



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire N série:.....

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشهيد حمزة لخضر الوادي

Université Echahid Hamma Lakhdar - El OUED

كلية علوم الطبيعة والحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا الخلوية والجزيئية

Département de biologie Cellulaire et Moléculaire

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique en Sciences

agronomiques

Spécialité : biochimie appliqué

### THEME

**Contribution à la production de microalgues riche  
en lipides isolées de la région d'Oued Righ**

Présenté Par :

Khettab Zakaria,

M<sup>elle</sup> Toumi Fatna

Devant le jury composé de :

Président : Mm ZAIM Siham.

M.C.B Université d'El Oued.

Examineur : ALLOUCH Djenat

M.A.A Université d'El Oued.

Promotrice : Kiram Abderrazak

M.A.A Université d'El Oued.

Année Universitaire 2019/2020

## **Remercîment**

Nous remercions, avant tout, ALLAH de nous avoir donné la force et le courage pour réaliser ce travail.

Nous remercions notre encadreur : Mr Kiram Abderrazak, pour ses précieux conseils durant ce travail et pour ses qualités humaines : modestie, bienveillance et moralité qui resteront pour nous un exemple à suivre dans notre vie professionnelle. Puisse ce travail vous satisfaire et témoigner notre grande reconnaissance et notre profonde estime.

Nous adressons nos chaleureux remerciements aux membres du jury qui ont bien voulu juger notre travail et nous honorer avec leur participation.

Nous souhaitons également remercier tous les enseignants ayant assurés nos cours pendant nos années d'études.

## Dédicace

A mes très chers Parents

Pour tout l'amour dont vous m'avez entouré, pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Que dieu, le tout puissant, vous préserve et vous procure santé et longue vie afin que je puisse à mon tour vous combler.

A ma femme et mes filles

Vous occupez une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux, plein de bonheur et de succès.

A mes Frères et sœurs

A mes très chers Amis

A tous mes enseignants pour lesquels je porte beaucoup de respect et de gratitude.

A toute ma famille proche et loin.

Une spéciale dédicace à la promotion 2020 Biochimie appliqué.

Je vous aime tous.

*Zakaria*

# Dédicace

A mes très chers Parents

Pour tout l'amour dont vous m'avez entouré, pour tout ce que vous avez fait pour moi.

Que dieu, le tout puissant, vous préserve et vous procure santé et longue vie afin que je puisse à mon tour vous combler.

A mes Frères et sœurs

Vous occupez une place particulière dans mon cœur. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant un avenir radieux, plein de bonheur et de succès.

A mes très chers Amis

A tous mes enseignants pour lesquels je porte beaucoup de respect et de gratitude.

A toute ma famille proche et loin.

Une spéciale dédicace à la promotion 2020 Biochimie appliqué.

Je vous aime tous.

*Fatna*

# Résumé

### Résumé

L'objectif de cette étude est d'identifier et évaluer des souches microalgales riches en lipides isolées à partir de huit stations dans la région d'Oued Righ (Lac Ayata, Lac Tindla, Lac Ain Ezzarga, Lac N'sigha, Oued Khrouf, Oued Sidi Khelil et Canal Oued Righ en deux stations à Djamaa et El Meghaier).

Après une bonne stratégie d'échantillonnage, des analyses physicochimiques des eaux sont effectuées directement après le prélèvement par un kit d'analyse JBL Testlab et l'identification phénotypique par le microscope optique a été effectuée à l'aide de guide d'identification "**Freshwater algae**" (Edward et David., 2010).

Les résultats sont :

La zone étudiée est adaptée à la production de souches d'algues riches en lipides et l'extraction des acides gras à partir de laquelle,

**Mots clés:** Oued Righ, Lac, Microalgues, Lipides, Identification phénotypique.

### Abstract

The objective of this study is to identify and evaluate microalgal strains rich in lipids isolated from eight stations in the region of Oued Righ (Lac Ayata, Lac Tindla, Lac Ain Ezzarga, Lac N'sigha, Oued Khrouf, Oued Sidi Khelil and Canal Oued Righ in two stations in Djamaa and El Meghaier).

After a good sampling strategy, physicochemical analyzes of the water are carried directly after sampling by a JBL Testlab analysis kit and the phenotypic identification by the optical microscope was carried on using identification guide "**Frechwater algae**" (Edward et David.,2010)

The results are:

The area studied is suitable for the production of strains of algae rich in lipids and the extraction of fatty acids from which,

**Keywords:** station, microalgae, lipids, phenotypic identification.

### ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تحديد وتقييم سلالات الطحالب الدقيقة الغنية بالدهون المعزولة من ثماني محطات في منطقة وادي ريغ (بحيرة عياطة ، بحيرة تندلة، بحيرة عين الزرقاء ، بحيرة نسيغة، وادي خروف ، وادي سيدي خليل وقناة وادي ريغ في محطتين بجامعة والمغرب).

بعد إستراتيجية جيدة لأخذ العينات ، قمنا بإجراء التحليلات الفيزيائية والكيميائية للمياه مباشرة بعد أخذ العينات بواسطة مجموعة JBL Testlab .

وتم تحديد النمط الظاهري بواسطة المجهر الضوئي باستخدام دليل تحديد الهوية "طحالب المياه العذبة" لادوارد وديفيد 2010 والنتيجة المتوصل إليها:

أن المنطقة المدروسة مناسبة لإنتاج سلالات من الطحالب الغنية بالدهون واستخلاص الأحماض الدهنية منها ،

الكلمات المفتاح: وادي ريغ ، بحيرة ، طحالب دقيقة ، دهون ، تحديد النمط الظاهري



## Liste des tableaux

Tableau1 : Compositions biochimiques de microalgues (Becker, 2007) .....	13
Tableau 2: Comparaison des avantages et inconvénients des bassins de type raceway et des photobioréacteurs. ....	25
Tableau 3: description des différentes stations de prélèvement.....	39
Tableau 4 : caractéristiques physiques des eaux prélevées. ....	45
Tableau 5 : caractéristiques chimiques des eaux prélevées.....	46
Tableau 6 : Distribution des taxons dans les différentes Stations de prélèvement.....	48

## Liste des figures

Figure 1 : Diversité morphologique des microalgues .....	7
Figure 2 : Photographie d'une cyanophycée <i>Anabaena</i> .....	8
Figure 3 : Schéma d'une structure de microalgue unicellulaire .....	9
Figure 4 : Photographie d'une <i>Bacillariophycée Navicula</i> .....	10
Figure 5 : Photographie d'une Chlorophycée <i>Chlorella vulgaris</i> .....	10
Figure 6 : Photographie d'une <i>Chrysophycée Dinobryon</i> .....	11
Figure 7 : Photographie d'une <i>Euglenophycée Euglena</i> .....	11
Figure 8 : Photographie d'une <i>Rhodophycée Rhodorus marinus</i> .....	12
Figure 9 : Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse .....	14
Figure 10 : Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH.....	16
Figure 11: Culture de Spiruline en raceway, Californie.....	20
Figure 12: Photobioréacteur plan .....	21
Figure 13: Photobioréacteurs tubulaires enroulés .....	23
Figure 14: Photobioréacteurs vertical avec éclairage artificiel (Andersen, 2005) .....	23
Figure 15: Système gaine « Plastic bag ».....	23
Figure 16: Courbe de croissance de microalgues.....	29
Figure 17: Schéma du Cycle de Calvin. ....	32
Figure 18: Diagramme représentant les processus de conversion de biomasse microalgale pour la production de biocarburant.....	35
Figure 19 : Principales zones humides de la vallée de l'Oued Righ .....	38
Figure 20: Description des différentes stations de prélèvement à Djamaa .....	40
Figure 21: Description des différentes stations de prélèvement à El Meghaier.....	40
Figure 22: Mode de prélèvement et échantillonnage .....	42
Figure 23 : les souches dominantes dans les stations de Djamaa.....	49
Figure 24 : les souches dominantes dans les stations d'El Meghaier.....	49

# SOMMAIRE

Remercîment .....	2
Dédicace.....	3
Résumé .....	خطأ! الإشارة المرجعية غير معرفة.
Liste des tableaux .....	9
Liste des figures .....	10
Introduction général .....	13

## Synthèse Bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur les microalgues

I-1.Définition des microalgues.....	6
I-2.Caractéristiques des microalgues.....	6
I-3.Classification des microalgues.....	7
I-3.1.Procaryotes .....	8
I-3.2. Eucaryotes .....	9
I-4.Composition biochimique des microalgues.....	12
I-4.1.Carbohydrates(sucres) .....	12
I-4.2.Protéines .....	12
I-4.1.Lipides .....	13
I-5.Ecologie, Besoins et Facteurs influents sur la croissance des microalgues .....	13
1-5.1. Lumière .....	14
1-5.2. Température .....	15
I-5.3. Relation (pH ~CARBON INORGANIQUE) .....	15
1.5.5- présence en mixité.....	17

### Chapitre II : Culture des microalgues

II-1. Systèmes de cultures des microalgues .....	19
II-1.1.Le Système ouvert« raceway ».....	19
II-1.2.Les systèmes fermes « Photobioréacteurs » .....	20
II-1.3.Comparaison entre le raceway et les photobioréacteurs .....	24
II-1.4.Récolte et purification des microalgues .....	25
II-2. Modes de cultures des microalgues .....	26
II-2.1.Culture en batch.....	26

II-2.2.Culture en continu .....	27
II-2.3.Culture en semi continue .....	27
II-3. Dynamique de croissance des microalgues .....	27

### **Chapitre III : Synthèse des lipides des microalgues et leurs intérêts**

I-La photosynthèse et la synthèse des lipides chez les microalgues .....	31
I-1.La photosynthèse .....	31
I-2. Fixation de CO <sub>2</sub> : cycle de Calvin .....	31
II. Molécules d'intérêts produites par les microalgues.....	33
II-1. Les lipides .....	33
III-Application des microalgues.....	33
III-1. Alimentation et nutrition.....	33
III-2. Cosmétique et santé .....	33
III-3.Energie .....	34

### **Partie Pratique**

#### **Chapitre I : Matériels et méthodes**

I-Description de la zone d'étude .....	38
II-Matériel .....	41
II-1. Matériel d'échantillonnage.....	41
II-2. Matériel de laboratoire .....	41
III-Méthodes.....	41
III-1. Méthode d'échantillonnage.....	41
III-2. Analyses physicochimiques des eaux .....	42

#### **Chapitre II : Résultats et discussion**

I-Analyses physico-chimiques des eaux .....	45
I-1. Détermination des paramètres physiques .....	45
I-2. Détermination des paramètres chimiques .....	46
II- Identification phénotypiques des microalgues .....	47
<b>Conclusion.....</b>	<b>50</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>52</b>

# **Introduction général**

## Introduction général

Tous les organismes vivant ont une fraction de lipides, chez les microalgues celle-ci peut être considérablement augmentée. Certaines espèces peuvent en emmagasiner jusqu'à 80% de leur poids sec par l'application de conditions stressantes (Chisti, 2007). L'étude menée par NREL (National Renewable Energy Laboratory) aux Etats Unis a permis de sélectionner près de 3000 espèces de microalgues. Celles à forte production de lipides (Sheehan et al.,1998). Les acides gras les plus recherchés sont ceux dont la longueur de la chaîne varie de 14 à 18 carbones (Huang et al.,2010), ces derniers une fois estérifiées sont les composants majoritaires du biodiesel.

Les microalgues sont des organismes microscopiques, procaryotes ou eucaryotes photosynthétiques vivant dans les mers, les océans, les eaux douces et les eaux saumâtres (BBSRC, 2011). La présence de microalgues se manifeste aussi par des salissures provoquées sur les surfaces immergées des murs et des troncs d'arbres. Leur coloration est due à la coexistence, dans leurs cellules, de pigments variés dont le plus important est la chlorophylle sous ses trois formes (a, b, et c) (SADI, 2012). Elles sont utilisées en plusieurs industries dans des différents domaines telles que: énergétique, pharmaceutique, nutraceutique, cosmétique et surtout alimentaire.

Depuis plusieurs années, de nombreuses espèces de microalgues sont étudiées et testées dans le monde. Certaines présentent des rendements en biomasse prometteurs avec des teneurs particulièrement élevées en lipides. De plus, leurs rendements énergétiques à l'hectare sont plus de dix fois supérieures à ceux des meilleures cultures terrestres. La plus grande part du concept d'algo-carburants repose sur la reproduction en mode accéléré du processus photosynthétique opéré par les microalgues dans les mers. Les technologies qui exploitent ce concept ne nécessitent donc pas d'irrigation, pas de grandes quantités d'eau potable, pas de pesticides ou d'immenses surfaces de terres cultivables. De plus, ces technologies peuvent être appliquées à l'épuration d'eaux usées et à la captation du CO<sub>2</sub> industriel issu de centrales au charbon ou d'autres procédés.

En Algérie, il n'y a aucune exploitation des microalgues riches en lipides dans l'industrie et l'agriculture malgré l'existence de 51 sites classés comme zone humide selon la convention de RAMSAR, mais on peut noter des études sur l'utilisation des microalgues riches en lipides.

## **Introduction général**

Dans cette étude, nous avons essayé de l'identification et l'évaluation des souches microalgale riches en lipides isolées de huit stations dans la région d'Oued Righ et l'extraction des acides gras à partir de laquelle, mais malheureusement la propagation de la pandémie de COVID-19 empêchez-nous de finaliser notre travaille et l'arrêt après nous avons effectué les analyses physicochimiques des eaux et l'identification phénotypiques des souches microalgale.

Le présent travail est subdivisé en deux parties.

La première partie (partie théorique) est constituée par trois chapitres, Chapitre I: Généralité sur les microalgues, Chapitre II: Culture des microalgues, Chapitre III: Synthèse des lipides des microalgues et leurs intérêts. La deuxième partie (partie pratique) avec deux chapitres, Chapitre I: la présentation des matériels et méthodes utilisées, Chapitre III: résultats et discussion.

**Synthèse**  
**Bibliographique**



**Chapitre I :**  
**Généralités sur les**  
**microalgues**

# Chapitre I : Généralités sur les microalgues

## I-1. Définition des microalgues

Les microalgues sont des organismes microscopiques unicellulaires photosynthétiques qui se développent dans les milieux fortement aqueux et sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone (CO<sub>2</sub>) en un ensemble de produits organiques. On utilise le terme «micro» car la taille d'une microalgue varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres(Dejoye, 2013).

Elles sont présentes sur l'ensemble des surfaces du globe : des océans (soit  $\frac{2}{3}$  de la surface terrestre) aux glaces arctiques, en passant par les lacs hyper-salés, les neiges éternelles, les forêts humides et les murs de nos maisons. Le phytoplancton, qui comprend les microalgues et les bactéries phototrophes, participe à 50 % de la production primaire mondiale et joue ainsi un rôle majeur dans la séquestration du dioxyde de carbone atmosphérique (Bougaran et Saint-Jean, 2014).

## I-2. Caractéristiques des microalgues

La majorité des microalgues sont dites photo-autotrophes ou autotrophes. Elles tirent leur énergie de la lumière par photosynthèse et leur principale source nutritive est le CO<sub>2</sub> en solution dans l'eau. Leur relative simplicité et la petitesse de leur taille permettent d'effectuer une photosynthèse très efficace. Elles convertissent ainsi l'énergie lumineuse en lipides et en hydrates de carbone, des formes plus condensées et stables d'énergie.

De plus, leur condition aquatique leur donne un accès optimal à l'eau et en particulier aux nutriments comme le CO<sub>2</sub> dissout. Par exemple, ces petites plantes peuvent être de dix à trente fois plus productives en huiles par unité de surface de production en comparaison avec les cultures oléagineuses terrestres conventionnelles. Certaines espèces peuvent aussi être chémo-hétérotrophes ou hétérotrophes. Ainsi, au besoin, elles sont capables de puiser de l'énergie et des nutriments directement des matières organiques présentes dans le milieu aquatique (Chevalier et al., 2002). Par exemple, l'espèce *Agmenellumquadruplicatum* devient hétérotrophe en conditions de faible luminosité (Van Baalen and al., 1970). La majorité des microalgues croissent à une température de 25-35°C avec un pH neutre (Zeng et al., 2011).

## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

Les microalgues présentent des formes variables : souvent sphériques (*porphyridium*), en forme de croissant (*clostridium*), de spirale (*Arthrospira*), de gouttelette (*chlamydomonas*) et même d'étoile (*Staurastrum*) (voire figure 1).

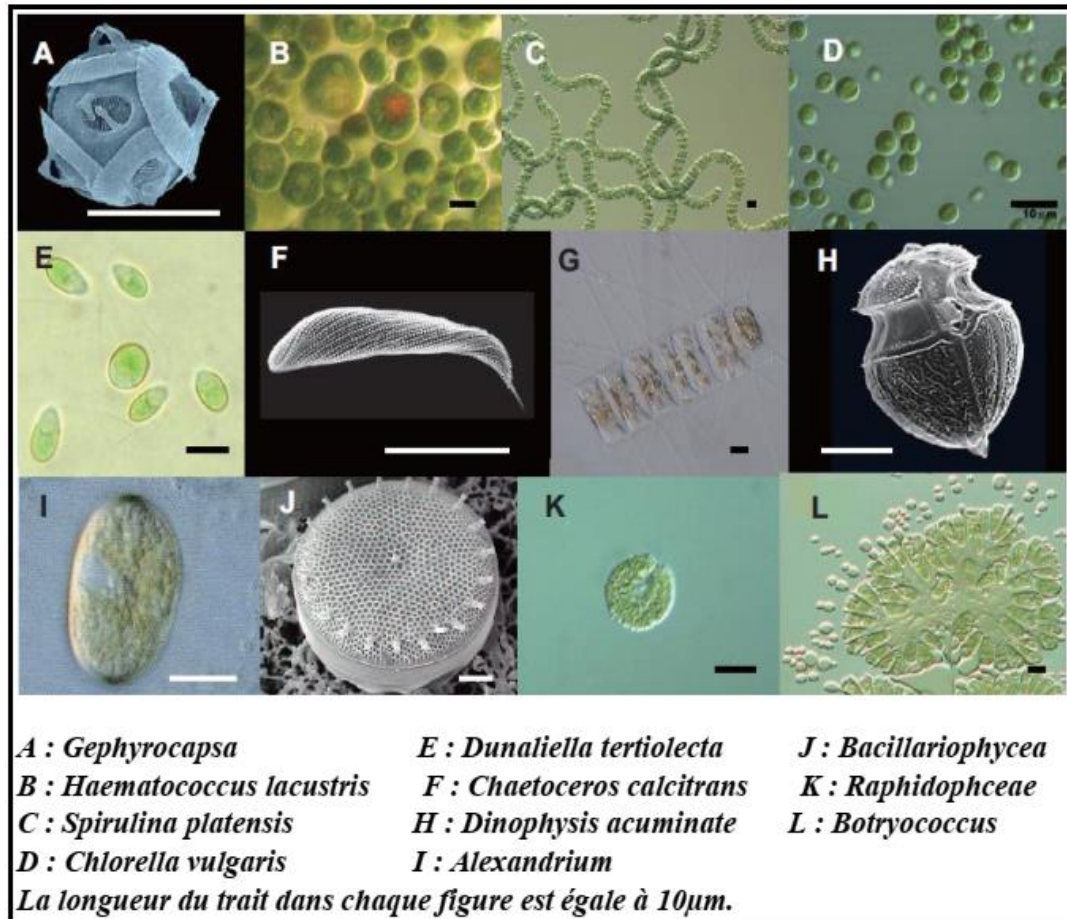


Figure 1: Diversité morphologique des microalgues (Sumi, 2009)

### I-3. Classification des microalgues

Le nombre d'espèces de microalgues identifiées et analysées s'élève à environ 30 000, mais une part importante de la diversité réelle, estimée à plusieurs millions, reste à découvrir. Les familles se distinguent par leurs pigments photosynthétiques (couleurs), leur réserve énergétique, leur paroi cellulaire, ainsi que par de nombreuses caractéristiques structurales (mode de groupement, morphologie, mobilité, patron de division cellulaire) qui permettent de les identifier. (Richmond, 2004), on distingue principalement deux grands groupes de microalgues :

## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

### I-3.1. Procaryotes

Ce sont des organismes unicellulaires qui sont dépourvus de noyau et ne présentent que très rarement des organites cellulaires. Ils se présentent essentiellement par les *cyanophycées*, appelées également cyanobactéries, sont des microalgues procaryotes de coloration bleu-verte de petites tailles (10  $\mu\text{m}$ ) qui peuvent se développer dans quasiment tous les habitats : eaux douces, salées, saumâtres et également dans les sols grâce à leur capacité à résister aux conditions climatiques extrêmes. Malgré ses aptitudes à se développer dans des milieux extrêmes, les Cyanophycées possèdent des températures de croissance optimales aux alentours de 30-35°C. La seule exigence des Cyanophycées est la présence obligatoire de lumière c'est pourquoi on les considère comme des organismes autotrophes obligatoires. En cas d'absence de lumière, certaines espèces de Cyanophycées sont en mesure d'oxyder certains sucres présents dans leur composition. De façon générale, elles emmagasinent principalement leur énergie sous forme d'amidon ou encore sous forme de lipides. Elles sont environ 2000 espèces dans ce groupe pouvant être divisées en 150 genres. Les espèces les plus connues sont *Spirulina*, *Nostoc commune* et *Aphanizomenomflos-aquae* (Pulz and Gross, 2004) (voir figure 2).



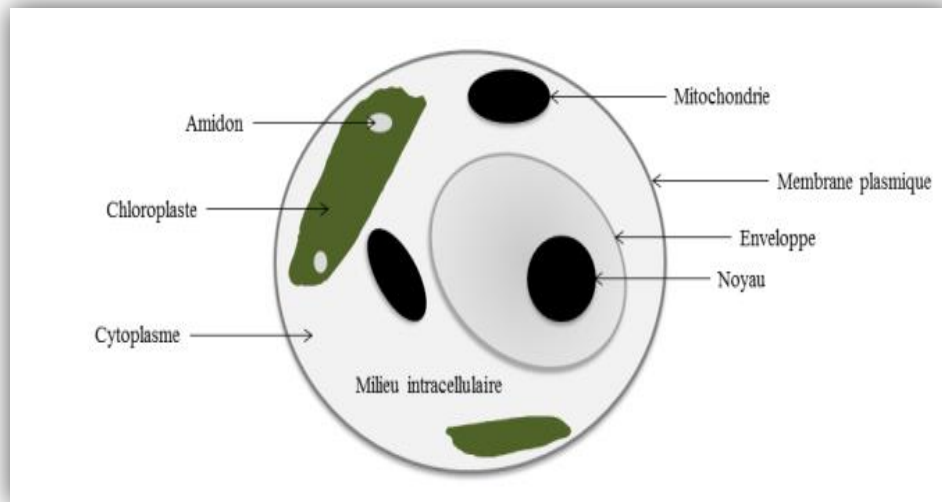
**Figure 2 : Photographie d'une cyanophycée *Anabaena***  
(<https://fr.wikipedia.org/wiki/Cyanobacteria>)

# Chapitre I : Généralités sur les microalgues

## I-3.2. Eucaryotes

Ce sont des organismes uni ou pluricellulaires qui présentent une structure complexe contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs organites intracellulaires.

(Comme montré dans la figure 3).



**Figure 3 : Schéma d'une structure de microalgue unicellulaire  
(Céline Dejoye ., 2018)**

- ***Diatomées***

Ils sont appelés également les *Bacillariophycées* qui représentent le groupe majoritaire des diatomées et sont très répandues dans tous les types d'habitats. Plus de 100 000 espèces sont connues et il en existerait plus d'un million. Les *Bacillariophycées* sont unicellulaires et mesurent de 2µm à 1mm. Ils emmagasinent leurs réserves sous forme de *chrysolaminaran*, un polysaccharide, ainsi qu'en lipides. Ces espèces sont d'ailleurs reconnues pour leur contenu en acides gras et pendant plusieurs années, les scientifiques croyaient que les lipides représentaient leurs seuls composés de réserve. (Chinnasamy et al, 2010)(Voire figure 4).

## Chapitre I : Généralités sur les microalgues



Figure 4 : *Bacillariophycée Navicula* (<http://www.plancton-du-monde.org>)

- *Chlorophycées*

Ce sont des microalgues vertes retrouvées dans tous les types d'habitat et, l'amidon et les lipides représentent leurs principales réserves énergétiques. Les espèces présentes dans ce groupe peuvent à la fois avoir un métabolisme autotrophe ou hétérotrophe. L'espèce la plus répandue et la plus étudiée actuellement est *Chlorella vulgaris* mais on peut également citer *Chlamydomonas*, *Dunaliella* et *Haematococcus* (Pulz and Gross, 2004) (comme montré dans la figure ci-dessous).

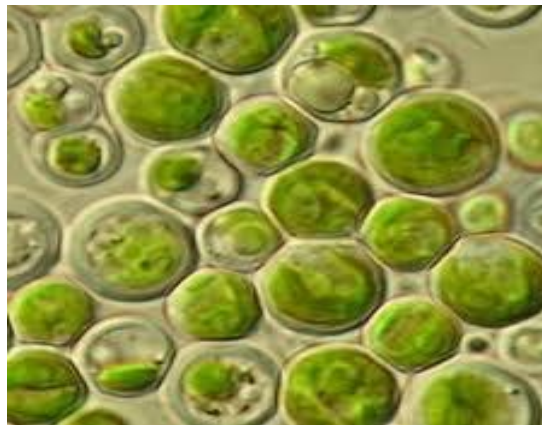


Figure 5 : *Chlorophycée Chlorella vulgaris*

(<https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>)

- *Chrysophycées*

## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

Ce sont des algues dorées qui se répandent essentiellement dans les eaux douces. On répertorie environ 1 000 espèces avec des caractéristiques similaires à celles des diatomées du point de vue pigmentation et structure biochimique (Alcaine, 2010) (figure 6).



**Figure 6 : Photographie d'une**  
*Chrysophycée* *Dinobryon* (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Chrysophyceae>)

- *Euglenophycées*

Il existe près de 800 espèces d'Euglenophycées qui sont retrouvées généralement dans les eaux saumâtres et douces. Ces algues sont essentiellement constituées de *paramylon*, substance glucidique, et d'huile. Il est difficile de définir un mode de culture pour ces algues qui peuvent croître autant en milieu autotrophe qu'en milieu hétérotrophe (figure 7).

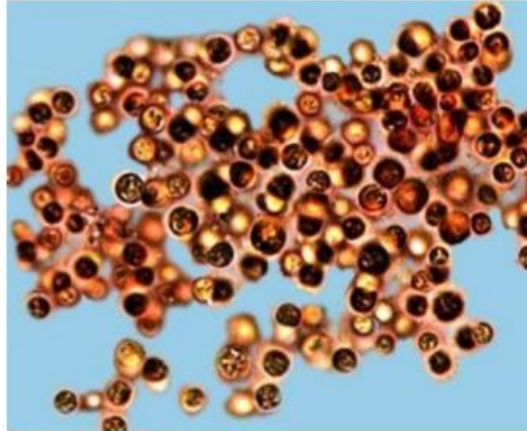


**Figure 7 : Photographie d'une** *Euglenophycée* *Euglena* (<http://protist.i.hosei.ac.jp>)

- *Rhodophycées*

## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

Ce sont des algues de pigmentation rouge qui sont capables de se développer dans les eaux saumâtres et salées. Cette classe comprend près de 400 espèces présentant dans la majorité des cas un métabolisme photo-autotrophe (Chevalier et al., 1977) (voire figure 8).



**Figure 8 : Photographie d'une**  
*Rhodophycée Rhodorus marinus* (<https://singellus.wordpress.com/>)

### I-4. Composition biochimique des microalgues

Les microalgues sont composées des grandes classes de biomolécules, comme chez les autres organismes vivants, mais leur diversité est exceptionnelle. De plus, le contenu biochimique des microalgues peut être fortement modifié selon les conditions de croissance de l'organisme (Beer et al, 2009).

#### I-4.1. Carbohydrates (sucres)

Ils sont souvent stockés sous forme d'amidon ou d'un sucre de structure similaire. Des grains d'amidon peuvent être aisément observés au microscope optique à l'intérieur des cellules. Leur degré de polymérisation est très variable (Anderson, 2013)

#### I-4.2. Protéines

La diversité des protéines d'algues est également très importante, la composition protéique peut être modifiée en changeant les conditions environnementales (Grossman et al, 1995). Les cyanobactéries, avec leur paroi cellulaire en peptidoglycane, sont très riches en protéines (40 à 60 %MS) (Becker, 2007). Les algues vertes sont également très riches en protéines (30 à 60 %MS). Les cellules en croissance active, en phase de division cellulaire sont souvent



## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

plus riches en protéines, mais dans la phase stationnaire sont plus riches en lipides. Certaines algues ont la capacité de stocker de l'azote sous forme de protéines, lorsque ce nutriment devient limitant, l'algue peut rélarguer l'azote nécessaire à partir des protéines accumulées (Kuchitsu et al, 1988).

### I-4.1.Lipides

Les lipides existent chez les algues également sous une grande diversité de structure. Une grande diversité d'acide gras et de stérols existe. Ils sont présents dans les membranes cellulaires et sont donc plus difficiles à extraire que les autres types de lipides qui s'accumulent sous forme d'inclusions. Les galactolipides sont les constituants les plus abondants des membranes des thylakoïdes. Dans les inclusions, sont retrouvés le plus souvent des lipides de réserve. Parmi eux, on compte des acides polyinsaturés (AGPI), dont notamment de l'acide arachidonique (oméga-3), de l'acide docosahexaénoïque (DHA), de l'acide eicosapenténoïque (EPA). Les hydrocarbures (HC) sont rarement retrouvés en forte proportion chez les algues.

Il est à noter que la composition en lipides est très liée aux conditions de culture, en particulier la concentration en azote dans le milieu de culture. En effet, de nombreuses algues vertes accumulent des lipides en conditions de stress, notamment en carence en azote (Gushchina and Harwood, 2006)

Le tableau suivant présente la composition biochimique de certaines espèces des microalgues

Tableau1 : Compositions biochimiques de microalgues (Becker, 2007)

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

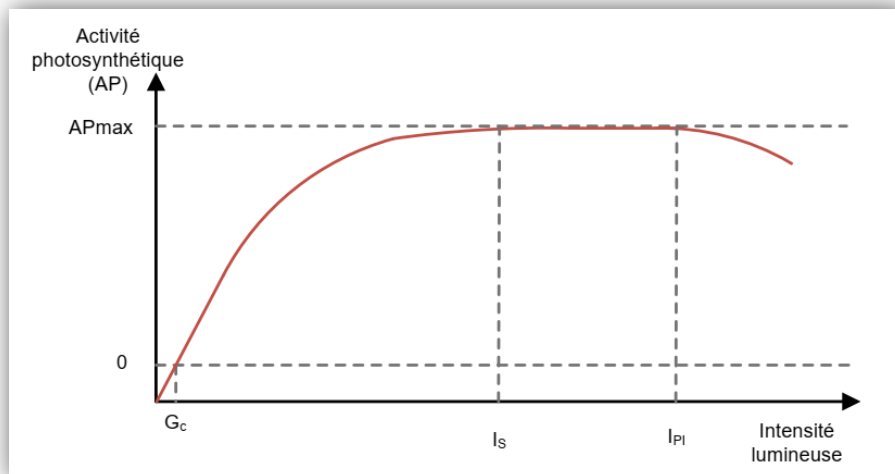
### I-5. Ecologie, Besoins et Facteurs influents sur la croissance des microalgues

## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

Pour croître, les microalgues ont de nombreux besoins, les facteurs physiques les plus importants sont une source d'énergie, généralement la lumière et une température optimale. Et les facteurs chimiques sont la concentration disponible en dioxyde de carbone et un apport en macronutriment et en oligo-éléments (Burlew, 1953). La croissance algale est affectée par plusieurs paramètres comme les suivants :

### 1-5.1. Lumière

La lumière est le facteur le plus important pour la croissance photosynthétique des algues. Elle a un effet sur la composition cellulaire des microalgues (photo-adaptation ou photo-acclimatation) (Hu, 2004). L'énergie radiative ne s'accumule pas, c'est pour cela que la lumière doit être fournie en permanence et doit être considérée comme un substrat (Grima et al, 1996 ; et Miron et al., 2000). A de faibles intensités lumineuses, le taux de photosynthèse (ou activité photosynthétique) dépend linéairement de l'intensité lumineuse mais avec l'augmentation de l'intensité lumineuse, l'activité de la photosynthèse augmente jusqu'à atteindre un plateau, ce phénomène est la photo-limitation. Sous de plus fortes intensités lumineuses, l'activité de la photosynthèse diminue, ce phénomène est appelé la photo-inhibition (Figure I-9). (Grima et al., 1996).



**Figure 9 : Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse (Masojidek et al., 2004)**

## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

Avant une certaine intensité lumineuse ( $G_C$  : Intensité de compensation) il n'y a pas d'activité de photosynthèse. Seule l'activité de respiration cellulaire est présente. L'intensité de compensation est l'intensité où la photosynthèse compense juste la respiration. L'intensité lumineuse de saturation ( $I_S$ ) est l'intensité où l'efficacité de la photosynthèse (ou taux de photosynthèse) est maximale (photo-limitation).

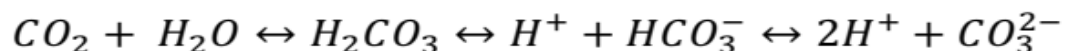
L'intensité lumineuse d'inhibition ( $I_{PI}$ ) est l'intensité où l'activité de la photosynthèse est inhibée par la lumière. D'après Barbosa et al 2003a, la photo-inhibition devient prononcée pour une intensité lumineuse supérieure à  $1200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ .

### 1-5.2. Température

La température est un des facteurs physiques influençant le plus la croissance des microalgues. Pour chaque température il y a une intensité lumineuse spécifique pour atteindre le taux de photosynthèse maximal. La température optimale augmente donc avec l'augmentation de l'intensité lumineuse. Il y a aussi une température optimale pour une production de biomasse maximale<sup>2</sup> mais la variation de la température agit aussi sur la composition cellulaire. La diminution de la température augmente le degré de saturation des lipides et l'augmentation de la température entraîne l'augmentation des concentrations des pigments mais aussi une augmentation de la concentration des radicaux d'oxygène. Si les microalgues ne croissent pas à la température optimale, le besoin en carbone et en nutriment $\mu$  pour obtenir le même taux de croissance est plus important (Hu, 2004).

### I-5.3. Relation (pH ~CARBON INORGANIQUE)

Les microalgues ont besoin de carbone inorganique pour la photosynthèse, il peut être apporté sous forme de sels (bicarbonate) ou par enrichissement de l'air insufflé (car l'air ambiant ne contient pas assez de  $\text{CO}_2$  pour la culture intensive des microalgues). Pour que les microalgues puissent utiliser le  $\text{CO}_2$  pour la photosynthèse, celui-ci doit être solubilisé (Cadoret et Bernard, 2008). Le dioxyde de carbone, au dissout de l'eau prend plusieurs formes en fonction du pH



## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

Au niveau de la cinétique de ces réactions, la réaction redonnant du  $\text{CO}_2$  est plutôt lente, alors que les réactions dont le  $\text{HCO}_3^-$  est le protagoniste sont presque immédiates (Becker, 1994) (figure 10).

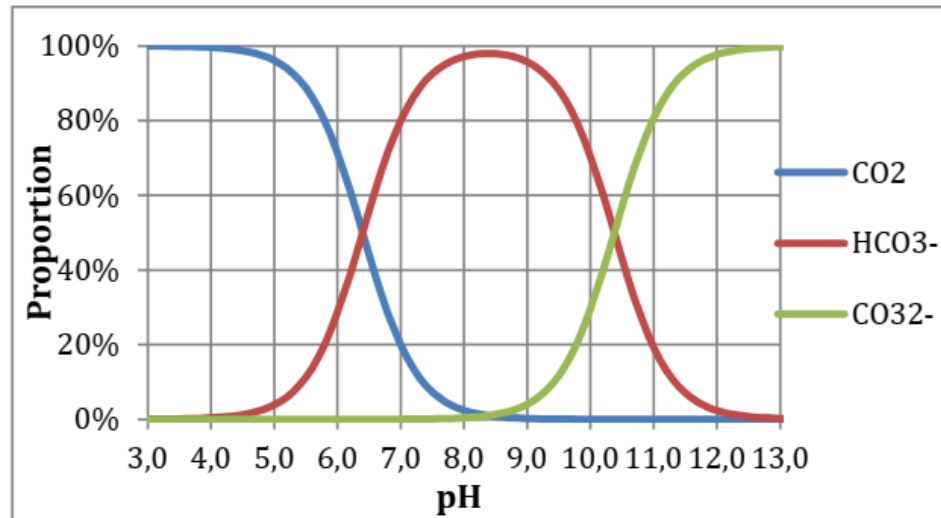


Figure 10 : Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH (Lucchetti, 2014)

A un pH inférieur à 4,4, la forme du carbone très majoritaire est le dioxyde de carbone. A un pH de 6,4 il y a autant de dioxyde de carbone que d'ions bicarbonates et à un pH de 10,4 il y a autant d'ions carbonates que d'ions bicarbonates. Pour un pH situé entre 8,3 et 9,5, les ions bicarbonates sont majoritaires. A partir d'un pH de 12,3 les ions carbonates sont majoritaires. Les microalgues vivent généralement dans un milieu à un pH neutre. Le carbone dissout sera donc sous forme de dioxyde de carbone et d'ions carbonates. (Lucchetti, 2014)

### 1.5.4- Besoins nutritifs

L'azote est un élément essentiel des protéines de structure et de fonctionnement, c'est l'élément le plus important après le carbone (Becker, 1994). Le taux de croissance des microalgues est à peu près identique selon les sources d'azote utilisées (urée, nitrite, nitrate).

De nombreuses études montrent l'amélioration de la production et du stockage de lipides dans le cas d'une carence en azote. Il y a aussi une accumulation des caroténoïdes secondaires dans ce cas.

Le phosphore est un macronutriment important dans les processus de métabolisme cellulaire. Une carence en phosphore peut entraîner des accumulations de pigments chez certaines

## Chapitre I : Généralités sur les microalgues

microalgues, mais l'impact est plus faible qu'une carence azotée (Becker, 1994). Les microalgues ont besoin de potassium, de fer, de silice (pour les diatomées), de soufre, de métaux sous forme de traces et de vitamines. Le fer est un oligo-élément essentiel pour la croissance des microalgues de par son implication dans le transport des électrons dans le processus de la photosynthèse (Hu, 2004).

### 1.5.5- présence en mixité

Les cultures de microalgues ont besoin d'être mélangées, continuellement ou non selon les espèces, pour plusieurs raisons (Grobbelaar, 2000)

- Prévenir la sédimentation algale ;
- Prévenir la formation d'un gradient de nutriment ou de gaz ;
- Déplacer les cellules dans le gradient de lumière, cela diminue la photo-limitation et photo-inhibition (Chisti, 2007) ;
- Diminuer la concentration en oxygène dissous ;
- Augmenter les échanges de nutriments et les transferts de masse.

Le mélange est un facteur important pour avoir un grand rendement en biomasse car cela augmente la productivité et la concentration optimale (Richmond, 2004 ; Grobbelaar, 1994). L'augmentation de la turbulence du milieu permet aussi d'augmenter les échanges de nutriments et de métabolites entre les cellules et le milieu de culture. Cependant, les algues étant sensibles au cisaillement (Barbosa et al., 2003 ; Chisti, 2007), Les forts régimes de turbulence ne sont généralement pas utilisés avec les microalgues car l'augmentation de la turbulence augmente le risque de dommages cellulaires. Les dommages cellulaires sont très probables en airlift ou en colonne à bulles à de fortes turbulences, (Miron et al., 1999). Les dommages cellulaires sont dus à (Contreras et al., 1998a) :

- La force hydrodynamique sur les cellules due au mélange ;
- L'interaction des cellules avec les bulles ascendantes et coalescentes et aussi avec celles au niveau de la surface.

**Chapitre II :**  
**Culture des microalgues**

## Chapitre II : Culture des microalgues

### II-1. Systèmes de cultures des microalgues

La culture à l'échelle laboratoire et semi-industrielle est déjà bien étudiée, connue et est maîtrisée, ce qui n'est pas encore le cas pour la culture à grande échelle (Singh et Sharma, 2012). Deux moyens principaux de cultures de microalgues ont été développés (Olaizola, 2003), aussi bien à l'échelle laboratoire qu'à l'échelle industrielle. Les systèmes ouverts, où une partie importante de la culture est exposée à l'atmosphère, communément appelés bassins. Les systèmes fermés, où les cultures n'ont pas, ou peu, de contact direct avec l'atmosphère. Ces systèmes sont appelés des photobioréacteurs. (Grobbelaar et Kurano, 2003). Le choix du système de production dépend du degré de contrôle nécessaire à la production du produit voulu et de sa valeur (Apt et Behrens, 1999). Au niveau industriel, les microalgues sont souvent cultivées en bassin mais la production de molécules à haute valeur ajoutée ne peut pas se faire en système ouvert (Camacho Rubio et al., 1999).

#### II-1.1. Le Système ouvert « raceway »

Le système ouvert est le système d'exploitation qui a été majoritairement utilisé pour la culture industrielle des microalgues dans les dernières décennies. Le système ouvert est plus facile et moins chers à construire et à exploiter que les réacteurs fermés. Ce système est le moins énergivores et a une maintenance et un nettoyage facile (Brennan et Owende, 2010). C'est pour ces raisons qu'il est toujours considéré à l'heure actuelle comme un système de culture viable (Langley et al., 2012) malgré sont faible productivité. Le système ouvert utilise généralement que la lumière naturelle, il n'y a donc pas de coût associé à l'apport de lumière pour ce système de culture. Cependant, les microalgues dans ce système de culture n'ont qu'une utilisation faible de la lumière (Razzak et al., 2013) et sont soumises aux variations journalières et saisonnières de la température et de l'intensité lumineuse (Apt et Behrens, 1999). Des problèmes de contaminations existent (par des bactéries, champignons, protozoaires et d'autres microalgues) et de grosses pertes d'eau par évaporation (Chisti, 2007) sont observées dans ce type de système de culture. Les conditions de cultures sont peu contrôlables et il existe seulement quelques microalgues assez résistantes pour croître sous les conditions extrêmes qui sont habituelles aux bassins ouverts (haut pH, haute température ou haute salinité) (Sierra et al., 2008).

Le raceway est principalement utilisés pour la culture de *Dunaliella salina*, *Chlorella* et de *Spiruline*. Le principe est de faire circuler les algues sur une faible largeur et profondeur

## Chapitre II : Culture des microalgues

(entre 15 et 50 cm) mais sur une grande distance. La circulation et le mélange s'effectuent grâce à des roues à aubes. La productivité de ces bassins est d'environ 20-25 g.m<sup>-2</sup>.j<sup>-1</sup>, pour une concentration cellulaire inférieure à 0,6 g.L<sup>-1</sup> (Tredici, 2004). L'utilisation de CO<sub>2</sub> n'est pas efficace dans les raceway et il y a un faible mélange (Chisti, 2007) (voire figure 11).



**Figure 11: Culture de Spiruline en raceway, Californie (Andersen, 2005).**

### II-1.2. Les systèmes fermes « Photobioréacteurs »

Les photobioréacteurs sont des réacteurs fabriqués à partir de matériaux transparents. Leur conception est basée sur la surface éclairée, l'efficacité du mélange et le contrôle des paramètres de culture (température, teneur en dioxyde de carbone et en oxygène, pH), pour atteindre une productivité maximale. Les systèmes fermés ont été conçus pour pallier les problèmes des bassins (Brennan et Owende, 2010). Ils offrent un environnement de culture clos, ils protègent la culture des contaminations directes, permettent un meilleur contrôle des conditions de cultures : la température est contrôlée efficacement, l'accès à la lumière est augmenté par rapport au bassin, l'évaporation du milieu de culture est minimisé, l'approvisionnement en CO<sub>2</sub> est facilité et ses pertes sont limitées (Contreras et al., 1998a). Le Photobioréacteur permet la disposition efficace de la lumière mais aussi l'enlèvement de l'oxygène produit par la photosynthèse (Babcock et al., 2002). Grâce à ce contrôle des paramètres, des microalgues plus fragiles peuvent y être cultivées. Les photobioréacteurs permettent la reproductibilité des conditions de culture ainsi qu'une forte concentration cellulaire et une forte productivité. Les bassins ont une faible productivité (0,05 à 0,1 g.L<sup>-1</sup>.j<sup>-1</sup>)



## Chapitre II : Culture des microalgues

et de faibles concentrations cellulaires ( $<1 \text{ g.L}^{-1}$ ) par rapport aux photobioréacteurs (concentration supérieure à  $1 \text{ g.L}^{-1}$  et productivité supérieure à  $0,8$  à  $1,3 \text{ g.L}^{-1}.\text{j}^{-1}$ ) (Pulz, 2001). Cependant, d'après Sierra et al., 2008, la conception des photobioréacteurs doit être optimisée pour chaque espèce de microalgues, par rapport à ses caractéristiques physiologiques et à ses caractéristiques de croissance. De plus, les photobioréacteurs restent très chers à produire et à exploiter.

Les photobioréacteurs existent sous de nombreuses formes, mais ils peuvent être séparés en plusieurs catégories : les photobioréacteurs plans, les photobioréacteurs cylindriques, les photobioréacteurs « Plastic bag » et un type particulier de réacteurs pour la culture de microalgues en l'absence de lumière : les fermenteurs.

### II-1.2.1. Photobioréacteurs plans

Apparus dans les années 50, les photobioréacteurs plans ont des avantages pour la culture de masse (Sierra et al., 2008). Les photobioréacteurs plans sont des réacteurs de faibles épaisseurs, généralement inférieures à  $10 \text{ cm}$  (Chisti, 2007), cela permet de réduire le chemin lumineux (Degen et al., 2001). Ils sont disposés verticalement ou horizontalement avec une certaine inclinaison pour maximiser l'intensité lumineuse incidente (Chisti, 2007). Les plaques utilisées peuvent être des panneaux de verres ou des plaques alvéolaires en polymère (voire la figure ci-dessous).



**Figure 12: Photobioréacteur plan (Bitog et al., 2011)**

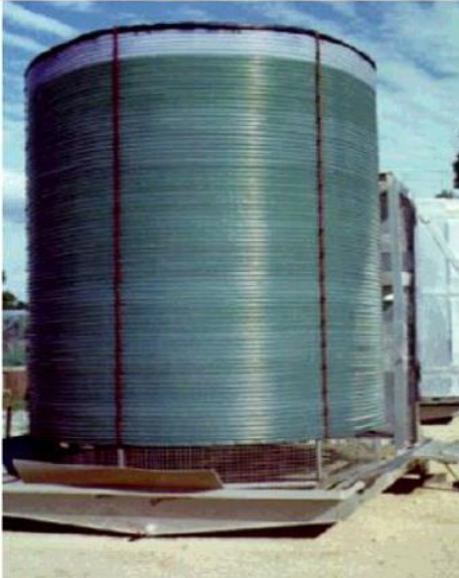
La productivité de ce système va de  $24$  à  $50 \text{ g.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$ . La circulation s'effectue par pompe ou injection d'air. De manière générale, moins l'épaisseur de culture est importante, plus

## Chapitre II : Culture des microalgues

la productivité sera élevée, mais il existe une épaisseur optimale pour chaque espèce de microalgue permettant d'obtenir une productivité maximale. D'après Hu et al., 1998, les photobioréacteurs plans d'une épaisseur d'un centimètre ont un meilleur taux de croissance et une meilleure productivité. L'avantage de ce système est une grande surface d'illumination (Razzak et al., 2013 ; Brennan et Owende, 2010). Le problème principal de ce type de photobioréacteur est que le CO<sub>2</sub> est très mal absorbé. Ces systèmes peuvent aussi accumuler une forte concentration en oxygène dissous (Tredici, 2004), ce qui inhibe la photosynthèse, et le contrôle de la température est difficile (Razzak et al., 2013 ; Brennan et Owende, 2010).

### II-1.2.2. Photobioréacteur tubulaire

Le photobioréacteur tubulaire (PBR) est une association de plusieurs tubes transparents en plastique ou en verre. La source de lumière peut être naturelle ou artificielle. Les tubes sont généralement de 10 cm de diamètre, facilitant la pénétration de la lumière à l'intérieur du tube. Ce milieu clos et hermétique évite les contaminations extérieures et permet la production de biomasse à large échelle (Carvalho et al., 2006; Pulz, 2001). L'injection d'air permet de fournir du carbone sous forme de CO<sub>2</sub>, de brasser le milieu et d'évacuer les poches d'oxygène toxique pour les microalgues. Un système de dégazage est nécessaire pour évacuer l'oxygène accumulé toxique pour les microalgues. La suspension microalgale circule du réservoir jusqu'aux tubes qui vont capter la lumière puis des tubes vers le réservoir ; la culture se fait de façon continue. Dans le cas de la lumière naturelle, l'arrangement des tubes se fait souvent du nord vers le sud pour assurer un ensoleillement maximal et parallèle ou horizontal pour que chaque tube puisse recevoir le même taux d'ensoleillement (SánchezMirón et al., 1999). La lumière artificielle des PBR est techniquement réalisable mais elle représente un coût important comparé à la lumière naturelle. Le contrôle de la température est un élément important à prendre en compte pour les photobioréacteurs. Un système d'échangeur de chaleur est nécessaire pour refroidir le milieu de culture qui est recyclé. Les systèmes fermés permettent d'exploiter une gamme de microalgues plus larges, d'atteindre de meilleurs rendements et de s'affranchir des problèmes de contaminations (comme montré dans les figures ci-dessous).



**Figure 13: Photobioréacteurs tubulaires enroulés (Andersen, 2005)**



**Figure 14: Photobioréacteurs vertical avec éclairage artificiel (Andersen, 2005)**

### II-1.2.3. Photobioréacteur gaine « plastique bag »

Ces photobioréacteurs sont des gaines en plastiques, suspendues à chaque extrémité à une structure en métal et généralement éclairées par des néons. D'environ une centaine de litres de culture, le milieu est mélangé par aération. La culture peut se faire en continu ou en batch. Ce système a un faible ratio surface/volume et peut avoir des problèmes d'encrassement (figure 16). Ce système est encore utilisé par certaines entreprises pour sa simplicité et sa facilité d'utilisation (Rengel, 2010) (figure 15).



**Figure 15: Système gaine « Plastic bag » (Pulz, 2007)**

## Chapitre II : Culture des microalgues

### II-1.2.4. Les fermenteurs

Un autre type de réacteur existe pour la culture de microalgues : les fermenteurs. Certaines espèces de microalgues peuvent croître en hétérotrophie, c'est à dire sans lumière et avec comme source de carbone des composés organiques comme du sucre. Le système des fermenteurs est une technologie bien connue, sophistiquée et qui existe à grande échelle (jusqu'à 500000 L). Tous les paramètres de la croissance sont facilement contrôlables (Apt et Behrens, 1999 ; Brennan et Owende, 2010). La culture en hétérotrophie est moins chère (< 6 €/kg de biomasse produite (Tredici, 2004 ; Apt et Behrens, 1999)) que la culture photosynthétique en photobioréacteur mais tous les composés moléculaires ne peuvent être produits par cette technique (Degen et al., 2001).

### II-1.3. Comparaison entre le raceway et les photobioréacteurs

Chaque système de culture possède ses avantages et ses inconvénients. La plus grande différence entre les systèmes fermés et les systèmes ouverts est le coût d'investissement et d'exploitation, les systèmes fermés étant beaucoup plus coûteux que les systèmes ouverts. Mais les systèmes fermés sont plus efficaces (Grobbelaar et Kurano, 2003) de par leur contrôle des conditions de culture, la limitation du risque de contamination, de l'évaporation de l'eau et de la perte de CO<sub>2</sub>. De plus, les systèmes fermés permettent une culture mono-algale (Chisti, 2007). L'un des inconvénients des photobioréacteurs est le risque d'encrassement et de « bio-fouling », c'est-à-dire la formation d'un bio-film s'accrochant sur les parois, diminuant la disponibilité de la lumière dans le photobioréacteur.

D'après Chisti 2007, la concentration en photobioréacteur peut atteindre trente fois celle en raceway. De plus, la productivité volumique de la biomasse est treize fois plus élevée en photobioréacteur. Le tableau 2 présente les plus importantes différences entre les deux systèmes.

## Chapitre II : Culture des microalgues

**Tableau 2: Comparaison des avantages et inconvénients des bassins de type raceway et des photobioréacteurs.**

<b>Système</b> <b>Paramètre</b>	<b>Raceway</b>	<b>Photobioréacteur</b>
<b>Risque de contamination</b>	Fort, sauf pour les espèces extrémophiles	Très faible si le procès est maîtrisé
<b>Impacts des conditions extérieures</b>	Important	Faible
<b>Dimensions des réacteurs</b>	Illimité	Limité
<b>Concentration en biomasse</b>	Faible	Elevée, jusqu'à 10 g. l-1
<b>Rapport S/V</b>	Faible (1 à 8)	Elevé (de 20 à 100)
<b>Perte en CO2</b>	Important	Maîtrisables
<b>Concentration en O2</b>	Faible	Elevée
<b>Eclairement</b>	Dépendance totale aux conditions climatiques	Possibilité d'éclairement en continu
<b>Agitation</b>	Nécessaire	Nécessaire
<b>Coût</b>	Elevée	Faible à modérée
<b>Refroidissement</b>	Non nécessaire	Nécessaire

### II-1.4.Récolte et purification des microalgues

Récolter des cellules de quelques microns de diamètre qui ont une densité proche de l'eau n'est pas une tâche aisée. Cette étape clé est trop souvent passée sous silence et constitue une réelle étape limitant dans une optique de production de biocarburants. Certaines espèces peuvent se récolter simplement par filtration sur des soies (spiruline), après décantation (*Odontellaaurita*) ou par filtration membranaire (Rossignol et al. 2000) voire séparation ultrasonique (Bosma et al. 2003). Pour beaucoup d'espèces il est nécessaire, après une étape de pré-concentration, de centrifuger (Heasman et al. 2000) l'échantillon pour diminuer son taux d'humidité. Des méthodes de floculation (Poelman et al. 1997; Knuckey et al. 2006) peuvent également être envisagées. Suivant les sous-produits à récupérer, il peut être nécessaire de sécher le produit obtenu. Les étapes associées à la récolte et au séchage peuvent être fortement demandeuses d'énergies.

## Chapitre II : Culture des microalgues

Les techniques classiques pour récupérer les lipides des microalgues consistent à utiliser un solvant (type hexane). Des méthodes alternatives (CO<sub>2</sub>sc) qui offrent des bilans globaux intéressants sont à l'étude (Crampon et al. soumis). Les techniques classiques de transestérification développées pour les plantes oléagineuses terrestres peuvent alors être appliquées pour la production d'ester méthylique d'huile végétale (biodiesel).

### II-2. Modes de cultures des microalgues

Il existe plusieurs modes de culture de microalgues : culture en batch, en continu ou en semi continu.

#### II-2.1.Culture en batch

C'est la méthode la plus commune pour la culture de cellules de microalgues. Dans un système de culture discontinue simple, une quantité limitée de milieu de culture complet et l'inoculum sont placés dans un récipient de culture et sont incubés dans un environnement favorable pour la croissance.

Une certaine forme d'agitation, tels que des tremblements, est nécessaire pour assurer l'échange des éléments nutritifs et gazeux à l'interface cellule-eau. Le récipient de culture peut être un flacon simple, conique ou un fermenteur contrôlé. Dans une culture photo-autotrophe ou mixotrophe, le CO<sub>2</sub> est fourni soit par la purge du ballon conique ou par gazage permanent avec de l'air enrichi en CO<sub>2</sub> (5% v/v, CO<sub>2</sub> dans l'air).

La culture est éclairée par une lumière artificielle au moyen de néons placé verticalement (Pohl et al., 1988; Javanmardian & Palsson, 1991; Muller-Feuga et al., 1998), ou bien grâce à la lumière du soleil au moyen des fibres optiques (Mori, 1985; Matsunaga et al., 1991; Ogonna et al., 1999) placés dans le récipient de culture.

En pratique, les algues sont transférées à des volumes de culture plus larges avant qu'ils atteignent la phase stationnaire. Elles sont amenées à une densité maximale puis sont récoltées. (Yuan-Kun Lee et Hui Shen, 2004)

## Chapitre II : Culture des microalgues

### II-2.2.Culture en continu

La culture en continu, c'est-à-dire une culture dans laquelle un milieu de culture neuf est introduit dans la chambre de croissance au même moment ou un même volume du milieu utilisé par les cellules est soutiré, permettant ainsi de maintenir un taux de croissance maximum.

Trois catégories de culture en continu sont distinguées : la culture en turbidostat (Yuan-Kun Lee et Hui Shen, 2004) .chemostat et cyclostat (Rhee et al., 1981).Le chemostat est largement utilisé en recherche, il permet un ajustement de la physiologie des cellules aux conditions optimales de culture en maintenant le taux de croissance spécifique.(Pirt et al., 1980;Iehana, 1983; Lee &Soh, 1991; Molina Grima et al., 1994).

### II-2.3.Culture en semi continue

La technique semi-continue prolonge la culture par l'utilisation de grands réservoirs. (Lavens et al., 1996). Dans une culture Fed-batch, le milieu est ajouté par intermittence alors que la culture est récoltée périodiquement ou à la fin du cycle de culture. donc le volume de la culture ne peut pas être constant et le taux de dilution varie avec le volume de culture (Lee, 1997).

## II-3. Dynamique de croissance des microalgues

Comme beaucoup de micro-organismes, la croissance de culture axénique de microalgues est caractérisée par quatre phases principales, ces derniers sont représentés par une courbe de croissance (Figure 16) :

### - Phase de latence

Durant cette phase il n'y a pas d'augmentation de la densité cellulaire, elle est relativement longue lorsque les cultures sont transférées d'un milieu solide à une culture liquide. Les cultures inoculées avec des cellules en phase exponentielle de croissance ont une phase d'adaptation courte. Le retard de la croissance peut être attribué à une adaptation physiologique des cellules (préparation du bagage enzymatique impliqué dans la fixation du carbone est la division cellulaire). (Lavens et al., 1996, Yuan-Kun Lee et Hui Shen, 2004).

## Chapitre II : Culture des microalgues

### - Phase exponentielle

A la fin de la phase de latence, les cellules sont adaptées à l'environnement et commencent à croître et à se multiplier, la croissance est accélérée. (Yuan-Kun Lee et Hui Shen, 2004). Durant cette phase, la densité cellulaire augmente en fonction du temps selon cette fonction :

$$C_t = C_0 e^{\mu t}$$

Avec :

- $C_t$  et  $C_0$  la concentration des cellules à  $t$  et  $t_0$  respectivement;
- $\mu$  : taux de croissance spécifique dépendant de l'espèce d'algue, de l'intensité lumineuse et de la température (Lavens et al., 1996).

### - Phase stationnaire

Les photons d'un flux lumineux traversent facilement une culture de faible concentration cellulaire, mais lorsque la culture présente une forte concentration, la majorité des photons seront capturés par les cellules, ces dernières continueront à croître jusqu'à ce que tout le flux impieçant la surface de la culture soit absorbé. Une fois cette concentration cellulaire atteinte, la biomasse s'accumule à un taux constant jusqu'à apparition d'un facteur limitant (épuisement du substrat, inhibition par les produits) c'est la phase stationnaire (Richmond., 2004). La phase Stationnaire peut être très courte si la densité cellulaire est trop élevée. (Lavens et al., 1996). La relation entre la densité du flux lumineux ( $I$ ) et le taux de croissance spécifique est exprimée selon la formule de Monod (Gobel.,1978)

$$\mu = \mu_m I / (I + K_I)$$

$\mu_m$  : taux de croissance maximum

$K_I$ : constante, densité du flux lumineux correspondant au demi du taux de croissance maximum.



## Chapitre II : Culture des microalgues

### - Phase de déclin

Durant cette phase, la qualité du milieu se détériore, le taux de nutriments est réduit à un taux qui ne peut satisfaire l'exigence des cellules. La densité cellulaire décroît rapidement.

En pratique, le déclin peut être dû à une multitude de facteurs (Lavens et al.,1996).

Incluant :

- L'épuisement des nutriments ;
- Le manque d'oxygène ;
- La surchauffe de la culture ;
- La variation de pH;
- La contamination.

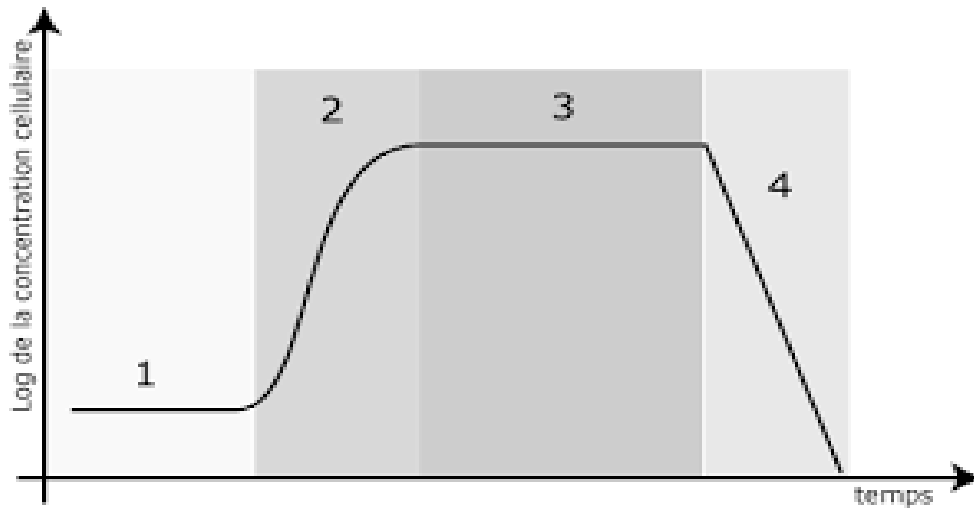


Figure 16: Courbe de croissance de microalgues.

**Chapitre III : Synthèse  
des lipides des  
microalgues et leurs**

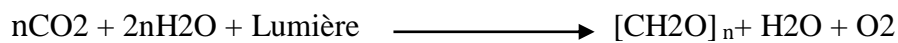
## Chapitre III : Synthèse des lipides des microalgues et leurs intérêts

### I-La photosynthèse et la synthèse des lipides chez les microalgues

#### I-1.La photosynthèse

La photosynthèse est le processus par lequel les microalgues transforment l'énergie lumineuse en énergie chimique et fixent le carbone inorganique dissous (CID). Il en résulte la synthèse de matière organique et la production d'oxygène. Ainsi l'activité photosynthétique est la fixation du CO<sub>2</sub> et la production d'O<sub>2</sub> via les mécanismes de la photosynthèse. Elle se compose de deux phases indépendantes chimiquement et physiquement, mais liées par des intermédiaires communs et des régulations enzymatiques(Larosière, 2012)

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

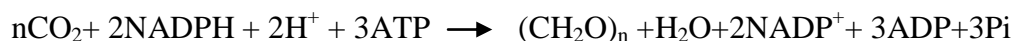


Bien que les deux phases se déroulent toutes les deux dans le chloroplaste de la cellule, elles se localisent au niveau de sites distincts. L'oxydation de l'eau et la réaction photochimique(Annexe3) ont lieu dans la membrane des thylakoïdes alors que la réduction de CO<sub>2</sub> se déroule dans le stroma des chloroplastes (Larosière, 2012)

#### I-2. Fixation de CO<sub>2</sub> : cycle de Calvin

Dans la cellule CO<sub>2</sub> va être intégré au cycle de Calvin, au niveau du chloroplaste. De ce processus va résulter la synthèse de matière organique.

Cette réaction peut s'écrire:



C'est l'enzyme Ribulose 1,5 biphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco) qui va catalyser cette réaction de carboxylation. CO<sub>2</sub> réagit avec le Ribulose-1,5-biphosphate pour donner le glycéraldéhyde 3-phosphate (Figure 3) Cette réaction nécessite un apport d'énergie sous forme d'ATP et de NADPH. Le cycle de Calvin va consommer 95% du NADPH et plus de 60% de l'ATP générés lors de la phase photochimique (Falkowski & Raven, 2007)

Les 5/6 du glycéraldéhyde 3-phosphate vont être utilisés pour fournir le cycle en Ribulose-1,5-biphosphate et le 1/6 restant est exporté dans le cytoplasme de la cellule pour servir à la synthèse de molécules organique (Figure 17) Ces molécules organiques sont essentiellement des glucides et en faible proportion des acides organiques et acides aminés. Ces différentes molécules

## Chapitre III : Synthèse des lipides des microalgues et leurs intérêts

seront utilisées par la cellule pour la synthèse de nouveaux composés ou comme réserves (Falkowski & Raven, 2007) La fixation du CO<sub>2</sub> ne nécessite pas directement de lumière pour avoir lieu, c'est pourquoi elle est aussi appelée réaction sombre. Cependant de par sa dépendance énergétique aux produits de la photosynthèse, elle reste intimement liée à celle-ci.

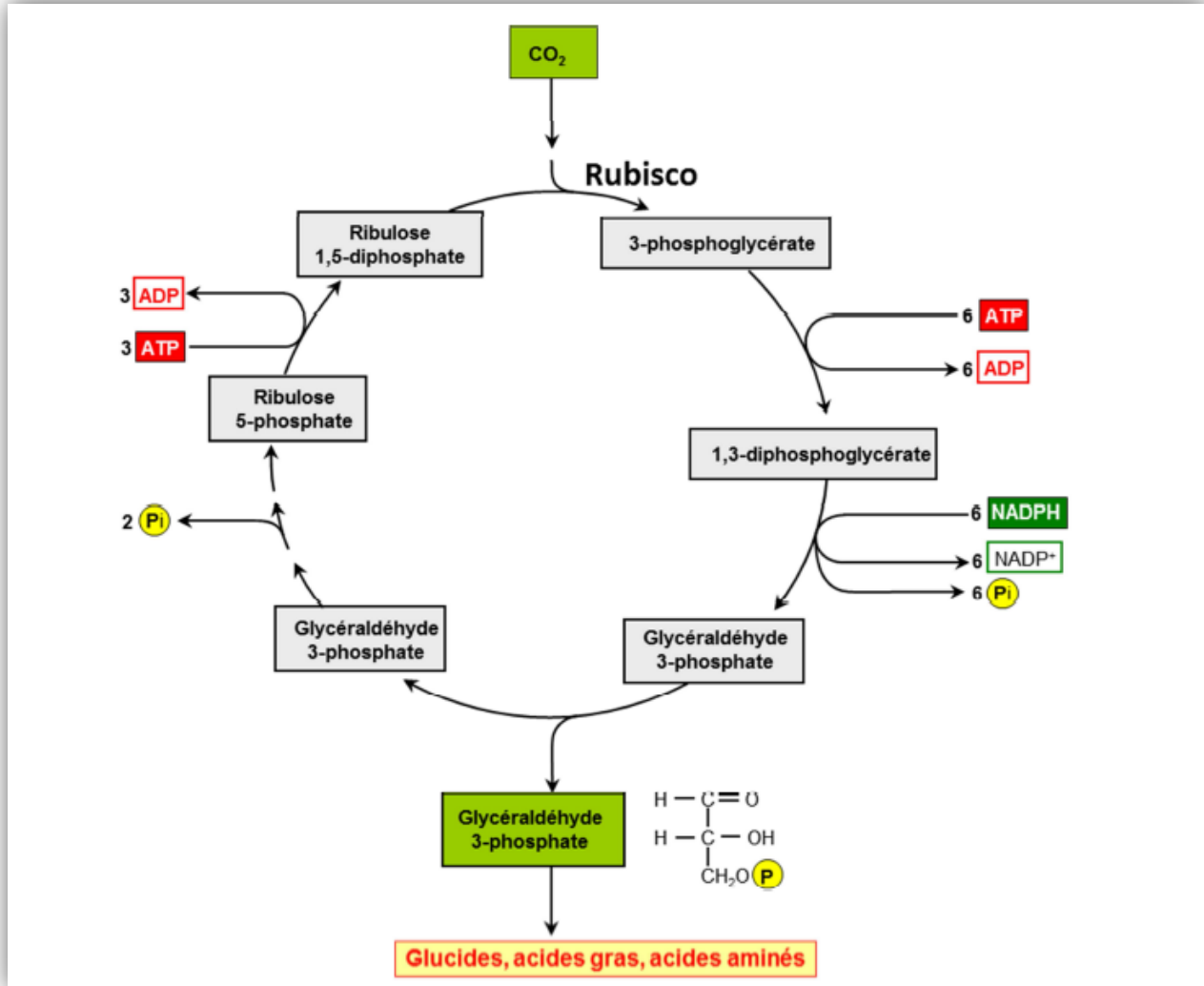


Figure 17: Schéma du Cycle de Calvin. Les nombreux intermédiaires entre le glycéraldéhyde 3 phosphate et le Ribulose 5-phosphate ne sont pas indiqués pour plus de clarté. D'après Albert *et al.*,1995.

## Chapitre III : Synthèse des lipides des microalgues et leurs intérêts

### II. Molécules d'intérêts produites par les microalgues

L'intérêt majeur de la culture de microalgue est la production de molécules à hautes valeurs ajoutées. Les microalgues sont une source importante de lipides, des protéines, de polysaccharides et de pigments. (ASFOURI, 2019)

#### II-1. Les lipides

Les lipides sont des constituants indispensables des cellules de microalgues. On les retrouve au niveau structural (phospholipide constitutifs des membranes) et énergétique (molécules de réserve). Globalement, les microalgues peuvent être composées de lipides à hauteur de 16-75% de leur masse sèche en fonction des espèces (Harun, 2010)

Les microalgues stockent les lipides sous forme de triacylglycéols. Les triglycérides sont composés de trois molécules d'acides gras et d'un glycérol. Les microalgues contiennent une grande variété d'acide gras, dont la composition varie en fonction des espèces. Ainsi il existe des microalgues oléagineuses ayant de fortes teneurs en lipides. (Li, 2011).

#### III- Application des microalgues

Les microalgues sont au centre de beaucoup d'attention et intéressent les industriels dans de nombreux domaines très variés

##### III-1. Alimentation et nutrition

L'importance de l'utilisation des microalgues dans l'industrie alimentaire vient de sa richesse cellulaire. En effet, elle est riche en caroténoïdes utilisés comme colorants alimentaires, en lipides, protéines, en vitamines, en minéraux, acides aminés

Elle est aussi utilisée comme complément alimentaire (Halle, Janczyk, Freyer, & Souffrant, 2009)

##### III-2. Cosmétique et santé

Les microalgues ont également une utilisation dans le domaine de la cosmétologie. Elle sert de colorant dans les émulsions et rentre dans la composition de crèmes antirides car elle contient des molécules stimulant la synthèse du collagène par la peau (Gouveia & al, 2008)(Spolaore & al, 2006)

## Chapitre III : Synthèse des lipides des microalgues et leurs intérêts

Aussi des nombreuses applications pharmacologiques elle présente des propriétés intéressantes dans le traitement contre l'hypertension (Okamoto & al, 1978) et propriétés immunologiques (Pugh & al, 2001)(Konishi & al, 1990) et anti-cancéreuses (Justo, 2001)

### III-3.Énergie

L'utiliser les microalgues pour fabriquer du biocarburant, aussi appelé biocarburant de troisième génération. En effet, de par leur contenu lipidique et leur capacité à croître rapidement elles se présentent comme des candidates intéressantes pour cette application

Il existe plusieurs manières de convertir la biomasse microalgale en source d'énergie, elles peuvent être classées comme suit: réactions de conversions biochimiques, réactions chimiques, combustion directe et conversion thermochimique (**Dragon et al., 2010**). La Figure 18 résume ces différents processus.

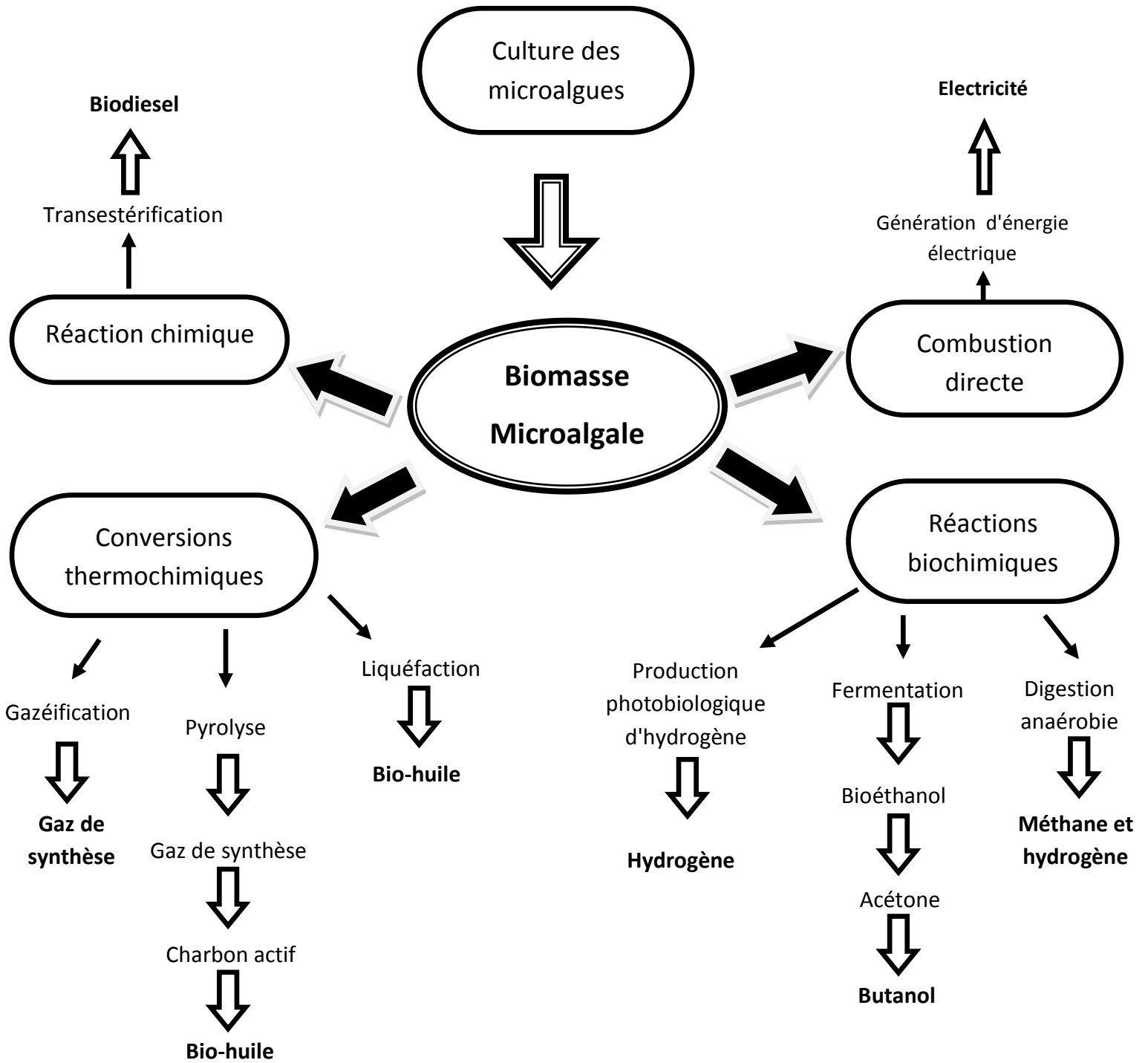


Figure 18: Diagramme représentant les processus de conversion de biomasse microalgale pour la production de biocarburant. (Dragon et al,2010)

**Partie**  
**Pratique**



# **Chapitre I :**

## **Matériels et méthodes**

## Matériel et méthodes

### I- Description de la zone d'étude

La vallée de l'Oued Righ représente en réalité une grande oasis qui s'étale des terminaisons des piedmonts sud de l'Atlas saharien au nord jusqu'à la ville de Touggourt au sud. La vallée est soumise à un climat chaud et sec pendant toute l'année. Cette région est une cuvette allongée avec des dénivellations pouvant aller jusqu'à 41 m au dessous du niveau de la mer. Elle est composée d'une dizaine de plans d'eau qui représente un exutoire aménagé pour recevoir les eaux usées et les eaux de drainage des palmeraies des oasis (voire figure 19).

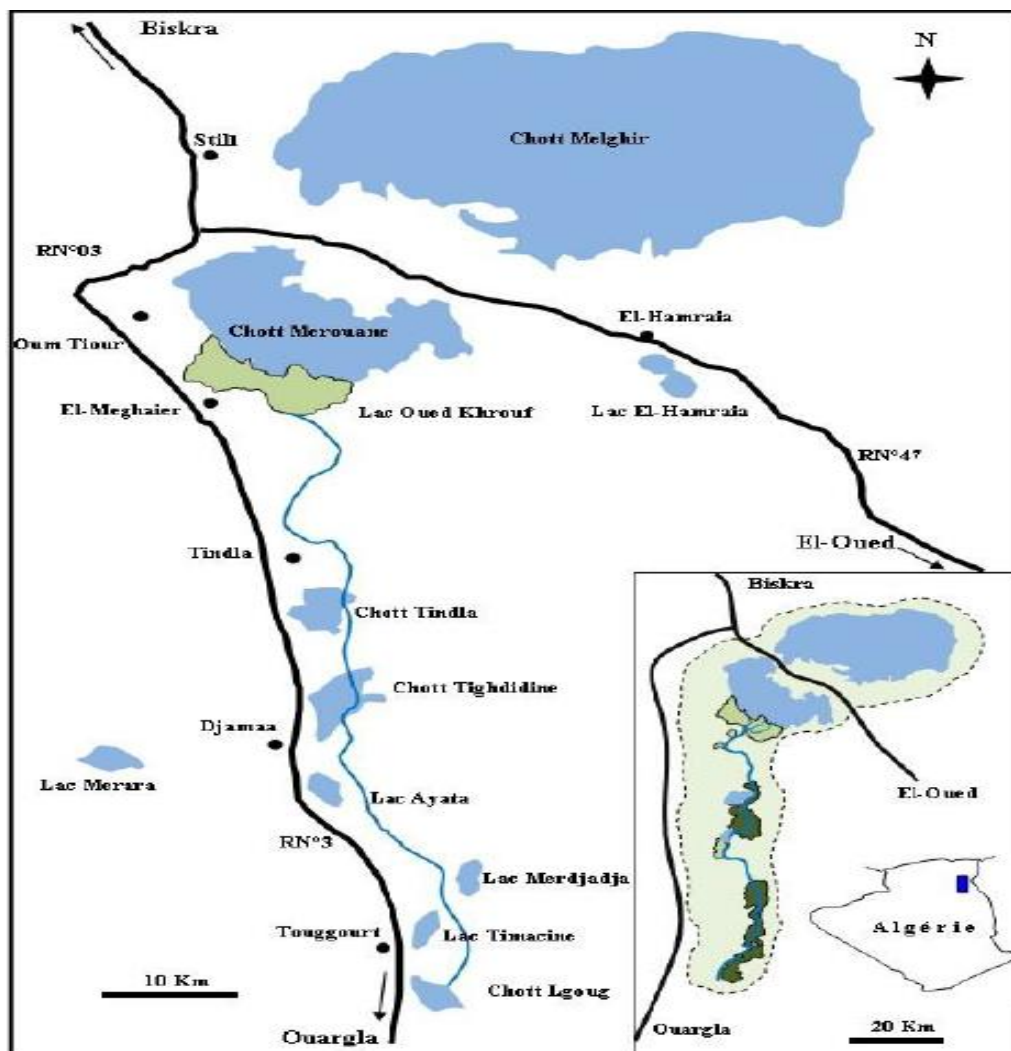


Figure 19 : Principales zones humides de la vallée de l'Oued Righ ([www.researchgate.net](http://www.researchgate.net))

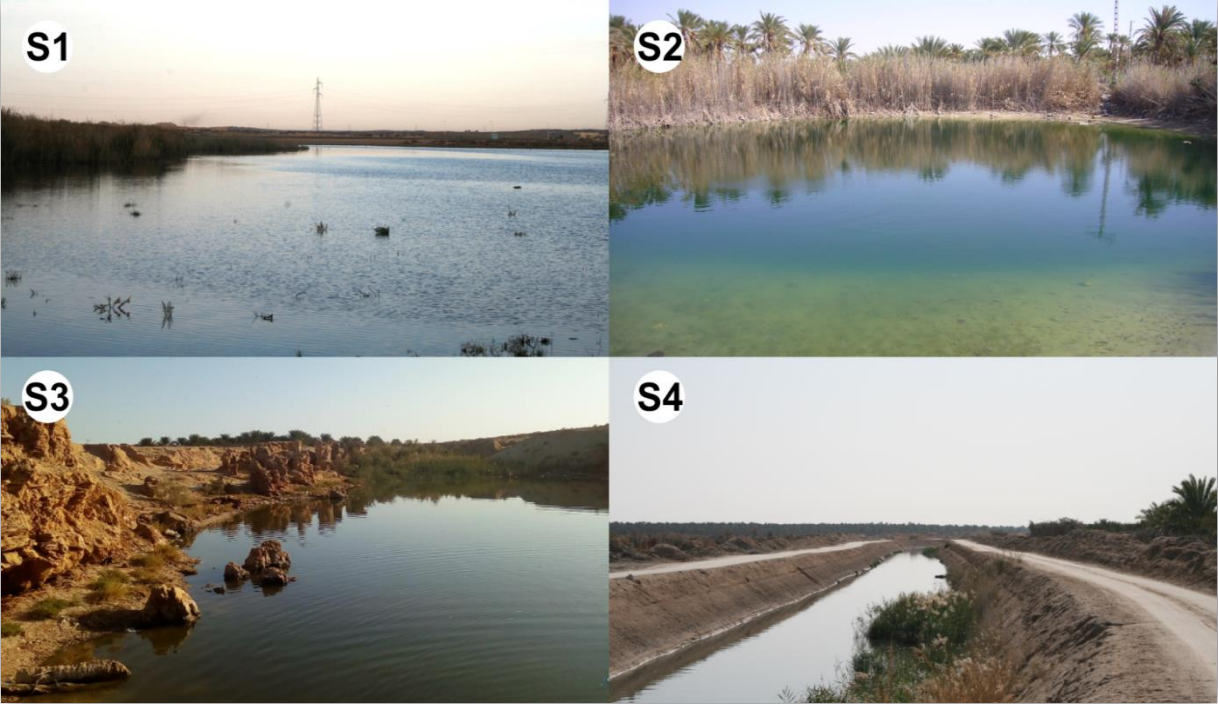
## Matériel et méthodes

Dans cette étude nous avons choisi huit stations pour le prélèvement des eaux, quatre dans la Daïra de Djamaa et quatre dans El Meghaier. Le tableau 6 et les figures 20 et 21 présentent les différentes stations de prélèvement :

**Tableau 3: description des différentes stations de prélèvement**

Daïra	Station	Commune	Cordonnées géographiques	Superficie (ha)	Altitude (m)
<b>Djamaa</b>	Lac Ayata S1	Sidi Amrane	33°29.86'N 05°59.40'E	30	+37~ +40
	Lac Ain ezzarga S2	Djamaa	33°32.17'N 06°00.37'E	0.3	+41
	Lac Tindla S3	Tindla	33°36.38'N 05°59.13'E	-	+24
	Canal Oued Righ S4	Djamaa	-	-	-
<b>Meghaier</b>	Oued Sidi Khelil S5	Sidi Khelil	33°50.45'N 05°58.35'E	-	+2
	Oued Khrouf S6	Meghaier	33°51.26'N 06°01.36'E	1200	-12
	Lac N'sigha S7	Meghaier	33°59.48'N 05°56.36'E	-	-28
	Canal Oued Righ S8	Meghaier	-	-	-

**Matériel et méthodes**



**Figure 20: Description des déférentes stations de prélèvement à Djamaa**



**Figure 21: Description des déférentes stations de prélèvement à El Meghaier**

## Matériel et méthodes

---

### II- Matériel

#### II-1. Matériel d'échantillonnage

- Filet à 20 $\mu$ m de vide de maille
- Formol 10% dilue
- Flacons en verre stérile
- Glacière
- Pipettes.

#### II-2. Matériel de laboratoire

- Boite de pétri
- Bec benzène
- Micropipette
- Autoclave
- Tube à vis
- Lame et lamelle
- Microscope optique
- Balance
- Erlenmeyer
- Appareille multi paramètres de type WTW Multi 340i/SET
- JBL Testlab (test rapide par virage de couleur)

### III- Méthodes

#### III-1. Méthode d'échantillonnage

**Rodier et al. (2009)** on indiqué, suivant plusieurs méthode de références, que le mode de prélèvement de l'eau diffère selon son origine, dans le cas de l'eau d'un lac ou d'une retenue d'eau, il y'a lieu de choisir plusieurs point de prélèvement afin qu'ils soient le plus possible représentatif de tout le lac (**méthode de référence FDT 90-523-1**), c'est ce qui a été entrepris par notre équipe en respectant la règle indiquée en choisissant 2 sites de prélèvement dans chaque station.

## Matériel et méthodes

Les prélèvements ont été effectués à des profondeurs de 0 à 100 cm. A chaque point de récolte, deux échantillons de 250 ml d'eau, un échantillon pour analyses physicochimiques et échantillons pour l'identification phénotypique des microalgues (l'eau est traitée par 10 ml de formol 10%) sont prélevés par zone selon les sites et selon la disponibilité de l'eau (profondeur). L'opération a été réalisée au mois Octobre 2019, par temps ensoleillé au matin. ( voir la figure ci-dessous)



**Figure 22: Mode de prélèvement et échantillonnage (Kheteb et Toumi., 2020)**

### III-2. Analyses physicochimiques des eaux

L'analyse sur site devant être effectuée immédiatement après le prélèvement. La nature et la composition de l'eau conditionnent le développement et la répartition de la flore aquatique. La connaissance de cette composition donne une idée sur la nature chimique des eaux de chaque zone de prélèvement. Les analyses physicochimiques ont été effectuées sur terrain à l'aide test rapide par virage de couleur pour les différents sels dissous (JBL Testlab).

Pour les analyses physiques, nous avons aussi réalisé les mesures en utilisant un multi-paramètre de type WTW Multi 340i/SET équipé de sondes : pH – thermomètre et conductimètre.

## Matériel et méthodes

### III-3. Identification phénotypiques des microalgues

La suspension contenant les microalgues doit être montée sur la lame pour l'observer sous microscope optique.

- On ajoute des eaux physiologiques dans les flacons si les échantillons sont condensés.
- Brasser la suspension et prélever quelque goutte d'échantillon.
- Déposer sur une lame quelques gouttes d'échantillon (Préparer deux lames pour le même échantillon).
- Ajouter une goutte du lugol et le déposer entre la lame et la lamelle
- Les lames sont prêtes pour l'observation au microscope (x10 et x 40)
- L'identification à l'aide de guide bibliographique "**Freshwater algae**" (Edward et David.,2010).

# **Chapitre II :**

## **Résultats et discussion**



## Résultats et discussion

### I- Analyses physico-chimiques des eaux

La nature et la composition de l'eau conditionnent le développement et la répartition de la flore aquatique, la croissance de cette composition donne une idée sur la qualité des eaux de chaque prélèvement (Chader, 2009). Il y a alors un intérêt évident à regrouper les paramètres les plus descriptifs en un ensemble homogènes permettant une interprétation adéquate des résultats analytiques.

#### I-1. Détermination des paramètres physiques

Les paramètres étudiés sont les plus influents sur la croissance des microalgues. La température est un élément essentiel qui affecte la densité de l'eau, sa viscosité et la solubilité des gaz, l'O<sub>2</sub> en particulier (Aminot et Chaussepied.,1983). Le PH qui présente une indication importante sur l'agressivité de l'eau. La conductivité de l'eau qu'elle signifie la salinité de l'eau (Rodier.,2009).

**Tableau 4 : caractéristiques physiques des eaux prélevées.**

Station	Température (C°)	PH	Conductivité (µS/m)
S1	27,06	7,97	19470
S2	29,15	7,70	36950
S3	31,26	7,80	65333
S4	28,75	7,62	11245
S5	26,96	7,78	169,63
S6	30,96	7,51	10440
S7	-	-	-
S8	22,16	7,67	32940

Selon les résultats obtenus :

- Le PH neutre légèrement alcalin dans les différentes stations qui est un milieu favorable pour la croissance des nombreuses espèces microalgale.
- La conductivité de l'eau est élevée que la norme (10 a 1000 µS/cm) (Chapman, 1996) dans tous les stations notamment dans le S3, cela due aux fortes concentrations en sels dissous.

## Résultats et discussion

• Dans la S7, pour la protection de l'appareillage nous évitons de faire l'analyse car l'eau de lac était sous forme de boue.

### I-2. Détermination des paramètres chimiques

Les eaux, qu'elles soient d'origine souterraine ou superficielle sont plus ou moins minéralisés par les sels naturels, il est important de connaître précisément cette minéralisation (Rodier., 2009). Les résultats de différents tests sont illustres dans le tableau suivant.

**Tableau 5 : caractéristiques chimiques des eaux prélevées.**

Site	NH <sub>4</sub>	NO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub>	PO <sub>4</sub>	SIO <sub>2</sub>	Fe
S1	<0,058	-	<0,5	0,4	>6,0	<0,02
S2	<0,05	<0,025	<0,5	<0,02	>6,0	<0,02
S3	<0,05	<0,025	<0,5	<0,1	>6,0	<0,05
S4	<0,05	<0,04	<0,5	1,23	>6,0	<0,02
S5	<0,0833	1,0	38,33	0,4	>6,0	<0,02
S6	<0,05	0,067	0,833	<0,03	>6,0	<0,02
S7	<0,05	0,6	1-5	<0,035	>6,0	<0,02
S8	0,1125	0,1125	0,7	0,2	>6,0	<0,02

#### I-2-1- Dosage de l'azote ammoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>)

La détermination de l'azote ammoniacal est obtenue par méthode colorimétrique ; composé couleur bleu qui formé par réaction de l'ammonium avec les ions salicylate et hypochlorite en présence de nitropussiate de sodium

La présence des ions ammonium traduit une dégradation incomplète de matière organique

#### I-2-2-Dosage des nitrites (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

Les nitrites réagissent avec la sulfanilamide pour former un composé diazoïque qui, après couplage avec NI N-aphtylène-diamine-dichloride donne une coloration rose

Nitrite est forme à partir de nitrification des ions ammonium par les Nitrosomonas

## Résultats et discussion

### I-2-2-Dosage des Nitrates ( $\text{NO}_3^-$ )

En présence de salicylate de sodium, les nitrates donnent du paranitrosionate de sodium coloré en jaune et susceptible d'un dosage colorimétrique

Ce nitrate est résultat de nitrification de l'ion ammonium qui oxydé par la bactérie Nitrobacter

### I-2-2- Dosage phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ )

Dans l'eau superficielle, le phosphore est essentiel aux végétaux, mais, en trop grande quantité, il contribue principalement à modifier l'équilibre biologique des milieux aquatiques

D'après nos résultats on remarque que les variations des valeurs moyennes de phosphate au niveau les deux stations S1 et S2 varient entre <0.02 la plus basse et 0.2 la plus élevée; ces concentrations est un petit peu faible cela est dû à relativement moins disponible que les autres éléments essentiels comme l'azote à cause de faible source industriel c'est-à-dire le phosphore naturellement présent en très faible quantité dans les eaux

## II- Identification phénotypiques des microalgues

Après l'identification phénotypique de différents échantillons, nous avons trouvé une grande variété des souches microalgale dans chaque station. Le tableau suivant montre les résultats obtenus

## Résultats et discussion

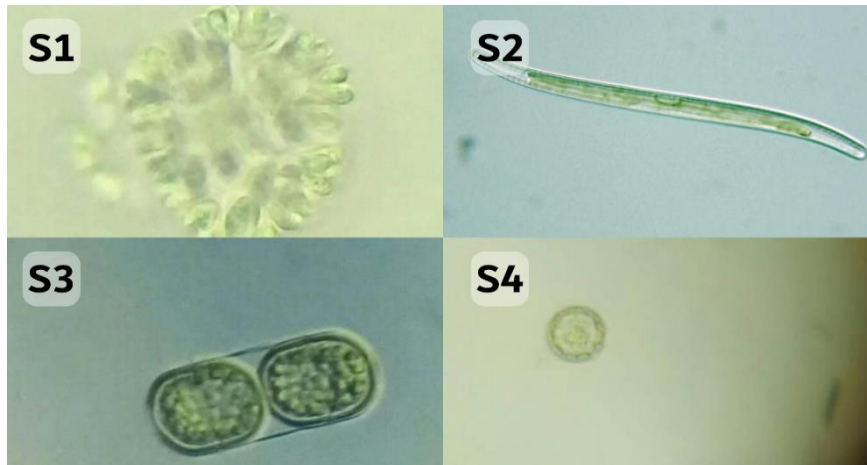
**Tableau 6 : Distribution des taxons dans les différentes Stations de prélèvement.**

STATION	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8
<i>Neochlorisaquatica</i>	38	/	/	/	/	/	/	/
<i>Coleosphaerium</i> sp	12	/	2	20	/	1	/	/
<i>Eunotiarhmboidea</i>	24	/	/	/	/	7	/	/
<i>Gramatophoriasp</i>	267	/	/	/	/	20	2	/
<i>Amphiprorasp</i>	9	2	/	/	/	/	/	5
<i>Thalassionamanitzschioids</i>	2	/	/	/	/	/	/	14
<i>Pinnulariasp</i>	26	2	1	3	9	35		1
<i>Thalassiosirriadeciens</i>	34	/	/	/	15	/	/	1
<i>Cyclotellasp</i>	4	/	/	/	2	19	/	/
<i>Gyrosigma-chloroplaste</i>	42	/	/	/	/	/	/	/
<i>Phormidiumsp</i>	10	/	/	2	2	8	/	6
<i>Aphaenocapsasp</i>	5	6	2	/	/	/	/	/
<i>Skeletonemacostatum</i>	26	/	/	3	/	/	/	/
<i>Nitzschiaclosterium</i>	2	/	/	1	13	/	/	/
<i>Nitzschiasp</i>	2	9	/	3	/	29	8	1
<i>Chlorella</i>	/	3	8	/	/	1	1	7
<i>Navicula sp</i>	/	1	/	2	29	106	2	6
<i>Stephanodixussp</i>	/	/	28	/	/	/	/	/
<i>Thalassiosiralylina</i>	/	/	/	16	/	/	/	/
<i>Pseudostaurosirabrevislnata</i>	/	/	/	9	/	/	/	/
<i>Fallaciahudsonis</i>	/	/	/	5	7	/	1	/
<i>Achnanthesclever</i>	/	/	/	4	/	/	/	2
<i>Melosiranummuloides</i>	/	/	/	1	3	/	/	/
<i>Nitzschiaovals</i>	/	/	/	/	4	5	/	/
<i>Cymbellacesatnsp</i>	/	/	/	/	23	/	/	/
<i>Nitzschia sigma</i>	/	/	/	/	24	/	2	/
<i>diatoma</i>	/	/	/	/	1	4	/	4
<i>Tryblionellallevidensis</i>	/	/	/	/	/	7	/	/
<i>Pseudo nitzschia australis</i>	/	/	/	/	/	5	/	/
<i>Closteriumsp</i>	/	/	/	/	/	4	/	/
<i>Chaetocrossp</i>	/	/	/	/	/	8	/	/
<i>Pseudo nitzschidelicatissima</i>	/	/	/	/	/	137	/	/
<i>Guinardiasp</i>	/	/	/	/	/	19	/	/
<i>Closteriumtumidulum</i>	/	/	/	/	/	6	/	/
<i>Cesmariumvexatum</i>	/	/	/	/	/	6	/	/
<i>Stephanopyxis</i>	/	/	/	/	/	3	/	38
<i>Cylindrothecaclosterium</i>	/	/	/	/	/	/	4	/
<i>Cylindrothecaclosterium</i>	/	/	/	/	/	/	10	/
<i>Cavirulalacustris</i>	/	/	/	/	/	/	/	7
<i>Coscinodixusgranu</i>	/	/	/	/	/	/	/	19
<i>Euglena</i>	/	/	/	/	/	/	/	4
<i>Sunrirellalinearis</i>	/	/	/	/	/	/	/	5
<i>Suriellaelagans</i>	/	/	/	/	/	/	/	4

## Résultats et discussion

Les résultats de l'identification montrent que la grande variété des souches microalgales vivent dans cette zone mais aussi la différence est bien illustrée entre les stations.

À la station de lac Ayata (S1) la souche dominante est *Gramatophoriasp*, cette station contient plus que dix souches avec une quantité importante. Par contre, les autres stations de la daïra de Djamaa Ain Ezzarga (S2), lac de Tindla (S3) et canal Oued Righ (S4) ont une variété et nombre limités des souches où les souches *Nitzschiasp*, *Stephanodixusspet* *Coleosphaeriumsp* par ordre sont les dominantes. (Voire figure 23)



**Figure 23 : les souches dominantes dans les stations de Djamaa**

De l'autre côté, la figure 24 montre qu' à la daïra d'El Meghaier on trouve dans les stations d'Oued Sidi Khelil (S5), lac N'sigha (S7) et Canal Oued Righ (S8) un nombre des souches limité où les souches *Navicula sp*, *Cylindrothecaclosterium* et *Stephanopyxis* sont les dominantes, par contre dans la station de Oued Khrouf (S6) on trouve un nombre des souches important où les souches dominantes sont *Navicula sp* et *Pseudonitzschia delicatissima*.



**Figure 24 : les souches dominantes dans les stations d'El Meghaier**

# **Conclusion**

## Conclusion

Les microalgues riches en lipides ont des effets très importants dans plusieurs cotés économiques, ils peuvent être commercialisées sous forme de biomasse sèche ou sous forme d'extraits. Il est évident que plusieurs utilisations et secteurs de marchés sont à développer ou à inventer.

La grande popularité des acides gras a fait naître une gamme de produits d'origine animale à base de ce supplément. L'ajout de microalgues très riche en lipide dans l'alimentation des animaux de ferme pourrait s'avérer une avenue commerciale très intéressante afin d'obtenir des œufs et du lait enrichis en lipide présentant un effet potentiel réel sur la santé des consommateurs.

Les biocarburants liquides qu'ils sont produits à partir des microalgues riches en lipides peuvent être une alternative séduisante aux carburants de transport à base de pétrole. Il existe deux types de biocarburant : le biodiesel et le bioéthanol. Ils sont produits par ce qu'on appelle la biomasse ou source énergétique renouvelable. Ils peuvent remplacer, respectivement, le diesel et l'essence dans les voitures, directement ou après de légères modifications sur le moteur.

Dans notre étude, l'analyse physicochimique montre que les eaux de la zone d'Oued Righ sont neutres, légèrement alcalines et avec une salinité modérée ce qui présente un milieu favorable pour le développement des souches microalgales riches en lipide.

L'identification phénotypique des souches microalgales nous permet de trouver une large diversité des souches avec un nombre important, ce qui confirme la possibilité d'isoler des souches riches en lipides.

L'ensemble des résultats expérimentaux obtenus montrent que notre région d'étude est très riche en diversité microalgale et peut être un pôle dans la culture et l'industrie microalgale s'il y a un vrai investissement et exploitation correcte de cette diversité.

En fin, nous invitons tous les chercheurs à continuer ce travail et à aller plus loin par la valorisation des composants des microalgues, spécifiquement les lipides, pour ce qui est important d'orienter vers un mode de vie écologique et des aliments et produits consommables à base naturelle.

**Références**  
**Bibliographiques**



## Références Bibliographies

---

1. **Andersen, R. A.;** (2013). The Microalgal Cell. In Handbook of Microalgal Culture, A.R.P.D. Emeritus, and Q.H. Ph.D, eds. (John Wiley & Sons, Ltd), pp. 1–20.
2. **Andersen, R.;** (2005). *Algal culturing techniques* Elsevier academic press, 578
3. **Apt, K. E. & Behrens, P. W.;** (1999). *Commercial developments in microalgal biotechnology* Journal of Phycology, 35, 215-226
4. **Asfour, N. Y.;** (2019). production en masse de microalgue: optimisation des paramètres physico-chimique. oran.
5. **Aurélie Lucchetti.;** (2014). Modélisation et conception d'un système de culture de microalgues. Génie des procédés. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Paris, 18.
6. **Babcock, R. W.; Malda, J. & Radway, J. C.;** (2002). *Hydrodynamics and mass transfer in a tubular airlift photobioreactor* Journal of Applied Phycology, Springer Netherlands, 14, 169-184
7. **Barbosa, M. J.; Janssen, M.; Ham, N.; Tramper, J. & Wijffels, R. H.;** (2003a) Microalgae cultivation in air-lift reactors: Modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency Biotechnology and Bioengineering, 82, 170-179
8. **Becker, E.; Sir James Baddiley, N. H.; Carey.;** (1994). I. H. W. P. (Ed.) Microalgae: Biotechnology and Microbiology Cambridge Studies in Biotechnology, 293
9. **Becker, E.W.;** (2007). Micro-algae as a source of protein. Biotechnol. Adv. 25, 207–210.
10. **Beer, L. L.; Boyd, E. S.; Peters, J. W. et Posewitz, M. C.;** (2009). Engineering algae for biohydrogen and biofuel production. Curr. Opin. Biotechnol. 20, 264–271.
11. **Bitog, J.; Lee, I.-B.; Lee, C.-G.; Kim, K.-S.; Hwang, H.-S.; Hong, S.-W.; Seo, I.-H.; Kwon, K.-S. & Mostafa, E.;** (2011). *Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review* Computers and Electronics in Agriculture, 72, 131-147
12. **Bosma, R.; van Spronsen, W.A.; Tramper J.; Wijffels, R.H.;** (2003). Ultrasound, a new separation technique to harvest microalgae. Journal of Applied Phycology 15: 143-153
13. **Brennan, L. & Owende, P.;** (2010). *Biofuels from microalgae--A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products* Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14, 557-577

## Références Bibliographies

14. **Burlew, J. S.**, (1953). Algal culture from laboratory to pilot plant Carnegie Institution of Washington, 357
15. **Camacho Rubio; F.; Fernández ; F. G. A.; Pérez ; J. A. S.; Camacho, F. G. & Grima; E. M.**; (1999). *Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture* Biotechnology and Bioengineering , 62, 71-86
16. **Carvalho, A. P.; Meireles, L. A.; Malcata, F. X.**; (2006). Microalgal reactors: a review of enclosed system designs and performances. *Biotechnol. Prog.* 22, 1490–1506.
17. **Chevalier, P. et al.**; (2002). Technologies d'assainissement et prévention de la pollution, Sainte-Foy (Québec), Université de Québec - Télé-université, 440
18. **Chinnasamy, S.; Bhatnagar, A.; Hunt, R. W. et Das, K. C.**; (2010). Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresource Technology* 101, 3097–3105.
19. **Chisti, Y.**; (2007). Biodiesel from microalgae *Biotechnology Advances*, 25, 294-306
20. **Contreras, A.; García, F.; Molina, E. & Merchuk, J. C.**; (1998a). Interaction between CO<sub>2</sub>-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *Phaeodactylum tricornerutum* in a concentric tube airlift photobioreactor *Biotechnology and Bioengineering*, 60, 317-325
21. **Contreras, A.; García, F.; Molina, E. & Merchuk, J. C.**; (1998a). *Interaction between CO<sub>2</sub>-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of Phaeodactylum tricornerutum in a concentric tube airlift photobioreactor* *Biotechnology and Bioengineering*, 60, 317-325
22. **Degen, J.; Uebele, A.; Retze, A.; Schmid-Staiger; U. & Trösch; W.**; (2001). *A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect.* *Journal of Biotechnology*, 92, 89–94.
23. **Dejoye, T.C.**; (2013). Eco-Extraction et Analyse de lipides de microalgues pour la production d'algo-carburant, Université d'Avignon, 18-23
24. **Dragon, G.; Fernandes, B.; Vicente, A.A and Tejsejra, J.A.**; (2010). *Third generation biofuels from microalgae.* *Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology* 2: 1355- 1366.
25. **Falkowski, P. G.; & Raven, J. A.**; (2007). *Aquatic photosynthesis.* Second edition Princeton university press.

## Références Bibliographies

26. **GOBEL, F.;** (1978). Quantum efficiency of growth *in*: RICHMOND, A.; 2004. Handbook of Microalgal culture - Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science Ltd. Oxford, K. 66 pp.
27. **Gouveia, L.; & al.;** (2008). microalgae in novel food product.
28. **Grima, E. M.; Sevilla, J. M. F.; Pérez, J. A. S. & Camacho, F. G.;** (1996). A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances *Journal of Biotechnology*, 45, 59–69.
29. **Grobbelaar, J. U. & Kurano, N.;** (2003). *Use of photoacclimation in the design of a novel photobioreactor to achieve high yields in algal mass cultivation* *Journal of Applied Phycology, Springer Netherlands*, 15, 121-126
30. **Grobbelaar, J. U.;** (2000). Physiological and technological considerations for optimising mass algal cultures *Journal of Applied Phycology, Springer Netherlands*, 12, 201-206
31. **Grobbelaar, J.;** (1994). Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations *Journal of Applied Phycology, Springer Netherlands*, 6, 331-335
32. **Grossman, A. R.; Bhaya, D.; Apt, K. E. and Kehoe, D. M.;** (1995). Light-harvesting complexes in oxygenic photosynthesis: diversity, control, and evolution. *Annu. Rev. Genet.* 29, 231–288.
33. **Guschina, I. A. and Harwood, J. L.;** (2006). Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. *Prog. Lipid Res.* 45, 160–186.
34. **Haesman, M.; Diemar, J.; O'Connor, W.; Soughames, T.; Foulkes, L.;** (2000). Development of extended shelflife microalgae concentrates diets harvested by centrifugation for bivalve molluscs - a summary. *Aquaculture Research* 31: 637-659
35. **Halle, I.; Janczyk, P.; Freyer, G.; & Souffrant, W. B.;** (2009). Effect of microalgae *Chlorella vulgaris* on laying hen performance. *Archiva Zootechnica*.
36. **Harun, R.;** (2010). Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. Dans M. Singh, S. Thiruvankadam, W. A. Ghani, T. Cherrington, & M. K. Dunquah, *Renewable and Sustainable energy reviews* (pp. 14:1037-1047).
37. **Justo, G. Z.;** (2001). Effects of the green algae *Chlorella vulgaris* on the response of the host hematopoietic system to intraperitoneal ehrlich ascites tumor transplantation in mice. Dans M. R. Silva, M. L. Queiroz, & Jan, *Immunopharmacology and Immunotoxicology* pp. 23.119-132.

## Références Bibliographies

38. **Knuckey, R. M.; Brown, M. R.; Robert, R.; Frampton, D. M. F.;** (2006). Production of microalgal concentrates by flocculation et their assessment as aquaculture feeds. *Aquacultural Engineering* 35: 300-313
39. **Konishi, F.; & al.;** (1990). Enhanced resistance against *Escherichia coli* infection by subcutaneous administration of the hot-water extract of *Chlorella vulgaris* in cyclophosphamide-treated mice. *Cancer immunology, immunotherapy*. CII.
40. **Kuchitsu, K.; Tsuzuki, M.; Miyachi, S.;** (1988). Characterization of the pyrenoid isolated from unicellular green alga *Chlamydomonas reinhardtii*: Particulate form of RuBisCO protein. *Protoplasma* 144, 17–24.
41. **Langley, N.; Harrison, S. & van Hille, R.;** (2012). *A critical evaluation of CO2 supplementation to algal systems by direct injection* *Biochemical Engineering Journal*, 68, 70-75
42. **Larosière, B. C.;** (2012). Etude de la croissance de *Chlorella vulgaris* en photobioréacteur batch et continu, en présence de concentrations élevées de CO2. Paris: ECAP.
43. **Lavens, P. et Sorgeloos, P. ;** (1996). Manual of the production and use of live food for aquaculture. *FAO Fisheries technical paper*.
44. **Lecurieux-Belfond Laura;** (03/11/2009). Dimensionnement d'une raffinerie de biodiesel, Production à partir de *Dunaliella salina* sur le site des salins de Giraud, Rapport technique.
45. **LEE, Y. K.; DING, S. Y.; HOE, C. H. et LOW, C. S.;** (1996). Mixotrophic growth of *Chlorella sorokiniana* in outdoor enclosed photobioreactor. In: RICHMOND A., 2004. *Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell science Ltd. Oxford, UK. 566 pp.
46. **Li, Y.;** (2011). Photosynthetic carbon partitioning and lipid production in the oleaginous microalgae *Pseudochlorococum* sp. Under nitrogen-limited condition. *Bioresource Technology*, pp. 102: 123-129.
47. **Mirón S. A.; García Camacho, F.; Contreras Gómez, A.; Grima, E. M. & Chisti, Y.;** (2000). Bubble-column and airlift photobioreactors for algal culture *AIChE Journal*, Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 46, 1872-1887
48. **Mirón, A. S.; Gómez, A. C.; Camacho, F. G.; Grima, E. M. & Chisti, Y.;** (1999). Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae *Journal of Biotechnology*, 70, 249-270

## Références Bibliographies

49. **Molina, G. E.; Robles, M. A.; Gimenes, A. & Gonzalez, M. J.;** (1996). Gram-scale purification of eicosapentaenoic acid (EPA 20:5n3) from wet *Phaeodactylum tricoratum* UTEX 640 biomass. In RICHMOND A., 2004. Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology. *Blackwell science Ltd.* Oxford, UK. 566 pp.
50. **Mori, K.;** (1985). Photoautotrophic bioreactor using visible solar rays condensed by fresnel lenses and transmitted through optical fibers. In: RICHMOND A., 2004. Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology. *Blackwell science Ltd.* Oxford, UK. 566 pp.
51. **Muller-Feuga, A.; Chaumont, D.; Gudin, C. ;** (1992). Dispositif de nettoyage des canalisations d'un photobioréacteur et photobioréacteur muni de ce dispositif. In: CHAUMONT, D.; 1993. Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. *Journal of Applied Phycology* 5: 593- 604, 1993.
52. **Ogbonna, J. C.; Toshihiko, S.; Hideo, T.;** (1999). An integrated solar and artificial light system for internal illumination of photobioreactors. *J Biotechnol.* 70, 289-97
53. **Okamoto, K.; & al.;** (1978). Effects of *Chlorella* alkali extract on blood pressure in SHR. *Japanese heart journal* , 19; 622-623.
54. **Olaizola, M.;** (2003). *Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace* *Biomolecular Engineering*, 20, 459-466
55. **PIRT, S.J.;** (1983). Maximum photosynthetic efficiency: a problem to be resolved. In: CHAUMONT D., 1993. Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. *Journal of Applied Phycology* 5: 593-604, 1993.
56. **Poelman, E.; DePauw, N.; Jeurissen, B.;** (1997). Potential of electrolytic flocculation for recovery of microalgae. *Resources Conservation et Recycling* 19: 1-10
57. **POHL, P.; KOHLHASE, M. et MARTIN, M.;** (1988). Photobioreactors for the axenic mass cultivation of microalgae. In: RICHMOND A., 2004. Handbook of *Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology.* *Blackwell science Ltd.* Oxford, UK. 566 pp.
58. **Pugh, N.; & al.;** (2001). Isolation of three high molecular weight polysaccharide preparations with potent immunostimulatory activity from *Spirulina platensis*, *Aphanizomenon flos-aquae* and *Chlorella pyrenoidosa*. *Planta medica*.
59. **Pulz, O. et Gross, W.;** (2004). Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 65, 635-648.

## Références Bibliographies

60. **Pulz, O.;** (2001). *Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms* Applied Microbiology and Biotechnology, Springer Berlin / Heidelberg, 57, 287-293
61. **Pulz, O.;** (2007). *Performance Summary Report. Evaluation of GreenFuel's 3D Matrix Algae Growth. Engineering Scale Unit. APS Red Hawk Power Plant.* [En Ligne] Disponible sur : < [http://moritz.botany.ut.ee/~olli/b/Performance\\_Summary\\_Report.pdf](http://moritz.botany.ut.ee/~olli/b/Performance_Summary_Report.pdf) > [Consulté le 18 juillet 2011].
62. **Raven, J. A.; Falkowski, P. G.;** (1999). *Plant Cell Environ* 22, 741-755
63. **Razzak, S. A.; Hossain, M. M.; Lucky, R. A.; Bassi, A. S. & de Lasa, H.;** (2013). *Integrated CO<sub>2</sub> capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing—A review* *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 622-653
64. **Rengel, A.;** (2010). *Conception et analyses énergétique et environnementale d'un bioréacteur à microalgues pour la production d'énergie.* Thèse énergétique. Paris : Ecole nationale supérieure des mines de Paris, 183
65. **Richmond, A.;** (2004). *Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology.* Blackwell science Ltd. Oxford, UK. 566.
66. **Rodier, J.; Legube, B.; Merlet, N.;** (2009). *L'analyse de l'eau.* 9<sup>ème</sup> Ed. DUNDO, Paris. 1579
67. **Rossignol, N.; Lebeau, T.; Jaouen, P.; Robert, J. M.;** (2000). *Comparison of two membrane - photobioreactors, with free or immobilized cells, for the production of pigments by a marine diatom.* *Bioprocess Engineering* 23: 495-501
68. **SánchezMirón, A.; Contreras Gomez, A.; Garcia Camacho, F.; Molina Grima, E.; Chisti, Y.;** (1999). *Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae.* *Journal of Biotechnology* 70, 249–270.
69. **Sierra, E.; Acién, F.; Fernández, J.; García, J.; González, C. & Molina, E.;** (2008). *Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae* *Chemical Engineering Journal*, 138, 136-147
70. **Singh, R. & Sharma, S.;** (2012). *Development of suitable photobioreactor for algae production – A review* *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16, 2347-2353
71. **Spolaore, P.; & al.;** (2006). *Commercial applications of microalgae.* *Journal of Bioscience and Bioengineering* , 101:87-96.

## Références Bibliographies

72. **Sumi, Y.;** (2009). Microalgae Pioneering the Future -Application and Utilization, Life Science Research Unit, quarterly review No.34..
73. **Tredici, M. R.;** (2004).*Mass production of microalgae: Photobioreactors. In : **Richmond, A.** *Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology*Blackwell Publishing Ltd, 566*
74. **Van Baalen, C.; Hoare, D. S.; Brandt, E.;** (1970). Heterotrophic Growth of Blue-Green Algae in DimLight, In University of Texas, Marine Science Institute Port Aransas, Texas. NIH Pubmedcentral, [En ligne].
75. **Zeng, X.; Danquah, M. K.; Chen, X. D. & Lu, Y.;** (2011). Microalgae bioengineering: from CO2 fixation to biofuel production Renewable and Sustainable Energy Reviews, 15, 3252- 3260
76. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC248487/>(Page consultée le 5 Mai 2020).
77. [https://www.researchgate.net/figure/P-rincipales-zones-humides-de-la-vallee-de-loued-Righ-Main-wetlands-of-Oued-Righ\\_fig1\\_272491872](https://www.researchgate.net/figure/P-rincipales-zones-humides-de-la-vallee-de-loued-Righ-Main-wetlands-of-Oued-Righ_fig1_272491872) (Page consultée le 30 juin 2020).
78. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Cyanobacteria>(Page consultée le 4 Mars 2020).
79. <http://www.plancton-du-monde.org>(Page consultée le 4 Mars 2020).
80. <https://algaeresearchsupply.com/products/algae-culture-chlorella-vulgaris>(Page consultée le 4 Mars 2020).
81. <https://fr.wikipedia.org/wiki/Chrysophyceae>(Page consultée le 6 Mars 2020).
82. <http://protist.i.hosei.ac.jp>(Page consultée le 6 Mars 2020).
83. <https://singellus.wordpress.com/?s=Rhodospirillum rubrum> (Page consultée le 6 Mars 2020).