

N° d'ordre :

N° de série :

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
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 : Biochimie

Spécialité: Biochimie

THEME

**CONTRIBUTION A LA PRODUCTION DE BIODIESEL
PAR DES MICROALGUES PHOTOSYNTHETIQUES
(ETUDE THEORIQUE)**

Dirigé par :
Mr .Kiram Abderrazak

Présenté par :
- Aissaoui Amira
- Nahli Nassima
- Touil Sabrina
- Zabi Yamina

Année universitaire 2013/2014

REMERCIEMENT

*En premier lieu nous tenons
a remercier ALLAH précieux pour nous avoir
.aidés a réaliser ce travail*

*Nous tenons a exprimer nos vifs remerciement
au chef d'appartement monsieur DEROUCHE
Samir et tous nos enseignants qui ont contribués
a notre formation principalement notre
encadreur KIRAM Abderrazak pour la
réalisation de ce travail, pour ces conseils,
l'attention et le temps qu'elle nous a accordés.*

*Nous remercions toutes l'équipe de bibliothèque
de faculté des sciences de la nature D'El-oued
principalement Bekkoucha Abdel Hakim, Laïb
Brahim , SOLTANE Abdelhak , Mekhiber
.Hamad Allah , Nemsí Mobarek .*

*Nous adressons avec tout notre respect nos
remerciement à:*

Mr.Seroutí Abdelghani.

*nos dernière remerciement et ce ne sont pas les
moindres, vont a tous ceux qui ont contribués de
prés ou de loin pour l'aboutissement de ce
travail.*

SOMMAIRE

Liste des Figures	
Liste des Tableau	
Liste des abréviations	
Introduction	
Chapitre I : Les microalgues	
I.1. Définition des microalgues	3
I.2. Caractéristiques des microalgues.....	3
I.3. Morphologie	4
I.4. Composition chimique	5
I.5. Classification.....	7
I.5.1. Cyanophycées (algues bleues-vertes).....	8
I.5.2. Les Chrysophycées (algues dorées).....	8
I.5.3. Les Rhodophycées (algues rouges).....	8
I.5.4. Les Euglenophycées.....	8
I.5.5. Les chlorophycées (algues vertes).....	8
I.5.6. Les bacillariophycées (diatomées).....	8
I.6. Reproduction	9
I.6.1. Reproduction asexuée.....	9
I.6.2. Reproduction sexuée.....	10
I.7. Mode de nutrition.....	10
I.8. Métabolisme des microalgues.....	11
I.9. Ecologie des microalgues.....	13
I.10. L'application des microalgues.....	13
I.10.1. Domaine alimentaire.....	13
I.10.2. Domaine pharmaceutique.....	14
I.10.3. Domaine cosmétique.....	14
I.10.4. Domaine énergétique.....	14
I.10.5. Applications environnementales.....	14
Chapitre II : Les lipides	
II.1. Définition des lipides.....	17
II.2. Classification des lipides.....	17
II.3. Métabolisme des lipides	22

II.3.1. La photosynthèse.....	22
II.3.1.1. Réaction photochimique.....	22
II.3.1.2. Cycle de Calvin.....	23
II.3.2. B-Oxydation Mitochondriale Des Acides Gras.....	25
II.4. Propriétés des lipides.....	26
II.5. Rôle de lipide.....	27
II.6. Les applications des lipides.....	27
II.7. Lipide chez les microalgues.....	28
Chapitre III : Le biodiesel	
III.1. Définition de biodiesel	29
III.2. Le biodiesel de première,deuxième et troisième génération.....	29
III.2.1. Le biodiesel de première génération.....	29
III.2.2. Le biodiesel de deuxième génération.....	30
III.2.3. Le biodiesel de troisième génération.....	31
III.2.3.1. les microalgues pour le biodiesel.....	31
III.3. Le principaux processus de produit de biodiesel	32
III.3.1.L'extraction d' huile.....	32
III.3.1.1. Le pressage mécanique.....	32
III.3.1.2. L'utilisation du CO ₂	33
III.3.1.3. L'extraction enzymatique.....	33
III.3.1.4. Le choc osmotique.....	33
III.3.2. Méthode de transestérification.....	33
III.3.2.1. Les étapes de transestérification	34
III.4. production mondial de biodiesel.....	37
III.6. Les avantages et inconvénients de biodiesel.....	37
III.6.1. Les Avantages.....	37
III.6.2. Les Inconvénients.....	38
III.8. L'application de biodiesel.....	39
Chapitre IV: Technique d'isolement et identification des microalgues	
IV.1.Le choix des espèces microalgales productrice.....	41
IV.2. Le prélèvement des microalgues.....	41
IV.3. L'isolement des microalgues et repiquage.....	42

IV.3.1. Milieu de culture d'isolement.....	42
IV.3.2. Isolement et repiquages.....	43
IV.3.3. Conditions de culture.....	44
IV.3.4. Dosage des microalgues.....	44
IV.4. L'enrichissements des microalgues productrice des lipides	44
IV.4.1. Milieux de culture d'enrichissements.....	44
IV.4.2. La technique d'enrichissement.....	45
IV.5. Mesure de la teneur des lipides.....	48
IV.5.1. Méthode directe.....	48
IV.5.2. Méthodes indirecte (L'extraction des lipides).....	48
Chapitre V: La culture des microalgues	
V.1. Le système de culture.....	50
V.1.1. Le système ouvert.....	50
V.1.2. Le système fermé	55
V.1.2.1. Les types de photobioréacteurs.....	56
V.1.2.1.1. Les photobioréacteurs tubulaires.....	57
V.1.2.1.2. Les photobioréacteurs plats.....	58
V.1.2.1.3. Les PBRs à colonne verticale.....	58
V.1.3. Le système mixte.....	61
V.2. Mode de culture.....	62
V.2.1. Mode discontinue (batch).....	62
V.2.2. Mode semi-contenu.....	64
V.2.3. Mode contenu.....	64
Conclusion	
Référence	
Résumé	

LISTE DES FIGURES

Numéro	Titre	Page
Figure 1	Diversité morphologique des microalgues	5
Figure 2	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	10
Figure 3	Domaines d'application des algues microscopiques	16
Figure 4	Classification des lipides.	17
Figure 5	Acide gras.	18
Figure 6	Structure simplifiée de quelques acides gras.	19
Figure 7	Les glycérides.	20
Figure 8	Représentation de la structure du cholestérol et de l'ergostérol.	21
Figure 9	Structure simplifiée des phospholipides.	21
Figure 10	Complexes macromoléculaires et transferts d'électrons et de protons au niveau de la membrane du thylakoïde.	23
Figure 11	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	24
Figure 12	les étapes biochimiques de la β -oxydation.	25
Figure 13	Transestérification en une seule étape des triglycérides en biodiesel	34
Figure 14	Schéma du processus de production du biodiesel	36
Figure 15	filet à plancton.	41
Figure 16	Souches d'algues et de cyanobactéries	43
Figure 17	Ensemencements de la spiruline à partir de la souche mère	45
Figure 18	Les différentes étapes du dédoublement de la culture de la spiruline	46
Figure 19	Filtration et récolte de la spiruline	47
Figure 20	Opération de séchage de la biomasse	47
Figure 21	Méthodologie d'extraction et purification des polysaccharides extracellulaires.	49
Figure 22	Variété de configurations des systèmes ouverts	51
Figure 23	A gauche : bassin en boucle fermée, infrastructure de Roswell, Nouveau Mexique (USA)	52
Figure 24	système de culture de type raceway	53

LISTE DES FIGURES

Figure 25	Schéma d'un raceway et des flux associés à son fonctionnement.	54
Figure 26	photo d'un photobioréacteur de type BIOCOIL (1000 litres) en Australie (université de Murdoch) (à gauche) et d'un photobioréacteur de type serpentín utilisé en Allemagne (société roquette) et à Almeria (à droite).	55
Figure 27	Photo bioréacteur tubulaire comportant des capteurs solaires disposés en parallèle.	57
Figure 28	Schéma d'un PBR plat. (site web, oilgae).	58
Figure 29	Trois exemples de configuration de PBRs à colonne verticale associés avec un système de distribution de gaz, dimensions en mm.	59
Figure 30	A : Représentation schématique d'un système de culture de micro algue en mode batch– B : courbe de croissance d'une culture de micro algue dans un système en batch: 1 :phase de latence; 2 : phase exponentielle; 3 : phase stationnaire; 4 : phase de déclin; courbe en noir (trait plein) : évolution de la concentration cellulaire ; courbe en rouge (pointillé): évolution de la concentration de phosphore, courbe en vert (trait discontinu) : évolution de la concentration d'azote	63
Figure 31	Représentation schématique d'un système de culture de microalgue en mode continu	65

LISTE DE TABLEAU

Numéro	Titre	Page
Tableau 1	Compositions des microalgues	6
Tableau 1	Compositions des microalgues (suite)	7
Tableau 2	Modes de nutritons des microalgues	11
Tableau 3	Comparaison entre les microalgues et d'autres matières premières pour l'obtention de biodiesel	32
Tableau 4	Composition des solutions mères du milieu Bold de base	42
Tableau 5	La composition du milieu de Hiri (pour 1 L d'eau distillée)	45
Tableau 6	Comparaison des modes de culture	60
Tableau 6	Comparaison des modes de culture (suite)	61

LISTE DES ABREVIATIONS

ω : oméga

° C : Degré Celsius

1^{ère} : Première

2^{ème} : Deuxième

3^{ème} : Troisième

AA : Acide Arachidonique

ADN : Acide Disoxy Ribonucleique

ADP : Adénosine Di Phosphate

AG : Acides Gras

AGCC : Acide Gras à Chaine Courte

AGCL : Acide Gras à Chaine Long

AGCM : Acide Gras à Chaine Moyenne

AGPI : Acides Gras Polyinsaturé

ATP : Adénosine Tri Phosphate

BPF : Bonnes Pratiques De Fabrication

BtL : Biomasse to Lipidique

C : Carbone

CO₂ : Dioxyde de Carbone

CTP : Carnitine Polyritoyl Transférases

Cyt b_{6_f} : cytochrome b_{6_f}

DHA : Acide Docosahexaénoïque

EMHV: Ester Méthylique des Huiles Végétales

EPA : Acide Eicosapentaénoïque

Fd : ferrédoxine.

GES : Gaz à eEffet de Serre

LISTE DES ABREVIATIONS

H₂ : Hydrogène

Kcal : Kilo calorie

KJ : Kilo Joule

LA: Acide Linoléique

MG: Matière Graisse

MME : Membrane Mitochondriale Interne

MS: Matière Séche

NDAP : Nicotinamide Adénine Dincléotide Phosphate-Coenzyme D'oxydoréduction

NREL : National Renewable Energy Laboratory

O₂ : L' Oxygène

P680 : photosystème II

PC : plastocyanine

PH : Potentiel Hydrogène

PPF : Photosynthetic Photon Flux

PQ : plastoquinone

PS700 : photosystème I

PVC : Poly Chlorure Vinyle

R: Rendement

t : tonnes

TAG : Triglycérols

T_f: Température de fusion

UE : L'union Européenne

US : United state

INTRODUCTION

Face aux risques d'une future pénurie du pétrole, de nombreux projets de recherche et développement sont en cours afin de suppléer la pétrochimie. Le pétrole est omniprésent dans notre économie actuelle, utilisé dans de nombreux secteurs et servant à la fabrication de nombreux produits : plastiques, carburants, textiles, solvants, engrais, médicaments et cosmétiques (shampoings, crèmes...), additifs alimentaires (colorant artificiel, texturant), peintures. Tout ceci est produit grâce à la synthèse chimique de composés issues du raffinage du pétrole.

Les récentes préoccupations de plusieurs spécialistes au niveau des ressources et des réserves disponibles en pétrole ont soulevé plusieurs inquiétudes au niveau de l'approvisionnement à plus long terme. La dépendance de la société face aux combustibles d'origine fossile, et ce, principalement dans le secteur des transports, en relation avec l'épuisement des ressources et les fluctuations rapides de prix du pétrole le réchauffement climatique ont eu pour conséquences des avancées considérables dans le domaine de la recherche en énergies renouvelables. Ces recherches visent une substitution ou un remplacement des combustibles fossiles par diverses énergies renouvelables telles que le biodiesel.

Le biodiesel est un mélange de diesel avec des huiles provenant de plantes à graines, algues ou d'autres sources biologiques, comme les transformations des déchets animaux qui ont été transestérifiées pour éliminer le glycérol .

Les biodiesels de première génération appelés esters méthyliques (EMHV) des huiles végétales sont produits à partir d'huiles végétales issues de plantes oléagineuses. Il existe aussi du biodiesel de deuxième génération produit par la valorisation de la biomasse lignocellulosique d'origine forestière et agricole : bois, paille, déchets végétaux. Pour le biodiesel de troisième génération sont principalement produits par des microalgues.

Les microalgues sont des micro-organismes photosynthétiques qui convertissent la lumière du soleil, l'eau ainsi que le dioxyde de carbone en biomasse algale. De nombreuses espèces de microalgues sont extrêmement riches en huile et; les technologies actuelles permettent de transformer cette huile en biodiesel. Les microalgues capables de produire du biodiesel de façon durable en vue de remplacer l'intégralité des combustibles d'origine pétrolière utilisés pour les transports (comme l'essence, le carburateur et le gazole) et

ce, sans effet négatif sur l'approvisionnement en nourriture et en produits agricoles divers, contrairement aux cultures oléagineuses les plus productives.

Notre étude est une contribution bibliographique à la fabrication de biodiesel par des microalgues.

Notre mémoire est subdivisé en cinq chapitres distincts :

- Le premier chapitre qui comprend la définition des microalgues, leurs caractéristiques, les compositions chimiques, la morphologie, les classifications, la reproduction, les modes des nutriments, les métabolismes, l'écologie et les applications.
- Le deuxième chapitre résume la définition des lipides, les métabolismes, leurs propriétés, leur rôle, leur application et les lipides chez les microalgues.
- Le troisième chapitre du mémoire regroupe la définition de biodiesel, biodiesel première, deuxième et troisième génération, les principaux produits de biodiesel, les avantages, inconvénients, et les applications.
- Le quatrième chapitre est les techniques d'isolement et d'identification des microalgues.
- Le cinquième chapitre étudie la culture des microalgues.

I.1. Définition des microalgues

Les microalgues sont des algues microscopiques (**Salomez M., 2009**), dont la taille est de l'ordre du micromètre (**Filali R., 2012**), donc invisibles à l'œil nu, leur présence est perçue lorsqu'elles prolifèrent au point de colorer la surface des eaux. Elles sont unicellulaires ou pluricellulaires (**Salomez M., 2009**), apparues il y a plus de trois milliards d'années et peuplant des milieux extrêmement variés, les microalgues présentent une diversité bien supérieure à celle des plantes terrestres (**Wolff A., 2012**), vivant en milieu aquatique dans les mers, les océans, les eaux douces et les eaux saumâtres (**Sadi M., 2012**). La disponibilité de ces ressources nous amène à développer un programme permettant leur valorisation et leur mise en œuvre industrielle (**Chader S et al., 2001**). Elles colonisent toutes les surfaces soumises à une humidité abondante, se développant sur divers substrats terrestres tels que des plantes, des roches (**Barberousse H., 2006**).

Les microalgues sont des microorganismes photosynthétiques eucaryotes (**Salomez M., 2009**). Elles sont considérées comme les premiers producteurs d'oxygène indispensable à la respiration de la majorité des êtres vivants (**Filali R., 2012**) et elles sont l'une des sources de biomasse prometteuses dans le domaine énergétique (**Blkadi M., 2009**).

I.2. Caractéristiques des microalgues

Les microalgues appartiennent au règne des eucaryotes caractérisés principalement par l'absence de racine, de tissus vasculaires et de feuilles mais possédant de la chlorophylle ainsi que d'autres pigments pour réaliser la photosynthèse (**Patricia Becera Celis G., 2009**). Il existe plusieurs espèces microalgales possédant un métabolisme hétérotrophe. Celles-ci se distinguent toutefois par leurs caractéristiques nutritionnelles et leur capacité à produire des acides gras pouvant servir à la production de biodiesel (**Cantin I., 2010**). La majorité des micro-algues sont dites photo-autotrophes ou autotrophes. Elles tirent leur énergie de la lumière par photosynthèse et leur principale source nutritive est le dioxyde de Carbone (CO₂) en solution dans l'eau. Elles convertissent ainsi l'énergie lumineuse en lipides et en hydrates de carbone, des formes plus condensées et stables d'énergie. Certaines espèces peuvent aussi être chémohétérotrophes ou hétérotrophes. Ainsi, au besoin, elles sont capables de puiser de l'énergie et des nutriments directement des matières organiques présentes dans le milieu aquatique. Par exemple, l'espèce *Agmenellum quadruplicatum* devient hétérotrophe en conditions de faible luminosité (**Doré-Deschênes F., 2009**).

Les microalgues présentent une diversité plus grande que celle de toutes les plantes terrestres. Il existerait sur le globe au moins 200 000 espèces différentes. Ces organismes constituent un groupe polyphylétique et très diversifié de procaryotes (les algues bleues ou cyanobactéries) et eucaryotes (où l'on retrouve les algues vertes, rouges et brunes). Les algues rouges et vertes appartiendraient à une même famille (Plantae) et seraient apparues il y a deux milliards d'années. Les algues brunes et les diatomées seraient issues d'une association d'une micro-algue rouge et d'un organisme unicellulaire hétérotrophe, apparues il y a un milliard d'années elles forment la famille des Chromalvéolates. Les cyanobactéries sont des algues bleues procaryotes dont la principale espèce cultivée est la spiruline. La photosynthèse se produit directement dans le cytoplasme. Elles seraient à l'origine des chloroplastes des cellules eucaryotes, et auraient ainsi permis aux végétaux de réaliser la photosynthèse, à la suite d'une endosymbiose. Chez les microalgues eucaryotes la photosynthèse se produit dans des structures particulières, entourées d'une double membrane plastidiale, qu'on appelle chloroplastes. Ces organites cellulaires contiennent de l'ADN et sont similaires aux cyanobactéries validant l'hypothèse de l'endosymbiose (**Person J., 2011**).

I.3. Morphologie

Leur morphologie est aussi diversifiée que leur physiologie, leur manière de se multiplier et de se reproduire. Des cellules sphériques sont les plus souvent rencontrées (*Haematococcus*, *Porphyridium*, *Nannocloropsis*) mais il existe aussi, des cellules en forme de spirale (*Arthrospira Spiruline*), d'étoile (*Staurastrum*) ou de croissant (*Closterium*) (**Patricia Becera Celis G., 2009**). (voire la Figure 1)

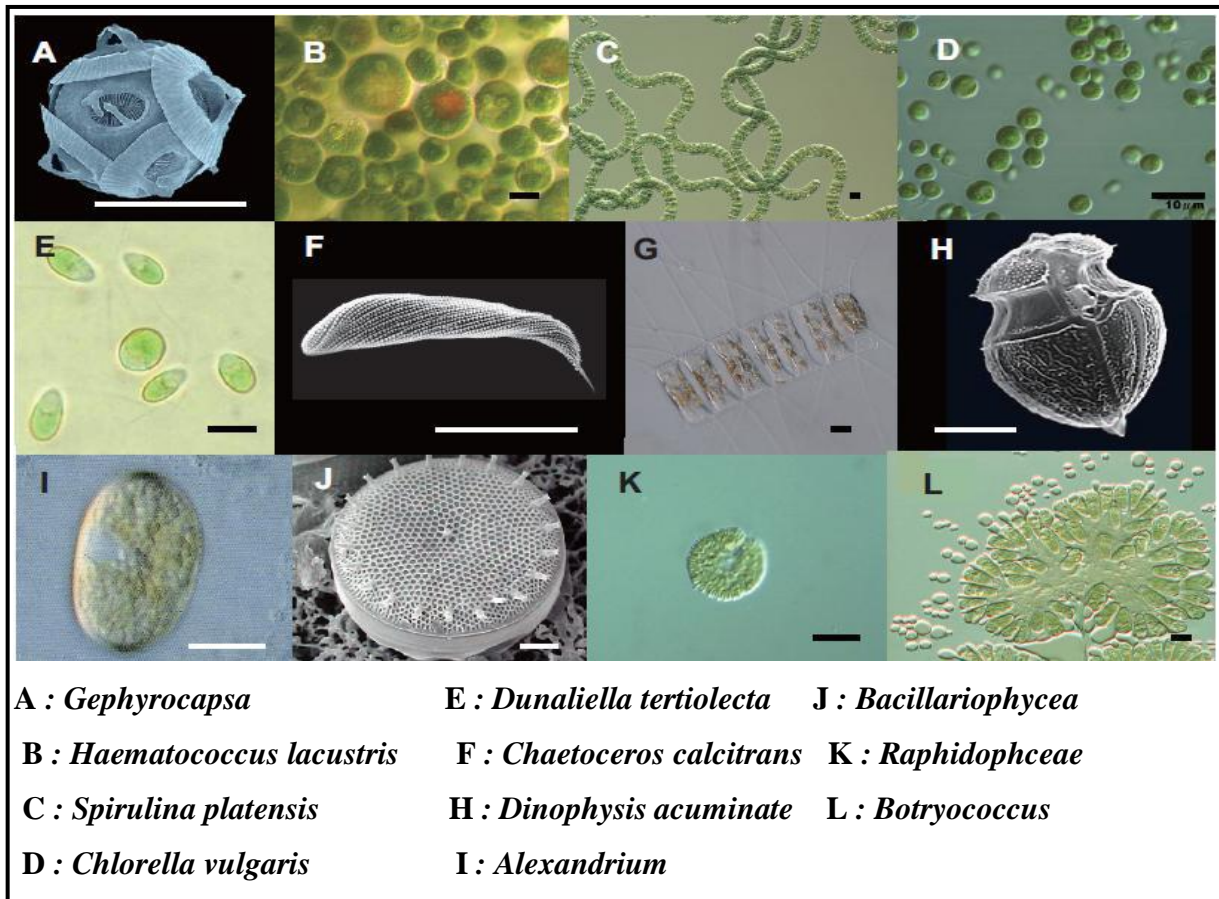


Figure 1 : Diversité morphologique des microalgues (Filali R., 2012).

I.4. Composition chimique

La composition chimique de diverses algues est montrée leur richesse en protéines. Toutefois, le profil des acides aminés indique une déficience en méthionine et en acides aminés soufrés (Dabbadie L., 1992). Les microalgues 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 (Person J., 2011). Des modifications de la composition chimique apparaissent néanmoins en fonction du milieu, du mode de culture, ou du moyen de conservation (Dabbadie L., 1992). 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 *Porphyridium purpureum*, l'astaxanthine d'*Haematococcus pluvialis* ou le bêta-carotène de *Dunaliella salina* .

Les microalgues peuvent accumuler plus de 50% de leur poids sec en lipides. Ces derniers sont principalement constitués de triglycérides, de phospholipides, et de glycolipides. Ces lipides contiennent des acides gras saturés et polyinsaturés (AGPI) comme les oméga-3 : Acide Alpha Linoléique (ALA), Acide Eicosapentaénoïque (EPA), Acide Docosahexaénoïque (DHA), ou les oméga-6: Acide Arachidonique (AA) et Acide Linoléique (LA) . Le contenu élevé en protéines, peptides et acides aminés (entre 12 et 65% de matière sèche) de plusieurs espèces de microalgues est une des principales raisons pour les considérer comme une source non conventionnelle de protéines dans l'alimentation humaine et animale (pisciculture). Certaines espèces présentent aussi une richesse en oligosaccharides et polysaccharides, d'autres encore peuvent produire des molécules à activité antivirales, antibiotiques, ou anti-prolifératrices chez l'homme (**Person J., 2011**). (voire le tableau 1)

Tableau 1: Composition des microalgues (**Dabbadie L., 1992**).

		<i>Scenedesmus sp.</i>	<i>Spirulina sp</i>	<i>Chlorella sp</i>
Composition en % du poids du sec	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 gN)	Valine	6.3-7.2	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
	Tryptophane	1.2-1.4	1.4	1.4
	Lysine	5.0-5.7	4.6	7.8

Tableau 1 : Composition des microalgues (Dabbadie L., 1992). (suite)

		<i>Scenedesmus sp.</i>	<i>Spirulina sp</i>	<i>Chlorella sp</i>
Vitamines et autres (en mg /100 g MS)	AcideAscorbique(C)	40	-	1.5
	β carotène	50	150	50.2
	Acide pantothénique	1.2	360	1.12
	Pyridoxine (B₆)	-	3	0.3
	Thiamine (B₁)	0.17	5.5	0.77
	Riboflavine (B₂)	0.42	4	-

I.5. Classification

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 microalgues dont les principales sont les cyanophycées, les chrysophycées, les rhodophycées, les euglenophycées, les chlorophycées et les bacillariophycées.

I.5.1. 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 µm 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 amylo-pectine) ou encore sous forme d'huiles (Cantin I., 2010).

I.5.2. 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.

I.5.3. 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 photoautotrophes ou photoorganotrophes. Bien que certaines espèces contiennent des acides gras, leur utilisation pour produire du biodiesel en absence de lumière ne semble pas envisageable.

I.5.4. 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 paralysons, 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, *Euglena gracilis*, 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.

I.5.5. 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 microalgues possèdent un métabolisme photoautotrophe, photohétérotrophe et chimiohétérotrophe. L'espèce la plus étudiée possédant un métabolisme chimiohétérotrophe est *Chlorella vulgaris*. 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 le sont 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 *Chlorella protothecoides* (Cantin I., 2010).

I.5.6. Les bacillariophycées (diatomées) : Les diatomées représentent souvent le groupe dominant de microalgues 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 µm 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 en acides gras et pendant plusieurs années, les scientifiques croyaient que les lipides représentaient le seul composé de réserve. Les composants majeurs de ces lipides sont les triglycérides. Les microalgues telles que *Nitzschia sp* et *Navicula pelliculosa* sont intéressantes pour la production de biodiesel en mode hétérotrophe étant donné l'importance du pourcentage en acides gras. Parmi les espèces de diatomées, plusieurs possèdent un métabolisme hétérotrophe obligatoire ou encore facultatif (principalement les diatomées pennales), alors que certaines autres possèdent plutôt un métabolisme photohétérotrophe (principalement les diatomées centriques) (Cantin I., 2010).

I.6. Reproduction

Les microalgues se multiplient soit par scission des cellules en deux parties jusqu'à la production des spores, soit en se transformant directement en gamète ou en engendrant ceux-ci dans des cellules particulières (Patricia Becera Celis G., 2009). Certaines algues peuvent également se développer par mixotrophie en combinant les deux modes. Les microalgues présentent l'avantage d'avoir un cycle de division très court, de l'ordre de quelques heures, permettant la production rapide de biomasse (plusieurs grammes de matière sèche par litre). Leur développement fait intervenir plusieurs facteurs de croissance et conditions de culture comme : l'eau, les nutriments, la lumière, le CO₂, la température et le pH de la culture, ainsi que l'agitation. En fonction des souches cultivées l'eau est douce, marine ou saumâtre.

I.6.1. Reproduction asexuée : Elle peut être de 3 types :

I.6.1.1. Fragmentation : le thalle se sépare en deux parties qui redonneront chacune un nouveau thalle.

I.6.1.2. Sporulation: des spores peuvent être formées dans les cellules végétatives ordinaires ou dans des structures spécialisées appelées sporanges.

I.6.1.3. Scission binaire : division du noyau puis du cytoplasme (Person J., 2011).

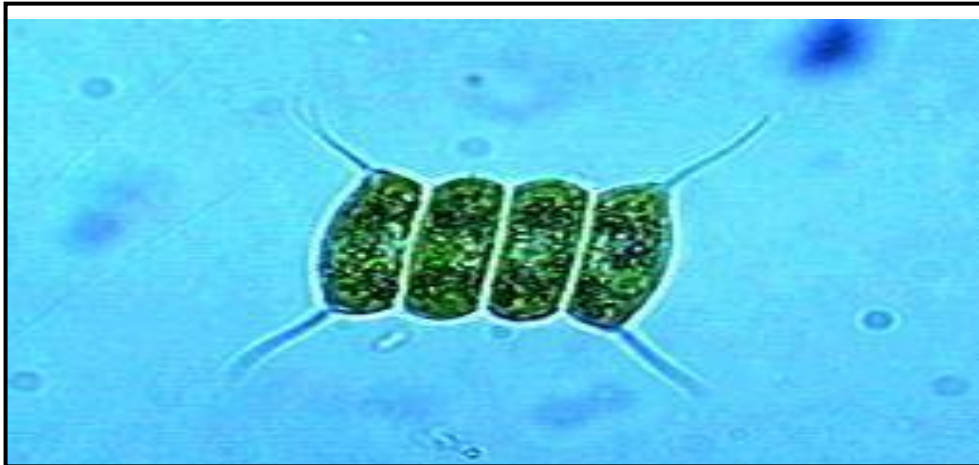


Figure 2: *Scenedesmus quadricauda* (Cavalla M., 2000).

La forme caractéristique du coenobe de *Scenedesmus quadricauda* 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 .

I.6.2. Reproduction sexuée : Dans la reproduction sexuée, il y a fusion de gamètes mâle et femelle pour produire un zygote diploïde. 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 (Cavalla M., 2000).

I.7. Mode de nutrition

Les microalgues sont largement et principalement connues comme étant des organismes photoautotrophes. L'autotrophie est un mode de nutrition des microalgues leur permettant d'utiliser les rayons solaires afin de synthétiser leur énergie. métabolisme autotrophe utilisent également une source de carbone inorganique comme le CO_2 et le HCO_3^- pour la synthèse du carbone organique . Ce carbone organique est essentiel à la synthèse de toutes les composantes organiques nécessaires à leur survie. D'autre part, plusieurs microalgues ont un métabolisme hétérotrophe de nutrition et celles-ci n'ont pas besoin de l'énergie solaire. Elles utilisent plutôt une source de carbone organique pour la production de l'énergie et des composants organiques. Les microalgues de métabolisme mixotrophe peuvent, soit avoir un métabolisme autotrophe, ou encore hétérotrophe. En effet, en absence d'énergie lumineuse, lorsqu'une source de carbone organique est disponible, le

développement des chloroplastes est inhibé et ces microalgues métabolisent leur énergie en mode hétérotrophe (Cantin I., 2010). (Tableau 2)

Tableau 2 : Modes de nutritons des microalgues (Patricia Becera Celis G., 2009).

Microalgues	Source de carbone		Source d'énergie	
	CO ₂	Composé organique	Lumière	Oxydation des composé organique ou inorganique
Photoautotrophes	✓		✓	
photohétérotrophe		✓	✓	
Chimioautotrophe	✓			✓
Chimiohétérotrophe		✓		✓

Les algues photo-autotrophes ont tendance à produire moins d'huiles et celles qui en produisent beaucoup démontrent de faibles taux de croissance. Les microalgues à utiliser pour la production hétérotrophe doivent posséder certaines caractéristiques. Parmi ces caractéristiques, notons la capacité de croissance en absence de lumière, la croissance à partir de médias peu coûteux, une bonne capacité d'adaptation, une importante production d'huiles et la capacité de surmonter le stress provoqué par l'utilisation de bioréacteurs. Les microalgues de métabolisme hétérotrophe et mixotrophe doivent être en présence d'un substrat organique pour assurer leur croissance. Il serait possible de croire que celles-ci peuvent utiliser n'importe quelle source d'hydrates de carbone pour remplacer le rayonnement solaire en tant que source d'énergie pour leur métabolisme, alors que tel n'est pas le cas. De façon générale, les hydrates de carbone pouvant être assimilés par la plupart des microalgues sont principalement des monosaccharides tel le glucose, Certaines espèces sont aussi en mesure d'assurer leur croissance à partir de disaccharides, d'acétate, de glycérol et de certains acides intermédiaires du cycle de Kreps (Cantin I., 2010).

I.8. Métabolisme des microalgues

Les microalgues de métabolisme hétérotrophe et mixotrophe doivent être en présence d'un substrat organique pour assurer leur croissance. Il serait possible de croire que celles-ci peuvent utiliser n'importe quelle source d'hydrates de carbone pour remplacer le rayonnement solaire en tant que source d'énergie pour leur métabolisme, alors que tel n'est pas le cas. En effet, certains substrats sont en mesure de supporter la croissance de certaines espèces alors que ces mêmes substrats sont inefficaces pour d'autres espèces. De plus, certains composés chimiquement similaires ne favorisent pas nécessairement la croissance d'une espèce microalgale donnée (Cantin I., 2010).

I.8.1. Le carbone : Représente environ 50% en masse de la matière sèche des microalgues. Chez les organismes autotrophes, la totalité de ce carbone est issue du CO₂. La production de 100 tonnes de biomasse algale permet donc la fixation d'environ 180t de CO₂. L'approvisionnement en CO₂ doit être continu durant les périodes de photosynthèse, c'est-à-dire pendant les heures d'ensoleillement. Les sources de CO₂ envisagées sont principalement les infrastructures industrielles émettrices de CO₂ telles que des cimenteries, des centrales à charbon...Ce CO₂ serait a priori gratuit, voire rémunérateur, mais il faut tout de même tenir compte du coût de l'infrastructure d'acheminement (Wolff A., 2012).

I.8.2. L'azote : Est classiquement apporté sous 3 formes possibles ammoniacale, nitrate ou urée. La forme « idéale » de l'azote est fonction de la biologie des souches cultivées et des coûts. Comme la fixation industrielle de l'azote nécessite l'utilisation d'énergie fossile, les coûts de l'azote sont dépendants des coûts des énergies fossiles et cette étape énergivore doit être prise en compte dans les analyses de cycle de vie. L'azote peut aussi être d'origine biologique (il peut être fixé par certaines bactéries) ou anthropique, via le recyclage des eaux usées (municipales, agricoles...) ou des effluents gazeux industriels contenant des oxydes d'azote.

I.8.3. Le phosphore : Doit être apporté en fort excès car il tend à former des complexes avec les ions métalliques qui ne sont pas assimilables. Il est important de noter que l'approvisionnement en phosphore pourrait devenir problématique à plus ou moins long terme car les réserves mondiales en phosphore tendent à s'épuiser. Les eaux usées sont potentiellement des sources durables peu coûteuses.

D'autres éléments, dits « traces », sont utilisés en très faibles quantités mais jouent pour autant des fonctions clés. Par exemple, la chlorophylle présente un atome de magnésium

en son centre. Un déficit de magnésium dans l'eau affectera donc directement la biosynthèse des chlorophylles et donc potentiellement l'efficacité de la photosynthèse (Wolff A., 2012).

I.9. Ecologie des microalgues

La production primaire en phytoplancton à la surface du globe est localisée dans les eaux riches en nutriments. 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, appelées aussi upwelling, au niveau des estuaires et des littoraux (Salomez M., 2009).

I.10. L'application des microalgues

Au vu de leur 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 (Filali R., 2012). (figure 3)

I.10.1. 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 microalgues, *Chlorella* et *Spirulina*, dominent le marché mondial. L'apport de la biomasse microalgale 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. Les microalgues sont considérées comme une source potentielle d'AGPI destinée à l'alimentation humaine et animale. Ces organismes sont susceptibles de synthétiser des AGPI de la série $\omega 3$ comme « EPA », l'acide « DHA » et « ALA », et les AGPI de la série $\omega 6$ comme « AA » et l'acide linoléique « LA ». Ces AGPI sont utilisés en nutrition humaine et animale pour leurs vertus thérapeutiques sur certaines maladies. Les microalgues ont un potentiel intéressant de production de pigments. Les caroténoïdes sont de plus en plus employés dans l'industrie alimentaire, suite à la pression du consommateur et à l'augmentation des réglementations limitant l'utilisation des colorants artificiels. Le β -carotène est un pigment synthétisé par l'algue *Dunaliella* et est utilisé comme colorant en industrie alimentaire. D'autres caroténoïdes, tel que l'astaxanthine synthétisé par l'algue *Haematococcus*, la lutéine, zéaxanthine et canthaxanthine sont des antioxydants utilisés en alimentation humaine, animale et en aquaculture. Les phycobiliprotéines sont des

pigments qui peuvent être utilisées comme colorants naturels en industrie alimentaire (comme l'huile de soja).

Les polysaccharides (polymères hydrosolubles) issues des microalgues sont exploités dans l'industrie agroalimentaire en tant que agents gélifiants ou épaississants. Le glycérol (molécule intervenant dans les systèmes d'osmorégulation des microalgues), est exploité dans l'agroalimentaire comme édulcorant. C'est l'algue *Dunaliella salina* qui en est la plus riche.

I.10.2. 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 microalgue *Tolythrixbysoidea* ainsi que chez les cyanobactéries. Elle présente une action effective in vitro contre un type de leucémie lymphoïde. D'autres démarches ont été entreprises, entre autres par « l'Institut National du Cancer » avec un programme de dépistage visant des activités antivirales et anticancéreuses.

I.10.3. Domaine cosmétique: Plusieurs espèces de microalgues 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 *Chlorella vulgaris* permettent de stimuler la synthèse du collagène dans la peau induisant la réduction des rides. Les pigments issus des microalgues sont également utilisés dans le domaine cosmétique (**Filali R., 2012**).

I.10.4. Domaine énergétique: 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 microalgues comme source de production de différents types de biocarburant: le bio-oil, et le biodiesel. La voie la plus intéressante concerne les biocarburants de deuxième et troisième générations (production d'éthanol à partir de matières lignocellulosiques et la production de biodiesel à partir des microalgues). Cette voie prometteuse permet de remédier aux principaux inconvénients observés pour les biocarburants de 1ère génération (concurrence avec la production alimentaire,

surconsommation d'eau, détérioration des sols) .En raison de propriétés intéressantes (productivité importante de biomasse, activité photosynthétique élevée, grand potentiel de stockage lipidique), les microalgues sont efficaces pour la synthèse de biodiesel, 500 à 1000 fois plus efficaces que les espèces terrestres , notamment *Chlorella sp* (**Filali R., 2012**).

I.10.4.1. L'industrie : 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 (**Patricia Becera Celis G., 2009**).

I.10.4.2. Production de biomasse à but alimentaire : Des microalgues comme source de nourriture vient des pratiques ancestrales de populations sujettes à la famine. Les chinois utilisaient la microalgues *Nostoc commune* pour assurer l'alimentation il y a plus de 2000 ans . Actuellement, la plus connue dans ce domaine est une microalgue appelée *Arthrospira platensis*, ou Spiruline, que l'on trouve comme complément à l'alimentation dans de nombreux pays comme le Japon, l'Inde ou le Mexique . Elle joue dans certains pays un rôle essentiel, comme sur les bords du lac Tchad, où elle est récoltée et consommée depuis toujours et représente actuellement la ressource principale pour faire face à la famine.

I.10.4.3. Production des molécules à haute valeur ajoutée : Alors que les applications alimentaires proviennent le plus souvent de coutumes ancestrales, la production de molécules à haute valeur ajoutée est beaucoup plus récente. Ces molécules peuvent être extraites lorsque leur concentration est suffisante. La microalgues est alors cultivée pour un élément particulier de sa composition. Parmi ces molécules on trouve : les pigments, les acides gras, les polysaccharides et les composés bioactifs.

I.10.5. 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 le CO₂ et pour produire de l'énergie propre comme les biocarburants (**Patricia Becera Celis G., 2009**).

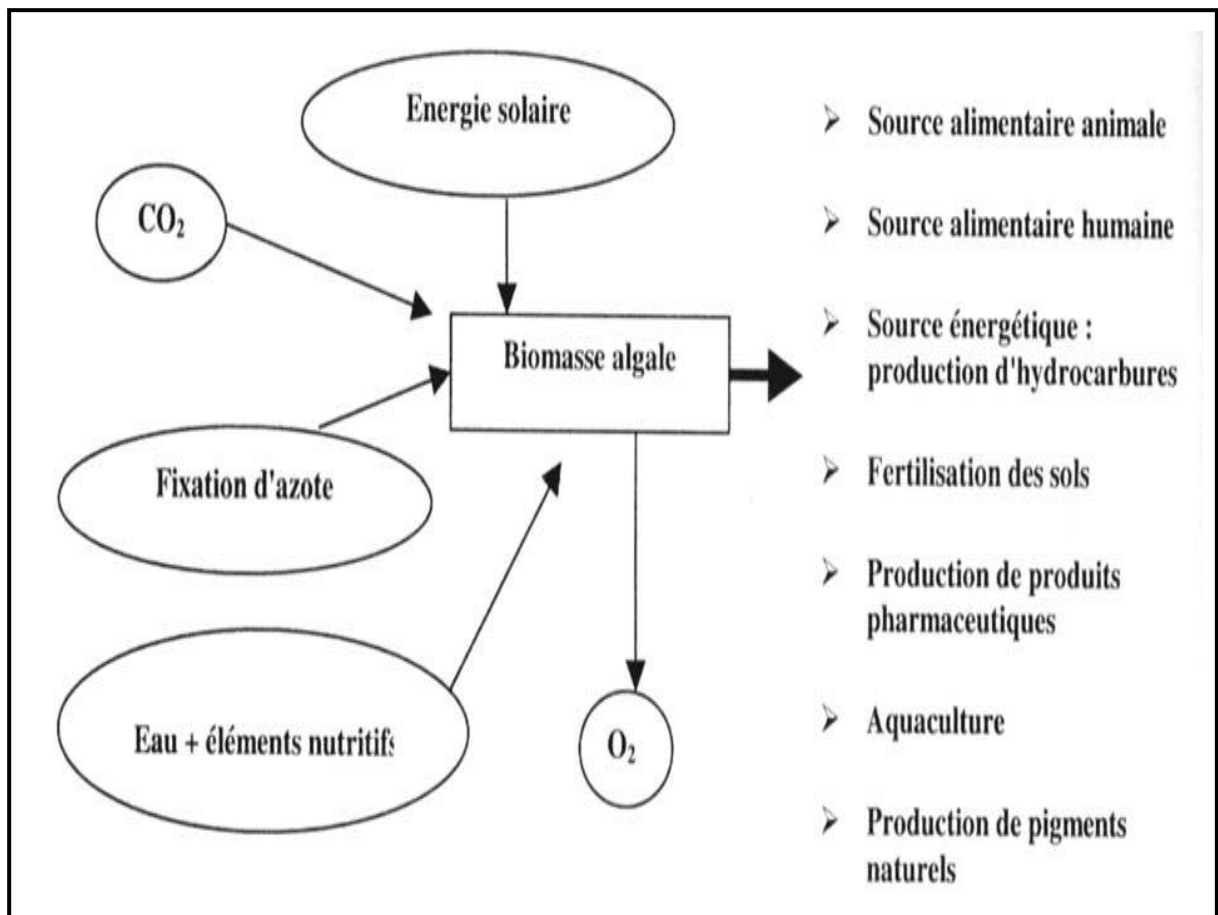


Figure 3 : Domaines d'application des algues microscopiques (Chader S et al., 2001).

II.1. Définition des lipides

Les lipides sont des substances d'esters d'acides gras à chaînes moyennes ≥ 10 C), longues ou très longues (≥ 20 C) (**Benlacheheb R., 2008**), qui contiennent les triglycérides (graisses neutres), les phospholipides et les stéroïdes (**Berrada S., 2009**). Ce sont un ensemble très hétérogène de composés faisant partie de la constitution des êtres vivants (**Maamri S., 2008**) à solubilité nulle ou faible dans l'eau mais par contre élevée dans les solvants organiques non polaires (**Chikhouné Anis M., 2010**), (chloroforme, cyclohexane, éther éthylique) (**Touitou Y., 2005**). Ce sont des molécules organiques hydrophobes ou amphiphiles (**Gnankon K., 2010**) possédant une tête polaire et une chaîne carbonée (**Contal E., 2010**) sont principalement constitués de carbone, d'hydrogène et d'oxygène et ont une densité inférieure à celle de l'eau (**Gnankon K., 2010**).

Plus de 90 % des lipides alimentaires sont présents sous forme de triglycérides, le restant étant composé du cholestérol, des cires et des phospholipides (**Benlacheheb R., 2008**). Les lipides représentent environ 20% du poids du corps humain et sont une réserve énergétique mobilisable stockée dans le tissu adipeux (**Gnankon K., 2010**).

II.2. Classification des lipides

On classe les lipides en deux grandes catégories : les lipides à base d'acides gras et les lipides à base d'isoprène (lipides polyisopréniques) (**Maamri S., 2008**). (figure 4)

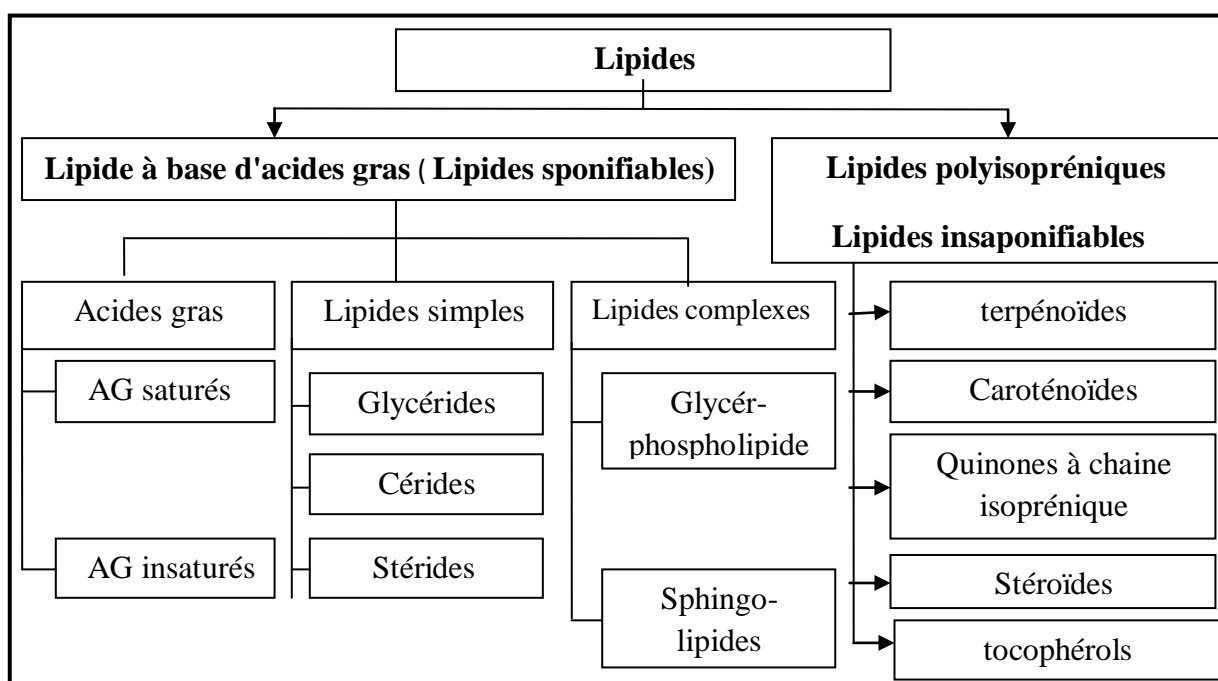


Figure 4: Classification des lipides (**Maamri S., 2008**).

Les lipides à base d'acides gras sont également appelés : lipides saponifiables (lipides qui, traités avec NaOH ou KOH, donnent du savon). En revanche, les lipides n'aboutissant pas à la formation du savon par traitement alcalin sont appelés: lipides insaponifiables (Maamri S., 2008).

II.2.1. Les acides gras : Un acide gras est un acide carboxylique à chaîne aliphatique, Il est le constituant naturellement retrouvé dans les lipides tels que les huiles et les graisses animales et végétales, ou les cires sous forme estérifiée (Gnankon K., 2010). Ils sont monoacides, linéaires, à nombre pair de carbone, soit saturés, soit insaturés (Touitou Y., 2005) Si toute la série allant de 2 à 38 atomes de carbone est représentée chez les êtres vivants, les termes à 16 et 18 atomes sont les plus abondants (Maamri S., 2008).(figure 5)

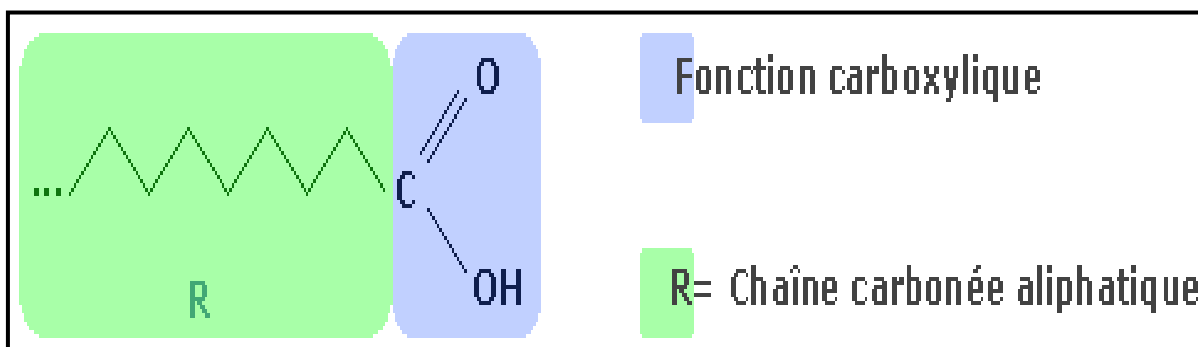


Figure 5 : Acide gras (Maamri S., 2008).

II.2.1.1. Les acides gras saturés : De formule générale $\text{CH}_3 - (\text{CH}_2)_n - \text{COOH}$, chaque acide gras est constitué par une chaîne hydrocarbonée, plus ou moins longue, fortement apolaire et un groupement carboxyle polaire (Berrada S., 2009), Les acides gras saturés sont présents dans le règne animal y compris chez les poissons sous forme de chaîne carbonée allant de 14 à 24 carbones. Cependant les acides gras les plus abondants sont le 16 C Acide palmitique et 18 C Acide stéarique (Touitou Y., 2005), et dans une moindre mesure le 20:0 (Peter M., 2008).

II.2.1.2. Les acides gras insaturés : Ils présentent dans leur molécule une ou plusieurs doubles liaisons. On dit qu'ils mono ou polyinsaturés. La présence de ces doubles liaisons leur confère des propriétés physico-chimiques particulières (Peter M., 2008), la position de la première double liaison peut s'exprimer :

- soit en partant du carboxyle (1er carbone) ; le symbole est Δ

- soit en partant du méthyle (dernier carbone) ; le symbole est oméga ω .

En médecine clinique et en biologie, la désignation des acides gras insaturés la plus courante est celle qui fait appel au symbole oméga (ω) (**Touitou Y., 2005**). (figure 6)

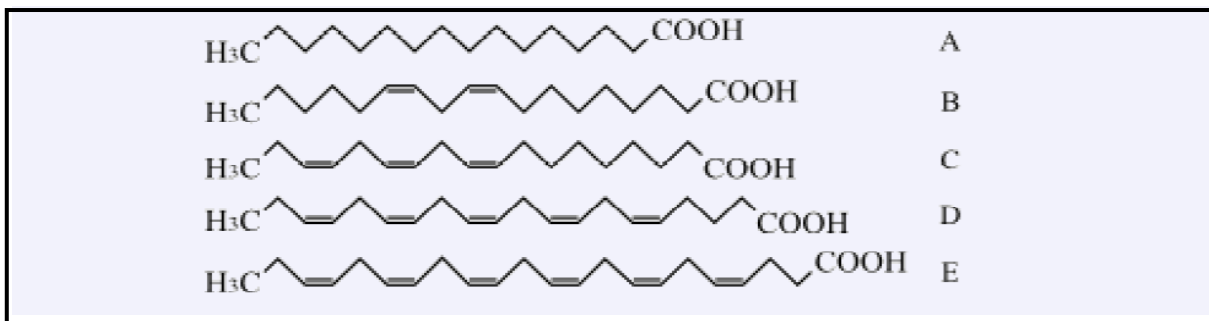


Figure 6 : Structure simplifiée de quelques acides gras. A) Acide palmitique (C16 :0). B)n Acide linoléique (C18 :2 ω 6). C) Acide α -linoléique (C18 :3 ω 3). D) Acide eicosapentaénoïque (C20 :5 ω 3, EPA). E) Acide docosahexaénoïque (C22 :6 ω 3, DHA) (**Godet S., 2008**).

II.2.2. Lipides simples(neutres)

Les lipides simples ou homolipides sont les lipides qui ne contiennent que le carbone, l'hydrogène et l'oxygène. Ils sont souvent des esters d'un alcool et d'acides gras (**Maamri S., 2008**). Les triglycérides constituent la classe la plus important des lipides neutres. Ils sont constitués d'une molécule de glycérol estérifiée par trois acides gras (**Peter M., 2008**), sont Classé les simples selon l'alcool qui estérifie l'acide gras en (**Hininger I., 2010**) :

- Glycéride ou glycérolipides (**Hininger I., 2010**), l'alcool est le glycérol (**Bouhadjra K., 2011**).
- Cérites: alcool à longue chaine (alcool gras) (**Hininger I., 2010**).
- stérides: l'alcools est un stérol (polycyclique) (**Bouhadjra K., 2011**).

II.2.2.1. Glycérides : Les glycérides sont des lipides simples aussi appelés graisses. Ce sont des esters du glycérol et d'acides gras (un, deux ou trois acides gras). Selon le nombre d'acides gras combinés au glycérol, on distingue les monoglycérides, les diglycérides et les triglycérides (**Maamri S., 2008**), les triglycérides également appelés triacylglycérols sont les plus abondants dans les cellules eucaryotes et ont été les plus étudiés. Ce sont des glycérides dans lesquels les trois groupements hydroxyles du glycérol (**Gnankon K., 2010**), Ils sont

formés par des réactions d'estérification du glycérol par 3 molécules d'acides gras (**Berrada S., 2009**). (figure 7)

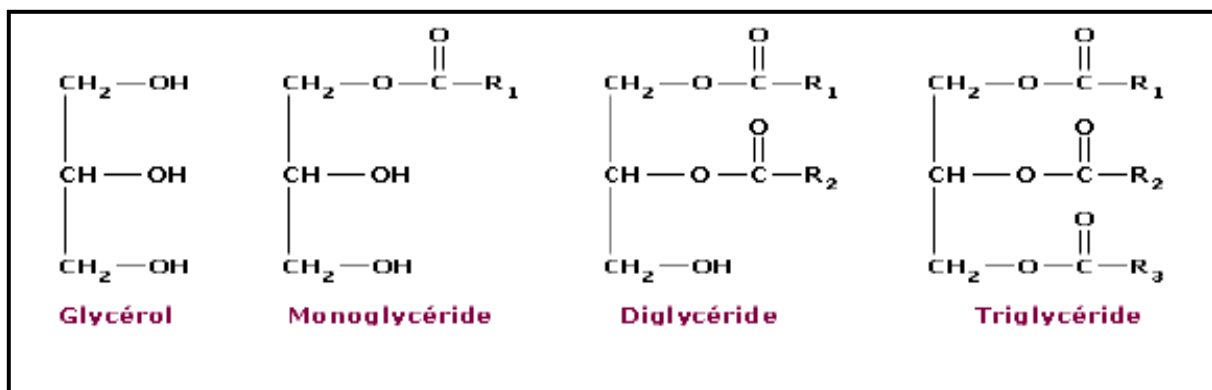


Figure 7 : Les glycérides (**Maamri S., 2008**).

II.2.2.2. Cérides : Les cérides sont également appelés cires. Ce sont des esters d'un alcool aliphatique primaire de longue chaîne, appelé alcool gras, et d'acides gras supérieurs à l'acide palmitique (16 atomes de carbones). Ils se trouvent aussi bien chez les végétaux que chez les animaux. Chez les végétaux, ils sont représentés par une cuticule plus au moins imperméable à la surface des feuilles et des fruits et jouent un rôle protecteur (**Maamri S., 2008**).

II.2.2.3. Stérides: Les stérols sont des lipides essentiels et spécifiques des cellules eucaryotes et sont bien représentés chez les animaux, Suivant l'origine des stérides, on distingue 3 groupes :les fungistérols (qui sont spécifiques aux champignons), les phytostérols (constituants de la partie insaponifiable des végétaux) et les zoo stérols (présents dans les tissus animaux) (**Maamri S., 2008**). Ils existent sous forme libre et sous forme estérifiée. Ils constituent une famille de lipides dérivés du noyau stérol dont le plus connu est le cholestérol. Les stérols constituent des tampons de fluidité, et de même que certains acides faibles constituent des tampons de pH, ils permettent de conserver une fluidité à peu près constante dans une gamme de température plus large (**Gnankon K., 2010**). (figure 8)

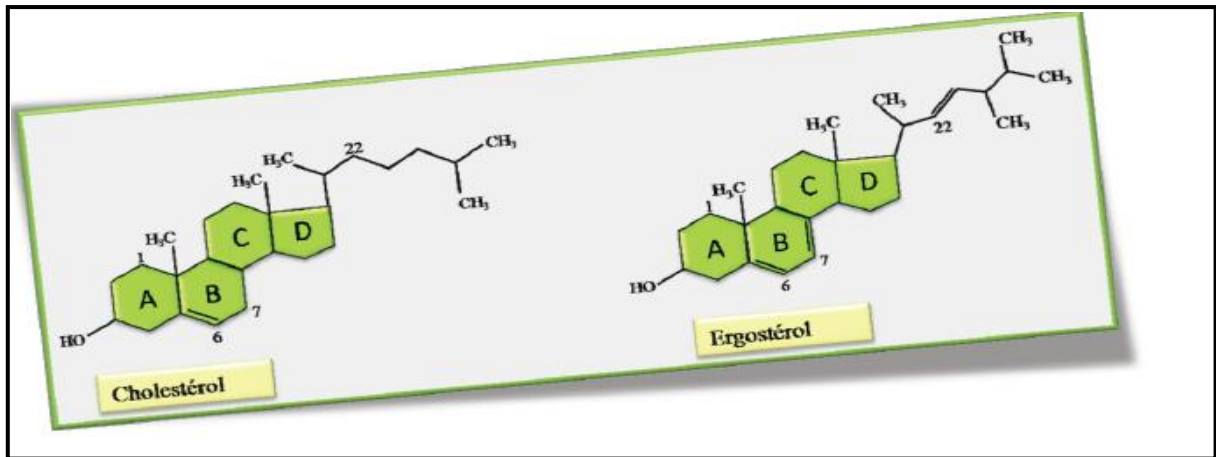


Figure 8 : Représentation de la structure du cholestérol et de l'ergostérol (Gnankon K., 2010).

II.2.3. Lipides complexes (polaire)

Les lipides complexes sont des lipides qui contiennent en plus du carbone, hydrogène et oxygène un ou plusieurs hétéroatomes (azote, phosphore, soufre). Suivant la nature de l'hétéroatome, on distingue : les lipides phosphorés, les lipides azotés et les lipides soufrés (Maamri S., 2008), Classés par rapport à molécule qui fixe les acides gras: Glycérophosphate (phosphoglycérolipides) et sphingosine (sphinglipides) (Hininger I., 2010). (figure9)

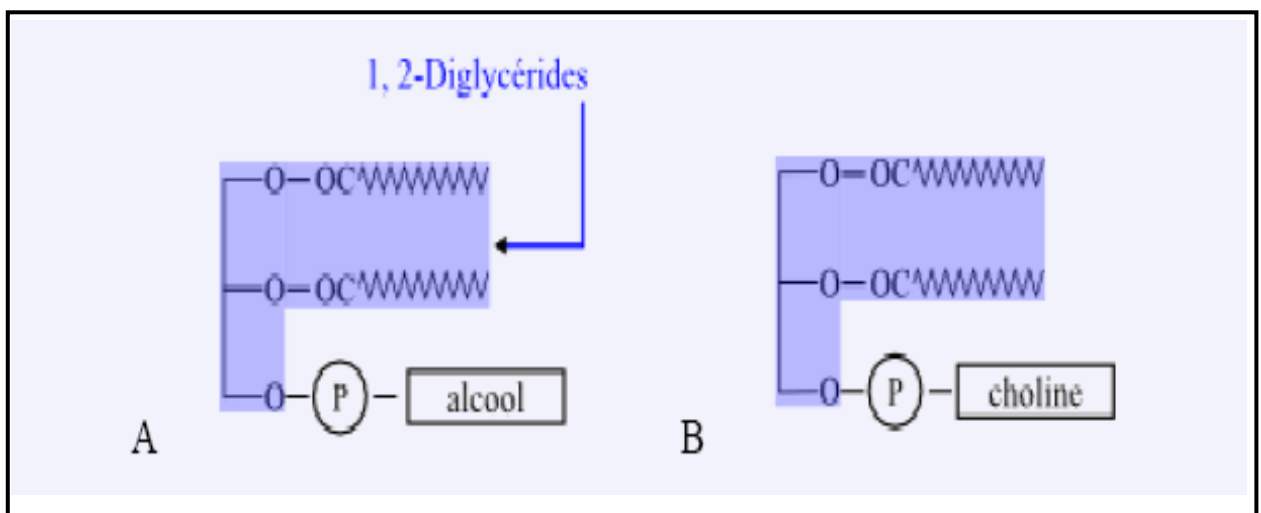


Figure 9 : Structure simplifiée des phospholipides. A) Structure générale. B) Exemple de phospholipide : la phosphatidylcholine (Godet S., 2008).

II.3. Métabolisme des lipides

II.3.1. La photosynthèse : Près de la moitié de l'activité photosynthétique sur Terre est réalisée par des organismes aquatiques qui ne représentent pourtant que 1 % de la biomasse totale. Ces microorganismes, les microalgues, constituent le phytoplancton et sont à l'origine de 90 % de la production primaire aquatique. C'est le processus par lequel les microalgues transforment l'énergie lumineuse en énergie chimique et fixent le carbone inorganique dissous (CID). Il en résulte la synthèse de matière organique et la production d'oxygène. Ainsi l'activité photosynthétique est la fixation du CO₂ et la production d'O₂ via les mécanismes de la photosynthèse. Elle se compose de deux phases indépendantes chimiquement et physiquement, mais liées par des intermédiaires communs et des régulations enzymatiques (**Clément-Larosière B., 2012**).

Le processus photosynthétique dans son ensemble peut être décrit par l'équation suivante :



Bien que les deux phases se déroulent toutes les deux dans le chloroplaste de la cellule, elles se localisent au niveau de sites distincts. L'oxydation de l'eau et la réaction photochimique ont lieu dans la membrane des thylakoïdes alors que la réduction de CO₂ se déroule dans le stroma des chloroplastes.

II.3.1.1. Réaction photochimique : C'est au sein de la membrane des thylakoïdes que se trouve l'appareil photosynthétique. Il est composé de pigments photosynthétiques associés à des photosystèmes I et II (PSI et PSII), d'accepteurs et de donneurs d'électrons. Le PSI et PSII sont aussi appelés respectivement PS 700 et PS 680. Les photosystèmes sont des complexes au sein desquels sont associées des protéines et des pigments. Le PSII comporte trois domaines : une antenne, un centre réactionnel et un complexe d'oxydation de l'eau. Et le PSI comporte une antenne et un centre réactionnel.

Les pigments photosynthétiques sont la chlorophylle a, b, c et d en fonction des espèces d'algues. Les chlorophytes ne contiennent que des chlorophylles a et b. La chlorophylle a est un pigment actif car elle capte et convertit l'énergie lumineuse en énergie chimique. Alors que la chlorophylle b est un pigment surnuméraire car elle ne fait que transmettre les photons à la chlorophylle a. Il existe d'autre type de pigments surnuméraires chez les algues vertes, appelés caroténoïdes qui en plus de capter la lumière sont impliqués dans la dissipation de l'excès d'énergie lié à un excès de lumière . Une fois que l'énergie lumineuse a atteint la chlorophylle a des centres réactionnels des photosystèmes, celle-ci passe à un état excité et expulse alors un électron. A partir de là va se dérouler le transport des

électrons au travers de différents accepteurs de l'appareil photosynthétique jusqu'à un accepteur final permettant la production de pouvoir réducteur NADPH. En parallèle la réaction de photosynthèse permet aussi la synthèse d'ATP. Il existe deux types de transport des électrons: cyclique et non cyclique (**Clément-Larosière B., 2012**) .(figure 10)

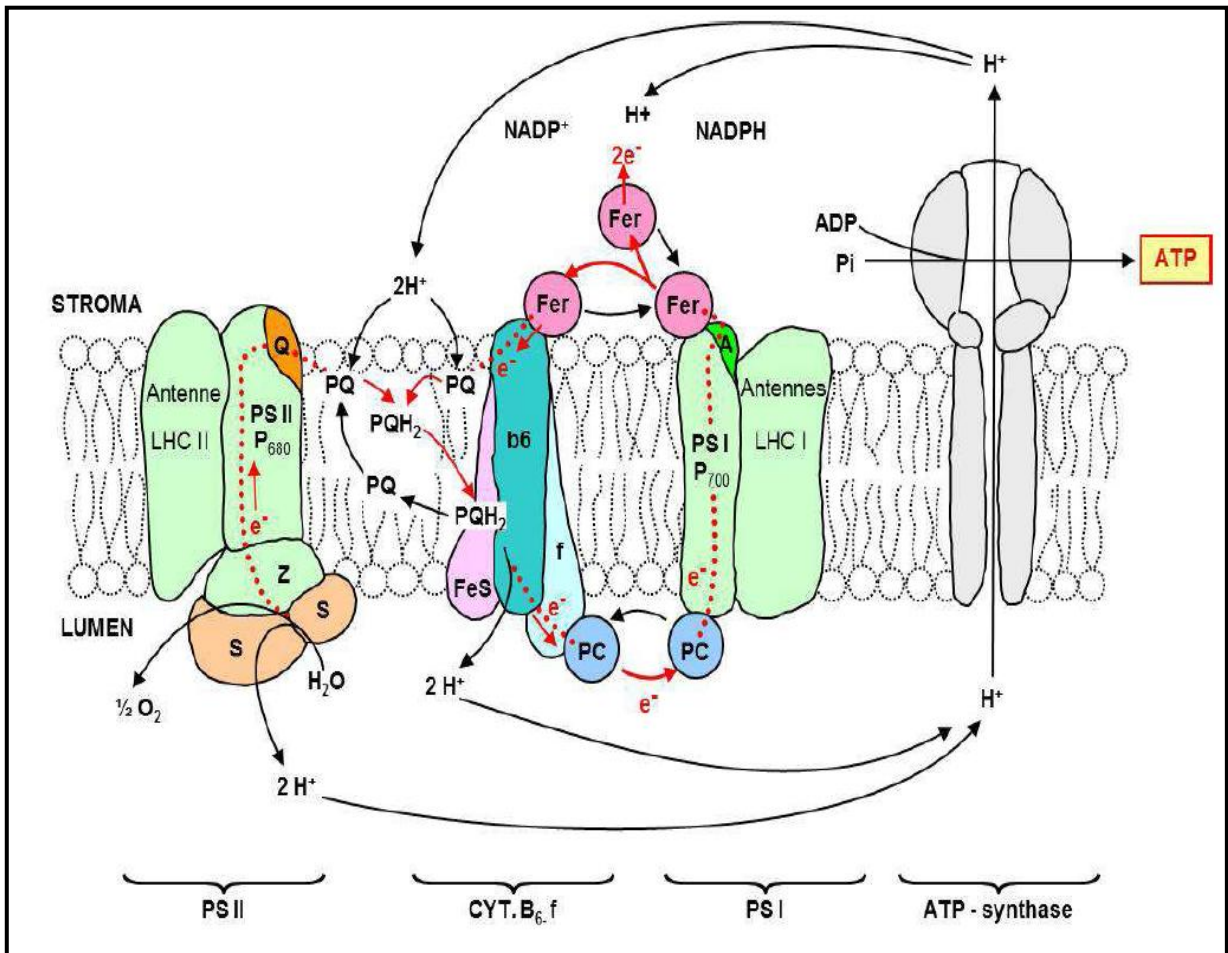


Figure 10 : Complexes macromoléculaires et transferts d'électrons et de protons au niveau de la membrane du thylakoïde. PSII : photosystème II, PQ : plastoquinone, PC : plastocyanine , b_{6,f}: cytochrome b_{6,f}, PSI : photosystème I, Fer : ferrédoxine (**Clément-Larosière B., 2012**).

II.3.1.2. Cycle de Calvin : Dans la cellule CO₂ va être intégré au cycle de Calvin, au niveau du chloroplaste. De ce processus va résulter la synthèse de matière organique.

Cette réaction peut s'écrire:



C'est l'enzyme Ribulose 1,5 bi phosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco) qui va catalyser cette réaction de carboxylation. CO₂ réagit avec le Ribulose-1,5-biphosphate pour donner le glycéraldéhyde 3-phosphate. Cette réaction nécessite un apport d'énergie sous

forme d'ATP et de NADPH. Le cycle de Calvin va consommer 95% du NADPH et plus de 60% de l'ATP générés lors de la phase photochimique. Les 5/6 du glycéraldéhyde 3-phosphate vont être utilisés pour fournir le cycle en Ribulose- 1,5-biphosphate et le 1/6 restant est exporté dans le cytoplasme de la cellule pour servir à la synthèse de molécules organique . Ces molécules organiques sont essentiellement des glucides et en faible proportion des acides organiques et acides aminés. Ces différentes molécules seront utilisées par la cellule pour la synthèse de nouveaux composés ou comme réserves. La fixation du CO₂ ne nécessite pas directement de lumière pour avoir lieu, c'est pourquoi elle est aussi appelé réaction sombre. Cependant de par sa dépendance énergétique aux produits de la photosynthèse, elle reste intimement liée à celle-ci. Bien que 95% du carbone organique des microalgues soit fixé par la Rubisco, il existe une autre voie de fixation du carbone appelée β-carboxylation (**Clément-Larosière B., 2012**) .(figure 11)

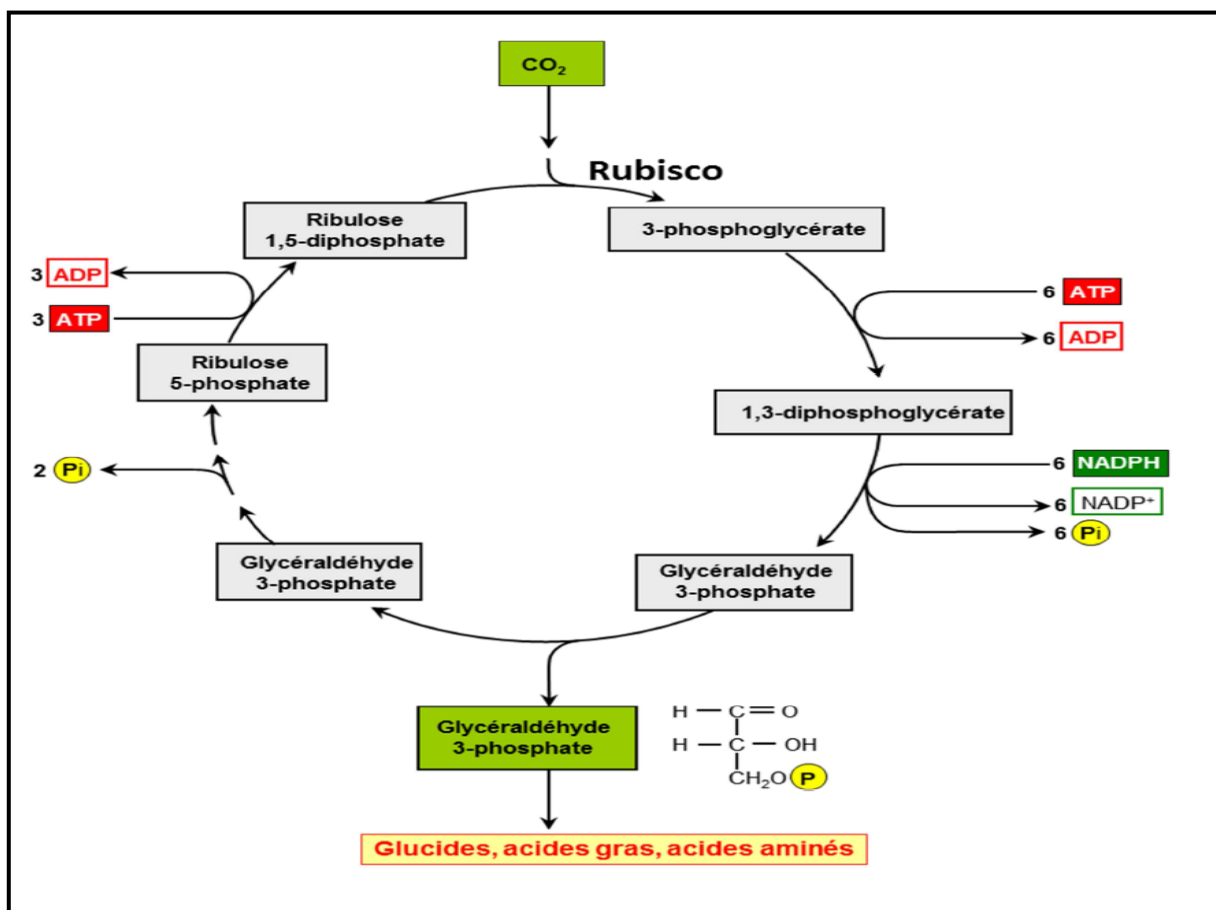


Figure 11 : Schéma du Cycle de Calvin. Les nombreux intermédiaires entre le glycéraldéhyde de 3-phosphate et le Ribulose 5-phosphate ne sont pas indiqués pour plus de clarté (**Clément-Larosière B., 2012**).

II.3.2. B-Oxydation mitochondriale des acides gras : une fois que les acyl-CoA provenant des acides gras (AG) sont entrés dans la mitochondrie, une série de transformations va progressivement et de façon répétée leur enlever deux atomes de carbone à chaque tour d'hélice. Cette série de transformations est appelée β -oxydation, et à chaque étape elle va produire : un FADH_2 , un NADH, H^+ et un acétyl-CoA par acyl-CoA (**Henrionet-Malgoyre A., 2006**). (figure 12)

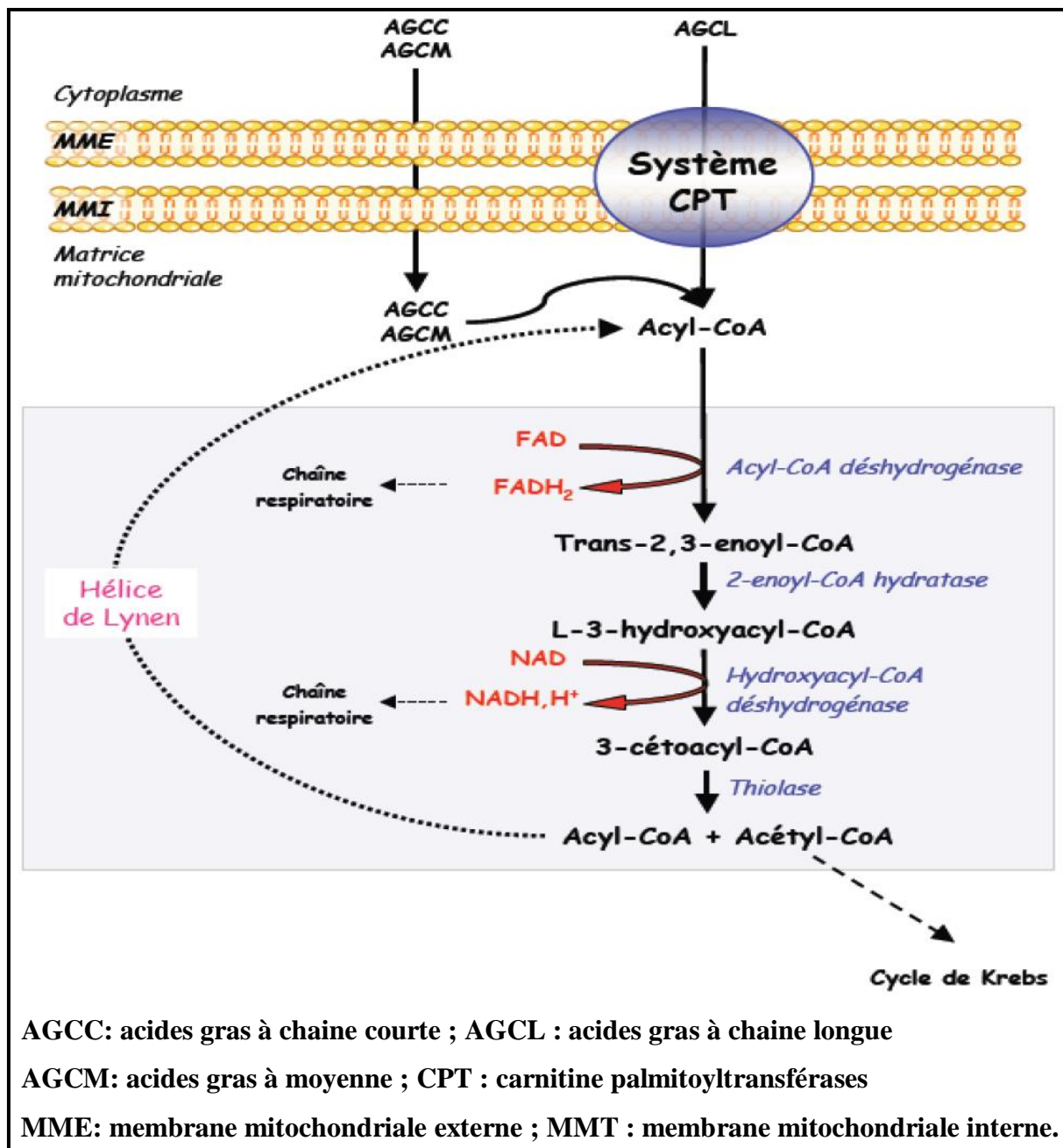


Figure 12 : les étapes biochimiques de la β -oxydation (Henrionet-Malgoyre A., 2006).

4. Propriétés des lipides:

II.4.1. Etat physique : Le point de fusion, donc l'état physique, dépend de :

- Les nombre d'atomes de carbone pour une série homologue: Exemple : les acides gras saturés ayant moins de 10 atomes de carbone sont des liquides, volatils pour les premiers termes, huileux pour les derniers. Ils sont entraînés par la vapeur d'eau. Les acides gras renfermant 10 atomes de carbone ou plus sont solides et le point de fusion s'élève régulièrement dans la série.
- Les taux d'insaturation: Dans la série des acides gras à 18 atomes de carbone, l'acide stéarique est solide ($T_f = + 69 \text{ °C}$) (Maamri S, 2008), alors que les acides oléique , linoléique, linoléique sont liquides (T_f respectives $+ 16 \text{ °C}$, $- 5 \text{ °C}$, $- 11 \text{ °C}$) (Bouhadjra K., 2011).

II.4.2. Solubilités

II.4.2.1. Les acides gras : Leur solubilité est liée à la structure de type bipolaire de leurs molécules. L'hydrophobie de leur chaîne hydrocarbonée apolaire l'emporte sur la faible hydrophile de leur carboxyle peu dissocié. Seuls les premiers termes sont solubles dans l'eau, les homologues supérieurs étant insolubles. Comme toutes les molécules possédant cette structure bipolaire, les acides gras ont tendance, en fonction de la présence d'eau, à s'associer en ensembles orientés. Ainsi, selon l'état de l'acide gras et la nature des phases constituant l'interface, les molécules s'orientent en fonction des polarités pour constituer des structures feuilletées (films) ou micellaires.

II.4.2.2. Les phospholipides : Au contact de l'eau, on observe, avec ces molécules polaires, la formation de structures orientées micellaires ou feuilletées. Ces associations, qui sont des auto-assemblages, modifiables réversiblement, sont étudiées afin d'apporter des résultats relatifs à la compréhension de la structure des membranes cellulaires. Les principes sur lesquels sont fondées ces associations sont basés sur la bipolarité de ces molécules (Berrada S., 2009).

II.4.2.2.1. Formation de structures feuilletées : L'organisation moléculaire, se formant de façon spontanée lorsqu'on verse des phosphoaminolipides à la surface de l'eau, est la bicouche lipidique qui ressemble à la couche biomoléculaire de ces molécules dans les membranes. La structure de cette bicouche est assurée par des liaisons qui stabilisent l'édifice:

- liaisons entre les queues hydrophobes (interactions hydrophobes).

- liaisons entre les pôles hydrophiles et l'eau (liaisons électrostatiques ion-dipôle et dipôle-dipôle). Ces bicouches lipidiques présentent une certaine fluidité, chacune des couches peut se déplacer par rapport à l'autre sans qu'il puisse y avoir d'échanges entre les constituants de l'une et de l'autre .

II.4.2.2.2. Formation de structures micellaires : Si au lieu de verser les phospholipides à la surface de l'eau on provoque la formation d'une émulsion, l'organisation des phospho- amino-lipides est micellaire (**Berrada S., 2009**).

II.5. Rôle de lipide

Les lipides représentent environ 20 % du poids du corps (**Hininger I., 2010**).

- Ils sont une réserve énergétique mobilisable : 1g lipides → 9 Kcal
- Ils ont un rôle de précurseurs : stéroïdes, vitamines, prostaglandines.
- Deux acides gras polyinsaturés sont des facteurs nutritionnels essentiels car ils ne sont pas synthétisés par l'organisme et doivent lui être apportés par l'alimentation. Ce sont des acides gras indispensables : acide linoléique et acide linoléique.
- Les membranes ont une structure lipidique.
- Les plaques d'athérome constituées de dépôt lipidique entraînent le durcissement des artères (athérosclérose) (**Touitou Y., 2005**).

I.6. Les applications des lipides

II.6.1. Applications technologiques

II.6.1.1. Emulsions : Une émulsion est une dispersion d'un liquide ou d'un gaz dans un autre liquide. Pour que cette dispersion soit classée dans la catégorie des émulsions, il faut qu'elle soit stable, c'est-à-dire que les deux phases mélangées ne reforment pas naturellement deux phases distinctes (**Berrada S., 2009**). Ainsi, lorsqu'un mélange de l'eau et de l'huile, l'huile tend à remonter à la surface du fait de sa plus faible densité. Dans toute émulsion, il faut donc un agent qui permette de garder les gouttelettes dispersées malgré les forces gravitationnelles; ce sont des molécules tensioactives qui vont jouer ce rôle. En cuisine, celles-ci sont des protéines qui possèdent un pôle hydrophile (affinité pour l'eau) et un pôle lipophile (affinité pour les lipides). Ces molécules tensioactives permettent donc la formation de gouttelettes stables : les micelles. L'œuf est particulièrement riche en protéines tensioactives, aussi bien dans le jaune que dans le blanc (il est plus difficile d'obtenir des émulsions à partir du jaune d'œuf, cela vient du fait que les lipides contenus dans le jaune

viennent se placer sur les pôles lipophiles des protéines et rendent ainsi l'émulsion plus difficile à obtenir) (**Berrada S., 2009**).

II.6.1.2. Hydrogénation

L'hydrogénation des lipides est un procédé visant à rendre les huiles solides ou semi-solides (margarines) et moins sensibles à l'oxydation (rancissement). Les acides gras partiellement hydrogénés sont utilisés dans l'industrie agroalimentaire comme agents de texture pour rendre les aliments plus fermes ou comme conservateurs pour éviter le rancissement. L'hydrogénation des acides gras insaturés se fait en employant l'hydrogène (H₂) sous une pression de 100 à 200 bars, une température de 200 à 400 °C et en présence de catalyseurs (platine, nickel, zinc ...). Dans ces conditions, les acides gras insaturés fixent l'hydrogène pour donner des acides gras saturés.

La réaction d'hydrogénation présente des inconvénients, surtout quand elle est partielle. Il s'agit de la formation d'isomères géométriques Cis et Trans. Ces derniers sont moins digestibles que les isomères Cis et sont impliqués dans des maladies d'athérosclérose (plaques d'athéromes qui se constituent dans la paroi artérielle par accumulation de lipides et de tissu fibreux) (**Berrada S., 2009**).

II.7. Lipide chez les microalgues

Les lipides sont normalement retrouvés dans le cytoplasme des microalgues. Ils sont sous forme de réserves incluses dans le cytoplasme mais aussi sous forme de composés fonctionnels des membranes. Dans certains cas, ils sont excrétés sous forme de globules oléagineux dans la matrice extracellulaire des colonies de microalgues. Les acides gras constituent la plus importante composante de la fraction lipidique, comprenant entre 20 et 40 % des lipides totaux extractibles. Le nombre de doubles liaisons peut aller jusqu'à 6. Les acides gras comportant un nombre multiple de doubles liaisons, sont dénommés acides gras polyinsaturés et ceux qui ont un nombre élevé d'insaturations (plus grand que 4) sont appelés acides gras hautement insaturés. La composition lipidique des microalgues peut dans certains cas être régulée par l'addition ou le retrait de certaines substances de leur milieu de culture. C'est ainsi que les différents stress nutritionnels (azote ou silicate) peuvent augmenter la production de lipides (**Diouf D., 2009**).

III.1. Définition de biodiesel

Le biodiesel est un biocarburant obtenu à partir d'huile végétale ou animale, transformée par un procédé chimique appelé transestérification faisant réagir cette huile avec un alcool (méthanol ou éthanol), afin d'obtenir un Ester Méthylique des Huiles Végétales (EMHV) (selon l'alcool utilisé) (**Sadia D., 2012**). Il est produit actuellement par certaines compagnies, et ce, en mode hétérotrophe. Les techniques utilisées diffèrent tant au niveau de l'alimentation en substrat qu'au niveau des techniques de récolte et d'extraction. Les principaux joueurs ainsi que les techniques les plus couramment utilisées seront présentés (**Cantin I., 2010**). Ce produit est un carburant propre qui peut être mélangé au diesel fossile, du fait que leurs propriétés physiques sont similaires et compatibles (**Sadi M., 2012**). On peut l'utiliser à une concentration de 100 % (B100) mais aussi le mélanger avec du pétrodiesel dans différentes proportions dont les plus courantes sont 2 % (B2), 5 % (B5) et 20 % (B20). Il est facile d'utilisation car, à la différence d'autres carburants de remplacement, il n'exige pas de modifications aux infrastructures de livraison de carburant ni au moteur diesel des véhicules actuels. Il peut également être utilisé sans problème pour le chauffage des espaces, comme biomazout et peut s'adapter à tous les usages (**Anonyme., 2006**). Contrairement au pétrodiesel, qui est formé de plusieurs hydrocarbures composés uniquement d'atomes de carbone et d'hydrogène, le biodiesel contient de l'oxygène (**Brodeur C et al., 2008**). Le biodiesel est par ailleurs biodégradable, ce qui n'est pas le cas du pétrodiesel (**Mesbahi D., 2012**).

III.2. Biodiesel de première ,deuxième et troisième génération

III.2.1. Le biodiesel de première génération: le biodiesel de première génération appelés EMHV (**Mélanie et al., 2008**) provient des huiles végétales et animales (**Biaou G., 2010**). Pour la fabrication du biodiesel de 1ère génération, on utilise principalement des plantes oléagineuses tel que le soja (*Glycine max*), le canola (*Brassica napus*), le tournesol (*Helianthus annuus*) etc (**Mélanie et al., 2008**). On peut produire du biodiesel par transestérification de l'huile végétale ou de l'éthanol par fermentation des sucres de synthèse des plantes. Les biodiesels de première génération exigent une grande surface de la terre cultivable, une quantité d'eau importante, de la machinerie agricole, un apport d'engrais et l'utilisation de pesticides. De plus, la culture de matière végétale pour la production de biocarburants entre en concurrence avec le marché alimentaire, et la surface terrestre nécessaire pour remplacer le carburant fossile est irréaliste (**Bélaïr V., 2012**). La première génération de biodiesel suscite une controverse de par son impact sur la sécurité alimentaire et

l'environnement (**Bélaïr V., 2012**).Le développement des biodiesels de première génération est accusé de tirer vers le haut le prix des produits de 1^{ère} nécessité tels que le maïs, du soja et du blé etc. D'où la nécessité de se tourner complètement vers une nouvelle génération de biocarburants (**Jean Guy S., 2011**).

Trois procédés différents sont mis en oeuvre afin d'obtenir du biodiesel, il s'agit:

-de la transestérification par le méthanol qui consiste en la réaction d'un ester sur un alcool pour donner un autre ester. Dans le cas du biodiesel, par exemple en utilisant de l'huile de colza, il s'agit de la réaction du trilinoléate de glycéryle par le méthanol qui nous donne de l'EMHV et du glycérol (**Mélanie et al., 2008**).

- d'un procédé plus récent qui a été développé : la catalyse hétérogène diffère de la transestérification par l'absence de sels dans les produits de réaction, et du fait que le biodiesel et la glycérine obtenus sont plus purs. De plus, la glycérine obtenue peut être valorisée plus facilement, c'est le procédé Esterfip-H.

- de l'hydrogénation qui transforme les triglycérides d'huiles végétales en leurs alcanes correspondant ; à la place du méthanol on utilise de l'hydrogène. C'est une entreprise finlandaise « Neste » qui détient le brevet de ce procédé (**Mélanie et al., 2008**).

III.2.2. Le biodiesel de deuxième génération:les biodiesels de deuxième génération qui valorisent la biomasse ligno-cellulosique d'origine forestière et agricole : bois, paille, déchets végétaux (**Biaou G., 2010**), issus de la transformation de la biomasse lignocellulosique. Cette ressource est disponible en grande quantité sous diverses formes : bois, paille, foin, déchets forestiers etc. Les filières de 2^{ème} génération n'entrent pas en concurrence avec les usages alimentaires. Leur objectif est de produire des carburants utilisables directement ou en mélange avec les essences, le gazole et le kérosène. Deux voies de production sont utilisées au niveau mondial : la conversion biochimique et la conversion thermochimique(**Jean Guy S., 2011**).Ce produits à partir de matière résiduelle ligneuse, dont les résidus agricoles industriels ou le bois de culture dédiés . Les biodiesel de deuxième génération présentent des coûts de production élevés et les technologies sont en développement (**Bélaïr V., 2012**). Le procédé de fabrication est quant à lui différent, en effet, pour aboutir à du biodiesel, on utilise la voie thermochimique de production de carburant diesel de synthèse BtL (Biomass to Liquid). Cette voie thermochimique se décompose en deux parties principales : la pyrolyse et la gazéification (**Mélanie et al., 2008**).

III.2.3. Le biodiesel de troisième génération :C'est probablement a partir des cultures de microalgues (**Jean Guy S., 2011**), que des agro carburants , Ces organismes sont très productifs, n'entrent pas en concurrence avec le marché alimentaire, utilisent des surfaces non cultivables, permettent la biofixation du CO₂ et le traitement des eaux usées. La biomasse résiduelle génère des produits à haute valeur ajoutée, une source protéinique ou d'engrais. La biomasse microalgale joue un rôle de premier plan dans la résolution de crises énergétiques et alimentaires (**Bélaïr V., 2012**), de troisièmes génération ,pourront être produits avec les meilleurs rendement, rendant ainsi envisageable une production de masse, sans déforestation massive ni concurrence avec les cultures alimentaires (**Touati I., 2013**).

III.2.3.1. les microalgue pour le biodiesel :Le contenu lipidique dans les micro algues dépend des conditions de culture. Une carence en nitrate est utilisée pour orienter le métabolisme vers l'accumulation de lipides, notamment des triacylglycérols (TAG), intéressants pour la production de biodiesel.Les micro algues contiennent une mixture d'acides gras insaturés, notamment l'acide palmitoléique, l'acide oléique, l'acide linoléique et l'acide linoérique ainsi que des acide gras saturés, a titre d'exemple, l'acide palmitique et l'acide stéarique. Les souches micro algales comme *Chlorellavulgaris*, *Spirulina maxima*,*Chlamydomonas reinhardtii*, *Nannochloropsis s*,*Neochlorisoleoabundans*, *Scenedesmusobliquus*, *Nitzchiasp.*, *Schizochytriumsp.*, *Chlorellaprotothecoides*, *Dunaliellatertiolecta*ont été sélectionnées par plusieurs auteurs comme étant les espèces les plus productives de point de vue lipides, autrement dit comme meilleurs sources pour la production du biodiesel. Dans le cas de *Chlorellaprotothecoides*, les cellules sont récoltées par centrifugation, rincées à l'eau distillée puis séchées est transformée en poudre par le processus de lyophilisation. L'extraction de l'huile se fait par le broyage de la poudre de *Chlorellaprotothecoides* dans un mortier avec l'ajout de l'hexane. Par la suite, le biodiesel est obtenu par transestérification de l'huile extraite auparavant (**Sadi M., 2012**). (Tableau 3)

La teneur en huile de certaines microalgues dépasse 80 % de leur poids secet. On produit principalement du biodiesel à partir de cultures oléagineuses comme le soja et le palmier à huile ; toutefois, leur rendement en huile est extrêmement réduit (moins de 5 % de la biomasse totale) comparé à celui des microalgues, Par conséquent, ces cultures ne peuvent servir qu'à produire une faible quantité de biodiesel qui sera mélangé à du pétrodiesel à hauteur de quelques pourcents (**Chisti Y., 2008**).

Tableau 3: Comparaison entre les microalgues et d'autres matières premières pour l'obtention de biodiesel (Lohéziec F., 2012).

Source végétale	Teneur en huile (% d'huile dans la biomasse)	Rendement en huile (L d'huile/ha/an)	Surface utilisée (m ² /an/kg de biodiesel)	Productivité en biodiesel (kg de biodiesel/ha/an)
Maïs (<i>Zea mays</i>)	44	172	66	152
Chanvre (<i>Cannabis sativa</i>)	33	363	31	321
Soja (<i>Glycine max</i>)	18	636	18	562
Jatropha (<i>Jatropha curcas</i>)	28	741	15	656
Cameline (<i>Camelina sativa</i>)	42	915	12	809
Colza (<i>Brassica napus</i>)	41	974	12	862
Tournesol (<i>Helianthus annuus</i>)	40	1 070	11	946
Ricin commun (<i>Ricinus communis</i>)	48	1 307	9	1 156
Palmier à huile (<i>Elaeis guineensis</i>)	36	5 366	2	4 747
Microalgue (faible teneur en huile)	30	58 700	0.2	51 927
Microalgue (teneur en huile moyenne)	50	97 800	0.1	86 515
Microalgue (forte teneur en huile)	70	136 900	0.1	121 104

III.3. Les principaux processus des produits de biodiesel

III.3.1. L'extraction de huiles : Il existe plusieurs méthodes permettant l'extraction des huiles microalgales. Cependant, ces techniques sont encore une fois très dispendieuses et représentent 50 % du coût total de production et 90 % de la consommation totale énergétique lorsque l'extraction nécessite une étape préliminaire de séchage. En effet, il est estimé que le plus faible coût pour l'huile extraite de biomasse se situe à environ 2,80 \$/Litre, alors que l'huile de palme se vendait à 0,52 \$/Litre en 2006. Les principales techniques utilisées sont peu nombreuses pour le moment et requièrent l'utilisation, soit de méthodes physiques ou encore chimiques (Cantin I., 2010).

III.3.1.1. Le pressage mécanique : Est une technique physique utilisée suite au séchage de la biomasse algale. Elle permet de récupérer de 70 à 75 % de l'huile contenue dans

les algues et est fréquemment utilisée en combinaison avec l'extraction par l'utilisation de solvants. Certains solvants comme le benzène peuvent être utilisés, alors que l'hexane est celui le plus fréquemment utilisé en raison, notamment, de son faible coût. C'est donc suite au pressage qu'une solution de cyclohexane peut être ajoutée pour extraire les huiles résiduelles. La séparation du solvant et des huiles est réalisée par distillation. La combinaison de ces deux techniques permet d'atteindre une efficacité de récupération de 95%. L'extraction des huiles en utilisant l'hexane peut aussi être réalisée seule comme unique technique d'extraction.

III.3.1.2. L'utilisation du CO₂ : Comme solvant permet aussi la récupération des huiles et il s'agit d'une méthode particulièrement efficace qui permet de récolter approximativement 100% de l'huile. Afin de permettre au CO₂ d'agir comme un solvant, celui-ci est liquéfié par l'application d'une pression importante et chauffé afin que celui-ci puisse posséder les caractéristiques d'un gaz et d'un liquide simultanément. Cette technique d'extraction au CO₂ supercritique nécessite toutefois des appareils particuliers afin que la pression puisse être maintenue.

III.3.1.3. L'extraction enzymatique : Est réalisée par l'utilisation d'enzymes qui permettront de dégrader les parois cellulaires des algues. Cette réaction est toutefois plus dispendieuse que celle à partir de l'hexane.

III.3.1.4. Le choc osmotique : Consiste à provoquer une réduction de la pression osmotique, ce qui permettra une rupture des parois cellulaires des microalgues. Pour ce faire, un réacteur à ultrasons est nécessaire. L'action des ultrasons dans les milieux liquides entraîne la création de bulles suite à l'exposition à l'onde de pression osmotique. Il s'agit du phénomène de cavitation. Lorsque ces bulles entrent en collision avec une surface solide, il y a implosion et décapage de la surface solide. Cette technique permet donc de briser les parois des microalgues pour permettre d'en libérer le contenu (**Cantin I., 2010**).

III.3.2. La transesterification : Est une réaction catalytique homogène ou hétérogène des triglycérides (Les triglycérides des huiles sont des esters de glycérol, encore désigné sous le nom de glycérine, et d'acides gras R-COOH (**Touati I., 2013**) et d'alcool (**Mesbahi D., 2012**) en présence d'un catalyseur (KOH ou NaOH) ou sans présence (**Sadi M., 2012**). Il est équilibrée. Le catalyseur est un acide ou une base au sens de Bronsted et/ou de Lewis. Si l'alcool est le méthanol on a une méthanolyse, si l'alcool est l'éthanol on a une éthanolyse. Ce procédé modifie chimiquement la structure du corps gras (huile) à l'aide d'un

alcool afin de former des composés de type ester, composante principale du biodiesel (**Touati I., 2013**). Dans le cas d'une trans-estérification sans catalyseurs, la réaction se fait dans un autoclave à 246,85°C (**Sadi M., 2012**). (figure 13)

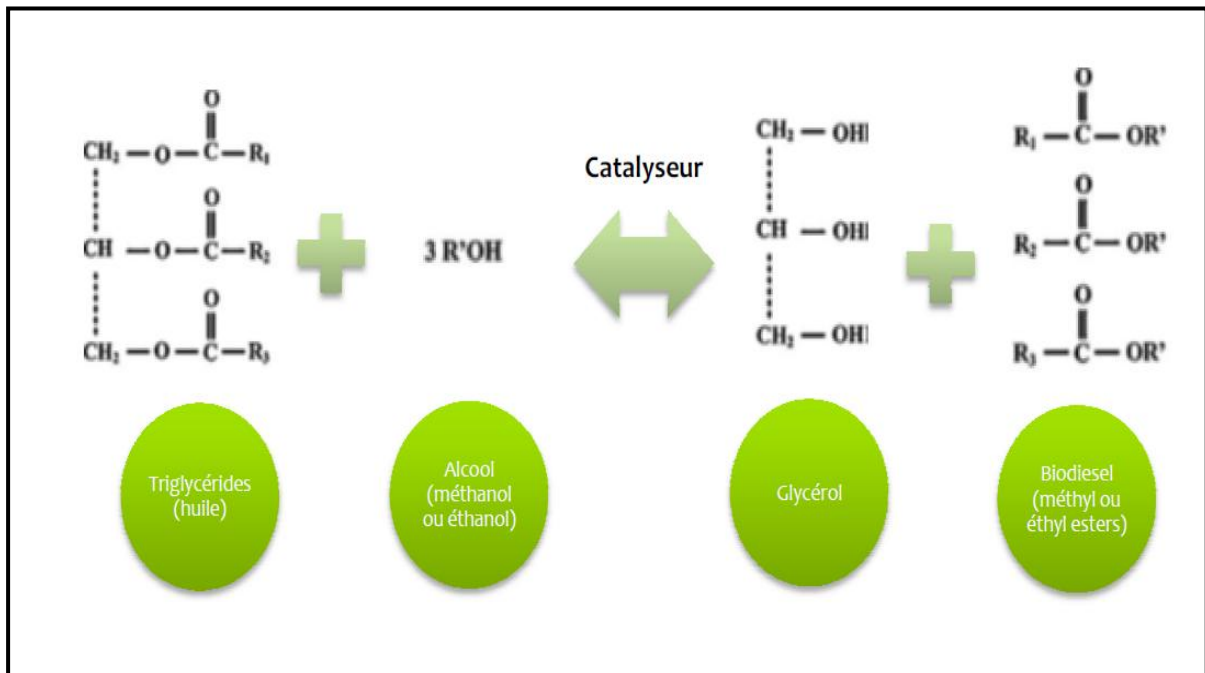


Figure 13 : Transestérification en une seule étape des triglycérides en biodiesel (Lohéziec F., 2012).

III.3.2.1. Les étapes de transestérification : La méthode transestérification est une méthode différente des autres et qui a sa particularité d'être simple à manipuler et à moindre coût. Chimiquement elle consiste à ôter la molécule de glycérine des chaînes d'acides gras (huiles de palme, maïs, arachide et coton) et de substituer dans chacune d'elles par une molécule d'alcool léger. Ce mécanisme de modification des structures des corps gras comprend les étapes suivantes (**Bonoma B., 2011**) :

III.3.2.1.1. La réaction : La production du biodiesel nécessite un réactif de type alcool (méthanol ou éthanol) ainsi qu'un catalyseur (l'hydroxyde de potassium ou l'hydroxyde de sodium) pour accélérer la réaction. Le catalyseur est ensuite dissout dans l'alcool à l'aide d'un agitateur. Le mélange (alcool +catalyseur) est ensuite placé dans un réacteur fermé dans lequel on ajoute l'huile. La réaction s'effectue à une température supérieure au point d'ébullition de l'alcool (70°C) afin d'en accélérer la vitesse. Le temps de la réaction varie entre 12h et 24h (**Mesbahi D., 2012**).

III.3.2.1.2. La séparation : La réaction précédente génère deux nouveaux produits : le glycérol et le biodiesel (ester) auxquels demeure mélangé l'alcool en excès utilisé lors de la réaction. Le glycérol étant plus dense que le biodiesel, les deux phases peuvent être séparées de façon gravitaire en recueillant le glycérol par le bas du réservoir de décantation (**Bonoma B., 2011**). Un décanteur centrifuge peut aussi être utilisé pour accélérer cette séparation (**Brodeur Cet al.,2008**).

III.3.2.1.3. Récupération de l'alcool : Après séparation du glycérol et du biodiesel, l'excès d'alcool dans chacune des phases est enlevé par évaporation ou par distillation. L'alcool ainsi recueilli est par la suite réutilisé dans le procédé (**Bonoma B., 2011**).

III.3.2.1.4. La neutralisation du glycérol : Le glycérol à cette étape peut contenir de l'eau, du savon, de l'alcool et des traces de catalyseur non utilisé. Le glycérol est un liquide transparent, visqueux, sirupeux et non toxique qui connaît plusieurs applications : fabrication des produits pharmaceutiques et cosmétiques, alimentation humaine (**Touati I., 2013**), le glycérol est distillé afin d'obtenir un degré de pureté supérieur à 99 % (**Brodeur C et al.,2008**).

III.3.2.1.5. Lavage du biodiesel : Selon le procédé et l'utilisation finale du biodiesel, il peut être purifié par lavage à l'eau froide ou tiède afin d'éliminer les résidus de catalyseur et les autres impuretés. Le biodiesel ainsi produit est un liquide qui dépend de la couleur de l'huile ; il est un liquide ambre-jaune d'une viscosité similaire au pétrodiesel (**Brodeur Cet al.,2008**). Le rendement de la transformation de l'huile en biodiesel avoisine les 100% (**Bonoma B., 2011**). (figure14)

Ce processus est résumé dans le schéma suivants :

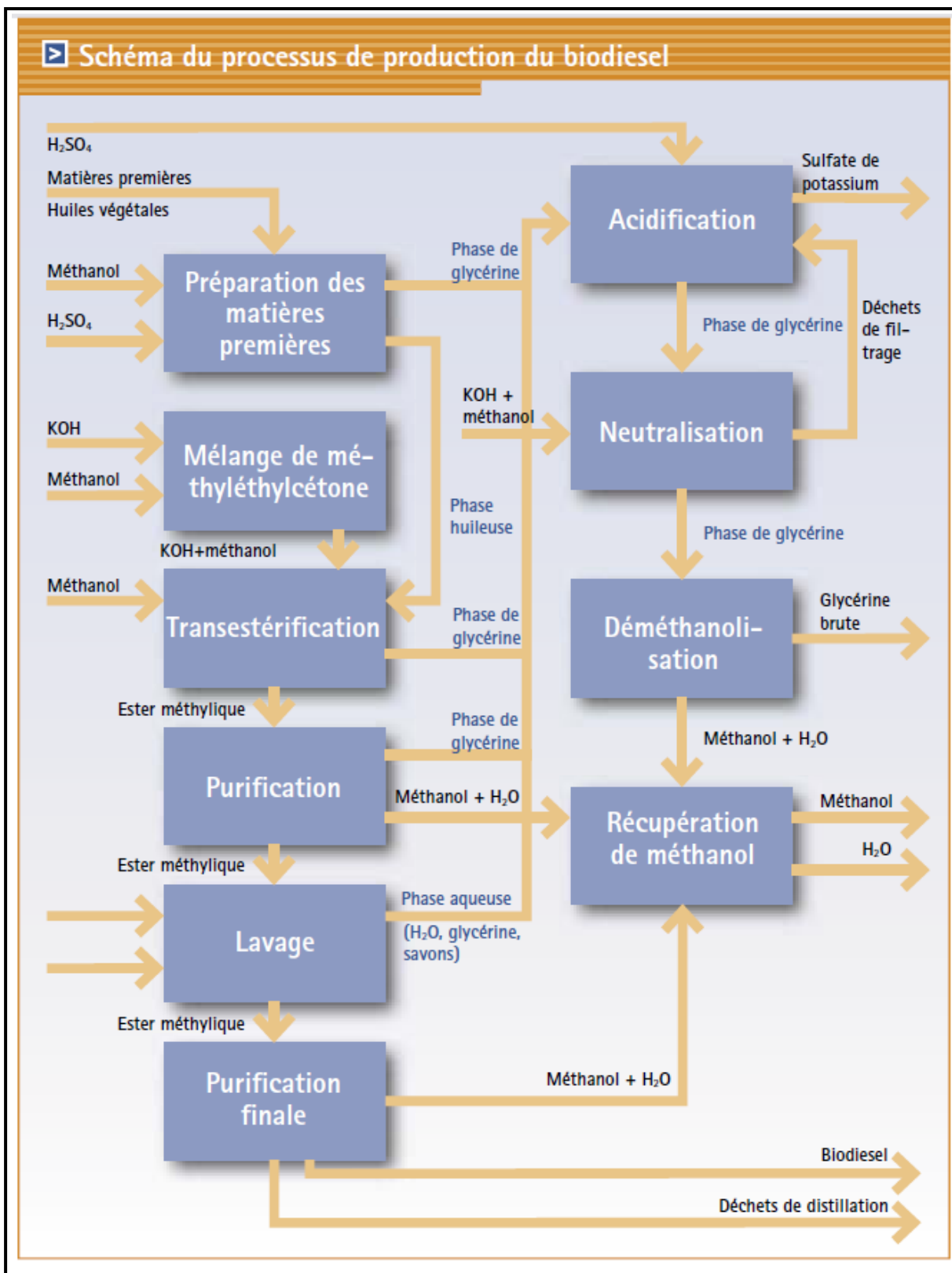


Figure 14 : Schéma du processus de production du biodiesel (Hurel JLet al., 2006).

III.4. production mondiale de biodiesel

Les plus gros producteurs de biodésels sont les Etats-Unis, la France et l'Allemagne. Le développement en énergie du gouvernement des Etats-Unis est observé par la publication de plusieurs documents sur le biodiesel et soutient aussi dans ce domaine la recherche à travers le « National Renewable Energy Laboratory : NREL ». L'importante croissance de la production de biodiesel aux Etats-Unis s'explique par diverses mesures incitatives mises en place par le gouvernement ; les deux principales sont (**Brodeur et al., 2008**):

- Le « Biodiesel Taxa Crédit » : c'est le remboursement de la taxe d'accise de 1 dollar US par gallon d'agri-biodiesel et de 0.5 dollars US par gallon de biodiesel fait à partir des déchets de graisses. Cette mesure est valide jusqu'à la fin de 2009.
- La « Small Agri-biodiesel Producer crédit » : c'est le crédit de taxes de 10 dollars US par gallon aux petits producteurs agri-biodiesel.

L'Union européenne (UE) est le chef de file mondial pour la production de biodiesel avec une production de près de 7,0 milliards de litres en 2006. Cette production est réalisée à 80 % à partir d'huile de colza. Les principaux pays producteurs sont l'Allemagne, la France et l'Italie.

Au Brésil et en Argentine, les usines de biodiesel sont en forte croissance, notamment en raison des quantités abondantes de soja et de colza qui y sont produites et de la volonté de ces pays de développer leur autonomie sur le plan de la production de carburant. Le Brésil est d'ailleurs un précurseur en matière de carburants renouvelables puisque l'éthanol y est utilisé comme carburant pour les véhicules depuis plus d'une trentaine d'années (**Brodeur et al., 2008**).

III.6. Les avantages et inconvénients de biodiesel

III.6.1. Les Avantages :

- Les biocarburants (ester) sont des énergies renouvelables et leur objectif principal ne doit être que la réduction de la facture énergétique (**Sanghara Ya., 2008**).
- Leur coût de production peut être abordable dans le cas où les sous-produits issus du processus d'élaboration peuvent être mis en valeur.

- Ils peuvent être utilisés en mélange avec le gasoil jusqu'à 25% sans modification du moteur et naturellement moins chargés en métaux lourds (**Sanghare Ya., 2008**).
- Les avantages par rapport aux générations précédentes sont nombreux : un taux de croissance rapide, une forte teneur en lipides, une utilisation minimale des terres et un taux d'absorption du CO₂ élevé. En effet, les microalgues sont capables de produire 30 fois plus d'huile par unité de surface que les cultures oléagineuses terrestres (**Lohéziec F., 2012**).
- Le biodiesel s'inscrit donc comme une niche et est beaucoup utilisé mais sa production est relativement faible. Il contribue à une réduction des émissions qui sont à l'origine de la formation d'ozone, il permet ainsi de diminuer le smog (nuage de pollution) formé par les essences traditionnelles (**Mélanie et al., 2008**).
- De plus, il permet de réduire les émissions de GES, ainsi que toutes autres particules polluantes de l'air comme les émissions de soufre, de monoxyde de carbone, d'aldéhydes, d'hydrocarbures, de particules et d'émissions totales de bioxyde de carbone.
- Le biodiesel comporte un intérêt majeur, en effet, il peut être fabriqué à partir de résidus agroindustriels comme les déchets d'abattage, les huiles usagées et les huiles non comestibles, ceci permet de donner à ces produits une nouvelle valeur. Les sous-produits peuvent être quant à eux valorisés.
- D'un point de vue économique, le biodiesel apporte un réel avantage par rapport au pétrole. En fait, son utilisation et sa production au niveau national permettrait de diminuer l'importation de pétrole. De plus, il est plus facile et moins dangereux à être transporté, car il est aussi biodégradable que le sucre et sa toxicité est très faible (**Mélanie et al., 2008**).

III.6.2. Inconvénients :

- Cependant ils sont consiliés car ce sont des composés oxygénés qui peuvent facilement évoluer vers des formes acides nuisibles pour les organes métalliques et en caoutchouc du moteur quand on les utilise à 100 % (**Sanghare Ya., 2008**).
- Ils n'ont pas un pouvoir lubrifiant comme les carburants fossiles et leurs pouvoirs calorifiques sont bien moindres.
- Les énergies que l'on pourrait utiliser dans les champs présentent aussi des risques de contamination des nappes phréatiques.

- La production de biocarburant liquide de première génération a abouti à une série de problèmes liés au prix des denrées alimentaires, à l'utilisation des terres et à l'émission de carbone dans l'atmosphère. Les recherches ont donc continué pour aboutir à la production de biocarburant de seconde génération. Celle-ci n'est pas vraiment viable à cause de sa faible rentabilité, des obstacles technologiques et du conflit qui subsiste concernant les réserves de nourriture humaine. Les biocarburants à partir d'algues, ou algocarburants, sont dits de troisième génération (**Lohéziec F., 2012**).

- L'un des inconvénients majeurs de la production de biocarburant à partir d'algues est la faible concentration en biomasse dans le milieu de culture. Ceci est dû au peu de lumière qui pénètre dans les microalgues. Et en tenant compte de la petite taille des algues, le processus de récolte de la biomasse devient relativement coûteux. La teneur en eau de la biomasse algale récoltée engendre aussi un processus consommateur d'énergie pour le séchage. Une installation de production de microalgues requiert une culture non intensive et des coûts de soins élevés par rapport à une ferme agricole conventionnelle. Ces facteurs entravent la mise en œuvre commerciale de biocarburant à partir de microalgues. Néanmoins, ces problèmes devraient être surmontés ou minimisés par le futur développement technologique.

- De nombreux problèmes techniques et environnementaux, tels que l'utilisation des terres et des apports d'engrais, doivent encore être étudiés et la production commerciale à grande échelle n'a pas encore été atteinte. L'utilisation de microalgues comme source de biocarburant pour la production commerciale sollicitera d'énormes cultures d'algues, ce qui nécessitera de grandes quantités d'engrais. Alors que les microalgues sont estimées être capables de produire du biodiesel en quantités 10 à 20 fois supérieures par rapport au colza, elles ont besoin de beaucoup plus d'engrais azotés, de 55 à 111 fois plus (**Lohéziec F., 2012**).

III.7. L'application de biodiesel

Bien qu'il puisse être employé à l'état pur, le biodiesel est généralement mélangé avec le diesel dérivé du pétrole (pétrodiesel). Les mélanges de biodiesel-pétrodiesel sont identifiés par l'abréviation « Bxx », où « xx » indique le pourcentage de biodiesel dans le mélange. Ainsi, un carburant B20 contient 20 % de biodiesel et 80 % de pétrodiesel alors qu'un carburant B100 correspond au biodiesel pur. Plusieurs types de mélange sont commercialisés dont les plus fréquents sont le B2, B5, B20 et B100.

L'utilisation du B5 dans les véhicules permet par ailleurs de conserver le niveau de lubrification nécessaire pour maintenir la durée de vie des moteurs. À ce titre, le biodiesel peut

jouer le rôle autrement assumé par le soufre⁸ et, par le fait même, faciliter le respect du règlement mis en place par le gouvernement canadien en 2006 visant à réduire le taux de soufre dans le diesel. À l'heure actuelle, quelques flottes de véhicules s'alimentent en biodiesel, principalement en B5 et en B20. Parmi celles-ci, on compte les autobus urbains de la Société de transport de Montréal (STM) (**Brodeur Cet al.,2008**).

IV.1. Le choix des espèces microalgales productrice

L'isolement et l'identification des microalgues productrices des lipides nécessite la détermination de la souche convenable par une bonne recherche bibliographique par exp: *Chlorella sp* et *spirulina sp*. Dans notre cas, on prend la souche *spirulina sp* comme exemple pour étudier les techniques d'isolement et d'identification des microalgues.

IV.2. Le prélèvement des microalgues

Le prélèvement des microalgues s'effectué par un filet (figure 15) a profondeur de 15 cm dans des différents points de milieux aquatiques. Il est stocké ensuite dans des flacons stériles de 50 ml contenant 1 ml de formol de 10 % et neutralisée, au préalable, pour obtenir au final une concentration de 4 à 5% Une partie d'échantillonnage a été conservée fraîche pour les examens microscopiques (Charpy L., 2009). chaque prélèvement correspond un code, attribué d'après le numéro du département puis le numéro de série des prélèvements. Des données telles que la date et le lieu du prélèvement, l'orientation de la façade, la présence de végétation à proximité, le type de revêtement colonisé et éventuellement le type de défaut architectural ayant pu favoriser l'établissement des microorganismes sont relevées sur site (Barberousse H., 2006).



Figure15 : filet à plancton (Charpy L., 2009).

IV.3. L'isolement des microalgues et repiquage

IV.3.1. Milieu de culture d'isolement: Pour plus de commodité, les souches microalgales sont cultivées sur le milieu Bold de base. La recette utilisée au laboratoire est simplifiée car elle nécessite uniquement la préparation de trois solutions mères. 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 sont ajoutés à 1 L d'eau désionisée. 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 (**Barberousse H., 2006**).

Tableau 4 :Composition des solutions mères du milieu Bold de base (**BarberousseH., 2006**).

	Produit	Concentration (gL⁻¹)
Solution A	NaNO ₃	2.5
	CaCl ₂ ,2H ₂ O	2.5
	MgSO ₄ ,7H ₂ O	7.5
	Fe EDTA	2
Solution B	K ₂ HPO ₃	7.5
	KH ₂ PO ₄	17.5
	NaCl	2
Solution trace	H ₃ BO ₃	2.4
	MnCl ₂ ,4H ₂ O	1.8
	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ,4H ₂ O	0.02
	ZnSO ₄ ,7H ₂ O	0.22
	CuSO ₄ ,5H ₂ O	0.08
	CoNO ₃	0.09
	VO ₄ ,2H ₂ O	0.43

IV.3.2. Isolement et repiquages

Les isolements des algues et des cyanobactéries 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. 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 (**Barberousse H., 2006**).

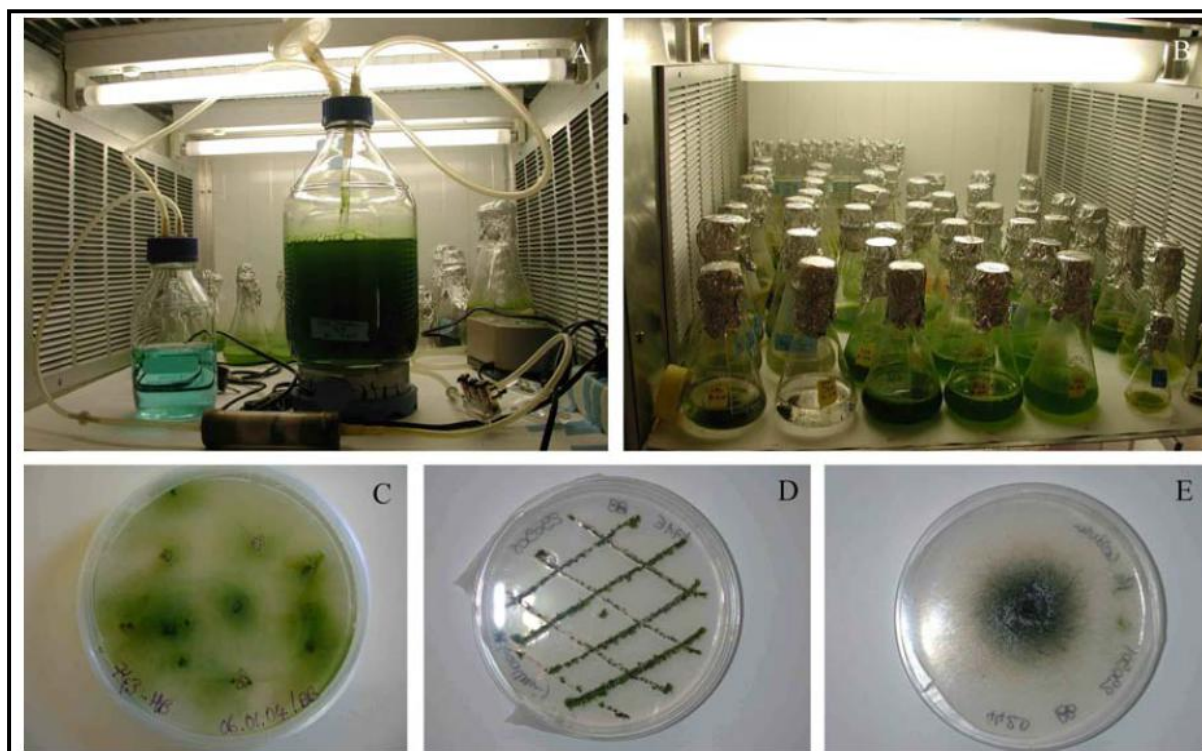


Figure 16 : Souches d'algues et de cyanobactéries. A : culture liquide de la souche *Klebsormidiumflaccidum* 749B sous bullage d'air et agitation magnétique; B : cultures liquides en fioles d'Erlenmeyer; C : développement d'algues et de cyanobactéries à partir de fragments de revêtements; D et E : ensemencement d'une souche d'algue (D) et de cyanobactérie (E) sur milieu solide (**Barberousse H., 2006**).

IV.3.3. Conditions de culture

Les souches microalgales 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 53 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. Ces cultures sont placées dans une chambre de culture (SetricGenie 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'algothèque, 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 quanta mètre LI-250 (LI-COR) muni d'un capteur plat (**Barberousse H., 2006**).

IV.3.4. 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.

IV.3.4.1. Masse sèche : Un volume connu de culture d'algues ou de cyanobactéries est filtré sur des membranes en microfibre de verre de porosité 1,2 μm (Whatman GF/C). Ces filtres sont ensuite séchés à 105 °C pendant 3 h, et la masse correspondant aux microorganismes secs est ensuite déterminée et rapportée au volume filtré. La masse sèche est exprimée en mg mL⁻¹.

IV.3.4.2. Turbidité : La turbidité d'une culture est évaluée en mesurant sa densité optique à $\lambda = 750$ nm, au moyen d'un spectrophotomètre (**Barberousse H., 2006**).

IV.4. L'enrichissements des microalgues productrice des lipides

IV.4.1. Milieux de culture d'enrichissement : Le milieu de culture utilisé 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 (**BoutekrabortL., 2011**). (Tableau 5)

Tableau 5 : La composition du milieu de Hiri (**BoutekrabtL., 2011**).

Composé	Quantité
Biocarbonate de soude (NaHCO_3)	16
Clorure de sodium (NaCl)	1
Phosphate d'ammonium ($\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$)	0.1
Sulfate de fer (FeSO_4)	0.01
Sulfate de magnésium (MgSO_4)	0.1
Sulfate de potassium (K_2SO_4)	0.5
Clorure de calcium (CaCl_2)	0.1
Urée azotée $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$	0.1

IV.4.2. La technique d'enrichissement

La culture de la spiruline débute par l'ensemencement qui est réalisé par dilution d'un inoculum 100 % spirulé 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 lux 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) (**Boutekrabt L., 2011**). (figure 17)

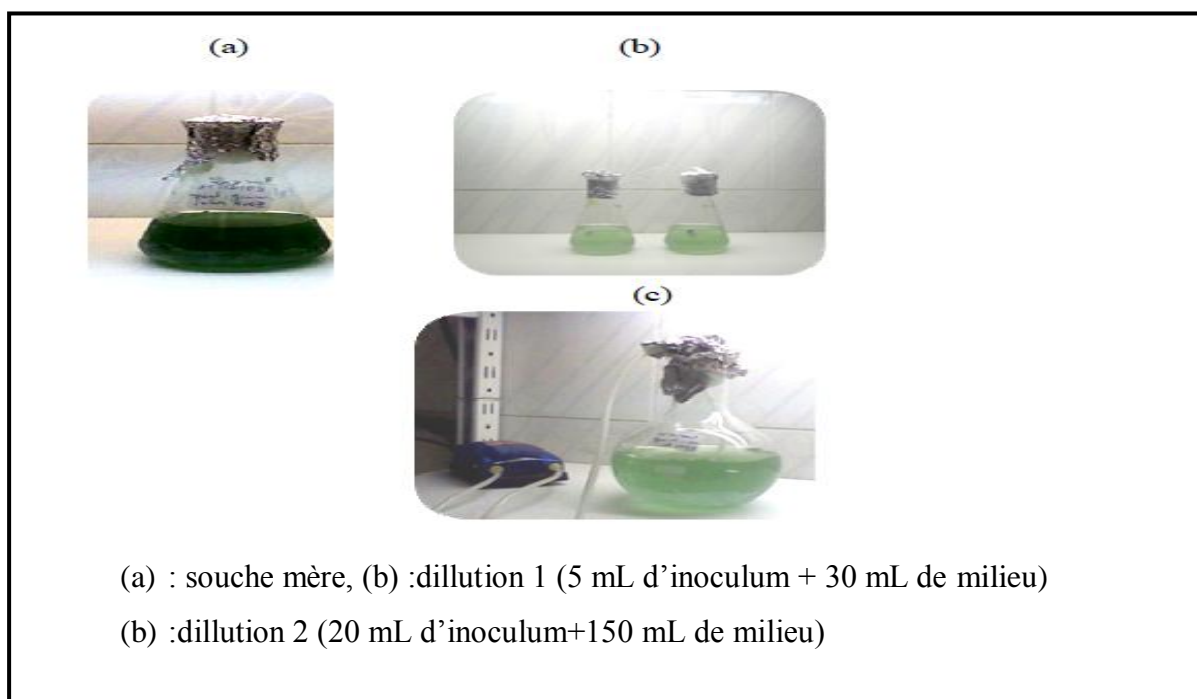


Figure 17 : Ensemencements de la spiruline à partir de la souche mère

(**Boutekrabt L., 2011**).

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 dédoubleés directement dans 20 L de milieu de culture neuf (**Boutekrabort L., 2011**). (Figure 18)

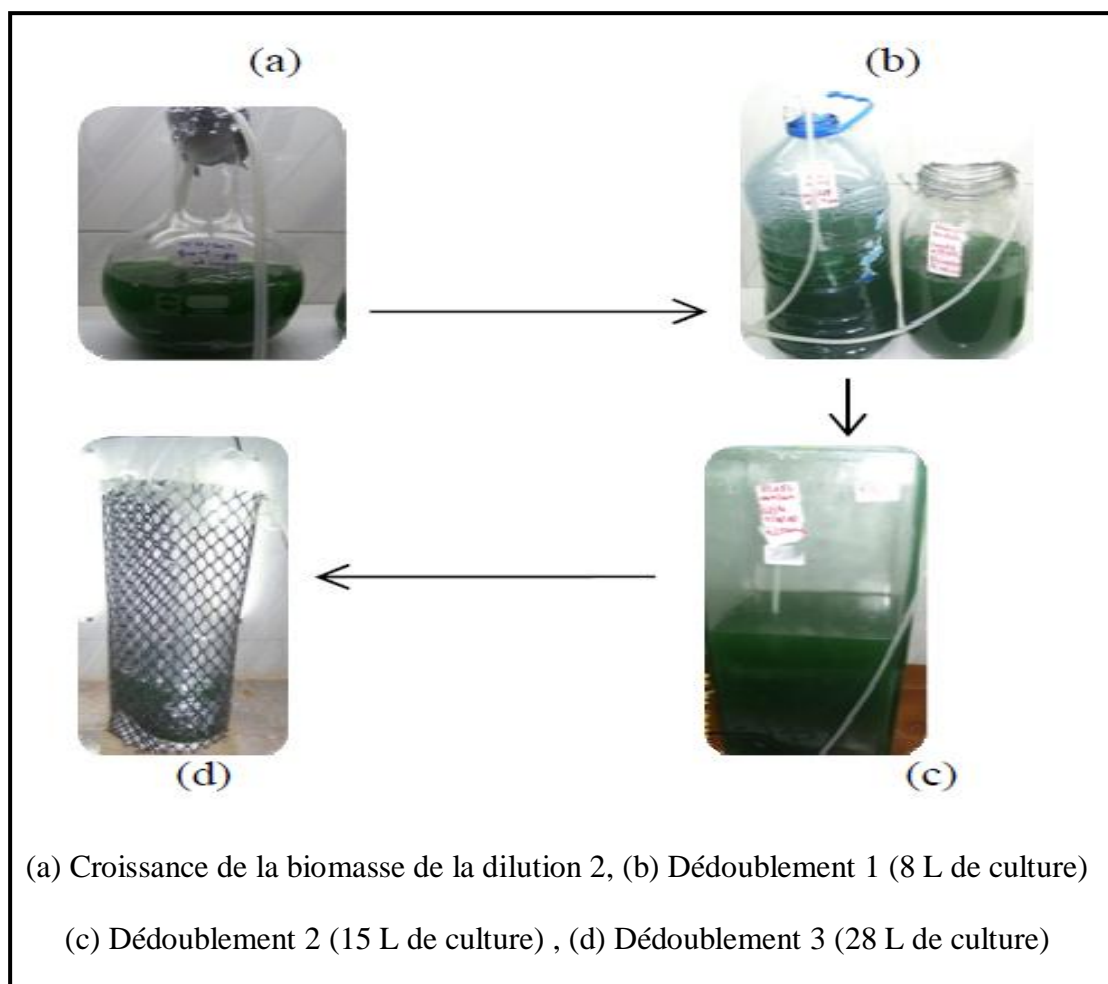


Figure 18 : Les différentes étapes du dédoublement de la culture de la spiruline (**Boutekrabort L., 2011**).

Lorsqu'une biomasse optimale de spiruline est obtenue, selon la filtration est réalisée à l'aide d'un système de filtration et une pompe à vide utilisant un papier filtre de type Whatman GF/C, 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 (**Boutekrabort L., 2011**). (figure 19)

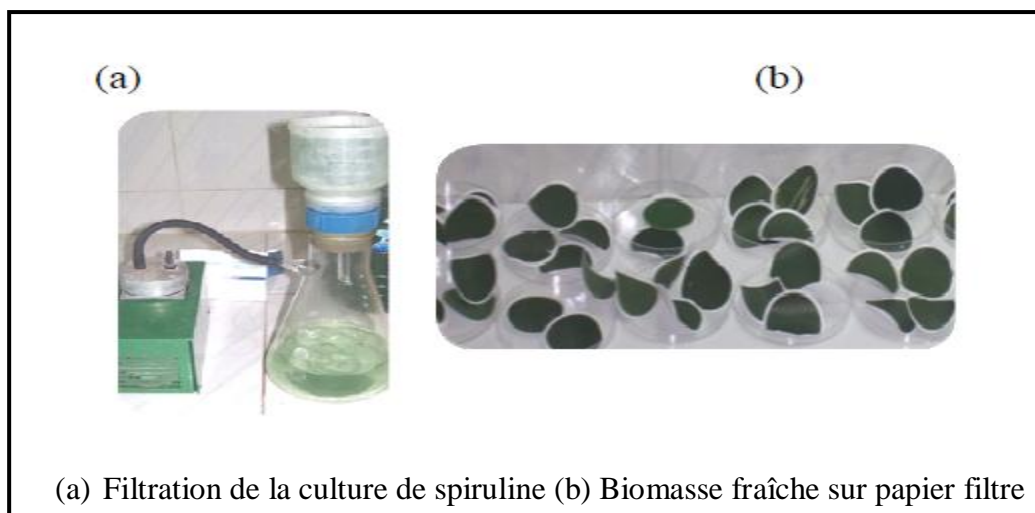


Figure 19 : Filtration et récolte de la spiruline (Boutekrabort L., 2011).

Après cette opération, le séchage est réalisé à l'étuve entre 80°C et 100°C pendant 24h (Boutekrabort L.,2011). (Figure20)

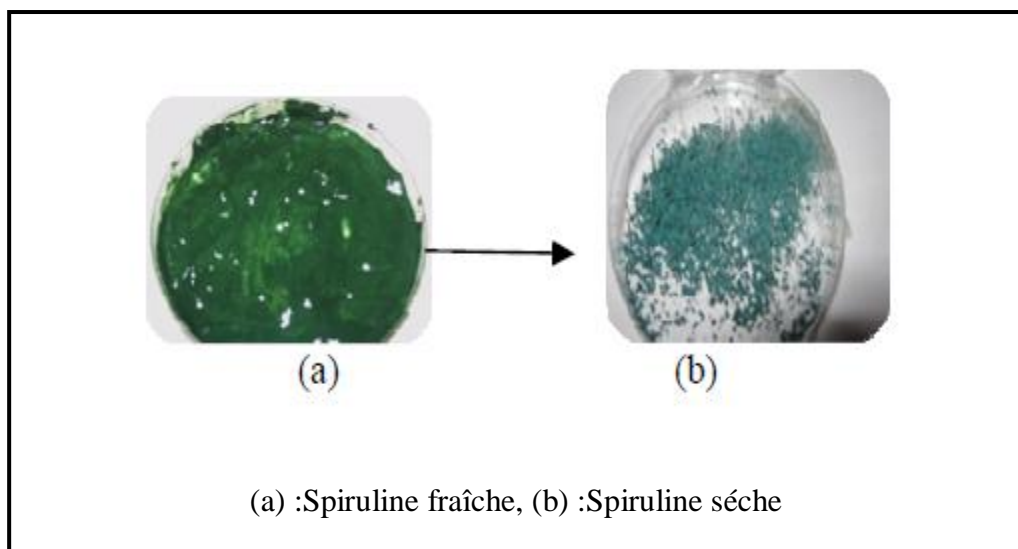


Figure 20 : Opération de séchage de la biomasse (Boutekrabort L., 2011).

La spiruline bien séchée obtenue présente un aspect craquant, se détache toute seule du support de séchage et se laisse facilement piler ou broyer. La vérification de l'espèce s'effectue par un examen microscopique à l'aide d'un microscope optique (Boutekrabort L., 2011).

IV.5. Mesure de la teneur des lipides

Il existe deux méthodes mesurant la teneur lipidique :

IV.5.1. Méthode directe (Teneur en lipides) : La détermination des matières grasses est faite dans cette manipulation selon la méthode d'extraction par le SOXHLET en utilisant l'hexane comme solvant. 50 g d'échantillon sont placés dans le Soxhlet et y introduire 500 mL d'hexane dans le ballon, régler la température à 60°C. Par la suite, chasser la majeure partie du solvant à l'aide de l'évaporateur rotatif pour éviter l'ébullition de l'huile qui à la longue pourrait modifier les indices d'acidité.

Le ballon contenant les lipides est placé à l'étuve pendant 30 min à 103°C, puis au dessiccateur pendant 30 min. Le poids des lipides est obtenu par la différence entre le poids final et le poids initial du ballon. Les résultats sont donnés par la formule suivante: **(Boutekrabt L., 2011)**.

$$\text{Teneur en MG (\% MS)} = (A-B) \cdot 100 / C \cdot MS / 100.$$

A: poids du ballon + extrait en gramme

B: poids du ballon vide en gramme

C: poids de la prise d'essai en gramme

MS: matière sèche en pourcentage **(Boutekrabt L., 2011)**.

IV.5.2. Méthodes indirecte (L'extraction des lipides): La méthodologie employée pour l'extraction séquentielle et sélective des lipides a été adaptée de Ramus. La première phase consiste en la dépigmentation de l'algue par de l'acétone et de l'éthanol respectivement. Quantitativement, le lipide extracellulaire, recueilli après extraction par solvant organique de l'algue brute et purification, présente une part significative de la biomasse sèche **(Ruiz G., 2005)**. (figure 21)

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

$$\text{rendement R} = \frac{\text{masse de lipide extrait}}{\text{masse de biomasse algal sèche initial}}$$

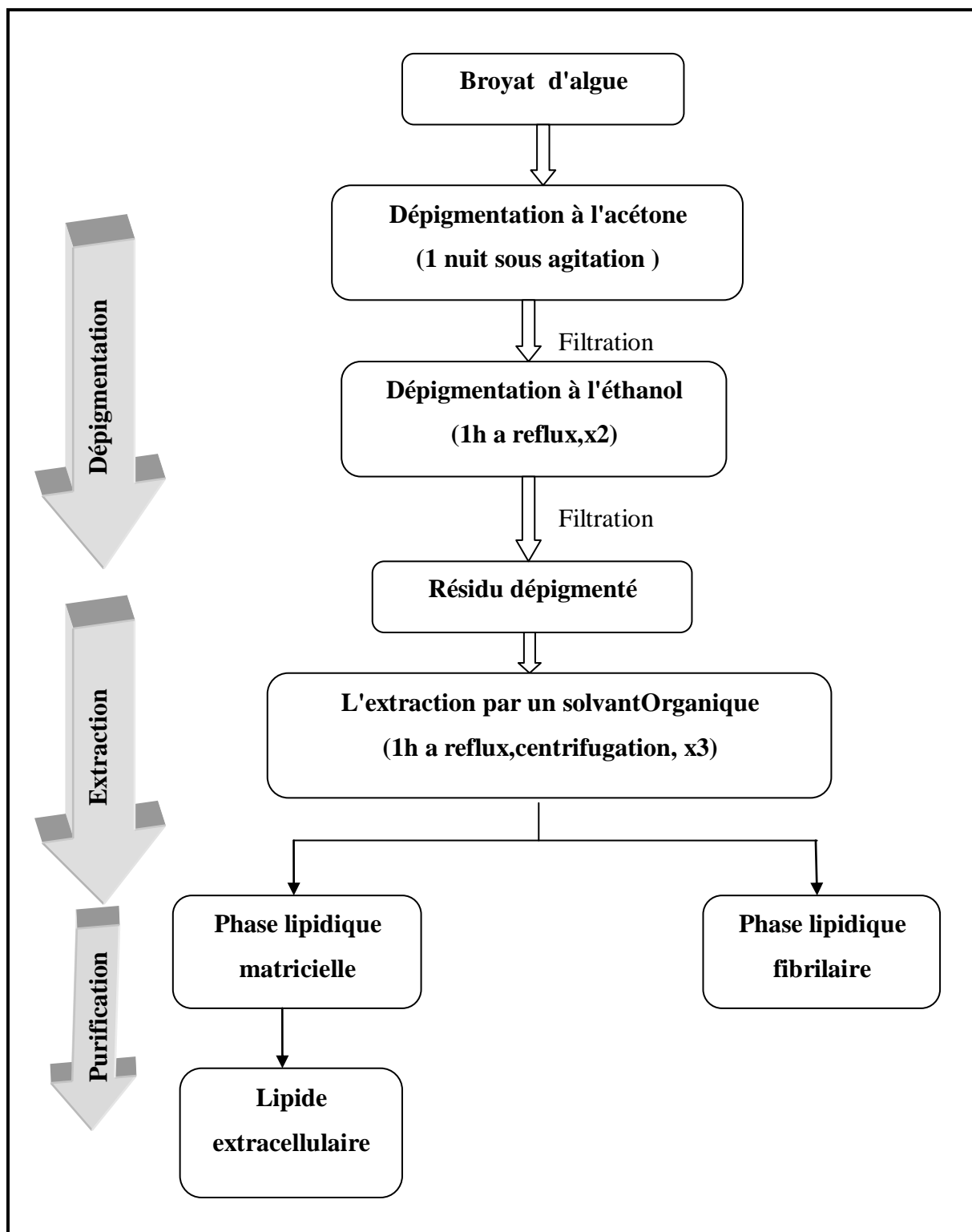


Figure 21 : Méthodologie d'extraction et purification des lipides extracellulaires (Ruiz G., 2005).

V.1. Le système de culture:

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. On distingue principalement trois grandes catégories de systèmes de culture: les systèmes ouverts (bassins naturels et artificiels caractérisés par un faible ratio surface sur volume) , les systèmes fermés (bioréacteurs avec un ratio surface sur volume élevé) et les système mixte (Wolff A., 2012).

V.1.1. Le système ouvert: Les systèmes de culture en milieu ouvert sont des technologies simples et présentant peu d'investissement initial (Salomez M., 2009). Ce sont des systèmes robustes qui ressemblent au milieu naturel de croissance des microorganismes (Patricia Becera Celis G., 2009). Toutefois peu d'espèces de microalgues peuvent être cultivés en milieu ouvert de manière mono spécifique (Salomez M., 2009). Ce sont les systèmes les plus utilisés à ce jour pour la production des microalgues commerciales, du fait de leur simplicité d'utilisation, de leur faible coût et de leur standardisation. Les étangs à haut rendement sont des sortes d'étangs ouverts peu profonds, de 30 cm de profondeur maximum (Person J., 2011). 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 sélectifs. Trois microalgues sont cultivées actuellement avec succès en milieu ouvert : *la spiruline* (fort pH), *la chlorelle* (très riche en nutriment) ou *la dunaliella salina* (milieu hypersalin) (Salomez M., 2009).

Le milieu de culture peut être contaminé par d'autres espèces de microalgues ou d'autres microorganismes comme des bactéries ou des protozoaires. 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 (Salomez M., 2009). En effet les micro algues vont capter toutes pollutions de l'air ou de l'eau. Ce type de système est caractérisé par sa simplicité technique, sa facilité d'exploitation et une durée de vie assez importante. Ce sont essentiellement des bassins de faible profondeur alimentés par exemple de l'eau usée issue des usines de traitements de déchets et munis d'un système d'agitation formé par des structures tournantes ou des roues à aubes. La biomasse est, quant à elle, récoltée à la fin du cycle de recirculation. Ce type de configuration est connu sous l'appellation bassin de type « raceway».

Les systèmes ouverts présentent une grande diversité de configuration selon la taille, la profondeur, le type de matériau, le système d'agitation et le degré d'inclinaison. On en distingue principalement trois grands types, employés à l'échelle industrielle : lacs et bassins naturels (écosystèmes naturels), bassins circulaires, bassins de type « raceway » (**Filali R., 2012**).

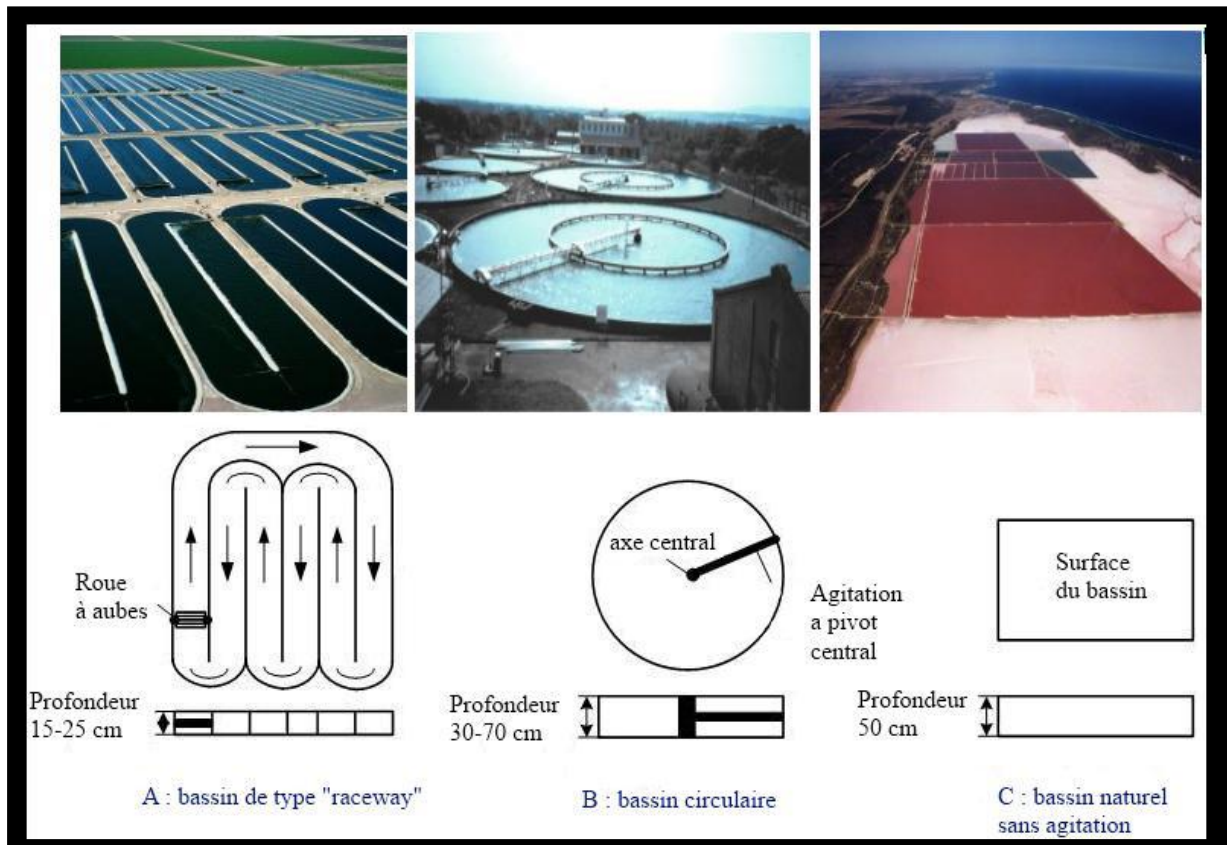


Figure 22 : Variété de configurations des systèmes ouverts: A bassin de type « raceway » employé pour la culture de *Spirulina platensis* en Californie – B : bassin circulaire à pivot central pour la culture de *Chlorella* à Taiwan – C : larges bassins non agités utilisés pour la culture de *Dunaliella salina* en Australie (**Filali R ., 2012**).

La production des microalgues dans ces systèmes présente de nombreux inconvénients liés à l'absence de contrôle des conditions de culture, aux problèmes de contamination par d'autres organismes (bactéries, champignons, levures...) et à la limitation des microalgues en lumière du fait de l'absence de dispositifs de mélange. A ceci, il faut ajouter la sensibilité des cultures à la température qui doit être contrôlée pour atteindre des rendement corrects . De nouveaux systèmes ouverts notamment améliorés ont été installés en

Californie, Hawaii et à Roswell (Nouveau-Mexique). La productivité maximale obtenue est de 50 grammes de microalgues par mètre carré par jour (**Patricia Becera Celis G., 2009**).

V.1.1.1. Les bassins ouverts : De taille et de formes variables, les trois principaux designs de bassins en opération à relativement large échelle sont :

- les bassins en boucle fermée (raceways) où le milieu de culture est mis en mouvement par des pales en rotation.
- les bassins circulaires où l'agitation est assurée par un bras rotatif.
- les bassins inclinés où le flux est assuré par la gravité et un système de pompe (design plus rare) (**Sadi M., 2012**). (figure 23)

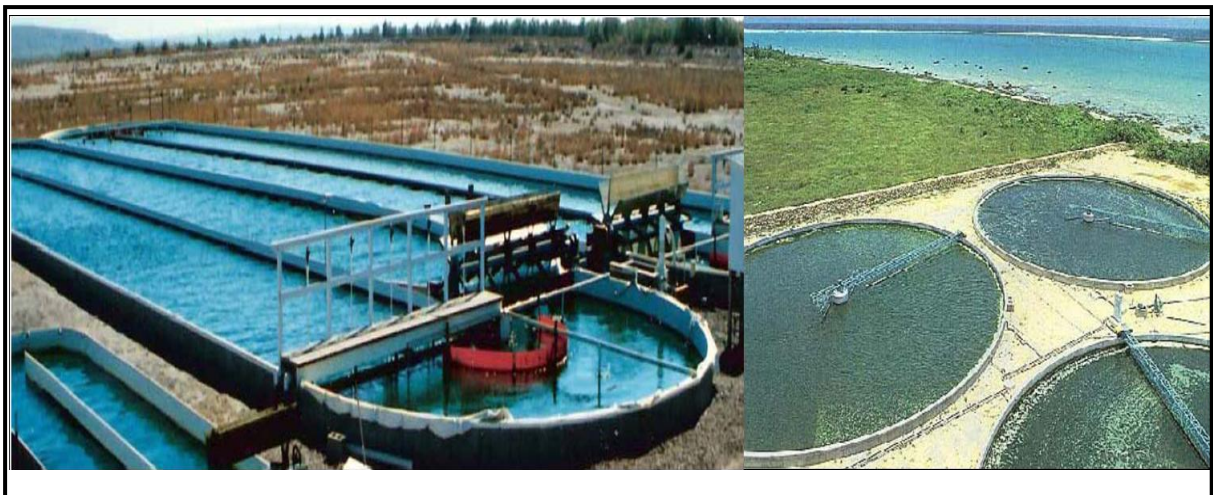


Figure 23 : A gauche : bassin en boucle fermée, infrastructure de Roswell, Nouveau Mexique (USA) A droite : bassins circulaires d'environ 500m², production de chlorelle (*Chlorella* Industries, Japon) (**Sadi M., 2012**).

De profondeur généralement comprise entre 15 et 50 cm, le mixage et la circulation de l'eau permettent de garder les cellules en suspension. Les matériaux de construction des parois latérales et du fond des bassins peuvent être extrêmement variés simplement du sable ou de la craie, du ciment ou des matériaux plus coûteux tels que des revêtements en Poly Chlorure Vinyle (PVC), en polyuréthane. La plupart des sites commerciaux emploient des membranes plastiques longue durée, faisant généralement 1-2 mm d'épaisseur et résistantes aux ultra-violets et à la corrosion. Les bassins sans revêtement sont moins coûteux mais connaissent des perturbations supplémentaires telles que la suspension de craie, la percolation, d'importantes contaminations et leur utilisation est restreinte à un nombre limité d'espèces et à des conditions pédologiques et environnementales particulières (**Wolff A., 2012**).

V.1.1.2. Les bassins de type raceways: Les bassins de type « raceway » sont des canaux de recirculation, en circuit fermé, utilisés pour cultiver la biomasse algale de façon continue. Les algues sont cultivées en suspension avec addition d'engrais. Les échanges gazeux se font par contact naturel avec l'atmosphère et la lumière solaire. Il s'agit en fait d'un bassin peu profond, ayant une forme elliptique, qui est mélangé mécaniquement avec une roue à aubes. L'eau est déplacée le long du « raceway » afin d'assurer le mélange de l'eau et de maximiser les échanges gazeux (**Hurel JL et al., 2006**). (figure 24)



Figure 24 : système de culture de type raceway (**Salomez M., 2009**).

En fonctionnement continu, les nutriments sont introduits devant les pâles en rotation. L'apport en CO_2 se fait naturellement à l'interface air/eau mais peut être complété par des aérateurs immergés pour éviter les limitations en carbone (**Filali R., 2012**). (figure 25)

Les avantages majeurs des bassins ouverts restent leur construction facile et peu onéreuse et le fait qu'ils soient rapidement opérationnels. Systèmes peu coûteux en terme d'investissement, les cultures y sont, cependant, difficilement contrôlables, et présentent alors des productivités sensiblement plus faibles que pour des photobioréacteurs. Plusieurs facteurs pouvant en être la cause ont été identifiés.

- la profondeur élevée des bassins (20-50cm) limite la pénétration de la lumière. Par conséquent la concentration de la biomasse et la productivité volumique sont faibles, -
- l'apport en CO_2 est soit dépendant de la concentration atmosphérique en CO_2 , soit assuré par bullage mais son transfert dans la phase liquide reste souvent médiocre compte tenu de la faible profondeur des bassins (**Person J., 2011**).

- la dépendance aux conditions naturelles du milieu, température, vent et intensité lumineuse non maîtrisées, engendre une productivité aléatoire et saisonnière.
- l'ouverture du système engendre la vulnérabilité des cultures aux contaminations : pouvant facilement être contaminées par des parasites ou prédateurs extérieurs, elles n'ont donc pas une productivité stable sur de longues périodes ; (Il est à noter cependant que ce genre de système de production est très bien adapté pour des cultures de microalgues extrêmophiles comme *Dunaliella salina* et *Spirulina* qui se développent respectivement dans des milieux fortement salés ou présentant une alcalinité élevée).
- le manque de brassage du volume de culture ne facilitant pas l'exposition continue des algues à la lumière.
- un inconvénient supplémentaire identifié est le besoin important en eau pour compenser l'évaporation forte de ces systèmes de cultures (**Person J., 2011**).

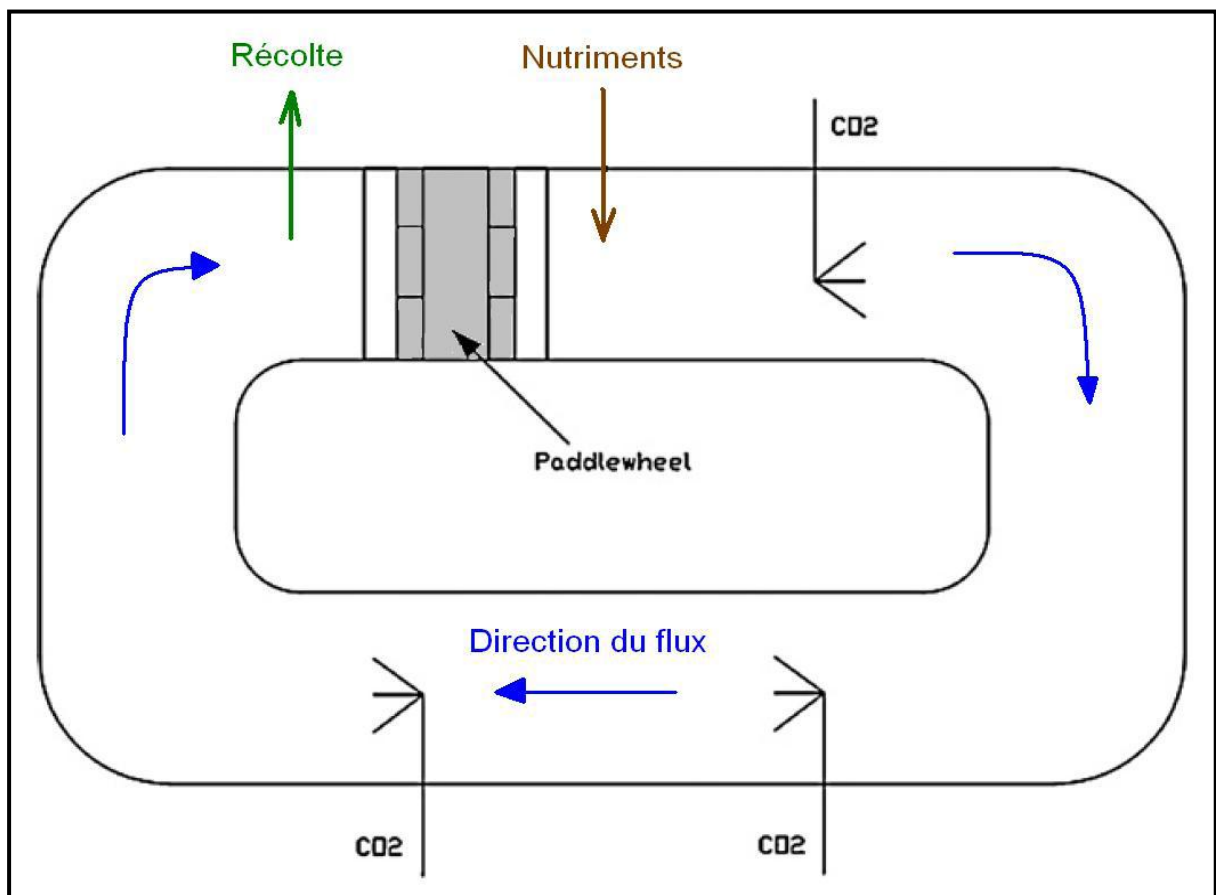


Figure 25: Schéma d'un raceway et des flux associés à son fonctionnement (**Filali R., 2012**).

V.1.2. Le système fermé (Photobioréacteur) : est un système d'agencement de tube dans lequel le milieu de culture va circuler . Les tubes sont en plastique ou en verre pour être assez résistant tout en laissant passer la lumière. Le poly-méthacrylate de méthyle est mieux que le verre pour le passage de la lumière. Celui-ci est mis en mouvement soit par une pompe mécanique soit par un système d'injection d'air .L'injection d'air permet de fournir du carbone sous forme de CO₂, de brasser le milieu, de provoquer un air lift en remplaçant une pompe mécanique et d'évacuer les poches d'oxygène toxique pour les microalgues (**Salomez M., 2009**).

Un système de dégazage est nécessaire pour évacuer l'oxygène. En effet, pour les systèmes fermés, la bonne circulation des gaz ainsi que leurs évacuations sera à prendre en compte. Une accumulation d'oxygène dans le milieu de culture endommage les cellules. Au maximum, les tubes peuvent atteindre 80m de long. Les structures verticales sont plus faciles à dégazer que les structures horizontales. Les photobioréacteurs peuvent être verticaux ou horizontaux, plats ou enroulés sur eux-mêmes, exposés à la lumière artificielle ou à la lumière naturelle. Le diamètre d'un tube fait en général 5cm de diamètre pour permettre un bon accès à la lumière (**Salomez M., 2009**).



Figure 26 : photo d'un photobioréacteur de type BIOCOIL (1000 litres) en Australie (université de Murdoch) (à gauche) et d'un photobioréacteur de type serpentin utilisé en Allemagne (société roquette) et à Almeria (à droite) (**Salomez M., 2009**).

Les systèmes fermés présentent leurs avantages: ils permettent la culture des souches micro algales sensibles qui ne pourraient pas faire face aux microorganismes polluants installés dans les systèmes ouverts, les productivités sont sensiblement plus élevées et peuvent

être obtenues par un ajustement des conditions optimales de culture, les molécules destinées à la fabrication de produits de beauté ou les soins de santé peuvent être produites en respectant les normes de pureté et sûreté du produit. Des photobioréacteurs pour la production des molécules pharmaceutiques en suivant les lignes directrices relatives aux bonnes pratiques de fabrication (BPF) ont été également décrits. Le prix très élevé des photobioréacteurs ralentit les travaux de recherche. La production des molécules intéressantes justifie l'investissement porté à la culture en photobioréacteur (**Salomez M., 2009**).

La culture industrielle de ces microorganismes passe par le développement de photobioréacteurs fermés, stérilisables, contrôlés et à haute productivité. D'un point de vue industriel, les photobioréacteurs entrent directement en compétition avec les fermenteurs où se développent des organismes tels que les bactéries ou des levures. Outre l'absence de besoin en lumière, ces derniers possèdent l'avantage physiologique d'avoir des temps de doublement de l'ordre de quelques dizaines de minutes, contre environ 24 heures pour les microalgues (**Patricia Becera Celis G., 2009**).

Les inconvénients liés aux photobioréacteurs, en plus de leur coût élevé et leur complexité à mettre en oeuvre sont les suivants :

- des accumulations d'oxygène à des niveaux inhibiteurs (formation de radicaux libres) peuvent limiter les productivités.
- des surchauffes importantes au maximum solaire (effet de serre) peuvent nécessiter des quantités importantes d'eau à brumiser pour maintenir la température en dehors de région létale pour les cellules.
- des pertes de charges liées à la circulation du fluide souvent importantes, ce qui induit une consommation énergétique forte pénalisante dans l'objectif de produire des bioénergies.
- en cas de contamination, ces systèmes peuvent s'avérer extrêmement délicats à nettoyer pour éliminer le contaminant (**Person J., 2011**).

V.1.2.1. Les types de photobioréacteurs : Il existe des géométries très variées de PBR. On peut cependant distinguer trois grands types :

- Les PBR tubulaires
- Les PBRs plats
- Les PBRs à colonne verticale (**Wolff A., 2012**).

V.1.2.1.1. Les photobioréacteurs tubulaires : Sont constitués d'un ou de plusieurs tubes transparents qui peuvent être disposés horizontalement, verticalement ou en hélice. On distingue les technologies suivantes (Wolff A., 2012).

- **Réacteur à cuve agitée :** (Carboy) ou (Bag) : ce type de système est généralement utilisé pour la fabrication et la maintenance des inoculums pour des cultures de très grande échelle dans le domaine de l'aquaculture. Il est composé d'une cuve munie d'un système d'agitation avec un arbre entraîné par un moteur ou avec des barrettes magnétiques. Il est facile à mettre en oeuvre et à entretenir, mais présente un faible ratio surface sur volume.

- **Réacteur de type colonne à bulle :** il s'agit d'un cylindre dans lequel l'agitation est assurée via le barbotage de la phase gazeuse sous forme de petites bulles. Le ratio surface sur volume est relativement élevé, son coût est faible et les transferts thermiques et massiques satisfaisants.

- **Réacteur de type (Air-lift) :** il s'agit d'un cylindre avec deux zones interconnectées l'une dite (riser) ou le mélange gazeux est diffusé et l'autre dite (downcomer) ou il n'y a pas d'alimentation en gaz .La phase liquide est mise en mouvement naturellement, par différence de poids de colonnes d'eau entre les zones aérée et non aérée . L'agitation est assurée par barbotage du gaz. Ce type de configuration présente des inconvénients relatifs à la mise en oeuvre et d'un faible temps de séjour (Wolff A., 2012).

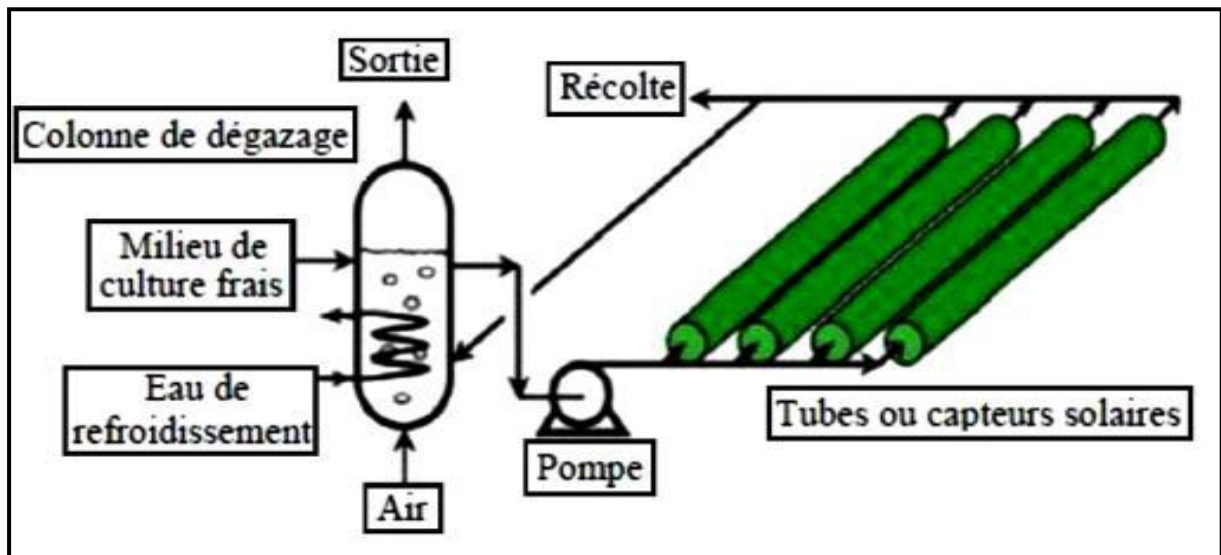


Figure 27 : Photo bioréacteur tubulaire comportant des capteurs solaires disposés en parallèle (Sadi M., 2012).

V.1.2.1.2. Les photobioréacteurs plats : Ils sont constitués de deux panneaux transparents de forme rectangulaire entre lesquels circule une faible épaisseur culture . Cette configuration est présente sous différentes géométries :verticale, horizontale et inclinée . Les avantages de ces photobioréacteurs résident dans un ratio surface sur volume important, un faible chemin lumineux, et une bonne qualité de transfert gazeux. Les limitations concernent l'augmentation des coûts de production suite à la re-carbonatation des cultures due essentiellement à l'augmentation du pH, le phénomène de colmatage et la difficulté de conception de cette installation (**Filali R., 2012**).

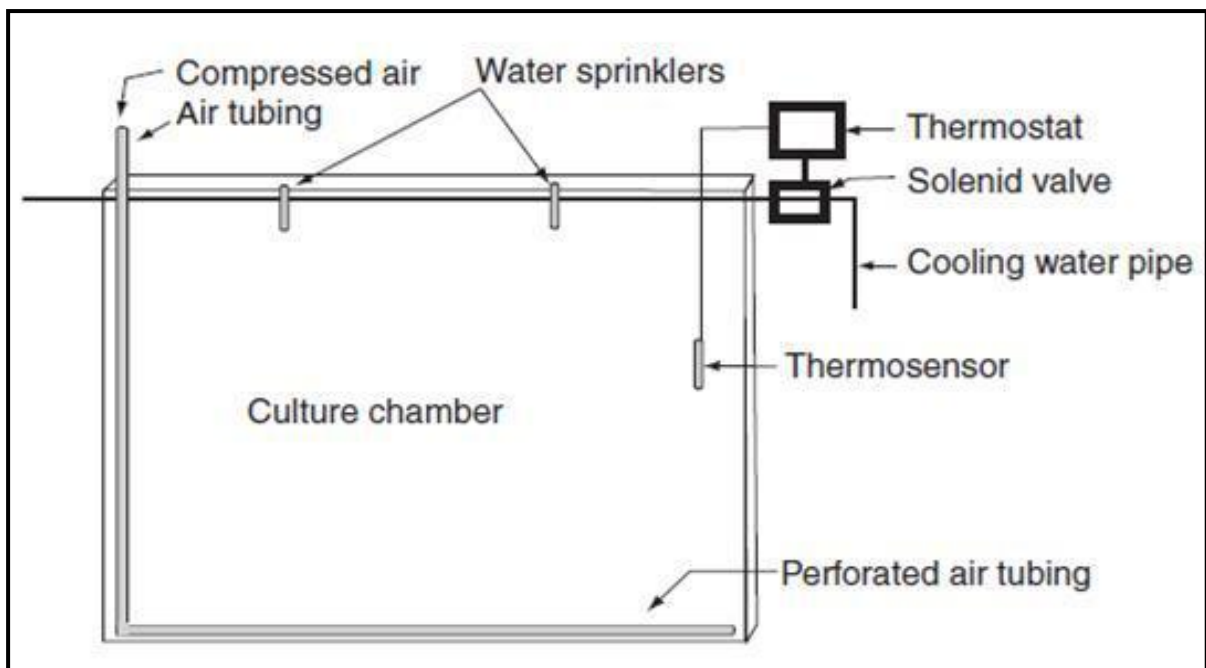


Figure 28 :Schéma d'un PBR plat (site web, oilgae) (**Filali R., 2012**).

V.1.2.1.3. Les PBRs à colonne verticale : Les microalgues sont cultivées dans un cylindre vertical où le brassage est assuré par l'injection de gaz. Les PBRs en colonne permettent un mixage très efficace et offrent un maximum de contrôle des conditions de culture . Les cultures tendent à moins souffrir de photo-inhibition avec ce système qu'avec les autres types de photobioréacteurs. Du fait de leur faible ratio surface sur volume, donc une faible surface photosynthétique, un mixage efficace est nécessaire pour optimiser les cycles entre zones éclairées et zones d'ombre. Le diamètre et la hauteur du système sont limités à environ 20cm de large et 2m de haut, sous peine de perdre en efficacité photosynthétique et en

contrôle des conditions de culture. Ceci implique qu'un nombre important d'unités est requis pour le passage à l'échelle commerciale (Wolff A., 2012).

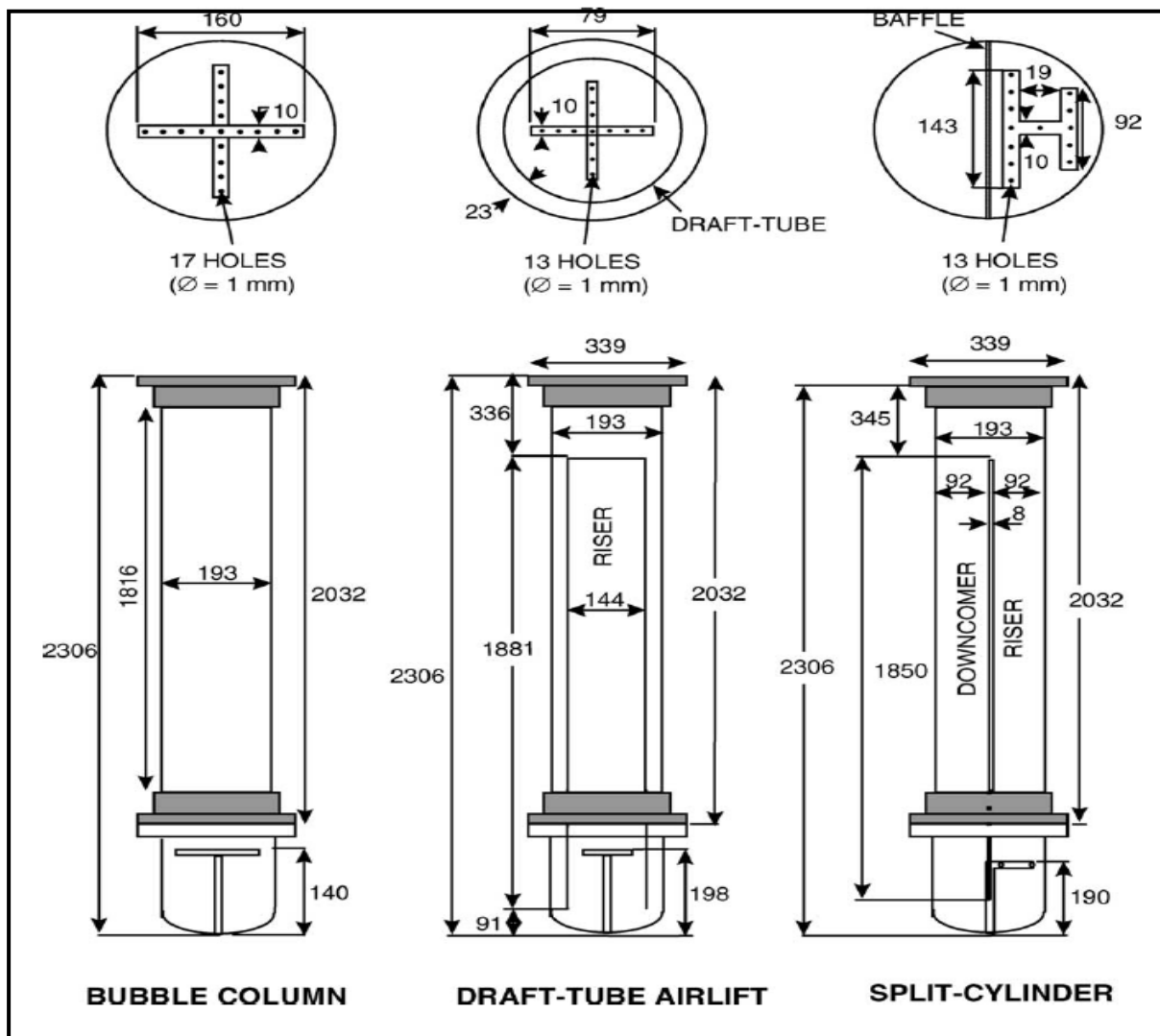


Figure 29 : Trois exemples de configuration de PBRs à colonne verticale associés avec un système de distribution de gaz, dimensions en mm (Wolff A., 2012).

Le contrôle des paramètres biologiques et physico-chimiques est, a priori, plus aisé en système fermé, qu'il s'agisse de conditions photoautotrophes ou hétérotrophes. Cependant, certains paramètres physico-chimiques tels que la teneur en O₂ ou la température peuvent être naturellement régulés en système ouvert ce qui limite les dépenses énergétiques et les coûts. Bien que l'évaluation des coûts soit extrêmement complexe et facilement discutables du fait de l'hétérogénéité des méthodes de calcul et de la sensibilité à l'échelle, les coûts d'investissement et de maintenance semblent clairement plus élevés pour les systèmes fermés

qu'en bassin ouvert. Les coûts et la disponibilité des matières premières organiques utilisées en conditions hétérotrophes ainsi que la rivalité d'autres technologies de production de biocarburant utilisant ces mêmes matières premières posent des questions de durabilité concernant la voie fermentaire. De façon générale, il ressort que les données sur les coûts et les potentiels de production sont plutôt disparates. Des analyses technico-économiques sont nécessaires sur des infrastructures à l'échelle de la démonstration (Filali R., 2012).

Tableau 6 : Comparaison des modes de culture (Filali R., 2012).

		Culture photoautotrophe		Culture hétérotrophe
		Bassin ouvert	PRB fermé	
Maintien de paramètre biologique	Limitation du risque de contamination	-	+	+
	Concentration de la biomasse	-	+	++
Maintien des paramètres physico chimiques	Contrôle du process en générale	-	+	+
	Efficacité d'utilisation du CO ₂	0	0	X
	Efficacité d'utilisation De la source d'énergie	-	+	NA
	Evacuation du CO ₂	0	-	X
	Stabilité du ph	NA	-	NA
	Maintien de la température	+	+	NA
		-	-	
	Efficacité du mixage	-	+	NA

Tableau 6 : Comparaison des modes de culture (suite) (Filali R., 2012).

		Culture photoautotrophe		Culture hétérotrophe
		Bassin ouvert	PRB fermé	
Coûts	Coûts d'investissement	+	-	+
	Coûts de maintenance	+	-	NA
	Coûts des intrants	NA	NA	-
	Consommation énergétique	+	-	NA
Durabilité	Origine et gestion des intrants	NA	NA	-
	Limitation des pertes en eau	-	+ -	X
	Limitation des risque de contamination du milieu extérieur	-	+	+
Développement	Scale-up	+ -	-	+
	Indépendance vis-à-vis des conditions extérieures contraintes sur sites	+	NA	+

NA : pas de données - Mauvais + Avantageux

0 : Moyen ou fortement dépendent d'autres facteurs

X : information non pertinente pour le mode culture

V.1.3. Le système mixte : Le terme de système mixte/hybride (en conditions de photoautotrophie) est un terme qui peut correspondre à deux types d'approches bien distincts : un système de culture couplant photobioréacteur et bassin ouvert, ou des bassins pouvant être alternativement ouverts ou recouverts d'une bâche transparente (passage à un mode de culture fermé) selon les conditions extérieures. Dans le premier cas, les photobioréacteurs sont utilisés pour booster la croissance des micro algues en conditions contrôlées jusqu'à d'importantes concentrations cellulaires. Ces micro algues servent alors d'inoculum , exempt de contamination, aux bassins où les cellules sont alors généralement exposées à un stress nutritif (carence en azote notamment) et à d'autres stress environnementaux qui stimulent l'accumulation de lipides . Dans le second cas, la bâche offre une flexibilité d'adaptation aux conditions extérieures. Lorsque le bassin est ouvert, l'évaporation permet une régulation de la température de l'eau. Lorsqu'il est fermé, le bassin est protégé des contaminations (**Wolff A., 2012**).

V.2. Mode de culture

Il existe différent mode de production : discontinu (Batch), semi-continu (fed-batch) et continu (**Salomez M., 2009**).

V.2.1. Mode discontinue (batch) : Le mode de production discontinu correspond à un mode ou la récolte se fait à intervalle régulier, une fois par jour par exemple. Ce mode de production demande une main d'œuvre importante (**Salomez M., 2009**). On se trouve dans le cas d'un système fermé pour lequel on introduit en une seule fois, en début de culture, l'inoculum contenant les cellules algales ainsi que tous les éléments nutritifs nécessaire à la croissance. Ainsi, il n'y a aucune entrée ni sortie et aucun échange d'éléments nutritifs ni de biomasse avec l'environnement extérieur pendant la culture .La concentration cellulaire augmente en fonction du temps jusqu'à épuisement du substrat limitant ,l'essentiels pour le métabolisme cellulaire. Ce type de culture est généralement adapté aux applications sous es conditions axéniques mais ne permet pas un échantillonnage régulier sous peine d'induire une diminution importante du volume de la culture (**Filali R., 2012**).

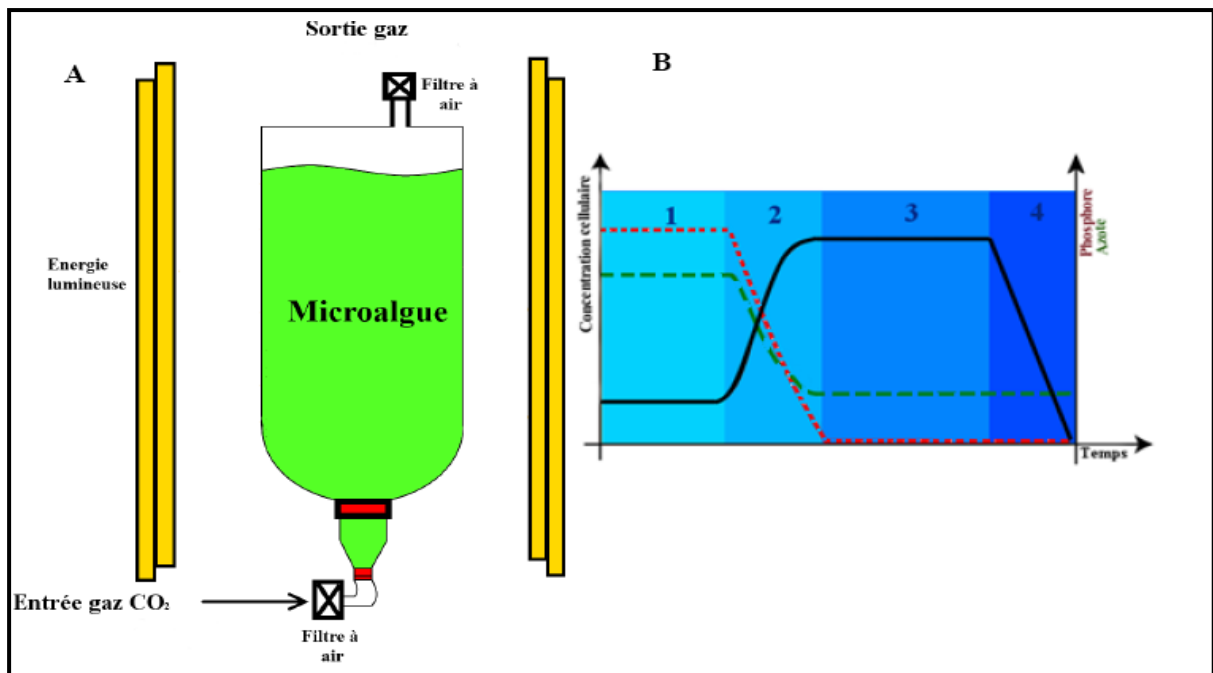


Figure 30 : A : Représentation schématique d'un système de culture de micro algue en mode batch– B : courbe de croissance d'une culture de micro algues dans un système en batch: 1 : phase de latence; 2 : phase exponentielle; 3 : phase stationnaire; 4 : phase de déclin; courbe en noir (trait plein) : évolution de la concentration cellulaire ; courbe en rouge (pointillé): évolution de la concentration de phosphore, courbe en vert (trait discontinu) : évolution de la concentration d'azote (**Filali R., 2012**).

- Phase de latence

Elle traduit l'adaptation cellulaire, ou phase de transition, aux nouvelles conditions environnementales. La vitesse de croissance est nulle et la durée de cette phase dépend essentiellement de l'inoculum, du milieu de culture et de la capacité d'acclimatation de l'espèce cultivée face aux nouvelles conditions de culture (**Filali R., 2012**).

- Phase exponentielle de croissance

Avant la phase exponentielle de croissance, une étape dite d'accélération se produit, traduisant le démarrage de la croissance. Elle est suivie d'une seconde étape dite « exponentielle » correspondant à une vitesse de croissance constante et maximale des micro algues. La concentration cellulaire augmente de manière exponentielle avec une vitesse de croissance " μ ", paramètre intrinsèque propre à l'espèce d'algue. Cette phase s'achève par une étape dite de « décélération » durant laquelle les nutriments nécessaires à la culture commencent à

s'épuiser, particulièrement les substrats limitants. La concentration cellulaire a atteint une valeur limite.

- Phase stationnaire

Cette phase intervient lorsque le substrat limitant s'épuise (phosphore, azote, dioxyde de carbone...) L'apport de lumière peut aussi être insuffisant, en raison d'une concentration cellulaire élevée, de la formation de biofilms donnant le phénomène d'auto-ombrage des cellules. La concentration cellulaire est constante et maximale.

- Phase de déclin

Toutes les réserves intracellulaires des cellules sont épuisées et les conditions deviennent extrêmement défavorables, provoquant la mort cellulaire. A ce stade, les cellules libèrent des composés intracellulaires et le milieu de culture se transforme en un habitat favorable à la prolifération d'autres organismes, essentiellement des bactéries hétérotrophes (Filali R., 2012).

V.2.2. Mode semi-continu : Le mode semi-continu est un mode où la récolte se fait à intervalle plus rapproché qu'en mode discontinu si bien qu'on se rapproche d'un mode continu Une récolte toute les heures par exemple. La récolte d'une culture en semi continu est opérée en phase exponentielle car c'est à ce moment que la croissance spécifique est maximale. Celle des cultures en batch se déroule en fin de phase exponentielle avant que la culture n'entre en phase stationnaire. Le moment de la récolte sera un compromis entre la qualité et la quantité. En effet en mode discontinu la composition de la micro algue va changer (Salomez M., 2009). Le mode Fed-batch permet d'optimiser la productivité de biomasse et d'éviter les effets de limitation des substrats (Filali R., 2012).

V.2.3. Mode contenu: Le mode continu quand à lui correspond à un mode où la récolte se fait en continu sans arrêt dans le temps. En sortie de récolte le milieu est recyclé pour retourner dans l'outil de production. Du milieu frais est apporté en continu pour apporter des nouveaux nutriments. Ce mode est l'idéal à atteindre, car il permet d'avoir des paramètres stables, d'optimiser la production dans le temps en minimisant les arrêts de production. De plus moins de main d'oeuvre est nécessaire ce qui réduit considérablement les couts de production. La culture est stable en ne subissant pas de stress du à la variation des paramètres de culture et la qualité est constante. La culture en continu est encore rare dans le domaine de l'algoculture. Aucun photobioréacteur ne fonctionne en continu à l'heure actuelle. En culture continue, le taux de dilution (D) à l'équilibre est égal au taux de croissance spécifique (μ). Ces paramètres sont liés par la relation : $D = F/V$ où F est le débit et V le volume du photobioréacteur (Filali R., 2012).

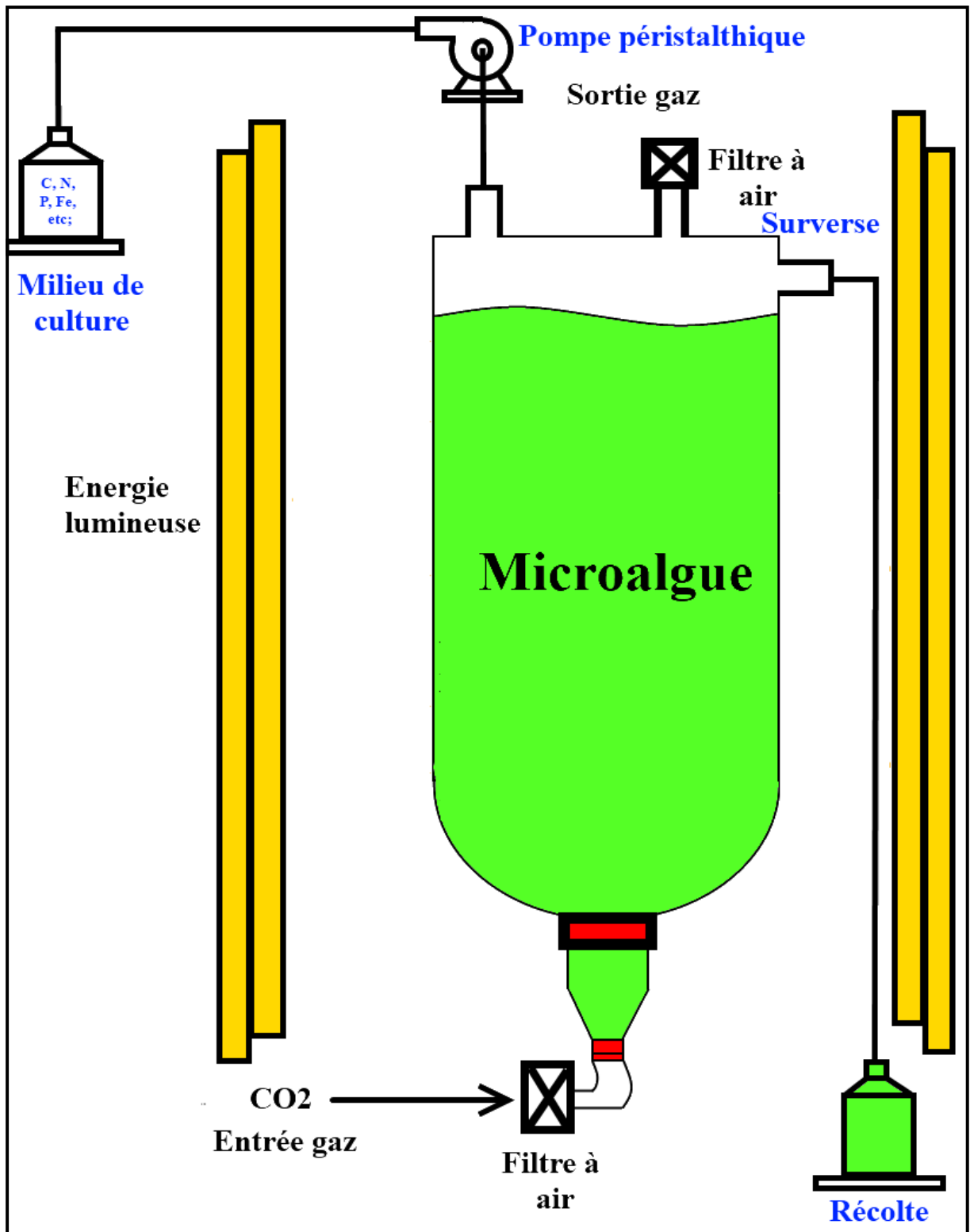


Figure 31 : Représentation schématique d'un système de culture de microalgue en mode continu (Filali R., 2012).

CONCLUSION

La production de biodiesel à partir des microalgues a émergé comme une solution idéale pour assurer un remplacement total ou partiel des carburants non renouvelables utilisés dans le secteur des transports en tenant compte du côté environnemental (l'effet de serre).

Dans notre étude la production de biodiesel est effectuée par transestérification de lipide obtenu à partir des souches de microalgues telles que *Chlorella Sp*, *Spirulina Sp*, *Chlamydomonas Sp*...etc.

Les microalgues sont des microorganismes eucaryotes photosynthétiques, vivants dans les milieux aquatiques. Ils possèdent une capacité de production importante en biomasse, un contenu en huile très intéressant ainsi qu'une croissance extrêmement rapide. La biomasse produite peut également servir à la production de divers produits dérivés pouvant être utilisés pour l'alimentation humaine, animale et la production cosmétique.

Les microalgues sont principalement connues comme étant des organismes photoautotrophes leur mode de nutrition est basé sur l'utilisation des rayons solaires pour synthétiser leur énergie selon un processus biochimique appelé la photosynthèse. Par laquelle les microalgues se fixent le CO₂ et transforment l'énergie lumineuse en énergie chimique pour synthétiser des carbohydrates par exemple les lipides qui sont stockés généralement dans le cytoplasme des microalgues sous forme de réserves incluses.

La culture des microalgues se fait après la technique d'isolement et d'identification de ces microorganismes en permettant d'obtenir des souches microalgales purifiées valorisables pour la production de biodiesel. On distingue principalement trois grands systèmes de culture: le système ouvert (bassins naturels et artificiels caractérisés par un faible ratio surface sur volume), le système mixte (hybride) et le système fermé (photobioréacteur avec un ratio surface sur volume élevé) c'est le système le plus utilisé pour la culture des microalgues photosynthétiques.

1. **Barberousse H. (2006).** Étude de la diversité des algues et des cyanobactéries colonisant les revêtements de façade en France et recherche des facteurs favorisant leur implantation. Mémoire doctorat: Phycologie appliquée. Paris, 192p.
2. **BeceraCelis GP. (2009).** Proposition de stratégies de commande pour la culture de microalgues dans un photobioréacteur continu. Mémoire doctorat: Génie des Procédés. Paris: Ecole Centrale, 242p.
3. **Bélaïr V. (2012).** Développement de nouvelles techniques d'extraction des lipides à partir des microalgues en vue de leur valorisation en biocarburant. Mémoire Maître sciences (M.Sc).Laval. QUÉBEC,213p.
4. **Benlacheheb R. (2008).** Score lipidique de certains plats traditionnels Consommés à Constantine, magister en sciences alimentaires. Mémoire magister: Alimentation, Nutrition et Santé. Constantine : Mentouri ,80p.
5. **Berrada S. (2009).** Les lipides : structure, propriétés et applications technologique. Montpellier.08p.
6. **Biaou G. (2010).** Opportunités, menaces et risques de la production des biocarburants au Bénin. projet de renforcement des capacités en conception et analyse des politiques de développement. Bénin, 24p.
7. **Blkadi M. (2009).** Etude technique pour la valorisation énergétique des microalgues. Mémoire magister: Boumardes: Mohamed Bougara, 79p.
8. **Bonoma B.(2011).** Contribution à la production du biodiesel à partir de quelques huiles végétales camerounaises: cas des huiles de palme, maïs, arachide et coton. Mémoire (DIPES II): Licenciée en Physique. Cameroun: Yaounde I, 71p.
9. **Bouhadjra K. (2012).** Etude de l'effet des antioxydants naturels et de synthèse sur la stabilité oxydative de l'huile d'olive vierge. Mémoire magister: Chimie de l'environnement. Tizi-Ouzou: MouloudeMammri, 122p.
10. **Boutekrabt L., Doumandji A., Doumandji S., Haouari S., H\$amerouch D.(2012).** Etude de l'impact de l'incorporation de la spiruline sur les propriétés nutritionnelles, technologiques et organoleptiques du couscous artisanal. Nature et Technologie. (06): 40-50.
11. **Brodeur C., Cloutier J., Crowley D., Desmeules X., Pigeon S., Maude R.(2008).** La production de biodiesel à partir de cultures oléagineuses. Ed. CRAAQ, Canada. Québec.20p.

12. **Cantin I. (2010).** La production de biodiesel à partir des microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe. Mémoire de grade de maître en environnement: Canada Sherbrooke, 97p.
13. **Cavalla M. (2000).** Les algues - les microalgues.17p.
14. **Chader S et Touzi A. (2001).**Biomasse algale source .énergétique et alimentaire , Rev. Energ. Ren.47-50p.
15. **Chader S., Debbari Z., Ghobrini M., Kord A. (2012).** Caractérisation des Acides Gras de la *Chlorelle* en Vue d'une Application Bioénergétique. Le 2^{ème} Séminaire International sur les Energies Nouvelles et Renouvelables. (2).1-4.
16. **Charpy L. (2009).**environnement et biodiversité.Ed.IRD, MNHN,Marseille – France.25p.
17. **Chikhouné Anis M. (2010).** Texture d'une margarine nouvellement formulée et effet des huiles incorporées (hydrogénées et interestérifiées). Mémoire magister:Technologies Alimentaires.Constantin: Mentouri, 205p.
18. **Chisti Y.(2008).**Le biodiesel algal l'emporte sur le bioéthanol. Massy.1-9p.
19. **Clément-Larosière B. (2012).**Etude de la croissance de *Chlorellavulgaris* en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO₂. Thèse doctorat : Sciences pour l'ingénieur. Paris :Ecole Centrale Paris, 232p.
20. **Contal E. (2010).** Synthèse de nano-objets lipidiques et leur fonctionnement interne par réaction click. Thèse doctorat: Chimie organique. Strasbourg, 247p.
21. **Dabbadie L. (1992).** Cultures Intensives de microalgues sur lisier de porc : Permanences. Diplôméd'agronomie approfondie: France. ENSA.M, 125p.
22. **Diouf D.(2009).** Production d'aliments enrichis en acides gras polyinsaturés à partir de microalgues pour les besoins aquacoles. Mémoire de diplôme de maîtrise en océanographie:B. Ing Génie Chimique. Canada : Québec à Rimouski,139p.
23. **Djadoun S. (2012).** Influence de hexane acidifié sur l'extraction de huile de grignon assistée par micro-ondes. Mémoire magister: Chimie. Tizi-Ouzou: MouloudeMammri, 87p.
24. **Doré-Deschênes F. (2009).** Utilisation des microalgues comme source d'énergie durable. Mémoire de grade de maître en environnement: Canada. Sherbrooke,111p.
25. **Filali R. (2012).** Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO₂ . Thèse doctorat:Automatique. Paris:STITS,226p.

26. **Gerard Tchakblo A. (2009).** Production de biodiesel par transesterification alcoolique: étude sur réacteur pilote. Mémoire master: Génie Energétique. Burkina Faso: LBEB, 54p.
27. **Gnankon K. (2010).** Métabolisme lipidique et cycle du glyoxylate chez la levure *Yarrowia lipolytica*. Mémoire doctorat: Biotechnologie. Paris: AgroParisTech, 159p.
28. **Godet S. (2008).** Isolement et caractérisation de trois gènes codant une lipase et deux estérases hypothétiques chez la microalgue marine *Isochrysis galbana* (*Prymnesiophyceae, Haptophyta*). Thèse doctorat : Sciences et Techniques. France: Maine, 243p.
29. **Henrionne-Malgoyre A. (2006).** Déterminations mitochondriales de l'oxydation des acides gras : modulation par l'entraînement, l'hypoxie et un agoniste PPAR- δ . Thèse doctorat : Physiologie physiopathologies pharmacologie. France : Grenoble, 299p.
30. **Hininger I. (2010).** Les lipides et dérivés. France : Joseph Fourier de Grenoble, 72p.
31. **Hurel JL., Stoffel k. (2006).** Le biodiesel-un carburant de qualité issu de matières premières renouvelables. projet à risques. ecoMotion, 44p.
32. **Jean Guy S. (2011).** Contribution à la production du bioéthanol à partir de la biomasse lignocellulosique: cas du bongossi. Mémoire (D.I.P.E.S. II): Physique, 62p.
33. **Anonyme. (2006).** Projet de construction de réservoirs additionnels d'entreposage de produits liquides à Montréal-Est par CANTERM Terminaux Canadiens Inc. Mémoire de la consultation (BAPE): Canada, 5p.
34. **Lohézic F. (2012).** Les algues comme biocarburant. Master: Sciences de la Vie et de l'Environnement. France: Rennes 1, 35p.
35. **Maamri S. (2008).** Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Mémoire magister: Biochimie et Microbiologie appliquées. Boumerdes: Mohamed Bougara, 139p.
36. **Mélanie et Sabrina. (2008).** Biodiesel/Bioéthanol Que avenir pour les biocarburants ?. Mémoire Master: Sciences naturelles végétales, biologie cellulaire et moléculaire des plantes. Strasbourg, 31p.
37. **Mesbahi D. (2012).** La transestérification hétérogène de l'huile de tournesol sous alumine : Production du biodiesel EEHV. Mémoire magistère: Chimie. Tlemcen: Abou Bekr Belkaid, 99p.
38. **Person J. (2011).** livre turquoise Algues, filières du futur. AdebioTech, Romainville-France, 182p.

39. **Peter M. (2008)**. Métabolisme des acides gras dans les tissus de perche *comme Percafluviatilis L* .Thèse doctorat: Agronomie. France: INPL, 193p.
40. **Raisonnier A. (2003)**. Lipides et lipoprotéines . Mémoire de Objectifs au cours de biochimie PCEM2.Paris,106p.
41. **Ruiz G. (2005)**. Extraction, Détermination structurale et valorisation chimique de phycocolloïdes d'algues rouges. Thèse doctorat: Chimie appliquée-Chimie des substances naturelles. France: Limoges, 256p.
42. **Sadi M. (2012)**. Les microalgues: un défi prometteur pour des biocarburants propres, Revue des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa.195 – 202p.
43. **Salomez M. (2009)**. Opportunités de développement de la filière microalgues a l'île de la réunion.ARER. 91p.
44. **Sanghare Ya. (2008)**.Production et caractéristique physicochimique de Biodiesel à partir d'une huile végétale pure. Projet de fin du étude. Génie mécanique : Cheikh antadiop. Dakar, 115p.
45. **Touati I. (2013)**. valorisation des grignons d'olive Etude de cas : Essai de valorisation de biocarburant. Mémoire magistère: Technologie et alimentaire. Boumerdes: Mohamed Bougara, 68p.
46. **Touitou Y. (2005)**. Biochimie: structure des glucides et lipides. PAES.Pierre et Marie Curie,48p.
47. **Weinman S. (2004)**.Toute la biochimie. Ed. Dunod, Paris. 466p.
48. **Wolff A.(2012)**. L'utilisation des microalgues pour la fabrication de biocarburants: analyse de la chaîne de valeur - contexte français et international. Rapport de stage mineure en environnement. CERES-ERTI.62p.

Résumé

La production du biodiesel à partir des microalgues est obtenue par un procédé chimique appelé transestérification qui transforme l'huile végétal (lipide de microalgue) en biodiesel. Les microalgues sont des microorganismes photosynthétiques vivant généralement dans les milieux aquatiques. La plupart de ces microorganismes (photoautotrophe) utilisent le CO_2 comme source de carbone et tirent leur énergie de la photosynthèse. Ce dernier est un processus par lequel les microalgues se fixent le CO_2 et transforment l'énergie lumineuse en énergie chimique pour synthétiser des carbohydrates par exemple les lipides qui sont stockés généralement dans le cytoplasme des microalgues sous forme de réserve incluse. La culture de ces microorganismes s'effectue après l'isolement et l'identification des souches pures de microalgues. On distingue principalement trois grandes catégories du système de culture: le système ouvert (bassin naturel et artificiel), le système mixte (hybride) et le système fermé (photobioréacteur). Ce dernier est le plus utilisé pour la culture des microalgues photosynthétiques.

Les mots clés: biodiesel, microalgue, transestérification, lipide, photosynthèse, photobioréacteur.

Résumé

La production du biodiesel à partir des microalgues est obtenue par un procédé chimique appelé transestérification qui transforme l'huile végétal (lipide de microalgue) en biodiesel.

Les microalgues sont des microorganismes photosynthétiques vivant généralement dans les milieux aquatiques. La plupart de ces microorganismes (photoautotrophe) utilisent le CO₂ comme source de carbone et tirent leur énergie de la photosynthèse. Ce dernière est un processus par lequel les microalgues se fixe le CO₂ et transforme l'énergie lumineuse en énergie chimique pour synthétiser des carbohydrates par exemple les lipides qui sont stockés généralement dans le cytoplasme des microalgues sous forme de réserve incluse.

La culture de ces microorganismes s'effectué après l'isolement et l'identification des souches pures de microalgues. On distingue principalement trois grandes catégories du système de culture: le système ouvert (bassin naturel et artificiel), le système mixte (hybride) et le système fermé (photobioréacteur). Ce dernier est le plus utilisé pour la culture des microalgues photosynthétiques .

Les mots clés: biodiesel, microalgue, transestérification, lipide, photosynthèse, photobioréacteur.

ملخص

يتم إنتاج وقود الديزل الحيوي انطلاقاً من الطحالب المجهرية بطريقة كيميائية تسمى الأسترة التي تحول الزيت النباتي (لبيد الطحالب) إلى وقود الديزل الحيوي .

الطحالب هي عبارة عن أجسام مجهرية ذات التركيب الضوئي تعيش عموماً في الأوساط المائية ،اغلب هذه الأجسام تستخدم ثاني أكسيد الكربون كمصدر للكربون وتستمد طاقتها من عملية التركيب الضوئي . هذه الأخيرة هي عبارة عن عملية تقوم خلالها الطحالب المجهرية ببتثبيت ثاني أكسيد الكربون وتحويل الطاقة الضوئية إلى طاقة كيميائية لتركيب الكربوهيدرات مثل اللبيدات التي يتم تخزينها في هيولى الطحالب المجهرية على شكل مدخرات .

زرع هذه الأجسام المجهرية يجرى بعد عزل وتحديد السلالات النقية للطحالب المجهرية . على العموم، نميز ثلاث أنماط جوهرية لنظام الزرع : النظام المفتوح (حوض طبيعي أو اصطناعي) ، النظام المختلط (هجين) والنظام المغلق (المفاعل الحيوي الضوئي) هذا الأخير هو الأكثر استخداماً لزرع الطحالب المجهرية ذات التركيب الضوئي.

الكلمات المفتاحية : وقود الديزل الحيوي ، الطحالب ، الأسترة ، اللبيد ، التركيب الضوئي ، المفاعل الحيوي الضوئي .