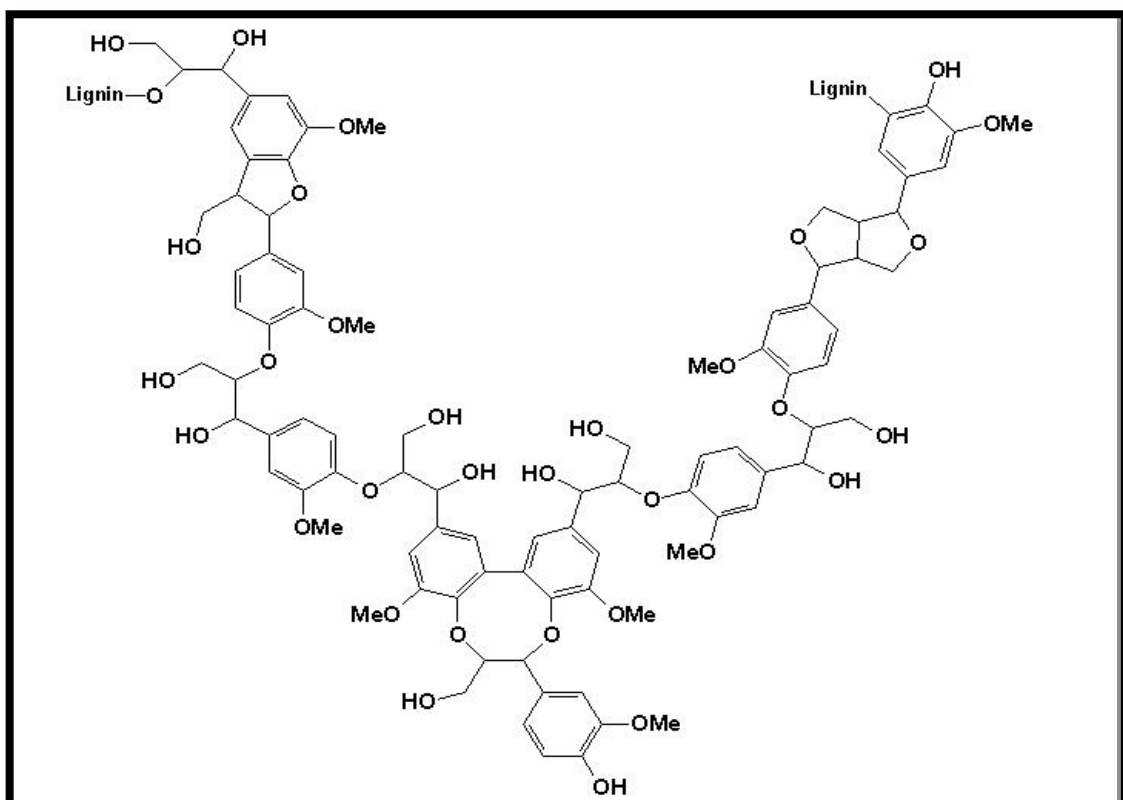


Figure 8: structure de la lignine (Florian P., 2013)

II-3-2-1-2-Hétérosides :

- ✓ Ils donnent par hydrolyse : oses + aglycone (partie non sucrée).
- ✓ Liaison à des Protéines (glycoprotéines), à des Lipides (glycolipides), à des bases. (Touitou P., 2005).

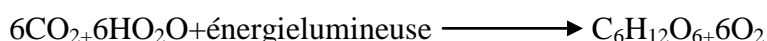
II-4-Métabolisme des glucides

II-4-1- La fermentation alcoolique (catabolisme) :La fermentation est une réaction biochimique de conversion de l'énergie chimique contenue dans une source de carbone (glucose souvent) en une autre forme d'énergie directement utilisable par la cellule en l'absence de dioxygène (milieu anaérobie). Elle donne lieu à une faible production d'énergie par rapport à l'utilisation du glucose en présence de dioxygène. **(Therrien R., 2008)**

Des sucres en C6 par des levures est similaire à celle pour la production des biocarburants de première génération mais la présence de lignine dans la biomasse limite la concentration initiale en sucres en C6 et donc la teneur finale en éthanol. Par ailleurs, certains composés toxiques de l'étape de prétraitement peuvent être présents lors de la fermentation. Enfin, les sucres en C5 issus de l'hydrolyse de l'hémicellulose sont difficiles à convertir en éthanol et nécessitent des microorganismes fermentaires différents. **(Estrada D., 2007).**

II-4-2-La photosynthèse

II-4-2-1- Activité photosynthétique des microalgues :La photosynthèse est un processus bioénergétique utilisé par les plantes terrestres ainsi que les microorganismes photosynthétiques (notamment les algues). Elle se compose d'une série de réactions complexes d'oxydoréduction durant laquelle l'énergie lumineuse, sous forme d'énergie électromagnétique, est absorbée par des pigments, principalement la chlorophylle, et est convertie en énergie chimique entraînant la production d'oxygène et des sucres ainsi que d'autres métabolites secondaires. Elle se déroule essentiellement dans les membranes des thylakoïdes chez les plantes, les algues et les cyanobactéries. Ce phénomène est régi par l'équation suivant :



La photosynthèse se décompose essentiellement en deux étapes : une première réaction dite « phase claire » **(figure9)** durant laquelle une réaction photochimique d'oxydation par fractionnement de l'eau se produit ; la seconde « la phase sombre », décrite par la fixation du carbone selon le « cycle de Calvin ». **(Filali R., 2012)**

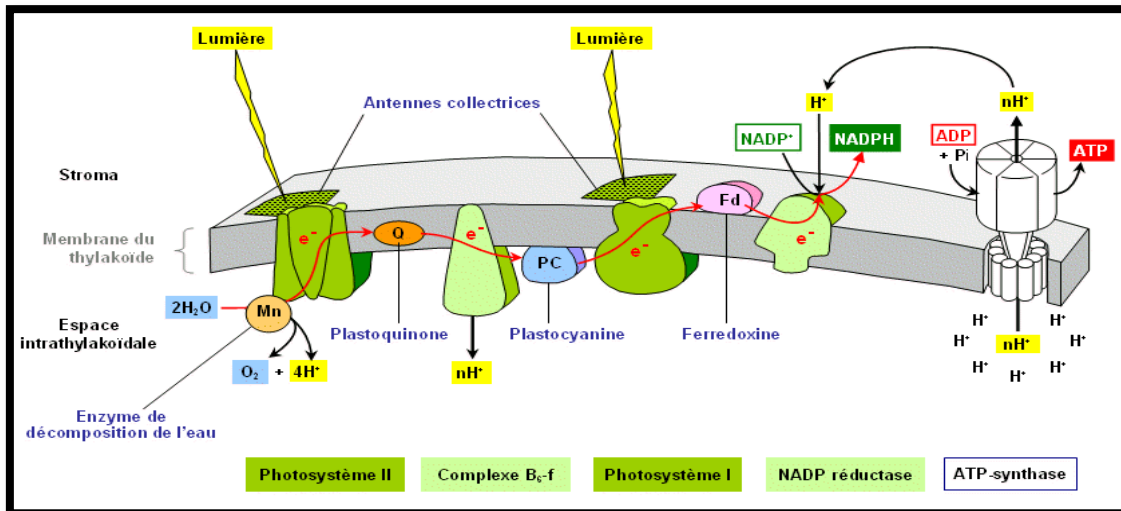


Figure 9: la photosynthèse des microalgues (phase claire) (FilaliR., 2013)

II-4-2-2-Cycle de Calvin en vue ensemble (anabolisme)

Le cycle de Calvin peut être partagé en 3 étapes essentielles (figure 10)

- ✓ l'incorporation du CO₂ dans le RuBP
- ✓ la réduction de l'APG en trioses phosphate
- ✓ la régénération du RUBP (Ogier C et al., 1999)

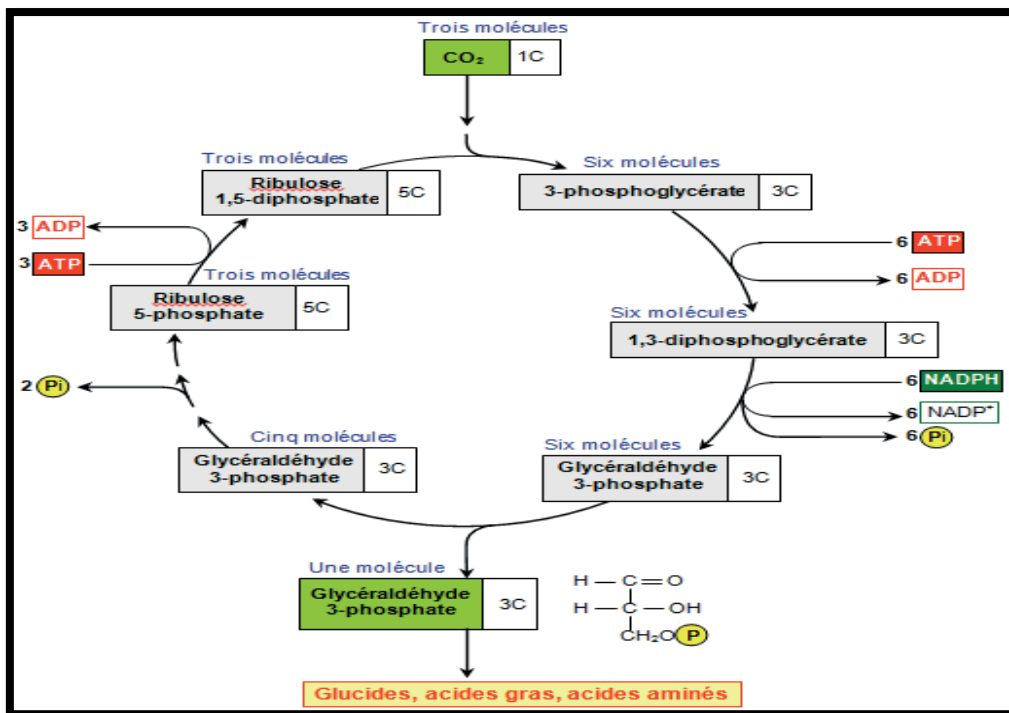
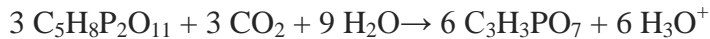


Fig 10: Schéma du Cycle de Calvin. Les nombreux intermédiaires entre le glycéraldéhyde 3-phosphate et le Ribulose 5-phosphate ne sont pas indiqués pour plus de clarté « la phase sombre » (Barbara C., 2012).

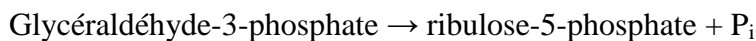
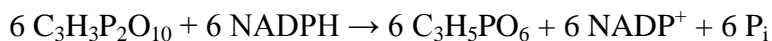
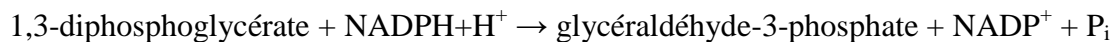
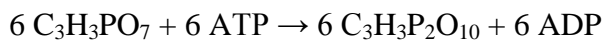
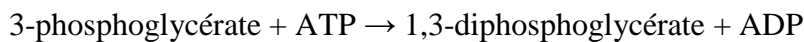
II-4-2-3-1-L'incorporation du CO₂ :ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) + dioxyde de carbone → 2 (3-phosphoglycérate) (catalysé par la RuBisCO)



- ✓ Cette réaction est catalysée par la RubisCO(Ribulose bis Phosphate Carboxylase Oxygénase).
- ✓ La fonction "oxygénase"joue un rôle important dans la photorespiration.
- ✓ La Rubisco est une enzyme contenu dans les chloroplastes des cellules végétales, plus précisément sur la surface stromale des membranes des thylacoïdes.

(Anonyme., 2013).

II-4-2-3-2-La réduction de l'APG en trioses-P



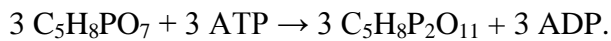
- ✓ L'APG, le premier composé formé par l'incorporation du CO₂, n'est pas un sucre.
- ✓ Les sucres sont des substances carbonées réduites qui comportent une fonction aldéhyde ou cétone. (Anonyme., 2013)
- ✓ Une étape importante consiste donc en la réduction de l'APG.(Anonyme.,2013)
- ✓ Une isomérisation permet de passer de l'aldPG au DHOAP.
- ✓ Ces deux molécules sont des trioses-P qui auront leurs rôles respectifs dans le métabolisme. (Anonyme., 2013)
- ✓ La formation de 2 molécules de trioses consécutive à la fixation d'une molécule de CO₂ nécessite donc 2 molécules d'ATP et 2 molécules de NADPH.

La phase de réduction utilise l'énergie chimique produite pendant la phase lumineuse (ATP et NADPH) pour réduire le 3PGA en Glyceraldéhyde-3P, un utilisant les mêmes réactions que la gluconéogenèse (NADPH au lieu du NADH est utilisé).(Anonyme. 2013)

- ✓ 1 molécule de GAP sort du cycle et est utilisée pour la synthèse de sucre (hexose, disaccharides, amidon stocké dans le chloroplaste)
- ✓ 5 molécules de GAP restent dans le cycle pour réformer les 3 molécules de RuBP. (Anonyme., 2013)

II-4-2-3-3-La régénération du RUBP

ribulose-5-phosphate + ATP → ribulose-1,5-bisphosphate + ADP.



La molécule 3-phosphoglycéraldéhyde manquante est convertie en glucose. Le fondement même du cycle de Calvin est de permettre la régénération du RUBP à partir d'une fraction des trioses formés. (Anonyme., 2013)

- ✓ On peut schématiser le processus de régénération du RuBP en considérant la fixation de 3 molécules de CO₂ qui conduisent à la formation de 6 trioses. (Anonyme., 2013)
- ✓ Sur les 6 trioses formés, 1 triose servira à la synthèse ultérieure des sucres plus complexes, les 5 autres trioses servant à régénérer 3 molécules de RUBP. (Anonyme., 2013)
- ✓ La régénération du RuBP se réalise grâce à un ensemble de réactions faisant intervenir des sucres à nombre varié de carbones : en C6 (fructose), C4 (érythrose) et C7 (sédoheptulose). (Anonyme., 2013)

A partir de 5 trioses phosphate (C3P) il se forme donc 3 pentoses phosphate (C5P). (Anonyme, 2013)

inalement, les pentoses phosphate formés (RuP) doivent être convertis en RuBP grâce à l'ATP.

- ✓ Cette réaction de phosphorylation est catalysée par la Phosphate Ribulose Kinase (PRK).
- ✓ La régénération du RuBP nécessite donc une molécule d'ATP supplémentaire par molécule de CO₂ fixé.

Phase 3: régénération du ribulose 1,5 bisphosphate.

Une série de réactions permet de réarranger le squelette de carbone des GAP pour obtenir 3 molécules de RuBP. Noter que beaucoup d'enzymes ont été déjà vus dans glycolyse et la voie des pentoses phosphate. (Oger C et al., 1999)

II-5-Les sucre produit par le micro algues

Le sucre issu des microalgues est dit de troisième génération. Les microalgues comme *Chlorella*, *Dunaliella*, *Chlamidomonas*, *Scenedesmus* et *Spirulina* (figure 11) sont connues par leur importante quantité d'amidon et de glycogène contenus dans leurs cellules ; ils représentent plus de 50% de leur poids total sec (Sadi M., 2012)

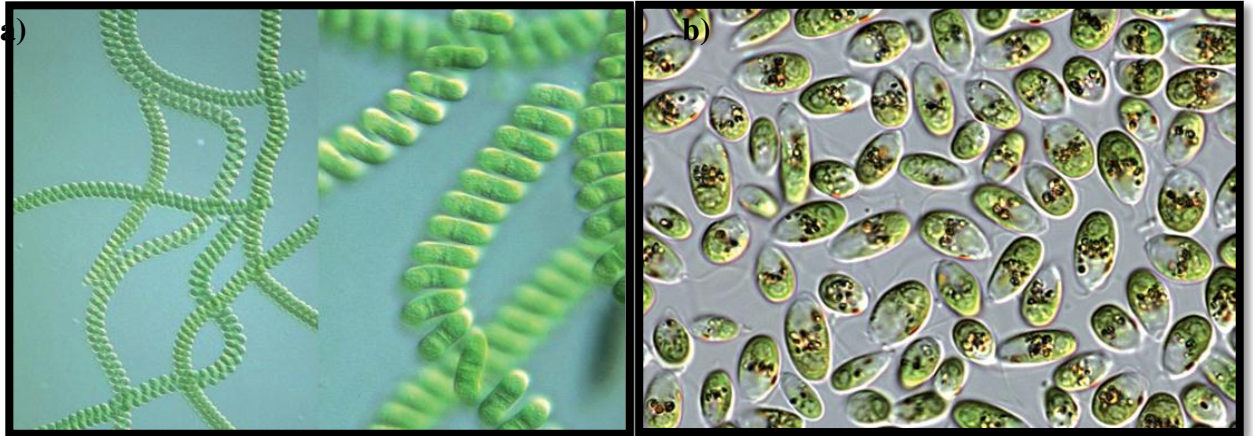


Figure 11 : (a) *spirulina* et (b) *dunaliella* (Sadi M., 2012)

L'amidon peut être extrait par voie mécanique telle que les ultrasons et le cisaillement ou par voie chimique, par dissolution des cellules en utilisant des enzymes. Une fois l'amidon extrait, il subit une hydrolyse (saccharification) pour le transformer en un sucre simple fermentescible, qui sera soumis à une fermentation suivie d'une distillation. (Sadi M., 2012)

III-1 Définition de bioalcool comme biocarburant

C'est un biocarburant d'origine biologique qui obtenu par de fermentation éthanoïque à partir de plante culture riche en sucre ou en amidon selon le degré de transformation plusieurs dérivé de biocarburant peuvent être obtenue.

Parmi de ces biocarburants les plus intéressants sont le bioéthanol, le bio méthanol et le biopropanol.

III-1-1- Le bio-butanol : Le bio butanol ou alcool butylique est l'alcool de quatre carbones avec la structure $\text{CH}_3 \text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{CH}_2 \text{OH}$. Il est plus toxique que l'éther méthanol ou l'éthanol. Butanol est utilisé comme un solvant, mais est ainsi une candidate pour utiliser comme un carburant. Butanol peut être fabriqué à partir d'éther pétrolé. (Heinemann H., 2006) ou grâce à la transformation des sucres par fermentation acéto-butylque à l'aide de la bactérie Gram positive anaérobie (*Clostridium Acetobutylicum*). Qui possède un équipement enzymatique lui permettant de transformer les sucres en butan-1-ol. Ce biocarburant présente de nombreux avantages par rapport à l'éthanol et est de plus en plus souvent évoqué comme biocarburant de substitution à l'heure du pétrole cher. (Semou J., 2012). Cette réaction chimique produit du di - hydrogène, de l'acide acétique, de l'acide propénoïque, de l'acétone, de l'isopropanol et de l'éthanol. (Heinemann H., 2006)

Le bio - butanol présente de nombreux avantages par rapport au bioéthanol et peut valablement servir de biocarburant de substitution en cas de flambée des cours du pétrole. (Estrada D., 2007)

III-1-2- Le bio méthanol: Le méthanol ou "alcool de bois" est l'alcool le plus simple. Leur structure chimique est $\text{CH}_3 \text{OH}$. (Heinemann H., 2006) Il est obtenu à partir du méthane par transformation du bois (Estrada., 2007), Le bio méthanol possède une densité de 0.791 g/ml et complètement soluble dans l'eau, l'un de des risques de méthanol. (Heinemann H., 2006). Est aussi utilisable : soit en remplacement partiel (sous certaines conditions) de l'essence, soit comme additif dans le gasoil. (Semou J., 2012) et dans certaines piles à combustible. (Estrada D., 2007). Il est cependant très toxique pour l'homme et les animaux à sang chaud. (Estrada D., 2007).

III-1-3- Le biopropanol: Le propanol est un alcool de trois carbones avec la formule générale $\text{C}_3 \text{H}_8 \text{O}$, il est rarement utilisé comme un bio carburant. Il est un liquide non coloré comme d'autres alcools et est généralement inflammable. L'iso propanol est plus fréquent utilisé

comme dé infectant et être considéré bien dé infectant que l'éthanol, mais il est rarement utilisé comme un bio carburant. (Semou J., 2012)

Le bio alcool le très important économiquement et technologiquement est le bioéthanol.

III-2-Définition de bio éthanol

L'éthanol, l'alcool ou encore l'alcool éthylique sont toutes les trois des appellations qui désignent la même molécule qui est composée de deux atomes de carbone (C), six atomes d'hydrogène (H) et d'un atome d'oxygène (O). Les formules brutes et semi-développées de la molécule d'éthanol sont respectivement le C_2H_6O , le C_2H_5OH et le CH_3-CH_2-OH (Jean B et May C., 2013). Il est obtenu par synthèse chimique à partir d'hydrocarbure ou par fermentation de sucres (Semou J., 2012) fermentescibles contenus dans la biomasse en présence d'une levure, *Saccharomyces Cerevesiae* qui est l'une des levures utilisées lors de la fermentation des sucres pour la fabrication notamment de boissons alcoolisées tel que le vin ou encore la bière (Jean B et May C., 2013). Le bio éthanol peut être produit à partir:

- ✓ de substrats riches en sucre (canne à sucre, betterave sucrière, etc), en amidon (maïs, orge, blé, pomme de terre, etc.) .
- ✓ de substrats cellulodiques tels que les résidus agricoles (la paille ou les cannes de maïs), les résidus forestiers, cultures énergétiques (le panic érigé ou des arbres à courte rotation), (Sadi M., 2012)

L'éthanol ainsi obtenu, peut remplacer partiellement ou totalement l'essence dans les moteurs à explosion et peut servir de complément au gasoil. (Campbell M., 2008).

III-3-La propriété de bioéthanol

En ce qui concerne ses propriétés physiques, l'alcool éthylique est un composé incolore, volatil, hygroscopique, miscible à l'eau. (Jean B et May C., 2013).

L'éthanol est également miscible à la plupart des solvants usuels. C'est un bon solvant des graisses et il dissout de nombreuses matières plastiques. Ses principales caractéristiques physiques sont les suivant: (Bonnard et al; 2011). (Tableau 3)

Tableau 3: La propriété de bioéthanol (Bonnard et al;2011)

Masse molaire	46.07
Point de fusion	-114°C
Point d'ébullition	78-78.5°C
Densité	0.789
Densité de vapeur	1.59
Indice d'évaporation (oxyde de diéthyl=1)	8.3
Indice d'évaporation (acétate de n-butyl=1)	2.4

Reconnu pour ses qualités de solvant pour les graisses et les matières plastiques, son odeur est détectable à des concentrations variant entre 10 et 350 ppm. (Jean B et May C., 2013) .L'éthanol est un composé qui est chimiquement stable. Il possède toutes les propriétés qui caractérisent les alcools notamment une réaction d'oxydation lorsqu'il est maintenu à l'air libre pour former de l'acide acétique. Par contre, dans des conditions d'oxydation extrême, il se transforme en dioxyde de carbone (CO₂) et en eau. (KACIMI M., 2008). (Tableau 4)

Tableau 4: Propriétés physico-chimiques (KACIMI M., 2008)

Forme physique	Liquide à pression et température normales
Masse molaire moléculaire	46,1 g.mol ⁻¹
Température d'ébullition	78,5°C
Point éclair	12.8°C (95%)
Température de fusion	-114,4°C
Pression de vapeur	57,3-59 hPa à 20°C 66,6-67 hPa à 25°C 100 hPa à 30°C et 133 hPa à 35°C
Densité (d₂₀4)	0,789
Facteurs de conversion (concentration dans l'air à 25°C et 1013 hPa)	1ppm = 1,88x10 ⁻³ mg.L ⁻¹ 1 mg.mL ⁻¹ = 532 ppm
Solubilité	Miscible à l'eau et la plupart des solvants

III-4-Différents voies de production de bioéthanol

III-4-1 – La bio éthanol de première génération : C'est une filière liquide pour une incorporation dans la filière essence, est essentiellement issu de ressources agricoles conventionnelles : betterave- céréales-canne à sucre (**Broust F et al. 2008**). En fonction du climat, la source (plante) utilisée pour produire le bio éthanol de 1^{ère} génération peut varier. Pour l'exploitation des sucres, la betterave sucrière est très largement utilisée en Europe, tandis qu'il y a une forte utilisation de la canne à sucre au Brésil, l'utilisation du maïs est également importante. L'exploitation de ces « sources » d'énergies se fait sur des terres cultivables, et font donc une concurrence directe aux produits destinés à l'alimentation. Afin d'obtenir une rentabilité maximale, ces cultures sont souvent génétiquement modifiées (OGM) car elles ne sont pas soumises aux mêmes restrictions que les composés alimentaires (**Bonnard N et al. 2011**). La structure de l'amidon est une longue chaîne de polymère de glucose. Ce polymère ne peut pas être fermenté directement, la structure doit d'abord être cassée en des molécules de glucoses plus petites puis dissoute dans de l'eau pour avoir une teneur en amidon entre 15 et 20 %. Ce mélange est ensuite chauffé et traité avec une enzyme. Cette enzyme permet d'hydrolyser l'amidon en chaîne courte de glucose et est appelée amylase (enzyme digestive). La fermentation transforme alors les sucres ou l'amidon en éthanol et en dioxyde de carbone grâce à des levures telles que la *Saccharomyces*. En théorie 51% du glucose est convertie en éthanol, le reste est utilisé par la levure comme source d'énergie ce qui diminue l'efficacité de 40 à 48%. (**Bonnard N et al., 2011**).

L'éthanol (ou bioéthanol) ainsi produit peut être mélangé à l'essence dans des proportions allant de 5% à 85% (des taux d'éthanol dépassant 20% nécessitent généralement des adaptations pour les moteurs). (**Estrada D., 2007**)

III-4-2 – La bio éthanol de deuxième génération : Le bio éthanol dit avancée a savoir de 2^{ème} génération n'a pas encore atteint le stade industriel et est au stade de recherche et développement, l'éthanol de 2^{ème} génération utilise l'intégralité de la lignocellulose des plantes ou de la biomasse: bois, paille, déchets, résidus, agricoles et forestiers, culture dédiées. (**Broust F et al., 2008**)

L'éthanol de deuxième génération c'est la matière la plus abondante disponible dans les plantes qui, par ailleurs, n'est pas comestible. (**Bonnard N et al., 2011**) Ces dernières années, un effort de recherche très important a été porté sur l'exploitation de nouvelles ressources pour la production de biocarburants afin d'élargir le spectre de ressources utilisables. (**Bonnard N et al., 2011**)

L'intérêt de ces nouvelles filières, dites de seconde génération, est de valoriser une grande partie de la biomasse jusqu'alors inexploitée : les résidus agricoles et forestiers par exemple. Ces sources d'énergie renouvelable sont facilement mobilisables et ne sont pas en compétition directe avec les usages alimentaires. De plus, contrairement aux procédés de première génération où seulement une partie de la plante est exploitée (grain, tubercule...), la totalité de la biomasse est potentiellement convertible en carburant ce qui laisse espérer des rendements nettement supérieurs (**Jean B et May C., 2013**)

III-4-2-1- La biomasse lignocellulosique : L'éthanol de deuxième génération provient essentiellement de sources lignocellulosiques .Ce sont les matières les plus abondantes disponibles dans les plantes qui, par ailleurs, ne sont pas comestibles. (**Jean B et May C., 2013**). La biomasse lignocellulosique provient principalement des résidus forestiers issus du déboisement et de la transformation du bois (feuilles, écorces, sciures...), des résidus agricoles (paille, fumier, lisier...) et des déchets organiques ménagers (papier, carton, déchets alimentaires...). Afin de compléter les ressources, une production dédiée à la biomasse est même envisageable avec des cultures à fort rendement comme les plantes annuelles (triticale...) ou les cultures pérennes à rotation rapide (peuplier, saule...). Cela fait partie des stratégies évolutives utilisées par les végétaux pour se protéger face aux autres règnes du vivant. Depuis 2005, la biomasse est devenue moins chère que les ressources fossiles. (**Pauthenier C et Faulon J., 2013**). La biomasse lignocellulosique représente donc une ressource abondante largement sous-exploitée actuellement. Elle détient un fort potentiel pour la fabrication d'éthanol selon la voie biochimique (**Jean B et May C., 2013**).(**Figure 12**)

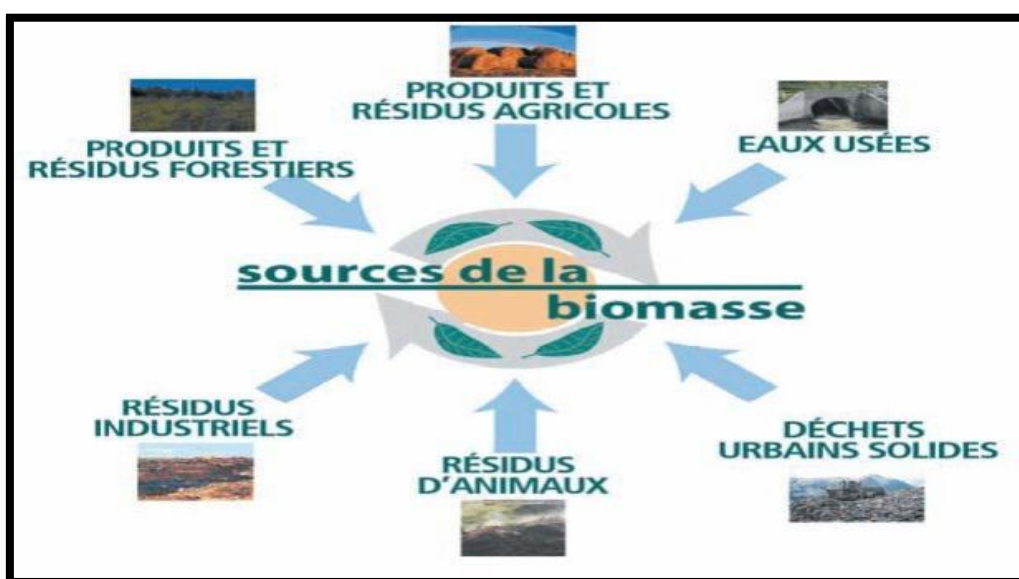


Figure12: sources de biomasse (SemouJ., 2012)

III-4-2-2-Voie biochimique : Comme pour la première génération, ce procédé permet, par fermentation des sucres, de produire de l'éthanol. Cependant la source ligno-cellulosique ne fournit pas directement le sucre exploité. Une étape de plus est nécessaire pour produire du bioéthanol. (Bonnardn T et al., 2011)

Cette cellulose va être transformée en glucose par hydrolyse grâce à des enzymes produits par des micro-organismes tel que le *Trichoderma reesei* (BonnardN et al. 2011) .Les sucres obtenus par l'hydrolyse de la biomasse lignocellulosique doivent ensuite être transformés en éthanol dans les fermenteurs. Selon la même technique que lors de la première génération Enfin on déshydrate et distille l'éthanol pour le purifier. (Bonnard Net al. 2011).

La lignine quant à elle ne peut être fermentée en éthanol. Une fois l'éthanol obtenu, il est nécessaire de le séparer du reste des constituants (moût de fermentation) à l'aide d'une distillation à pression atmosphérique et d'une déshydratation sur tamis moléculaire qui permet d'obtenir de l'éthanol anhydre (99,8% vol.) (Jean et May C., 2013). (Figure 13)

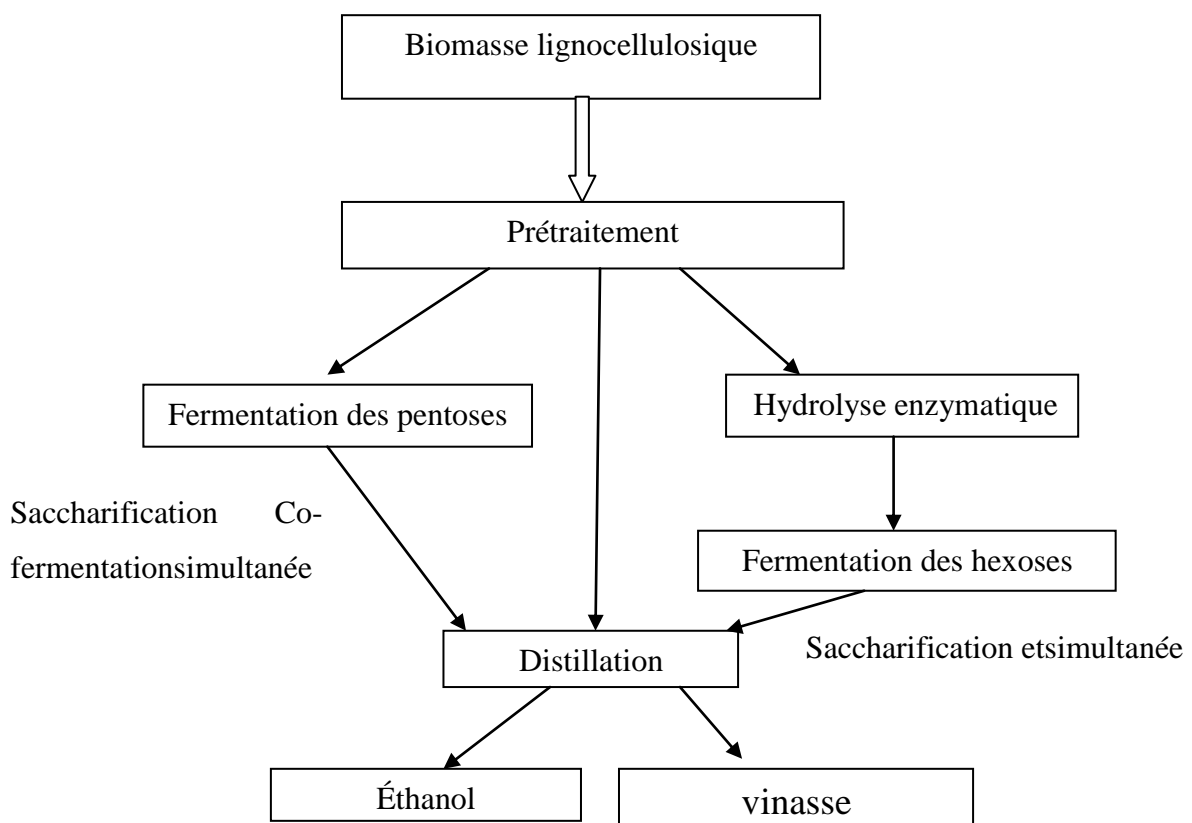


Figure 13: conversion biochimique de la de la biomasse lignocellulosique en bioéthanol (SEMOU J., 2012)

III-5-Le bioéthanol de troisièmegénération (par de micro algue)

Le bio éthanol de troisième génération est principalement produit par des microalgues. (Semou J., 2012)

Deux types de micro-algues peuvent être utilisés pour produire de bio éthanol. Il y a tout d'abord les micro-algues qui peuvent être cultivées en milieu autotrophe, c'est à dire que pour se développer elles ont besoin de CO2 comme source de carbone et de la lumière comme source d'énergie. Tandis que d'autres espèces de micro-algues peuvent être cultivées en milieu hétérotrophe, elles n'ont besoins que de carbone organique comme source de carbone et d'énergie (Bonnard N et al. 2011)

Les micros algues comme *Chlorella*, *Duniallied*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus* et *Sprulina* sont connues par leur importante quantité d'amidon et de glycogène contenus dans leurs cellules; ils représentent plus de 50% de leur poids total sec. L'amidon peut être extrait par voie mécanique telle que les ultrasons et le cisaillement ou par voie chimique, par dissolution des cellules en utilisant des enzymes. Une fois l'amidon extrait, il subit une hydrolyse (saccharification) pour le transformer en un sucre simple fermentescible, qui sera soumis à une fermentation suivie d'une distillation. (Sadi M., 2012).

Les plantes sont tout d'abord lavées puis pressées pour en extraire le jus sucré qui est ensuite introduit dans des fermenteurs où se déroule la transformation biologique des sucres en éthanol sous l'action de microorganismes comme le *Saccharomyce Cerevisiae*. (Jean B et May C 2013)

III-6-L'utilisation de bioéthanol

L'usage du bioéthanol pur dans des véhicules de série n'est pas possible, les caractéristiques de l'alcool étant trop éloignées de celles de l'essence. Son utilisation nécessite donc certaines précautions et il s'agit d'avoir recours à diverses solutions d'utilisation (mélange à faible taux de bioéthanol avec de l'essence ou du diesel, usage de véhicules spéciaux, etc.) .(Pauthenier C etFaulonJ.,2013)Le bioéthanol est utilisé dans de nombreuses domaines comme de carburant ,agroalimentaire, produit d'entretien, cosmétique, pharmaceutique.....(etc).

III-6-1 Carburant :Le bioéthanol peut être utilisé à l'état pur comme carburant substitue à l'essence dérivée du pétrole ou bien en mélange à des niveaux, de concentrations variables. Les mélanges d'éthanol et l'essence sont identifiés par l'abréviation "Exx" indique le pourcentage d'éthanol inclus dans le mélange. Un carburant E20 contient donc 20% d'éthanol

et 80% d'essence, alors qu'un carburant E100 correspond à de l'éthanol pur. Plusieurs types de mélange sont commercialisés dont les plus fréquents sont le E5, le E10, le E85, le E100. Le bioéthanol peut être aussi utilisé sous forme d'ETBE (Ethyl Tertio Butyl Ether), qui est formé par l'éthérification catalytique de l'iso butène avec de l'éthanol. Il contient 45% en masse d'éthanol combiné sous forme chimique. L'ETBE possède le même avantage que l'éthanol en termes d'accroissement d'indice d'octane. Comparé à l'essence, l'éthanol contient près de 40% moins d'énergie, mais affiche une masse volumique supérieure de 7%. Utilisé dans un système d'injection volumétrique, l'éthanol générera donc moins de puissance qu'une essence, cette diminution étant proportionnelle au contenu en éthanol du carburant. Toutefois, l'incorporation de 10% d'éthanol dans l'essence ne réduit que de 3% la puissance du moteur et favorise une meilleure combustion d'un même ordre de grandeur. **Sadi M., 2012).**

III-6-2 Produits d'entretien: L'éthanol est utilisé dans les activités de développement et de fabrication comme solvant, produits de fermentation ou intermédiaire de synthèse. La substance est également reconnue comme un produit de fermentation, de décomposition ou de combustion. Selon la fonction de l'éthanol dans les produits finis et leur niveau d'élaboration, différentes qualités d'éthanol sont utilisées dans les industries. Leur répartition est résumée schématiquement dans le tableau ci-après. La présentation des différents usages professionnels de l'éthanol est organisée par secteur d'activité, dont la liste est basée sur les références citées dans les différentes sources. **(Anonyme 2012) (Tableau 5).**

Tableau 5: Types d'éthanol par secteur industriel (Anonyme 2012)

Secteur industriel	Types d'éthanol		
	REN	Déshydraté	Surfin
Parachimie		X	X
Produits domestiques		X	X
Cosmétologie		X	X
Alimentaire (vinaigre)	X		X
Boissons piritueses et les préparations culinaires			X

III-7-Les avantages liés à l'utilisation de bioéthanol

III-7-1- Contenu énergétique : Le rendement énergétique a été évalué par diverses méthodes pour le bioéthanol en établissant le ratio de l'énergie utilisée pour la production sur l'énergie

contenue dans le carburant. Les méthodes varient selon que l'on considère l'énergie utilisée pour le carburant seulement ou selon que la portion d'énergie nécessaire à la production des co-produits est prise en compte. (Anonyme., 2013)

III-7-2- Émissions de gaz à effet de serre : La filière de l'éthanol cellulosique devrait toutefois contribuer à améliorer le bilan des émissions de gaz à effet de serre par rapport à l'utilisation du maïs-grain. Les avantages soulevés sont les suivants :

- ✓ Utilisation de résidus forestiers et agricoles non valorisés.
- ✓ Utilisation de déchets urbains et de boues de traitement des eaux (Anonyme., 2013)

III-7-3- Valorisation de la biomasse : La production d'éthanol lignocellulosique ainsi que la production de bioproduits comme des granules sont aussi des occasions de valoriser divers types de biomasse. (Anonyme., 2013)

IV-1-Le choix de l'espèce microalgale productant de sucre

L'isolement et l'identification des microalgues productrices de sucres s'effectuent en plusieurs étapes. Tout d'abord, le chercheur doit préciser les souches productrices ces substances par une recherche bibliographique, par exemple: la *Spirulina sp.* *Dunaliella sp.* Et *Chlamidomonas sp.* ; Puis il doit suivre des différentes techniques nécessaires qui commencent par le prélèvement des souches puis l'isolement et enfin l'identification. Dans notre cas, on prend la spiruline (cyanobactérie : microalgue procaryote) comme exemple pour étudier les techniques d'isolement et l'identification des microalgues. (NOBA K .2010).

IV-2- prélèvement des microalgues

Le prélèvement des microalgues s'effectue à l'aide d'un filet de plancton et d'une brosse de grattage de la surface support à une profondeur de 15 cm, les prélèvements sont placés dans des flacons de 50 ml auxquels 1 ml de formol à 40% est ajouté dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination, le transport des échantillons étant assuré d'une manière à éviter tout contact avec l'air extérieur dans des récipients stériles et à basse température (glacières) .(Hélène B.2006)

IV- 3 isolement des microalgues

IV-3-1- Milieux de culture : Pour plus de commodité, les souches d'algues et de cyanobactéries sont cultivées sur un milieu unique, le milieu Bold de base. La recette utilisée au laboratoire est simplifiée car elle nécessite uniquement la préparation de trois solutions mères (**Tableau 6**). Ces solutions, une fois stérilisées à 120 °C pendant 20 min, peuvent être conservées quelques mois à 4°C. Pour préparer 1 L de milieu de culture liquide, 10 ml de solutions A et B et 1 ml de solution trace sont ajoutés à 1 L d'eau désionisée. La solution est ensuite stérilisée en autoclave à 120 °C pendant 20 min. Pour préparer 1 L de milieu de culture "solide", 10 ml de solutions A et B, 1 ml de solution trace et 12 g d'agar (Agar washed, Sigma) sont ajoutés à 1 L d'eau désionisée. (HélèneB.2006).

La solution est ensuite stérilisée à 120 °C pendant 20 min. Une fois refroidie, environ 20 ml de milieu encore liquide sont coulés dans des boîtes de Pétri, au voisinage immédiat de la flamme d'un bec Bunsen, afin de conserver un environnement stérile. Une fois la gélose refroidie, les boîtes peuvent être utilisées immédiatement ou entreposées pour une courte période afin d'éviter toute contamination. (Hélène B.2006).

Tableau 6 : Composition des solutions mères du milieu Bold de base..(Hélène B.2006)

	Produit	concentration
Solution A	NaNO₃	25
	CaCl₂,2H₂O	2.5
	MgSO₄,7H₂O	7.5
	Fe EDTA	2
Solution B	K₂HPO₄	7.5
	KH₂PO₄	17.5
	NaCl	2
Solution trace	H₃BO₃	2.4
	MnCl₂,4H₂O	1.8
	(NH₄)₆Mo₇O₂₄,4H₂O	0.02
	ZnSO₄,7H₂O	0.22
	CuSO₄,5H₂O	0.08
	CoNO₃	0.09
	VO₂SO₄,2H₂O	0.43

: Les isolements des microalgues sont effectués à partir de fragments de prélèvement placés sur du milieu de culture "solide". Quand les micro-organismes commencent à se développer, ils sont isolés par la "méthode de la plaque striée" pour obtenir des cultures uni-algales, ou par prélèvement d'une portion de gélose et ensemencement d'une nouvelle boîte, dans le cas de cyanobactéries (**Figure 14**). L'ensemencement d'une souche en milieu liquide est réalisé par prélèvement d'un échantillon de micro-organismes à la pointe d'une öse d'inoculation, qui est ensuite plongée dans le milieu liquide. Toutes ces manipulations s'effectuent au voisinage immédiat d'une flamme de bec Bunsen afin d'éviter les risques de contamination. (HélèneB. ,2006)

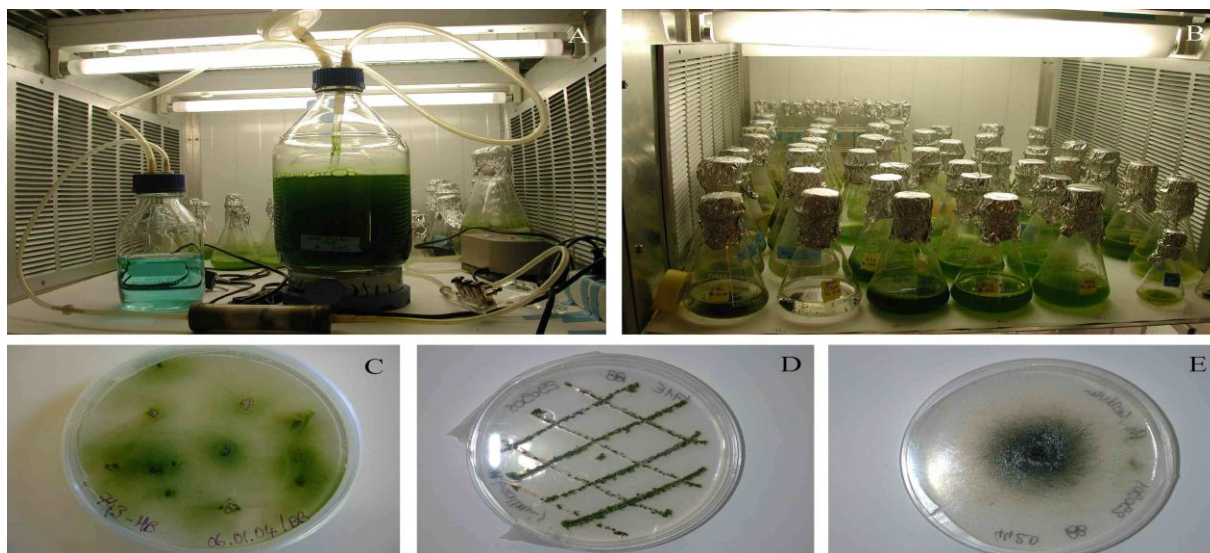


Figure 14. Des microalgues. A : culture liquide des souches microalgales; B : cultures liquides en fioles d'Erlenmeyer; C : développement des microalgues à partir de fragments de revêtements ; D et E : ensemencement d'une souche des microalgues (E) sur milieu solide. (Hélène B, .2006)

IV-3-3- Conditions de culture : Les souches des microalgues utilisées pour le fonctionnement du banc d'essai par ruissellement d'eau sont cultivées dans des flacons de 2 L soumis à un bullage d'air, sous agitation magnétique : l'air ambiant pompé circule dans une solution de CuSO_4 15 g L⁻¹ afin d'en éliminer les spores éventuellement présentes, puis est injecté dans la culture via un fritté en verre. Les souches utilisées pour les autres analyses, conservées dans des fioles d'Erlenmeyer de 250 ml munies de bouchons en coton cardé, sont agitées manuellement plusieurs fois par semaine (**Figure 14**). Ces cultures sont placées dans une chambre de culture (Setric Genie Industriel) climatisée à 20.0 ± 0.5 °C où elles sont soumises à une intensité lumineuse (lumière blanche de qualité Cool White, tubes fluorescents OSRAM 18 W) de 15 ± 3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPF (Photosynthetic Photon Flux) selon une photopériode de 16 h/8 h éclairage/obscurité. Les souches conservées sur du milieu "solide" sont entreposées dans l'allothèque, soumises à une intensité lumineuse d'environ 30 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ PPF selon une photopériode de 16 h/8 h éclairage/obscurité. Les intensités lumineuses sont évaluées à l'aide d'un quantummètre LI-250 (LI-COR) muni d'un capteur plat. (Hélène B,.2006)

IV-4- Dosage des microalgues

La concentration des souches étudiées dans le banc d'essai par ruissellement d'eau est évaluée par mesure de la masse sèche et par turbidité, des corrélations étant ensuite effectuées

entre ces deux méthodes. En routine, l'évaluation de la turbidité d'une culture permet ainsi aisément d'obtenir son équivalence en poids sec. (Hélène B, .2006)

IV-4-1-Masse sèche : Un volume connu de culture des microalgues est filtré sur des membranes en microfibre de verre de porosité 1,2 μm (Whatman). Ces filtres sont ensuite séchés à 105 °C pendant 3 h, et la masse correspondant aux micro-organismes secs est ensuite déterminée et rapportée au volume filtré. La masse sèche est exprimée en mg mL⁻¹. (Hélène B.,2006)

IV-4-2-Turbidité : La turbidité d'une culture est évaluée en mesurant sa densité optique à $\lambda=750$ nm, au moyen d'un spectrophotomètre. (Hélène B, .2006).

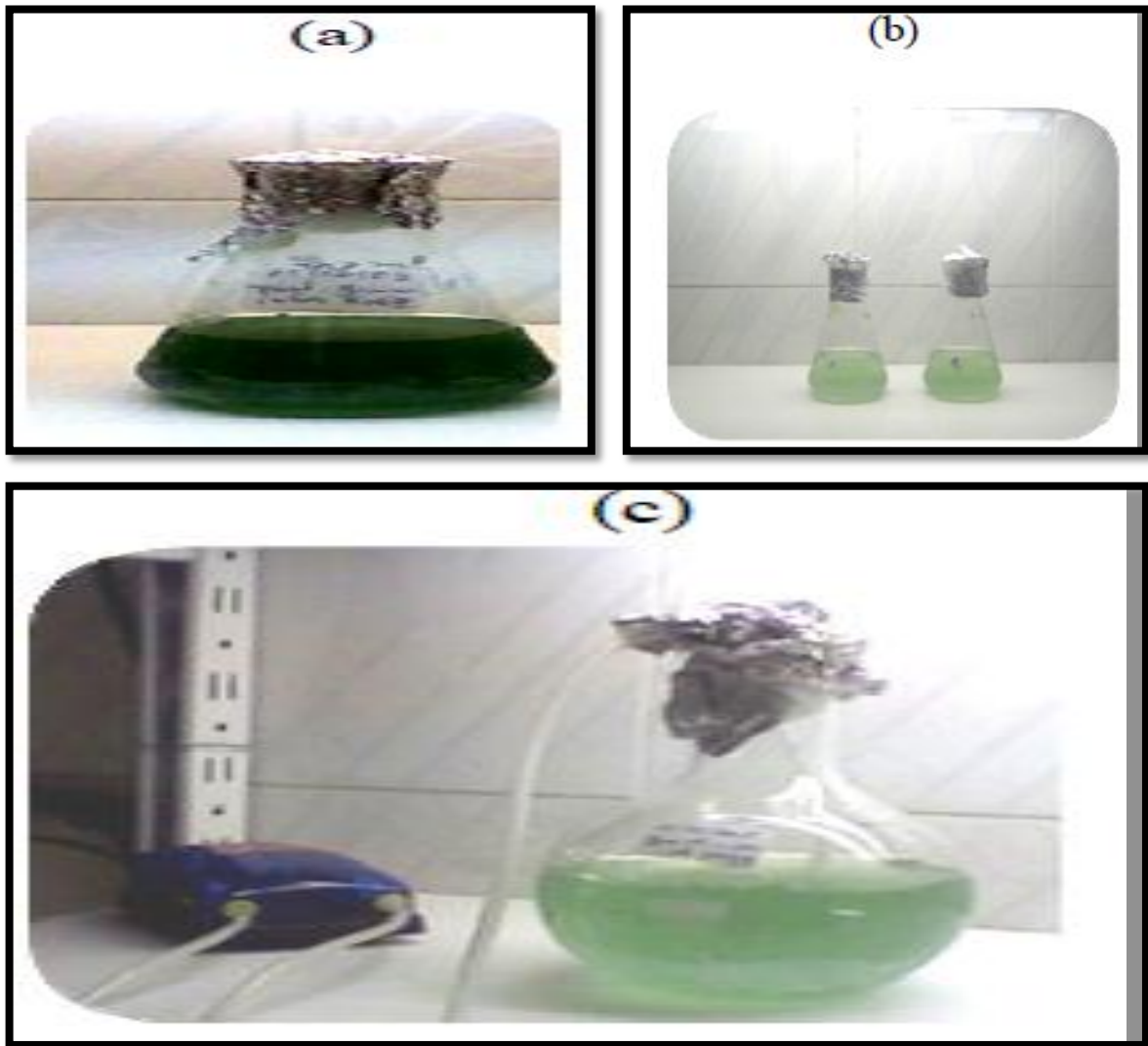
IV-5 L'enrichissement des microalgues

IV-5 -1-Le milieu de culture: Le milieu de culture utilisé pour l'isolement de *Sprulina sp.* est un milieu liquide constitué d'eau distillée et de sels minéraux, avec un pH compris entre 9,5 et 10 et une agitation mécanique continue dans les proportions suivantes (tableau 7) ,(Doumandji A. , 2011)une fois stérilisées à 120 °C pendant 20 min,La solution est ensuite stérilisée à 120 °C pendant 20 min. Une fois refroidie, environ 20 mL de milieu encore liquide sont coulés dans des boîtes de Pétri, au voisinage immédiat de la flamme d'un bec Bunsen, afin de conserver un environnement stérile. Une fois la gélose refroidie, les boîtes peuvent être utilisées immédiatement ou entreposées pour une courte période afin d'éviter toute contamination.(Hélène B., 2006).

Tableau 7 : La composition du milieu de Hiri (pour 1 L d'eau distillée),.(Doumandji A. , 2011).

Composés	Quantité (g/L)
Bicarbonate de soude (NaHCO ₃)	16
Chlorure de sodium (NaCl)	1
Phosphate d'ammonium (NH ₄ H ₂ PO ₄)	0.1
Sulfate de fer (FeSO ₄)	0.1
Sulfate de magnésium (MgSO ₄)	0.1
Sulfate de potassium (K ₂ SO ₄)	0.5
Chlorure de calcium (CaCl ₂)	0.1
Urée azotée CO(NH ₂) ₂	0.1

IV-5-2- Techniques d'enrichissement des microalgues : la culture de *Spirulina sp* débute par l'ensemencement qui est réalisé par dilution d'un inoculum 100 % spirale de grande taille, d'un vert tirant vers le bleu-vert en respectant les mêmes conditions physiques (une température d'incubation à 30°C., une intensité lumineuse égale à 1512 flux et une agitation mécanique à l'aide d'une pompe à air toute la journée avec des coupures de 20 minutes de temps en temps). (Figure15), (Doumandji A. , 2011)



(a) : souche mère

(b) : dilution 1 (5 ml d'inoculum + 30 ml de milieu)

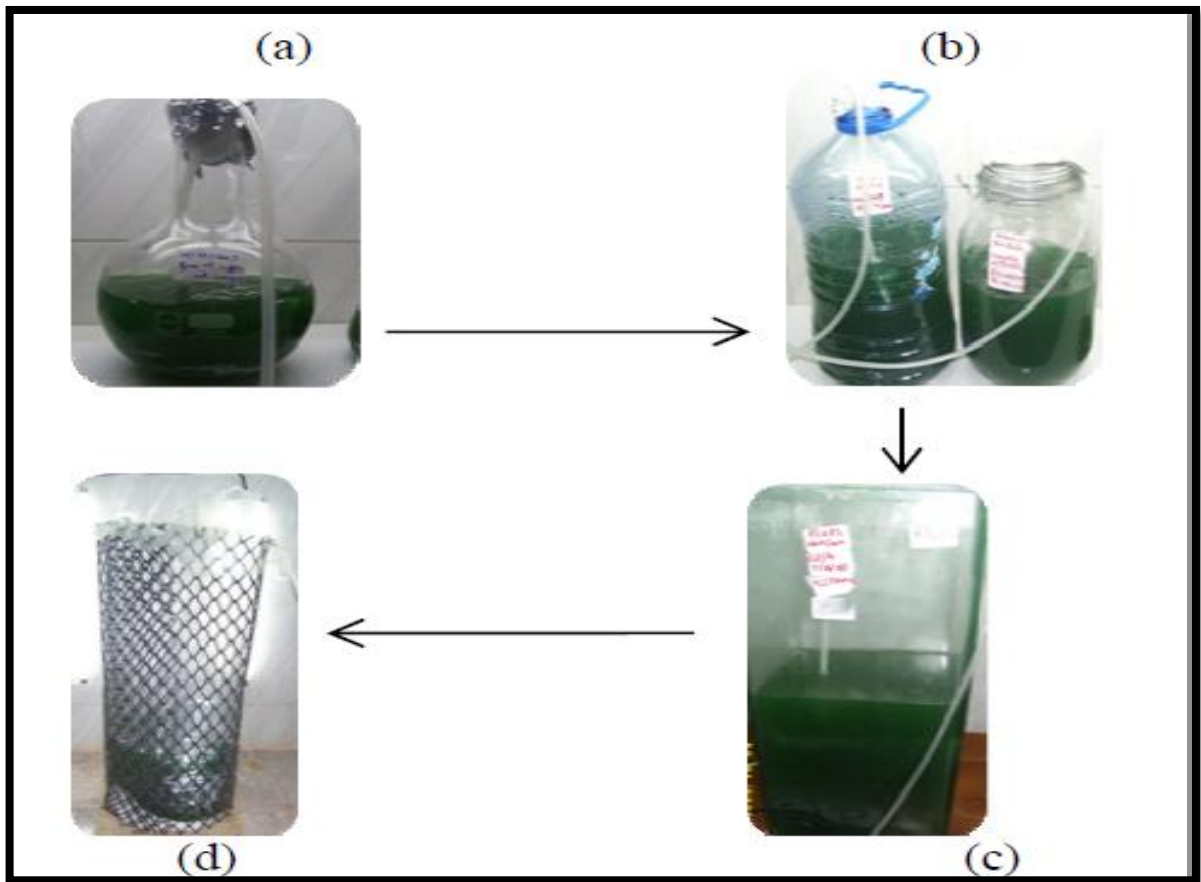
(c) : dilution 2 (20 ml d'inoculum+150 ml de milieu)

Figure 15: Ensemencements des microalgues à partir de la souche mère (Doumandji A., 2011)

IV-5-3-Repiquage desmicroalgues : après 6 à 8 jours, un dédoublement est réalisé par repiquage dans 500 ml de milieu de culture jusqu'à l'obtention de 8L de cultures de spiruline

concentrée qui seront dédoublés directement dans 20 L de milieu de culture neuf (**Figure 16**).(**Doumandji A., 2011**)

Lorsqu'une biomasse optimale de spiruline est obtenue,(**figure 16**) la filtration est réalisée à l'aide d'un système de filtration et une pompe à vide utilisant un papier filtre de type Whatman, 47 mm de diamètre. La récupération de la spiruline s'effectue en raclant délicatement la biomasse avec une spatule stérile qui sera entreposée dans une boîte de Pétri stérile. Après l'identification de notre colonie (*spirulina sp*) on fait l'examen microscopique pour la confirmation .(**Doumandji A. , 2011**)



(a) Croissance de la biomasse de la dilution 2

(b) Dédoulement 1 (8 L de culture)

(c) Dédoulement 2 (15 L de culture)

(d) Dédoulement 3 (28 L de culture)

Figure 16: Les différentes étapes du dédoublement de la culture de *Spirulina sp* (**Doumandji A., 2011**)



a) Filtration de la culture de *Spiruline*

(b) Biomasse fraîche sur papier filtre

Figure 17: Filtration et récolte de *Spirulina sp* après cette opération, le séchage est réalisé à l'étuve entre 80°C et 100°C pendant 24h (Doumandji A. , 2011)

IV-6-Mesure de la teneur du sucre

IV-6-1-Méthodes direct (la méthode de Miron 2003) : la méthode utilisée pour déterminer le taux des carbohydrates est inspirée de celle de la réaction acide sulfurique + anthrone adaptée à la biomasse algale. A 100 mg de biomasse sont ajoutés 8 ml d'acide perchlorique agité fortement et laissé 5 ml du réactif à l'anthrone fraîchement préparé sont ajoutés à 1 ml du filtrat précédemment obtenu puis chauffés à 100°C pendant 12 minutes, une couleur verte se développe en raison de la formation d'un complexe glucose-anthrène, dont on détermine la densité optique à 630 nm après refroidissement du mélange. Le blanc étant 5 ml du réactif additionné à 1 ml d'eau distillée. Un courbe étalon est réalisé en préparant des concentrations connues de D + glucose dissous dans de l'eau distillée. Densité optique et concentration en glucose (C_g ; mg/ml) sont liés par la relation suivante:

$$C_g = 0,536 \times DO_{630} + 0,0028$$

C_g : concentration de glucose (mg/ml).(Doumandji A., 2011)

IV-6-2- Méthode indirect : Extraction des polysaccharides extracellulaires sécrétés par les microalgues : La méthodologie employée (Figure 18) pour l'extraction séquentielle et sélective des Polysaccharides .La première phase consiste en la dépigmentation de l'algue par

de l'acétone et de l'éthanol respectivement. Quantitativement, le polysaccharide extracellulaire, recueilli après extraction à l'eau chaude de l'algue brute et purification, présente une part significative de la biomasse sèche. La moyenne établie à partir de trois séquences d'extraction indique que le polysaccharide matriciel produit par des microalgues représente 14 % de la matière sèche ce qui est en accord avec les valeurs déjà publiées (RUIZ G.,2005)

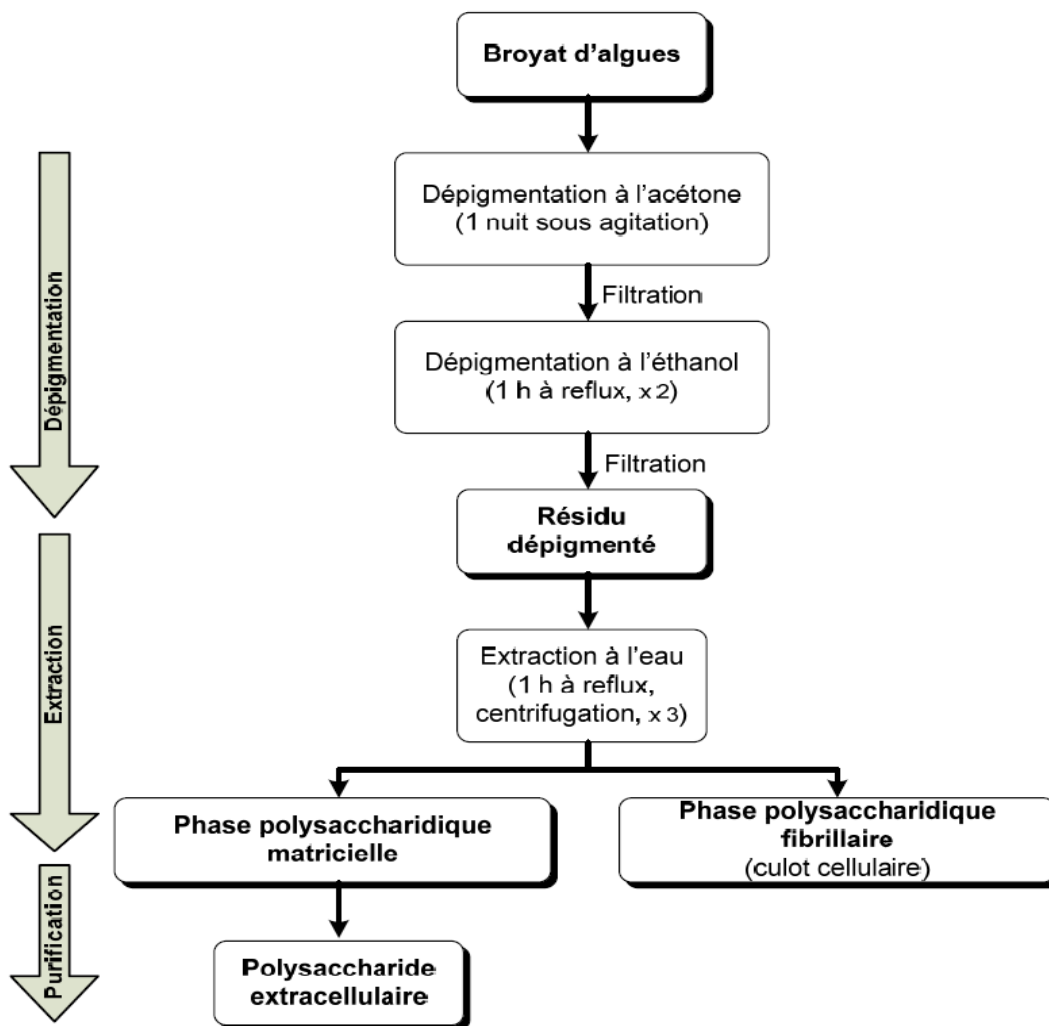


Figure 18: Méthodologie d'extraction et purification des polysaccharides extra cellulaires. (RUIZ G ., 2005)

Le rendement de sucre extrait à partir des microalgues est mesuré par l'équation suivante :

$$\text{Rendement} = \frac{\text{La masse du sucre}}{\text{La masse de biomasse algale initiale sèche}}$$

V- La culture des microalgues

La culture des microalgues a été développée à des fins diverses, notamment pour leur valeur nutritionnelle. Pour des marchés de niche tels que la nutrition, les quantités de microalgues nécessaires et donc la taille des infrastructures sont bien plus faibles que celles nécessaires à la production de biocarburant. Ainsi, une culture de spiruline d'un hectare peut être considérée comme une exploitation commerciale alors que, pour les biocarburants, l'échelle commerciale est de l'ordre du millier d'hectares. Bien que les intrants soient plus ou moins qualitativement les mêmes, les notions d'échelle ainsi que les contraintes économiques et environnementales ne sont pas du même ordre. La conception des modes de culture a dû être repensée dans l'optique spécifique de produire du biocarburant, avec des rendements surfaciques élevés et des besoins énergétiques contraints. Les algues peuvent être cultivées suivant deux modalités : **(Julien S., 2010)**.

- ✓ **conditions photoautotrophes**: la lumière solaire sert de source d'énergie et le CO₂ de source de carbone et sont captés par la photosynthèse. **(Julien S., 2010)**
- ✓ **conditions hétérotrophes** : de la matière organique est utilisée par fermentation comme source de carbone et d'énergie. **(Julien S., 2010)**

V-1- Les procédés de récolte et la concentration

Le moment de la récolte est important. Il s'agira d'un compromis entre la quantité (concentration cellulaire) et la qualité (composition biochimique). **(Robert A., 2008)**

Cette étape est assez complexe par la taille des algues qui est de quelques microns et de par la densité des micro-algues proche de celle de l'eau. Certaines espèces peuvent se récolter directement par filtration sur soie, telle que la *spiruline* qui est une cyanobactérie ou par filtration membranaire. Pour la plupart des espèces, il faut tout d'abord passer par une étape de pré-concentration afin de réduire le taux d'humidité. **(Julie S., 2010)**. Une importance toute particulière doit donc être apportée aux consommations énergétiques des différentes méthodes. **(Salmez M., 2009)**.

La récolte peut se faire par microfiltration, floculation, centrifugation, ou encore décantation. De nombreux procédés demanderont une étape de séchage de la biomasse qui sera très gourmande en énergie. Les coûts de séchage et conditionnement représentent environ 10 % du coût de production de la biomasse. **(Salmez M., 2009)**.

V-1-1- Différents étapes de récolte des microalgues

V-1-1-1- Sédimentation gravitaire par différence de masse volumique : Certaines souches d'algues présentent une tendance naturelle à sédimenter dès l'arrêt de toute forme de

brassage du milieu. Cela facilite alors leur récolte, puisqu'il est possible de travailler sur des volumes moins importants. **(Figure 19)** Le temps de décantation dépend de trois paramètres : la différence de densité entre le milieu de culture et les micro-algues, la taille des micro-algues, et la viscosité du milieu de culture (loi de Stokes). **(Woolf A., 2007)**

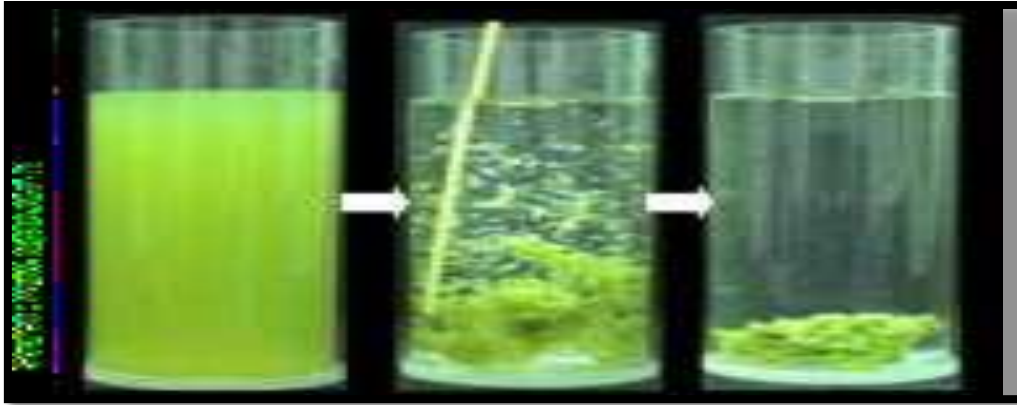


Figure 19 : Différents temps de sédimentation (Woolf A., 2007)

V-1-1-2- Flocculation-décantation : Le phénomène de flocculation est provoqué en agissant sur l'état d'agrégation des cellules, ce qui facilite la décantation des micro-algues. De nombreuses formes de flocculations forcées sont utilisées. La flocculation chimique se réalise au moyen d'additifs chimiques liant les algues ou modifiant les interactions physico-chimiques entre elles. On peut procéder soit à l'ajout de sels de Fer (FeCl_3 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, ...) ou d'Aluminium ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$), soit à l'ajout de polymères (anioniques ou cationiques; synthétiques ou naturels). **(Pruvost J., 2010)**

La bioflocculation peut être déclenchée par un changement des conditions environnementales (pH, lumière, température, carence en nutriments) entraînant un stress cellulaire générant la synthèse d'exsudats agrégeant. Elle est plus précisément appelée dans ce contexte autoflocculation. **(Salmez M., 2009)**

La bioflocculation peut aussi être entraînée par l'utilisation de population microbienne engendrant la synthèse d'exsudats agrégeant. L'électrocoagulation et l'électroflocculation présentent toutes deux l'avantage de ne pas utiliser d'additifs chimiques. La première se réalise au moyen d'électrodes à base de Fer ou d'Aluminium parcourues par un courant générant la libération d'ions métalliques par oxydoréduction. La seconde présente deux voies, soit par l'utilisation d'électrodes (deux électrodes sont placées dans la suspension, anode et cathode, au contact de l'anode (+), les cellules (-) perdent leur charge et peuvent s'agglomérer) soit par ultrasons (les ultrasons génèrent des champs acoustiques, les cellules se concentrent

dans les zones où le potentiel est minimum, provoquant ainsi leur agrégation). (**Pruvost J., 2010**)

V-1-1-3-Flottation : Certaines souches peuvent avoir une tendance naturelle à flotter, en particulier celles riches en lipides. Pour les autres le phénomène de flottation est produit par une action sur la différence de masse volumique et le diamètre des cellules. (**Fournier R., 2007**)

L'électroflottation permet aux particules en suspension, ici les algues, d'être entraînées à la surface par l'action des microbulles d'hydrogène provenant de l'électrolyse des molécules d'eau. Il en résulte une couche dense à la surface contenant les algues en suspension. En plus de présenter une consommation énergétique élevée, cette méthode peut être problématique pour la récolte des algues marines avec la tenue des électrodes en milieu marin compte tenu de la présence de l'ion chlorure (présent dans le sel de mer). (**Julien P., 2010**)

Mise au point pour le traitement des eaux usées, ce n'est que bien plus tard que la méthode DAF fut considérée pour la récolte des algues. Elle consiste à faire buller de l'air tout au long de la suspension algale, permettant ainsi aux algues de flotter à la surface. La floculation peut être utilisée pour favoriser le processus de récolte. En plus de l'efficacité du floculant, la remontée dépend en grande partie de la taille et de la distribution des bulles d'air au travers de la suspension. La couche supérieure enrichie en algues est alors mise de côté dans un container pour des traitements ultérieurs. (**Julie P., 2010**)

V-1-1-4-Centrifugation : La centrifugation est une technique utilisant la force centrifuge, c'est à dire l'action sur le nombre de g : l'intensité gravitationnelle, pour séparer des particules solides en suspension dans un fluide, ici les algues en suspension dans leur milieu de culture. L'appareil utilisé pour réaliser cette séparation est nommé centrifugeuse. Elle permet de séparer les éléments du mélange en le faisant tourner à grande vitesse. (**Woolf A., 2007**).

Les caractéristiques des cellules (taille, concentration...), le temps de séjour (contrôlé par le débit d'alimentation), et l'accélération (nombre de g) sont autant de paramètres opératoires à prendre en compte pour le bon déroulement de cette technique de récolte. Plusieurs systèmes utilisant cette technique ont été développés : la centrifugeuse à bol, l'épurateur à assiettes, le décanteur centrifuge et l'hydrocyclone. (**Woolf A., 2007**).

Reconnue comme étant, à l'heure actuelle, une des techniques les plus utilisées, la centrifugation est également l'une des plus coûteuses en termes d'investissements et de consommation énergétique. (**Pruvost T., 2010**).

V-1-1-5-Filtration frontale : Tamisage, séparation par exclusion de taille : La filtration frontale, la plus connue, consiste à faire passer le fluide à filtrer perpendiculairement la surface du filtre. Ce type de technologie est valable pour des « grosses » cellules, soit une taille des particules supérieure à 40 μm . (**Figure 20**) C'est certainement le procédé le plus simple à mettre en œuvre. En effet il est possible d'utiliser de simples toiles ou tamis pour la récolte de spiruline par exemple. Il est aussi envisageable de se servir d'un tamis vibrant avec une épaisseur de maille inférieure à la taille des algues. (**Pruvost J., 2010**)

Ce procédé de récolte fonctionne sous de faibles gradients de pression (ou à vide) et présente la nécessité de racler le gâteau d'algues (ou de le structurer par ajout d'auxiliaires de filtration comme des fibres de cellulose ou de la terre de diatomées) formé à intervalles réguliers pour maintenir les débits de filtration, en effet cette technique est limitée par l'accumulation des particules à sa surface, qui finissent peu à peu par le boucher (colmatage). En fonction de la nature de la souche cultivée une pré-concentration préalable ou une pré-couche filtrante peuvent être nécessaires. Le taux de matière sèche et la consommation énergétique sont quant à eux dépendants de la nature du tamis utilisé. (**Woolf A., 2007**).

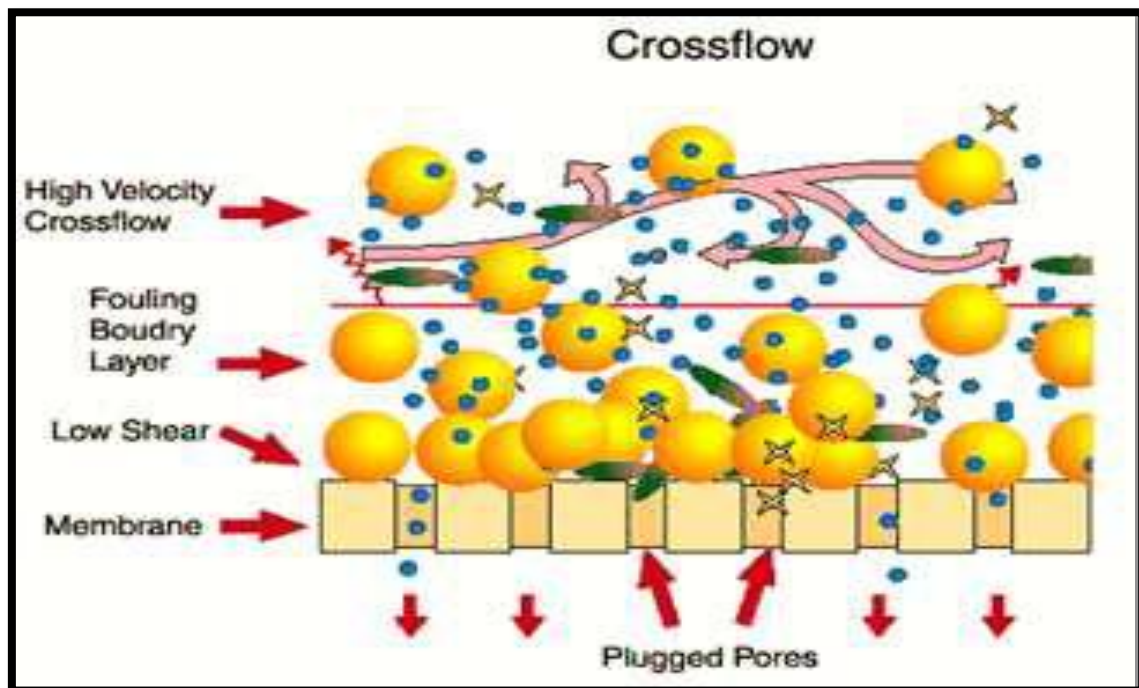


Figure 20: Principe de la filtration tangentielle (Woolf A., 2007).

V-1-1-6- Filtration tangentielle membranaire : séparation par exclusion de taille : La filtration tangentielle, au contraire, consiste à faire passer le fluide tangemment, c'est-à-

dire parallèlement, à la surface du filtre. C'est la pression du fluide qui permet à celui-ci de traverser le filtre. Les particules, dans ce cas, restent dans le flux de circulation tangentielle, et le colmatage s'effectue ainsi beaucoup moins vite. Cependant, cette technique est réservée aux très petites particules, dont la taille est inférieure à $40\ \mu\text{m}$, soit la plupart des micro-algues unicellulaires. Dans ce contexte de récolte, une bonne rétention nécessite le recours à des membranes de micro (MF) ou d'ultrafiltration (UF) avec des pores allant de $0,5\ \mu\text{m}$ à $0,02\ \mu\text{m}$ ($\approx 50\ \text{kDa}$). (**Figure 21**). Ces systèmes présentent une différence de pression et une vitesse tangentielle limitées, et une forte consommation liée au pompage et à la pression. Ils peuvent être une alternative plausible à la centrifugation. Des systèmes similaires, mais avec des membranes minérales, sont utilisés depuis des décennies pour rendre potables des eaux de consommation réfractaires aux traitements classiques (**Cantin I., 2010**).

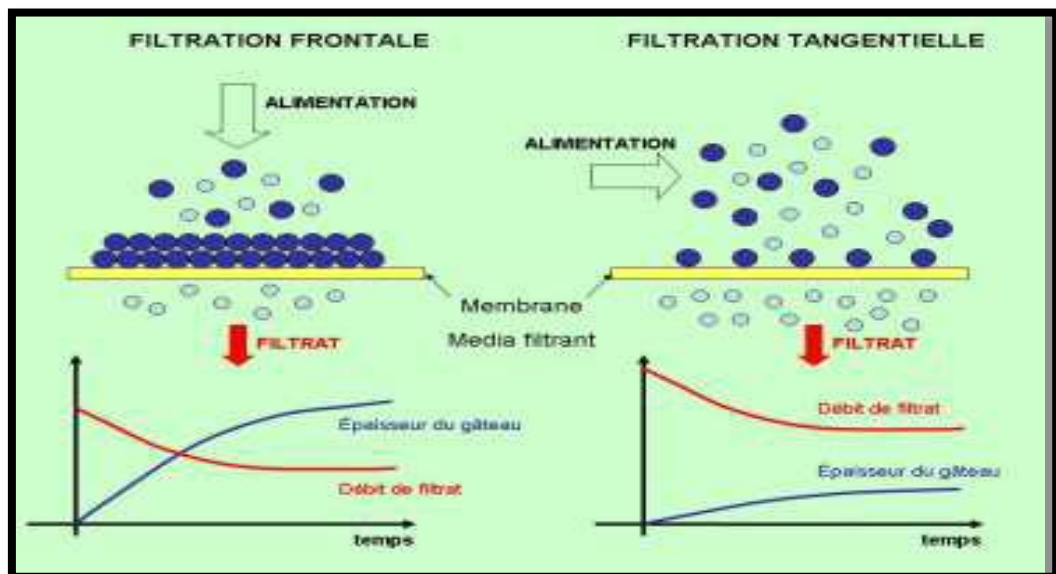


Figure 21 : Comparaison des deux modes de filtration (Julie S., 2010)

V-1-1-7-Comparaison des différents systèmes de récolte : Notons que les deux systèmes peuvent être utilisés en cascade : récolte puis concentration. Notons aussi que les technologies sont souvent utilisées de façon combinée. Par exemple, floculation puis flottation ou décantation, floculation puis centrifugation, floculation puis (**Julie S., 2010**)

L'étape de récolte et de concentration des microalgues est susceptible de peser lourd dans la balance énergétique de la chaîne de production. Une importance toute particulière doit donc être apportée aux consommations énergétiques des différentes méthodes (**Figure 4**).

Le taux d'humidité final conditionne les procédés aval d'extraction des lipides. Le choix de la méthode de récolte doit donc se faire de façon concertée avec celui des techniques

d'extraction. Le **(Tableau 8)** résume les objectifs d'humidité pour les différents systèmes de récolte. Il est essentiel de développer les procédés de récolte de façon intégrée avec la sélection des souches et les modes de culture. Aucune technologie de récolte de faible coût n'a encore été démontrée à une échelle conséquente. Il reste donc encore à tester la faisabilité technique et économique des méthodes utilisables pour cette brique de la chaîne de valeur **(PruvostJ., 2010)**

Tableau 8 : Comparaison des systèmes de récolte en fonction de leur objectif d'humidité finale (Julie S., 2010)

Biomasse très humide < 5% MS	Biomasse humide 5- 30% MS
<ul style="list-style-type: none"> • Sédimentation naturelle • Flottation • Floculation chimique • Biofloculation • Electrocoagulation • Electrofloculation • Techniques membranaires 	<ul style="list-style-type: none"> • Tamisage • Filtration • Centrifugation

V-2-La biotechnologie de production de microalgue

Il existe aujourd'hui deux types de technologie capables de produire des micro-algues à échelle industrielle. Nous allons tenter de mettre en lumière les avantages et inconvénients de chacun des deux procédés **(Robert A., 2008)**.

V-2-1- Systèmes ouverts

V-2-1-1-Présentation générale :Par principe, la culture ouverte nécessite des espèces robustes à la contamination. Elle est également peu contrôlée (maîtrise faible des paramètres physico-chimiques) et très dépendante des variations saisonnières et climatiques (production restreinte aux saisons propices). L'évaporation forte induit une consommation en eau élevée (qui limite néanmoins la montée en température de culture). Ce principe souffre souvent d'une double limitation par la lumière et par l'apport carbone, du fait d'un contact important avec l'air ambiant. **(Julie S., 2010)**

L'ajout de bicarbonates ou la prédic solution du CO₂ sont de plus peu efficaces (remise en équilibre avec l'atmosphère). La concentration atteinte en biomasse est donc faible, avec une récolte alors laborieuse. **(Julie S., 2010)**

V-2-1-2- Technologies existantes

V-2-1-2-1-Raceways : Toutefois peu d'espèces des microalgues peuvent être cultivés en milieu ouvert de manière mono spécifique. (Cantin I., 2010).

Pour toute culture en milieu ouvert la principale contrainte est le risque de contamination. C'est pourquoi les cultures actuelles se faisant à ciel ouvert concernent des espèces de microalgues poussant dans des milieux très électifs. (Figure 22) Trois microalgues sont cultivées actuellement avec succès en milieu ouvert : la *spiruline* (fort pH), la *chlorelle* (très riche en nutriment) ou la *Dunaliellasalina* (milieu hypersalin). Le milieu de culture peut être contaminé par d'autres espèces de microalgues ou d'autres microorganismes comme des bactéries ou des protozoaires. (Cantin I., 2010)

Les rendements atteints avec ces systèmes ne sont pas optimaux à cause de l'impossibilité de contrôler les facteurs environnementaux. La variable sur laquelle il est possible de jouer, est la hauteur de la lame d'eau. Celle-ci ne devra pas être trop importante pour permettre un bon accès à la lumière mais d'un côté un minimum est requis pour permettre un bon brassage de l'eau et pour limiter l'échauffement du bassin et les phénomènes d'évaporation. (Patricia et Becerra., 2009).

Généralement une lame d'eau variant de 20 à 30 cm est choisie pour les raceway et une de 50 cm pour les bassins stagnants. Les phénomènes de variations de cette lame d'eau sont à prendre en compte lors de fortes précipitations. Ces variations vont entraîner des modifications du milieu, comme des variations de concentration en nutriments ou de la salinité pouvant à terme entraîner des contaminations. On peut atteindre des concentrations de 0,1 à 0,5 g de MS/L et une productivité surfacique de 10 à 30 g/m²/j. Ces variations de rendements vont dépendre des conditions climatiques et de l'apport plus ou moins important d'engrais. Sous certaines conditions, des concentrations de 10 g/L ont été atteintes avec une lame d'eau de 1 cm pour la culture de la chlorelle. (Cantin I., 2010).

La qualité de l'air est à prendre en compte pour les cultures en système ouvert surtout si le produit final sera valorisé en alimentation humaine ou animale. En effet les microalgues vont capter toutes pollutions de l'air ou de l'eau. (Cantin I., 2010).

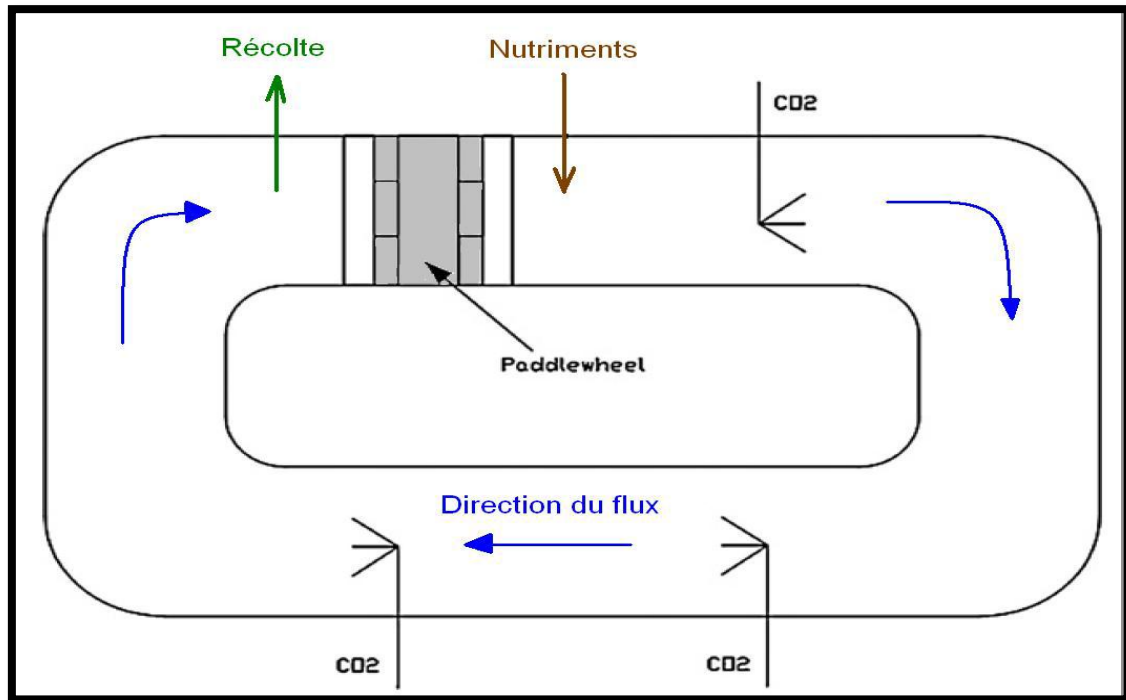


Figure 22: Schéma d'un raceway et des flux associés à son fonctionnement. (WOOLF A., 2007)

V-2-1-2-2- Systèmes plans inclinés : Une mise en culture originale consiste à faire ruisseler la culture sur des plans inclinés. Ce système a été testé à Trebon en République Tchèque et Kalamata en Grèce. • Trebon, les productivités de *Chlorella vulgaris* sont de 23 g/(m² · j) en juillet, 11 g/(m² · j) en septembre et, à Kalamata, de 32 g/(m² · j). (Figure 23) Conséquence directe de la forte surface spécifique (> 100 m⁻¹), une concentration en biomasse très élevée est obtenue (20 à 40 g/L). (Woolf A., 2007)

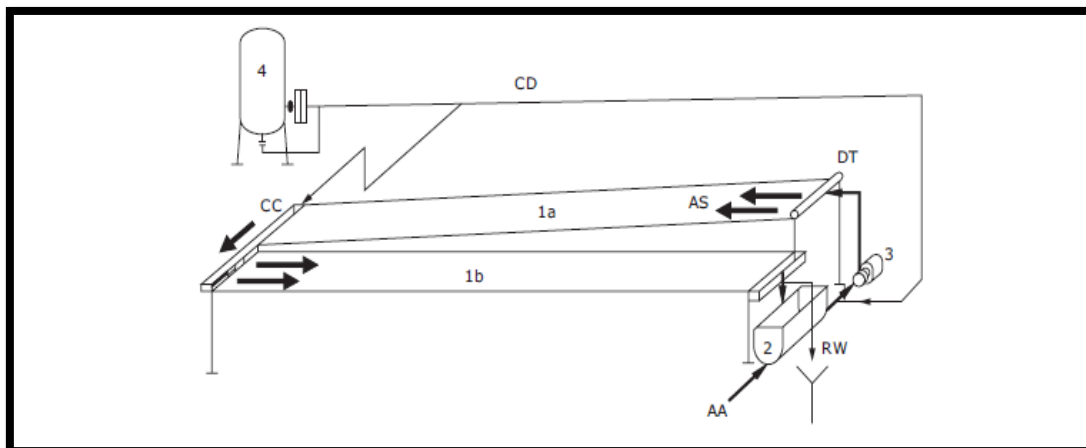


Figure 23: Photobioréacteur à plans inclinés et à ciel ouvert (WOOLF A., 2007)

V-2-2- Systèmes clos

V-2-2-1- Présentation générale : la culture en milieu isolé de l'extérieur se fait en système appelé « photobioréacteur ». Le confinement élargit la possibilité de culture à des espèces pas nécessairement résistantes à la contamination, même si, pour des installations de grande taille, un contrôle poussé de l'aérobiose reste délicat. Un meilleur contrôle des conditions de croissance (pH, T °C, carbone dissous), des échanges gaz-liquide est également obtenu. Enfin, l'évaporation y est quasi nulle. Étant des technologies plus avancées que les systèmes ouverts, les inconvénients sont le coût et la complexité d'extrapolation sur des grandes surfaces. Le fonctionnement clos a également tendance à mener à un échauffement de la culture, en particulier du fait de la captation solaire élevée souvent recherchée, le rayonnement solaire contenant une part élevée d'infrarouges ($\approx 55\%$). Les photobioréacteurs intègrent donc souvent des systèmes de refroidissement, soit par aspersion d'eau, qui peut provoquer des dépôts minéraux sur les faces optiques, soit par immersion en bassin thermorégulé. L'hydrodynamique du système a aussi un rôle majeur, en particulier pour éviter la formation de biofilms sur les parois optiques. **(Cantin I., 2010).**

V-2-2-2- Technologies existantes

V-2-2-2-1- Photobioréacteurs tubulaires et cylindriques

- ✓ **Principe général :** Les géométries cylindriques et tubulaires se prêtent bien aux contraintes des photobioréacteurs, avec une bonne circulation et tenue en pression, et une courbure exposée favorable à la surface éclairée. **(Robert A., 2008)**

Les photobioréacteurs cylindriques reprennent le principe des colonnes à bulles ou intègrent une zone ascendante d'aération et une zone descendante, sur le principe air lift. Ils sont généralement placés verticalement avec une injection de gaz en bas de colonne. Le concept est simple mais peu favorable aux productivités élevées car les diamètres importants mènent à des surfaces spécifiques éclairées faibles. **(Robert A., 2008)**

La disposition verticale n'est également pas idéale pour la captation du flux solaire. Le dimensionnement est cependant facilité par l'abondante littérature éprouvée sur de nombreuses autres applications. (Figure 24) **(Pruvost; 2010)**

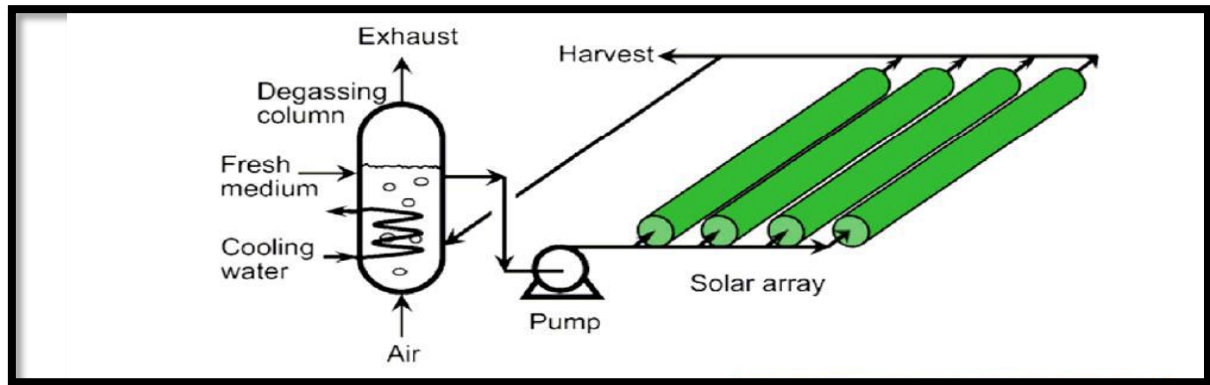


Figure 24: réacteur cylindrique (Julie;2010)

V-2-3-Comparaison Raceway / Bioréacteur : La récupération de la biomasse à partir du mélange et l'extraction de l'huile est une des étapes les plus onéreuses. La difficulté et par conséquent le prix de cette opération sont directement liés à la concentration en biomasse du mélange de culture. La concentration en biomasse étant 30 fois plus importante en bioréacteur qu'en raceway, le bioréacteur semble un meilleur candidat. Cependant, les coûts élevés de cette installation étant très limitatifs, un compromis doit être trouvé. On peut espérer qu'un développement plus large de structures permettra une « démocratisation » de ces technologies par effet d'échelle. Suite à l'introduction des principales problématiques et contraintes techniques, nous allons maintenant examiner un panorama mondial des solutions mises au point et des axes de recherche. (Fournier R., 2007).

V-3-Les principe de conception de système de culture

V-3-1-Facteurs limitants : Les facteurs limitants sont en ordre décroissant : la lumière, la source de carbone, les nutriments minéraux (en supposant la température et le pH maintenus dans des gammes acceptables, et une culture bactériologiquement saine). Les limitations minérales et carbonées peuvent être évitées, mais l'apport de lumière apparaîtra très souvent limitant. Cela conduit à l'élaboration de réacteurs à géométries spécifiques, où la captation et l'exploitation de la lumière deviennent des points clés. Cela sera à concilier avec les contraintes d'exploitation (niveau de contrôle, production visée, ressources disponibles en eau, CO₂...), les besoins de la souche et son comportement (sédimentation, biofilms). (Pruvost J., 2010).

V-3-2- Apport de carbone et de minéraux : idéalement, l'apport doit maintenir une concentration non limitante, sauf cas particulier où une carence volontaire induit une réponse biologique répondant à un objectif de production, comme la suraccumulation d'un métabolite. (Robert A., 2008).

L'apport peut se faire en début de culture (mode *batch*), en continu ou semi-continu, noter que la limitation minérale est facile à éviter par surdosage, ce qui toutefois génère un surcoût de traitement des rejets. Éviter une limitation par le carbone dissous (l'élément constitue ~ 50 % de la biomasse) nécessite un apport important afin que la teneur reste suffisante pour ne pas générer de limitation. Cet apport qui, idéalement s'effectue tout au long de la culture, est réalisé soit sous forme de CO₂ gazeux (pur ou en mélange) transféré au liquide puis dissocié en formes carbonatées, soit sous forme de carbonate liquide. Dans le cas d'un bullage, le transfert au milieu dépend des performances du système employé d'injection et de la concentration en phase gazeuse. Le pH et la teneur en carbonates sont liés et la consommation biologique de CO₂ alcalinise le milieu : l'asservissement du pH à l'injection de CO₂ est donc un moyen d'apporter du carbone en cours de croissance. À noter que le CO₂ atmosphérique est en concentration insuffisante (380 ppm) pour éviter une limitation. (**Pruvost J., 2010**).

V-3-3-Apport d'énergie lumineuse : En tant que limitation principale, l'apport en lumière doit être maximisé. En énergie solaire, une insolation maximale sera ainsi recherchée, même en régions à fort ensoleillement, et l'orientation et l'inclinaison par rapport à la course du soleil seront alors des paramètres importants. En lumière artificielle, une plus grande latitude sera permise, à la fois en intensité et en spectre. D'un point de vue conception, il est essentiel également de maximiser les surfaces éclairées au regard des volumes mis en jeu. Cela mène à des géométries particulières (planes, tubulaires...) à surfaces spécifiques élevées et épaisseurs décuplées faibles radicalement différentes des cuves agitées utilisées en fermentation où le volume est la principale donnée de conception. Du fait de la forte absorption par la suspension, des épaisseurs de quelques cm à dizaines de cm sont usuellement employées. Noter qu'une forte absorption permet des flux incidents très élevés, bien supérieurs aux valeurs de saturation. (**Pruvost J., 2010**).

V-4-Les procédés d'extraction : Les différents procédés de récoltes abordés précédemment sont eux aussi susceptibles d'affecter les procédés d'extraction en aval (teneur en eau). (**Julien S., 2010**).

V-4-1-Séchage : Il existe différents procédés de séchage, le choix du procédé dépend de l'application future de la biomasse algale. Le plus ancien est le séchage solaire mais il est possible de sécher par d'autres moyens comme le séchage en sécheur convectif ou conductif, ou encore par atomisation, par lyophilisation ou par DIC (Détente Instantanée Contrôlée). Le séchage solaire consiste à étendre sous serre ou à l'air libre les algues récoltées et concentrées et à faire évaporer l'eau par l'action du soleil. (**Julie P., 2010**).

V-4-2-Broyage : Pour qu'un solvant puisse extraire avec succès il doit être capable de pénétrer la matrice en fermant les molécules d'intérêt, puis d'entrer physiquement en contact avec ces molécules et les solvates. (Woolf A., 2007).

Pour tout procédé d'extraction, les membranes cellulaires peuvent représenter des barrières importantes pour le solvant. Cela nécessite pour certaines algues un broyage de la biomasse avant extraction. Un broyage mécanique efficace peut supprimer le besoin d'utiliser des procédés à températures et pressions élevées, permettant au solvant d'entrer directement en contact avec les molécules cibles. (Patricia G et Becerra B., 2009).

Différentes méthodes peuvent être utilisées pour broyer la membrane des cellules en amont d'une application de solvants extractifs. (Patricia G et Becerra B., 2009).

Le broyage mécanique peut se réaliser au moyen de plusieurs technologies : l'homogénéisation de cellules, le broyage à billes, les ultrasons, et l'autoclavage. (Julie P., 2010).

Les méthodes non mécaniques de destruction des parois incluent des procédés tels que : la congélation/décongélation, l'utilisation de solvants organiques, les chocs osmotiques et des réactions acido-basiques ou des lyses enzymatiques. (Julie P., 2010).

V-4-3- Extraction : L'extraction repose sur l'identification des composés biologiques à extraire, ils dépendent de l'espèce d'algue et de leur état de croissance. Beaucoup de techniques d'extraction efficaces nécessitent des substrats concentrés, voire totalement asséchés. Par conséquent, un degré de déconcentration élevé peut être nécessaire avant de procéder à l'extraction. (Julie P., 2010).

V-4-3-1-L'extraction par solvants organiques : Le solvant organique est choisi en fonction de sa polarité et de son affinité avec les molécules d'intérêt à extraire. Parmi eux on retrouve l'hexane, le chloroforme, l'éthanol, l'isopropanol, le butanol, les cétones, les esters, voire des huiles végétales, pour extraire des molécules comme les lipides ou les caroténoïdes. Il est possible de mélanger certains solvants pour modifier et améliorer leur capacité à extraire les molécules cibles (notamment les molécules polaires) : on obtiendra ainsi une extraction plus ou moins sélective. (Barbara C., 2012).

V-4-3-2-Extraction à l'eau sub-critique : De façon générale, le mécanisme est le suivant : en condition de pression et de température élevées, les composés organiques deviennent miscibles avec le solvant. Puis, une seconde étape de diminution de la température et de la

pression permet de séparer facilement le solvant et les produits extraits. Plusieurs techniques d'extraction se basant sur ce mécanisme existent : **(Barbara C., 2012)**.

- ✓ A l'eau sub-critique : Cette technique, utilisant de l'eau juste en dessous de la température critique et à une pression suffisamment élevée pour rester à l'état liquide, a déjà été utilisée pour l'extraction sélective de composés biologiques de végétaux et de micro algues. **(Robert A., 2008)**.
- ✓ Aux fluides supercritiques: Ce procédé se base sur l'augmentation de la capacité de solvation des agents d'extraction au-dessus de leur point critique. L'un des principaux agents utilisés est le CO₂, mais l'on peut aussi citer l'éthane, l'eau, le méthanol.... **(Woolf A., 2007)**.

V-4-3-3-Extraction avec des fluides supercritiques : L'extraction par fluide supercritique utilise le pouvoir de solvation renforcé des fluides au-dessus de leur point critique. Une alimentation solide ou liquide peut être utilisée pour la mise en œuvre de ce procédé. **(Barbara C., 2012)**.

L'extraction par fluide supercritique est le plus souvent employée en mode batch, mais le procédé peut aussi opérer en continu. L'un des points les plus attractifs de l'extraction par fluide supercritique est qu'une fois la réaction d'extraction faite et les matériaux d'extraction dissous dans le fluide supercritique, le solvant et le produit peuvent être facilement séparés en aval une fois la température et la pression revenues aux conditions atmosphériques. Dans ce cas, le fluide retourne à son état gazeux original pendant que les produits extraits restent dans un état liquide ou solide. Les techniques d'extraction par fluide supercritique sont utilisées pour l'extraction commerciale de substances à partir de substrats solides, exemple : la caféine des grains de café depuis plus de 20 ans. La majorité des applications utilisent le CO₂ (T_c=31°C et P_c=74 bar), mais d'autres fluides utilisés peuvent inclure des solvants comme l'éthane, l'hexane, l'eau (T_c=376°C et P_c=221 bars). **(Julie P., 2010)**.

V-4-3-4-L'extraction au CO₂ supercritique : L'état supercritique confère au CO₂ un excellent pouvoir d'extraction, pouvoir modulable à volonté en jouant sur la température et la pression de mise en œuvre. Le CO₂ présente la caractéristique d'être un bon solvant à l'état supercritique, et un mauvais solvant à l'état gazeux. **Turquoise – Algues, filières du futur**
28 Les avantages de ce procédé sont les suivants :

- ✓ le CO₂ est totalement inerte chimiquement, il est naturel, non toxique et peu coûteux, **(Barbara C., 2012)**.

- ✓ on utilise des basses températures et des pressions modérées pour sa mise en œuvre, température critique modérée de 31,1°C pour une pression de 73,9 bars..(Barbara C., 2012).
- ✓ en fin de cycle, la séparation entre le solvant d'extraction et le soluté pour obtenir l'extrait est facile (simple détente qui ramène le CO₂ à l'état gazeux), avec une. (Barbara C., 2012).
- ✓ les frais de fonctionnement, à l'échelle pilote ou de laboratoire, sont réduits (le CO₂ est continuellement recyclé). (Barbara C., 2012).

Conclusion

A la fin de cette étude, on peut conclure que le bioéthanol ayant une grande importance énergétique dont lequel l'utilisation de ce biocarburant, comme un source d'énergie renouvelable à la place de pétrole fossile et à moindre coût.

En raison des besoins alimentaires des populations, les bioéthanol de première génération n'ont pas beaucoup de chance de se développer . la production industrielle de bioéthanol de deuxième génération est nécessaire pour répondre à une demande d'énergie sans cesse croissante. Il faudrait affecter prioritairement les bioéthanol au secteur agricole,demandeur de produits énergétiques bon marché pour une amélioration de la compétitivité des produits agricoles.

La production de bioéthanol s'effectue par la processus de fermentation des sucres a partir d'une photosynthèse dont le microalgue peut fixer le CO₂et transformé l'énergie lumineuse en énergie chimique (sucre).

Ces dernière sont des micro-organismes photosynthétiques qui présentent une grande diversité morphologique et des caractéristiques biochimiques intéressantes qui leur confèrent un grand nombre d'applications à l'échelle scientifique et industrielle dans différents domaines à savoir : la production de molécules à hautes valeurs ajoutées exploitées dans ledomaine pharmaceutique et cosmétique, l'alimentation humaine et animale et la productiond'énergie renouvelable à travers la synthèse biologique d'hydrogène, de méthane et de carburant.

La culture des microalgues s'effectue après l'isolement et l'identification de ces microorganisme dans des milieu de culture spécifique avec des condition favorables de T°, de temps d'incubation et l'intensité de lumière. Celle-ci permet de réaliser un grand nombred'expériences tout en limitant les volumes manipulés, le temps de travail et les coûts dematière première. La production industrielle de ces micro-organismes passe par ledéveloppement de photo bioréacteurs fermés, stérilisables, contrôlés et à haute productivité.

Résumé

Les microalgues sont des microorganismes photosynthétiques, et ayant de nombreuses applications dans différents domaines comme l'environnement et l'énergie ... etc.

Dans notre étude nous avons étudié la production de bioéthanol qui est obtenue par fermentation du sucre; ce dernier est élaboré dans les microalgues par la photosynthèse qui transforme l'énergie lumineuse en énergie chimique sous forme de carbohydrate (sucre) ; ce type de biocarburant est de troisième génération.

Avant de la culture des microalgues productrices des sucres, on doit les isoler et identifier puis on les met en culture suivant différents modes de culture: système ouvert et système fermé "photobioréacteur" . Ce dernier est le système le plus fréquemment utilisé pour la culture des microalgues photosynthétiques.

Références Bibliographiques

Références Bibliographiques:

- 1) **Bakri .Y .**(2013).Biochimie structural . Université Mohammed V– Rabat- Maroc
- 2) **Baldauf S .,** (2008).Les microalgues. Laboratoire Physiologie et Biotechnologie des Algues, 14-17
- 3) **Ballerni D.** (2006).Les biocarburants: état des lieu, prespectives et enjeux du développement. Paris, 242p
- 4) **BarbaraC.** (2012). Etude de la croissance de *Chlorellavulgarisen*photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO₂. Thèse Doctorat:Paris : ÉCOLE CENTRALE. Paris232p.
- 5) **Barberousse H.** (2006). Etude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation. Thèsemagister.France , M ND'H N,180p.
- 6) **BenchouchaR.** (2011). Biochimie . Ed .L.A.T.E.X , 107 p
- 7) **BerradaS ,** 2009 , Biochimie appliquee dans les filieressbssa les glucides : structure, proprietes et applications technologiques . académie de montpellier ,60p
- 8) **Cadoret P., Bernard O.,**(2008)- La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis.la Société de Biologie. France. Vol. 204 (3): 19-25
- 9) **Cantim I.(2010).** La production de biodiesel à partir des microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe. Thèse Doctorat : Canada : CUFE, 61p
- 10) **Cavalla M.**(2000). les algues - les microalgues. De Boeck Université : Paris.vol.(12):49-57
- 11) **Chader S et Touzi A.** (2001). Biomasse Algale : Source Energétique et Alimentaire, Ed.Alger, 48-49
- 12) **Dabbadie L.**(1992).Culturesintensivesdesmicroalgues sur lisier de porc: performances, contraintes, utilisation des biomasses. Thèse.Franc : Laboratoire de Zootechnie ,125p
- 13) **Doumandji A., Boutekrbt L.,Saidi N., DoumandjiS., Hamerouch D et HaouariS.**(2011). Etude de l'impact de l'incorporation de la spuriline sur les propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptique du couscous artisanal. université SaaadDahlab. Blida. Algérie.vol. (6) :pp1-11
- 14) **Drira Z.**(2009).Conyribution à la compréhension du fonctionnement du Golfe de Gabès: Etude des communautés phyto-zooplanctoniques en relation avec la variabilité

Références Bibliographiques

- environnementale et les caractéristiques hydrographiques des zones cotières et océaniques. Thèse Doctorat. Tunis : Université de SFAX,252p.
- 15) **Filali R.** (2012). Estimation et commande robustes de culture des microalgues pour la valorisation biologique de CO₂. Thèse Doctorat. Paris : Ecole doctorale, 226p.
- 16) **Florian P.** (2013). Les biocarburants. Ed. C.N.R.S, Paris. 180p
- 17) **Fournier R.,** (2007). Développement d'une technologie de production des microalgues et produits à valeur ajoutée. rue de la Reine. Canada .vol.(1373):45-60p
- 18) **Francoi D.**(2009). Utilisation Des Microalgues Comme Source D'énergie Durable. Thèse magister. Canada : C.U.F.E, 111p
- 19) **Franck F.** (2010). La production de biodiésel à partir de microalgues: une technologie immature mais prometteuse. Université de Liège. France, 11p
- 20) **Giuliana P. et Becerra C.** (2009). Proposition de stratégies de commande pour la culture des microalgues dans un photobioacteur continu. Thèse Doctorat. Paris : ECA, 265P.
- 21) **Heinemann H .,** (2006). Alcoholic Fuels .Ed.C.R.C. France ,281P
- 22) **Hélène. B.**(2006). Etude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation. Thèse doctorat. France, 192p
- 23) **Herzi F.**(2013). Caractérisation chimique des exsudats du dinoflagelle marin toxique *Alexandrium catenella* et de la diatomée marine *Skeletonema costatum* et étude de la riponéprotéonique d'*Alexandrium catenella* en conditions de stress métallique .Université Toulon. Thèse Doctorat. France, 319p
- 24) **Hirsch M.**(2004). Glucides et santé Etat des lieux, évaluation et recommandations ,afssa , pp12
- 25) **Jean B et May C.**(2013). Ethanol et moteur Diesel: mécanismes de combustion et formation des polluants. Thèse Doctorat. Canada : C.N.R.S, 314p.
- 26) **Julie P.** (2010). Algues, filières du futur. Ed. A.R. Paris, 182 p
- 27) **Julien S.,** (2010). L'utilisation des microalgues pour la production de Biocarburants en Allemagne. rue de Crimé .Berlin.vol.(5):227-235p.
- 28) **Kacimi M.** (2008). Analyse du secteur de l'éthanol selon les principes du développement durable. Thèse magister. Canada: CUS, 104p.

Références Bibliographiques

- 29) **Noba K.**(2010). Inventaire et étude de la diversité de microphytes (cyanophytes et microalgues) et de plantes d'eau douce. Thèse. Associé au Sénégal .21p
- 30) **Patricia G., Celis B.**(2009). Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un photobioréacteur continu. Thèse Doctorat. PARIS : ÉCOLE CENTRALE, 265p.
- 31) **Pimente D.**(2008). Biofuels, solar and wind as renewable energy systems. Ed. BV. USA, 513p.
- 32) **Pruvost J.** (2010). Production industrielle de microalgue et de cyanobactérie. rue de Crimé: France.(10854):85-94p.
- 33) **Rafaello G.**,(2011). taxonomi biology and biotechnology, FINAL, vol.(3):12-25
- 34) **Robert A.**,(2008). Algal culturing technique. Ed. Jenever hele, USA, 589.
- 35) **Ruiz G.**(2005). extraction, détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse. France: Faculté des Sciences et Techniques, 256p
- 36) **Sadi M.** (2012). Les micro algues: un défi prometteur pour des biocarburants propres. rue de la Reine Canada .vol.(40):1-2
- 37) **Salmez M.**(2009). Promouvoir la maîtrise de l'énergie et l'utilisation rationnelle des énergies renouvelables, et préserver les ressources naturelles locale dans une perspective de développement durable et d'adaptation aux changements climatiques ,opportunités de développement de la filière microalgues. E.d. France, 91p
- 38) **Semou J.** (2012). Contribution à la production du bio éthanol à partir de la biomasse lignocellulosique: Cas du bongossi. Thèse Doctorat. Paris : - DIPES , 62p.
- 39) **Therrien R.**(2008). étude d'inventaire technologie pour la conversion en biocarburant du *Misanthus Gisanteus* .Quebec.vol(3):50-62
- 40) **Therrien R.**(2008). étude d'inventaire technologie pour la conversion en biocarburant du *Misanthus Gisanteus* .Quebec, 120p
- 41) **Touitou Y.**(2005). structure des glucides et lipides. Paris. PAES, 48p
- 42) **Wolff A.**(2007)- L'utilisation des microalgues pour la fabrication de biocarburants : analyse de la chaîne de valeur. Rapport de stage. Ecole Normale Supérieure. France, 62p

Web bibliographies

- Anonyme.(2009)C:\Users\user\Desktop\Documents\Algal_Biofuels_Roadmap_drapdf
- Anonyme(2013)<http://pbrunet.lycee-berthelot.fr/IMG/pdf/BIO8-3.pdf>
- Anonyme (2012)<http://www.cad.cea.fr/fr/actualite/pdf/F-pres-a-microphyt-12-112.pdf>
- Anonym e (2010)<http://www.developpement-durable.gouv.fr/IMG/pdf/Biocarburants.pdf>
- Anonyme(2008)http://ww2.acpoitiers.fr/rnrtechno/IMG/pdf/DEFINITIONS_PROFESSEUR.pdf
- Anonyme(2007)C:\Users\user\Desktop\Documents\African_Ministers_Agriculture_FR.pdf

Résumé

Les microalgues sont des microorganismes photosynthétiques, et ayant de nombreuses applications dans différents domaines comme l'environnement et l'énergie ... etc.

Dans notre étude nous avons étudié le bioéthanol qui est obtenu par fermentation du sucre; ce dernier est élaboré dans les microalgues par la photosynthèse qui transforme l'énergie lumineuse en énergie chimique sous forme de carbohydrate (sucre) ; ce type de biocarburant est de troisième génération.

Avant la culture des microalgues productrices des sucres, on doit les identifier et isoler puis on les met en culture suivant des différents modes de culture: système ouverts et système fermé "photobioréacteur" . Ce dernier est le système le plus fréquemment utilisé pour la culture des microalgues photosynthétiques.

Mots clés : microalgue, photobioréacteur, sucre, bioéthanol, photosynthèse.

المخلص

الطحالب المجهرية هي كائنات تقوم بعملية التركيب الضوئي والتي تتميز بتطبيقها في العديد من المجالات مثل البيئة , الطاقة ... الخ .

في دراستنا هذه تطرقنا الى دراسة إنتاج الايثانول الحيوي والذي نتحصل عليه عن طريق تخمر السكر , وينتج هذا الأخير من خلال عملية التركيب الضوئي للطحالب الدقيقة والتي تحول الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية في شكل الكربوهيدرات(السكر).

يتم عزل والتعرف على الطحالب المجهرية ثم زراعتها وفقا لطرق مختلفة، واهم هذه الطرق : النظام المفتوح , النظام المغلق "المفاعل الحيوي الضوئي" وهذا الأخير هو النظام الأكثر استعمالا لزراعة الطحالب المجهرية ذات التركيب الضوئي .

الكلمات المفتاحية : الطحالب المجهرية , المفاعل الحيوي الضوئي , السكر , الايثانول الحيوي , التركيب الضوئي.