

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ahmed Draïa Adrar



Faculté des Sciences et de la Technologie

Département d'Hydrocarbures et Energies Renouvelables

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

Filière : Génie des Procédés

Spécialité : Génie Chimique

Thème :

**Essai pilote de fabrication d'un biocarburant à
partir des micro-algues**

Préparé par :

Mr. Sehli Abd Elwahed

Mr. Kerrafi Osema

Membres de jury d'évaluation :

Mr. Daho Mohammed Lamine	Président	MCA	Univ. Adrar
Mr. Hadjkouider Mohammed	Encadreur	MCA	Univ. Adrar
Mr. Dahmani Siham	Examineur	MCB	Univ. Adrar

Année Universitaire : 2020/2021



شهادة الترخيص بالإيداع

انا الأستاذ(ة): حاج قويدر محمد
المشرف على مذكرة الماستر.

الموسومة بـ: Essai pilote de fabrication d'un bioplastique à partir des micro-algues

من إنجاز الطالب(ة): المسيلي عبد الواحد

و الطالب(ة): كرافي أسماء

كلية: العلوم والتكنولوجيا

القسم: المحروقات والطاقت المتجددة

التخصص: هندسة كيمياء ثنية

تاريخ تقييم / مناقشة:

أشهد ان الطلبة قد قاموا بالتعديلات والتصحيحات المطلوبة من طرف لجنة التقييم، وان المطابقة بين النسخة الورقية والإلكترونية استوفت جميع شروطها.
ويمكنهم إيداع النسخ الورقية (02) والالكترونية (PDF).

- امضاء المشرف

ادرار في:

مساعد رئيس القسم:-



و: خليني عمر
رئيس قسم المحروقات والطاقت المتجددة
بكلية العلوم والتكنولوجيا

Remerciements

Nous remercions Dieu d'abord et le remercions beaucoup de nous avoir facilités en faisant ce travail.

Nous adressons également nos plus hauts remerciements, notre gratitude et notre reconnaissance à ceux qui ont porté un message Science et connaissance.

*Ici, nous ne pouvons que vous remercier beaucoup et une grande gratitude À l'honorable Dr. **HADJ KOUIDER MOHAMMED** d'avoir supervisé cette étude pour toutes ses observations précieuses qui ont illuminé la voie de la recherche devant nous, Dieu l'a récompensé de tout le bien de nous, et nous avons eu l'honneur d'être notre superviseur.*

*Nous ne le manquons pas non plus, mais nous remercions les professeurs distingués en général Dr. **DAHMANI SIHAM** et Mr. **ISHAKE** en particulier.*

À tous ceux qui ont contribué à ce travail et à tous ceux qui nous ont aidés à l'achever,

Et à tous ceux qui nous ont montré du monde pour des conseils ou des prières.

*Nous sommes heureux de remercier les membres du jury Dr. **DAHO MOHAMMED AMINE** et Dr. **DAHMANI SIHAM** d'avoir accepté d'examiner notre étude.*

Nous demandons à Dieu de les protéger et de bien les récompenser.

DEDICACES

Au nom de Dieu le Miséricordieux

Et que les prières et la paix soient sur notre maître Muhammad et son Dieu

A l'âme pure de mon père, que Dieu lui fasse miséricorde

A ceux dont les prières m'ont humilié les difficultés de la vie

Ma chère maman, que Dieu la perpétue comme une lumière qui éclaire mon chemin

A mes frères, sœurs et leurs enfants

A tous les oncles et tantes et leurs enfants

A toute la chère famille

A mon cher collègue Abdul Wahed, qui a travaillé avec moi pour terminer ce travail

A l'honorable Dr. HADJ KOUIDERE MOHAMMED

A tous les collègues et amis en général et aux étudiants en génie chimique en particulier

KERRAFI OSSAMA

DEDICACES

Je dédie cet humble travail à celui qui m'a donné la vie au nom du Seigneur de la vie, au trésor le plus précieux que Dieu m'a donné, au plus doux amour dont le cœur bat au symbole de la bonté et de la tendresse

"Gentil Maman"

Je dédie également à celui qui a lutté pour me voir réaliser son rêve, qu'il a souhaité toute sa vie, au symbole de la patience, de la force et de l'endurance.

"Cher papa"

Au plus merveilleux et merveilleux cadeau que mes parents bien-aimés m'ont fait

« Chers frères et sœurs »

A qui mon sang a appelé leur sang et mon âme avec leur âme A mes sœurs que ma mère n'a pas enfantées

« Mes collègues et amis,

A celui qui a été le meilleur soutien pour moi et la chose la plus merveilleuse que la vie m'ait donnée

" mon ami **Kerrafi Osama** "

A tous ceux qui ont contribué à la réalisation de cette humble note, de près ou de loin, même avec un mot gentil.

A tous mes professeurs distingués qui n'ont pas lésiné sur leur don pendant les années d'études, en particulier mon professeur

Superviseur que j'ai le plus grand respect et appréciation.

SEHLI ABD ELWAHED

Résumé:

Au cours des trois dernières décennies, le monde a connu une augmentation de la consommation de pétrole (principale source d'énergie fossile), et celui-ci est en grande partie destiné à être utilisé par le secteur des transports, mettant ainsi en péril ses réserves émissions de gaz à effet de serre (GES), dont le dioxyde de carbone. Le carbone (CO₂), incitant les politiciens, et donc les chercheurs, à trouver d'urgence des sources alternatives d'hydrocarbures fossiles, renouvelable comme les biodiesels, des carburants obtenus à partir d'huiles végétales et de déchets animaux.

- Elle se caractérise par la réduction de la pollution (réduction des gaz à effet de serre).
- Elle est considérée comme une énergie renouvelable.
- Le biodiesel réduit la dépendance aux combustibles fossiles dans les pays importateurs de pétrole.

Dans cette étude, nous allons étudier la façon la plus économique de cultiver des micro-algues et de produire des biocarburants à partir de celles-ci. Où nous avons extrait l'huile des micro-algues par la méthode de Soxley, en plus d'autres méthodes. Différents échantillons contenant des biocarburants ont été obtenus et leurs propriétés physico-chimiques ont été étudiées.

La production de biodiesel est acquise par la réaction de transestérification des huiles extraits des micro-algues.

La réaction de transestérification en général est le processus de remplacement du groupe alkyle de l'alcool (R₂) par le groupe alkyle de l'ester (R₁). Production à grande échelle de biodiesel, dans laquelle les groupes d'acides gras dans les triglycérides sont remplacés par l'alcool groupé.

Le biodiesel obtenu a des propriétés physiques et chimiques proches des normes du diesel ordinaire à l'exception d'une viscosité légèrement plus élevée, qui peut être corrigée en mélangeant du biodiesel avec d'autres carburants.

Mots clés : plantes aquatiques, micro-algues, extraction, transestérification, biodiesel, ester.

Summary:

Over the past three decades, the world has seen an increase in the consumption of petroleum (the main source of fossil fuel), and much of it is destined for use by the transport sector, putting its products and reserves at risk, greenhouse gas (GHG) emissions, including carbon dioxide. Carbon (CO₂), prompting politicians, and therefore researchers, to urgently find alternative sources of fossil hydrocarbons, renewable such as biodiesels, fuels obtained from vegetable oils and animal waste.

- It is characterized by the reduction of pollution (reduction of greenhouse gases).
- It is considered a renewable energy.
- Biodiesel reduces dependence on fossil fuels in oil importing countries.

In this study, we will investigate the most economical way to grow microalgae and produce biofuels from them. Where we extracted the oil from the microalgae by the Soxley method, in addition to other methods. Various samples containing biofuels were obtained and their physicochemical properties were studied.

The production of biodiesel is obtained by the transesterification reaction of oils extracted from microalgae.

The transesterification reaction in general is the process of replacing the alkyl group of the alcohol (R₂) with the alkyl group of the ester (R₁).

Large-scale production of biodiesel, in which the fatty acid groups in triglycerides are replaced by grouped alcohol.

The resulting biodiesel has physical and chemical properties close to the standards of ordinary diesel except for a slightly higher viscosity, which can be corrected by blending biodiesel with other fuels.

Keywords: aquatic plants, micro-algae, extraction, transesterification, biodiesel, ester.

ملخص

على مدى العقود الثلاثة الماضية ، شهد العالم زيادة في استهلاك البترول (المصدر الرئيسي للوقود الأحفوري) ، ومعظمه مخصص لقطاع النقل ، مما يعرض منتجاته للخطر. احتياطات غازات الاحتباس الحراري (GHG) بما في ذلك ثاني أكسيد الكربون. الكربون (CO2) ، مما دفع السياسيين ، وبالتالي الباحثين ، إلى البحث بشكل عاجل عن مصادر بديلة للهيدروكربونات الأحفورية ، والمتجددة مثل الوقود الحيوي ، والوقود الذي يتم الحصول عليه من الزيوت النباتية والنفائات الحيوانية.

• يتميز بالحد من التلوث (الحد من غازات الاحتباس الحراري).

• تعتبر طاقة متجددة.

• يقلل وقود الديزل الحيوي من الاعتماد على الوقود الأحفوري في البلدان المستوردة للنفط.

في هذه الدراسة ، سنبحث في الطريقة الأكثر اقتصادا لزراعة الطحالب الدقيقة وإنتاج الوقود الحيوي منها. حيث قمنا باستخراج الزيت من الطحالب الدقيقة بطريقة سوكسلي بالإضافة إلى طرق أخرى. تم الحصول على عينات مختلفة تحتوي على الوقود الحيوي ودرست خواصه الفيزيائية والكيميائية.

يتم الحصول على إنتاج وقود الديزل الحيوي من خلال تفاعل الأسترة التبادلية للزيوت المستخرجة من الطحالب الدقيقة.

تفاعل الأسترة التبادلية بشكل عام هو عملية استبدال مجموعة الألكيل للكحول (R2) بمجموعة الألكيل من الإستر (R1). إنتاج وقود الديزل الحيوي على نطاق واسع ، حيث يتم استبدال مجموعات الأحماض الدهنية في الدهون الثلاثية بالكحول المجمع.

يتميز وقود الديزل الحيوي الناتج بخصائص فيزيائية وكيميائية قريبة من معايير الديزل العادي باستثناء اللزوجة الأعلى قليلاً ، والتي يمكن تصحيحها عن طريق مزج وقود الديزل الحيوي مع أنواع الوقود الأخرى.

الكلمات المفتاحية: النباتات المائية ، الطحالب الدقيقة ، الاستخراج ، الأسترة التبادلية ، الديزل الحيوي ، الإستر.

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENT

RESUME

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

LIST D'ABREVIATION

Introduction générale01

CHAPITRE I : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Généralité sur les biocarburants.....03

1.1.1 Définition des biocarburants.....03

1.1.2 Différent types biocarburants.....03

1.1.2 .1 Les biocarburants de 1 ère génération.....03

1.1.2 .2.Les biocarburants de 2ème génération.....04

1.1.2.3 Les biocarburants de 3ème génération(les biomasses).....05

1.2. Les micro algues.....07

1.2.1 Modes de nutrition des micro-algues.....07

1.2.2 La biodiversité en micro-algues.....07

1.2.3. Les facteurs de sélection.....10

1.2.3.1 L'efficacité de la photosynthèse et le taux de croissance10

1.2.3.2 La teneur lipidique.....10

1.2.4. La culture des micro-algues.....11

1.2.4.1 La culture des micro-algues dans le monde.....	11
I.2.4.2. En culture photo autotrophe.....	12
I.2.4.2.1. Systèmes ouverts : écosystèmes naturels, lagunaires et étangs à haut rendement (Raceways).....	12
I.2.4.1.2 Systèmes fermés PBR.....	13
1.2.4.3. En culture hétérotrophe.....	15
1.2.4. 4.Les facteurs affectant la croissance des micro-algues.....	15
1.2.4. 4.a Les facteurs abiotiques.....	16
1.2.4. 4.b La luminosité.....	16
1.2.4. 4.c Les facteurs physiques/chimiques.....	17
1.2.4. 4.d Les facteurs biotiques.....	19
2.5 Molécules d'intérêts produites par les micro-algues.....	19
I.2.5.1 Les lipides.....	19
I.2.5.2. Les protéines.....	21
1.2.5. 3. Les pigments et les antioxydants.....	21
I.2.6. Sélection des espèces d'algues d'intérêt énergétiques.....	23
I.3. L'extraction des huiles algales.....	24
I.3.1. Les étapes préalables à l'extraction.....	24
I.3.1.1. Séchage.....	24
I.3.1.2. Broyage.....	24
I.3.1.3. Homogénéisation à haute pression.....	25
I.3.1.4. Homogénéisation à billes.....	25
I.3.1.5. Homogénéisation à billes.....	25

I.3.1.6. Les ultrasons et micro-ondes.....	25
I.3.2. Les différences types d'extraction des huiles algales.....	26
I.3.2.1. Technique d'extraction conventionnelle.....	26
I.3.2.1.1. L'extraction par Soxhlet.....	26
I.3.2.1.2. L'extraction en mode batch.....	26
I.3.2.1.3. L'extraction par sonication.....	26
I.3.2.2. La technique d'extraction nouvelle.....	27
I.3.2.2.1. L'extraction assistée par les micro-ondes.....	27
I.3.2.2.2. L'extraction accélérée par solvants (Accelerated Solvant Extraction).....	27
I.3.2.2.3 Extraction par solva.n.t.s organiques.....	27
I.3.2.2.4. Extraction à l'eau subcritique.....	27
I.3.2.2.5. Extraction avec des fluides supercritiques.....	28
I.3.2.2.6. Extraction au CO ₂ supercritique.....	28
I.4 L'extraction physicochimique.....	29
I.5 L'extraction biochimique.....	30
I.6 Les caractéristiques du biodiesel.....	30
I.6.1 La viscosité.....	30
I.6. Le pouvoir calorifique.....	30
I.6.3 Le point trouble et le point d'écoulement.....	31
I.6.4 L'indice de cétane.....	31
I.6.5 L'oxydation.....	31
I.6.6 Le pouvoir lubrifiant.....	32
I.6.7 Les normes.....	32

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

Introduction.....	34
II.1Matières premières.....	35
Travaux De Terrain.....	36
II.2. Analyse qualitative des micro-algues.....	36
II.2.1. Prélèvement pour l'analyse qualitative des micro-algues.....	36
II.2.1.1. Matériels.....	36
Travaux de laboratoire	36
II.2.2. Observation microscopique.	36
II.2.2.1. Matériel	36
II.2.2.2. Mode opératoire	36
II.2. Les étapes antérieurs a l'extraction.....	37
II.2.1. Collecte et prélèvement des matières premières.....	37
II.2.1.1. la filtration.....	37
II.2.1.2. Matériels.....	38
II.2.1.3. Mode opératoire	38
II.2.4. Préparation de la poudre de micro-algues.....	38
II.3. Matériels de laboratoire	38
II. 4.Les méthodes d'extraction choisies dans notre étude	38
II.4.1.Le protocole expérimental choisi	38
II.4.2.Extraite à l'aide de Soxhlet.....	39
II.4.2.1.L'extracteur Soxhlet.....	39
II.4.2.2.Les composants de l'appareil Soxhlet extraction.....	39
II.4.2.3.Le principe de fonctionnement de l'appareil Soxhlet.....	40
II.4.3. Evaporation.....	41
II.4.3.1. Evaporateur Rotatif.....	41

II.4.3.2. L'extraction d'huile de micro-algues.....	42
II.4.3.3. Protocole de synthèse de biodiesel.....	43
II.4.4. Transestérification des huiles extraites.....	43
II.4.5. La méthode en une seule étape (transestification in-situ ou direct)	44
II.4.6. séparation et récupération du biodiesel produit.....	46
II.4.7. Caractérisations physico-chimiques.....	46
II.4.7.1. La densité	46
II.4.7.2. la viscosité.....	47
II.4.7.3. Composition du biodiesel.....	47

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

Introduction	48
III.1. Identification de micro-Algues prélevées.....	48
III.1.1. Observations sous microscope.....	48
III.2. Caractéristiques physiques du biodiesel.....	52
III.2.1. La densité.....	52
III.2.2. L'indice de cétane.....	52
III.2.3. Le point d'éclair.....	53
III.2.4. Le point de trouble.....	53
III.3. Processus d'extraction et conversion des lipides en biocarburant.....	54
III.4. Caractéristiques chimiques du biodiesel	54
III.4.1. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).....	54
III.4.2. La chromatographie en phase gazeuse (CG).....	58
Conclusion.....	58
Conclusion générale.....	60
Référence Bibliographique.....	62

LISTE DES TABLEAUX

Tableau. I.1- Les différents types nutritionnels des micro-algues	07
Tableau. I.2 : Résumé des groupements majeurs des algues selon les botanistes (Mitchell, 1974).....	09
Tableau. I.3 : principales espèces de métabolisme hétérotrophe pour la production de biodiesel(Cantin, juillet 2010)	10
Tableau. I.4 : les avantages et les inconvénients du Système de production ouvert de type Raceway	13
Tableau. I.5 : les avantages et les inconvénients des systèmes PBR	14
Tableau. I. 6 : Contenu lipidique de diverses espèces (Cadoret, 2008)	21
Tableau. I. 7 : les teneurs en huile de différentes espèces de micro-algues	24
Tableau III.1 : Productivité et rendement en lipides obtenus par la culture de micro-algues ayant un métabolisme hétérotrophe (Isabelle Cantin., 2010).....	50
Tableau III.2 : Propriétés physicochimiques du biodiesel, comparées à celles de la littérature du petro-diesel.....	53
Tableau.III. 3. Groupes fonctionnels basés sur le FTIR de l'huile d'algues (Mani Yuvarani & al 2017).....	57

LISTE DES FIGURES

Figure. I.1 : La filière des huiles végétales ou du biodiesel (Sall Hamath, 2007).....	03
Figure. I.2 : La filière éthanol ou filière alcool (Poitrat. E, 2005).....	04
Figure. I.3 : biocarburants de deuxième génération tirés de déchets de l'agriculture et de l'exploitation forestière (Ndiaye Doudou, 2007).....	04
Figure .I.4 : filières classiques des biocarburants de première génération.....	05
Figure. I.5 : biocarburants de troisième génération tirés des cultures d'algues (Touati Lounis, 2013).....	06
Figure. I.6 : Productivité en huile des micro-algues par rapport à d'autres plantes oléagineuses	06
Figure. I.7 : Ouvrage de photo bioréacteur tubulaire	08
Figure. I.8 : Courbe de croissance des micro-algues (référence biblio).....	11
Figure. I.9 : Système de production ouvert de type	12
Figure. I.10 : Système de production fermés PBR.....	14
Figure. I.11 : Phases lumineuse et obscure de la réaction de photosynthèse.....	17
Figure. I.12 : La photosynthèse des micro-algues.	17
Figure. I.13 : Diagramme schématique du processus permettant d'obtenir le score global pour l'évaluation des espèces de micro-algues pour la production de biodiesel.....	23
Figure .I.14 : Processus et produit de conversion de la biomasse.....	29
Figure II.1: les sites de la récolte de biomasse.....	35
Figure. II.2: microscope optique utilisé pour l'identification des micro-algues (type Holland).....	37
Figure II.3: les étapes de préparation des la biomasse micro-Algale.....	37
Figure. II.4: composants et principe de fonctionnement de l'appareil.....	40
Figure II.5: évaporateur rotatif.....	42
Figure II.6: appareil en cours de l'extraction.....	42
Figure. II.7: protocole de l'extraction par l'appareil de Soxhlet en deux étapes.....	43
Figure. II.8: Deux protocoles différents de l'extraction en seul étape (transestification in-situ ou direct).....	45

Figure. II.9 : Spectroscopie Infrarouge BRUKER Tensor 27	47
Figure III.1: photo des micro-algues (Chlorella) d'après le site istockphoto.com.....	48
Figure.III.2: Photo des micro-algues (Chlorella) sous microscope d'après le site	49
Figure.III.3.: Photos des micro-algues (Chlorella) récoltés du site Kossan et Bouzan sous microscope	49
Figure.III.4 : culture des souches sauvages au laboratoire.....	49
Figure III.5 : Effet de différents solvants et mélanges de solvants sur l'extraction au soxhlet	50
Figure.III.6 : % de rendement d'huile d'algues en fonction du temps.	51
Figure.III.7 : les étapes de transestérification.....	51
Figure.III.8 : les spectres IR des différents biodiesels testés	52
Figure.III.9 : les spectres IR des diesels de référence et biodiesel de micro-algues (biodiesel_1).....	53
Figure.III.10: les spectres IR des différents biodiesels testés	55
Figure.III.11 : le spectre IR du biodiesels de micro-algues (biodiesel_1)- transestérification direct.....	55
Figure.III.12 : le spectre IR du biodiesels de micro-algues (biodiesel_1)- transestérification direct.....	58
Figure.III.13: le spectre IR du biodiesels de micro-algues (biodiesel_1)- transestérification direct (Mani Yuvarani & al 2017).....	58

LISTE D'ABREVIATION

CE : Commission Européen

EMHV : Ester Méthylique D'huile Végétale

EMAG : Ester Méthylique D'acide Gras

L'homogénéisation à haute pression (HHP)

PBR : Les Photos BioRéacteurs

Introduction General

Introduction générale

Le terme biocarburant fait référence aux carburants liquides, solides ou gazeux produits par des sources vivantes telles que les plantes et les micro- algues qui sont non polluants, accessibles et durables.

Les algues sont utilisées depuis des centaines d'années par les humains comme nourriture, aliments pour animaux, traitement de maladies ou engrais agricoles. Des études ont indiqué que les humains utilisaient les micro-algues comme nourriture depuis 500 avant JC en Chine et mille ans plus tard en Europe, en raison de leur la richesse en vitamines, en sels et la teneur élevée en protéines dans un grand nombre. De ses genres, en particulier les macro-algues que l'on peut voir à l'œil nu. L'algue *Arthrospira* est un aliment bien connu au Mexique, en Afrique et dans la civilisation aztèque. L'utilisation des micro-algues dans la production d'énergie est l'une des options les plus prometteuses dans le domaine de la production d'énergie alternative renouvelable ou respectueuse de l'environnement à l'heure actuelle pour l'énergie issue de l'utilisation de combustibles fossiles, qui est un polluant de l'atmosphère et provoque de nombreux problèmes environnementaux tels que le réchauffement climatique, car il est considéré comme l'une des ressources épuisées, que l'humanité doit rechercher des sources alternatives d'énergie, et les travaux ont commencé sur ce sujet au cours des cinquante dernières années, car l'utilisation de la biomasse algale est une solution prometteuse et que En raison du taux élevé de croissance des micro-algues par rapport aux plantes terrestres, car elles poussent dans divers environnements tels que l'eau douce frais, salé, salin et l'environnement terrestre et contient les trois principaux composants : glucides, protéines et graisses .Les graisses sont le composant principal du processus de production de biocarburants, qui comprend le biodiesel, la bio-huile, le biogaz et le bio-hydrogène en plus d'un nombre d'autres composés tels que le méthane, l'éthanol et un très grand nombre de composés chimiques différents. Le processus de production de biocarburant à partir de micro-algues est appelé la troisième génération, car les algues produisent 30 à 100 fois l'énergie par hectare par rapport aux cultures végétales terrestres, élimine le dioxyde de carbone gazeux par photosynthèse et les niveaux d'oxydes d'azote et d'émissions de soufre sont faibles dans les biocarburants produits avant les micro-algues par rapport aux combustibles fossiles (Mani Yuvarani & al 2017).

Dans cette perspective, l'objectif principal du travail de mémoire de Master est d'améliorer les conditions expérimentales de remplacement des triglycérides pour la production de biodiesel à partir d'huiles extraites de micro-algues.

Introduction General

Ce moire est constitue de 3 chapitres et une conclusion générale

Le premier chapitre : il est consacré à la partie bibliographique de cette étude et l'état de l'art de ce thème de recherche.

Le deuxième chapitre: présente le matériel et les méthodes suivies pour atteindre les objectives de ce travail (extraction d'huiles des micro-algues puis les transformer en biodiesels par la réaction de transesterification,

Le troisième chapitre : ce chapitre est consacré à la discussion des résultats obtenus.

CHAPITRE I : RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1 Généralité sur les biocarburants

I.1.1 Définition des biocarburants

Les biocarburants sont des sources énergétiques issues des matériaux biologiques qu'ils distinguent des autres sources d'énergie non fossiles, à l'instar de l'énergie des vagues, et l'éolienne et du solaire. De plus, quel que soit la forme des biocarburants (liquide, ou gazeuse), il est clair que c'est une énergie durable, et renouvelable puisqu'elle est d'origine végétale et animale, et donc elle peut être remplacée après une courte période (Scragg Alan. H, 2009)

I.1.2. Différent types biocarburants

I.1.2 .1 Les biocarburants de première génération

Il existe deux grandes filières :

Le biodiesel est obtenu à partir de plantes oléagineuses (colza, tournesol, soja, des micro-algues...) ou de graisses animales ou d'huiles alimentaires usagées. Il est obtenu par L'estérification, c'est-à-dire la transformation des corps gras en esters méthyliques d'acides gras (EMAG) par une réaction chimique de transestérification en présence d'un catalyseur (fig. I.1). Cette technologie permet de produire à partir d'une tonne d'huile 110 kg de méthanol, 970 kg de biodiesel et 108 kg de glycérine (Sall Hamath., 2007).



Figure. I.1 : La filière des huiles végétales ou du biodiesel (Sall Hamath, 2007).

Le bioéthanol est obtenu à partir de plantes sucrières ou de céréales (fig. I.2). Il est utilisé en mélange dans les essences :

Soit de manière systématique dans les supercarburants SP95-E10 (jusqu'à 10 % en volume), SP95 et SP98 (jusqu'à 5% en volume).

Soit à haute teneur dans le carburant super-éthanol E85, qui contient entre 65 et 85% en volume d'éthanol. Ce carburant est disponible en stations-service depuis 2007 et est

destiné à des véhicules dédiés, appelés véhicules à carburant modulable. L'éthanol carburant a surtout été développé dans deux pays ; le Brésil et les Etats-Unis (Poitrat. E, 2005).

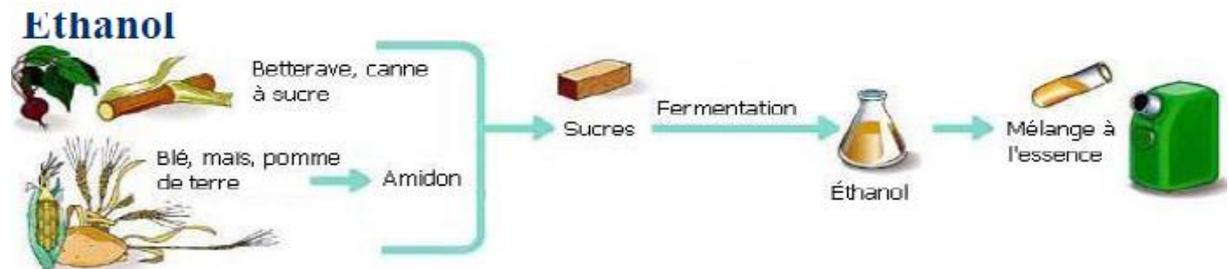


Figure .I.2 : La filière bioéthanol ou filière alcool (Sall Hamath, 2007)

I.1.2 .2. Les biocarburants de 2ème génération

Issus de la transformation du ligno-cellulose contenue dans les résidus agricoles (paille) et forestiers (bois), ou dans des plantes provenant de cultures dédiées (taillis à croissance rapide) (fig. I.3). Les nouveaux procédés cherchent à améliorer le bilan énergétique en utilisant toute la plante. Pour cela les résidus de sylviculture, les déchets organiques, des cultures comme la luzerne ou le miscanthus sont exploités. Ces procédés permettraient en outre de limiter le problème d'usage des surfaces agricoles, d'exploiter un éventail de culture beaucoup plus large que celui de la gamme alimentaire et d'obtenir de meilleurs bilans énergétiques et environnementaux que la première génération (Ballerine Daniel, 2006).

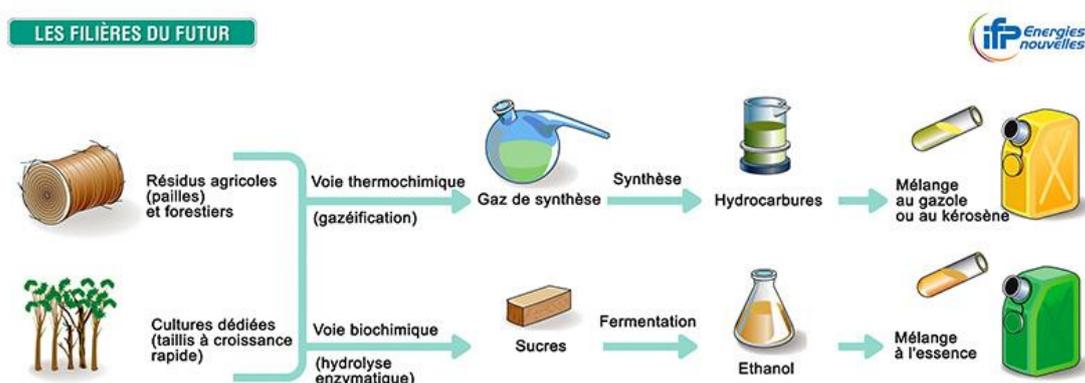


Figure .I.3: Biocarburants de deuxième génération extraient de déchets de l'agriculture et de l'exploitation forestière (<https://www.ifpenergiesnouvelles.fr>).

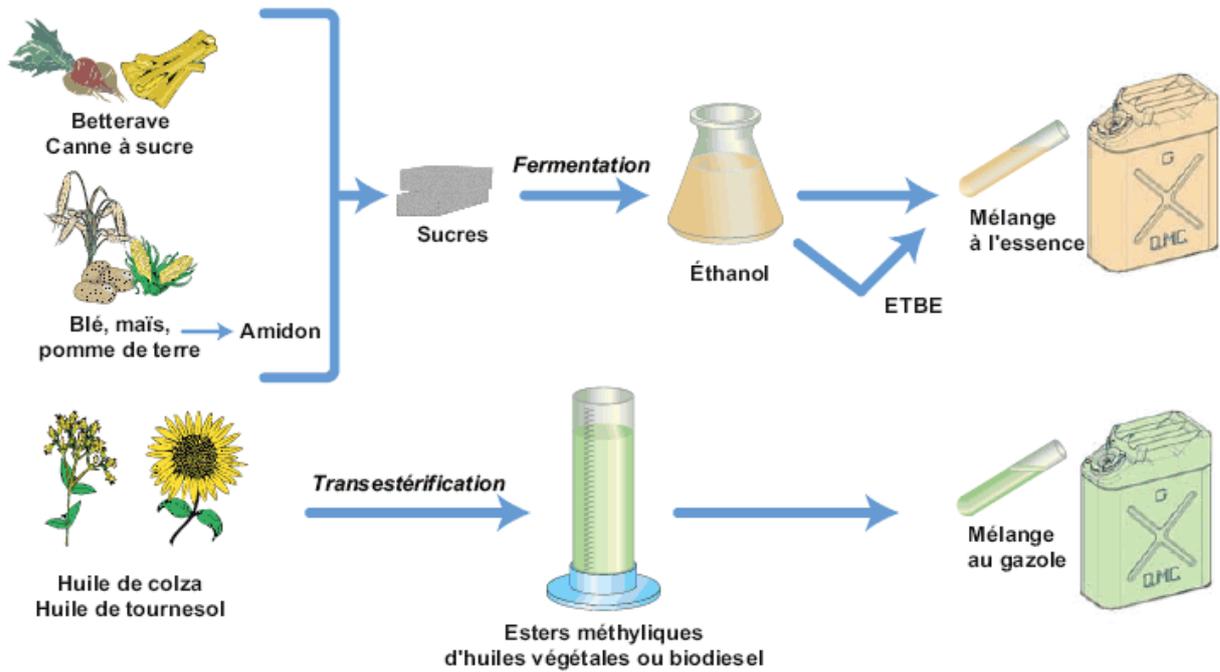


Figure. I.4 : filières classiques des biocarburants de première génération
 (https://www.ifpenergiesnouvelles.fr)

I.1.2.3 Les biocarburants de 3^{ème} génération (les biomasses)

Ils sont obtenus à partir de la production de lipides ou d’hydrogène par des micro-organismes (**fig. I.5**). Le soufre est un élément chimique nécessaire au processus de formation des protéines. Lorsque l’algue *Chlamydomonas reinhardtii* est privée de soufre, la photosynthèse diminue et elle met en place une autre voie énergétique : la production d’hydrogène. On peut cultiver les micro-algues avec deux procédés différents : l’utilisation d’une photo bioréacteur ou de bassins extérieurs (**fig. I.6**). Les rendements prévus sont 3 à 30 fois supérieurs aux espèces oléagineuses (car le taux de photosynthèse est plus important). Les biocarburants de 3^{ème} génération sont un enjeu énergétique important (**Dubreuil, A, 2008**)



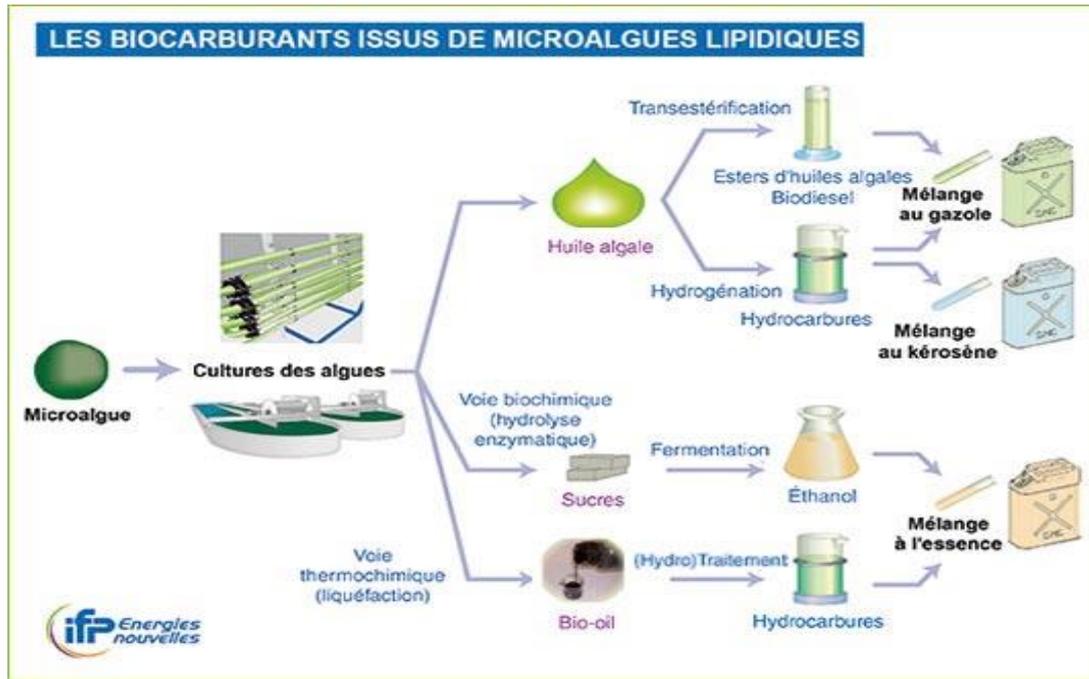


Figure. I.5: Biocarburants de troisième génération tirés des cultures d’algues
(<https://www.ifpenergiesnouvelles.fr>)

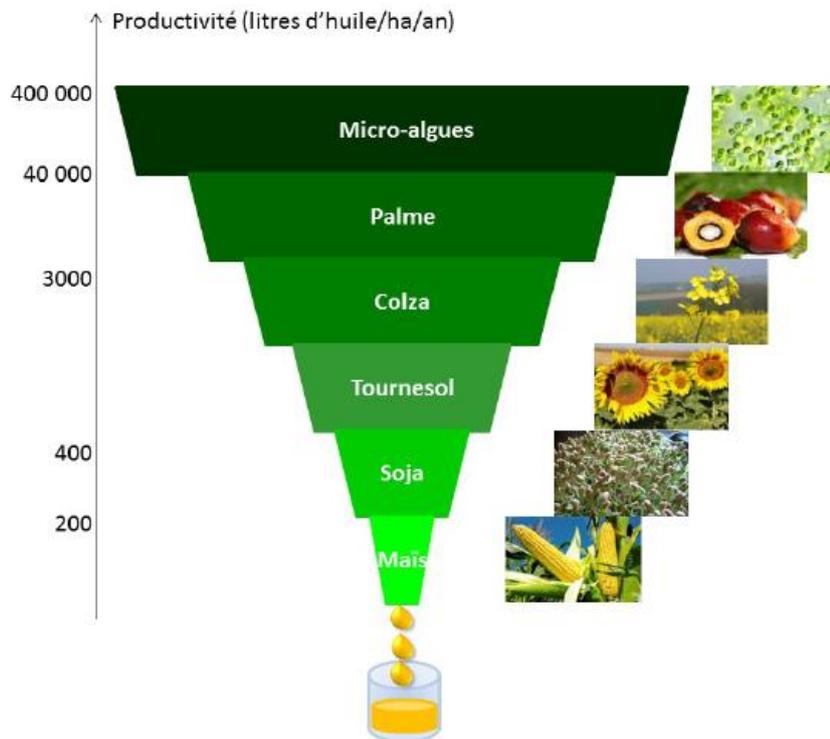


Figure. I.6 : Productivité en huile des micro-algues par rapport à d’autres plantes oléagineuses (Céline dejoye tanzi.,2013)

I.2. Généralités su les micro-algues

I.2.1 Modes de nutrition des micro-algues

Les micro-algues possèdent plusieurs mode de nutrition (Tableau 1), ils sont généralement des organismes photo autotrophes. L'autotrophie est un mode de nutrition des micro-algues leur permettant d'utiliser les rayons solaires afin de synthétiser leur énergie. Elles utilisent également une source de carbone inorganique comme le CO₂ et l'hydrogénocarbonate HCO₃ 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 micro algues ont un métabolisme hétérotrophe de nutrition et celles-ci n'ont pas besoin d'énergie solaire. Elles utilisent plutôt une source de carbone organique pour la production de l'énergie et des composants organiques.

Les micro-algues de métabolisme mésotrophe peuvent se nourrir soit par autotrophie soit par hétérotrophie. En effet, en absence d'énergie lumineuse, lorsqu'une source de carbone organique est disponible, le développement des chloroplastes est inhibé et ces micro-algues métabolisent leur énergie en mode hétérotrophe.

Tableau I.1 : Les différents types nutritionnels des micro-algues

Mode de nutrition	Source d'énergie	Source de carbone
Photo autotrophe	Radiation solaire	CO ₂ seulement
Photo hétérotrophe	Radiation solaire	CO ₂ et carboneorganique
Chemoautotrophe	Composé inorganique	CO ₂
Chemohétérotrophe	Composé organique	carbone organique

I.2.2 La biodiversité en micro-algues

Les micro-algues 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 taxinomiques de micro algues (Tableau I..2) dont les principales sont les cyanophycées, les chrysophycées, les rhodophycées, les euglénophycées, les chlorophycées et les bacillariophycées.



Figure. I.7 : Ouvrage de photo bioréacteur tubulaire (Abdel-Raouf & al. 2012).

Tableau I.2 : Résumé des groupements majeurs des algues selon les botanistes (Mitchell, 1974)

Phylum	Nom Commun et <i>Espèces</i>	Pigments	Caractéristiques
Cyanophyte	Algues bleues-vertes Spirulina, Anabaena	bleu-vert: phycocyanine, phycoérythrine, chlorophylle a et b	Multicellulaire ou unicellulaire mais habituellement microscopique.
Euglenophyte	Euglenoïde Euglena	Vert	unicellulaire, mobile, sans membrane cellulaire.
Chlorophyte	Algues vertes Chlorella, Scenedesmus	Vert: chlorophylle a et b.	Unicellulaire, multicellulaire, quelques-unes microscopiques, membrane cellulaire formée de cellulose et de pectine.
Chrysophyte	Algues jaune-vertes ou brunes claires Diatomées	Jaune - vert, brun clair: xanthophylle, carotènes et chlorophylle.	Microscopique, unicellulaire, leur membrane cellulaire contient de la silice.
Pyrophyte	Dinoflagellés, Peredinium, Massartia	jaune-vert, brun foncé: Xanthophylle, chlorophylle a et c.	Unicellulaire, mobile, membrane cellulaire en cellulose.
Phaeophyte	Algues brunes Fucus	Vert d'Olive, brun foncé: fucoxanthine, xanthophylle, chlorophylle a et c.	Multicellulaires principalement, vivent dans les eaux marines, leur membrane cellulaire est formée en pectine et en cellulose.
Rhodophyte	Algues rouges Polysiphonia	Rouge: phycocyanine, phycoérythrine et chlorophylle a.	La plupart sont multicellulaires, vivent dans les eaux marines et possèdent une membrane en cellulose et en pectine.

Cette biodiversité est un atout à exploiter via une sélection rigoureuse des souches ayant des caractéristiques intéressantes pour la production de biocarburant.

I.2.3. Les facteurs de sélection des micro-algues

I.2.3.1 L'efficacité de la photosynthèse et le taux de croissance

L'efficacité de la photosynthèse est définie comme la fraction d'énergie lumineuse convertie en énergie chimique en condition photo autotrophe. Seules les longueurs d'onde comprises entre 400 et 740 nm, représentant 42,3% de l'énergie totale de la lumière solaire, peuvent être utilisées lors de la photosynthèse (Zhu, 2008), (Brennan, 2009).

La figure 4 montre les productivités des micro-algues obtenues dans diverses études. Ces rendements importants ont pour premier effet visible des taux de croissance cellulaires très élevés.

I.2.3.2 La teneur lipidique

Parmi les principales classes, certaines espèces de micro algues possèdent un potentiel intéressant pour la production de biodiesel en raison de leur importante production d'acides gras. Ces principales espèces sont présentées dans le (Tableau 3).

Tableau I.3 : principales espèces de métabolisme hétérotrophe pour la production de biodiesel (Cantin, juillet 2010)

Phylum ou classe	Espèce	Contenu en huiles (% poids sec)	Référence
Chlorophycées	Chlorelle vulgarise	56.6	Qiang et al, 2008 Li et al, 2008 Li et al, 2007
Chlorophycées	Chlorelle protothecoides	44.3-48.7	Li et al, 2007
Bac illiarophycées	Nischia sp	45-47	Khan et al, 2009 Meng et al, 2009
Dinoflagellés	Cryptocodium	20-30	Khan et al, 2009 Barclay et al, 1993
Chrysophycées	schyzochytrium	50-77	Khan et al, 2009 Meng et al, 2009

Le produit de la croissance cellulaire par la teneur lipidique permet d'estimer la productivité lipidique. La teneur lipidique est cependant un paramètre clé à part entière puisque c'est un facteur conditionnant l'efficacité de l'extraction.

I.2.4. La culture des micro-algues

Les micro-Algues croient sous différentes conditions de culture. Ces conditions de croissance vont faire varier la composition des cellules ainsi que les quantités et les caractéristiques des différentes substances qu'elles produisent. Leur profil de croissance est identique à celui d'autres microorganismes avec trois phases principales: une phase de latence, une phase exponentielle et une phase stationnaire (fig. I.8). Selon les conditions de culture, une quatrième phase peut apparaître, la phase de déclin.

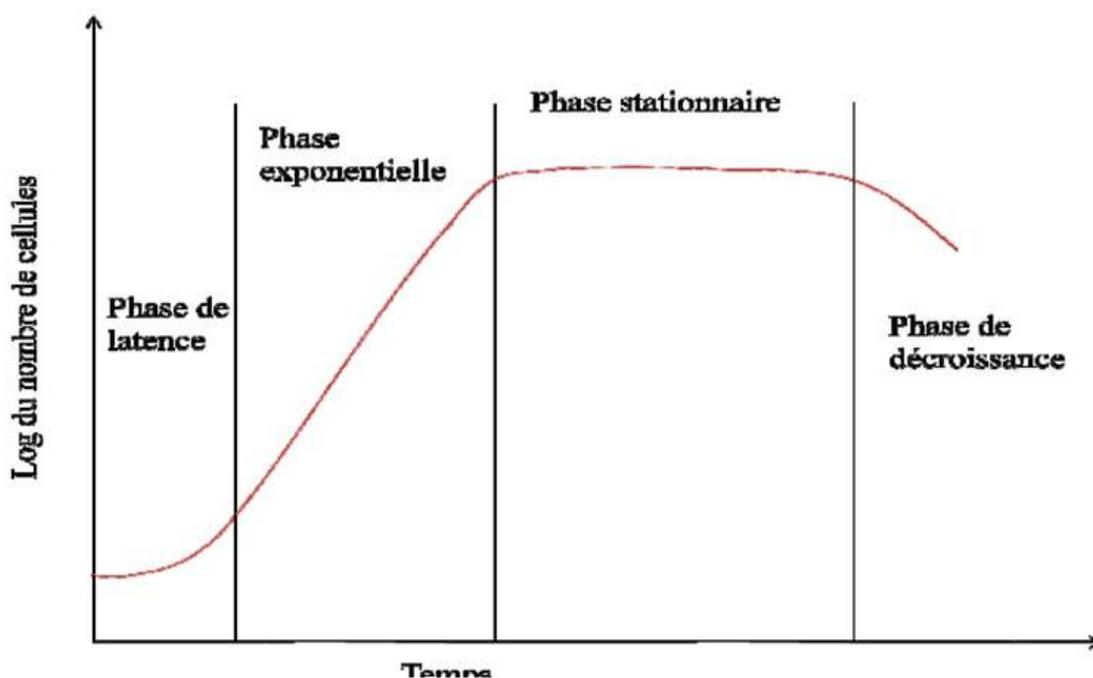


Figure .I .8 : Courbe de croissance des micro-algues

I.2.4.1 La culture des micro-algues dans le monde

La production de la biomasse algale a évolué au cours du temps, les micro-algues étaient produites à ciel ouvert le plus souvent dans des bassins en mode discontinu et en conditions semi-contrôlées. Depuis, les techniques de production ont évolué pour arriver aujourd'hui à des productions en mode continu et contrôlé en photo bioréacteurs.

I.2.4.2. En culture photo autotrophe

I.2.4.2.1. Systèmes ouverts: écosystèmes naturels, lagunaires et étangs à haut rendement (Raceways)

Ce sont les systèmes les plus utilisés à ce jour pour la production de micro-algues commerciales, du fait de leur simplicité d'utilisation, de leur faible coût et de leurs standardisations. Les étangs à haut rendement sont des sortes d'étangs ouverts peu profonds, de 30 cm de profondeur maximum.

Ils peuvent être de forme circulaire ou allongée, uniques ou connectés les uns aux autres. L'eau est généralement maintenue en mouvement par des roues à aubes ou des structures en rotation, et un certain mélange peut y être accompli par des guides bien conçus. Les systèmes Raceway comme dans la (fig. I.9) restent la technique la plus utilisée. Dans le tableau 4 on cite les avantages et les inconvénients du système Raceway.



Figure .I.9:Système de production ouvert de type Raceway (Sialve B.1, Steyer J-P. 1.,2013)

Tableau. I.4 : les avantages et les inconvénients du Système de production ouvert de type Raceway

Avantages	Inconvénients
leur construction facile	les cultures difficilement contrôlables
peu onéreuse	Les productivités sensiblement plus faibles que pour des photobio réacteurs
rapidement opérationnelles	la concentration de la biomasse et la productivité volumique sont faibles dus à la profondeur
Systèmes peu coûteux en termes d'investissement	l'apport en CO ₂ dépend de la concentration atmosphérique
	une productivité aléatoire et saisonnière à cause de la dépendance aux conditions naturelles du milieu
	la vulnérabilité des cultures aux contaminations
	le besoin important en eau pour compenser l'évaporation forte de ces systèmes de cultures.

I.2.4.1.2 Systèmes fermés PBR

Les photo bioréacteurs (PBR) sont des différents types de réservoirs ou de systèmes fermés dans lesquels les algues sont cultivées (Fig. I.10). Ce sont des systèmes particulièrement bien adaptés pour les micro-algues sensibles aux contaminations, ils permettent également la culture des algues extrémophiles. La culture d'algues consiste, alors, en une seule ou plusieurs souches spécifiques optimisées pour la production du produit désiré. Pouvant fonctionner de manière continue ou discontinue, la productivité en biomasse est meilleure dans le cadre d'une culture continue. L'eau, les nutriments nécessaires et le CO₂ sont fournis d'une manière contrôlée.

Dans (le tableau .5) on cite les avantages et les inconvénients des systèmes PBR



Figure .I.10 : Système de production fermés PBR (<https://fr.wikipedia.org/>).

Tableau. I.5 : les avantages et les inconvénients des systèmes PBR

Avantages	Inconvénients
un meilleur contrôle de la culture, une production plus durable dans le temps par conséquent rendements sensiblement plus élevés	Plus chers à construire et plus complexes à mettre en place (entretien plus contraignant et procédures de nettoyage nécessaires)
peu onéreuse	productivité sensiblement plus faible que les photo bioréacteurs
rapidement opérationnels	Il ya surchauffes importantes au maximum solaire ce qui augmente la température.
Systèmes peu coûteux en termes d'investissement	pertes de charges liées à la circulation du fluide souvent important, 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

I.2.4.3. En culture hétérotrophe

Il est possible de cultiver des micro-algues selon des procédés biotechnologiques classiques, en utilisant des algues hétéro trophiques (ou en les rendant hétéro trophiques) et en les produisant dans des fermenteurs au lieu de photo bioréacteurs.

C'est un cas particulier de bioréacteurs où l'énergie lumineuse n'est pas utilisée comme source d'énergie: on s'affranchit notamment du problème de diffusion homogène de la lumière.

L'énergie est alors fournie par un substrat carboné. Dans ce cas, les algues ne photo synthétisent pas mais respirent.

Les avantages de ce système de production sont:

- une productivité volumique fortement augmentée (multipliée par 100 par rapport à un système ouvert, et par 10 par rapport aux PBR),
- des concentrations en matière sèche très importantes (des centaines de grammes par litre),
- des coûts de production faibles,
- des produits obtenus de très grande qualité,
- un milieu confiné donc pas de contamination,
- pas de contrainte de localisation,
- très industrialisable,
- une technologie totalement maîtrisée à l'échelle industrielle sur les levures et bactéries
- depuis plusieurs décennies, par différentes filières comme la chimie et l'agro-alimentaire.

Cependant, ce système nécessite des souches adaptées au mode de culture, des coûts d'installation et d'investissement importants dus aux réacteurs, et surtout des sources de carbone externes, stérilisées et en quantité équivalentes aux produits générés.

I.2.4. 4.Les facteurs affectant la croissance des micro-algues

L'utilisation des micro-algues pour la production d'algo-carburants nécessite une maîtrise des conditions de culture pour garantir un rendement optimal en biomasse et une production de lipides suffisamment élevée.

Les facteurs de croissance varient d'une espèce à une autre, mais les conditions communes indispensables à la survie et la croissance de toutes les espèces sont:

- une source de carbone (CO₂ ou bicarbonate)

- une source de nitrogène (nitrate, ammoniacque, urée)
- agent chélateur comme EDTA
- vitamines.

I.2.4. 4.a Les facteurs abiotiques

Autre que les facteurs physiques et chimiques, il existe des facteurs biotiques qui affectent la croissance des micro-algues telle que la compétition entre les espèces de micro-algues.

La compétition entre les espèces de micro-algues est un des facteurs biotiques limitant la croissance algale. Par exemple, il existe des cyanobactéries qui libèrent des toxines ayant des effets inhibiteurs sur la croissance d'autres espèces de micro-algues. De même il existe quelques espèces de micro-algues qui peuvent libérer des substances antibactériennes.

I.2.4. 4.b La luminosité

La lumière, qui constitue la source d'énergie primaire des micro-algues en conditions photo autotrophes, est bien évidemment un facteur déterminant de la productivité du système. La qualité (spectre adéquat avec la photosynthèse) et la quantité de lumière reçue peuvent être maximisées par le choix du site de culture, le mode de culture et l'intensité du mixage pour éviter la création de zones d'ombre (**Wolff & al , 2012**).

Seules les radiations solaires ayant une longueur d'onde entre 400 et 700nm peuvent être absorbées par les micro-algues et les plantes pour effectuer la photosynthèse ce qui coïncide avec l'intervalle de la longueur d'onde visible pour l'être humain. Chaque espèce algale a une activité optimale dans un intervalle de luminosité spécifique. En dehors de cette plage, il y aura une photo inhibition qui ralentit l'activité photosynthétique des micro-algues (**Powles, 1984**).

L'énergie solaire est transformée en énergie chimique via la photosynthèse (**fig. I.11 et fig. I.12**) mais il y a toujours des pertes. Selon (Oswald, 1988) plus de 90% de l'énergie solaire incidente est perdue et moins que 10% est convertie en énergie chimique.

L'effet de la luminosité varie en fonction de la température certaines espèces supportent une intensité plus forte en élevant la température (**Richmond, 1986**). Une période de 16/8 h lumière /obscurité est recommandée.

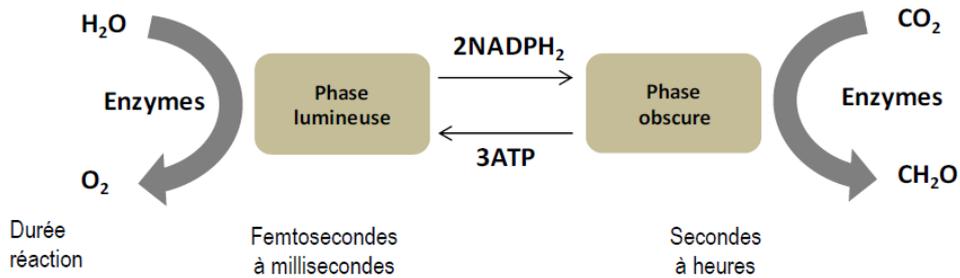


Figure. I.11 : Phases lumineuse et obscure de la réaction de photosynthèse

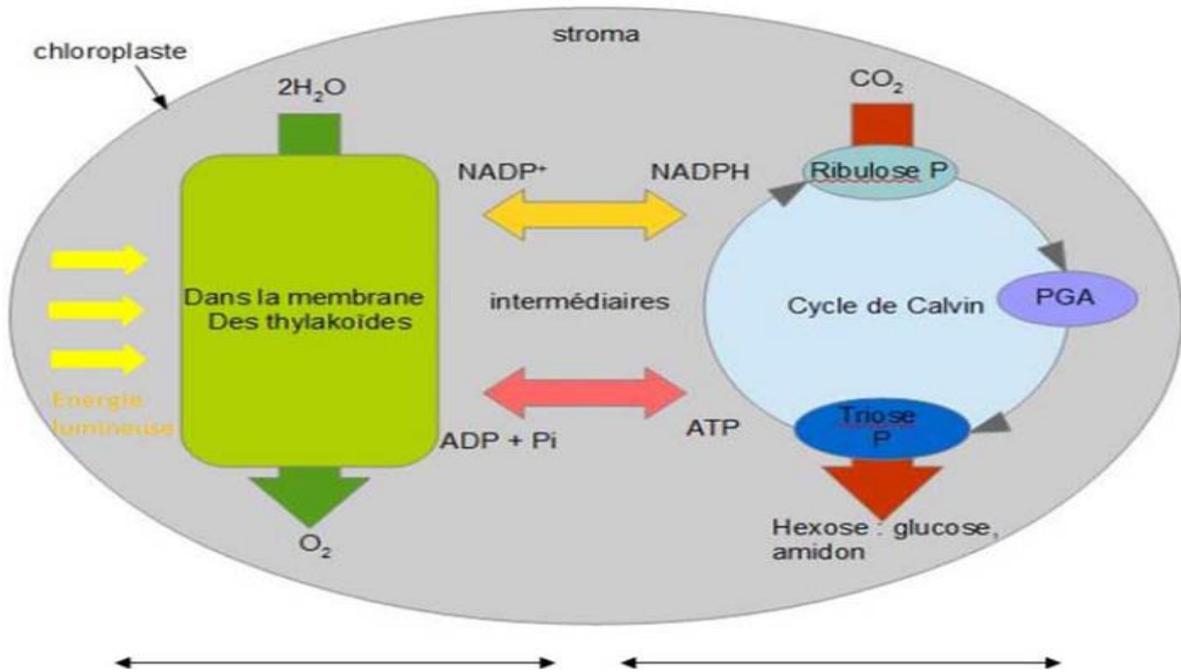


Figure. I.12 : La photosynthèse des micro-algues. (Source: monsite.com/pages/la-production-d-energies)

Ce sont dans les chloroplastes que se déroule la réaction de photosynthèse. Ce mécanisme consiste en une réaction d'oxydoréduction catalysée par l'énergie lumineuse et qui convertie le dioxyde de carbone et l'eau en sucre simples et en oxygène (**réaction n°1**).

Cette réaction globale se réalise en deux étapes (phase lumineuse et phase obscure) séparées dans l'espace et dans le temps (**fig. I.12**).

I.2.4. 4.c Les facteurs physiques/chimiques

- La température est un des facteurs importants affectant la croissance des micro algues. Chaque espèce de micro-algues possède une température caractéristique optimale pour son développement et pour sa croissance. Villay (Villay, 2013) a proposé qu'un intervalle entre $10^{\circ}C$ et $30^{\circ}C$ est convenable pour la plupart des espèces algales.

- Les micro-algues ont besoin pour leur développement, croissance et efflorescence de nutriments. On les divise en deux groupes les macronutriments et les micronutriments.

- Les macronutriments comme le phosphore (P), l'azote (N), le carbone (C), le soufre (S), le potassium (K), le calcium (Ca) et le magnésium (Mg), sont assimilés en quantités importantes par les micro-algues. Nous détaillerons dans cette partie les éléments carbone, nitrogène et phosphore et leurs formes d'assimilation par les micro algues :

- Les micro-algues peuvent assimiler le carbone inorganique par la photosynthèse. L'énergie solaire est utilisée pour assimiler le CO₂ et le transformer en sucre selon la réaction suivante:



- Outre le carbone, l'azote est un second nutriment essentiel pour la croissance des micro-algues comme il constitue 10 % de la biomasse (**Becker, 1981**).

L'azote est assimilé sous deux formes essentielles par les micro-algues: l'ammoniac NH₃ et le nitrate NO₃.

- Un autre macronutriment essentiel pour la croissance des micro algues est le phosphore. Les algues assimilent le phosphore principalement sous la forme d'ortho phosphates O-pO₄³⁻. Les phosphates organiques se trouvant dans l'eau seront hydrolysés en ortho phosphates par les phosphatases qui sont présentes sur les membranes cellulaires externes des micro algues. Les phosphates seront stockés dans les cellules algales sous forme de granules poly phosphates.

Mostert et Grobbelaar (1987) ont trouvé qu'une concentration variante de 0,1 à 5mg/L est assimilable par les micro-algues.

- Les micronutriments sont des nutriments nécessaires pour la croissance algale mais en une petite quantité. Nous citons, le manganèse, le molybdène, le cuivre, le fer, le zinc, le chlore et le nickel ainsi que quelques éléments sont essentiels pour certaines espèces de micro algues comme le sodium, le cobalt, l'iode et le sélénium (**Fogg, 1975**) :

- La composition ionique de la solution et la solubilité de l'oxygène affecte la concentration de l'oxygène dissous (**Richmond, 1986**). Comme la température a un effet sur la solubilité de l'oxygène donc la concentration de l'oxygène dissous dépend fortement de la température. Plus la température augmente, plus la concentration en oxygène dissous diminue en solution. Lorsqu'il y a un excès d'oxygène dissous, on parle de toxicité de l'oxygène qui est le résultat soit d'une photosynthèse intense (**Wetzel, 1975**) soit d'une oxygénation importante.

- La croissance d'algues peut également être affectée par le pH. Les différentes espèces ont différents niveaux de pH optimaux. Le pH augmente généralement due à l'assimilation du dioxyde de carbone. (**Borowitzka, 1998**). Il peut atteindre 11 ou plus, si

le bicarbonate est utilisé comme source de carbone (Fogg, 1975). L'absorption du phosphate et du nitrate par les algues affectent le pH. L'assimilation d'ions de nitrate augmente le pH et l'assimilation d'ions ammonium diminue le pH aussi bas que 3 (Fogg, 1975). Un pH élevé peut conduire à la précipitation des phosphates sous forme de phosphates de calcium (Borowitzka, 1998) et peut aussi entraîner la floculation des algues, réduisant ainsi l'absorption des nutriments et la croissance.

➤ Le changement de salinité affecte le taux de croissance (figure 7). On obtient un taux de croissance optimal entre 30 et 40 ppt. Une réduction de biomasse est remarquée lorsqu'on a un taux de salinité élevé (50 ppm) ou un taux très faible entre 5 à 10 ppm.

I.2.4. 4.d Les facteurs biotiques

Autre que les facteurs physiques et chimiques, il existe des facteurs biotiques qui affectent la croissance des micro-algues telle que la compétition entre les espèces de micro algues.

La compétition entre les espèces de micro algues est un des facteurs biotiques limitant la croissance algale. Par exemple, il existe des cyanobactéries qui libèrent des toxines ayant des effets inhibiteurs sur la croissance d'autres espèces de micro algues.

De même il existe quelques espèces de micro algues qui peuvent libérer des substances antibactériennes.

I.2.5 Molécules d'intérêts produites par les micro-algues

L'intérêt majeur de la culture de micro algues est la production de molécules à hautes valeurs ajoutées. Les micro-algues sont une source importante de lipides, de protéines, de polysaccharides et de pigments.

I.2.5.1 Les lipides

Les lipides sont des constituants indispensables des cellules de micro algues. On les retrouve au niveau structural (phospholipides constitutifs des membranes) et énergétique (molécules de réserve). Globalement, les micro algues peuvent être composées de lipides à hauteur de 16 à 75% de leur masse sèche en fonction des espèces (Harun, 2010). Les micro algues stockent les lipides sous forme de tri-glycérols(ou triglycérides). Le contenu lipidique varie entre les différentes espèces (Cadoret,2008) (Tableau. I. 5).

Les lipides sont principalement utilisés pour la fabrication de biocarburants. Les principaux acides gras identifiés ont été l'acide hexa de cadiénoïque (C16:2), l'acide palmitique (C16:0) et l'acide oléique (C18:1) avec 65% de lipides saturés et 26-33% de

mono-insaturés. Les souches qui reçoivent une quantité importante de nutriments peuvent aussi produire des acides gras à longues chaînes comme l'oméga 3. Les micro-algues vertes de l'espèce *Chlorella vulgaris* accumulent des C18:1 (acide oléique), C18:2 (acide linoléique), et des C18:3 (acide linoléique) (**Pignolet et al. 2013**).

L'environnement et les conditions de cultures impactent la composition et la teneur en lipides des micro-algues.

Chez les espèces appartenant aux genres *Chlorella* et *Scenedesmus* les températures supérieures à la température optimale de croissance permettent une augmentation des C16 et une diminution des C18 (**Xin et al. 2011 ; Han et al. 2013**), (**Rengel, 2011**).

La température a aussi un effet sur la qualité des lipides synthétisés. Une diminution de température allant jusqu'à 4°C environ, permet d'obtenir des lipides plus insaturés. Par contre une augmentation de température allant jusqu'à 40 °C environ permet d'obtenir des lipides moins insaturés. (Sheehan, 1998b) affirme qu'il serait possible d'augmenter la production de lipides chez certaines espèces par un stress. Les stress identifiés peuvent être de différentes natures. Une carence en azote ou en phosphate peut stimuler la production de lipides.

L'augmentation soudaine de l'intensité lumineuse provoque un effet similaire. En plus, un choc thermique de même qu'un choc osmotique peuvent stimuler également la production de lipides. Mais il paraît que ces deux dernières conditions favorisent la production des lipides polaires (phospholipides et glycolipides) associés aux membranes cellulaires qui ne sont pas ainsi importantes au niveau énergétique.

Même une exposition à des radiations UV active la production de lipides. La lumière UV a élevé jusqu'à 19.84 % la teneur en lipides (**Adarme-Vega, 2014**).

Tableau. I.6-Contenu lipidique de diverses espèces (Cadoret, 2008)

Nom de l'espèce	Contenu maximum en lipides (% poids sec)
Botryococcusbraunii	29-75
Chlorelle protoothecoides	15-55
Cyclotella DI-35	42
Hantzschia DI-160	66
Isophyses sp	7-33
Nannochloris	6-63
Nannochloropsis	31-68
Neochlorisoleoa bundans	35-54
Nitzschiasp	45-50
Phaeodactylumtricornutum	31
Scenedesmus	45
Stichococcus	9-59
Tetraselmis suecica	15-32

I.2.5..2. Les protéines

Les micro-algues produisent une quantité non négligeable de protéines à hauteur de 6 à 71 % de leur masse sèche en fonction des espèces (Becker, 2007). À titre d'exemple, *Chlorelle vulgaris* accumule jusqu'à 46 % de protéines et *Arthrospira platensis* 70 % (Pignolet et al.2013).

La production de protéines par les micro-algues diminue logiquement lors de carences en azote. Elle est maximale lorsque les micro-algues sont en phase exponentielle de croissance.

Aujourd'hui les efforts se tournent vers le potentiel génétique impressionnant des micro-algues d'une part, et les activités spécifiques des protéines de micro-algues d'autre part. Certaines biomasses algales sont cependant déjà utilisées comme compléments dans l'alimentation humaine et animale (aquaculture) en raison de leur haute teneur en protéines (Harun, 2010).

I.2.5. 3. Les pigments et les antioxydants

Les micro-algues produisent des pigments qui sont indispensables à la photosynthèse.

Les pigments sont des molécules complexes qui ont la capacité de changer la couleur de la lumière réfléchiée ou transmise en fonction de l'absorption de longueurs d'onde spécifiques.

Les micro-algues eucaryotes *Chlorella vulgarisa*, *Dunaliellasalina*, *Haematococcus* pluviales sont des organismes producteurs de pigments (**Pignolet et al.2013**).

Les pigments tels que les caroténoïdes (orange-rose) et les phycoérythrine (rouge) sont utilisés comme colorants en cosmétique et en industries agroalimentaires (**Rebeloso fuentes et al.2000**). Les pigments ont aussi des activités biologiques. Par exemple la chlorophylle, qui est un agent chélateur, peut être utilisée dans le traitement des ulcères pour la régénération des tissus du foie (**Harun, 2010**).

À la fin du XVIIIe siècle, Robert Koch fut l'un des premiers scientifiques à se concentrer sur l'isolement des micro-organismes en culture pure, suivi de Sergei Winogradsky qui initia le domaine de la microbiologie et fut responsable du premier isolement des micro-organismes. La culture unialgal signifie qu'elle ne contient qu'un seul type d'algue, généralement une population clonale, ou les cultures peuvent être «axéniques», ce qui signifie qu'elles ne contiennent qu'une seule algue. Il existe quatre techniques principales pour obtenir des isolats unialgal: la pulvérisation, les stries, la dilution en série et les isollements monocellulaires (**Stein. han book of phycologique méthodes.; 1973**)

La pulvérisation et les stries sont utiles pour les algues unicellulaires, coloniales ou filamenteuses qui poussent sur une surface de gélose; des cultures de certains flagellés peuvent également être fondées par ces méthodes. Un grand nombre de flagellés et en plus d'autres formes d'algues, doivent être séparés par des isollements d'un seul organisme ou des procédures de dilution en série. Procédure de pulvérisation, un courant d'air est utilisé pour diffuser des cellules d'algues à partir d'un mélange sur la surface d'une plaque de Pétri ayant un milieu solidifié avec de la gélose pour la croissance.

Séparation monocellulaire / filament / colonie: la première étape de ce processus est de préparer un comptage de «micropipettes» (à pointe très fine) à partir de pipettes Pasteur en verre. Tenez une pipette à deux mains; l'extrémité de la pointe est attrapée avec une pince de sorte que le verre près de la pointe se trouve dans la flamme d'un bec Bunsen (flamme à gaz). La pipette n'est maintenue dans la flamme que jusqu'à ce que le verre devienne légèrement mou. Ceci est déterminé en testant la flexibilité en déplaçant la pointe

avec la pince. Ensuite, la pipette est retirée de la flamme et tirée tout droit ou en biais pour qu'il y ait un coude.

I.2.6. Sélection des espèces d'algues d'intérêt énergétiques

La préférence pour les micro-algues est due en grande partie à sa structure moins complexe, à sa vitesse de croissance rapide et à sa teneur élevée en huile (pour certaines espèces). Ces caractéristiques de la souche doivent être prises en considération. Il existe plus de 100 000 types d'algues, avec des ratios variables de trois principaux types de molécules: les protéines, les huiles et les glucides. Les types d'algues riches en glucides en plus des huiles créent des amidons qui peuvent être libérés puis fermentés en éthanol; les protéines résiduelles peuvent être converties en céréales animales (Ullah K, et al 2014). La recherche sur les algues pour la production de masse d'huile est principalement axée sur les micro-organismes capables de photosynthèse de moins de 0,4 mm de diamètre, y compris les diatomées et les cyanobactéries; par opposition aux macro-algues (By Abd Allatif mohamed hussain 2018)

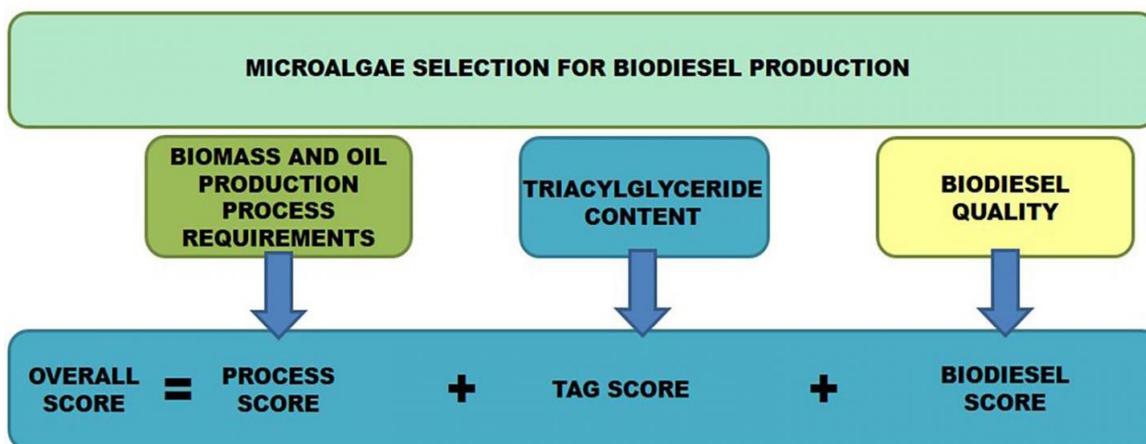


Figure .I.13 : Diagramme schématisant le processus permettant d'obtenir le score global pour l'évaluation des espèces de micro-algues pour la production de biodiesel. (L Martín,et .al 2020).

Tableau. I.7- les teneurs en huile de différentes espèces de micro-algues (**Suphi S. 2013**)

Micro-algues	Oils content (% dry wt)
<i>B. atropococcus brau kutzingeri</i> 1849	25- 75
<i>Chlorella</i> sp. Beyerinck (<i>B. eijerinckii</i>) 1890	28- 32
<i>Cryptocodinium cohnii</i> (S. eligo) Javornicky 1962	20
<i>Cylindrotheca</i> sp. (Ehrenberg) Riemann&J. Clew in 1964	16- 37
<i>Dunaliella primolecta</i> Butcher 1959	23
<i>Isochrysis</i> sp. Parke 1949	25- 33
<i>Nannochloropsis</i> sp. D.J.Hibber, 1981	31- 68
<i>Nannochloris oculata</i> Droop 1955	20- 35
<i>Nannochloris</i> sp. Naumann 1919	35- 54
<i>Nitzschia</i> sp. Husted 1954	45- 47
<i>Phaeodocylum tricornutum</i> Bohlin 1898	20- 30
<i>Schizochytrium</i> sp. Goldstein & Belsky, 1964	50- 77
<i>Terrace Imis suecica</i> (kylin) Butcher 1959	15- 23

I.3. L'extraction des huiles algales

I.3.1 L'extraction des huiles algales (Anastasia Wolff, Lydia Richez)

I.3.1.1. Séchage

Après récolte et concentration, les micro-algues forment une sorte de pâte humide. Avant l'extraction, il est nécessaire de rajouter une étape de séchage afin de concentrer davantage. Toutefois, l'étape de séchage peut être fortement énergivore.

Il existe plusieurs procédés de séchage : le séchage solaire, le séchage en sécheur convectif ou conductif, le séchage par atomisation, le séchage par lyophilisation, le séchage par DIC (Détente Instantanée Contrôlée).

I.3.1.2. Broyage

Le broyage est la dernière phase avant extraction. Il consiste à augmenter le contact entre le solvant et la molécule cible. Il existe deux types de broyages :

1. Un broyage mécanique efficace qui peut supprimer le besoin d'utiliser des procédés à températures et pressions élevées, permettant au solvant d'entrer directement en contact avec les molécules cibles. Il existe plusieurs technologies de broyage mécanique : l'homogénéisation de cellules, le broyage à billes, les ultrasons, et l'autoclavage.

2. Les méthodes non mécaniques incluent des procédés tels que la congélation/décongélation, l'utilisation de solvants organiques, les chocs osmotiques et les réactions acido-basiques ou les lyses enzymatiques.

I.3.1.3. Homogénéisation à haute pression

L'homogénéisation à haute pression (HHP) est un procédé utilisé dans l'industrie de l'alimentation et de la pharmaceutique pour la rupture de cellules. L'homogénéisateur est formé d'une pompe qui force la suspension de cellules à passer par le centre du siège et puis radialement à travers les fentes de la valve. Les nombreuses forces d'accélération, de collision et de dépressurisation contribuent au bris de la cellule. Son grand avantage est d'être applicable à l'échelle industrielle. La méthode d'HHP présente toutefois certaines restrictions, dont l'augmentation de la température et la nécessité dans certains cas de faire de multiples passages pour obtenir le pourcentage de bris voulu. Les lipides libérés sont récupérés à partir de l'émulsion par une inversion de phase avec de l'huile chaude et l'utilisation de la centrifugation triphasique.

I.3.1.4. Homogénéisation à billes

La technique d'homogénéisation à billes (HB) est une technique mécanique, simple et efficace.

Les deux techniques (HHP et HB) sont les plus utilisées à l'heure actuelle et à l'échelle industrielle pour les micro-algues, elles sont peu coûteuses contrairement à la lyse enzymatique. Cependant, elles sont limitées par l'augmentation de la température et génèrent des débris cellulaires.

I.3.1.5. Homogénéisation à billes

Des cellulases sont utilisées pour digérer la cellulose qui est un constituant majeur de la paroi cellulaire et un polymère non ramifié de glucose. La digestion de cette cellulose a pour effet d'affaiblir la structure cellulaire et d'augmenter l'efficacité du bris cellulaire (>80%).

I.3.1.6. Les ultrasons et micro-ondes

L'utilisation d'un réacteur ultrasonique permet d'améliorer le rendement et le temps de l'extraction.

Les ultrasons émis vont former des bulles dans le solvant, qui vont éclater contre les micro-algues et optimiser ainsi l'extraction des lipides. Les ultrasons sont plus couramment utilisés en association avec les techniques d'extraction au solvant ou enzymatique pour en augmenter l'efficacité.

La technique de micro-ondes (à environ 100°C et 2450 MHz durant 5 minutes) est également une méthode physique utilisée pour augmenter l'efficacité de l'extraction au solvant. Elle s'est avérée être la plus applicable pour la rupture d'un volume important de biomasse micro-algale, donc applicable à l'échelle industrielle.

I.3.2. Les différentes types d'extraction des huiles algales

Il existe plusieurs techniques permettant l'extraction des huiles de micro-algues. Ces techniques peuvent être dites conventionnelles (utilisées depuis longtemps) et nouvelles (développées plus récemment). Les procédés de l'extraction nécessitent de l'énergie et possèdent des rendements différents. Dans le but d'obtenir quasiment 100% de rendement, une combinaison des techniques peut être utilisée.

I.3.2.1. Technique d'extraction conventionnelle

Parmi les techniques conventionnelles, on trouve l'extraction par Soxhlet, l'extraction en mode batch et l'extraction assistée par sonication.

I.3.2.1.1. L'extraction par Soxhlet

Le Soxhlet est une méthode classique pour l'extraction solide-liquide. Les avantages du Soxhlet sont les suivants : l'échantillon entre rapidement en contact avec une portion fraîche de solvant, ce qui aide à déplacer l'équilibre de transfert vers le solvant. Cette méthode ne nécessite pas de filtration après extraction. Le Soxhlet est indépendant de la matrice végétale.

I.3.2.1.2. L'extraction en mode batch

L'avantage majeur de l'extraction en mode batch par agitation devant le Soxhlet est la possibilité de travailler facilement avec des mélanges de solvants (par exemple diverses proportions alcool-eau) et de contrôler la température d'extraction, en évitant le risque de destruction des composés thermolabiles. C'est une méthode simple et efficace mais qui exige des procédures postérieures de filtration et de concentration relativement longues.

I.3.2.1.3. L'extraction par sonication

L'extraction par sonication est une méthode simple, efficace et peu coûteuse. Ses avantages les plus significatifs sont liés à l'augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique par rapport à une extraction classique. Elle permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés. Cette technique est facile à mettre en œuvre. Comme le Soxhlet, l'extraction par sonication permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels.

I.3.2.2. La technique d'extraction nouvelle

I.3.2.2.1. L'extraction assistée par les micro-ondes

L'extraction assistée par micro-onde est également une alternative aux méthodes d'extraction conventionnelles. Elle utilise de plus petites quantités de solvant, n'est pas couteuse et est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants. Les autres inconvénients de cette technique sont d'une part le rendement faible lorsque les solutés ou les solvants sont apolaires et d'autre part le besoin de l'étape postérieure de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait.

I.3.2.2.2. L'extraction accélérée par solvants (Accelerated Solvent Extraction)

L'extraction accélérée par solvants (Accelerated Solvent Extraction – ASE) est une technique brevetée de la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50 – 200 °C) et des pressions 100 – 150 bar) élevées. La pression est maintenue assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée.

Pendant l'ASE, le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques.

Les avantages de cette technique devant les techniques conventionnelles sont les suivants : ils empêchent les échauffements locaux et la quantité des solvants utilisées est petites en comparaison à l'extraction par Soxhlet.

I.3.2.2.3. Extraction par solvants organiques

Le solvant organique est choisi en fonction de sa polarité et de son affinité avec les molécules d'intérêt à extraire. Parmi eux l'hexane est le plus couramment utilisé, mais aussi le chloroforme, l'éthanol, l'isopropanol, le butanol, les cétones, les esters (**Kerlero de Rosbo, 2014**). Dans certains cas, le fait d'associer plusieurs solvants permet d'améliorer la capacité d'extraction et d'améliorer la sélectivité. Il est possible d'obtenir jusqu'à 98% d'extraction des acides gras purifiés.

I.3.2.2.4. Extraction à l'eau sub-critique

L'un des aspects les plus attrayants dans le cas des algues est l'utilisation de l'eau comme solvant d'extraction. Elle permet alors de s'affranchir du besoin de l'étape de séchage ou de déshydratation (**Vian, tanzi, chemat.2013**)

Ce procédé est basé sur l'utilisation de l'eau à des températures juste en dessous de la température critique (température maximale supportée par l'eau en phase liquide), et à une pression suffisamment élevée pour maintenir l'eau dans cet état liquide (Tc=373°C et Pc=221 bars).

L'intérêt de cette extraction est que l'eau, dans ces conditions, devient moins polaire et les composés organiques plus solubles qu'à température ambiante. De plus, les temps d'extraction sont plus courts et il donne des extraits d'une qualité supérieure, des coûts moindres en agents extractants et une bonne compatibilité environnementale (absence de solvants).

Cependant, une contrainte majeure est la difficulté à extrapoler le système à grande échelle. Par ailleurs, une charge importante en énergie est nécessaire pour chauffer le système jusqu'aux températures sub-critiques.

I.3.2.2.5. Extraction avec des fluides supercritiques

L'extraction par fluide supercritique utilise le pouvoir renforcé de solvation des fluides au-dessus de leur point critique. L'extraction par fluide supercritique est le plus souvent employée en mode discontinu, mais le procédé existe aussi en mode continu (Vian, Tanzi, Chemat. 2013).

L'un des points les plus attractifs de l'extraction par fluide supercritique est qu'une fois la réaction d'extraction faite et les matériaux d'extraction dissous dans le fluide supercritique, le solvant et le produit peuvent être facilement séparés en aval une fois la température et la pression revenues aux conditions atmosphériques. Dans ce cas, le fluide retourne à son état gazeux original pendant que les produits extraits restent dans un état liquide ou solide (Kerlero de Rosbo, 2014).

Les fluides utilisés peuvent inclure des solvants comme l'éthane, l'hexane, l'eau, le méthanol, l'oxyde nitreux, l'hexafluorure de soufre, aussi bien que le n-butane et le pentane.

Le traitement supercritique est capable de simultanément extraire et convertir des huiles en biocarburants. Cette technique a été démontrée comme étant extrêmement puissante dans l'extraction d'autres composés présents dans les algues.

Les fluides supercritiques sont sélectifs, offrant ainsi une grande pureté et concentration du produit. En outre, il n'y a pas de résidus de solvants organiques dans l'extrait ou dans la biomasse traitée.

I.3.2.2.6. Extraction au CO₂ supercritique

L'état supercritique confère au dioxyde de carbone un excellent pouvoir d'extraction. Il s'agit d'un CO₂ stabilisé au-dessus de son point critique, caractérisé par sa température et sa pression critique, c'est-à-dire au-dessus de 31,1°C et de 74 bars.

Il s'agit d'un état intermédiaire entre le liquide et le gaz. Le dioxyde de carbone présente la caractéristique d'être un bon solvant à l'état supercritique, et un mauvais solvant à l'état gazeux. Les avantages de ce procédé sont les suivants :

1. le dioxyde de carbone est totalement inerte chimiquement ; il est naturel donc peu d'impact pour l'environnement. Il est non toxique, peu coûteux et utilisable à l'infini.
2. la température abordable et la stabilité permettent d'assurer la qualité du produit
3. en fin de cycle, la séparation entre le solvant d'extraction et le soluté pour obtenir l'extrait est facile (simple détente qui ramène le dioxyde de carbone à l'état gazeux), avec une récupération quasi-totale de tous les composants.

L'extraction au CO₂ supercritique est assez intéressante mais elle nécessite un séchage préalable. De plus, à l'échelle industrielle, il y a de nombreux progrès à faire pour améliorer la rentabilité économique (**Petko Ivanov PENCHEV.2010**).

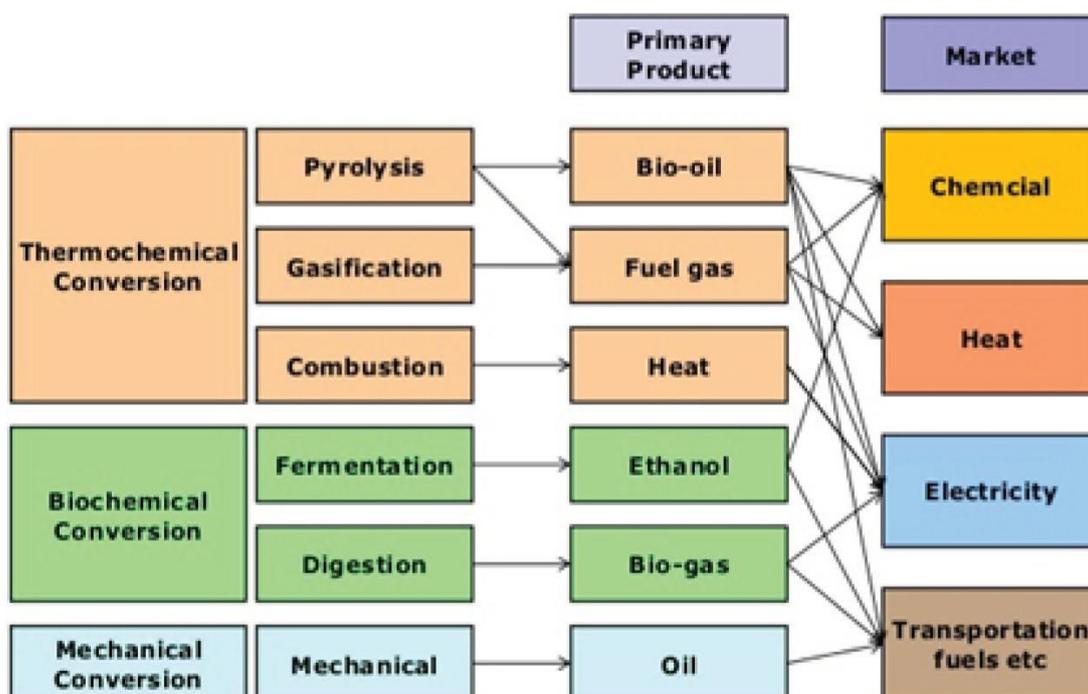


Figure I.14 : Processus et produit de conversion de la biomasse.

I.4. L'extraction physicochimique

Certaines techniques physico-chimiques comme les micro-ondes, l'autoclavage, le choc osmotique, l'homogénéisation, la lyophilisation, la presse française, le broyage et la sonication peuvent être utilisées pour récupérer les lipides des micro-algues (Cooney, et al., 2009, Lee et al., 2010, Lee et al., 1998). L'utilisation de micro-ondes ou de perles semble être des techniques prometteuses pour accroître le rendement en lipides. Par exemple, (Lee et al. 2010) ont augmenté le rendement de

l'extraction des lipides des micro-algues *Botryococcus* sp. en phase aqueuse de 8,8 à 28,6% (g de lipides / g de matière sèche) en changeant le procédé à ultrasons par celui à micro-ondes.

I.5. L'extraction biochimique

Peu d'études ont utilisées l'extraction biochimique pour extraire les lipides de micro-algues. Lors de l'utilisation d'un traitement de pré-hydrolyse avec la cellulase de la micro-algue *Chlorella* sp. pendant 72 h, Fu et al., (2010) ont obtenu un rendement en hydrolyse en cellulose maximum de 70% (concentration totale en sucres réducteurs), bien que le rendement des lipides ait augmenté seulement de 52 à 54% (g de lipides / g de matière sèche).

I.6. 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 (**Fernando et al.,2007 ; Knothe et al.,2005**).

Le Tableau 7 présente les principales propriétés physicochimiques du biodiesel issu des lipides de micro-algues comparées au diesel et au biodiesel de 1^{ère} génération.

I.6.1. La viscosité

Comme l'indice de cétane, la viscosité augmente avec le nombre de carbone et diminue avec le degré d'insaturation (Knothe, 2005b). Une plus grande viscosité cinématique créerait des problèmes comme des dépôts dans le moteur, (Knothe, 2005a). La transestérification favorise donc une diminution de la viscosité de l'huile à des valeurs généralement comprises entre 4 à 6 mm/s (National Renewable Energy Laboratory, 2009).

I.6.2. 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 (Knothe, 2005a). En utilisant des lipides extraits de micro-algues hétérotrophes, en présence de H₂SO₄ 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).

I.6.3. Le point trouble et le point d'écoulement

Les propriétés d'écoulement à froid sont des paramètres importants tors 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 ($d > 0,5 \text{ pm}$) dans le biodiesel à une limite de température appelée point trouble (Knothe, 2005). La température du point trouble diminue avec la fraction molaire de composés non saturés et augmente légèrement avec la longueur de la chaîne carbonée (**Imahara et al, 2006**). 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 (National Renewable Energy Laboratory, 2009). 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.

I.6.4. 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 (Hart Energy Consulting, 2007). 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 (**Stansell et al., 2011**), tandis que l'indice de cétane du carburant pétro-diesel se situe entre 47 et 51 (**norme ASTM D6751-10, 2010; Knothe, 2006**).

I.6.5. 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 (**Knothe, 2005**). L'oxydation du biodiesel augmente en fonction du degré d'instauration (**Hart Energy Consulting, 2007**). La stabilité à l'oxydation des lipides de micro-algues est un réel problème (**Stansell et al., 2011**) qui peut être surmonté par

l'ajout d'antioxydants si le mélange de biodiesel est stocké plus de quelques mois (**National Renewable Energy Laboratory, 2009**).

I.6.6. 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» (**Chevron Corporation, 2007, Shumacher, 2005**). La lubricité du diesel est influencée par sa viscosité, son acidité, sa teneur en eau et les composés soufrés (**Seregin et al., 1975**). 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 (**Knothe, 2005**). Par conséquent, un avantage de l'ajout de biodiesel ayant une faible teneur en soufre dans du pétro-diesel conventionnel est d'améliorer sa lubrification (**Munoze/ al., 2011**).

I.6.7. Les normes de spécifications

Les normes européenne (EN 14214) et américaine (ASTM D6751-10) diffèrent sur certains niveaux pour le biodiesel. Par exemple, la norme EN 14214 stipule que, la teneur en esters polyinsaturés (> 4 liaisons) et la teneur en esters linoléiques doivent être inférieures à 1% (mol / mol) et à 12% (mol / mol) respectivement (**Knothe, 2010**). Ces restrictions sont importantes pour la production de biodiesel par les micro-algues puisque la composition d'esters est souvent riche en composés polyinsaturés et est donc supérieure à ces niveaux (**Johnson et Wen, 2009, Koberg et al., 2011**). Certains autres paramètres de la norme EN 14214 ne sont pas présents dans la norme ASTM D6751-10 comme la teneur en esters, la densité, l'indice d'iode et la contamination de l'acide gras.

La norme EN 14214 est plus restrictive pour le biodiesel de micro-algues, en l'occurrence pour l'indice de cétane qui doit être plus élevé (51 versus 47), la viscosité maximale plus faible (5 versus 6 mm/ s) et la stabilité oxydative plus élevée (6 versus 3 h). Par conséquent, la norme ASTM D6751 semble être plus adaptée à du biodiesel produit à partir de micro-algues.

Malgré le fait que de nombreuses études aient été effectuées sur le biodiesel produit à partir de micro-algues, peu d'entre elles s'assurent que celui-ci réponde aux normes officielles (**Johnson et Wen, 2009, Mia et Wu, 2006**). En produisant du biodiesel à partir de *Schizochytrium limacinum*, (**Johnson et Wen, (2009)**) ont rapporté un biodiesel qui ne satisfait pas les «grades» S15 de la norme ASTM, en l'occurrence les teneurs en sédiments qui sont de 0,1% (v / v) (maximum 0,05% (v / v)), en soufre de 69 ppm

(maximum 15 ppm). Cependant, ce biodiesel répond à la norme ASTM en terme d'indice d'acide (0,11 mg de KOH/g, maximum 0,5 mg KOH/g), de la glycérine libre (0,003% m/m, maximum 0,020% m/m), de la glycérine totale (0,097% m/m, maximum 0,240 % m/m), de la viscosité cinématique (40°C) (3,87 mm/s (entre 1,9 à 6,0 mm/s)) et le point éclair (93 °C, maximum 204°C). Dans une étude menée par Mia et Wu, 2006, le biodiesel obtenu répond à la catégorie S15 de la norme ASTM pour le point éclair (115°C), la viscosité (5,2 mm/s, 40°C) et l'indice d'acide (0,374 mg de KOH/g).

Cependant, en se basant sur notre connaissance actuelle de la littérature, la teneur en méthanol (EN 14110), les cendres sulfatées (D874), le point de trouble (D2500), la teneur en phosphore (D4951), la température de distillation (D1160), le sodium et le potassium (EN 14538), la stabilité oxydative (EN 15751) n'ont pas été mesurés pour le biodiesel issu de micro-algues.

Matériels et méthodes

INTRODUCTION:

Vue la difficulté de la culture des micro-algues et pour assurer la biomasse nécessaire plusieurs sites humides et susceptibles d'être un écosystème favorable aux micro-algues on été investigués pour la recherche des biomasses utilisée dans cette étude (**Fig. II.1**) a savoir: le lagon de kossen et Bozen, les bassins d'eau de palmier de Kssar Temssakht et Kessar Temmallet Daira de Fonoughill willaya D'Adrar (**Fig. II.1**).



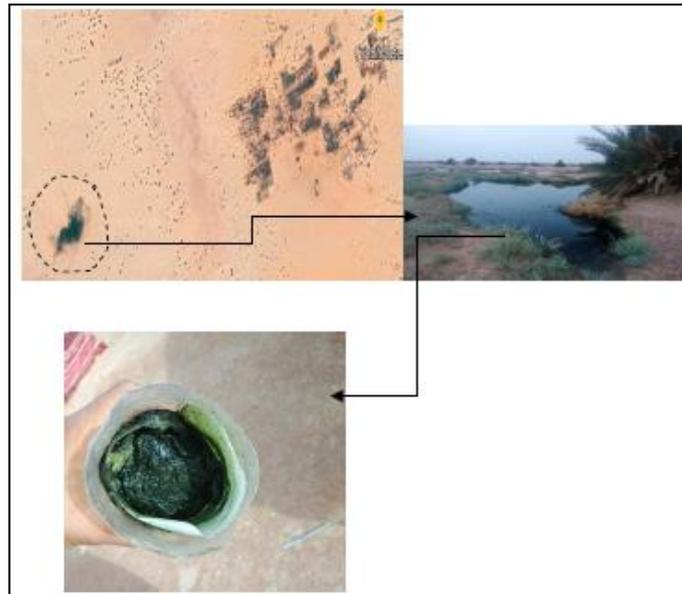


Figure II.1: les sites de la récolte de biomasse

II.1 Matières premières

Une partie de la matière première (biomasse d'algue) utilisée dans cette étude a été recueillir de plusieurs sites de la région d'Adrar et ses environs à savoir:

- ✚ Des bassins d'eau d'irrigation des palmiers dans la région;
- ✚ Des lagons des eaux usées de la localité de koussan et bouzan (Algues et des micro-algues sauvages);
- ✚ Des lagons des eaux usées de la commune de Kssar Temssakht et Kessar Temmallet Daira (Algues et des micro-algues sauvages);
- ✚ Après la filtration, le séchage dans le soleil et le séchage à l'étuve ce biomasse sauvage à été broyé, tamisé et utilisé pour l'optimisation du protocole expérimental de l'extraction des huiles et la séparation de biodiesel du huile gras;
- ✚ Une autre partie de la matière première (biomasse des micro-algues) utilisée pour la fabrication du biodiesel provient de chez Dr. Dehmani Sihame (département des hydrocarbures et énergies renouvelables);

Travaux de terrain

II.2. Analyse qualitative des micro-algues

II.2.1. Prélèvement pour l'analyse qualitative des micro-algues

II.2.1.1. Matériels

Les matériels utilisés sont :

1. filtre à plancton confectionné à l'aide de tissus en soie de maille très fine (d'environ 25 μ m) et en forme de cône dont l'ouverture de 10 cm de diamètre est maintenue par un cercle rigide. Au bout du filet est fixé un collecteur de 250mL. Un polystyrène est attaché au filet à plancton pour qu'il ne puisse pas immerger dans l'eau. Trois fils relient le filet à une ficelle d'une dizaine de mètres destinée à tirer le filet dans l'eau.

2-un tamis à maille fine (d'environ 200 μ m) pour retenir les débris solides et les éléments indésirables.

3- Flacon d'échantillonnage pour conserver les micro-algues avant toutes observations au microscope au laboratoire.

Travaux de laboratoire

II.2.2. Observation microscopique

II.2.2.1. Matériel

Observation sous un microscope ordinaire dont les objectifs suivants sont en général utilisés : 10, 40 , 60 ainsi que deux jeux d'oculaires (X 8 et X 12,5).

II.2.2.2. Mode opératoire

Les micro-algues recueillies vivantes ou fixées seront observées sous microscope sur des préparations extemporanées humides.

L'échantillon est agité pour que la concentration dans le flacon soit homogène puis deux gouttes de l'échantillon (soit 0,1 ml) sont prélevées à l'aide d'une pipette et montées entre lame et lamelle sans luter. Une fois la préparation montée au microscope, on procède à l'observation, l'inventaire et la détermination des micro-algues.



Figure. II.2: microscope optique utilisé pour l'identification des micro-algues (type Holland).

II.2. Les étapes antérieures à l'extraction

II.2.1. Collecte ou prélèvement des matières premières

Le prélèvement de matériels biologiques pour l'extraction est différent de celui pour l'inventaire. De ce fait, le filet à plancton comme précédemment n'a pas utilisé mais du filtre de deux tamis confectionnés.

II.2.1.1. la filtration

Le principe est basé sur une technique de séparation des particules solides de différentes tailles, qui sont dispersées dans un liquide. La différence de pression force le liquide à passer à travers le filtre alors que les particules solides restent à la surface.

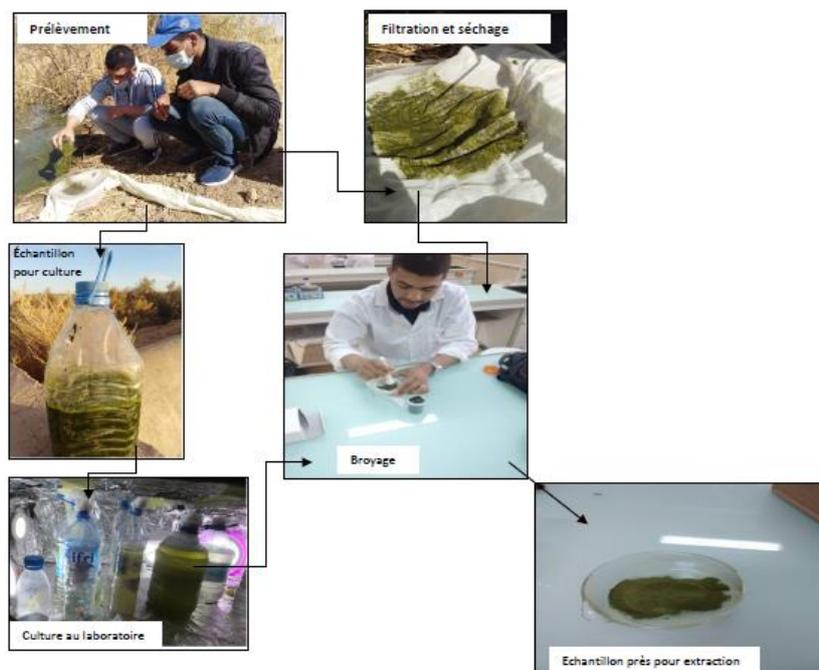


Figure. II.3: les étapes de préparation des la biomasse micro-Algale

II.2.1.2. Matériels

Les matériels utilisés sont :

1. Filtre de deux tamis confectionné
2. Seau
3. Spatule

II.2.1.3. Mode opératoire

A l'aide d'un seau de 5 litres, l'eau sont puisées dans le marais ou le lac, puis renversées dans le filtre de deux tamis dont la maille est très inférieure au taille de micro-algues afin de les retenir et de diminuer la teneur en eau.

Quand le filtre est colmaté, le filtrat est gratté à l'aide d'une spatule. La pâte obtenue est ensuite versée dans un récipient étiqueté (**Fig. II.3**).

II.2.1.4. Préparation de la poudre de micro-algues

Après avoir extrait la biomasse d'algues de l'eau, nous l'avons exposée au soleil pendant plusieurs jours, puis l'avons placé dans le four pendant 24 heures pour terminer le processus de séchage a une température d'environ 75-80°C, une fois la phase de séchage terminée, nous avons effectué le processus de broyage et nous avons obtenu une quantité estimée de 12,3g de poudre d'algues et 250g de micro-Algues (**Fig. II.3**).

II.3. Matériels de laboratoire

Pour la réalisation de protocole expérimental de notre étude on a utilisé le matériel de laboratoire suivant: Appareil Soxhlet, Becher, papier filtre, solvant d'extraction (d'hexane, méthanol chloroforme) évaporateur rotatif.

II. 4. Les méthodes d'extraction choisies dans notre étude

II.4.1. Le protocole expérimental choisi

Les protocoles expérimentaux utilisés dans cette étude ont été synthétisés d'un examen complet des diverses méthodes d'extraction des lipides est fourni par Kumar et al. (2015), où ils ont discuté de toutes sortes de procédés d'extraction de lipides, tels que les procédés d'extraction par solvant, les procédés mécaniques et les procédés d'extraction sans solvant. (**Kumar, et al 2014**)

La première méthode réalisée pour la fabrication d'un biocarburant des biomasses micro-algues se subdivise en trois étapes :

II.4.2. Extraite à l'aide de Soxhlet

Après avoir installé l'appareil Soxhlet et préparé ses accessoires, nous avons mis la poudre de biomasse d'algues dans le papier filtre et l'avons mis en extraction dans la chambre pour l'appareil Soxhlet, puis nous avons également apporté une quantité de solvant hexane estimée à 350 ml et l'avons mise dans la boule de l'appareil, puis après avoir allumé l'appareil pour démarrer le processus d'extraction

II.4.2.1. L'extracteur Soxhlet

L'extracteur Soxhlet est un appareil de laboratoire inventé par Franz Von Soxhlet., 1879. En extrayant des lipides. Habituellement, un Soxhlet n'est requis que lorsque le composé souhaité est limité en solubilité dans le solvant et que les impuretés sont insolubles dans ce solvant. Si le composé requis a une solubilité élevée dans le solvant, une simple filtration peut être utilisée pour séparer le composé des matières insolubles.

II.4.2.2. Les composants de l'appareil Soxhlet extraction

- 1: Barre d'agitation
- 2: Récipient fixe: Le récipient fixe ne doit pas être trop rempli et le volume de solvant qu'il contient doit être environ 3 ou 4 fois le volume de la chambre du dispositif Soxhlet.
- 3: Chemin de distillation
- 4: Tube
- 5: Solide
- 6: Dessus du siphon
- 7: Sortie du siphon
- 8: Joint de dilatation
- 9: Condenseur
- 10: Entrée d'eau de refroidissement

11: Sortie d'eau de refroidissement

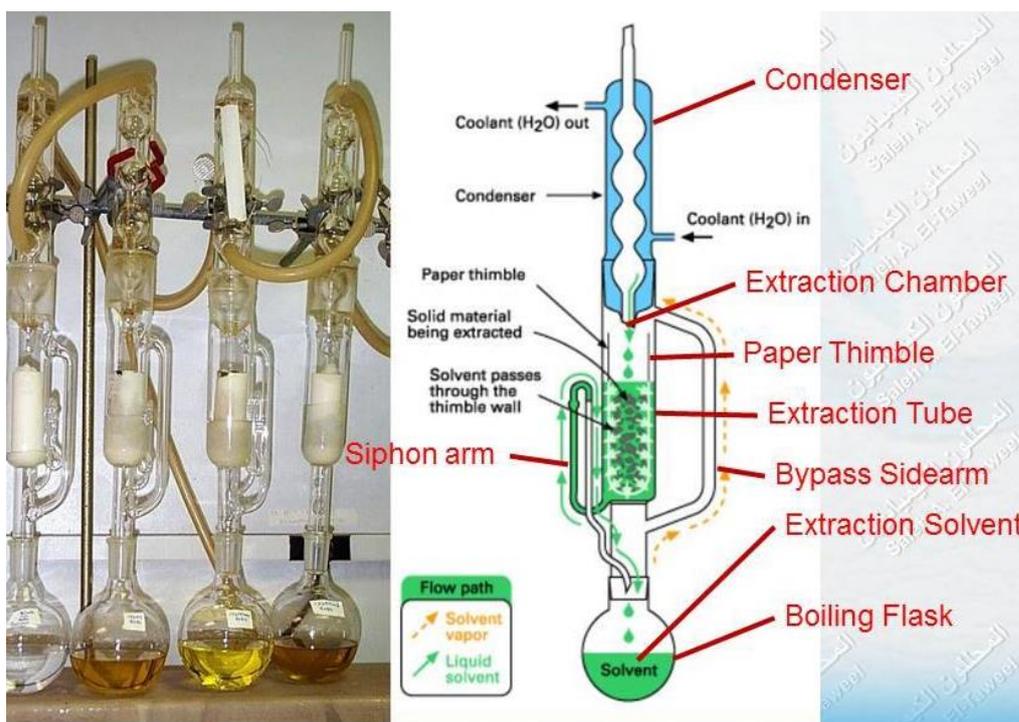


Figure. II.4: composants et principe de fonctionnement de l'appareil

II.4.2.3. Le principe de fonctionnement de l'appareil Soxhlet

Nous mettons du matériau d'algues, qui est la substance contenant le composé souhaité, à l'intérieur d'un tube en papier filtre épais, qui est placé dans la pièce principale de l'appareil Soxhlet. L'appareil Soxhlet est installé dans un ballon contenant le solvant d'extraction. Ensuite, le condensateur est installé.

Le solvant hexane est chauffé pour se dissoudre à nouveau. La vapeur du solvant hexane se déplace dans un bras de distillation, puis s'écoule vers la chambre contenant les algues à extraire. Le condenseur assure le refroidissement de toute vapeur de solvant qui s'égoutte sur la chambre contenant les algues.

La chambre contenant les algues a été lentement remplie du solvant chaud. Cela provoquera la dissolution d'une partie de la substance désirée dans le solvant chaud. Lorsque la chambre de Soxhlet est presque pleine, la chambre est vidée automatiquement par un bras de siphon latéral et l'hexane est renvoyé dans le ballon de distillation. Vous pouvez laisser ce cycle se répéter plusieurs fois, laissant des heures ou des jours.

Au cours de chaque cycle, une partie du composé non volatil se dissout dans le solvant. Après plusieurs cycles, le composé est concentré dans le ballon de distillation. L'avantage de ce système est qu'au lieu de faire passer plusieurs parties du solvant chaud à travers l'échantillon, une quantité fixe du solvant est utilisée pour être recyclée.

II.4.3. Evaporation

Une fois la phase d'extraction terminée, qui a duré environ 12 heures, nous avons extrait l'extrait et l'avons transféré dans un évaporateur rotatif dans lequel l'hexane a été séparé en l'huile et les graisses extraites. Pour compléter ce procédé, nous imposons une basse température d'évaporation à l'hexane afin de préserver la nature chimique de l'huile et pour cela nous imposons une basse pression.

II.4.3.1. Evaporateur Rotatif

L'évaporateur rotatif (ou rotavap, ou rotavapor) est un appareil utilisé en chimie afin de distiller rapidement des solvants, dans le but de concentrer partiellement une solution ou pour concentrer à sec (on enlève tout le solvant) une solution ou une suspension. Le principe de cet appareil est basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, bien que partiellement. La solution est mise en rotation dans un ballon adapté pour éviter des bulles d'ébullition trop grosses ou mousseuses, pour augmenter la surface en contact avec l'air ainsi que pour éviter l'aspiration de la solution lors de la baisse de pression (grâce à la force centrifuge qui la plaque contre les parois du ballon). Ensuite, la pression est diminuée grâce, généralement, à une trompe à eau ou à une pompe à vide (pour des solvants à haut point d'ébullition comme le DMF et le DMSO) et la solution est chauffée -en fonction du solvant à éliminer- pour compenser le caractère endothermique de la réaction.

L'évaporateur rotatif est typiquement un appareil de laboratoire.

Il est constitué de différentes parties:

- Un bain-marie d'eau afin de chauffer la solution à concentrer
- Un ballon dont la forme est adapté.
- Un réfrigérant qui condense les gaz
- Un ballon réceptacle dans lequel les gaz condensés sont recueillis.

- Un dispositif qui fait tourner le ballon suivant son axe de symétrie afin de permettre une homogénéisation du milieu et une évaporation tranquille.

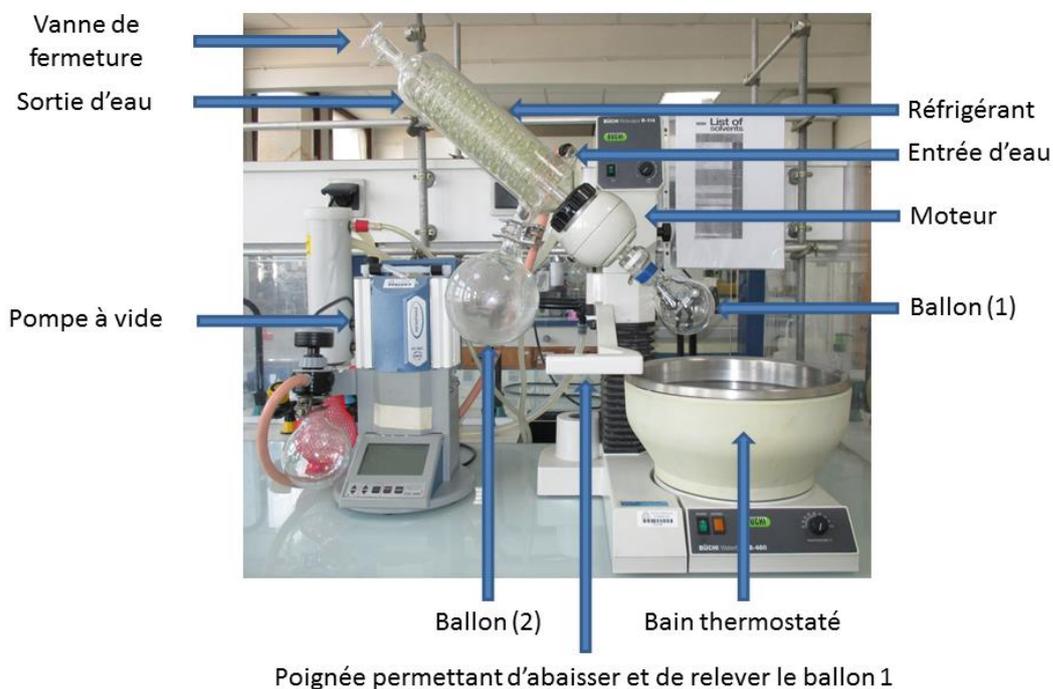


Figure II.5: évaporateur rotatif (Clément de Mecquenem & al.2018)

II.4.3.2. L'extraction d'huile de micro-algues

L'extraction a été faite par un Soxhlet d'une capacité de 250 ml ; la durée d'extraction est de 16 heures ; le solvant utilisé est l'hexane (**fig. II.6**).

La séparation de la matière grasse et de l'hexane est assurée par un Rota vapeur (**Fig. II.5**).



Figure II.6: appareil en cours de l'extraction

II.4.3.3 Protocole de synthèse de biodiesel

La synthèse de biodiesel comporte les étapes suivantes:

II.4.4. Transestérification des huiles extraites

Les huiles extraites sont transestérifiées avec du méthanol (MeOH) en milieu acide (solution de 4% H_2SO_4 / MeOH (v/v)). Une masse approximative comprise entre 0.200 et 0.300g de lipides extraits de micro-algues est placée dans un ballon de 15mL.

Puis 4 ml de la solution H_2SO_4 /MeOH et 1 ml d'hexane sont ajoutés. Sous agitation magnétique, le mélange est chauffé à différentes températures ($68^\circ C$) pour (30min) (fig. II.7).

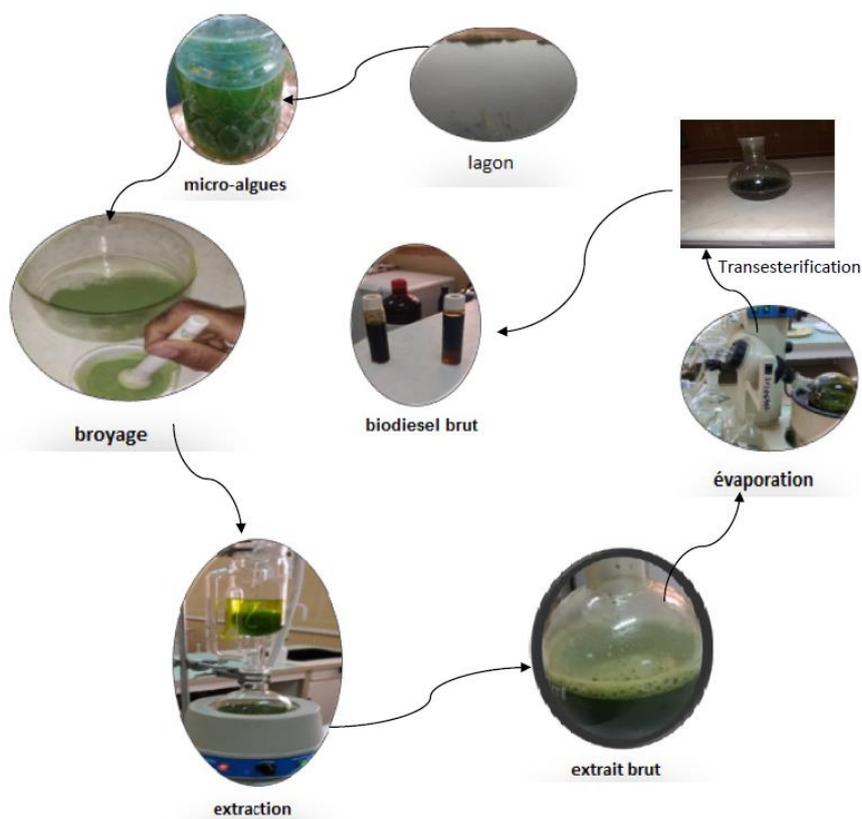


Figure. II.7: protocole de l'extraction par l'appareil de Soxhlet en deux étapes.

II.4.5. La méthode en une seule étape (transestification in-situ ou direct) Pour essayer d'optimiser les réactions de fabrication d'un biodiesel on a réalisé plusieurs protocoles expérimentaux à savoir:

1er protocole : La pâte de micro-algues a été remise en suspension dans 2/1 parties de chloroforme: - méthanol (v / v) en agitant manuellement le tube vigoureusement pendant quelques secondes ou jusqu'à ce que la biomasse soit dispersée dans le système de solvant.

Finalement, une solution aqueuse de NaCl à 0,73% a été ajoutée pour produire un système 2: 1: 0,8 de chloroforme: méthanol: eau (v / v / v).

2ème protocole : 100 mg de biomasse de micro-algues a été mise en suspension dans 20ml dans une solution de 10ml de méthanol et 20ml de chloroforme avec agitation de 10min. Par la suite on ajoute 10ml de méthanol et 3ml d'acide sulfurique à 95°C pendant 1h. Après refroidissement jusqu'à température ambiante (25°C) on ajout 10ml d'eau distillée. Ce protocole d'extractions dites conventionnelles de référence sont réalisées à partir de la méthode de Bligh and Dyer (Bligh and Dyer, 1959).

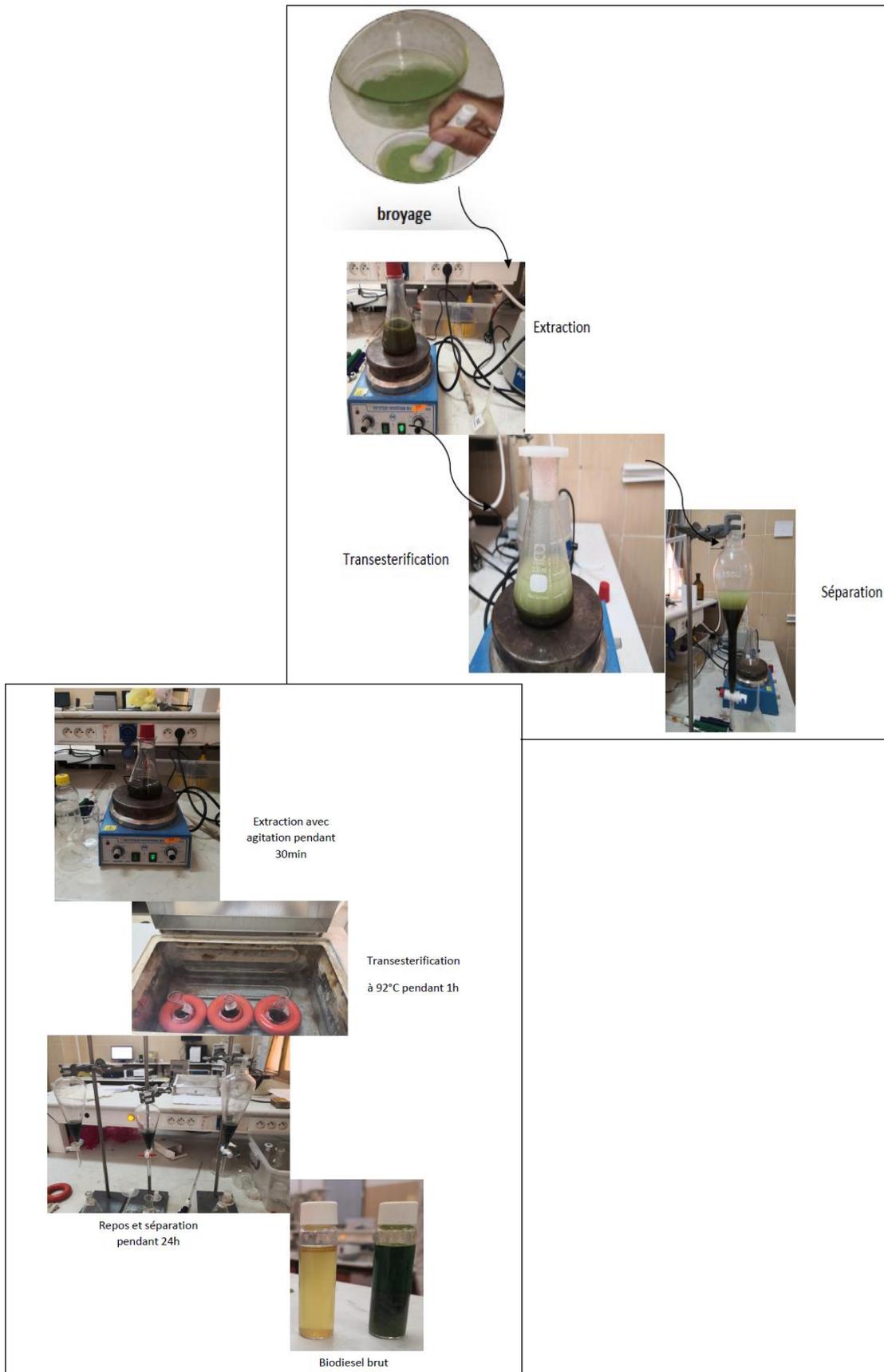


Figure. II.8: Deux protocoles différents de l'extraction en seul étape (transesterification in-situ ou direct).

II.4.6.séparation et récupération du biodiesel produit

En fin de réaction, la solution est transférée dans une ampoule à décanter contenant 20 ml d'hexane. Après agitation et séparation du glycérol et du biodiesel, ce dernier est transféré dans une ampoule à décanter et lavé avec 20 ml d'eau distillée afin de neutraliser l'acide et d'éliminer le méthanol en excès. La séparation des phases organique (biodiesel) et aqueuse (eau et ions) se fait à température ambiante pendant 24h. Le biodiesel résultant est ultérieurement récupéré, séché avec et le méthanol est évaporé à l'aide d'un rotavapor sous vide à 65°C.

II.4.7. Caractérisations physico-chimiques

II.4.7.1.La densité

Selon la norme AFNOR T 60 214, la densité (ou poids spécifique, masse volumique) ou le rapport du poids d'un volume de l'échantillon à la température T, au poids d'un même volume d'eau à une température de 4°C. Il est à noter que la densité doit être toujours inférieure à 1; elle est en fonction non seulement de l'organisation des molécules mais aussi de l'oxydation ou de polymérisation (densité augmente avec l'accroissement de celles-ci).

Le principe est basé sur la mesure de la masse, à température ambiante, d'un volume de corps gras contenu dans le pycnomètre préalablement (10ml de volume) étalonné à la même température. Elle est exprimée en gramme par ml ou en kilogramme par litre.

À cause de la méthode de calcul de ce paramètre et vue les quantités minime de biodiesel fabriqué il n'est pas possible de réaliser ce test.

La densité est donnée par la formule suivante (Wolf, 1968).

$$d = \frac{P_3 - P_1}{P_2 - P_1}$$

Avec:

P1: poids en gramme du pycnomètre vide.

P2: poids en gramme du pycnomètre rempli d'eau distillée.

P3: poids en gramme du pycnomètre rempli d'huile.

II.4.7.2. la viscosité

Selon la norme européenne ISO 3104 Octobre 1994, la viscosité méthode utilisée est explique la résistance a l'écoulement d'une substance donnée (l'huile). On mesure le temps d'écoulement par gravite d'une fraction d'huile a travers un viscosimètre a capillaire contenue dans un bain à une température donnée.

Le principe est de pomper l'huile jusqu'a une certaine hauteur définie de la colonne, puis on laisse couler tout en déclenchant le chronomètre .Ce dernier est arrêté des que l'huile atteint une autre hauteur minimum. La valeur de la viscosité à une température donnée est donnée par la formule suivante $V= CT$, avec :

C: peut être défini comme étant la constante du viscosimètre directement liée à sa capillarite;

T: est le temps au bout duquel l'huile traverse la colonne.

II.4.7.3. Composition du biodiesel

La spectroscopie Infrarouge est notamment utilisée pour identifier les groupes fonctionnels présents dans une molécule. L'avantage de l'accessoire ATR est de limiter (voire supprimer) la préparation d'échantillon. Cette technique d'analyse peut être quantitative. Pour notre cas, la composition des esters méthyliques d'acides gras (Famés : Fattymethyl esters) du biodiesel sera analysée à l'aide d'un IR Spectroscopie Infrarouge de type BRUKER Tensor 27 avec module ATR PIKE Miracle SHIMADZU IR Affinity avec module ATR PIKE GladiATR (**Fig. II.9**). Plusieurs échantillons ont été utilisés pour identifier les différents Famés présents dans le biodiesel (**Fig. II.9**).



Figure. II.9: Spectroscopie Infrarouge BRUKER Tensor 27 avec module ATR PIKE Miracle SHIMADZU IR Affinity avec module ATR PIKE Gladiatre.

Résultats et discussion

Introduction

Des souches locales sauvages d'une espèce de micro-algues vertes, prélevées des différents sites (Fig. II.1), situées à Adrar dans le sud algérien ont été utilisées dans cette étude.

III.1. Identification de micro-Algues prélevées

III.1.1. Observations sous microscope

A l'aide d'une pipette, 0.1 ml l'échantillon d'eau mise à sédimenter est prélevé et placé entre la lame et la lamelle.

La comparaison des morphologies et des formes des micro-algues observés sous microscope a montré que l'espèce prépondérante parmi les souches sauvages récoltées a été identifiée comme étant la souche de *Chlorella sorokiniana* (fig. III.1).

Cette souches qui d'origine sauvage a été cultivée au niveau de laboratoire presque dans les même conditions (figure III.4).

Il est remarquable que la croissance de cette souche fût possible en milieu riche en nutriments nécessaires et en présence de lumière et agitation (aération) (figure III.4) donc les possibilités de production de cette souche dans les conditions de laboratoire ont été très prometteurs.

D'après la bibliographie, différentes souches de *Chlorella* ont montré une capacité de production de biodiesel (Feng et al. 2010 ; Li, K et al. 2019).

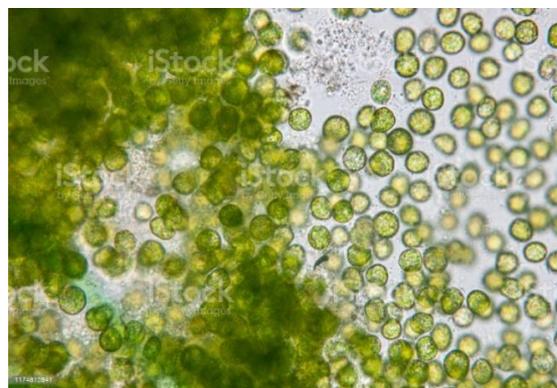
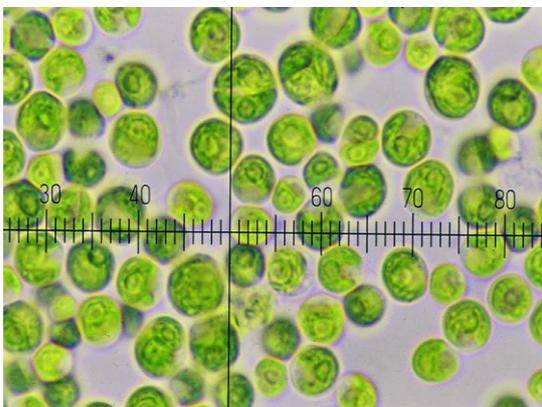


Figure III.1: photo des micro-algues (Chlorella) d'après le site istockphoto.com



Figure.III.2: Photo des micro-algues (Chlorella) sous microscope d'après le site www.bien-etre-au-naturel.fr

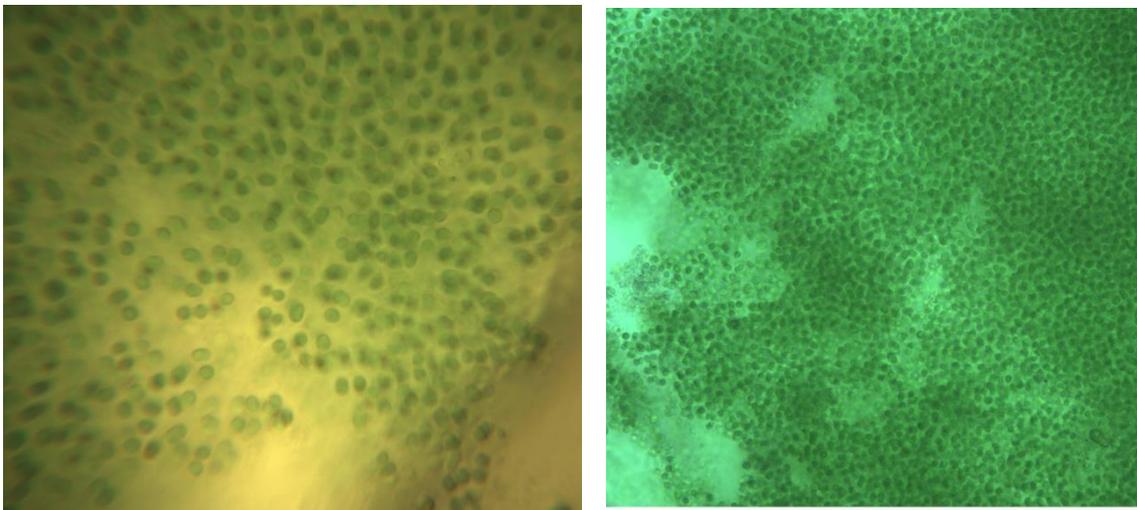


Figure.III.3.: Photos des micro-algues (Chlorella) récoltés du site Kossan et Bouzan sous microscope (grossissement 60 fois).

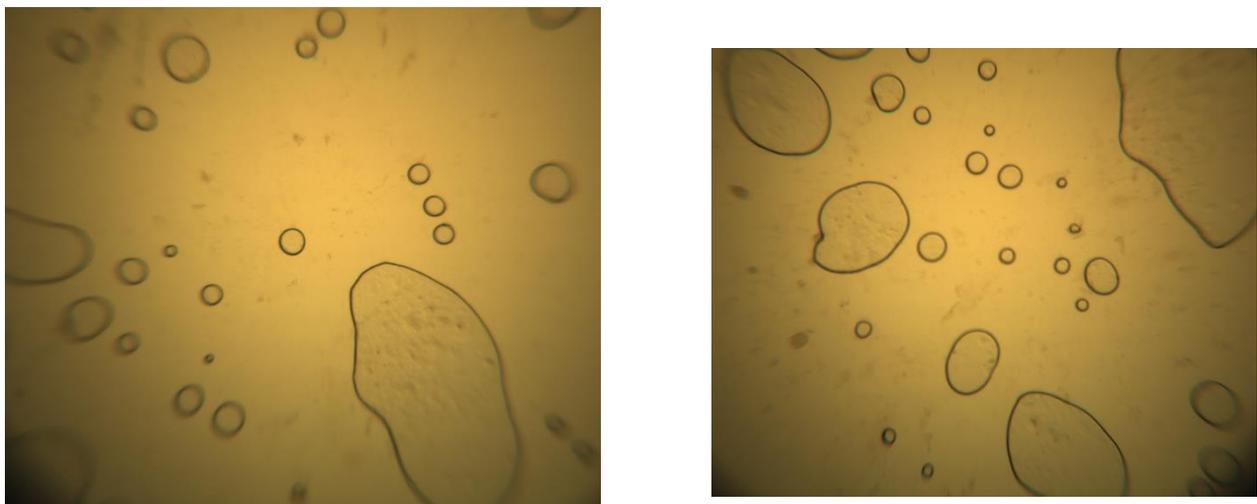


Figure. III.4.: Photos des goûtes de biodiesel produit sous microscope (grossissement 100 fois).



Figure.III.5.: culture des souches sauvages au laboratoire

Tableau. III.1 : Productivité et rendement en lipides obtenus par la culture de micro-algues ayant un métabolisme hétérotrophe (Isabelle Cantin., 2010).

Micro-algues	Source de carbone	Durée (heure)	Mode d'alimentation	Productivité (g en biomasse /L-h)	Lipides (%)	Productivité (g en lipide/L-h)	Rendement (g biomasse/g de substrat)	Référence
Chorella protothocoides (5 L)	glucose	184	Semi-continu	0.08	46.1	0.04	ND	Li et al, 2007
Chorella protothocoides (5 L)	glucose	200	Semi-continu	0.07	44.3	0.03	ND	Li et al, 2007
Chorella protothocoides (11000 L)	Hydrolysats de topinambour	100	Non-continu	0.17	43	0.07	0.006	Cheng et al, 2008
Chorella protothocoides (1 L)	Hydrolysats de jus de canne à sucre	168	Non-continu	0.14	46	0.065	0.004	Cheng et al, 2009
Chorella protothocoides (19 L)	glucose	ND	Semi-continu	0.69	43	0.297	ND	Xiong et al, 2008 Wu et Shi, 2007

Afin de déterminer le protocole le plus rentable, plusieurs combinaisons chimiques ont été essayées. une étude comparative et de faisabilité des réactions de transestérification de l'huile des microalgues a été effectuée sous différentes conditions opératoires : type de solvant, temps de réaction, température, ratio molaire MeOH / huile : 3 :1, ratio molaire KOH / huile :

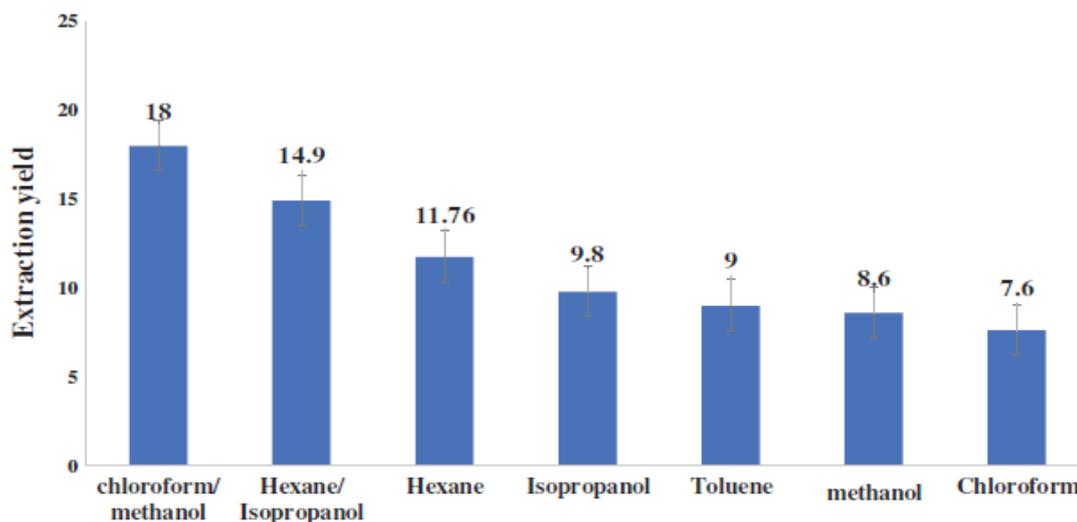


Figure. III.6.: Effet de différents solvants et mélanges de solvants sur l'extraction au soxhlet (Mani Yuvarani & al 2017).

En général, l'hexane (un solvant non polaire) a été beaucoup utilisé pour extraire les huiles végétales générales et les huiles des micro-algues en raison de sa grande stabilité, de son point d'ébullition (60°C) et de sa faible corrosivité.

Les lipides polaires de la membrane cellulaire ont de fortes liaisons hydrogénées ou électrostatiques avec les molécules de protéines. L'ajout de solvant polaire (méthanol) rompt le lien entre lipide et protéine avant l'extraction. Par conséquent, l'hexane est capable d'atteindre un lipide neutre (Mani Yuvarani & al 2017).



Figure.III.7: biodiesel produits par la transestérification directe après évaporation des solvants et H₂O

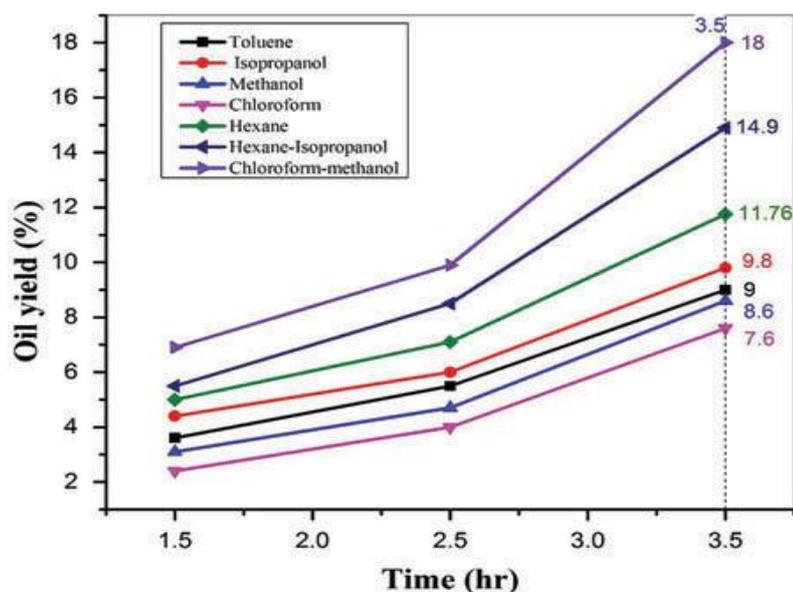


Figure. III.8: % de rendement d'huile d'algues en fonction du temps (Mani Yuvarani & al 2017).

III.2. Caractéristiques physiques du biodiesel

Suite au manque de matériels et des réactives nécessaire pour la réalisation des essais de caractérisation de produit fabriqué nous allons utiliser des résultats des études précédentes (Ayan.,(2008), Goering et al.,(1982) et Anh et a l. (2008)) De ce fait, lors de la préparation de notre biodiésel, nous avons rencontré certains points importants à savoir le temps de la réaction et la phase de la séparation entre le biodiesel et l'eau et la température de réaction.

III.2.1. La densité

Il s'agit du poids du produit pour un volume donné. Elle dépend de la température du produit. À 15°C, elle est en moyenne de 830 kg/m³ (830 kg pour 1 m³) pour le gazole et 745 kg/m³ pour les essences. Plus la masse volumique est élevée, plus le contenu énergétique du produit est important. Pour rappel et comparaison, l'eau a une masse volumique de 1000 kg/m³ (Total énergie. 2019).

III.2.2. L'indice de cétane

C'est l'aptitude à l'auto-inflammation des carburants diesel cette caractéristique est très importante car elle influence directement la procédé de la combustion et le délai d'inflammation (évalue la capacité d'une carburant à s'enflammer automatiquement).

III.2.3. Le point d'éclair

Le point d'éclair ou point d'inflammabilité correspond à la température la plus basse à laquelle un corps combustible émet suffisamment de vapeurs pour former, avec l'air ambiant, un mélange gazeux qui s'enflamme sous l'effet d'une source d'énergie calorifique telle qu'une flamme pilote, mais pas suffisamment pour que la combustion s'entretienne d'elle-même (fig.III.9) (pour ceci, il faut atteindre le point d'inflammation).



Figure.III.9: test d'inflammabilité

III.2.4. Le point de trouble

Lorsque le gazole est refroidi, c'est la température à laquelle le gazole devient trouble par l'apparition de cristaux de paraffines, visibles à l'œil nu. Cette valeur, qui en général ne peut pas être modifiée par ajout d'additif, est liée à la qualité du pétrole brut et aux procédés de raffinage utilisés (Total énergie. 2019).

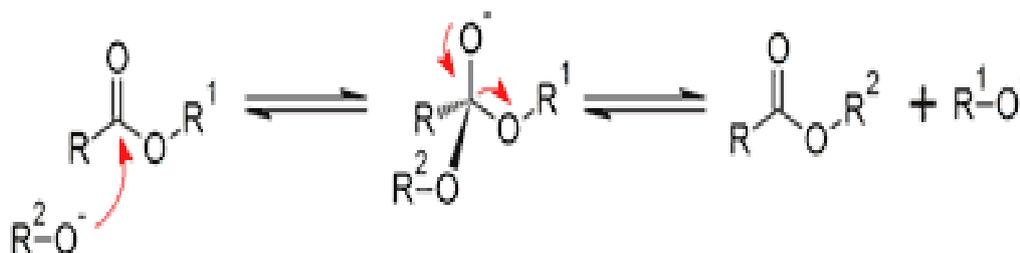
Tableau. III.2 : Propriétés physicochimiques du biodiesel, comparées à celles de la littérature du petro-diesel.

	Densité A 22°C	Viscosité A40°C(cp)	Pouvoir Calorifique MJ/Kg	Indice d'acide (mgKOH/g)	Point éclair(°C)	Point de trouble (°C)
Biodiesel (Ayhan., 2008)	0.878- 0.887	4-5.18	39.26-39.48	0.15	148	ND
Pétro-diesel (Goering et al.,1982)	0.855	3.06	43.8	ND	76	-16
Pétro-diesel (Anh et a l. (2008))	0.830	3.53	ND	0.11	69	0

III.3. Processus d'extraction et conversion des lipides en biocarburant

Dans le processus de transestérification, un catalyseur et un alcool sont ajoutés à un mélange de lipides de micro-algues, la réaction réduit le poids moléculaire, la viscosité et augmente la volatilité. Différents paramètres peuvent influencer le rendement de transestérification, type des micro-Algues, ratio (rapport) alcool-huile, type de catalyseur, concentration, temps de réaction, T°C, agitation.

La transestérification permet de convertir les lipides obtenus en biocarburant (biodiesel) : elle fait réagir l'huile obtenue avec du méthanol ou de l'éthanol. On obtient alors un ester d'huile algale ou biodiesel. En tant que biodiesel, le carburant obtenu peut être ajouté au gazole fossile à hauteur d'environ 10% volume .
Les étapes de transestérification :



III.4. Caractéristiques chimiques du biodiesel

III.4.1. La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

La poudre des micro-algues et les biodiesels produit (biodiesel des micro-Algues et de l'huile végétal) ont été caractérisés par des techniques spectroscopiques FTIR. Les données du spectre moyen de l'infrarouge (4000–400 cm⁻¹) ont été utilisées pour identifier les groupes fonctionnels et les bandes correspondant aux vibrations dans les échantillons de biodiesel non purifiés. (fig. III.10).

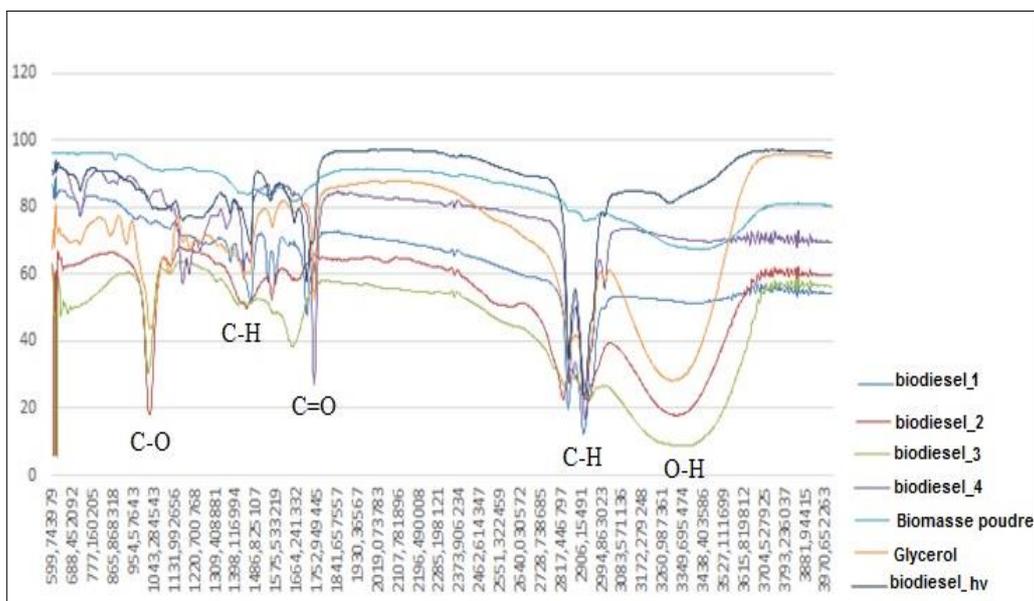


Figure.III.10 : les spectres IR des différents biodiesels testés

Pour plus d'information sur les caractéristiques des biodiesels produits des micro-algues on a réalisé des IR sur un biodiesel produit de huile végétal (fig.III.11) et un autre sur un pétro-diesel (fig.III.12) et ceci pour les utiliser comme des spectres de référence.

La caractérisation NEAR FT-IR du biodiesel a indiqué la région de pic la plus élevée de nombre d'onde de 1745 cm^{-1} à $50,922$ absorbance suivie de 2924 cm^{-1} à $55,190$ absorbance qui était le résultat de l'étirement C-H. L'étirement carbonyle C = O des esters apparaît cependant; comme aliphatique de 1750 à 1735 cm^{-1} .

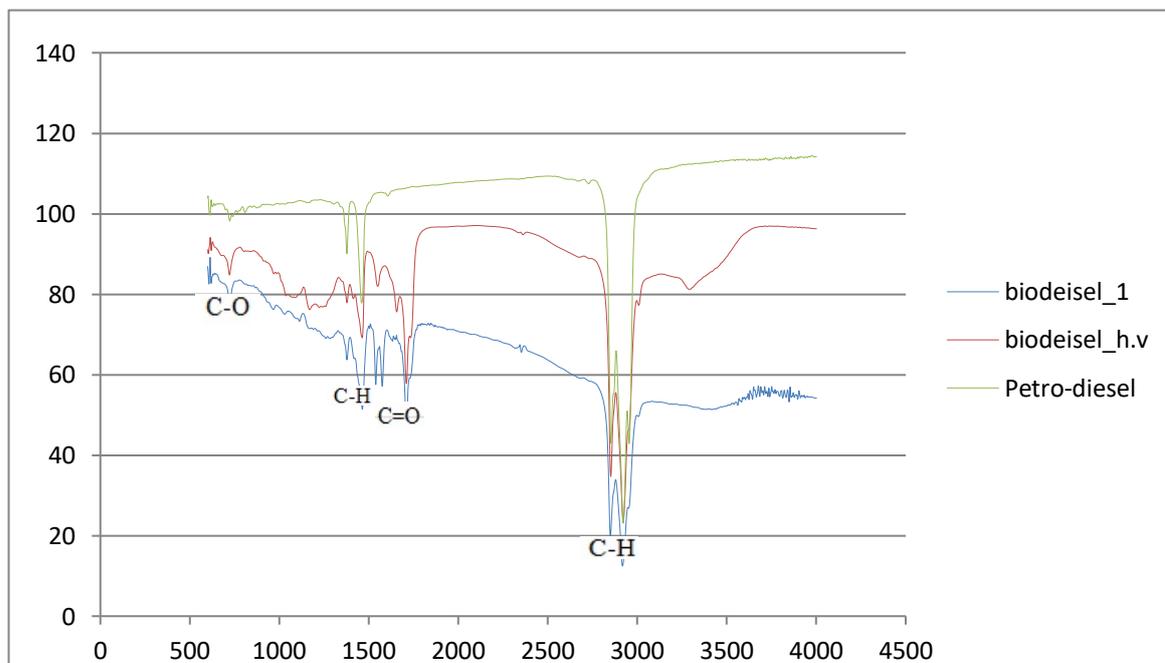


Figure.III.11: les spectres IR des diesels de référence et biodiesel de micro-algues (biodiesel_1)

Le nombre d'onde de pic de 3010 cm^{-1} étirement C-H (était oléfinique). Les bandes comprises entre 600 et $1\ 200\text{ cm}^{-1}$ indiquaient la présence de cis-alcène. Le pic 2855 a été formé à la suite de l'étirement C-H. Une courbure en C-H ou un cisaillement de 1470 à 1450 cm^{-1} indiquait la présence d'hydrocarbures saturés (alcanes). Le pic 1380 indiquait du méthyle de roche C-H. La bande 724 indiquait la présence de liaisons méthyle à longue chaîne tandis que le pic 1100 indiquait la présence d'une liaison C – O insaturée (fig.III.12).

Remarque:

- **Biodiesel_1 et biodiesel_4:** produit par transestérification direct;
- **Biodiesel_2 et biodiesel_3:** produit par l'appareil soxhlet par la méthode a deux étapes;
- **Biomass_poudre :** la poudre des micro-algues utilisée dans la fabrication de biodiesel;
- **Glycérol:** les résidus après séparation glycérol;
- **Biodiesel_hv:** biodiesel produit de l'huile de table;
- **Péto-diesel :** diesel des hydrocarbures fossiles

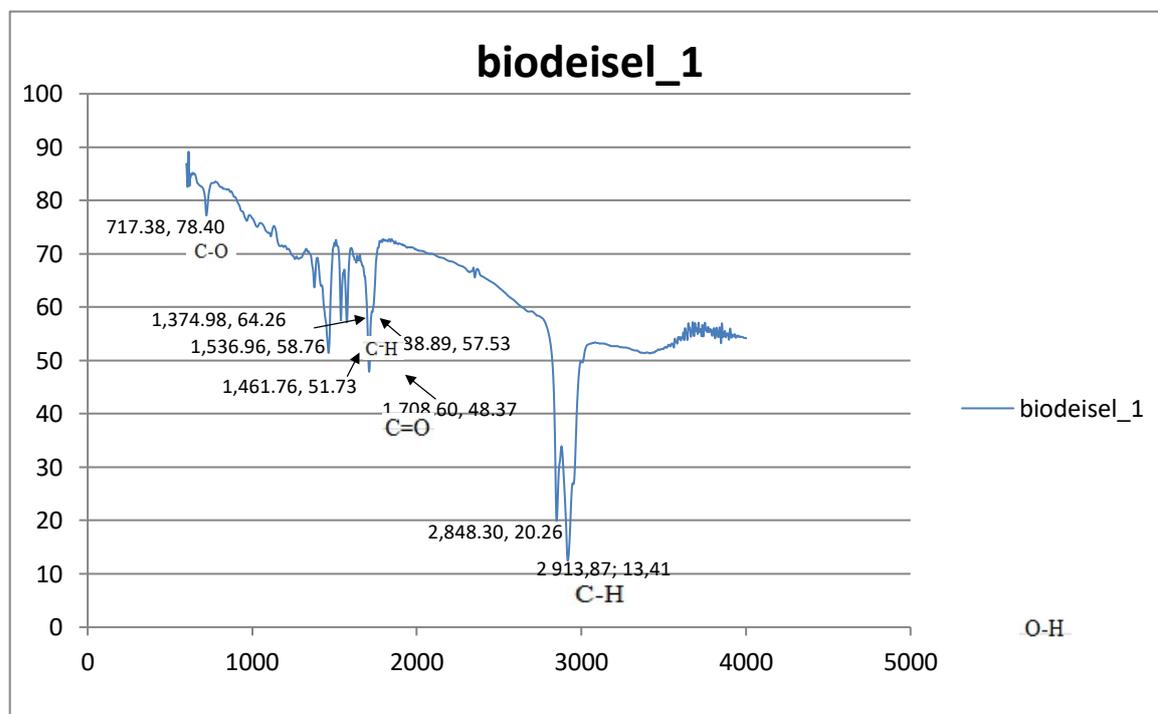


Figure.III.12: le spectre IR du biodiesels de micro-algues (biodiesel_1)- transestérification direct.

Le spectre de biodiesel produit des micro-algues montre des pics fort identifiés et similaires a seuls des spectres des échantillons des diesels de référence (biodiesels de huile végétal et pétro-diesel) (fig.III.13). Les pics typiques entre 3000cm⁻¹ et 2800m⁻¹ présentant étirements C-H dans la quelle le carbone est hybridé à sp³; 4 orbital sp³ et un caractère d'orbital s de 25%. D'autres pics caractéristiques apparaitre entre les nombres d'onde 1450 et 1750 cm⁻¹ présentant des étirements C-H et C=O attribué à la présence d'un ester (fig.III.11, III.12 et III.13)

Les pics d'absorption apparaissant à 721 cm⁻¹ et 1195 cm⁻¹ sont représentatif de l'oscillation de -CH₂ de l'étirement (C-O) d'ester (fig.III.11, III.12 et III.13 et Tableau.III. 3). Le pic à 1765 cm⁻¹ a confirmé la vibration d'étirement de C = O situé dans les esters, et les pics présents dans la gamme 1500–1300 cm⁻¹ ont également confirmé l'étirement et les vibrations C-O dans un ester (Shalaby & al., 2012 et Tariq et al.,2011).

Tableau.III. 3. Groupes fonctionnels basés sur le FTIR de l'huile d'algues (Mani Yuvarani & al 2017).

Fréquence Range (cm ⁻¹)	Wave nombre (cm ⁻¹)	Fonctionnel groupe	Class of compounds	Référence
3550-3300	3448.1	O-H bend/C-O stretch N-H stretch	Alcohol, phenol, primary, amines	(hariram et al. 2016)
2980-2800	29253.2853	C-H stretch	Alcanes	(subramanian et al. 2015)
1850-1650	1727.7	C=O stretch	Cétones, carboxylique acide, aldéhyde, α,β-un saturante ester	(Rabelo et al. 2015)
1650-1580	1624.4	C=C stretch	Alcanes	(Siddiqui and Ahmad 2013)
1470-1350	1412.3	C-H Bend	Alcanes	(Dutta, Sarkar, and Mukherjee 2014)
1300-950	1262.0	C-C(O)-C stretch	Alcohols, ester	
915-650	865.0801	C-H in plane benching	Aromatic compounds	
Liss thane 605	8476.4		Inorganic compounds	

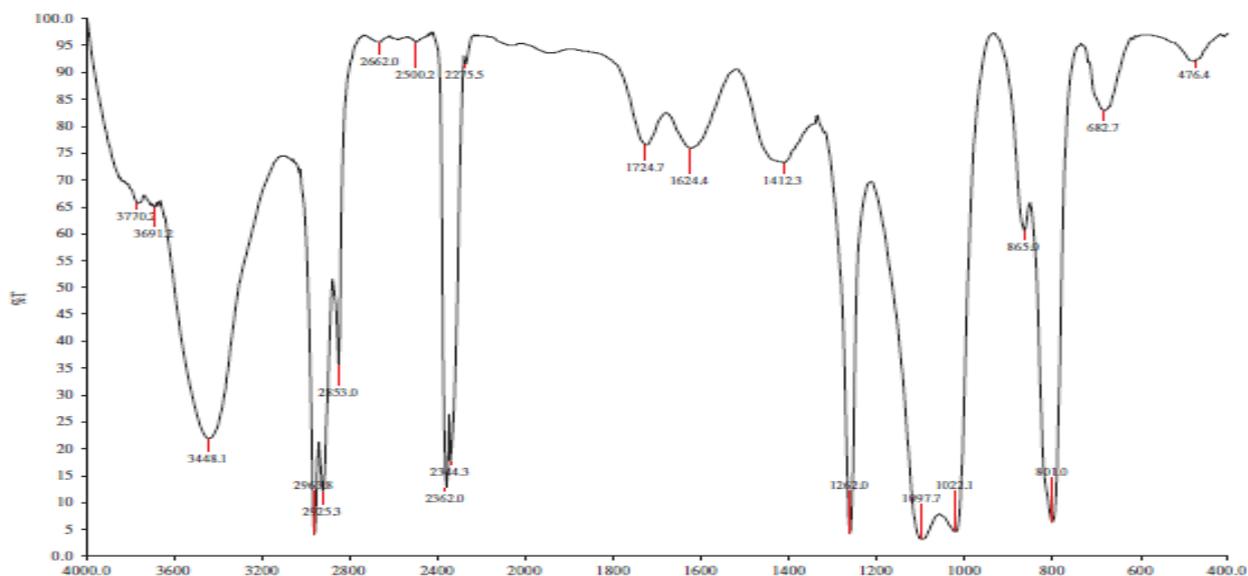


Figure.III.13 : le spectre IR du biodiesels de micro-algues (biodiesel_1)- transestérification direct (Mani Yuvarani & al 2017).

III.4.2. La chromatographie en phase gazeuse (CG)

D'après (Chader & al (2011) la composition principale en acides gras des micro-algues sauvage prélevées de la région d'Adrar et testées a été déterminée en utilisant une analyse GC. Il est principalement composé d'un mélange d'acides gras insaturés, tels que l'acide oléique, linoléique et linoléique. Les acides gras saturés, palmitiques et stéariques (18: 0) sont également présents dans une faible mesure. D'après (Knothe 2008), les acides palmitique, stéarique, oléique et linoléique ont été reconnus comme les acides gras les plus courants contenus dans le biodiesel.

Conclusion

Dans cette étude on a essayé la production d'un biodiesel à partir de micro-algues (Chlorella). Les triglycérides (huile) de la micro-algue de type Chlorella ont été extraits à l'hexane puis au chloroforme. L'extraction permet de recueillir environ 10 % de lipides (g lipide / g matières sèche). La transestérification par catalyse (H_2SO_4 et $NaOH$) des triglycérides en présence de méthanol, conduit à la fabrication d'un biodiesel de caractéristiques similaire à un biodiesel d'huile végétal et à un pétro-diesel. Dans cette

étude on peut constater que la méthode a deux étapes (extraction puis transestérification) en utilisant l'appareil de Soxhlet présente des difficultés lors de la phase de séparation.

A cette effet la transestérification direct est plus simple rapide et elle est plus convenable dans notre situation avec plus d'optimisation des paramètres de processus de production d'un biodiesel a partir d'un micro-algues.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

La dépendance des hydrocarbures fossiles, principalement dans le secteur des transports, ainsi que les inquiétudes environnementales ont poussé la recherche sur les biocarburants qui peuvent être des alternatives renouvelables et propres.

Dans la nature, à travers le processus évolutif, les plantes et autres organismes ont développé une capacité assez ingénieuse à utiliser la lumière du soleil pour convertir le CO₂ atmosphérique en biomasse dans laquelle ont stockés une grosse quantité d'énergie. Ceci est réalisé grâce à un phénomène connu sous le nom de photosynthèse. La biomasse est essentiellement de l'énergie chimique. Cela se produit par une série de processus physiques et de réactions chimiques, développons la biomasse.

Les micro-algues offrent un grand potentiel en tant que matière première durable pour la production de biocarburants de troisième génération, tels que le biodiesel et le bioéthanol.

Les développements technologiques, y compris les progrès dans la conception des photobioréacteurs, la récolte, le séchage et le traitement de la biomasse de micro-algues sont des domaines importants qui peuvent conduire à une meilleure rentabilité et, par conséquent, à une mise en œuvre commerciale efficace de la stratégie de biocarburant à partir de micro-algues.

Cependant, plusieurs obstacles scientifiques et techniques importants restent à surmonter avant que la production à grande échelle de biocarburants dérivés de micro-algues ne devienne une réalité commerciale.

Lors des essais en laboratoire, il a été démontré que l'extraction des lipides des micro-algues en phase aqueuse était possible afin d'obtenir des lipides en utilisant un prétraitement consistant en une ébullition de la phase aqueuse contenant les micro-algues et une extraction par des solvants organiques (chloroforme et/ ou l'hexane). Pour la transestérification, qui est une conversion des acides gras libres obtenue à partir des lipides d'une micro-algue sauvage de type *Chlorella* dans les conditions suivantes : température : 90°C, pression atmosphérique, temps de réaction : 60 min, ratio méthanol/lipides: 0.1mL/g. En utilisant ces conditions lors d'une première étape acide homogène (acide sulfurique) suivie d'une seconde étape alcaline avec de l'hydroxyde de potassium (température : 60°C ; temps de réaction : 22.2 min); ratio catalyseur micro-algue : 1.5% (m/m); ratio méthanol par rapport aux lipides des micro-algues : 30%).

CONCLUSION GENERALE

Les résultats démontrent que du biodiesel peut être produit à partir de micro-Algues. Cependant, basant sur les présents résultats, il sera nécessaire de mener d'autres recherches pour prouver que les micro-Algues sont une matière première d'avenir pour la production de biodiesel, pour la poursuite des études dans ce sujet, il faut:

Identification des souches sauvages et l'isolées par des études génétique;

L'analyse de la composition des lipides obtenus de ces souches sauvages;

Etudier l'effet d'autres facteurs tels que la lumière, la température (climat) et le taux de CO₂ sur la production des lipides;

Une étude plus profonde des conditions des milieux naturels de ces souches;

Poursuivre les cultures face à la biodiversité naturelle;

Rentabilisé la chaîne des procédés et faire baisser les coûts

En même temps: fabriquer du biodiesel, fixer du CO₂, traiter des résidus et récupérer des composés à haute valeur ajoutée (des engrais, aliments, et même des bios cosmétiques),

A la fin une étude économique de rentabilité de cette solution et une analyse de cycle de vie de cette culture pour savoir si les rendements énergétiques et environnementaux sont valorisables.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

(<https://www.istockphoto.com/fr/photo/%C3%A9ducation-de-chlorella-sous-le-microscope-en-laboratoire-gml174812841-326873147>).

(<https://www.services.totalenergies.fr/mes-deplacements/tout-savoir-sur-les-carburants-total/comment-est-determinee-la-qualite-des-carburants>).

(Source : [monsite.com/pages/la production-d-énergies](http://monsite.com/pages/la-production-d-energies))

« La production de biodiesel à partir des micro algues ayant un métabolisme hétérotrophe », Juillet 2010, P.14-28

Adarme-Vega, T, Catalina, Skye R. Thomas-Hall, David K. Y. Lim and Peer M. Schenk., 2014. Effects of Long Chain Fatty Acid Synthesis and Associated Gene Expression in Micro-alga *Tetraselmis* sp..

Anastasia Wolff., 2009 L'utilisation des micro-algues pour la fabrication de biocarburant, analyse de chaîne de valeur, Ecole Nationale Supérieure, , P29-31

Ballerini Daniel, 2006. Les Biocarburants état des lieux, perspectives et enjeux du

Becker, E.W. 1981. Algae mass cultivation – production and utilization. s.l.: Biochem, 1981.

Borowitzka, L.J. et Borowitzka, M.A. 1988. Microbial Biotechnology. Cambridge Univ. s.l.: Press, 1988.

Borowitzka, M.A. 1998. Limits to growth, in Wastewater treatment with algae. [éd.] Y.-S. Wong and N.F.Y. Tam. s.l.: Springer Verlag, 1998.

Brennan, Liam, et Philip Owende. 2009. «Biofuels from micro-algae A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and coproducts. s.l.: Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2009.

Cadoret, J.-P., Bernard. 2008. La production de biocarburant lipidique avec des Micro-algues : promesses et défis. 2008.

Cantin, Isabelle., (2010): La production de biodiesel à partir des micro-algues ayant un métabolisme hétérotrophe. CENTRE UNIVERSITAIRE DE FORMATION EN ENVIRONNEMENT, UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE. Québec : s.n, juillet 2010.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Céline DEJOYE TANZI., 2013: Eco-Extraction et Analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant ACADEMIE D'AIX-MARSEILLE UNIVERSITE D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE ED 536 – Agrosiences et Sciences.

Chaudhry Haider Ali, Abdul Hannan Asif, Tanveer Iqbal, Abdul Sattar Qureshi, Mohsin Ali Kazmi, Saima Yasin, Muhammad Danish & Bo-Zhong Mu., (2018): Improved transesterification of waste cooking oil into biodiesel using calcined goat bone as a catalyst, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, DOI: 10.1080/15567036.2018.1469691 développement, IFP publications, Editions TECHNIP

Dubreuil A., (2008). Les biocarburants au coeur de la polémique Crutzen, atelier Changement Climatique. F.D. (Ed.), Lipides Technologies and Applications, Marcel Dekker, Inc. New York

Emad A. Shalaby & Nour Sh. El-Gendy., (2012): Two steps alkaline transesterification of waste cooking oil and quality assessment of produced biodiesel. International Journal of Chemical and Biochemical Sciences. IJCBS, 1(2012): 30-35

Fogg, G.E. (1975). Algal cultures and phytoplankton ecology. Second edition 1975. s.l.: Wisconsin: The university of Wisconsin press., 1975.

G. Knothe, “Designer“ Biodiesel., (2008): Optimizing Fatty Ester Composition to Improve Fuel Properties’, Energy & Fuel, Vol. 22, N°2, pp. 1358 – 1364, 2008.

Harun, R., Singh M., Forde G.M., Danquah M.K. (2010), Bioprocess engineering of Micro algae to produce a variety of consumer products. 2010. La production de biocarburant lipidique avec des micro-algues : promesses et défis.

http://www.chlorella-benefit.com/Chlorella_Quality_Control.html

<https://fr.wikipedia.org/wiki/Photobioracteur>

<https://www.bien-etre-au-naturel.fr/chlorella-super-aliment-microalgue-detoxifiante-antioxydante-immunostimulante/>

<https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/enjeux-et-prospective/decryptages/energies-renouvelables/quel-avenir-les-biocarburants>: Quel avenir pour les biocarburants ? IFP Énergies Nouvelles .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Isabelle Cantin., (2010): la production de biodiesel à partir des micro-algues de métabolisme hétérotrophe. Centre universitaire de formation en environnement université de sherbrooke

Jean Paul cadoret, Olivier bernard., (2008): le journal de la Société de Biologie, p16.

Kerlero de Rosbo, (2014): Bernard, Mairet, Ras de Moncuit, Grimaud, Delclaux, Rey, Payen. « Evaluation du gisement potentiel de ressources algales pour l'énergie et la chimie en France à l'horizon 2030 ». ENEA consulting, INRIA, ADEME, 2014, p1-122

L. Brennan, P. Owende (2010): Renewable and Sustainable Energy Reviews , P557-577

Li, K., Liu, Q., Fang, F., Luo, R., Lu, Q., Zhou, W., et al. (2019): Microalgae-based wastewater treatment for nutrients recovery: a review. Bioresour. Technol. 291:121934. doi: 10.1016/j.biortech.2019.121934

Lydia Richez., (2016) : Mode de production et faisabilité », Université Poitiers, 2016, P39-47

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

Mélanie SALOMEZ., (2009): Opportunités de développement de la filière micro-algues à l'île de la Reunion, P16-53

Muhammad Tariq, Saqib Ali Fiaz Ahmad, Mushtaq Ahmad , Muhammad Zafar, Nasir Khalid, Mir Ajab Khan., (2011): Identification, FT-IR, NMR (1H and 13C) and GC/MS studies of fatty acid methyl esters in biodiesel from rocket seed oil. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2010.09.025>

Ndiaye Doudou, (2007).le monde dans l'ère des biocarburants, définition, enjeux et facteurs de succès pour l'Afrique, AGROVISION No 4.

Oswald, W.J.,: (1988). Micro-algae and wastewater treatment. [éd.] M.A. Borowitzka & L.J. Borowitzka. s.l.: Micro-algal biotechnology, 1988.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Clément de Mecquenem, Marielle Drommi et Clémence Topart., <https://culturesciences.chimie.ens.fr/thematiques/chimie-organique/methodes-et-outils/utilisation-de-l-evaporateur-rotatif>

Petko Ivanov PENCHEV., (2010): Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, doctorat de l'université de toulouse, , P16-42

Poitrat. E., (2005): Les biocarburants en France et en Europe (ADEM), Lyon, Pourghère comme Carburant en milieu rural

Powles. (1984): Photo inhibition of photosynthesis induced by visible light. 1984.

Rengel, Annal. (2011): Energy and environmental analyses of a bioreactor for microalgae culture for energy production. Chemical and Process Engineering. Paris: s.n., 2011.

Richmond, A. (1986). Algal mass culture. Florida: CRC Press, 1986.

S. Chader¹, B. Mahmah, K. Chetehouna, et E. Mignolet., (2011) : Biodiesel production using *Chlorella sorokiniana* a green microalga. Revue des Energies Renouvelables Vol. 14 N°1 (2011) 21 – 26.

Scragg Alan.H, (2009). bio fuels Production, application and développement, CAB International l,

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.

Bruno Sialve, Jean-Philippe Steyer. Les microalgues, promesses et défis. Innovations Agronomiques, INRAE, 2013, 26, pp.25-39. hal-01137072.

T.M. Mata, A. A. Martins, N. S. Caetano (2010): Renewable Sustainable Energy Reviews, P217-232 iii | MEMOIRE DE FIN D'ETUDE/ MENTION GENIE DES PROCEDES CHIMIQUES ET INDUSTRIELS

Touati Lounis, 2013. Valorisation des grignons d'olive Etude de cas : Essai de valorisation en Biocarburant magister.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Vian, Tanzi, Chemat. (2013): Techniques conventionnelles et innovantes, et solvants alternatifs pour l'extraction des lipides de micro-organismes. EDP sciences, , p1-6

Villay, Aurore. (2013):. Production en photo bioréacteurs et caractérisation structurale d'un exopolysaccharide produit par une micro-algue rouge : *Rhodella violacea*. Application à l'obtention d'actifs antiparasitaires. SANTE, AGRONOMIE, ENVIRONNEMENT, UNIVERSITE BLAISE PASCAL-ECOLE DOCTORALE SCIENCES DE LA VIE. s.l.: Axe Génie des Procédés, Energétique et Biosystèmes, 2013. These.

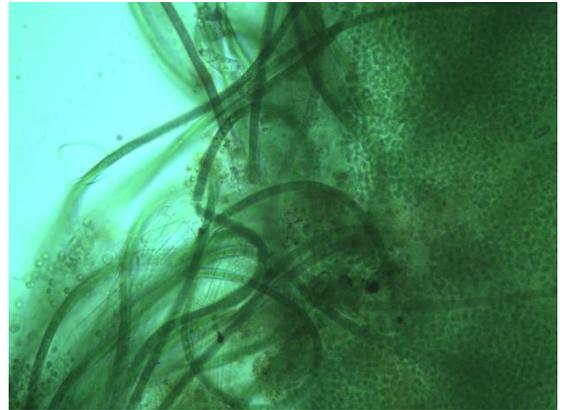
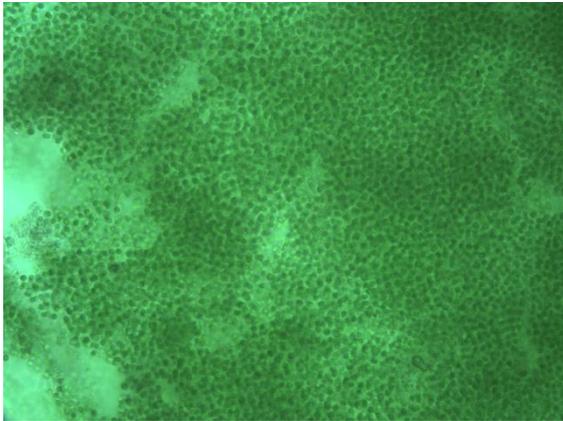
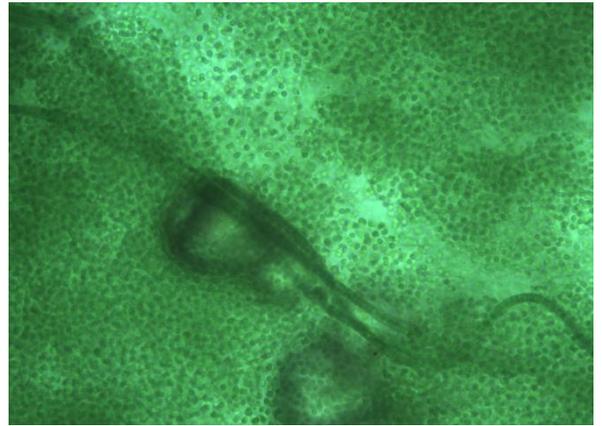
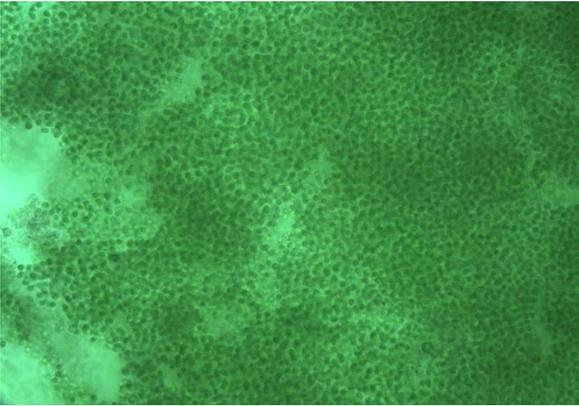
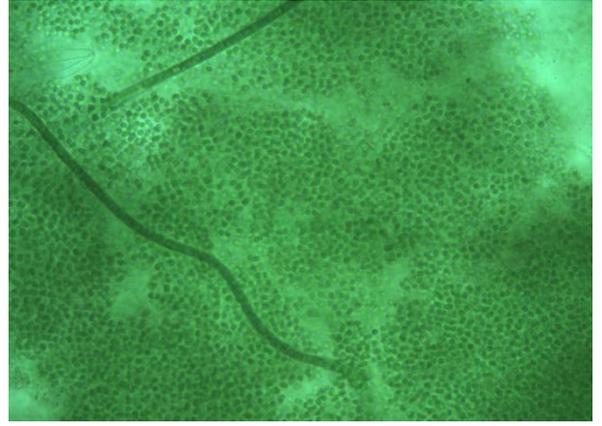
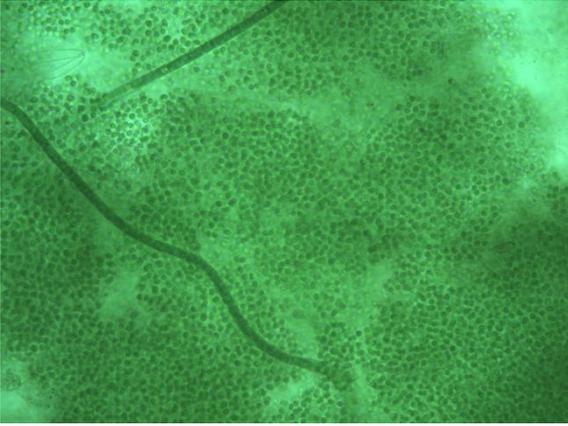
Wetzel, R.G. (1975): Limnology. Philadelphia : Saunders, 1975.

Wolff, Anastasia. (2012): L'utilisation des micro-algues pour la fabrication de Biocarburants : analyse de la chaîne de valeur - contexte français et international. Mineure en Environnement, Ecole Normale supérieur. 2012. Rapport de stage effectué à la Direction Générale de l'Energie et du Climat (Ministère de l'Ecologie, du Développement Durable et de l'Energie).

Yujie Feng, Chao Li, Dawei Zhang., (2010): Lipid production of *Chlorella vulgaris* cultured in artificial wastewater medium.

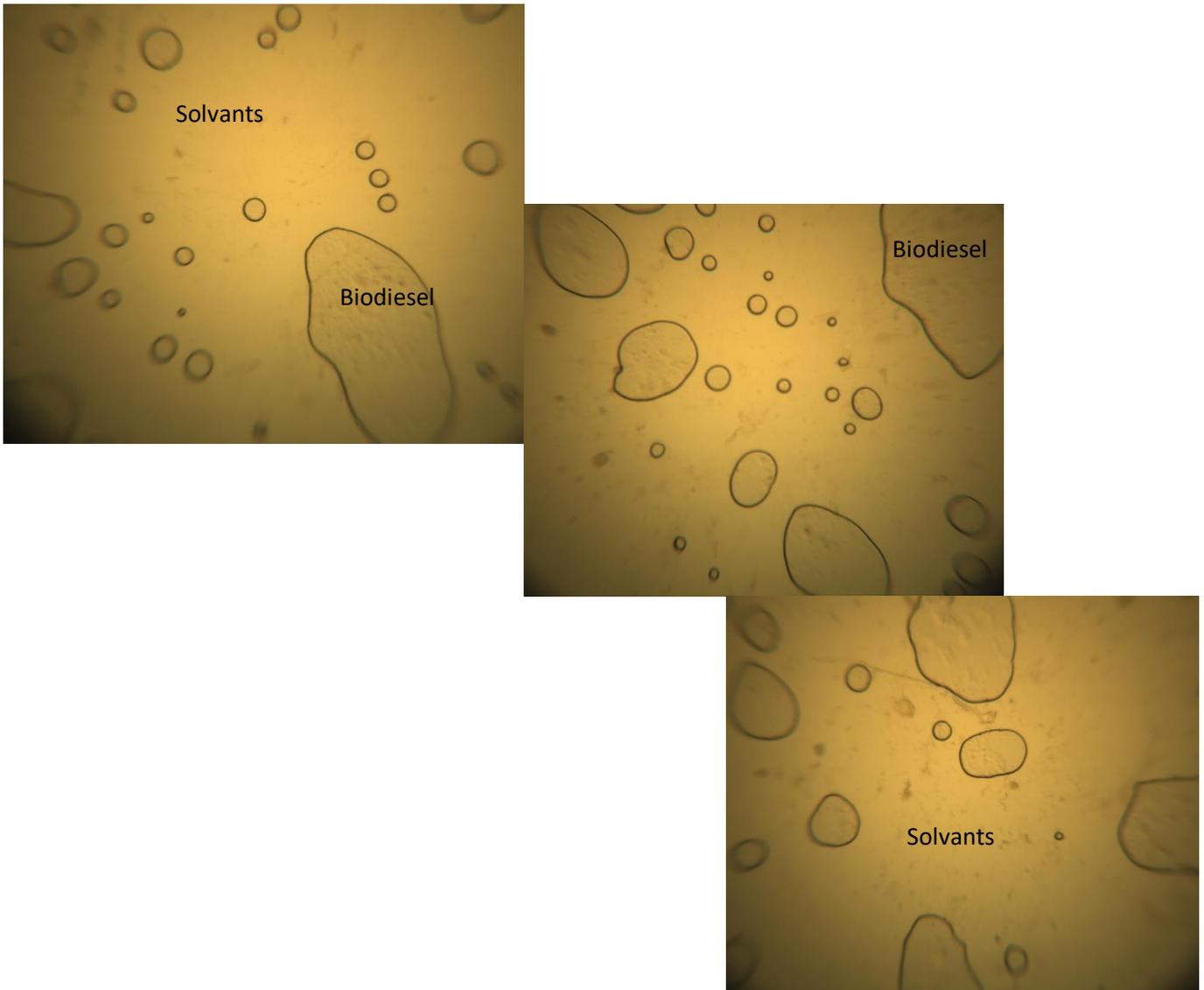
Zhu, X. G., et al. (2008). What is the maximum efficiency with which photosynthesis can convert solar energy into biomass? s.l.: Current Opinion in Biotechnology, 2008.

ANNEXES



Annex_1: Photos sous microscope de la souche utilisée dans cette étude

ANNEXES



Annex_2: Photos des goûtes de biodiesel produit sous microscope (grossissement 100 fois).

ANNEXES

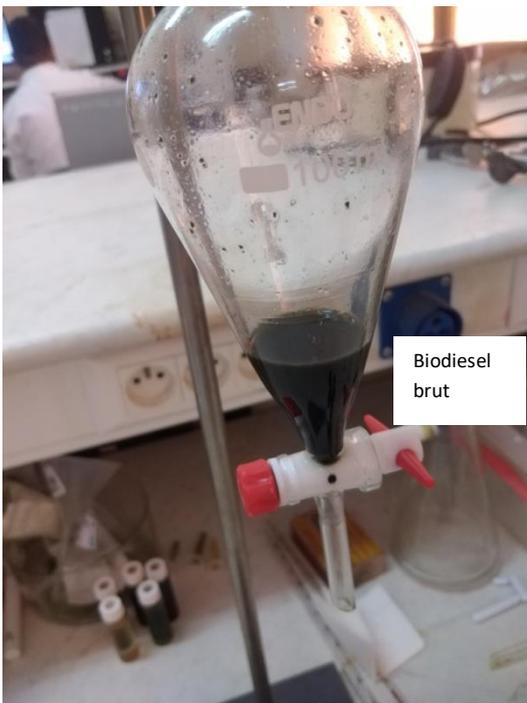
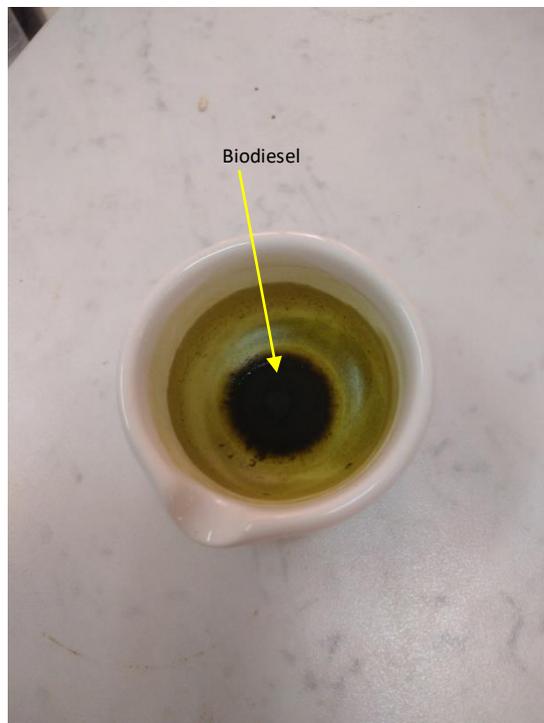
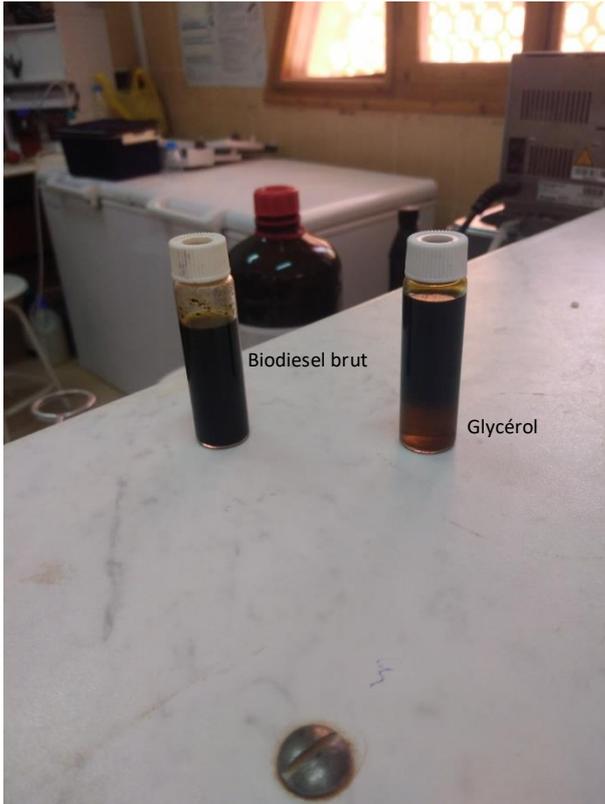


ANNEXES



Annex_3: Photos des travaux de laboratoire.

ANNEXES



Annex_4: des biodiesel produits.