

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE KASDI MERBAH – OUARGLA



N° Série: 2021/2022

Faculté des Sciences Appliquées

Département de Génie des Procédés

*Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master*

Domaine : Science et Technologies

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Pétrochimique

Présenté par :

Yousef abdukkareem Yahya Abdulqader- Mohammed Adel mohammed nasher algaad

**Thème**

---

**Production de biodiesel à partir de microalgues (utilisation  
de la souche *Chlorella Pyrenoidosa*)**

---

Soutenu publiquement le : 06/2022

Devant le jury :

Mr. Siboukeur Hichem	MCB	UKM OUARGLA	Président
Mr. Abdellatif Rahmani	MCB	UKM OUARGLA	Encadreur
Mr. Goudjil Mohammed Bilal	MCA	UKM OUARGLA	Examineur

Année universitaire : 2021/2022

## Remerciements

*Au terme de ce travail, nos remerciements vont tout d'abord au tout puissant **ALLAH** qui nous a permis d'aller jusqu'au bout de nos études.*

*Nous tiendrons à remercier, **Abdellatif Rahmani**, encadreur de ce mémoire, pour avoir accepté d'encadrer ce modeste travail et pour son aide inestimable sur plusieurs plans (documentations, connaissances, orientations, soutien moral).*

*Nos sincères remerciements vont tout particulièrement :*

- *Monsieur **SEGNI Ladjelle** directeur du laboratoire de recherche Génie des Procédés.*

*Nous remercions les membres de jury, chacun a son nom, d'accepter de juger notre travail*

*Monsieur **HICHAM Siboukeur***

*Monsieur **GOUDJIL Bilal***

*Enfin, nous adressons plus sincères remerciements à tous nos proches et amis qui nous ont toujours soutenue et encouragée au cours de la réalisation de ce mémoire.*

*et toutes les personnes que nous n'avons pas pu citer ici et qui ont participé, de près ou de loin, à la réalisation de ce petit projet.*

## *Dédicace*

Je dédie cet humble travail :

À mon cher parent

À toute la famille ♥et surtout mon frère Yahya♥ et Dr  
Abdulkareem Mohammed Al\_nasser

Et au docteur, mon frère Abdullah Almutewekel

Et au mon frère Rida Mena

*Yousef*

## *Dédicace*

Je donne ce travail à:

Mon père, ma mère, mon frère,

ma femme et toute ma famille

et tous mes amis surtout - Alaa El Din Diab - Abdulaziz Al

Joubi

*MOHAMMED*

### Résumé

Dans ce travail, nous avons étudié l'efficacité de la culture de microalgues dans l'eau générée par le champ pétrolier et la production de biocarburant à partir de celle-ci, et nous avons utilisé la souche *Chlorella pyrenoidosa*. Les micro-algues sont cultivées dans des systèmes ouverts dans des zones désertiques sous le soleil

Nous avons également obtenu 38% de la matière grasse après le procédé d'extraction par la méthode Soxhlet, et la production de biodiesel est obtenue par la réaction d'estérification directe des huiles extraites en présence d'un milieu acide.

Ces résultats pourraient fournir un guide pour la mise en œuvre d'un processus complet de traitement de l'eau à base de microalgues dans les régions arides et la conversion de la biomasse algale en biocarburants.

**Mot clés:** Microalgues, Extraction lipidique, Transestérification directe, Biodiesel.

### Abstract

In this work, we studied the efficiency of the cultivation of microalgae in the water generated by the oil field and the production of biofuel from it, and we used the strain *Chlorella pyrenoidosa*. Microalgae are grown in open systems in desert areas under the sun

We also obtained 38% of the fat after the extraction process by the Soxhlet method, and the production of biodiesel is obtained by the direct esterification reaction of the extracted oils in the presence of an acid medium.

These results could provide a guide for the implementation of a complete microalgae-based water treatment process in arid regions and the conversion of algal biomass into biofuel.

**Keywords:** Microalgae, Lipid extraction, direct transestérification, Biodiesel.

### المخلص

في هذا العمل قمنا بدراسة فاعلية زراعة الطحالب الدقيقة في المياه الناتجة من الحقل البترولي وإنتاج الوقود الحيوي منها ، وقد استخدمنا السلالة كلوريل بارنوادوزا (*C.pyrenoidosa*). تمت زراعة الطحالب الدقيقة في أنظمة مفتوحة في المناطق الصحراوية تحت أشعة الشمس

كما حصلنا على 38% من الدهون بعد عملية الاستخراج بطريقة سوكسلي (Soxhlet) ويتم الحصول على إنتاج وقود الديزل الحيوي من خلال تفاعل الأسترة مباشرة للزيوت المستخرجة بوجود وسيط حمضي.

يمكن أن توفر هذه النتائج دليلاً لتنفيذ عملية معالجة كاملة للمياه تعتمد على الطحالب الدقيقة في المناطق القاحلة وتحويل الكتلة الحيوية الطحلبية إلى وقود حيوي.

📌 **الكلمات المفتاحية:** الطحالب الدقيقة، إستخلاص الدهون، أسترة مباشرة، وقود الديزل الحيوي.

## Liste des figures

Figure I.1: A gauche : bassin en boucle fermée, infrastructure de Roswell, Nouveau Mexique (USA). A droite : bassins circulaires d'environ 500m <sup>2</sup> , production de chlorelle (Chlorella Industries, Japon) .....	7
Figure I.2: Schéma d'un Raceway et des flux associés à son fonctionnement .....	7
Figure I.3: Schéma d'un PBR plat. (Site web, oilgae) .....	8
Figure I.4 : Différentes organisations de PBR tubulaires .....	9
Figure I.5: Trois exemples de configuration de PBRs à colonne verticale associés avec un système de distribution de gaz, dimensions en mm .....	10
Figure II.1: Comparaison des deux modes de filtration (source : présentation M. Frappart / Massé/Jaouen – GEPEA-CNRS) .....	14
Figure III.1: Carte géographique de région d'Ouargla .....	21
Figure III.2: <i>Chlorella pyrenoidosa</i> IMG X100.....	21
Figure III.3: Culture de souche <i>Chlorella pyrenoidosa</i> dans laboratoire.....	23
Figure III.4: Configuration expérimentale .....	23
Figure III.5: Variation de la densité optique pendant la période de culture .....	24
Figure III.6: schéma représenté "Préparation d'échantillon" .....	26
Figure III.7: appareil d'extraction des lipides Soxhlet.....	27
Figure III.8: évaporateur rotatif (Clément de Mecquenem & al.2018 .....	27
Figure III.9: un bain à ultrasons Figure III.10: agitateur vortex.....	28
Figure III.11: La réaction de la transestérification .....	29
Figure III.12: L'extraction d'huile de microalgues.....	31
Figure III.13 : Caractérisation par spectrophotométrie IR .....	31
Figure III.14: profil Chromatographique de biodiesel de la souche <i>Chlorella Pyrenoidosa</i> ...	34

## Liste des Tableaux

Tableau III.1 : Matériels et produits utilisés.....	25
Tableau III.2: Caractéristiques organoleptiques d'huile de microalgues. ....	30
Tableau III.3: Propriété physico-chimique du biodiesel. ....	33
Tableau III.4 : composition chimique des biocarburants .....	34

## Nomenclature

**BBM** : Bold Basal Medium

**DHA**: acide Docosahexaénoïque

**EPA** : acide Eicosapentaénoïque

**EPP** : l'eau produite au champ pétrolière

**FAME** : Fatty Acids Méthyl Ester

m : Masse.

**M**: Masse molaire.

**Mg** : Milligramme.

**ml** : Millilitre.

**Mol / L** : moles par litre.

**N**: Normalité.

**PBR** : Photobioréacteurs

**R%** : Rendement.

**T** : Température.

**V** : Volume.

**$\rho$** : Masse volumique

## Sommaire

Résumé .....	IV
Liste des Tableaux.....	VIII
Liste des Figures.....	VIII
Liste des Abréviations.....	IX
<b>INTRODUCTION GÉNÉRALE .....</b>	<b>1</b>
<b>I GÉNÉRALITÉ SUR LES MICROALGUES .....</b>	<b>3</b>
I.1 Introduction.....	3
I.2 Mode de culture des microalgues .....	4
I.2.1 Culture hétérotrophe .....	4
I.2.2 Culture mixotrophie .....	4
I.2.3 Culture autotrophie .....	5
I.3 Les systèmes de culture .....	6
I.3.1 Systèmes fermés (photo bioréacteur).....	7
I.3.2 Systèmes mixtes.....	11
<b>II MÉTHODES DE TRAITEMENT EN AVAL POUR LA PRODUCTION DE BIODIESEL À PARTIR DES MICROALGUES .....</b>	<b>12</b>
II.1 Introduction .....	12
II.2 Méthodes de récolte et concentration.....	12
II.2.1 Séparation gravitaire par différence de masse volumique.....	13
II.2.2 Les procédés d'extraction .....	14
II.2 Les caractéristiques du biodiesel.....	17
II.2.1 La viscosité .....	18
II.2.4 L'indice.....	18
II.2.5 L'oxydation .....	19
<b>IIISYNTHÈSE DE BIODIESEL .....</b>	<b>20</b>
III.1 Introduction .....	20
III.2 Présentation de la région d'étude.....	20
III.3 Présentation de la souche utilisée ( <i>Chlorella pyrenoidosa</i> ).....	21
III.4 La culture de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> dans le système fermie (Bioréacteur).....	22

III.4.1	Préparation de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> acclimatée .....	22
III.5	La culture de <i>Chlorella pyrenoidosa</i> dans le système Ouvert (Raceway).....	23
III.6	Préparation d'échantillon .....	25
III.7	Méthodes d'extraction des lipides .....	26
III.7.1	Extraction au Soxhlet.....	26
III.8	Transestérification directe.....	27
III.8.1	Résultats et discussions .....	28
	<b>CONCLUSION GÉNÉRALE .....</b>	<b>35</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIES.....</b>	<b>36</b>

# *INTRODUCTION*

## Introduction Générale

La culture des microalgues a reçu une attention considérable ces dernières années en raison de l'efficacité de ces organismes dans l'absorption de certains polluants ainsi que pour leur capacité à produire de la biomasse valorisable dans différentes applications industrielles telles que l'agroalimentaire, les produits pharmaceutiques, les engrais, le biogaz et le biocarburant

Dans les applications pour le traitement des eaux usées, par exemple, les microalgues peuvent assimiler les nutriments, absorber les métaux lourds et le CO<sub>2</sub>, fournir de l'O<sub>2</sub> aux bactéries aérobies et produire de la biomasse qui peut être utilisée pour stimuler la production de biogaz à partir de digesteurs anaérobies [1].

Le déversement d'eaux usées riches en éléments nutritifs peut provoquer une eutrophisation, ce qui constitue un problème grave à l'environnement, la capacité des microalgues à se développer rapidement dans une eau riche en nutriments peut être utilisée positivement dans le traitement des eaux usées pour retirer les nutriments des eaux usées avant leur rejet dans la nature. Les microalgues ont un potentiel pour des systèmes alternatifs de traitement des eaux usées avec une concentration presque nulle de nutriments finaux. [1].

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 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 bioéthanol et le biodiesel [2].

Dans cette perspective, l'objectif principal du travail de mémoire de Master est d'améliorer les conditions expérimentales de la production de biodiesel à partir d'huile extraite de la souche *Chlorella Pyrenoidosa*.

## INTRODUCTION

---

Ce memoire est constitué de 3 chapitres et une conclusion générale

**Le premier chapitre :** il est consacré à la partie bibliographique de généralité sur les micro algues.

**Le deuxième chapitre:** présent les méthodes de traitement en aval pour la production de biodiesel a partir de les micro algues

**Le troisième chapitre :** ce chapitre est consacré à la synthèse de biodiesel et discussion des resultats.

*PREMIERE PARTIE*  
*SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE*

*CHAPITRE I*  
*GENERALITE SUR LES MICROALGUES*

## I Généralité Sur Les Micro algues

### I.1 Introduction

Les microalgues font partie des organismes apparus sur notre planète il y a plus de trois milliards d'années, car elles sont le principal maillon de la chaîne alimentaire des océans et des mers, et jouent un rôle dans la préservation de la biodiversité [3].

Cette diversité non indépendante représente de réelles possibilités pour la recherche et l'industrie, avec un nombre estimé d'espèces trouvées dans la nature, il y a 200 000 et plusieurs millions d'espèces de micro algues [4]. Selon leur taille (micro et macro algues), par rapport à leurs pigments, leurs propriétés de paroi et leur composition, les microalgues peuvent être divisées en trois groupes selon leurs pigments : vert, rouge et brun, et elles sont utilisées dans les processus de conversion pour produire de l'énergie combustion, pyrolyse et digestion Anaérobie (biogaz) [5].

Les microalgues sont des organismes microscopiques appelés macrophytes, les eucaryotes unicellulaires photosynthétiques sont généralement ovales ou ronds, ils sont invisibles à l'œil nu, et leur taille est de quelques micromètres, ce sont des organismes aquatiques trouvés dans les habitats marins ou d'eau douce connues sous le nom de phytoplancton [4].

Les microalgues captent la lumière du soleil et produisent environ la moitié de l'oxygène de l'atmosphère terrestre à travers le phytoplancton. Ainsi, elle absorbe de grandes quantités de dioxyde de carbone, afin d'incorporer du carbone dans sa biomasse et elles accumulent les molécules organiques nécessaires à la vie.

Les microalgues sont utilisées dans de nombreux domaines et cela est dû aux composants qu'elles contiennent, car elles sont une source de protéines, de glucides, de graisses (acides gras), d'antioxydants et de vitamines en plus des colorants, et peuvent ainsi être utilisés pour augmenter la valeur nutritionnelle des aliments, dans les cosmétiques, et/ou même en médecine.

Elles sont subdivisées en deux grandes catégories en fonction de leur taille, les macro algues visibles à l'œil nu et les micro algues qui sont des algues unicellulaires, qui ont une taille de l'ordre du micromètre [42].

## **I.2 Mode de culture des microalgues**

### **I.2.1 Culture hétérotrophe**

#### **I.2.1.1 Milieu de culture hétérotrophe**

Les microalgues cultivées en hétérotrophie dans des fermenteurs sont alimentées en substrat carboné qu'elles doivent trouver dans leur milieu de culture. Cette source de carbone peut être de nature variée tel que le glucose, des glucides lignocellulosiques ou de la mélasse riche en sucre. Il est important de renouveler régulièrement le substrat carboné par des apports réguliers afin de maintenir le processus de fermentation à son meilleur niveau.

Les autres éléments, indispensables à la croissance des microalgues, tels que l'azote, le phosphore et les différents micros éléments sont apportés par des sels présents dans le milieu de culture tel que le milieu BG11.

#### **I.2.1.2 Avantages et les inconvénients de ce type de culture**

Selon Ghobrini et al. (2020). [3], en culture hétérotrophe, il est plus facile de maintenir les conditions de production et de se prévenir des contaminations. De plus, il est possible d'utiliser pour la croissance des substrats tels que le glycérol ou des acides organiques. En outre, des concentrations élevées en biomasse sont atteintes sur de courte période.

Par ailleurs, la disponibilité des matières premières telles que les sucres et la compétitivité des matières produites avec d'autres technologies de biocarburants issus de levures ou de bactéries ont font un mode de culture de choix pour les souches adaptées.

### **I.2.2 Culture mixotrophie**

La mixotrophie permet aux microalgues de tirer leur énergie de la photosynthèse, mais aussi du carbone organique. Découvrez tous les avantages de ce mode de culture dans ce qui suit :

#### **1.1.1.1 Milieu de culture en mixotrophie**

Les microalgues sont cultivées à grande échelle dans des fermenteurs contenant un substrat carboné qui les nourrit afin qu'elles produisent de grandes quantités de biomasses. De la lumière de faible intensité et de courte durée est régulièrement introduite dans la culture pour activer les organites capteurs de l'énergie lumineuse des algues comme les chloroplastes.

Ces photorécepteurs une fois activés permettent d'augmenter le rendement des microalgues et la production des molécules d'intérêts. De plus, en modifiant la longueur d'onde de la lumière ou en utilisant un mode lumineux sous forme de flash, il est possible d'orienter la production des algues en culture vers tel ou tel type de molécules [4].

### I.2.2.2 Avantages et les inconvénients de ce type de culture

La culture des microalgues en mixotrophie permet d'obtenir des rendements bien supérieurs aux autres modes de production et peut atteindre jusqu'à 250 g de matière sèche par litre. Il s'agit d'un taux de production qui peut être jusqu'à 10 fois supérieur aux cultures d'algues en photo bioréacteurs.

Quand on sait que les chlorelles sont riches en amidon et possèdent de nombreuses propriétés tonifiantes et détoxifiantes, leur culture en mixotrophie devient intéressante.

Les molécules d'intérêts qui peuvent être produites en mixotrophie sont nombreuses : des sucres et des polysaccharides, des acides aminés, des antioxydants, des pigments ainsi que des acides gras de grande valeur comme le DHA ou l'EPA.

Le processus de culture des microalgues en mixotrophie est hautement industrialisable et ne requiert pas de contraintes géographiques liées à la durée d'ensoleillement. Néanmoins, si la molécule d'intérêt est un pigment, la présence de soleil ou d'une lumière artificielle est alors indispensable.

L'impact environnemental d'une culture de microalgues en mixotrophie est relativement faible, car :

- ✓ La consommation d'énergie est faible : la lumière apportée pour la phase autotrophe est de faible intensité et sporadique ;
- ✓ La consommation d'eau est limitée puisque le système fonctionne en circuit fermé ;
- ✓ Le bilan carbone est positif, car le CO<sub>2</sub> produit durant la phase hétérotrophe est consommé pendant la phase lumineuse.

Néanmoins la mise en place d'une culture d'algues en mixotrophie représente des dépenses d'investissement assez élevées. De plus, le risque de contamination de la culture par des microorganismes tels que des bactéries ou des champignons est important. Par ailleurs, les charges d'entretien et d'exploitation sont également importantes puisqu'il faut régulièrement apporter à la culture des sources de carbone externes et stériles. [6]

### I.2.3 Culture autotrophie

Dans une culture de microalgues en photo bioréacteurs type SALT (stands for Size Attitude Location Type (science)), le carbone, qui représente à lui seul plus ou moins 50 % de la matière sèche des microalgues, est issu totalement du CO<sub>2</sub> en bouteilles branchées au système. Celui-ci est acheminé à la culture en fonction des besoins de l'algue cultivée et de la régulation du pH. [6]

Un milieu de culture classique utilisé pour les cultures des microalgues dans un PBR doit contenir de l'azote qui est généralement apporté sous la forme d'ammoniaque, de nitrate ou

d'urée. Le choix de l'une ou l'autre source est essentiellement fonction de l'espèce cultivée. [6].

Le phosphore constitue également un élément indispensable. Dans certains cas, et en fonction du milieu de culture, il est ajouté en excès, car il a la fâcheuse tendance à former des complexes avec certains ions métalliques. Dans ce cas, les algues ne parviennent plus à l'assimiler [6].

Un milieu de culture contient également des éléments à l'état de traces, mais absolument indispensables. Il s'agit très souvent d'ions métalliques comme le magnésium qui intervient dans la constitution de la chlorophylle, la molécule clé de la photosynthèse.

Un milieu de culture classique utilisé pour cultiver des microalgues en photo bioréacteurs est le milieu de Conway. Il contient essentiellement des sels pour l'apport de l'azote et du phosphore ainsi que des métaux à l'état de trace. Il peut contenir des vitamines B1 et B12. Le milieu de Conway n'est pas utilisé pur, mais généralement dilué dans de l'eau. Avant utilisation, il est stérilisé par passage dans un autoclave ou par filtration sur des filtres de 0,45  $\mu\text{m}$  puis 0,22  $\mu\text{m}$ . [6]

Un autre milieu qui peut être utilisé pour la culture des microalgues est le milieu BBM (Bold Basal Medium) [4]

Il diffère du milieu de Conway, par le type de sels utilisé pour sa préparation. Certaines microalgues ont également un meilleur taux de croissance dans un type de milieu plutôt que dans un autre (Ghobrini communication personnelle).

La culture de certaines microalgues marines de type diatomée nécessite la présence de silice dans le milieu de culture. [6]

Les milieux de culture peuvent être achetés tel quel, mais sa préparation est simple et relativement bon marché.

### I.3 Les systèmes de culture

Systèmes ouverts (bassins Rasway):

De taille et de formes variables, les trois principaux designs de bassins en opération à relativement large échelle sont [7] :

- ✓ Les bassins en boucle fermée (Raceway) 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).

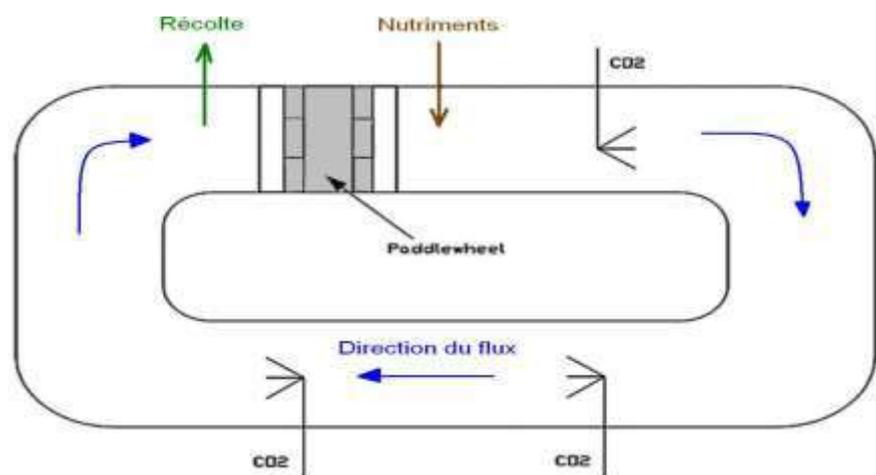


**Figure I.1: A gauche : bassin en boucle fermée, infrastructure de Roswell, Nouveau Mexique (USA) [8]. A droite : bassins circulaires d'environ 500m<sup>2</sup>, production de chlorelle (Chlorella Industries, Japon) [9].**

De profondeur généralement comprise entre 15 et 50cm, 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 PVC, en polyuréthane [10]. La plupart des sites commerciaux emploient des membranes plastiques longues durées, 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.



**Figure I.2: Schéma d'un Raceway et des flux associés à son fonctionnement [10].**

### Systemes fermés (photobioréacteur)

Les photobioréacteurs (PBRs) sont des systèmes de culture fermés dont une partie du système, faite de matériau laissant passer la lumière, est allouée à la photosynthèse. Plus récents que les bassins ouverts, de très nombreuses innovations technologiques ont permis leur

optimisation. La prolifération de projets pilotes faisant usage de PBRs plutôt que de bassins ouverts peut être attribuée notamment au contrôle plus rigoureux des procédés autorisant donc une analyse plus fine des caractéristiques des souches étudiées.[11]

Les cultures algales sont mises en circulation soit par une pompe mécanique, soit par un mécanisme de bullage (air lift). Ce dernier système permet simultanément le mixage de la culture et son aération en facilitant les échanges gazeux en  $O_2$  et  $CO_2$  entre le milieu de culture et la phase gazeuse [12].

Il existe des géométries très variées de PBR. On peut cependant distinguer trois Grands types :

- ✓ Les PBRs plats ;
- ✓ Les PBR tubulaires ;
- ✓ Les PBRs à colonne vertical.

### 1.2.0.1 Les PBRs plats

PBR plats sont des structures fines (moins de 10cm) et verticales qui offrent de larges surfaces éclairées.

Description

Le mixage est réalisé par un barbotage de l'air injecté à la base. Du fait de l'importante surface éclairée et un mixage efficace, les densités cellulaires obtenues sont généralement élevées, c'est-à-dire plus de 80g/l [11].

Des PBR plats de plus de 1000l ont été testé avec succès ce qui présuppose que cette technique pourrait être intéressante à plus grande échelle [7].

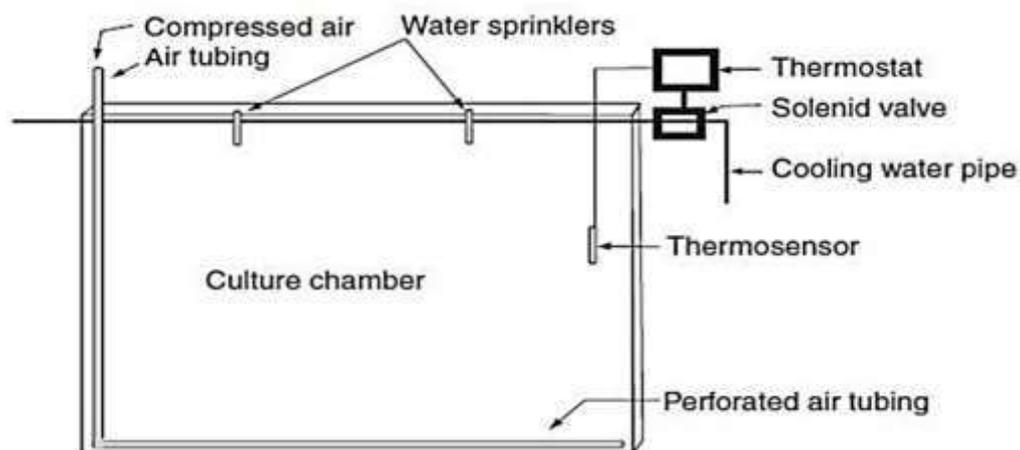


Figure I.3: Schéma d'un PBR plat [41].

### 1.2.0.2 Les paramètres importants

Le contrôle de la température est particulièrement ardu du fait de faible ratio entre surface de refroidissement et surface exposée au soleil. [7]

### 1.2.0.3 Les PBR tubulaires

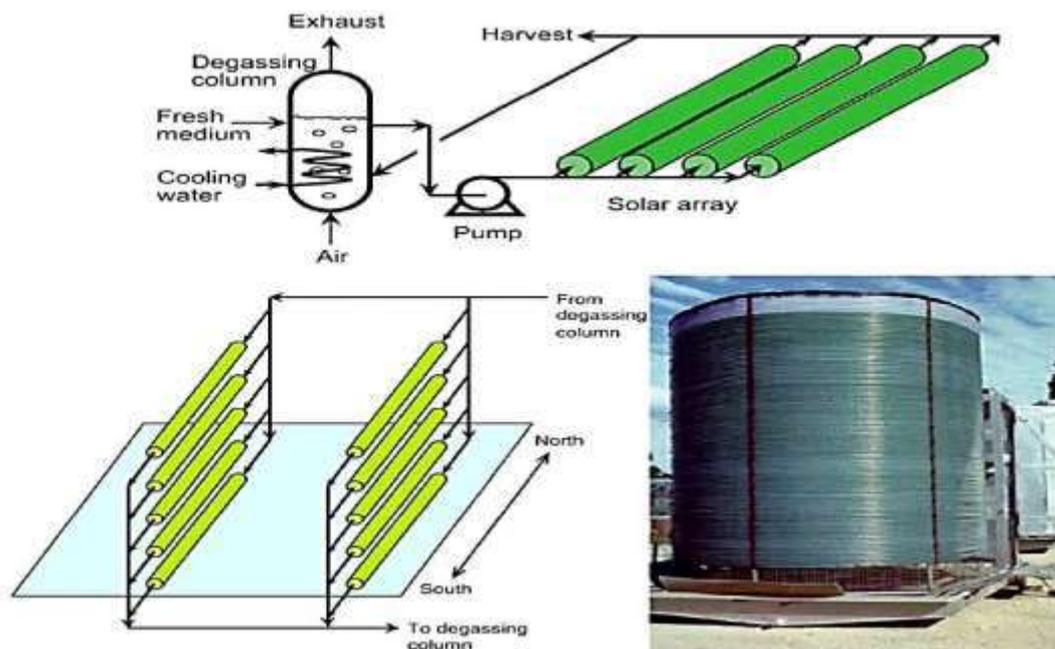
La culture de microalgues circule cycliquement entre un réseau de tubes transparents et une colonne de dégazage.

#### a. Description

Ces PBRs forment un réseau de tubes, organisés de façon horizontale, verticale, oblique ou en hélice (**Figure I.4**). Les tubes font généralement 10cm de diamètre ou moins afin de maximiser la pénétration lumineuse [14].

Les PBRs sont classiquement composés de trois éléments majeurs : une structure transparente de collecte lumineuse, une colonne de dégazage et une pompe. Les parois transparentes sont classiquement constituées de plastique ou de verre et forment la structure de collecte de l'énergie lumineuse.

Les tubes sont orientés de façon à maximiser la capture de la lumière : les tubes sont arrangés parallèlement les uns par rapport aux autres, souvent en palissade, et sont toujours orientés nord-sud. Les surfaces environnantes sont souvent peintes en blanc afin d'augmenter la réflectance [14]



**Figure I.4 : Différentes organisations de PBR tubulaires [14].**

En haut, illustration du système complet comprenant, un réseau tubulaire horizontal, une colonne à dégazage et un système de pompe. A gauche, PBR tubulaire verticale organisé en palissade avec une orientation nord-sud. A droite, un PBR tubulaire hélicoïdal, MurdochUniversité, Australie. [14]

### 1.2.0.4 Les paramètres importants

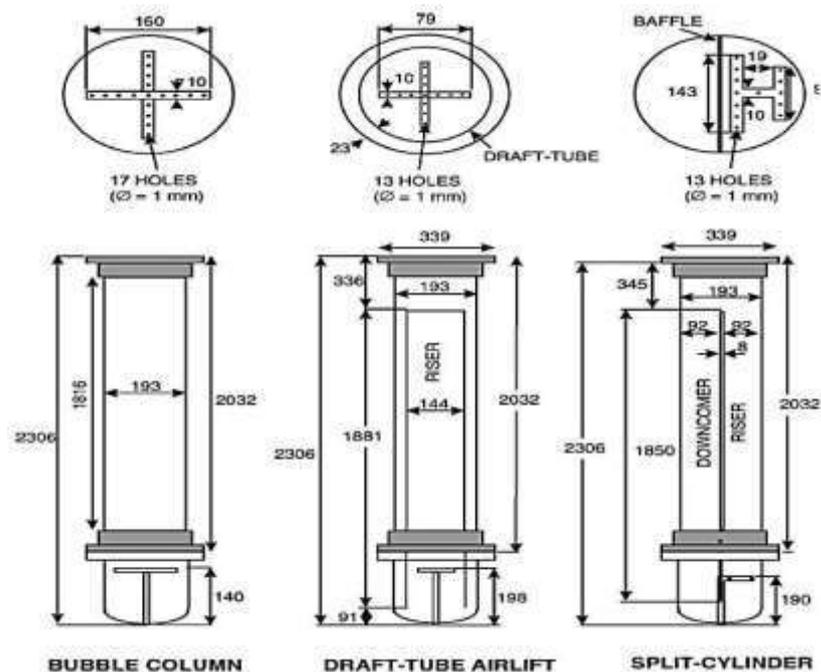
L'oxygène tend à s'accumuler à des concentrations qui inhibent la photosynthèse et provoquent des dommages photo-oxydatifs. Il ne peut pas être évacué au sein des tubes et forme donc des gradients croissants au fur et à mesure que le milieu de culture avance dans le tube. La longueur des tubes est donc limitée (de l'ordre de 80m, mais cette longueur dépend de nombreux facteurs) et la culture doit régulièrement retourner à la colonne de dégazage [14].

De la même façon, le pH augmente le long des tubes à cause de la consommation du CO<sub>2</sub> par la photosynthèse. Le carbone est apporté principalement avant l'entrée du fluide dans les tubes mais des points d'injection supplémentaires peuvent être nécessaires le long des tubes pour limiter les variations de pH [15].

Pour contrôler la température, un échangeur de chaleur peut être installé au niveau de la colonne de dégazage ou le long des tubes [14].

#### ❖ Les PBRs à colonne vertical

Les microalgues sont cultivées dans un cylindre vertical où le brassage est assuré par l'injection de gaz.



**Figure I.5: Trois exemples de configuration de PBRs à colonne verticale associés avec un système de distribution de gaz, dimensions en mm [16]**

Les PBRs en colonne permettent un mixage très efficace et offrent un maximum de contrôle des conditions de culture [11].

Les cultures tendent à moins souffrir de photo-inhibition avec ce système qu'avec les autres types de photobioréacteurs [7]

### 1.2.0.5 Les paramètres importants

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.

### I.3.2 Systèmes mixtes

Le terme de système mixte/hybride (en conditions de photoautotrophie) est un terme que l'on retrouve dans la littérature 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 microalgues en conditions contrôlées jusqu'à d'importantes concentrations cellulaires. Ces microalgues servent alors d'inoculum [13], 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 [11].

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.

## *CHAPITRE II*

# *METHODES DE TRAITEMENT EN AVAL POUR LA PRODUCTION DE BIODIESEL A PARTIR DES MICROALGUES*

## II Méthodes de traitement en aval pour la production de biodiesel à partir des micro algues

### II.1 Introduction

La production de biodiesel à partir de biomasse microalgale est un processus séquentiel qui consiste en la culture, la récolte, l'extraction d'huile et la conversion des lipides algaux en biocarburants avancés. À l'exception de la culture, le processus en aval contribue à 60 % du coût total de production du biodiesel. Par conséquent, il est essentiel de réduire le coût total combiné de la récolte, de l'extraction et de la conversion grâce à un certain nombre d'avancées techniques [7].

Le coût de la récolte de microalgues représente jusqu'à 20 % du coût de production total du biodiesel, bien qu'il varie en fonction du type de technologie de récolte utilisée et de la densité de la culture de microalgues [7].

L'extraction de l'huile à partir de la biomasse séchée peut être réalisée à l'aide de diverses techniques de rupture cellulaire, notamment l'autoclave, les ultrasons, l'homogénéisation et le broyage des billes. Des traitements avec des solvants organiques, des acides, des alcalis ou des enzymes peuvent être utilisés pour la dégradation chimique ou biologique de la paroi cellulaire. Des méthodes physiques, telles que la congélation et le choc osmotique, ont également été utilisées pour le processus d'extraction d'huile. Les méthodes mécaniques qui ont été développées pour l'extraction d'huile à partir de la biomasse de microalgues ne sont pas recommandées en raison de la nature de l'épaisseur de la paroi cellulaire des microalgues [17].

À ce jour, l'augmentation de l'efficacité de l'extraction d'huile à partir de la biomasse algale a été une tâche difficile dans le développement d'un processus de production de biodiesel économiquement viable à partir de microalgues. Après extraction de l'huile, le biodiesel est produit par une réaction de transestérification dans le méthanol avec un catalyseur acide ou alcalin. Ce processus est également une tâche difficile en raison de la difficulté de récupération du produit et de la production de produits chimiques toxiques.

### II.2 Méthodes de récolte et concentration

Deux principes de séparation permettent la récolte des microalgues [18]:

- ✓ le principe de séparation par différence de masse volumique des cellules par rapport à celle du milieu, utilisé par les techniques de sédimentation, de floculation-décantation, de flottation et de centrifugation
- ✓ le principe de séparation par exclusion de taille, utilisé par les méthodes de tamisage et les procédés de micro- ou ultrafiltration.

## II.2.1 Séparation gravitaire par différence de masse volumique

Certaines souches d'algues tendent à sédimenter spontanément lorsque le brassage du milieu est suspendu. Le temps de décantation dépend des paramètres de la loi de Stokes : la différence de densité entre le milieu de culture et les microalgues, la taille des cellules et la viscosité du milieu.

### 2.1.0.1 Flocculation-décantation

Pour faciliter la décantation des microalgues, souvent lente du fait de leur petite taille, on peut provoquer leur flocculation c'est-à-dire leur agrégation. Plusieurs techniques de flocculation sont utilisées.

✓ La flocculation chimique implique des additifs chimiques liant les algues ou modifiant leurs interactions physico-chimiques [13].

Différents types d'additifs chimiques tels que les sels de fer ( $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ , ...), ou d'aluminium ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) ou des polymères chargés.

✓ La bioflocculation peut être déclenchée par un changement des conditions du milieu (pH, lumière, température, carence en nutriments...). Ces changements sont en effet susceptibles de provoquer un stress cellulaire générant la synthèse d'exsudats agrégeant.

✓ L'électrocoagulation et l'électroflocculation ont l'avantage de ne pas faire usage d'additifs chimiques [19].

### 2.1.0.2 Flottation

Les souches particulièrement riches en lipide peuvent avoir une tendance naturelle à flotter à la surface. La flottation peut aussi être assistée par électroflottation ou par flottation à air dissous (DAF). Les algues sont entraînées à la surface par la remontée de bulles : microbulles de dihydrogène provenant de l'électrolyse de l'eau dans le cas de l'électroflottation, bulles d'air dans le cas de la méthode DAF. La couche supérieure enrichie en algues est ensuite prélevée. L'électroflottation, en plus de consommer beaucoup d'énergie, présente des déficiences en milieu salé à cause de l'action des ions chlorure sur les électrodes. La flocculation peut être associée pour favoriser le processus de récolte.

### 2.1.0.3 Centrifugation

La force centrifuge est utilisée pour séparer les particules solides en suspension en fonction de leur densité. Plusieurs systèmes ont été développés : la centrifuge à bol, le séparateur à assiettes, le décantateur centrifuge et l'hydrocyclone. Il s'agit d'une des techniques les plus utilisées actuellement mais également l'une des plus coûteuse en termes d'investissement et de consommation énergétique [18].

#### 2.1.0.4 Filtration frontale (tamisage) et filtration tangentielle membranaire

Les cellules de taille supérieure au maillage sont séparées du milieu de culture par exclusion de taille. Le gâteau de microalgues formé à la surface est régulièrement raclé pour maintenir le débit de filtration. Le tamisage est certainement le procédé le plus simple à mettre en œuvre.

Il est en effet possible d'utiliser de simples toiles pour la récolte de la spiruline par exemple. La filtration frontale et tangentielle se distingue principalement par l'orientation du flux par rapport au maillage, perpendiculaire dans le premier cas, parallèle dans le second (voir Figure 06). La filtration frontale est limitée par l'accumulation de particules à la surface du tamis qui finissent peu à peu par le colmater. La filtration tangentielle réduit le colmatage mais cette technique est réservée aux très petites particules, dont la taille est inférieure à  $40\mu\text{m}$ , ce qui correspond tout de même à la plupart des microalgues.

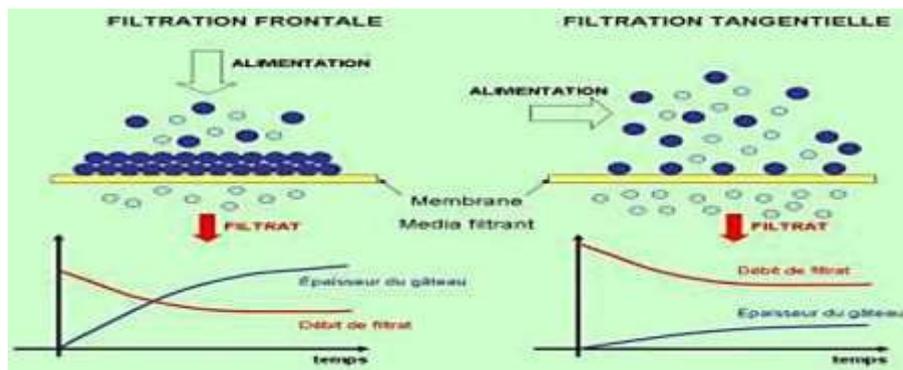


Figure II.1: Comparaison des deux modes de filtration [41].

#### II.2.2 Les procédés d'extraction

Après récolte et concentration, les microalgues forment alors une sorte de pâte humide. Il est possible de rajouter une étape de séchage avant la phase d'extraction des lipides afin de concentrer d'avantage la matière sèche.

D'autre part, les lipides sont stockés au sein de cellules qui peuvent être protégées par une épaisse paroi. Leur extraction nécessite donc souvent une étape visant à rompre les parois cellulaires afin de les rendre accessibles aux solvants. Pour ce faire, il est possible d'utiliser des traitements très variés : broyage à billes, sonication (éclatement par ultrasons), les micro-ondes homogénéisation, autoclavage, congélation/décongélation, utilisation de solvants organiques, chocs osmotiques, lyses enzymatiques, réactions acido-basiques.

Le choix de la technique d'éclatement dépend principalement des caractéristiques cellulaires, du taux de matière sèche de la pâte et du procédé d'extraction utilisé ensuite. Une étude menée sur trois espèces de microalgues et comparant le broyage à bille, la sonication,

l'autoclavage, le choc osmotique et les micro-ondes suggère cependant que la rupture des parois par micro-ondes avant l'étape d'extraction est la méthode la plus efficace [20].

A noter qu'un éclatement efficace des cellules peut, dans certaines conditions, permettre de s'affranchir de l'étape d'extraction pour passer directement à l'étape de purification par extraction [21].

### II.2.2.1 Méthodes d'extraction

De très nombreux procédés d'extraction existent. Ils reposent notamment sur les propriétés physico-chimiques des molécules à extraire et sur le degré d'humidité du substrat. Il est possible de distinguer plusieurs types de traitement :

#### II.2.2.2 Les mix de solvants organiques

Les solvants organiques sont choisis en fonction de leur polarité et de leur affinité avec les composés d'intérêt. Les combinaisons de co-solvants hexane/alcool font partie des mix étudiés car l'hexane et l'alcool se séparent rapidement en deux phases lors de l'ajout d'eau, les lipides se retrouvant dans la phase apolaire de l'hexane.[21]

Les combinaisons hexane/éthanol et hexane/isopropanol [22] ont déjà été testées avec un certain succès sur les microalgues.L'importance de l'ordre d'ajout des solvants a été soulevée par Lewis [23].

Ces expériences montrent que l'extraction est plus efficace lorsque les solvants sont ajoutés dans un ordre de polarité croissant (donc lorsque l'eau est ajoutée à la fin) ; la discussion de ces observations apporte un éclairage sur les mécanismes sous-jacents au verrou « taux d'humidité du substrat/efficacité de l'extraction ».

<b>Avantages</b>	<b>Ce procédé existe déjà à l'échelle industrielle pour d'autres applications, notamment l'extraction du <math>\beta</math>-carotène chez <i>Dunaliella salina</i> en Inde [18]</b>
<b>Inconvénients</b>	Toxicité des solvants [13] L'humidité du substrat est un facteur limitant [23]

#### II.2.2.3 Les procédés d'extraction en condition de haute température et haute pression De façon général, le mécanisme est le suivant

En condition de pression et de température élevées, les composés organiques deviennent miscibles avec le solvant. Puis, une seconde étape de diminution de la température et de la pression permet de séparer facilement le solvant et les produits extraits. Plusieurs techniques d'extraction se basant sur ce mécanisme existent :

❖ A l'eau sub-critique

Cette technique, utilisant de l'eau juste en dessous de la température critique et à une pression suffisamment élevée pour rester à l'état liquide [24], a déjà été utilisée pour l'extraction sélective de composés biologiques de végétaux et de microalgues [25].

<b>Avantages</b>	<b>L'eau est utilisée comme comme solvant, ce qui rend inutile l'étape de séchage [13] Courte durée d'extraction ; haute qualité des produits extraits ; faible coût des agents d'extraction ; compatibilité environnementale [25].</b>
<b>Inconvénients</b>	Consommation énergétique, Scale-up [13].

❖ Aux fluides super-critiques

Ce procédé se base sur l'augmentation de la capacité de solvation des agents d'extraction au-dessus de leur point critique. L'un des principaux agents utilisés est le CO<sub>2</sub>, mais l'on peu aussi citer l'éthane, l'eau, le méthanol... [25].

<b>Avantages</b>	<b>Haute qualité des produits extraits [13] Dans le cas du CO<sub>2</sub> :</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>❖ conditions de pression et de température modérées au point critique (T=31,1°C et P=73.9bar),</li> <li>❖ faible toxicité,</li> <li>❖ inerte chimiquement,</li> <li>❖ faible <b>coût</b></li> </ul>
<b>Inconvénients</b>	Consommation énergétique, Scale-up [13] Dans le cas du CO <sub>2</sub> : <ul style="list-style-type: none"> <li>❖ nécessite une faible teneur en eau (Livre Turquoise, d'après les résultats des travaux menés dans le cadre du projet SHAMASH)</li> <li>❖ coûts d'investissement importants</li> </ul>

### II.2.2.4 Les procédés biocompatibles

Ces procédés permettent de garder les cellules vivantes lors de l'étape d'extraction.

#### ✓ Les solvants biocompatibles

Les solvants de haute hydrophobicité d'une part, sont moins efficaces pour l'extraction de pigments tels que la chlorophylle ou le  $\beta$ -carotène et ont, d'autre part, un impact moins fort sur les membranes cellulaires et donc sur la viabilité des cellules. Une technologie d'extraction des triglycérides de cellules de microalgues vivantes et faiblement concentrées (1% matière sèche) est en train de se développer, utilisant des solvants tels que le décane ou le dodécane [13].

<b>Avantages</b>	<b>Réinjection des cellules dans le système de culture Sélectivité de l'extraction (exclusion des lipides qui ne peuvent être transestérifiés) [13]</b> <b>Pas d'étape de séchage</b>
<b>Inconvénients</b>	Technologie encore très conceptuelle [13]

#### ✓ Un cas particulier, l'excrétion des lipides par des microalgues génétiquement modifiées

Certaines compagnies privées (Biodesign Institute, USA, par exemple) ont manipulé génétiquement des espèces de microalgues pour qu'elles sécrètent les lipides synthétisés dans le milieu de culture, en conditions hétérotrophes. Les lipides peuvent ensuite être directement collectés et convertis en biocarburant.

<b>Avantages</b>	<b>Réduction des coûts d'investissement et de maintenance [13]</b> <b>Scale-up</b>
<b>Inconvénients</b>	Trouver une biomasse servant de matière première durable [13] Acceptabilité sociale des OGMs

## II.2 Les caractéristiques du biodiesel

Les propriétés physicochimiques du biodiesel présentant le plus grand intérêt sont le point éclair (Pe; flash point), le point de trouble (PT; cloud point), le point d'écoulement (PE; pour point), la viscosité cinématique, l'indice de cétane (IC), l'indice d'acide, la teneur en cendres sulfatées, les résidus de carbone, les teneurs en eau ainsi qu'en sédiments, le glycérol libre et le glycérol total, la température limite de filtrabilité, la corrosion à la lame de cuivre, la stabilité à l'oxydation et la masse volumique [26] [27].

### II.2.1 La viscosité

Comme indice de cétane, la viscosité augmente avec le nombre de carbone et diminue avec le degré d'insaturation [27]. Une plus grande viscosité cinématique créerait des problèmes comme des dépôts dans le moteur, [27]. La transestérification favorise donc une diminution de la viscosité de rhuile à des valeurs généralement comprises entre 4 à 6 mm/s [28].

### II.2.2 Le pouvoir calorifique

Le pouvoir calorifique indique si un biodiesel est adapté à brûler dans un moteur diesel. Le pouvoir calorifique augmente avec la longueur de la chaîne carbonée [27].

En utilisant des lipides extraits de micro-algues hétérotrophes, en présence de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> dans le méthanol, Miao et Wu, (2006) ont obtenu un biodiesel avec un pouvoir calorifique de 41 MJ/kg, valeur se trouvant dans la gamme du carburant diesel (40-45 MJ/kg).

### II.2.3 Le point trouble et le point d'écoulement

Les propriétés d'écoulement à froid sont des paramètres importants lors de la production de biodiesel pour les pays nordiques comme le Canada et pourraient être évaluées par le point trouble et le point d'écoulement. La diminution de la température pourrait conduire à la formation de cristaux visibles ( $d > 0,5 \mu\text{m}$ ) dans le biodiesel à une limite de température appelée point trouble [27]. La température du point trouble diminue avec la fraction molaire de composés non saturés et augmente légèrement avec la longueur de la chaîne carbonée [29].

Le point d'écoulement est défini comme la température à laquelle le biodiesel ne coule plus. Habituellement, les points de trouble et d'écoulement augmentent en fonction du rapport volumique de biodiesel dans le carburant pétro-diesel [28]. Un niveau élevé de composés polyinsaturés dans le biodiesel de micro-algues pourrait être un avantage en termes de propriétés à froid pour un mélange de biodiesel micro-algues / pétrodiesel dans des climats froids.

### II.2.4 L'indice de cétane

L'indice de cétane est un indicateur de qualité de rallumage d'un carburant qui augmente avec le nombre de carbone et diminue avec le nombre de liaisons de carbone insaturées [30]. Par conséquent, un biodiesel avec une insaturation élevée comme le biodiesel issu des micro-algues aurait un indice de cétane plus faible que celui du biodiesel saturé. Selon nos connaissances, aucune mesure de l'indice de cétane du biodiesel des micro-algues n'a été effectuée. Cependant, certaines études ont estimé l'indice de cétane de nombreuses espèces de micro-algues en fonction de leur teneur en FAME et ont trouvé des valeurs variant de 39 à 54 [31], tandis que l'indice de cétane du carburant pétro-diesel se situe entre 47 et 51 [33 ; 33].

### **II.2.5 L'oxydation**

L'oxydation du biodiesel pourrait se produire lorsque les FAME sont en contact avec l'oxygène et sont transformés en hydrogénéperoxydes, aldéhydes, acides et autres composés oxygénés, ce qui pourrait former des dépôts dans le moteur [27]. L'oxydation du biodiesel augmente en fonction du degré d'insaturation [30]. La stabilité à l'oxydation des lipides de micro-algues est un réel problème [31] qui peut être surmonté par l'ajout d'antioxydants si le mélange de biodiesel est stocké plus de quelques mois [28].

### **II.2.6 Le pouvoir lubrifiant**

La définition de la lubricité pour un carburant est «la capacité à réduire la friction entre les surfaces solides en mouvement relatif» [34]. La lubricité du diesel est influencée par sa viscosité, son acidité, sa teneur en eau et les composés soufrés [5. Même avec des additifs, le frottement mesuré (pas d'unité déclarée) du biodiesel (0,114 et 0,117) est inférieur à celui du diesel (0,238 et 0,210) pour les températures de 25 et 60°C [27]. Par conséquent, un avantage de l'ajout de biodiesel ayant une faible teneur en soufre dans du pétrodiesel conventionnel est d'améliorer sa lubrification[36].

*DEUXIEME PARTIE*  
*PARTIE EXPERIMENTALE*

*CHAPITRE III*  
*SYNTHÈSE DE BIODIESEL*

## III Synthèse De Biodiesel

### III.1 Introduction

Les estimations révèlent que les combustibles fossiles tels que le pétrole, le charbon et le gaz s'épuiseraient en 35, 107 et 37 ans, respectivement [36], soulignant la crise énergétique imminente et l'escalade des prix du carburant avec la diminution du stock de ressources naturelles. Les chercheurs estiment que les microalgues ont un potentiel de productivité 2 à 10 fois plus élevé que les cultures classiques destinées au biocarburant comme le Soja, Tournesol, Jatropha, Palmier à huile [37].

La demande d'énergie a augmenté avec la reprise économique des activités, entraînant une modification du mode de consommation, qui à son tour varie selon la source et la disponibilité de son énergie,

Les microalgues représentent une source prometteuse de biomasse renouvelable pour la production de biocarburants et de produits chimiques de haute valeur ajoutée. Cependant, des technologies de culture et de récolte efficaces sur le plan énergétique sont nécessaires pour améliorer la viabilité économique [4]. L'environnement unique des zones arides et désertiques est l'un des avantages importants pour la culture des microalgues, la disponibilité de ressources en eau saline, les terres inutilisées et l'irradiation solaire abondante [3], [4].

Notre objectif dans ce travail de synthèse du biodiesel à partir de microalgues (la souche *Chlorella pyrenoidosa*) dans les eaux usées générées par le champ pétrolier comme milieu de croissance, puis récoltées par une technique centrifuge, et séchées pour obtenir la masse d'algues, puis extraction des lipides et la synthèse du biodiesel ont été réalisées dans cette partie par le processus de estérification.

### III.2 Présentation de la région d'étude

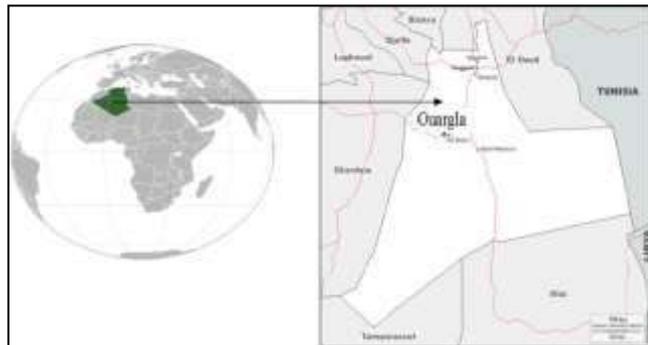
L'étude a été réalisée dans la région d'Ouargla, qui est située au Sud- Est de l'Algérie, à une distance de 850 km de la capitale Alger.

Elle couvre une superficie de 163.233 km<sup>2</sup>. Les coordonnées géographiques de cette région sud-est sont:

- ✓ Longitude : Est, 5° 19' -1";
- ✓ Latitude Nord : 31° 57' -1
- ✓ Altitude moyenne: 134 m.

La région d'étude est limitée au nord par les wilayas de Djelfa, Biskra et d'El-Oued, à l'est par la Tunisie, au Sud par les wilayas de Tamanrasset et d'Illizi et à l'Ouest par la wilaya de Ghardaïa [8]

À Ouargla, comme dans la plupart des oasis du Sahara, les seules ressources hydriques disponibles sont d'origine souterraine



**Figure III.1: Carte géographique de région d'Ouargla**

### III.3 Présentation de la souche utilisée (*Chlorella pyrenoidosa*)

La souche *Chlorella pyrenoidosa* utilisée dans cette étude est une microalgue verte unicellulaire d'eau douce, qui se reproduit à taux rapide. Une seule cellule de *Chlorella* peut se diviser en quatre cellules toutes les 16-20 h. *Chlorella* contient des protéines de chlorophylle, de fibres diététiques et de grandes quantités de minéraux et de vitamines [9].



**Figure III.2: *Chlorella pyrenoidosa* IMG X100**

La souche se présente avec une forme sphérique, ellipsoïdale, ou aplatie de 2 à 6 micromètres de diamètre, le noyau essentiellement simple, parfois double, de taille variable, composée uniquement de chromatine. La reproduction est basée sur la croissance cellulaire par divisions successives en deux, les produits de la division deviennent libres par rupture de la paroi cellulaire de la cellule mère [10].

La paroi cellulaire est lisse et contient une glucosamine (chitosane). Elle ne présente qu'un seul noyau et un seul chloroplaste, généralement situés sur les bords de la cellule.

Le nom de l'espèce *pyrenoidosa* se réfère à la présence d'un pyrénoïde visible et unique dans le chloroplaste *Chlorella* [10]. Ces dernières ont démontré des caractéristiques intéressantes pour le traitement des eaux usées contaminées.

### III.4 La culture de *Chlorella pyrenoidosa* dans le système fermé (Bioréacteur)

#### III.4.1 Préparation de *Chlorella pyrenoidosa* acclimatée

Les cultures ont été effectuées en laboratoire. Toutes les inoculations ont été effectuées dans des conditions stériles : 6 mL ( $7,6 \times 10^6$  cellules/mL) de *C.pyrenoidosa* ont été inoculés dans 500 mL du milieu BG11 [1].

Une fois qu'une densité suffisante a été atteinte et afin de déterminer le meilleur rapport de dilution des eaux usées produite au champ pétrolier (EPP) la culture est transférée dans des flacons de 1,0 L dans un milieu de culture (BG11) à raison de (10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100%).

La densité cellulaire a été mesurée initialement et 14 jours après. Toutes les expériences sont doubles. La cinétique de croissance a été étudiée pour déterminer le meilleur rapport de dilution. La composition du milieu BG11 consiste en (g/L) :

- ✓  $\text{NaNO}_3$  (1.5) ;
- ✓  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0.04) ;
- ✓  $\text{MgSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$  (0.075) ;
- ✓  $\text{CaCl}_2, \text{H}_2\text{O}$  (0.036) ;
- ✓  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (0.02) ;
- ✓ Acide citrique (0,006) ;
- ✓ EDTA (0,001) ;

Et 1 ml d'oligo-éléments solution ayant la composition suivante (g/L) :

- ✓  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (2,86);
- ✓  $\text{MnCl}_2, 4\text{H}_2\text{O}$  (1,81);
- ✓  $\text{ZnSO}_4, 7\text{H}_2\text{O}$  (0,222);
- ✓  $\text{NaMoO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$  (0,39);
- ✓  $\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}$  (0,079);
- ✓  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2, 6\text{H}_2\text{O}$  (0, 0494).

Le pH de la solution se situait entre 7 et 7.5 et le mélange a été réalisé par injection continue de l'air. Toutes les cultures ont été placées dans une chambre de culture où la température était maintenue

**À  $22 \pm 1^\circ\text{C}$ .**

La lumière est fournie par des tubes fluorescents bleus et rouges (LED) (intensité incidente de 150 à 200  $\mu\text{m}$  de photons  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) sous un régime de 24 heures /24 heures.

En laboratoire, les microalgues sont cultivées sur de milieu de BG 11 par des micronutriments (vitamines, minéraux...). Les cultures sont réalisées en flacons (**figure III.3**) en bioréacteurs de faible capacité volumétrique avec un apport lumineux.



**Figure III.3: Culture de souche *Chlorella pyrenoidosa* dans laboratoire**

### **III.5 La culture de *Chlorella pyrenoidosa* dans le système Ouvert (Raceway)**

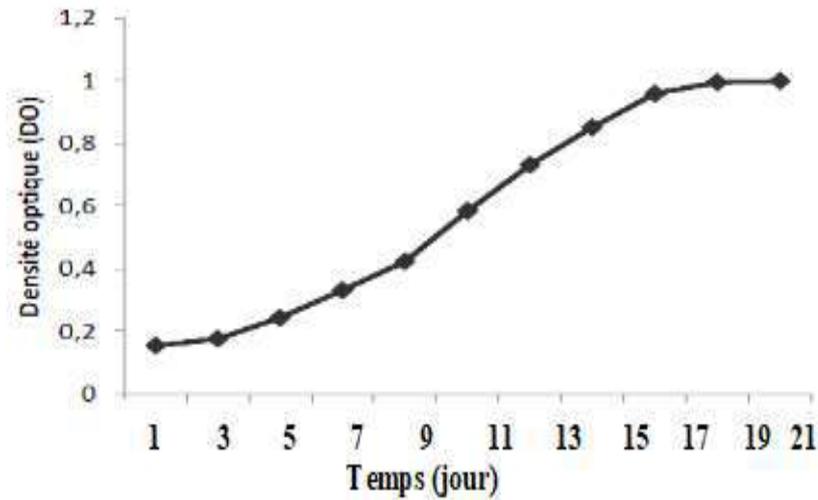
Mesure de croissance de *Chlorella pyrenoidosa* dans système Ouvert (Raceway). Le système ouvert est constitué d'un bassin de forme rectangulaire, type « Raceway » de dimensions : 90 cm de long, 45 cm de largeur et 20 cm de profondeur. *Chlorella pyrenoidosa* acclimatée (à 10% (v/v)) a été inoculé à raison de 30 %, du volume de travail de 25 litres eaux usées produite au champ pétrolier (EPP).



**Figure III.4: Configuration expérimentale [1]**

La culture a été échantillonnée jour après jour pendant 21 jours, la densité optique (l'absorbance) pendant la période de culture a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre. Les résultats obtenus ont montré qu'il y avait une augmentation du nombre de cellules au cours de

la période de culture [14]. Comme le montre la **figure III.4**, il a été mis en évidence que la croissance cellulaire passait par quatre phases.



**Figure III.5: Variation de la densité optique pendant la période de culture [1]**

❖ **Phase de latence**

La phase de latence a duré de 1 à 3 jours et le schéma de croissance a montré une augmentation graduelle du nombre de cellules jusqu'au 2<sup>ème</sup> jour. La cellule a besoin d'un temps d'adaptation aux nouvelles conditions de culture qui lui est appliquée et la croissance est très faible durant cette phase.

❖ **Phase d'accélération**

Par la suite, l'augmentation était rapide du 3<sup>ème</sup> au 7<sup>ème</sup> jour. Les cellules ont accumulé suffisamment de composés intracellulaires et ont doublé leur matériel génétique.

La population commencée à croître. Les cellules se divisent donc en deux cellules filles identiques contenant chacune la moitié du contenu de la cellule mère et qui par la suite se divisera elles-mêmes en deux.

❖ **Phase exponentielle**

Ensuite, du 7<sup>ème</sup> au 16<sup>ème</sup> jour la croissance des algues présentait une allure exponentielle. La vitesse de croissance de la culture reste constante et maximale. Les conditions du milieu sont optimales pour la croissance cellulaire.

### ❖ Phase stationnaire

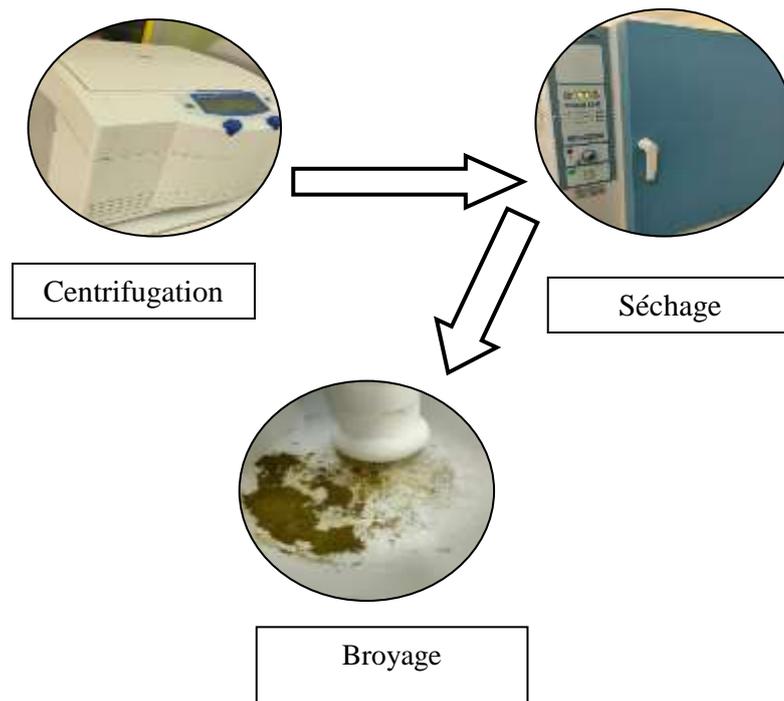
La croissance des algues a été stationnaire du 16ème au 21ème jour. La vitesse de croissance diminue. Cependant tant que les cellules possèdent des produits de stockage leur permettant d'alimenter leur métabolisme, elles survivent. La quantité de cellules qui se reproduisent est égale à la quantité de cellules qui meurent ce qui conduit à une concentration cellulaire constante.[14]

**Tableau III.1 : Matériels et produits utilisés**

Matériels	Produits
✓ Un montage d'appareil Soxhlet	✓ Le solvant (n-hexane).
✓ Centrifuguer	✓ Biomasse algale séchées.
✓ un mortier	✓ méthanol
✓ Etuve	✓ acide chlorhydrique
✓ balance sensible	✓ chloroforme
✓ un évaporateur rotatif	✓ Eau distillée
✓ agitateur vortex	✓ n-decane
✓ bain à ultrasons	

### III.6 Préparation d'échantillon

Les cellules d'algues ont été traitées par centrifugation à 10 000 tr / min, pendant 10 min. Le surnageant a été décanté et les culots cellulaires ont été lavés avec de l'eau distillée et ensuite lyophilisée sous une température entre 60 ° et 80 °C pour environ 24 h. Les flocons de la biomasse séchée ont été ensuite broyée en utilisant un mortier.



**Figure III.6: schéma représenté "Préparation d'échantillon"**

### III.7 Méthodes d'extraction des lipides

#### III.7.1 Extraction au Soxhlet

##### III.7.1.1 Principe d'extraction au Soxhlet

L'extraction au Soxhlet est une technique couramment pratiquée, elle permet de réaliser des extractions continuant solide – liquide à l'aide de cycles de vaporisation – condensation du solvant. Cette méthode présente l'avantage d'être simple d'utilisation [38].

L'extracteur "Soxhlet" permet le traitement de solides avec des solvants en phase liquide. Le corps de l'extracteur, contenant un support de cartouche qui remplit de solide et attacher sur un réservoir de solvant (ballon) et est surmonté d'un réfrigérant.

Le solvant est vaporisé puis condensé et reste en contact avec le solide. La solution est soutirée périodiquement par l'amorçage d'un siphon. La solution du ballon s'enrichit petit à petit en soluté et le solide est toujours mis en contact avec du solvant.

##### III.7.1.2 Méthode d'extraction des lipides Soxhlet avec (n-hexane).

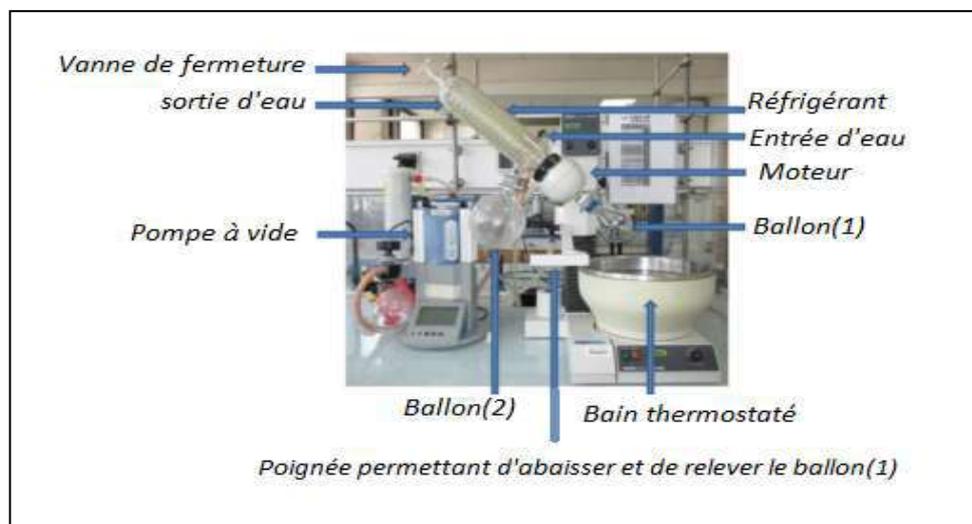
0,5 g de biomasse lyophilisée a été pesé. Il a été transféré dans un Cartouche d'extraction de cellulose de 28 mm de diamètre intérieur et de 80 mm de longueur (Whatman) qui a été colmaté avec de la laine de verre silanisée.

200 ml de n-hexane pur ont été utilisés comme solvant. Il a été chauffé au reflux sur les cartouches environ 20 fois par heure pendant 03h dans un appareil Soxhlet standard.



**Figure III.7: appareil d'extraction des lipides Soxhlet**

Le solvant contenant les lipides a ensuite été récupéré dans le ballon à fond rond qui servait ensuite à sécher les lipides dans un évaporateur rotatif (Heidolph à 25 kPa et 60 °C). Après évaporation complète du solvant, les lipides ont été dosés par gravimétrie (Zubir et Chin, 2010).



**Figure III.8: évaporateur rotatif (Clément de Mecquenem & al.2018)**

### III.8 Transestérification directe

La méthode de méthylation mentionnée par Lewis et al. (2000) a été réalisée en double avec différentes quantités de biomasse sèche. 100 et 300 mg ont été pesés dans un tube à essai de 10 ml et 4,5 ml de mélange réactionnel (méthanol : acide chlorhydrique: chloroforme (10:1:1 v/v/v)) ont été ajoutés. Les échantillons ont été remis en suspension par vortex pendant 10 s et

placés dans un bain à ultrasons préchauffé à une impulsion ultrasonique constante (35 kHz) à 80 °C pendant 90 min pour réaliser la réaction de transestérification.



**Figure III.9: un bain à ultrasons**



**Figure III.10: agitateur vortex**

Une fois la réaction terminée, les échantillons ont été laissés à refroidir à température ambiante. Ensuite, 1,5 ml d'eau distillée a été ajouté et mélangé par inversion du tube. Les acides gras (AG) ont été extraits en ajoutant 3 aliquotes de 4 ml d'un mélange d'hexane-chloroforme (4:1 v/v) et vortex pendant 10 min, séparant ainsi les deux couches et permettant la récupération de la phase organique qui contient la fraction FAME.

1ml de chaque échantillon a été transféré dans des tubes à essai propres de 1,5 ml puis 0,5 ml de motif interne de n-decane  $C_{10}H_{22}$  a été ajouté afin de calculer la concentration de FAME. Les échantillons étaient alors prêts pour analyse de la composition en acides gras.

### III.8.1 Résultats et discussions

Dans ce travail, l'extraction des lipides d'*Chlorella pyrenoidosa*, propriété organoleptiques, et analyse Physico Chimique ont fait l'objet de discussion.

Le biodiesel est généralement produit par la transestérification des lipides triglycéridiques par le méthanol ou l'éthanol en présence de catalyseurs acides ou basiques. La transestérification nécessite 3 moles d'alcool pour chaque mole de triglycérides pour.

Produire 1 mole de glycérol et 3 moles d'esters méthyliques (**Figure III.11**). La réaction est un équilibre.

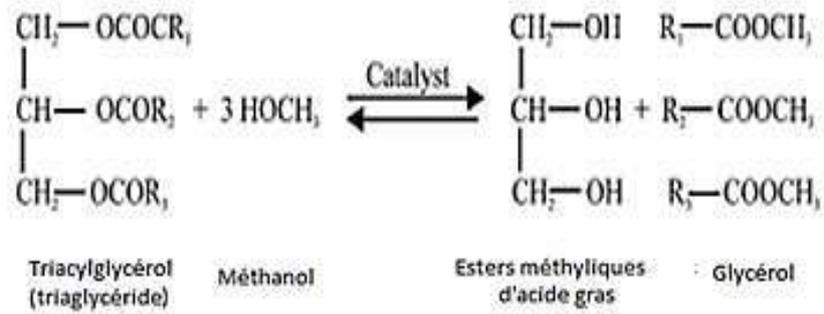


Figure III.11: La réaction de la transestérification [39].

**3.7.0.1 Rendement d'extraction:**

Les informations sont résumées dans le tableau suivant

Masse d'algue sèche est :  $m_a = 0.5 \text{ g}$

Masse d'huile est. :  $m_h = 0,19 \text{ g}$

$$\text{Rd (\%)} = \frac{\text{masse de lipides totaux (g)}}{\text{masse de biomasse algue sèche (g)}} \cdot 100 \dots\dots\dots \text{Équation III.1}$$

$$\text{Rd (\%)} = \frac{0.19}{0.5} \cdot 100 = 38\% \dots\dots\dots \text{Équation III.2}$$

HE	Rendement %
Huile de microalgues	38

La teneur moyenne en lipides des microalgues *C. Pyrenoidosa* dans notre travail est de 38% de la biomasse en poids sec, qui se situe dans les fourchettes (2-58,7%) rapportées pour *C. Pyrenoidosa*, selon (Xue et al 2016) [38]. Des résultats similaires ont été obtenus par (Liandong et al 2013) [39].

Le tableau suivant, comporte des teneurs en lipides de quelques espèces d'algues Comparés à la valeur obtenue dans la présente étude :

**Tableau III. 1:** Teneur en lipides de quelques espèces d'algues[40]

Espèces d'algues	Teneur en lipides (% poids sec)	Référence
<i>Botryococcus braunii</i>	25-75	[131]
<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	21	[132]
<i>Chlamydomonas sp</i>	59,4	[133]
<i>Chlorella emersonii</i>	25 - 63	[134]
<i>Chlorella protothecoides</i>	14,6 – 57,8	[134]
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2	[132], [134]
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	40,9 - 58,7*	[135]
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	54,5*	[136]
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	40,17	Présente étude
<i>Chlorella sorokiniana</i>	31,5	[137]
<i>Chlorella sorokiniana</i>	20 - 27	[138]
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19 - 22	[134]
<i>Chlorella vulgaris</i>	5 - 58	[134]
<i>Chlorella vulgaris</i>	40	[139]
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20	[131]
<i>Isochrysis sp</i>	25-33	[131]
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30	[131]
<i>Scenedesmus obliquus</i>	12–14	[132]
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	16–40	[132]
<i>Tetraselmis sueica</i>	15-23	[131]

\* : absence de nitrate

### 3.7.0.2 Propriétés organoleptiques des huiles microalgues

Les informations sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau III.2:** Caractéristiques organoleptiques d'huile de microalgues.

Huile de microalgues	
Aspect	liquide limpide
Couleur	Jaune foncé
Odeur	Forte



Figure III.12: L'extraction d'huile de microalgues.

### 3.7.0.3 Les analyses physico-chimiques :

#### a. Caractérisation par spectrophotométrie IR

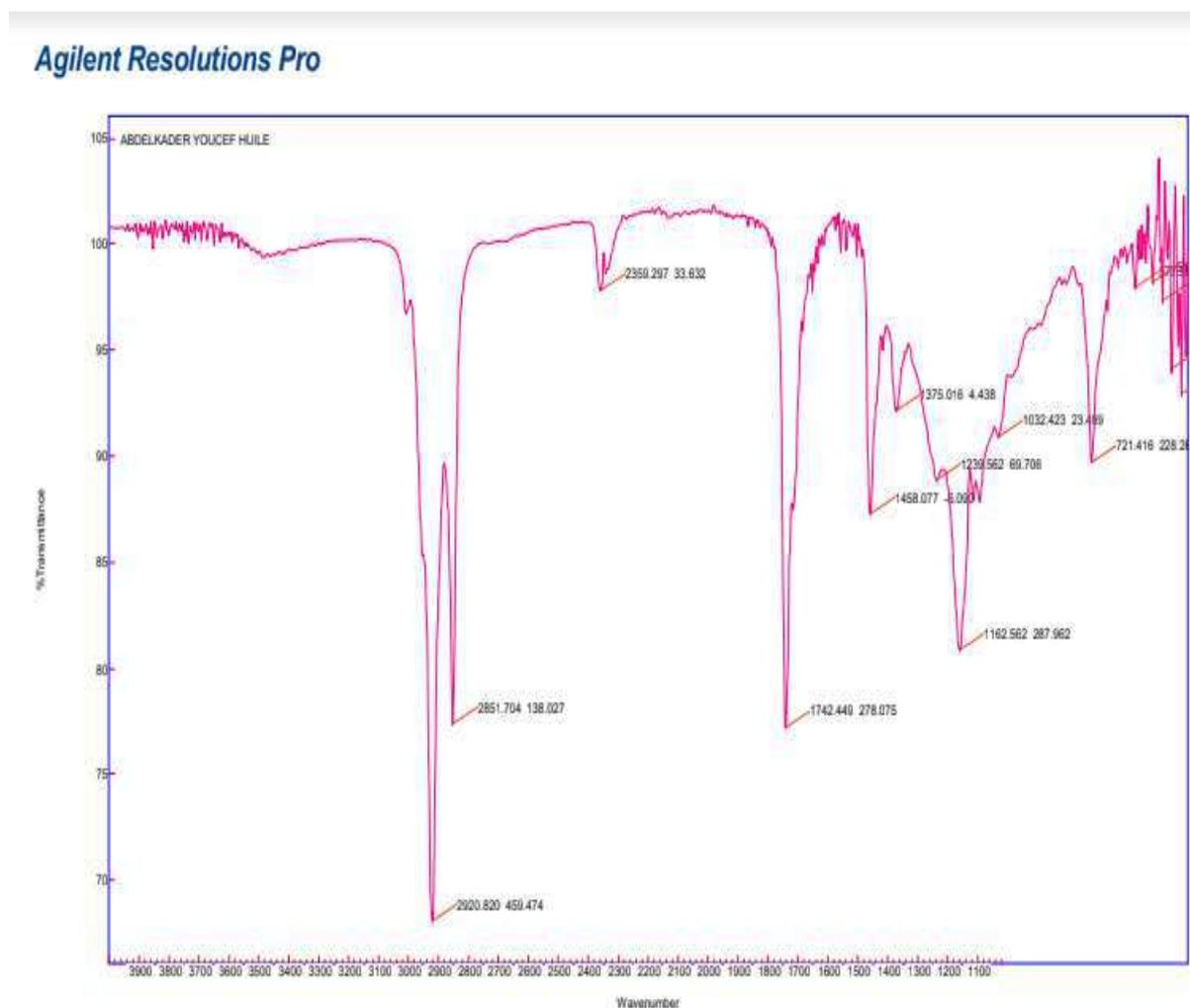


Figure III.13 : Caractérisation par spectrophotométrie IR

**Interprétation de spectrophotométrie IR :**

Nombre d'onde [1/Cm]	Interprétation
2920.82	Groupe méthylène CH <sub>2</sub> asymétrique (Lipides)
2851.7	CH <sub>2</sub> ν CH <sub>2</sub> symétrique (lipide) et CH <sub>3</sub> méthylène et groupe méthyle
1742.4	ν C=O Triglycérides
1461/1458	δ <sub>as</sub> CH <sub>3</sub> et δ <sub>as</sub> CH <sub>2</sub> de lipides
1239.5 1310-1240	Amide III Protéines

**Tableau III.3 : Principales bandes d'absorption caractéristiques des biomolécules ( ν : élongation, δ : déformation ). [37]**

Nombre d'onde (cm <sup>-1</sup> )	Attribution	Molécule
≈ 3500	ν OH	Groupes Hydroxyles
≈ 3200	ν NH Amide A	Protéines
3010	=C-H	Lipides
2956	ν CH <sub>3</sub> asymétrique	Lipides
2921	ν CH <sub>2</sub> asymétrique	Lipides
2870	ν CH <sub>3</sub> symétrique	Lipides
2850	ν CH <sub>2</sub> symétrique	Lipides
1742	ν C=O	Triglycérides
1738	ν C=O	Phospholipides
1695-1637	Amide I	Protéines
1636	δ OH	H <sub>2</sub> O
1550	Amide II	Protéines
1468	CH <sub>2</sub> cisaillement	Lipides
≈1400	ν C=O des fonctions COO <sup>-</sup>	Acides Gras Acides Aminés
1310-1240	Amide III	Protéines
1250-1220	ν P=O asymétrique	Phosphodiester
1100-1080	ν PO <sub>2</sub> symétrique	Phospholipides Acides nucléiques
1200-900	C-O-C C-O-P, P-O-P	Oligo- et Poly- saccharides

### 3.7.0.4 Propriété physico-chimique de l'Huile

**Tableau III.4: Propriété physico-chimique du biodiesel.**

<b>PH</b>	<b>6</b>
Densité	<b>0.776</b>
L'indice de réfraction	<b>1.3832</b>

Le **pH** obtenu indique que notre biodiesel est acide.

La **densité** de notre biodiesel est de 0.7760. Cette propriété physique est utilisée dans la classification des biodiesels, ces données sont insuffisantes pour la classification des huiles. Ce paramètre est lié à la composition chimique de cette huile qui est affectée par un grand nombre de facteurs tels que le phénotype, le moment de récolte, le type de terrain, la conservation, le procédé et les conditions d'extraction [4].

L'**indice de réfraction** mesuré est de : 1.3832. Cet indice dépend de la composition chimique qui augmente en fonction des longueurs des chaînes d'acides, de leurs degrés d'insaturation et de la température, il varie essentiellement avec la teneur en monoterpènes et en dérivés oxygénés. Une forte teneur en monoterpènes donnera un indice élevé [3].

La détermination des propriétés physico-chimiques est une étape nécessaire mais demeure non suffisante pour caractériser du biodiesel. Il sera donc primordial de la compléter par des analyses chromatographique (CG et CG/SM).

#### a. Détermination de la composition chimique par GC/MS

L'analyse chromatographique de l'extrait a été effectuée avec un chromatographe en phase gazeuse type (Bruker SCION 436 GC) couplé à un spectromètre de masse. La fragmentation est effectuée par impact électronique à 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire HP-5MS (15m x 0,25mm). L'épaisseur du film est de 0,25µm. La phase stationnaire de la colonne est constituée de : 5% Phényl et 95% diméthylpolysiloxane.

Les conditions opératoires sont :

La température de l'injecteur (mode split 1:50) : 250°C

- ✓ La programmation de température : de 70 °C à 280 °C à raison de 10°C/min ;
- ✓ Le gaz vecteur utilisé est l'Hélium avec un débit de 1.5 ml/min.

Les températures de la source du quadripôle sont fixées, respectivement, à 250 °C et à 220 °C.

Les indices de rétention linéaires (RI) pour tous les composés ont été déterminés en utilisant n-alkanes comme standards. L'identification des différents constituants a été réalisée

en comparant leurs spectres de masse à ceux des produits de référence contenus dans les bibliothèques informatisées disponibles (NIST et Wiley).

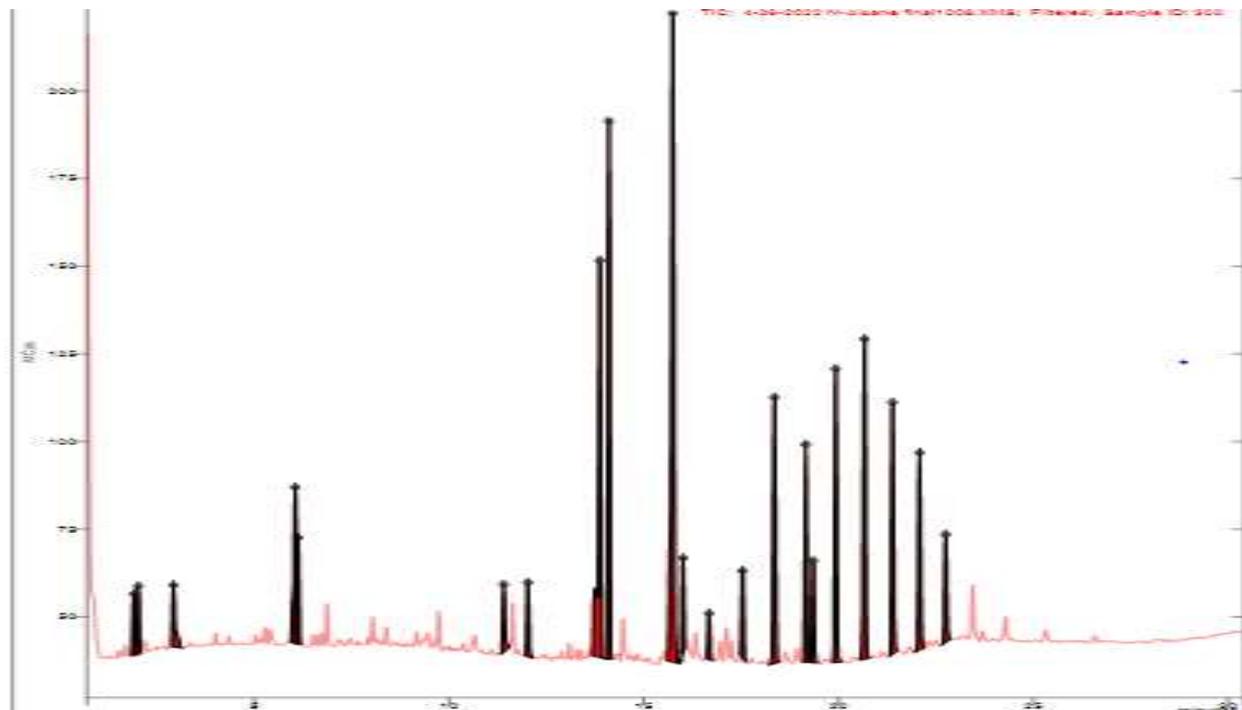


Figure III.14: profil Chromatographique de biodiesel de la souche *Chlorella Pyrenoidosa*

Tableau III.5 : composition chimique des biocarburants

Compound Name	RT	Area%	CAS#
<i>(Z)-Methyl hexadec-11-enoate</i>	13.869	11.56	822-05-9
<i>Pentadecanoic acid, 14-methyl-, methyl</i>	14.100	16.93	5129-60-2
<i>trans-13-Octadecenoic acid, methyl ester</i>	15.741	20.05	None
<i>Heptacosane, 1-chloro</i>	18.348	9.13	62016-79-9
<i>2-methyloctacosane</i>	103.193	42.34	None



*CONCLUSION*

## Conclusion

---

### Conclusion Générale

L'intégration du traitement des eaux usées produite au champ de pétrole (EPP) avec les algues la production de biocarburants est une option économiquement viable et attrayante pour réduire la charge en éléments nutritifs, les émissions de gaz à effet de serre (GES) et la demande énergétique décentralisée.

L'objectif de cette étude était de démontrer la capacité et la performance de *C. pyrenoidosa* pour le traitement de (EPP), dans les bassins ouverts de type « Rasway » dans les zones désertiques sous le soleil.

La concentration maximale de la biomasse obtenue après 21 jours a été de 1,4g/L.

La teneur en lipides a été extraite de *Chlorella pyrenoidosa* 38%.

Les résultats laissent augurer que l'algue *Chlorella pyrenoidosa* est riche en lipides et par conséquent son utilisation est très prometteuse pour l'exploitation en tant que matière première pour la fabrication de biodiesel.

- ✚ Propose une option de traitement pour éliminer les nutriments des eaux usées ainsi que la production de biocarburants pour soutenir la production durable d'énergie renouvelable.
- ✚ Propose une option de traitement pour éliminer les nutriments des eaux usées ainsi que la production de biocarburants pour soutenir la production durable d'énergie renouvelable.

## *REFERENCES*

### Bibliographies

- [1] Abdellatif RAHMANI, 2019 Traitement des eaux produites de pétrole (EPP) par des microalgues et études des procédés de récupération de la biomasse, DOCTORAT Génie des procédés Université Hassiba Benbouali de Chlef
- [2] Isabelle Cantin Essai présenté au Centre Universitaire de Formation en Environnement en vue de l'obtention du grade de maître en environnement (M.Env)(Epp1) LA PRODUCTION DE BIODIESEL À PARTIR DES MICROALGUES AYANT UN MÉTABOLISME HÉTÉROTROPHE UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE
- [3] Djillali Ghobrini, Tomáš Brányik, Saliha Yakoub-Bougdal, Kamal Aïboud, Leila Kebbab, Djamel Daoud, Nacéra Lahouel Rachid Bouarab, Mohammed Oumsalem, and Lyes Zanon. (2019) Production of biodiesel from locally isolated yellow strain of *Chlorella* sp. using wastewater from dairy effluents as a growth medium.
- [4] Djillali Ghobrini, Tomáš Potocar, Jana Smolova, Gabriela Krausova, Saliha Yakoub-Bougdal and Tomáš Brányik. Heterotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using saline waste water from the demineralization of cheese whey. *Biotechnology Letters* 42(2) : 209– 217 (2020).
- [5] Djillali Ghobrini, Tomáš Brányik, Leila Kebbab, Bastien Poutout, Kamal Aïboud et Saliha Yakoub-Bougdal. Cultivation of *Chlorella vulgaris* Using Medium From a Dairy Effluent. Publisher IEEE Xplore 02 May 2019. Published in: 2018 6th International Renewable and Sustainable Energy Conference (IRSEC) Rabat, Morocco, Morocco. DOI: 10.1109/IRSEC.2018.8702962.
- [6] Andrad L., Motta G, and Amaral, M. (2013). Treatment of dairy wastewater with a membrane bioreactor, *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, Vol. 30, n°04, p. 759- 770.
- [7] Mata, T.M., et al. «Microalgae for biodiesel production and other applications: A review .» *RENEWABLE & SUSTAINABLE ENERGY REVIEWS*, 2010: 14(1):217-232.
- [8] Weissman, J. C., et al. «Photobioreactor design: Mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation.» *Biotechnology and Bioengineering*, 1988: 31(4):336–344.
- [9] Lundquist, T. J. «A Realistic Technology and Engineering Assessment of Algae Biofuel Production.» *Energy Biosciences Institut*, 2010.
- [10] Richmond, A. «Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an overview .» *Hydrobiologia*, 2004: 512: 33-37.

- [11] Brennan, Liam, et Philip Owende. «Biofuels from microalgae A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products.» *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2009.
- [12] Eriksen, NT. «The technology of microalgal culturing.» *Biotechnology letters*, 2008.
- [13] DOE. «National Algal Biofuels Technology Roadmap.» 2010.
- [14] Chisti, Yusuf. «Biodiesel from microalgae.» *Biotechnology Advances*, 2007.
- [15] Molina Grima, E. «Microalgae, mass culture methods.» *Encyclopedia of bioprocess technology: fermentation, biocatalysis and bioseparation*, 1999: 3:1753-1769.
- [16] Mirón, A. S., et al. «Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture.» *Enzyme and Microbial Technology*, 2002: 31(7):1015–1023.
- [17] Lam MK, Lee KT. Microalgae biofuels: a critical review of issues, problems and the way forward. *Biotechnol Adv* 2012b; 30:673–90.
- [18] Livre Turquoise. «Algues, filières du futur.» 2010.
- [19] Chen, G. « Electrochemical technologies in wastewater treatment. » *Separation and Purification Technologies*, 2004.
- [21] Lee, J., et al. «Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae.» *Bioresource Technology*, 2010: 101(1):75-76.
- [22] Fajardo, A. R., et al. «Lipid extraction from the micro-algae *Phaeodactylum tricorutum*.» *Lipid-Fett*, 2007: 109(2):120-126.
- [23] Nagle, N., et P. Lemke. «Production of methyl ester fuel from microalgae.» *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 1990: 24(1):355-361.
- [24] Lewis, T., et al. «Evaluation of extracion methods for recovery of fatty acid from lipid-producing microheterotrophs.» *Journal of Microbial Methods*, 2000: 43(2):107-116.
- [25] Soto, A.R, et L. de Castro. «Continuous subcritical water extraction as a useful tool for isolation of edible esential oils. » *Food Chemistry*, 2001: 75(1):109-113.
- [26] Herrero, M., et al. «Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: plants, food-by-products, algae and microalgae.» *Food Chemistry*, 2006: 98(1):136- 148.
- [27] Mani Yuvarani, Devaraj Kubendran, Abdur Rawoof Salma Aathika, Periyasamy Karthik, Manickam Periyaraman Premkumar, Velayutham Karthikeyan & Subramanian Sivanesan., (2017): Extraction and characterization of oil from macroalgae *Cladophora glomerata*, *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, DOI:10.1080/15567036.2017.1400608

## Chapitre V : Optimisation et dimensionnement des puits

---

- [28] Poitrat. E., (2005): Les biocarburants en France et en Europe (ADEM), Lyon, Pourghère comme Carburant en milieu rural.
- [29] Anastasia Wolff., 2009 L'utilisation des micro-algues pour la fabrication de biocarburant, analyse de chaîne de valeur, Ecole Nationale Supérieure.
- [30] Becker, E.W. 1981. Algae mass cultivation – production and utilization. s.l.: Biochem, 1981.
- [30] Ndiaye Doudou, (2007).le monde dans l'ère des biocarburants, définition, enjeux et facteurs de succès pour l'Afrique, AGROVISION No 4.
- [31] Rengel, Annal. (2011): Energy and environmental analyses of a bioreactor for microalgae culture for energy production. Chemical and Process Engineering. Paris: s.n., 2011.
- [32] T.M. Mata, A. A. Martins, N. S. Caetano (2010): Renewable Sustainable Energy Reviews,| MEMOIRE DE FIN D'ETUDE/ MENTION GENIE DES PROCÉDES CHIMIQUES ET INDUSTRIELS
- [33] G. Knothe, ““Designer“ Biodiesel., (2008): Optimizing Fatty Ester Composition to Improve Fuel Properties’, Energy & Fuel, , 2008.
- [34] Touati Lounis, 2013.Valorisation des grignons d'olive Etude de cas : Essai de valorisation en Biocarburant magister.
- [35] Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., & Roessler, P. (1998b): A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae. Colorado: National Renewable Energy Laboratory, 1998b.
- [36] Rengel, Annal. (2011): Energy and environmental analyses of a bioreactor for microalgae culture for energy production. Chemical and Process Engineering. Paris: s.n., 2011.
- [37] Julie Keirsse, 2004. Spectroscopie infrarouge déportée : mise au point d'un biocapteur pour l'imagerie métabolique et la sécurité microbiologique.Pour le grade : DOCTEUR DE mention C chimie L'UNIVERSITÉ DE RENNES 1
- [38] Xue,. The pivotal role of malic enzyme in enhancing oil accumulation in green microalgae *Chlorella pyrenoidosa*. Microbial Cell Factories, 15(1), pp.1–9. 2016.
- [39] Liandong Zhua, Zhongming Wang, Qing Shu, Josu Takala , Erkki Hiltunen, Pingzhong Feng , Zhenhong Yuan. Nutrient removal and biodiesel production by integration of freshwater algae cultivation with piggery wastewater treatment. Water Research, 47(13), pp.4294–4302.
- [40] Souad ZIGHMI, 2017.Production de biodiesel et optimisation des paramètres des procédés de culture des microorganismes.Doctorat Sciences en : Génie des Procédés Option : Génie Chimique.UKMO.

## Chapitre V : Optimisation et dimensionnement des puits

---

[41] Anastasia Wolff, l'utilisation des micro-algues pour la fabrication de biocarburants : analyse de la chaîne de valeur contexte français et international, Rapport de stage, mineure en environnement, 2012.

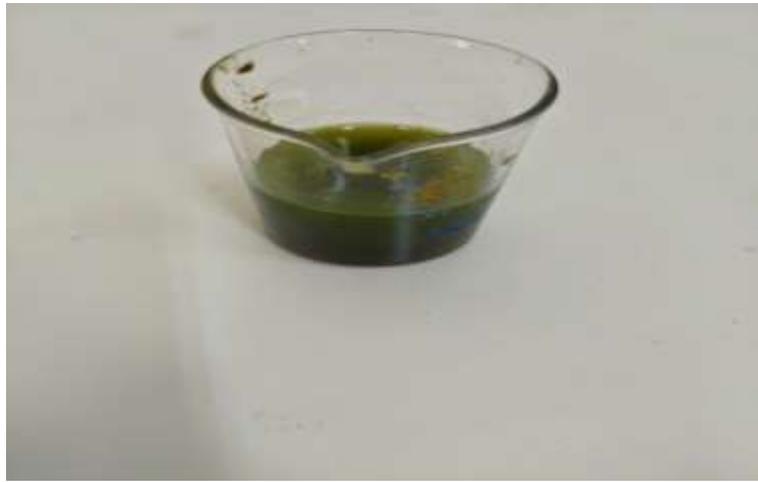
[42] Mme Hela Ben Amor Ben Ayed, " Etude et optimisation de la bioaccumulation de magnésium dans les microalgues « Chlorella vulgaris »", Thèse de doctorat, université de Paris-Saclay et l'université de Sfax, (2015), PP: 06.

## Bibliographies

---

*ANNEXES*

**Annexes**



**Figure 1 algue verte**



**Figure 2 : Poudre algue verte**

## Annexes

---



**Figure 3: Tube de centrifugtion**



**Figure 4 : Papier pH**

## Annexes

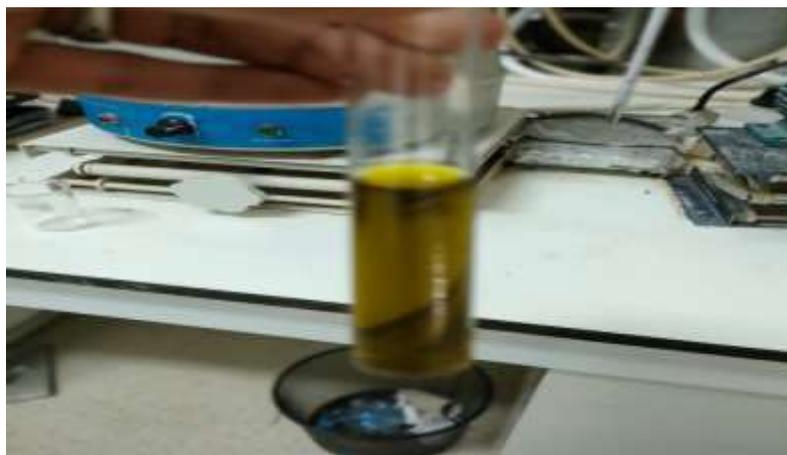
---



**Figure 5 :GC/MS**



**Figure 6 :Biodiesel**



**Figure 7 : L'extraction d'huile des microalgues**



**Figure 8:Refractomètre**