

الجمهورية الديمقراطية الشعبية الجزائرية

Populaire et Démocratique Algérienne République

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحار والتخطيط الساحلي

École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur en Sciences de la Mer

Option : Biotechnologie Marine

Contribution à la valorisation bioénergétique à partir des micro-organisme photosynthétiques

Présenté par:

BENSAIDANI Aziz

ELHATTAH Abderrahmane

Soutenu le 03/07/2024 devant le jury:

Mme MOKRANE Zakia	MCA	ENSSMAL	Promotrice
Mme AIOUAZ Fatma	Dr	USTHB	Co-promotrice
Mme MAOUEL Djamila	MCA	ENSSMAL	Présidente
Mme OUAFI Leila	MCB	ENSSMAL	Examinatrice

Année universitaire 2023/2024

Remerciement

Tout d'abord, nous tenons à remercier Allah, le tout puissant et le miséricordieux, de nous avoir donné la sante, la volonté et patience, par sa grâce nous avons terminé ce travail.

Nous ne pourrions pas commencer autrement nos sincères remerciements que par une personne qui nous a apporté beaucoup plus qu'un encadrement de mémoire. Un énorme merci à Mme AIOUAZ Fatma, (Doctorante à l'USTHB) pour son soutien, son aide sans limite au laboratoire et surtout dans la rédaction de ce mémoire.

Nous tenons à remercier également notre promotrice Mme MOKRANE Zakia (Enseignante à l'ENSSMAL), pour ces précieux conseils et orientations.

Nous leurs témoignons ici, notre gratitude et notre reconnaissance.

Nos vifs remerciements vont aux membres du jury pour avoir accepté de présider et d'examiner notre travail. Par leurs conseils et remarques, ils vont certainement contribuer à améliorer la qualité de ce travail.

Nos profonds remerciements vont aussi à Mme Refès, Mme Amina, Mme Houda, Mr Youcef et Mr Noureddine et à tous les ingénieurs de laboratoire pour leur disponibilité, leur aide technique et leur patience.

Nous saisisons cette occasion pour exprimer notre profonde gratitude à l'ensemble des enseignants de l'ENSSMAL, à tous ceux qui nous ont aidés à améliorer nos compétences

Nous remercions aussi Mr Hassan, Moustapha, Mohamed, Amine, Sami et toutes les personnes qui ont contribué au succès de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Ce travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez fait consentis pour ma formation, je ne saurais exprimer ma gratitude seulement par des mots que dieu vous protège et vous garde pour nous. Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de vous.

Mes encadreurs

J'ai eu l'honneur d'être parmi vos élèves et de bénéficier de votre riche enseignement. Vos qualités pédagogiques et humaines sont pour moi un modèle. Votre gentillesse, et votre disponibilité permanente ont toujours suscité mon admiration. Veuillez bien recevoir mes remerciements pour le grand honneur que vous m'avez fait d'accepter l'encadrement de ce travail.

Mes chères sœurs et frère

Celui qui les aime beaucoup et qui sont toujours là pour moi. Que Allah les protège et leurs offre la chance et le bonheur

Mon cher binôme

Vous êtes pour moi un frère sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble

A tous l'équipe de biotechnologie marine et mes chères amies

Table de Matières

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

1	Introduction	1
2	Généralités sur les Microalgues Aquacoles.....	4
2.1	Les Microalgues	4
2.2	Classification et Structure des Microalgues	5
2.2.1	Chlorophycées	5
2.2.2	Rhodophycées	5
2.2.3	Haptophyte	5
2.2.4	Straménopiles	6
2.2.5	Cyanophycée (Cyanobactérie).....	7
2.3	Cinétique de croissance des Microalgues	8
2.4	Conditions de culture des microalgues	9
2.4.1	Phototrophe	9
2.4.2	Culture hétérotrophe	9
2.4.3	Culture mixotrophe.....	9
2.4.4	Culture photoheterotrophe.....	10
2.5	Mode de culture des Microalgues.....	10
2.5.1	Mode discontinu (Batch).....	10
2.5.2	Mode semi continu	10
2.5.3	Mode continue.....	10
2.6	Systèmes de culture	11
2.6.1	Les Systèmes ouverts.....	11
2.6.2	Facteur environnementaux	14
2.6.3	Besoins nutritifs.....	15
2.7	Récolte des Microalgues	16

2.8	Bioproduits précieux obtenus à partir de la biomasse de microalgues et leurs applications commerciales	17
2.8.1	Biomasse de microalgues comme alimentation humaine	17
2.8.2	Biomasse de microalgues comme alimentation animale.....	17
2.8.3	Biomasse de microalgues dans le domaine pharmaceutique.....	18
2.8.4	Biomasse de microalgues dans le domaine cosmétiques	19
2.8.5	Biomasse algale dans le domaine bioénergétique.....	19
2.8.6	Biomasse algale pour le traitement des eaux usées	20
3	Matériels et Méthodes.....	22
3.1	Matériel Biologique	22
3.2	Matériels Utilisés	23
3.2.1	Matériel de laboratoire.....	Erreur ! Signet non défini.
3.3	Préparation de Milieu de culture	24
3.3.1	Préparation des solutions stock.....	25
3.3.2	Purification et repiquage	27
3.3.3	Montage expérimentale de la culture des microalgues	27
3.3.4	Mesure de l'absorbance (DO)	28
3.3.5	Comptage cellulaire	29
3.3.6	Matière sèche.....	30
3.4	Mesure du pH.....	31
3.5	Culture dans les eaux usées	31
3.6	Récolte de la biomasse algale.....	32
3.6.1	Effet de Coagulation	32
3.6.2	Effet de Centrifugation.....	34
3.6.3	Efficacité d'élimination\recupération des Microalgues	34
3.6.4	Broyage et conditionnement.....	35
3.7	Dosage des Lipides	35
4	Courbe de croissance (absorbance\ densité cellulaire).....	39
4.1	Absorbance.....	39
4.2	Comptage cellulaire	40
4.2.1	Taux de croissance et temps de doublement	41
4.3	Matière sèche.....	41
4.4	Evolution de pH.....	42
4.5	Récolte	43
4.5.1	Effet de la Coagulation	43

4.5.2	Effet de la Centrifugation.....	44
4.6	Dosage des lipides	45
5	Conclusion.....	48
6	Référence bibliographique	51

Liste des figures

Figure 2-1 les différentes formes et tailles des microalgues (Hallmann 2015).....	7
Figure 2-2 : Courbe de croissance des Microalgues (Leinfelder, Werner, and Nose 1996)	8
Figure 2-3 : les différents systèmes ouverts de culture des Microalgues dans le monde.....	12
Figure 2-4 : Schémas des différents types de PBR pour la culture pure de microalgues (Ting et al. 2017)	14
Figure 2-5 : Relation entre l'intensité lumineuse (I) et le taux de photosynthèse (P).(Béchet, Shilton, and Guieysse 2013).....	15
Figure 2-6 : Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH (Gitz 2004).....	16
Figure 2-7 : Différentes méthodes utilisées pour la récolte des Microalgues	17
Figure 2-8 : Applications potentielles des microalgues dans la production de bioénergie. Différents biocarburants peuvent être produits à partir de microalgues par digestion anaérobie, fermentation, processus de transestérification (Siddiki et al. 2022)	20
Figure 3-1 : Souche isolée dans un milieu solide (boîte de pétri).....	22
Figure 3-2 : Schéma représentatif de processus de préparation de milieu de culture.....	26
Figure 3-3 : Process d'inoculation sous des conditions stérile (Bec bensen)	27
Figure 3-4 : Montage expérimentale de la culture des microalgues en mode discontinue.....	28
Figure 3-5 : Spectrophotomètre utilisé pour la mesure de la densité optique (UV-51000 UV VIS).....	28
Figure 3-6 : Cellule de Malassez	29
Figure 3-7 : les étapes suivies pour la détermination de la matière sèche (filtration & séchage)	30
Figure 3-8 : Station d'Épuration des Eaux Usées de Baraki, Alger.....	31
Figure 3-9 : (a) Poudre de graines de Moringa oleifera commerciale; (b) Extraction du composant actif de M. oleifera;.....	33
Figure 3-10 : l'ajout de différentes doses de M. oleifera dans la suspension des microalgues.	33
Figure 3-11 : Avant et Après le Séchage à l'étuve	35
Figure 3-12 : Broyage de la pâte des microalgues	35
Figure 3-13 : Dispositif expérimental du dosage des lipides par la méthode de Soxhlet (au niveau de laboratoire Biochimie)	36
Figure 3-1 : Evolution de l'absorbance de la culture en BBM et Eau usée au cours du temps (j)	39
Figure 4-2 : Densité cellulaire des Microalgues en fonction du temps dans différents milieux de culture.....	40
Figure 4-3 : Variation du pH durant la culture dans les deux milieux	42
Figure 4-4 : Pourcentage d'élimination des cellules de microalgues par rapport au dosage de M. oleifera (mg/L)	43
Figure 4-5 : Pourcentage de la récupération de la biomasse microalgale par centrifugation.	45

Liste des tableaux

<i>Table 2-1 : Espèces de microalgues produisant des composés de grande valeur à des fins pharmaceutiques (Bhalamurugan et al. 2018)</i>	18
<i>Table 2-2 : Différentes microalgues potentielles utilisées dans les eaux usées (Gupta, Malik, and Bux 2017)</i>	Erreur ! Signet non défini.
<i>Table 3-1 : Composition chimique le de milieu de culture BBM.....</i>	Erreur ! Signet non défini.
<i>Table 3-2 : Caractéristiques physicochimiques de l'eau usée traitée</i>	32
<i>Table 4-1 : les paramètres de croissance μ (j^{-1}) et t (j) déterminés dans les deux milieux de culture testés.....</i>	41
<i>Table 4-2 : Les résultats de la productivité de la biomasse sèche.....</i>	42
<i>Table 4-3 : Comparaison entre l'efficacité du traitement pour différentes doses de M. oleifera.</i>	44

1 Introduction

Face aux problématiques liées à l'utilisation continue et l'épuisement rapide des sources de combustibles fossiles (pétrole, gaz et charbon), aussi les enjeux environnementaux associés à l'exploitation de ces sources fossiles à savoir; changement climatique mondial, augmentation des gaz à effet de serre, dégradation des écosystèmes et pollution de l'eau, les chercheurs sont forcés à développer et découvrir des sources d'énergie alternatives des énergies fossiles; à caractère durable, renouvelable et écologique.

À la recherche de méthodes novatrices et de molécules actives inédites qui s'inscrit dans une démarche de l'économie circulaire, la biotechnologie des Microalgues offrent des perspectives prometteuses et exceptionnelles dans plusieurs domaines, particulièrement elles indique l'une des sources d'énergie alternatives renouvelables et durables (Kumar et al), suite à son potentiel élevé pour produire de grandes quantités de biomasse qui à son tour peut être mise en œuvre pour la production de bioénergie et d'autres fins.

Les avantages d'utiliser les Microalgues comme ressources renouvelables sont nombreuses, parmi celles-ci les plus importantes sont cités ci-dessous;

- Les microalgues ont la capacité de croître et de se reproduire rapidement la biomasse à partir de l'énergie solaire gratuite, du CO₂ et des nutriments présents dans son milieu de culture, ce qui leur permet d'atteindre une croissance rapide et une productivité à l'hectare beaucoup plus élevés que les plantes terrestres. A titre exemple; dans des conditions de culture appropriés, certaines espèces de microalgues sont capable d'accumuler jusqu'à 50 à 70 % d'huile/lipide par biomasse sèche et elles pourraient produire jusqu'à 58 700 L d'huile par hectare, soit une ou deux fois plus élevée que celle de toute autre culture énergétique (Chisti).
- les microalgues peuvent être cultivées dans l'eau usée au lieu d'eau douce, ce qui permet d'une part de traiter efficacement cette eau en éliminant les nutriments tels que l'azote et le phosphore, et d'autres part de réutiliser une ressource déjà disponible, économiser de l'eau, et contribuer à la préservation des ressources en eau douce limitées (Pittman et al.).
- Les microalgues ont une capacité élevée d'absorption de CO₂ via à la photosynthèse. Elles utilisent le CO₂ présent dans l'atmosphère ou dans les sources de carbone, comme l'eau usée, pour leur croissance, contribuant ainsi à réduire la concentration de

ce gaz à effet de serre dans l'atmosphère (Gonçalves et al.).

- Les microalgues sont de véritables usines cellulaires car toute l'énergie captée permettra de générer dans la cellule d'importants métabolites primaires tels que les sucres, les protéines et les lipides, pour lesquels des voies de transformation existent pour des applications incluant pour l'alimentation humaine et animale et le biocarburant, production de produits chimiques de haute valeur, composés bioactifs, engrais, antioxydants et colorants (Hallmann).

La liste des microalgues cultivées pour diverses applications ne cesse de s'allonger et les connaissances en termes de recherche, de développement biotechnologique et de commercialisation continuent de croître. De nombreux aspects du processus de production ont été améliorés, notamment la sélection et l'ingénierie des souches des microalgues, les systèmes de culture, le suivi de la croissance, la récolte ainsi que la conversion des lipides, des sucres ou de la biomasse entière en produits souhaités.

Notre projet de fin d'étude s'inscrit dans le contexte du développement des biotechnologies en Algérie, en particulier dans le domaine des sources d'énergie alternative. Dans un premier temps, ce travail vise à purifier une souche de microalgues appartenant au groupe *Chlorella*.

Par la suite l'intérêt sera penché sur le suivi de la cinétique de croissances par la détermination de la densité optique (DO), densité cellulaire (cell/mL) et la matière sèche (g/L), le calcul du taux de croissance (μ) et du temps de doublement (dt) des microalgues dans le milieu de culture Bold Basel (BBM) et dans l'effluent provenant de la station de traitement des eaux usées. Ces expériences seront réalisées dans un système fermé et sous des conditions de culture bien contrôlées (Température, agitation, pH, et Lumière). Ce suivi permet d'évaluer l'effet de milieu de culture sur la biomasse produite.

Dans un deuxième temps, les techniques de la récolte de la biomasse produite par le biais d'un coagulant à base naturel et par centrifugation ont été examinées.

Notre travail comprendra également la quantification de taux de lipide contenus dans une biomasse algale. Ces lipides constituent une matière première idéale pour la génération de biocarburants, contribuant ainsi à une valorisation bioénergétique de la biomasse des microalgues. Cette investigation s'inscrit dans la recherche des énergies renouvelable et du développement durable.

2 Généralités sur les Microalgues Aquacoles

2.1 Les Microalgues

Les microalgues sont des microorganismes présents sur terre depuis plus de trois milliards d'années, ce sont des micro-organismes unicellulaires photosynthétiques de tailles variées, allant de quelques micromètres à plusieurs dizaines de micromètre (invisible à l'œil nu); contrairement aux plantes végétaux (Cadoret and Bernard). Elles sont essentielles à l'équilibre des écosystèmes marins en tant que maillon crucial de la chaîne alimentaire et jouent également un rôle vital dans la préservation de la biodiversité (Ghobrini et al.). Comme toutes les autres plantes, les microalgues ont la capacité, grâce à la photosynthèse, de convertir le dioxyde de carbone en oxygène et de transformer l'énergie solaire en une matière première essentielle (polysaccharides, pigments, lipides) à la base de la chaîne alimentaire des autres organismes vivants. Les Microalgues, en tant que composantes importantes du plancton ont réussi à coloniser presque toutes les niches écologiques, y compris des milieux extrêmes. Leur remarquable capacité d'adaptation leur permet de prospérer dans divers habitats en fabriquant des structures de résistance lorsque les conditions écologiques sont défavorables. Elles peuvent survivre dans des environnements acides, alcalins et même riches en acide sulfhydrique. De plus, certaines espèces de Microalgues sont capables de résister au froid, aux températures élevées ou à la sécheresse. Leur adaptabilité à une grande variété de milieux en fait des organismes extrêmement résilients et polyvalents, ce qui explique la variété d'espèces qui comporte actuellement 20 000 à 1000 000 espèces différentes (Thurman, 1997).

Malgré ce grand nombre, l'intérêt scientifique pour les microalgues n'est apparu que relativement récemment. Les recherches sur les microalgues se sont principalement concentrées sur une cinquantaine d'espèces bien identifiées, dont seulement une vingtaine sont activement exploitées et étudiées (Couté).

En ce qui concerne la multiplication des microalgues, elles se multiplient selon les espèces soit par scission des cellules en deux parties jusqu'à la production de spores, soit en les transformant directement en gamète ou en engendrant ceux-ci dans des cellules particulières.

2.2 Classification et Structure des Microalgues

La classification traditionnelle est initialement basée sur la composition pigmentaire des microalgues a permis d'établir cinq grands groupes taxonomiques (Figure 2-1) appelés:

2.2.1 Chlorophycées

Ces algues sont très répandues, elles sont riches en un pigment vert qui leur donne leur couleur : la chlorophylle. Elles contiennent des chlorophylles *a* et *b* puis d'autres pigments. Les membres du phylum Chlorophycées peuvent être trouvés dans des environnements d'eau douce, marins ou même terrestres, et comprennent des membres unicellulaires et multicellulaires possédant les chlorophylles *a* et *b* dans un seul chloroplaste entouré de deux membranes enveloppes, comme; *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, *Haematococcus pluvialis*, *Pa-rietochloris incisa* et *Botryococcus braunii* (Heimann and Huerlimann).

Ces microalgues sont caractérisées par une mitose fermée, un système racinaire microtubulaire flagellaire croisé (Leliaert et al.). Les Microalgues vertes sont très riches en calcium et en protéines, ainsi que des vitamines et d'antioxydants. De plus, elles possèdent aussi un pouvoir gélifiant important.

2.2.2 Rhodophycées

Les membres du phylum Rhodophyta comprennent principalement des espèces multicellulaires marines, tandis que les espèces d'eau douce ou unicellulaires sont rares. Ces Microalgues contiennent un pigment rouge; du fait de la présence dans leurs plastes d'un pigment appelé la phycoérythrine. Elles sont principalement marines et pour la plupart, pluricellulaires comme l'espèce *Porphyridium cruentum* (Heimann and Huerlimann). Les cellules sont sphériques avec un noyau excentrique et contiennent un grand chloroplaste unique entouré de deux membranes enveloppes avec un seul pyrénôïde central. (Gantt and Conti).

2.2.3 Haptophyte

Les algues appartenant au phylum Haptophyta sont principalement marines et unicellulaires ou coloniales, bien que certaines espèces d'eau douce soient connues : *Isochryse aff. Galbana* (T-ISO) et *Pavlova salina*, sont les deux exemples les plus communs. Leur structure comprend un appareil de Golgi en forme d'éventail situé près de la base basale du flagelle. Par exemple, les cellules du genre *Rebecca* sont biflagellées, de couleur vert jaunâtre et contient un seul chloroplaste.

Ces cellules sont allongées et légèrement comprimées, portant deux flagelles de longueur inégale, un haptonème court et un stigmate absent à l'œil nu (Heimann and Huerlimann).

2.2.4 Straménopiles

2.2.4.1 Eustigmatophycées

Les membres de la classe des Eustigmatophycées caractérisé par la présence de la chlorophylle *a* uniquement, contrairement aux autres stramenopiles qui possèdent également la chlorophylles *c*. Ces espèces sont tous unicellulaires et peuvent être trouvés dans les eaux marines, les eaux douces et les milieux terrestres. *Nannochloropsis oculata* est un exemple de ce phylum, fréquemment utilisé comme aliment vivant pour l'aquaculture. Ces unicellulaires sont ovales à rondes, ne dépassant pas 5 µm de diamètre, avec une papille caractéristique. Elles sont immobile contenant une seule mitochondrie, un corps de Golgi et un plaste, ce dernier comportant un pyrénioïde excentrique (Suda et al).

2.2.4.2 Bacillariophycées

Les membres de la classe des Bacillariophycées peuvent être trouvés dans les environnements d'eau douce et marins et sont principalement unicellulaires, bien que certains soient coloniaux. Et beaucoup sont utilisés comme aliments pour l'aquaculture notamment, *Skeletonema costatum*, *Chaetoceros muelleri*, et *Thalassiosira pseudonana*. Les microalgues de cette classe se distinguent par des cellules cylindriques, contenant deux chloroplastes, où la face du bord de la valve porte de longs processus (costae), qui se connectent aux processus provenant de la face valvulaire des cellules filles adjacentes (Heimann &Huerlimann, 2015).

2.2.4.3 Labyrinthulomycètes

Les Labyrinthulomycètes sont des protistes hétérotrophes et filamenteux classés parmi les Stramenopiles, composés principalement d'espèces marines. La plupart sont des décomposeurs saprotrophes, tandis que certains agissant comme parasites. Les genres tels qu'Auran- thiochytrium, *Schizotrichium*, *Thraustochytrium* et *Ulkenia* présentent un intérêt commercial pour la production de pigments et d'acides gras. Ces caractéristiques morphologiques et biochimiques sont utilisées pour distinguer les différentes espèces (Heimann and Huerlimann).

2.2.4.4 Dinophyta

Le phylum Dinophyta contient des membres unicellulaires principalement marins, avec

quelques espèces d'eau douce. Environ la moitié des Dinophyta sont photosynthétiques, tandis que l'autre moitié sont des hétérotrophes sans chloroplastes ; par exemple, *Cryptothecodinium cohnii* qui est un dinoflagellé marin, hétérotrophe et incolore. Il se caractérise par flagellation dinokont, où le flagelle transversal se trouve dans un cingulum encerclant médial, le quel est déplacé et descend vers la gauche (Prabowo et al.).

2.2.5 Cyanophycée (Cyanobactérie)

Ce sont une sous-classe de bactéries, autrefois appelées « algues bleues ». On en connaît plus de 7500 espèces, (dont au moins 200 pouvant être libres, c'est-à-dire non-symbiotiques et capables d'une vie indépendante), réparties dans plus de 150 genres. Les cyanobactéries sont des organismes procaryotes autotrophes ne présentant ni noyau véritable, ni plaste, ni reproduction sexuée. Elles possèdent de la chlorophylle et d'autres pigments, d'où leur couleur qui peut varier beaucoup, bien que moins de 50 % d'entre elles soient bleues, d'où leur nom. Par exemple, l'espèce *Arthrospira platensis* connue sous le nom de spiruline, illustre bien cette diversité de couleurs. En fait, plus de la moitié des cyanobactéries connues présentent des couleurs dorées, jaune, brune, rouge, vert émeraude, violette, ou bleu foncé presque noir. Les cyanobactéries peuvent former des filaments dépassant un mètre de long, êtres unicellulaires, et se subdiviser en fragments appelé hormogonies, et plus rarement en plaques, ou colonies irrégulières (Stanier and Cohen-Bazire).

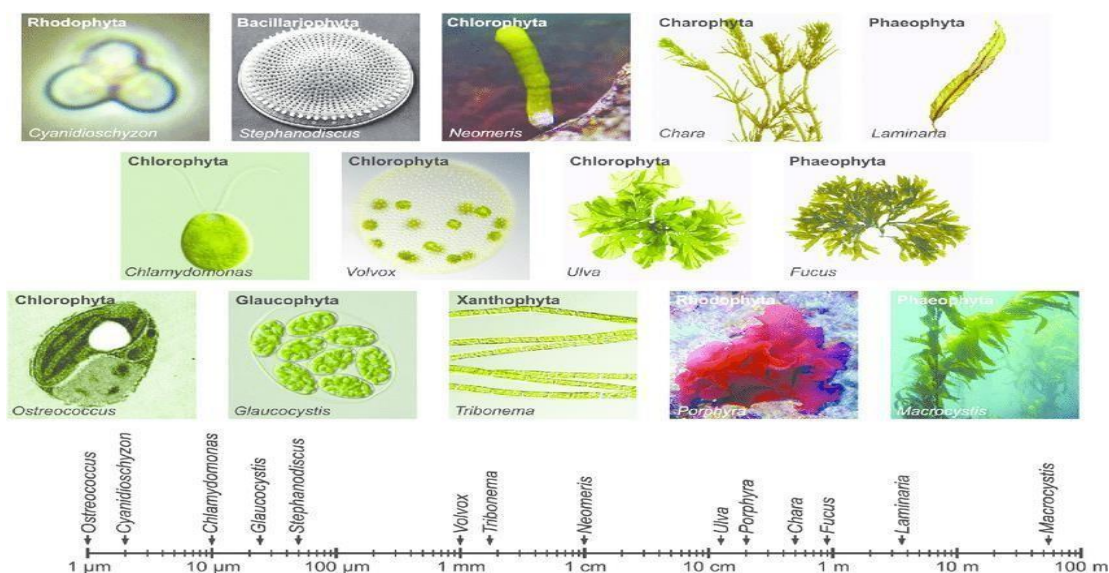


Figure 2-2 les différentes formes et tailles des microalgues (Hallmann 2015)

2.3 Cinétique de croissance des Microalgues

La croissance des microalgues peut être représentée par une courbe de croissance en fonction du temps. Cette courbe est généralement composée de différentes phases distinctes (Figure 2-2).

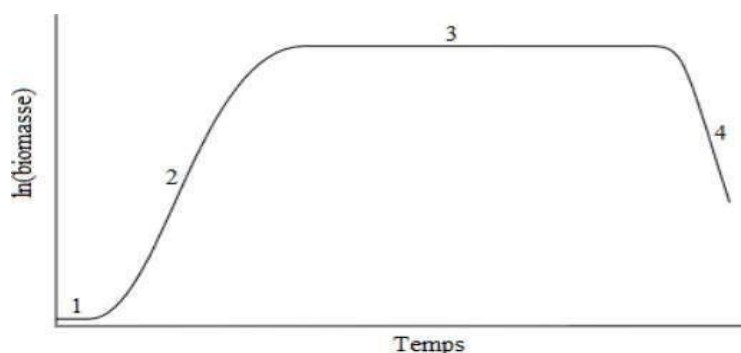


Figure 2-3 : Courbe de croissance des Microalgues (Leinfelder et al).

- Phase de latence : Au début, juste après le semis des microalgues, Les cellules s'adaptent aux conditions environnementales et commencent à se multiplier lentement.
- Phase exponentielle : Une fois que les microalgues ont acclimaté à leur environnement. Les cellules se divisent rapidement et leur nombre augmente de manière exponentielle avec le temps. Cette phase est caractérisée par une forte augmentation de la biomasse des microalgues.
- Phase stationnaire : À un certain stade, les microalgues atteignent une densité maximale dans leur milieu de culture. La quantité de nutriments disponibles devient limitée et les autres conditions environnementales peuvent également commencer à devenir moins favorables. Cela conduit à un équilibre entre la croissance et la mortalité des cellules, entraînant une phase stationnaire où la biomasse des microalgues reste relativement constante.
- Phase de déclin : Si les conditions deviennent de plus en plus défavorables, la biomasse commence à diminuer à mesure que les cellules meurent plus rapidement qu'elles ne se multiplient. Cela peut être dû à l'épuisement des nutriments, à une accumulation de produits métaboliques toxiques ou à d'autres facteurs Environnementaux (Leinfelder et al).

2.4 Conditions de culture des microalgues

On sait que les caractéristiques de croissance et la composition des microalgues dépendent fortement des conditions de culture, dans ce contexte il existe 4 types de culture :

2.4.1 Phototrophe

Dans le type de culture phototrophique, les cellules de microalgues utilisent la lumière du soleil comme source d'énergie et le carbone inorganique (par exemple dioxyde de carbone) pour former de l'énergie chimique par la photosynthèse (Chen et al.). Ce mode de culture est particulièrement important pour la production de biomasse en extérieur, tandis que la disponibilité constante de la lumière solaire avec une intensité lumineuse appropriée constitue un problème majeur dans ce système (Zabed et al.).

2.4.2 Culture hétérotrophe

Certaines espèces de microalgues peuvent non seulement se développer dans des conditions phototrophes, mais également utiliser du carbone organique dans l'obscurité, tout comme les bactéries. La situation dans laquelle les microalgues utilisent le carbone organique comme la source d'énergie et de carbone est appelée culture hétérotrophe. Certains microalgues peuvent assimiler diverses sources de carbone organique (telles que le glucose, l'acétate, le glycérol, le fructose, le saccharose, le lactose, le galactose) pour leur croissance. Le mode de culture hétérotrophe pourrait éviter les problèmes associés à une lumière limitée qui entravent une densité cellulaire élevée dans les photobioréacteurs à grande échelle lors de la culture phototrophique, avec une production de biomasse plus élevées pourraient être obtenues grâce à l'utilisation de la culture hétérotrophe contrairement à la culture phototrophe (Chen et al; Zabed et al).

2.4.3 Culture mixotrophe

La culture mixotrophe se produit lorsque les microalgues subissent la photosynthèse et utilisent à la fois des composés organiques et du carbone inorganique (CO₂). Cela signifie que les microalgues sont capables de vivre dans des conditions phototrophes ou hétérotrophes, ou les deux. Les microalgues assimilent les composés organiques et le CO₂ comme source de carbone. Le CO₂ rejeté par les microalgues via les respirations et on est capté et réutilisés dans des cultures phototrophique (Chen et al.).

2.4.4 *Culture photoheterotrophe*

La culture photohétérotrophe se produit lorsque les microalgues ont besoin de lumière lorsqu'elles utilisent des composés organiques comme source de carbone. La différence principale entre la culture mixotrophe et photohétérotrophe est que cette dernière nécessite la lumière comme source d'énergie, tandis que la culture mixotrophe peut utiliser des composés organiques. Par conséquent, la culture photohétérotrophe a besoin à la fois de sucres et de lumière (Chen et al.).

2.5 **Mode de culture des Microalgues**

Il existe différents modes de production : Mode continu, semi-continu (Fed-batch) ou discontinu (Batch).

2.5.1 *Mode discontinu (Batch)*

Le mode de production discontinu implique une récolte effectuée à des intervalles réguliers, tel qu'une fois par jour. Dans le cas de la culture des microalgues, ce mode "batch" est réalisé pendant la phase exponentielle de croissance, période où la croissance des microalgues est maximale. Toutefois, ce mode présente des inconvénients pour la culture des microalgues, car au fil du temps, la concentration cellulaire ainsi que les paramètres de culture, tels que l'accès à la lumière et la composition biochimique des microalgues, vont varier (Salomez).

2.5.2 *Mode semi continu*

Le mode semi-continu implique une récolte à des intervalles plus rapprochés que dans le mode discontinu, se rapprochant ainsi du fonctionnement continu avec une récolte effectuée toutes les heures (Salomez).

2.5.3 *Mode continue*

Le mode continu implique une récolte ininterrompue au fil du temps, avec recyclage du milieu en sortie pour réintégration dans le processus de production. Un apport continu de milieu frais permet de fournir de nouveaux nutriments. Ce mode est considéré comme idéal car il garantit des paramètres stables, optimise la production en minimisant les interruptions et nécessite moins de main-d'œuvre, ce qui réduit significativement les coûts de production (Salomez).

2.6 Systèmes de culture

La culture de microalgues est largement explorée et maîtrisée à petite et moyenne échelle, mais sa mise en œuvre à grande échelle reste un défi. Deux approches principales de culture, tant en laboratoire qu'en industrie, ont été élaborées et se divisent principalement en systèmes ouverts, comme les bassins, et en photobioréacteurs, qui sont des systèmes fermés.

2.6.1 Les Systèmes ouverts

Dans les systèmes ouverts de culture, une grande partie de la surface est exposée à l'environnement extérieur (Figure 2-3). La culture se déroule dans des bassins artificiels où le milieu est mélangé et circule grâce à des hélices ou des injecteurs d'air. Le mouvement est contrôlé par la vitesse de rotation de ces dispositifs, tandis qu'un système de bulles permet l'apport en CO₂. Ces bassins sont généralement peu profonds. Il existe principalement trois types de systèmes ouverts : système ouvert sans agitation, bassin circulaire et bassin à chemin de roulement (Ting et al.).

2.6.1.1 Système ouvert sans agitation

La plupart des systèmes d'eau naturels sont dépourvus d'unité d'agitation. Les lacs, lagons et les étangs sont les photobioréacteurs courants. Ces systèmes fournissent un moyen économique, simple et pratique pour faire fonctionner et surveiller le processus de culture. L'étang naturel a généralement moins d'un demi-mètre de profondeur, et ce pour garantir que la lumière pénètre dans l'eau et soit absorbée par les cellules des algues. Certaines espèces d'algues, comme *Dunaliella salina*, peuvent être cultivées dans ce type de systèmes ouverts à des fins commerciales (Ting et al.; Vonshak et al.).

2.6.1.2 Étang circulaire

Un bassin circulaire est principalement utilisé pour la culture de la *Chlorella sp* en Asie (Lee). L'idée d'utiliser un étang aussi arrondi avec un long bras rotatif s'inspire du modèle circulaire réacteur dans le traitement des eaux usées. Ce type d'étang a une profondeur de 20 à 30 cm et un diamètre de 40 à 50 m. Le long bras rotatif est placé au centre de l'étang qui agit comme un cadran d'horloge et effectue en fonction de roue à aubes assurant un mélange efficace des milieux de culture et des cellules d'algues. Cependant, la contamination reste inévitable en

raison de l'exposition des algues à l'environnement. La productivité dans ce type de bassin circulaire varie entre 8,5 g/ m²·j (Ting et al).

2.6.1.3 *Bassin Raceway*

Depuis leur introduction dans les années 50, les bassins Raceway sont devenus les systèmes ouverts les plus populaires pour la culture à grande échelle et la production commerciale de produits à base de microalgues, comme la spiruline. Leur concept repose sur la circulation des algues sur une faible largeur et profondeur (entre 15 et 50 cm), mais sur une grande distance. Cette circulation et ce brassage sont assurés par des roues à aubes. La productivité de ces bassins est estimée à environ 20-25 g/m²/j, avec une concentration cellulaire inférieure à 0,6 g/L (Ting et al.).



Figure 2-4 : les différents systèmes ouverts de culture des Microalgues dans le monde
Système fermé (Photobioréacteurs).

2.6.2 Systèmes fermés

Les photobioréacteurs sont des dispositifs fabriqués à partir de matériaux transparents, conçus pour optimiser la surface éclairée, favoriser un mélange efficace et réguler les paramètres essentiels de culture tels que la température, la concentration en CO₂ et en O₂, ainsi que le pH, tout en maintenant la stérilité de la culture, pour atteindre une productivité maximale. (Brennan and Owende). D'autres paramètres importants peuvent être contrôlés dans les PBR tel que rayonnement lumineux, les échanges gaz/liquide, l'incorporation des nutriments au niveau cellulaire. Les prochaines sections décrivent les différents types de PBR utilisés (Figure 2-4).

2.6.2.1 Écran plat

Écran plat est une sorte de PBR commun avec une apparence de boîte rectangulaire qui est utilisée soit dans culture pure d'algues ou culture d'eaux usées d'algues. Il peut être situé soit à l'intérieur, exposé à la source de lumière artificielle ou à l'extérieur exposé au soleil. Les écrans plats sont réalisés en matériaux transparents (verre, plexiglas, polycarbonate et sacs plastiques). Les écrans plats ont un trajet lumineux très court qui permet à la lumière de pénétrer facilement dans le liquide de culture. Le mélange est principalement provoqué par les bulles d'air générées par le jet d'air (Ting et al.).

2.6.2.2 Tube vertical

Il existe types de PBR à tubes verticaux: à colonne à bulles et à transport aérien. Les deux ont un économiseur d'air attaché au fond du réacteur, convertissant le gaz épargné en minuscules bulles pour assurer la suspension des cellules d'algues et améliorer le transfert de masse, pour contenir la capture de CO₂ et l'émission d'O₂. Le réacteur à colonne à bulle n'a pas de structure interne, donc le flux de fluide est entièrement entraîné par des bulles, qui sont libérées par l'échangeur d'air situé au fond. Le réacteur à colonne à bulles présente les avantages d'un faible coût, d'un rapport surface/volume élevé, d'une configuration simple et d'un transfert de masse satisfaisant (Ting et al.).

2.6.2.3 Tube tubulaires

Les réacteurs PBR à tube horizontal, également appelés réacteurs tubulaire, présentent le plus grand rapport surface/volume, ce qui permet de maximiser l'exposition des microalgues à la lumière. Les PBR à tube horizontal sont constitués de tubes disposés selon plusieurs orientations possibles, telles que horizontales, inclinées, en spirale, et hélicoïdales. Le diamètre des tubes horizontaux varie de 10 mm à 60 mm et la longueur peut atteindre plusieurs centaines de mètres. La vitesse d'écoulement dans les PBR tubulaires est un paramètre important. Ainsi le mode de culture dans ce système est continu, et la biomasse d'algues peut être récoltée, après avoir été brassée de manière cyclique (Ting et al.).

2.6.2.4 Réservoir agité

Ce type de PBR est inspiré du réservoir de fermentation, il a été conçu pour la culture des Microalgues avec une source lumineuse externe (lampes fluorescentes ou fibres optiques), dans un réservoir agité par le mouvement mécanique de la roue qui est entraînée par le moteur électrique, ce qui permet d'obtenir une bonne agitation et un bon transfert de masse. Le CO₂ est aéré par le brasseur d'air situé au fond du réservoir (Ting et al.).

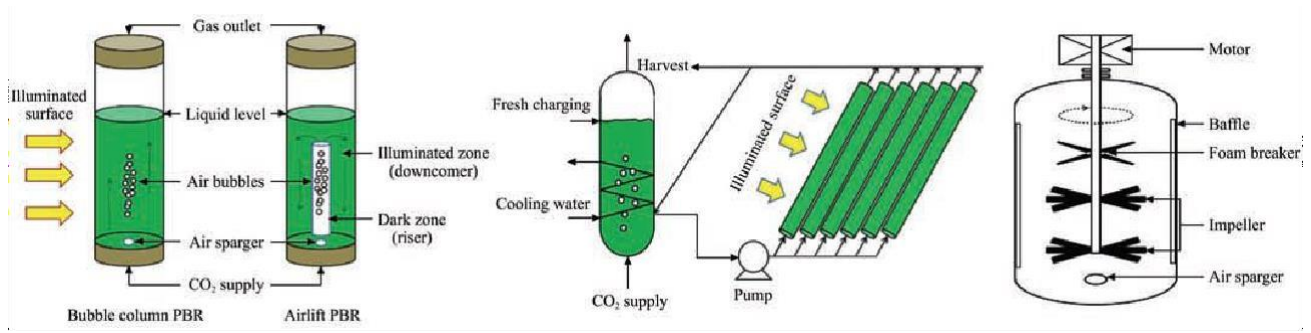


Figure 2-5 : Schémas des différents types de PBR pour la culture pure de microalgues (Ting et al, 2017).

2.6.3 Facteur environnementaux

Pour croître, les microalgues ont de nombreux besoins. Les facteurs physiques les plus importants sont figurent une source d'énergie, généralement la lumière et une température optimale. Quant aux facteurs chimiques ils incluent la concentration disponible en dioxyde de carbone et un apport en macronutriment et en oligo-éléments (Burlew, 1953).

2.6.3.1 Température

Chaque espèce de microalgues a une température optimale caractéristique qui favorise son développement et sa croissance. En d'autres termes, chaque type de microalgues a une plage de température préférentielle dans laquelle il prospère le mieux. Plus précisément la température affecte l'activité photosynthétique brute des microalgues en provoquant une division cellulaire, ce qui, à son tour, affecte la productivité de la biomasse des microalgues. Pour chaque augmentation de 10°C de la température, la croissance double jusqu'à ce qu'une température optimale soit atteinte ; Au-delà de ce point, une diminution de la croissance est observé (Gatamaneni et al.). En général, la plage de température optimale pour la plupart des espèces d'algues se situe entre 20 et 30°C.

2.6.3.2 Lumière

La lumière joue un rôle primordial dans la croissance photosynthétique des microalgues. Elle exerce une influence sur la composition cellulaire des microalgues, ce qui peut se traduire par des mécanismes de photo-adaptation ou de photo-acclimatation (Hu, 2004). Chaque espèce de Microalgues possède une plage spécifique de luminosité dans laquelle elle présente une activité optimale. Les Microalgues absorbent l'énergie lumineuse en présence de lumière et la stockent sous forme d'adénosine triphosphate (ATP) et d'oxygène. Ce dernier utilisé pour la

production de biomasse pendant la croissance des Microalgues est influencée (Figure 2-5), à savoir la limitation de la lumière, la saturation de la lumière et l'inhibition de la lumière. Lorsque la lumière est limitante, la croissance des algues augmente avec toute augmentation de l'intensité lumineuse. À la saturation de la lumière, l'activité photosynthétique diminue ce qui inhibe la photosynthèse (photoinhibition) (Richmond) cycle d'obscurité. Sous trois conditions de lumière.

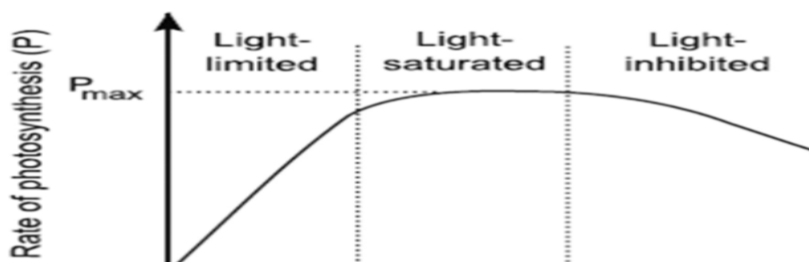


Figure 2-6 : Relation entre l'intensité lumineuse (I) et le taux de photosynthèse (P). (Béchet, Shilton, and Guieysse 2013)

2.6.3.3 *pH*

Le pH est un paramètre crucial qui contrôle le métabolisme cellulaire et la formation de bio- masse chez les microalgues. La plupart des Microalgues croient dans un pH proche de la neutralité, bien que les différentes espèces aient des niveaux de pH optimaux variés (Richmond). Lorsque le pH est élevé, la tendance à l'absorption des oligoéléments et des nutriments peut être altérée. De même, un pH faible, inhibe le processus de photosynthèse par les enzymes et peut entraîner la contamination du milieu de croissance par des micro-organismes (Blinová et al.). Il existe une corrélation entre le pH et la concentration du CO₂, car la consommation de ce dernier entraîne une augmentation du pH (Lutzu).

2.6.4 *Besoins nutritifs*

Trois nutriments primaires essentiels pour la croissance des microalgues sont le carbone, l'azote et le phosphore accompagnés d'un certain nombre de micronutriments tels que la silice, le calcium, le magnésium et le cuivre, le fer, le soufre, le zinc, et le cobalt. Ces éléments sont nécessaires à la production de la biomasse algale.

2.6.4.1 *Carbone*

Le carbone est le principal élément de la biomasse microalgale, représentant environ 65% du poids sec. Il peut être fourni par une source de sel (bicarbonate), ou par enrichissement de l'air injecté (car l'air ambiant ne contient pas assez de CO₂ pour la culture intensive des microalgues). Le CO₂ doit être solubilisé dans l'eau, où le dioxyde de carbone dissout peut

Prendre plusieurs formes (CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- , CO_3^{2-}), selon le pH (Figure 2-6). Les microalgues sont très consommatrices de dioxyde de carbone ; pour produire 1 kilogramme de biomasse, environ 1,8 kg de dioxyde de carbone sont nécessaires (Cadoret and Bernard).

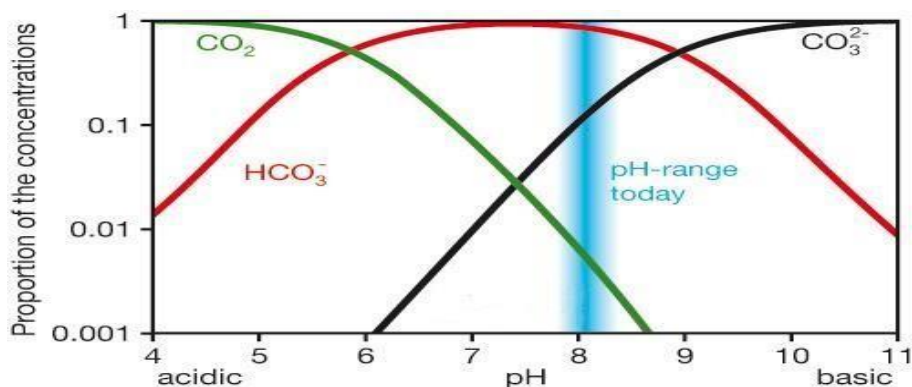


Figure 2-7 : Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH (Gitz 2004)

2.6.4.2 *L'azote*

L'azote est le deuxième élément le plus abondant dans la biomasse des microalgues, avec une concentration qui se situe généralement autour de 1% à 14% du poids sec (Richmond). C'est un composé biochimique essentiel pour la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des pigments (chlorophylles et phycocyanine) (Zuccaro et al). On le trouve sous forme inorganique (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-), mais aussi sous forme organique comme l'urée ou les acides aminés.

2.6.4.3 *Phosphore*

Le phosphore est un autre nutriment important pour la croissance des microalgues, puisque sa teneur en biomasse est de 0,05 % et 3,3 % et constitue un nutriment limitant pour les microalgues (Richmond). C'est un nutriment limitant pour les microalgues. Comme l'azote, le phosphore se présente dans la synthèse des molécules organiques telles que l'ARN, l'ADN, les phospholipides membranaires et l'ATP.

2.7 Récolte des Microalgues

La récolte des microalgues fait référence au processus d'extraction et de collecte de la biomasse des microalgues cultivées pour une utilisation ultérieure. La récolte est une étape cruciale dans la production d'algues, car elle permet de séparer les cellules d'algues de leur milieu de culture et de les concentrer pour une utilisation commerciale ou industrielle (Figure

2-7). Il existe plusieurs méthodes de récolte des microalgues, qui peuvent être adaptées en fonction des spécificités de l'espèce d'algues, des conditions de culture et de l'objectif final de la récolte. Le schéma suivant représente, quelques méthodes de récolte couramment utilisées.

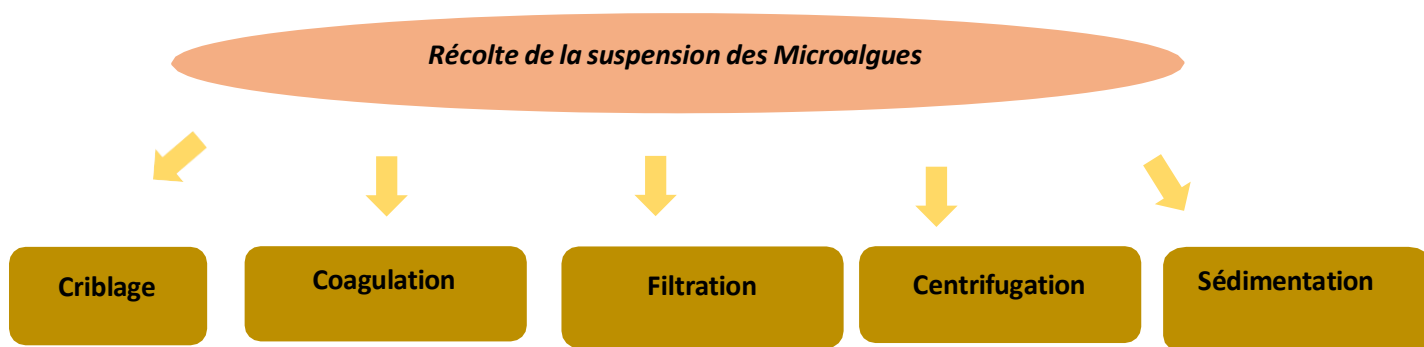


Figure 2-8 : Différentes méthodes utilisées pour la récolte des Microalgues

2.8 Bioproduits précieux obtenus à partir de la biomasse de microalgues et leurs applications commerciales

La biomasse de microalgues a un large éventail d'applications dans diverses industries. Certaines des applications courantes incluent;

2.8.1 Biomasse de microalgues comme alimentation humaine

Les microalgues sont de riches sources d'hydrates de carbone, de protéines et de lipides. Leur utilisation comme source de nourriture est très répandue en Chine et au Japon, ainsi qu'en Afrique et au Mexique, en raison de leur teneur abondante en protéines (jusqu'à 70 % du poids sec), en vitamines et en acides gras essentiels. Jusqu'à présent, la chlorelle et la spiruline ont été les microalgues alimentaires les plus vendues, en raison de leur croissance rapide. Par exemple la spiruline est riche en antioxydants tels que : caroténoïdes, de zéaxanthine et de lutéine (Bhalamurugan et al). Ces composés contribuent activement à protéger les cellules à l'encontre du stress oxydatif, ce qui promet d'améliorer la capacité antioxydante de la peau, des cheveux, ainsi que de renforcer l'immunité, et d'apporter vitalité et tonus.

2.8.2 Biomasse de microalgues comme alimentation animale

Au cours des dernières décennies, l'utilisation d'espèces de microalgues comme alimentation animale s'est rapidement développée. Allant du poisson aux animaux de ferme, la biomasse algale a été servie comme matière première pour leur croissance. Selon les statistiques environ 30 % de la biomasse d'algues produite dans le monde est vendue comme aliment pour animaux (Spolaore et al). En raison de leur richesse en protéines, les microalgues constituent un complément nutritionnel pour les larves de crustacés et de mollusques pendant une période

particulière de leur cycle de vie. Les espèces de microalgues couramment utilisées pour l'alimentation animale sont les suivantes: *Chlorella*, *Isochrysis*, *Phaeodactylum*, *Chaetoceros*, *Nannochloropsis*, *Tetraselmis*, *Dunaliella*, *Scenedesmus*, *Thalassiosira* et *Skeletonema*...ect (Bhalamurugan et al).

2.8.3 Biomasse de microalgues dans le domaine pharmaceutique

Les microalgues sont l'une des sources renouvelables de composés pharmaceutiques (Tableau 2-1), vue que les métabolites primaires et secondaires extraits par les microalgues peuvent être utilisés comme ingrédients pour le secteur sanitaire (Kaur et al). L'augmentation de la production de composés bioactifs à partir de sources naturelles (microalgues) a été observée, en raison de la rareté des sources de substrat, des rendements plus élevés des composés associés aux microalgues et du potentiel de production des entités chimiques difficile à obtenir par une synthèse chimique. Le tableau 2-1. Montre une vaste gamme de produits pharmaceutiques fabriqués à partir de microalgues comprenant les composés anti-microbien, anti-viral anti- fongique, anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, anti-cancérigènes, anti- hypertensives, anti-lipidémiques et antidiabétiques. Les microalgues les plus couramment utilisées pour la production de composés bioactifs d'intérêt pharmaceutique comprennent *Arthrospira* (spiruline), *Chlorella*, *Dunaliella*, *Haematococcus* et *Nostoc* (Bhalamurugan et al.)(Spolaore et al.).

Table 2-1 : Espèces de microalgues produisant des composés de grande valeur à des fins pharmaceutiques (Bhalamurugan et al).

S.No	Name of the microalgae	Product obtained
1	<i>Chlorella</i> sp.	Lutein, β -carotene, α -carotene, α -tocopherol
2	<i>Cryptocodinium cohnii</i>	Docosahexanoic acid
3	<i>Haematococcus pluvalis</i>	Carotenoids, astaxanthin, lutein
4	<i>Nannochloropsis gaditana</i>	Eicosapentanoic acid
5	<i>Scenedesmus almeriensis</i>	Lutein, β -carotene
6	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	Glycerol

2.8.4 Biomasse de microalgues dans le domaine cosmétiques

La tendance actuelle dans le monde de la cosmétique est de développer des produits qui répondent à la demande des consommateurs pour des produits qui apportent de multiples avantages avec peu ou pas d'efforts. Les microalgues font l'objet d'une grande attention car elles peuvent être utilisées efficacement dans le traitement de troubles cutanés comme le vieillissement, le bronzage et les problèmes liés à la pigmentation (ex. crème anti-âge, produits de soins rafraîchissants ou régénérant, émoullissants et anti-irritants dans les peelings). Les algues couramment utilisées dans les industries cosmétiques comprennent la Spiruline sp, la Chlorella sp, et l'Arthrospira sp. Les microalgues ont été utilisées comme agents de blanchiment de la peau en inhibant l'enzyme tyrosinase, ce qui entraîne la réduction du pigment de mélanine.

2.8.5 Biomasse algale dans le domaine bioénergétique

La demande future en énergie devrait augmenter en raison de la croissance démographique et économique continue. Cependant, répondre à ces demandes avec les niveaux actuels de ressources fossiles et l'exploitation des combustibles fossiles le charbon, le pétrole et le gaz, entraînera probablement des changements climatiques induits par les émissions anthropiques de gaz à effet de serre (principalement le dioxyde de carbone). Cela pourrait entraîner des changements généralisés dans les communautés écologiques et à une augmentation des risques d'extinction des espèces. Les microalgues peuvent constituer une plateforme de bioénergie durable et complémentaire présentant divers avantages (Abdelfattah et al.). L'un des avantages est leur capacité à capter le dioxyde de carbone lors de leur croissance contribuant ainsi à réduire les émissions de dioxyde de carbone. Les biomolécules issues de la biomasse microalgale (à savoir les lipides, les protéines et les glucides), ainsi que la cellule entière, peuvent être transformés en bioénergie à l'aide de différentes technologies établies (Siddiki et al.). La composition biochimique est un facteur décisif pour la production spécifique de bioénergie. Par exemple, les microalgues riches en lipides constituent une matière première potentielle pour la production de biodiesel (Figure 2-8). De même, la biomasse algale riche en glucides et protéine est utilisée principalement pour la production bioéthanol, biohydrogène, et notamment des biocarburants gazeux (biogaz et gaz de synthèse).

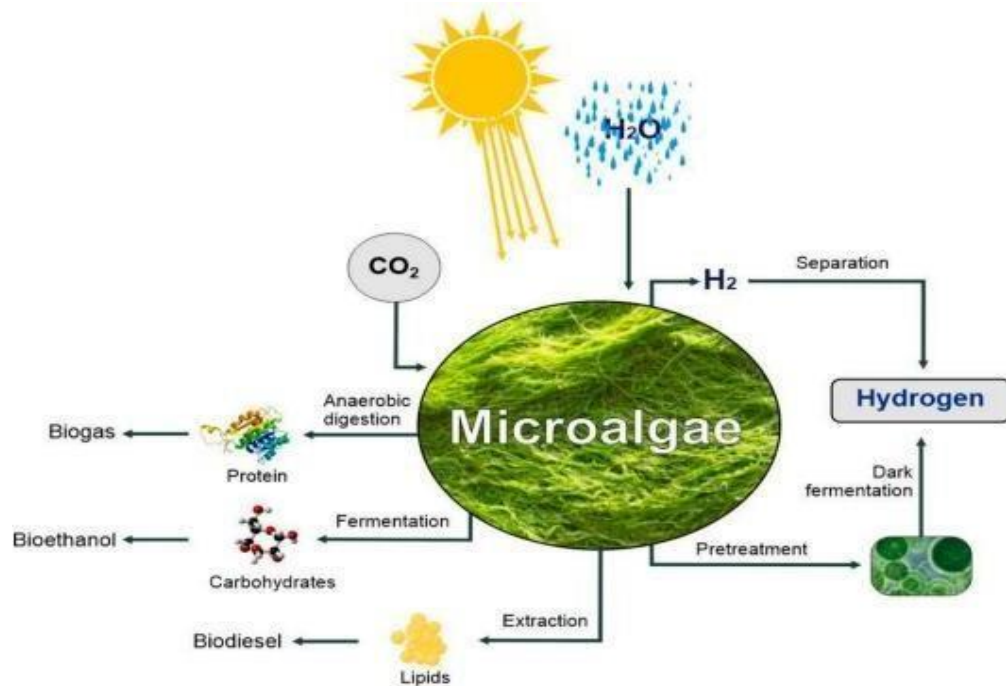


Figure 2-9 : Applications potentielles des microalgues dans la production de bioénergie. Différents bio- carburants peuvent être produits à partir de microalgues par digestion anaérobie, fermentation, processus de transestérification (Siddiki et al 2022).

2.8.6 Biomasse algale pour le traitement des eaux usées

La bioremediation des eaux usées fait référence à l'utilisation de microalgues pour traiter et assainir les eaux usées contaminées. Les microalgues peuvent jouer un rôle crucial dans ce processus en éliminant les polluants et en améliorant la qualité de l'eau. De nombreuses espèces de microalgues sont capables de se développer efficacement dans conditions des eaux usées (Table 2-2) grâce à leur capacité à utiliser le carbone organique abondant ainsi que le N et le P inorganiques qui sont souvent présents en fortes concentrations dans les eaux usées. Le traitement des eaux riches en matière organique nécessite de coupler l'action de bactéries à celle des microalgues. L'oxygène produit par la photosynthèse des microalgues est utilisé par les bactéries pour oxyder la matière organique (par la respiration). Le CO₂, l'azote et le phosphore libérés par les bactéries et présents dans les eaux usées sont utilisés par le métabolisme des microalgues. En cultivant des microalgues dans les eaux usées, ces organismes peuvent absorber et incorporer les nutriments dans leur biomasse, réduisant ainsi la charge en nutriments dans l'eau (Pittman et al).

Chapitre 3. Matériels et Méthodes

3. Matériels et Méthodes

3.1. Matériel Biologique

L'espèce étudiée dans ce travail appartient au genre *Chlorelle*. La souche explorée provient du Centre National de la Recherche de la Pêche et de l'aquaculture (CNRDPA). Elle était cultivée dans un milieu solide d'agar-agar enrichie en milieu de culture (Figure 3-1).



Figure 3-1 : Souche isolée dans un milieu solide (boite de pétri).

3.2 Matériels Utilisés

<i>Matériel de laboratoire</i>	<i>Matériel de culture</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Agitateur Mécanique • Autoclave • Balance de précision (KERN ABJ-NM/ABS-N) • Bec benzen • Bechers (100, 250 mL) • Etuve (Memmert ; 600) • Microscope optique (OPTIKA, microscope Italie, Gx10, Gx40, Gx100) • Micro pipette 200µL\1000µl • pH mètre (INOLAB Ph Level1) • Support à éprouvettes • Spectrophotomètre Model. (UV-51000 UV- VIS) • Pipette graduée • Tubes à essai • Centrifugeuse • Tamis de 40 µm • Papier filter (Whatman 1825-047GF/F – 47 mm). • Eprouvettes (100, 250, et 500mL) 	<ul style="list-style-type: none"> • Aquariums (100 × 40 × 30 cm) • Flacons en verre (1, 2, 3, et 5L) • Résistances d'aquarium (RS-200W ; 220-240v 50-60Hz) • Diffuseurs • Pompes à air d'aquarium (RS-1000) • 2 Lampes (40W, 165-265 V) • Tuyaux en nylon • Boites de pétri • Cellule Malassez • Anse de platine

3.3 Préparation de Milieu de culture

Substance	g/L
NaNO ₃	25
CaCL ₂	2.5
MgSO ₄	7.5
KH ₂ PO ₄	17.5
K ₂ HPO ₄	7.5
NaCl	2.5
EDTA	50
KOH	31
FeSO ₄	4.98
H ₂ SO ₄	1ml
H ₃ PO ₄	11.42
ZnSO ₄	8.42
Mncl ₂	1.44
Moo ₃	0.71
CuSO ₄	1.57
Co (NO ₃) ₂	0.49

Table 3-1 : Composition chimique de milieu de culture Bold Basel Medium

Le milieu de culture utilisé dans cette étude est le Bold Basel Medium, comme indiqué dans le Table3-1 qui présente la composition chimique détaillé du milieu (Figueroa-Torres et al). Le milieu BBM a été préparé au laboratoire à partir des solutions stock individuelles ; conformément au protocole de préparation. Par la suite, le Milieu de culture a été stérilisé à l'aide d'un autoclave à 120°C pendant 20 min, afin d'assurer une culture pure et éviter toute sorte de contamination. Avant la stérilisation le de milieu de culture était ajusté pour une valeur de pH optimale entre 7.1-7.3, à l'aide des deux solutions de KOH et HCl (0.1 M). Après la stérilisation, les solutions sont refroidies pendant 30 minutes à l'aide un bain-marie.

3.3.1 Préparation des solutions stock

Avant de préparer la solution, il est essentiel de déterminer la concentration exacte nécessaire selon le protocole établi. De plus, il est impératif de s'assurer que la balance soit propre et correctement étalonnée. Nous avons placé un papier aluminium propre et sec sur la balance pour peser notre soluté. Le soluté a été ajouté lentement sur le papier aluminium jusqu'à obtenir la masse correspondante requise. Une fois la quantité correctement pesée, nous l'avons transférée dans un bécher propre et sec qui contenait déjà une partie de l'eau distillée. Ensuite la solution est versée dans un flacon propre et étiqueté avec la concentration, la date de préparation et toute autre information utiles. Nous avons utilisés des flacons en verre et en plastique propres et secs qui étaient compatibles avec les produits chimiques (Figure3-2). Les bouchons des flacons étaient correctement scellés pour éviter toute contamination de la solution.



(1) Pesage de la
Masse des solutés



(2) Dissolution des
substances pesées
dans le solvant sous
agitation



(3) Préparation des
solutions stock



(4) Prélèvement un
volume précis de
chaque solutions



(5) Homogénéisation de la
solution finale et ajuste-
ment de pH

Figure 3-1 : Schéma représentatif de processus de préparation de milieu de culture.

3.3.2 Purification et repiquage

Un repiquage régulier de la culture mère des microalgues a été effectué dans un milieu solide agar-agar (boîtes de pétri) à l'aide d'une anse de platine dans des conditions stériles, en utilisant un Bec bensen et de l'alcool pour garantir la stérilité de la culture (Figure3-3). Ensuite un



Figure 3-2 : Processus d'inoculation sous des conditions stérile (Bec bensen).

Un volume de la culture pure était transférée dans des Erlenmeyers de 50 ml contient de milieu BBM, après elles sont maintenues sous agitation dans un agitateur orbital et sous illumination continue en utilisant 2 lampes (20W, 165-265 V); pendant 10 jours d'incubation. Le repiquage s'est avéré être une étape importante afin d'augmenter le volume de la culture et de maintenir une croissance rapide.

3.3.3 Montage expérimentale de la culture des microalgues

Une fois la phase exponentielle de la culture des solutions filles terminée, un volume soigneusement calculé a été transféré dans des conditions stériles (Bec Bensen, alcool), vers des flacons borosilicatés de 1L contenant 600 mL de milieu de culture préalablement stérilisés. Les flacons ont été scellés et modifiés par l'ajout d'un tube pour l'entrée du gaz. Toutes les cultures étaient réalisées au laboratoire de l'aquaculture à une température constante de 22°C maintenue à l'aide d'une résistance de type (RS-200W ; 220-240v 50-60Hz), et exposé à une illumination continue grâce à l'utilisation de deux lampes de type (60W, 165-265 V). L'intensité lumineuse mesurée à la surface des flacons était de 25436 Lux mesurée par un luxmètre. L'agitation est effectuée par l'injection de l'air atmosphérique à l'aide d'une pompe à air type (RS-1000). L'ajout de l'air permet aussi d'enrichir la culture avec d'une source de carbone inorganique nécessaire à sa croissance ($\text{CO}_2 = 0.04 \text{ M}$) (Gonçalves et al).

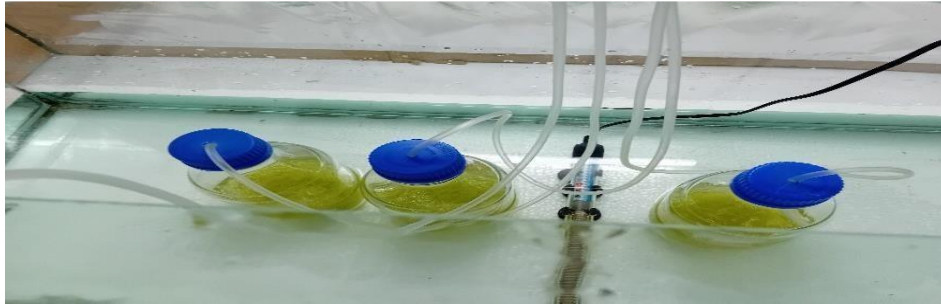


Figure 3-3 : Montage expérimentale de la culture des microalgues en mode discontinue.

3.3.4 Mesure de l'absorbance (DO)

Le suivi de la densité optique de la culture des microalgues est une méthode courante pour évaluer la croissance et la densité cellulaire des microalgues dans un milieu de culture. Un volume homogène d'échantillon a été prélevé chaque jour à un intervalle régulier. L'échantillonnage sert à la fois pour la mesure de la DO et le comptage cellulaire. Pour réaliser le suivi de la densité optique nous avons utilisés un spectrophotomètre (UV-51000 UV- VIS) (Figure3-5). Le principe de la mesure repose sur l'envoi d'une lumière à une longueur d'onde spécifique à travers l'échantillon de culture des microalgues et mesurer la quantité de lumière absorbée par les cellules. Cette mesure est ensuite convertie en une valeur de densité optique (Manual). Avant d'effectuer la lecture, le spectrophotomètre doit être calibré en supprimant l'absorbance du blanc. Il est également important que l'échantillon soit bien homogénéisé avant chaque mesure, pour garantir une lecture correcte. La valeur indiquée par le spectrophotomètre est ensuite enregistrée.



Figure 3-4: Spectrophotomètre utilisé pour la mesure de la densité optique (UV-51000 UV VIS).

3.3.5 Comptage cellulaire

Le comptage cellulaire des microalgues a deux objectifs principaux : calculer la taille de la population cultivée qui peut être exprimée en nombre total de cellules par unité de volume de culture, et évaluer le taux de croissance de la culture qui est égal au taux d'augmentation de la population (Figure 3-6). Pour cela nous avons utilisés microscope optique (OPTIKA, microscope Italie,) avec des objectifs 10X et 40 X, un flacon en plastique de 80 % de l'éthanol, un hémacytomètre, une lame, une lamelle, ainsi que des Micropipettes. L'éthanol a été utilisé pour fixer la lamelle sur le dessus des lames de comptage.



Figure 3-5 : Cellule de Malassez

La micropipette de 20 à 200 μL a été utilisée pour remplir le compartiment de la chambre de comptage, tandis que la micropipette de 1 000 μL était utilisée pour homogénéiser l'échantillon. L'hémacytomètre utilisé dans cette expérience était doté d'une chambre de 0,1 mm de profondeur (Figure.2.6). Il comporte deux chambres et chaque chambre comporte neuf carrés de 1 mm. La chambre a plusieurs couches de division qui sont des carrés de 250 μm , des rectangles de 250 \times 200 μm , des carrés de 200 μm et des carrés de 50 μm carrés. Le volume d'un carré de 1 mm est de 0,0001 mL. Après avoir nettoyé la chambre de comptage avec de l'eau distillée et de l'éthanol un volume de suspension microalgale était injecté à l'aide d'une micropipette tout en assurant un remplissage total en une seule fois, sans bulles d'air, et sans déborder le liquide dans les rigoles. Ensuite l'hémacytomètre remplis avec l'échantillon est disposé sous le microscope. Les cellules doivent se sédimenter sur le quadrillage pendant quelques minutes avant de passer à la numération (Faurie).

3.3.5.1 Taux de croissance(μ) et temps de doublement (dt)

Le taux de croissance spécifique (μ) et le temps de doublement ont été calculés à l'aide de l'équation. (1) et (2), basés sur les paramètres de début et de fin de la phase de croissance (de Godos et al).

$$\mu = \frac{\log C_f - \log C_0}{t_f - t_0} \quad (1)$$

$$dt = \frac{\mu}{\log 2} \quad (2)$$

Où μ représente le taux de croissance spécifique (j^{-1}), dt représente le temps de doublement (j), t_i et t_f représentent l'heure à laquelle les échantillons ont été prélevés, C_0 et C_f représentent les concentrations en nombre de cellules (cellules mL⁻¹) au début (t_i) et à la fin de la phase exponentielle (t_f), respectivement.

3.3.6 Matière sèche

La matière sèche peut également être utilisée comme un indicateur pour la détermination de la biomasse algale produite. La méthode suivie pour la détermination de matière sèche est décrite par Clesceri et Greenberg (1998). Elle consiste à filtrer un volume précis d'échantillon à l'aide d'un filtre en microfibre de verre pré-pesé (Whatman 1825-047 GF/F – 47 mm), puis à sécher le filtre à 80 °C pendant 24h. La perte de poids a été calculée en milligrammes de biomasse sèche. La concentration de la biomasse a été mesurée au début et à la fin de la culture.

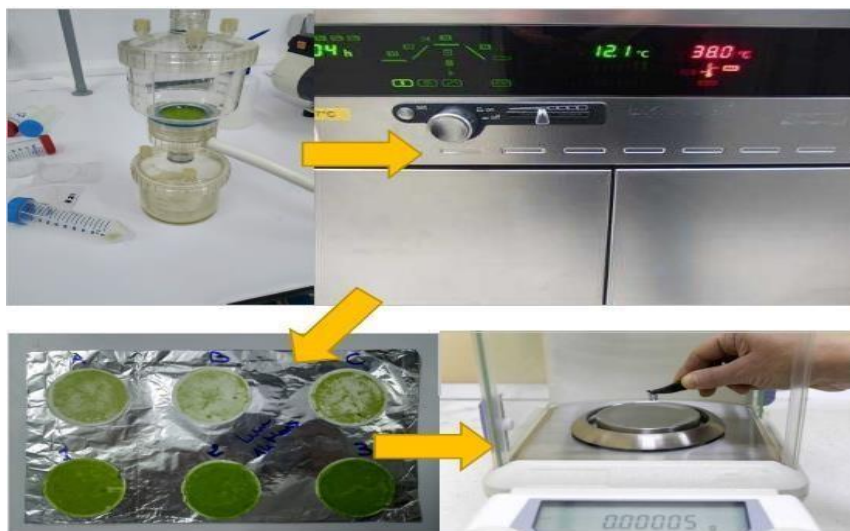


Figure 3-6 : les étapes suivies pour la détermination de la matière sèche (filtration & séchage)

3.4 Mesure du pH

Le suivi du pH dans la culture des microalgues est essentiel pour maintenir des conditions de croissance optimales. Pour cela nous avons effectué une mesure quotidienne du pH. La procédure est simple: on prend un bécher propre et sec, on le remplit par l'échantillon à analyser, puis on rince l'électrode par l'eau distillée avant de l'émerger dans le bécher contenant l'échantillon. Enfin on enregistre la valeur indiquée sur le pH-mètre. Il est important que l'appareil soit étalonné avant chaque mesure pour garantir l'obtention d'une valeur précise.

3.5 Culture dans les eaux usées

La station d'épuration de Baraki (STEP) est située dans la ville d'Alger, en Algérie. Elle a été construite en 1989 et a une capacité de 900 000 équivalents-habitants (éq.hab)



Figure 3-7 : Station d'Épuration des Eaux Usées de Baraki, Alger

Le processus de traitement comprend plusieurs étapes, notamment un traitement préliminaire avec des dégrilleurs et des bassins de sédimentation, un traitement biologique dans des bassins d'aération et une clarification finale. La station comprend également des installations de traitement des boues, telles que des épaisseurs et des digesteurs (REF). Afin de tester la capacité des eaux usées à être utilisées comme milieu de culture pour la croissance de microalgues vertes et la production de biomasse, nous avons effectué un prélèvement de l'eau usée traitée provenant du bassin aération. Les paramètres physico-chimiques sont décrits dans le tableau suivant :

Paramètre	Valeur	Unité
pH	7.5	–
Température	22	°C
Conductivité	1175	µs\cm
Matière sèche	96	mg\L
Matière volatile	794	mg\L
DCO	22	mgO ₂ \L
DBO ₅	135	mgO ₂ \L
N-NO ₃	2.56	mg\L
N-NH ₄	1.89	mg\L
N-NO ₂	1.22	mg\L
P-PO ₄	2.69	mg\L

Table 3-1 : Caractéristiques physicochimiques de l'eau usée traitée.

La culture des microalgues dans les eaux usées prétraitée a été effectuée dans le même montage expérimental décrit ultérieurement (culture dans le BBM), ainsi que pour le suivi des paramètres de croissance.

3.6 Récolte

Deux méthodes de récolte de la biomasse microalgale cultivée dans le milieu de culture BBM ont été évaluées dans cette étude : par coagulation et par centrifugation.

3.6.1 Effet de Coagulation

La coagulation en tant que méthode de pré-séparation peut contribuer à rendre économiquement réalisable la production de la biomasse des microalgues. La récolte des microalgues cultivées a lieu au début de la phase stationnaire. L'utilisation des coagulants naturels à base d'une source végétale représente un développement vital dans la technologie environnementale durable, car il se concentre sur l'amélioration de la qualité de vie des communautés sous- développées.

3.6.1.1 Préparation du coagulant

Dans cette partie le test conventionnel de coagulation a été utilisé pour évaluer le pourcentage d'efficacité de récolte de microalgues à partir d'un coagulant naturel (extrait de la plante de *Moringa oleifera*) ; Pour obtenir l'ingrédient actif de celle-ci, 5000 mg de poudre de graines de *Moringa oleifera* commerciale été mélangée avec 500 mL de NaCl dans un bécher de 600 mL, ensuite la suspension a été agitée à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 10 minutes pour extraire le composant actif. La solution a ensuite été filtrée sur un papier filtre. La solution filtrée été utilisée pour des expériences de coagulation.



Figure 0-8 : (a) Poudre de graines de *Moringa oleifera* commerciale; (b) Extraction du composant actif de *M. oleifera*;

3.6.1.2 Test de coagulation



Figure 3-9 : l'ajout de différentes doses de *M. oleifera* dans la suspension des microalgues.

Toutes les expériences ont été réalisées à température ambiante de 25 ± 1 °C. La technique conventionnelle de test de coagulation a été utilisée pour récolter la suspension de microalgale à partir du liquide en vrac à l'aide des agitateurs mécaniques comme la montre la figure, 3-10. Trois béchers remplis avec de 250 mL de la suspension microalgale en ajoutant différentes concentrations de coagulant utilisé (80, 160 et 300 mg\L). Ensuite, les suspensions ont été agitées à 150 tr/min. Durant cette agitation, diverses quantités de la solution du *M. oleifera* ont été ajoutées à chaque bécher et agité rapidement pendant 2 min à 150 tr/min suivie d'une vitesse lente durant 25 min, après les mélanges ont subis une sédimentation pendant 30 min.

3.6.2 Effet de Centrifugation

Les tests de récolte par centrifugation ont été réalisés en faisant varier deux paramètres, à savoir, le nombre de tours par minute (rpm) et le temps. Deux vitesses ont été testées: 1500 et 3000 rpm et cela pendant 5 et 10 min. L'absorbance à 687 nm est mesurée sur la culture initiale, avant de commencer les tests de récupération par centrifugation, puis sur le surnageant après chaque test.

3.6.3 Efficacité d'élimination\recupération des Microalgues

Après chaque méthode de récolte, l'efficacité coagulation et de récupération est examiner en mesurant la densité optique à 687 nm de la culture initiale, et celle du surnageant après traitement. Cette efficacité est calculée par l'équation suivante;

$$\% \text{ Efficacité d'élimination\recupération des microalgues} = \frac{DO_i - DO_f}{DO_i} \times 100$$

Dont;

DO_i: densité optique à 687 nm du surnageant après traitement.

DO_f: densité optique à 687 nm de la culture initiale avant traitement

- ✓ La biomasse qui s'est obtenues par différents traitements de récolte est ensuite récupérer est déposée dans des boites en pétri. Un séchage a eu lieu à l'étuve à 70°C, pendant 4-6h. Ce dernier, permet de réduire la teneur en eau des microalgues,

prolongeant ainsi leur durée de conservation et facilite leur transformation en une forme stable, concentrée et utilisable dans différentes applications.



Figure 3-10 : Avant et Après le Séchage.

3.6.4 Broyage et conditionnement

Le broyage des microalgues à l'aide d'un mortier est une méthode couramment utilisée pour extraire les composants cellulaires des microalgues. Le pilon est utilisé pour écraser et broyer les microalgues jusqu'à ce qu'elles se transforment en une poudre fine et homogène. Une fois les microalgues broyées en une poudre, celle-ci est récupérée du mortier. La poudre sèche des microalgues a été conservée dans des flacons en plastique étanches pour préserver ses qualités. Elle doit stockée à l'abri de la lumière, de l'air et des fortes chaleurs.



Figure 3-11 : Broyage de la pâte des microalgues.

3.7 Extraction des lipides

Le dosage des lipides par la méthode Soxhlet est une technique classique utilisée pour extraire et quantifier les lipides d'un échantillon solide ou semi-solide, tels que les aliments, les tissus biologiques ou les échantillons environnementaux (Xue et al.). Les lipides sont des molécules organiques qui sont insolubles dans l'eau mais solubles dans les solvants organiques tels que les solvants lipidiques ou les solvants apolaires. Pour cela, nous avons utilisés la méthode de Soxhlet, par extraction des lipides. Le dispositif Soxhlet se compose d'un ballon à fond plat contenant le solvant extracteur, d'un extracteur Soxhlet, d'un condenseur et d'un réceptacle pour le solvant extrait (Figure 3-13). L'extracteur Soxhlet est une chambre en verre munie d'un panier dans lequel est placé l'échantillon.



Figure 3-12 : Dispositif expérimental du dosage des lipides par la méthode de Soxhlet (au niveau de laboratoire Biochimie).

Mode opératoire

Pour la détermination de la quantité lipidique contenue dans la biomasse algale, nous avons pesés 1g de nos échantillons, ensuite les échantillons mélangés avec 200 mL du solvant d'extraction sont placés dans le panier de l'extracteur Soxhlet. L'extraction est réalisée en chauffant le mélange à 100°C jusqu'à atteindre la température d'ébullition du solvant. Ensuite, la température est abaissée à 60°C et l'extraction se poursuit pendant 6 heures. Une fois l'extraction est terminée, le solvant contenant les lipides est récupéré dans le réceptacle et le solvant est ensuite évaporé pour concentrer les lipides en utilisant un évaporateur rotatif sous vide. Une fois le solvant évaporé, les lipides résiduels des échantillons sont obtenus par pesage via une balance analytique. Le pourcentage de l'extrait est calculé comme suit (Eq.3);

$$\% \text{ Taux des lipides} = \frac{M_0 - M_1}{M_2} * 100 \dots\dots\dots (3)$$

M_0 : Masse en gramme du ballon vide, M_1 : Masse en gramme de la prise d'essai, M_2 : Masse en gramme de ballon après extraction et séchage.

3.8 Estimation du rendement bioénergétique (biodiesel) et électrique à partir du potentiel lipidique des Microalgues

Comme les microalgues peuvent être utilisées pour produire des lipides, qui sont ensuite transformés en biocarburants, une analyse du potentiel lipidique des microalgues est souvent réalisée pour estimer le rendement énergétique potentiel de la culture (Voloshin et al.). Pour

estimer la quantité d'énergie de biodiesel pouvant être produite à partir d'un volume donnée de culture de microalgues, nous devons effectuer les étapes suivantes :

1. Estimation de la biomasse de microalgues : dans cette approche, nous avons quantifié le nombre de cellules de microalgues contenus dans un litre de culture. Sur cette base nous pouvons estimés la densité cellulaire dans des volumes plus grand.
2. Conversion de la biomasse en biodiesel : Le biodiesel est produit à partir des lipides extraits des microalgues, la quantité de biodiesel produite par transestérification des lipides peut être estimée pour un rendement de conversion de 90% et une teneur des lipides déterminée précédemment dans notre étude par la méthode de Soxhlet. La quantité de bioénergie produite peut être calculée selon l'équation sui- vante (Park and Lee);

$$Qp = Bp * T_{lip} * R_{conv} \dots\dots\dots(4)$$

Qp : Productivité du biocarburant (biodiesel)

Bp: Productivité de la biomasse cell/L

T_{lip} : teneur en lipides des microalgues

R_{conv}: Rendement de conversion bioénergétique (80%)

3. Conversion de l'énergie produite en énergie électrique: Dans cette partie, nous effectuons une conversion des cellules de biodiesel en équivalent d'énergie électrique, en utilisant une valeur de conversion standard pour le biodiesel. La conversion typique utilisée est que 1 L produit par transestérification est équivalent à 9.5 kilowattheures (kWh) d'électricité. Cela signifie que lorsque le biodiesel est brûlé pour produire de l'électricité dans une centrale électrique, chaque litre de biodiesel produit environ 9.5 kWh d'électricité.

$$Energie\ electricque\ equivalent\ en\ biodiesel = Qp * 9.6\ kwh\dots\dots\dots(6)$$

Chapitre 4. Résultats et Discussions

4 Courbe de croissance (absorbance\ densité cellulaire)

4.3 Absorbance

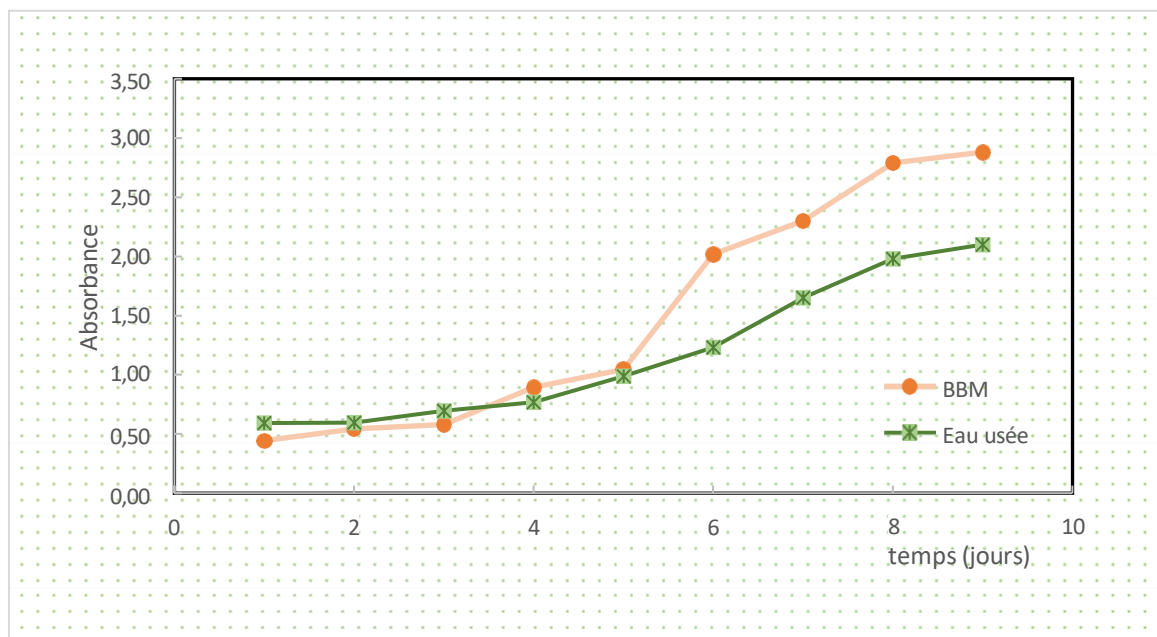


Figure 0-1 : Evolution de l'absorbance de la culture en BBM et Eau usée au cours du temps (j)

La figure 3-1 montre la croissance de la culture microalgale en termes d'absorbance (687nm) dans différents milieux de culture (BBM et l'eau usée). Selon les résultats obtenus, nous observons la présence d'une légère phase de latence qui a duré 2 jours dans l'eau usée alors que on a observé l'absence de la phase de latence dans le milieu de culture BBM, car il s'agit d'un milieu favorable pour cette culture et la microalgues est déjà adapter à ce milieu, contrairement, la présence de la phase de latence dans l'eau usée est due au passage de l'inoculum de milieu concentré à un milieu dilué, de plus les microalgues s'adaptent aux nouvelles conditions de culture (milieu culture, température, lumière et l'agitation). Ensuite, une augmentation significative a été enregistrée au début de 3^{ème} jours jusqu'aux 8^{ème} et 9^{ème} jours pour le BBM et l'eau usée, suite à une acclimations rapide aux conditions et à la composition de milieu de culture, dans la phase stationnaire l'absorbance atteint une valeur maximale de 2.88 et 2.1 mesurée à 687nm aux 9^{ème} jours pour le BBM et l'eau usée; respectivement. Les résultats obtenus signifient une bonne croissance et acclimations des Microalgues utilisés dans différents milieux de culture

Résultats et Discussions

testés. Ainsi que les valeurs acquises dans cette étude sont proches de celles trouvées dans d'autres travaux (Wang et al, Kong et al) .

4.4 Comptage cellulaire

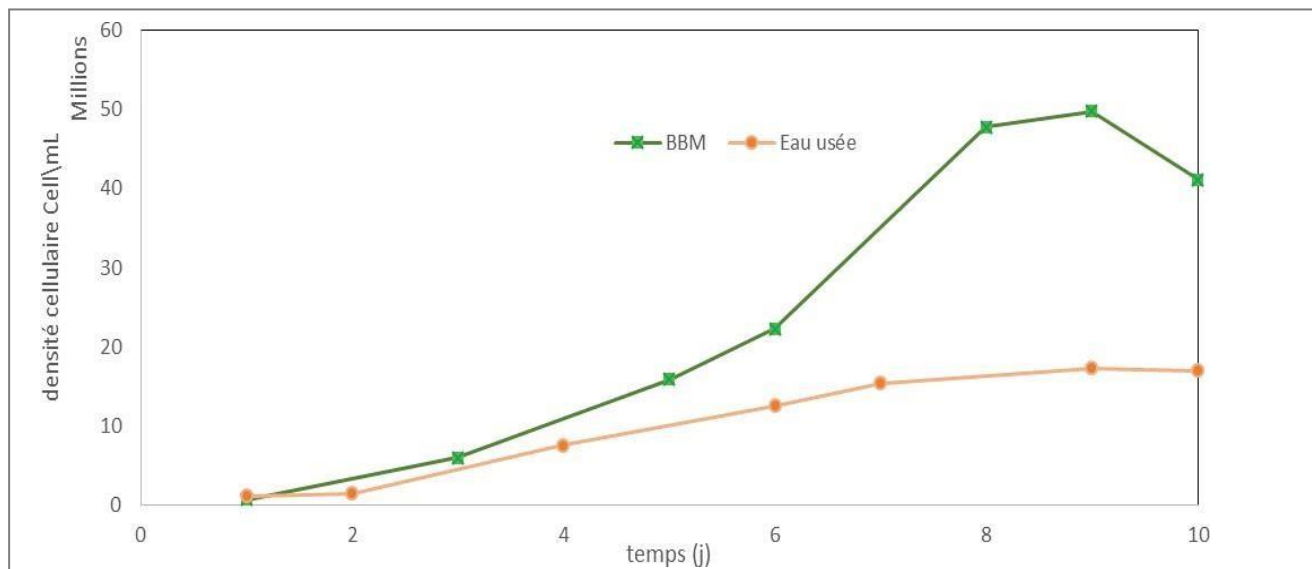


Figure 4-2 : Densité cellulaire des Microalgues en fonction du temps dans différents milieux de culture.

L'objectif du comptage cellulaire est de quantifier le nombre de cellules contenues dans 1 ml de milieu de culture. Il permet également de suivre de manière directe et précise la croissance de la culture. L'évolution de la densité cellulaire au cours des jours d'incubation dans les deux milieux de culture (BBM et eau usée) est illustrée dans la Figure 4-2.

Sur la base des données présentées, les courbes montrent toutes les phases de croissance caractéristiques (similaires à celles de la courbe d'absorbance). La phase de latence dure un jour dans l'eau usée, tandis qu'elle est absente dans le BBM. La croissance dans le BBM est plus importante que dans l'eau usée, avec une densité cellulaire maximale détectée dans la phase stationnaire de 5×10^7 cell/ml pour le BBM et de $1,7 \times 10^7$ cell/ml pour l'eau usée. (Znad *et al.* 2018) ont rapporté une densité cellulaire maximale proche de la nôtre, avec une croissance de $6,9 \times 10^7$ et $3,2 \times 10^7$ cell/ml de *Chlorella vulgaris* dans l'eau usée secondaire et un milieu synthétique respectivement.

La densité cellulaire plus faible détectée dans l'eau usée est probablement due à la faible concentration de nutriments et à la présence d'autres substances qui pourraient diminuer voire

inhiber la croissance des microalgues. En revanche, le BBM a une composition chimique connue, riche en nitrates et phosphates, et faible en métaux lourds, qui sont des éléments indispensables pour la croissance des microalgues.

milieu de culture	taux de croissance μ (j^{-1})	temps de doublement t (j)
BBM	0.367	0.82
Eau usée	0.217	1.42

Table 4-1 : les paramètres de croissance μ (j^{-1}) et t (j) déterminés dans les deux milieux de culture testés.

4.4.1 Taux de croissance et temps de doublement

Pour mieux évaluer les caractéristiques de croissance des Microalgues utilisées dans divers milieux de culture, le taux de croissance spécifique, le temps de doublement, ont été analysés au cours de la phase exponentielle de croissance de la culture cellulaire, et les résultats sont présentés dans la Tableau 4-1. Les taux de croissance spécifiques trouvés dans cette étude allaient de 0,217 à 0,367 j^{-1} . Le taux de croissance spécifique le plus élevé a été observé chez la culture en BBM, qui était également caractérisé par le temps de doublement le plus court de 0,98 j^{-1} . Ces résultats sont proches voire supérieurs avec ceux trouvés par (Katiyar et al, Wang et al).

Matière sèche

Le tableau suivant montre la croissance des microalgues étudiés, en termes de matière sèche (mg/L) et taux de production (mg/L) comme indique le tableau, la biomasse sèche au premier jour de la culture était de 1,9 et 1,4 g/L pour le BBM et l'eau usée respectivement, de biomasse générée le plus élevée de 1.45 g/L a été trouvée dans la culture en BBM, suivie par la culture cultivée en eau usée avec 0.89 g/L. La biomasse obtenue dans notre étude est supérieure à celles rapportées par (Katiyar et al.), en effet la biomasse produite par *Chlorella minutissima* et *sorokiniana* en BBM.

Matière sèche g/L	BBM	Eau usée
1 ^{er} jour	0.19	0.14

Dernier jour	1.45	0.89
Taux de production	0.125	0.075

Table 4-2 : Les résultats de la productivité de la biomasse

4.5 Evolution de pH

la Figure 4-3 représente la variation du pH dans les deux milieux de culture, on remarque que l'allure des deux courbes est identique, et qu'au début de la culture les deux milieux ont des pH égaux et proche de la neutralité de 7.22 et 7.5 pour le milieu BBM, l'eau usée respectivement. Au bout des deux premiers jours la valeur du pH est plus au moins stable pour le BBM et l'eau usée puis elle croit considérablement au cours du temps d'incubation de 10 jours jusqu'à atteindre des valeurs de pH respectives de 9.99 et 10 pour le BBM et l'eau usée à la fin de la culture. L'augmentation du pH pendant la culture des microalgues peut être préjudiciable à leur croissance, En général, les microalgues préfèrent un pH légèrement alcalin, généralement compris entre 7-9, de plus le pH des microalgues augmente progressivement en raison de la consommation de carbone inorganique par les microalgues (Chen et al).

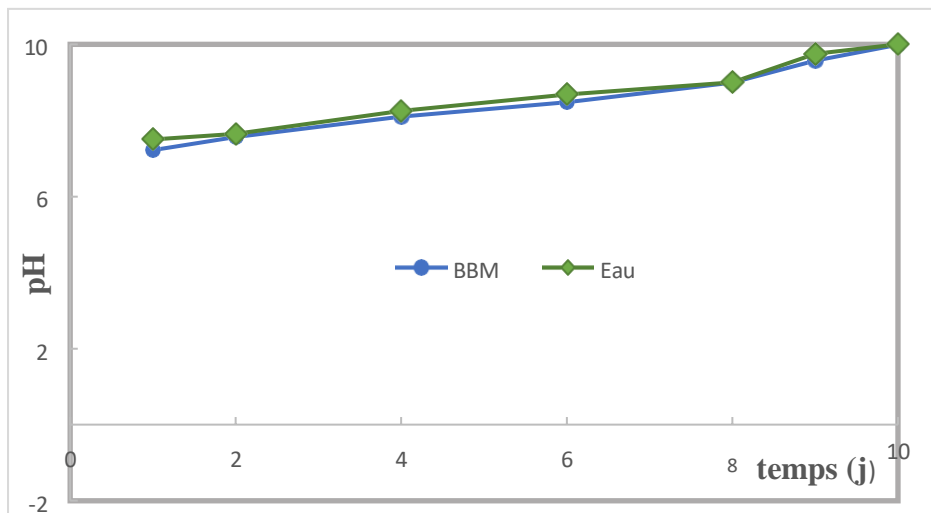


Figure 4-3 : Variation du pH durant la culture dans les deux milieux

4.6 Récolte

4.6.1 Effet de la Coagulation

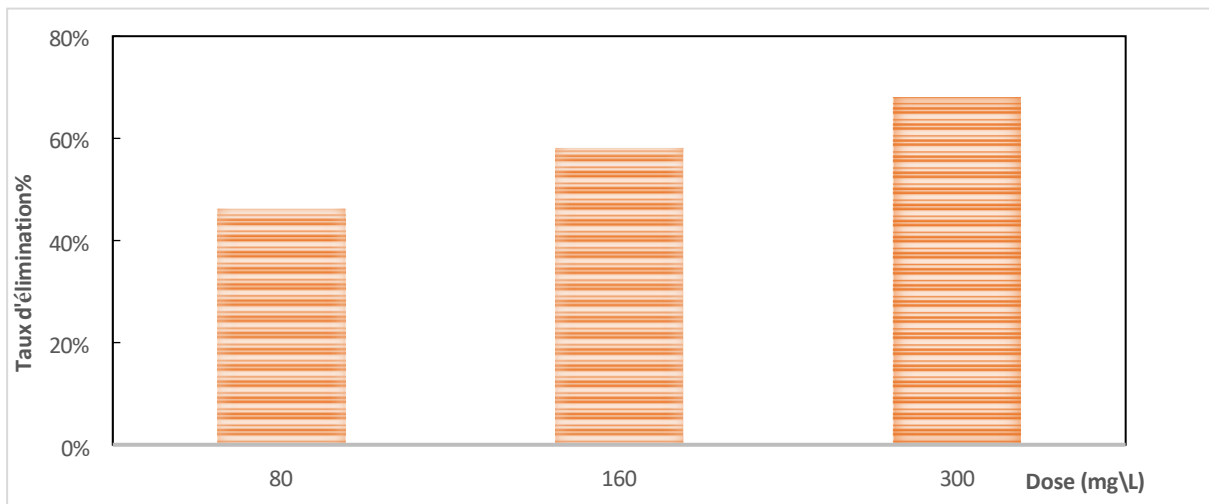


Figure 4-4 : Pourcentage d'élimination des cellules de microalgues par rapport au dosage de *M. oleifera* (mg/L)

La faisabilité de la récolte de cellules de microalgues utilisant la méthode de coagulation a été étudiée, dans cette partie, un coagulant bio-naturel et respectueux de l'environnement, c'est-à-dire que la *M. oleifera* a été utilisé pour récolter les microalgues, L'effet du dosage de *M. Oleifera* e a été analysé en faisant varier la concentration de la solution pour un temps de mélange et de sédimentation de 30 min.

L'effet du dosage de *M.oleifera* a été analysé en faisant varier sa concentration dans la solution pendant un temps de mélange de 30 min, une vitesse de mélange de 130 tr/min, un temps de sédimentation de 30 min. La Figure 4-4 montre l'effet de différentes concentrations de *M.oleifera* sur les cellules de microalgues. Il a été observé qu'une concentration plus grande de *M.oleifera* était nécessaire pour obtenir le pourcentage le plus élevé d'élimination des cellules de microalgues. La concentration inférieure, soit 80 ppm, permet d'éliminer que 46%, ce qui peut être considéré comme un faible pourcentage d'élimination. Le dosage optimal a été observé autour de 300 ppm, ce qui a permet d'éliminer 68% de cellules microalgale. Il était intéressant de savoir qu'à une dose de coagulant plus grande, il en résultait un pourcentage

D'élimination des microalgues plus élevé. *M.oleifera* des caractéristiques hautement cationiques densités de charge, alors que la charge globale des cellules de microalgues est négative. L'attraction entre les charges ont conduit à la formation d'un processus d'agglomération qui est appelée neutralisation de charge. Neutralisation des charges déstabilise les cellules des microalgues et transfère les petites particules en gros agrégats, par conséquent la décantation des cellules microalgales devient plus facile (Ali et al). Les valeurs obtenues sont comparables avec celles trouvées dans la littérature (tableau 4-3).

Dose du coagulant (mg\L) M. oleifera	%Efficacité d'élimination des microalgues	Référence
100	76.88	(Ali et al.)
25	90	(Barrado-Moreno et al.)
300	68	notre étude

Table 4-3 : Comparaison entre l'efficacité du traitement pour différentes doses de *M. oleifera*.

4.6.2 Effet de la Centrifugation

La centrifugation est la méthode disponible la plus rapide et la plus efficace. De grands volumes peuvent être traités rapidement et la biomasse peut rester entièrement confinée pendant la récupération (Ahmad et al.). La séparation de la biomasse du milieu de culture est évaluée par le calcul de l'efficacité de la récupération (%). Les résultats sont illustrés dans la Figure 4-

5. L'efficacité de la récupération augmente avec l'augmentation du nombre de rotation et du temps. Un maximum de récupération de 100 % a été enregistré pour un nombre de tours de 3000 rpm pendant 10 min. La plus faible récupération est de 89%, obtenue par la rotation la plus faible (1500 rpm) et la durée la plus courte de 5 min.

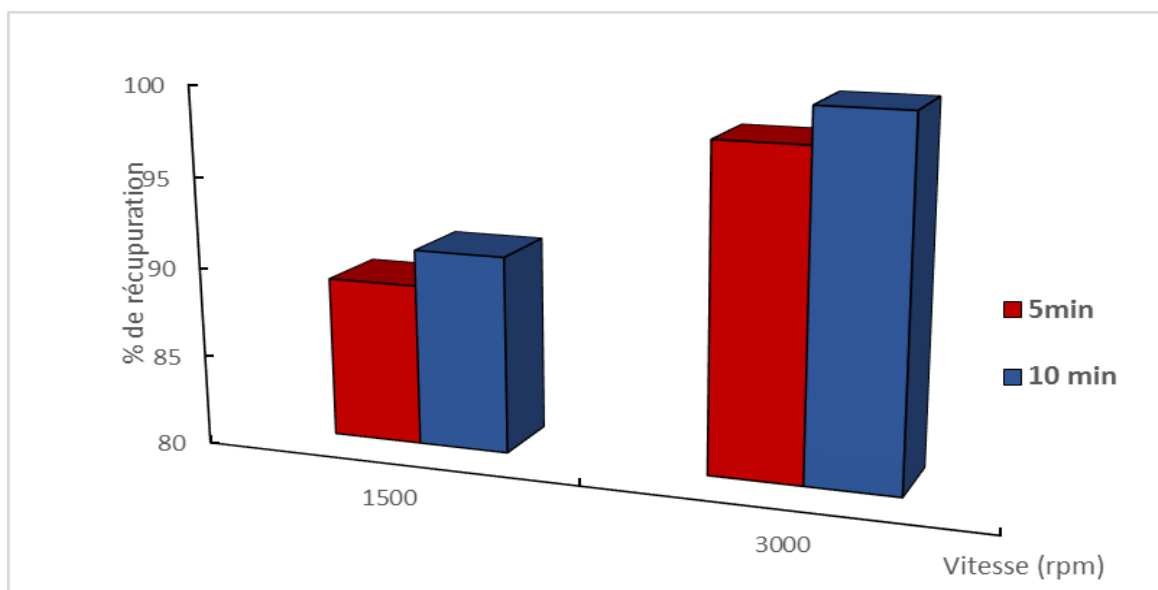


Figure 4-5 : Pourcentage de la récupération de la biomasse microalgale par centrifugation.

4.7 Rendement d'extraction des lipides

Les résultats sont récapitulés dans le tableau suivant

Masse d'algue sèche est : $M_0 = 0.5g$

Masse des lipides : $M_1 = 0.08 g$

$R (\%) =$ Rendement d'extraction des lipides totaux

$$R\% = \frac{\text{masse des lipides totaux (g)}}{\text{masse de la biomasse sèche (g)}} * 100$$

$$R\% = \frac{0.08}{0.5} * 100 = 16\%$$

Le tableau ci-dessous (Tableau 4-6) décrit la teneur moyenne en lipides de la biomasse en poids sec des microalgues cultivée dans le BBM et l'eau usée, qui varient entre 8.6 et 16% respectivement. Ces résultats se situent dans la même fourchette rapportés dans des travaux ultérieurs utilisant différentes espèces des Microalgues et des conditions de culture (tableau 4-1).

Espèces	Contenu maximum en lipides (% poids sec)
<i>Botryococcusbraunii</i>	29-75
<i>Chlorella protothecoides</i>	15-66
<i>Cyclotella DI-35</i>	42
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	71.4
<i>Isochrysis sp</i>	7-33
<i>Nannochloropsis</i>	31-68
<i>Nitzschia sp</i>	45-50
<i>Phaeodactylumtricornutum</i>	31
<i>Scenedesmus</i>	45
<i>Tetraselmissuecica</i>	15-31
<i>Thalassiosirapseudonana</i>	21-31
Notre espèce	8.6-16

Tableau 4-1: Contenu lipidique de diverses espèces des Microalgues (Cadoret and Bernard)

4.8 Estimation du rendement bioénergétique et électrique

Selon les équations décrites ultérieurement et les résultats obtenus dans cette étude nous avons pu estimer la quantité d'énergie de biodiesel pouvant être produite à partir d'un volume de 2L avec une densité cellulaire de 5.10^7 et $1.7.10^7$ cell /mL dans les deux milieux de culture et taux de conversion de 90%.

BBM \longrightarrow Densité cellulaire dans 2L= $1.45*2=2.9$ g/L

Eau usée \longrightarrow Densité cellulaire 2L= $2L=0.89*2=1.78$ g/L

Milieu de culture	Quantité des lipides (g/L)	Biodiesel produit (Huile/L)	Energie électrique produite kwh
BBM	0.249	0.1992	1.19
Eau usée	0.28	0.224	2.15

Tableau 4-2: Rendement énergétique et électrique estimé dans cette étude.

La quantité de biodiesel produite et l'énergie équivalente en électricité dans les deux milieux sont récapitulées dans le Tableau 4-2. Selon les résultats obtenus, les quantités de biodiesel calculées pour un volume de culture de 2 L à partir d'une biomasse cellulaire sont de 0.224 et 0.1992 g d'huile/L dans l'eau usée et le BBM respectivement. De plus, les quantités converties de biodiesel estimées précédemment en équivalents d'énergie électrique pour les deux milieux de culture testés varient entre 1.19 et 2.15 kWh. Ces estimations ont démontré le fort potentiel énergétique de la biomasse étudiée comme source d'énergie alternative, pouvant être exploitée dans les secteurs des transports, des centrales thermiques et de l'éclairage.

5 Conclusion

-
- ✓ L'objectif de ce travail était une initiation à la biotechnologie des microalgues, tout en maîtrisant les différentes techniques de culture comme la purification, la stérilisation, l'inoculation et la culture. Ce projet nous a permis d'atteindre une bonne croissance et production de biomasse.
 - ✓ La purification des microalgues utilisées dans notre travail permettra par la suite la préparation d'un inoculum pur prêt à être utilisé pour la production d'une biomasse valorisable.
 - ✓ Dans ce travail, nous avons suivi la cinétique de croissance des microalgues étudiées dans deux milieux de culture : le milieu BBM et l'eau usée traitée issue du bassin des boues activées. Cela a été réalisé par la détermination de trois paramètres de croissance : l'absorbance, le comptage cellulaire et la matière sèche.
 - ✓ Les courbes de croissance, celles de l'absorbance et de la densité cellulaire obtenues montrent une croissance considérablement plus importante des microalgues dans le milieu de culture BBM par rapport à l'eau usée, en raison de ses niveaux beaucoup plus élevés en azote et en phosphore. Nous avons observé une absorbance maximale de 2,88 et 2,1, ainsi qu'une densité cellulaire de $5,10^7$ et $1,7 \times 10^7$ cell/ml dans le BBM et l'eau usée, respectivement, enregistrés au cours de la phase stationnaire. Ces résultats reflètent une bonne adaptation dans les deux milieux de culture testés, avec aucune phase de décalage observée dans le BBM. De plus, ces valeurs sont dans la même gamme que celles trouvées dans la littérature.
 - ✓ En analysant les taux de croissance spécifiques et le temps de doublement dans les deux milieux testés en phase exponentielle, nous avons constaté que les microalgues étudiées exhibaient des taux de croissance spécifiques élevés avec des temps de doublement courts par rapport à d'autres travaux précédents, ce qui reflète une vitesse de croissance rapide des microalgues étudiées.
 - ✓ La biomasse la plus élevée s'est produite en milieu de culture BBM (1,45 g/L), suivie par une production significative de 0,89 g/L trouvée dans l'eau usée. Ces résultats suggèrent que les effluents secondaires des stations d'épuration municipales peuvent être utilisés pour la culture massive de microalgues.
 - ✓ La récolte est une technique visant à séparer les microalgues de leur milieu de culture aqueux afin de les utiliser à diverses fins. Dans notre étude, nous avons examiné l'effet des dosages de M. oleifera (un coagulant à base naturelle) ainsi que l'effet de la centrifugation sur la récupération de la suspension microalgale. Une dose de 300 ppm de la solution de M.

oleifera permet d'éliminer 68 % des cellules microalgale, tandis que la centrifugation atteint une efficacité de récupération totale la centrifugation est la meilleure méthode de récupération de la biomasse.

- ✓ Le séchage à l'aide d'une étuve de la biomasse récoltée vise à augmenter sa durée de conservation, à assurer sa stabilité pendant le stockage.
- ✓ L'extraction des lipides de la biomasse sèche dans les deux milieux de culture a montré un potentiel lipidique de 8 % et 16 % dans le BBM et l'eau usée, respectivement. Cela a permis d'estimer un rendement énergétique et électrique de 0,224 et 0,1992 g d'huile/L et 1,19 et 2,15 kWh respectivement dans les deux milieux.

Référence bibliographique

- Abdelfattah, Abdallah, et al. "Microalgae-Based Wastewater Treatment: Mechanisms, Challenges, Recent Advances, and Future Prospects." *Environmental Science and Ecotechnology*, vol. 13, 2023, p. 100205.
- Ahmad, A. L., et al. "Comparison of Harvesting Methods for Microalgae *Chlorella* Sp. and Its Potential Use as a Biodiesel Feedstock." *Environmental Technology*, vol. 35, no. 17, 2014, pp. 2244–53.
- Ali, Mehmood, et al. "Comparative Study between Indigenous Natural Coagulants and Alum for Microalgae Harvesting." *Arabian Journal for Science and Engineering*, vol. 44, no. 7, 2019, pp. 6453–63, <https://doi.org/10.1007/s13369-018-3681-5>.
- Barrado-Moreno, M. M., et al. "Microalgae Removal with *Moringa Oleifera*." *Toxicon*, vol. 110, 2016, pp. 68–73, <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2015.12.001>.
- Bhalamurugan, Gatamaneni Loganathan, et al. "Valuable Bioproducts Obtained from Microalgal Biomass and Their Commercial Applications: A Review." *Environmental Engineering Research*, vol. 23, no. 3, 2018, pp. 229–41.
- Blinová, Lenka, et al. "Cultivation Of Microalgae For Biodiesel Production." *Research Papers Faculty of Materials Science and Technology Slovak University of Technology*, vol. 23, no. 36, 2015, pp. 87–95.
- Boonchai, Rawiwan, and Gyutae Seo. "Microalgae Membrane Photobioreactor for Further Removal of Nitrogen and Phosphorus from Secondary Sewage Effluent." *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 32, no. 10, 2015, pp. 2047–52, <https://doi.org/10.1007/s11814-015-0043-9>.
- Brennan, Liam, and Philip Owende. "Biofuels from Microalgae—a Review of Technologies for Production, Processing, and Extractions of Biofuels and Co-Products." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 14, no. 2, 2010, pp. 557–77.
- Cadoret, Jean-Paul, and Olivier Bernard. "La Production de Biocarburant Lipidique Avec Des Microalgues: Promesses et Défis." *Journal de La Société de Biologie*, vol. 202, no. 3, 2008, pp. 201–11.
- Chen, Chun-Yen, et al. "Cultivation, Photobioreactor Design and Harvesting of Microalgae for Biodiesel Production: A Critical Review." *Bioresource Technology*, vol. 102, no. 1, 2011, pp. 71–81.
- Chisti, Yusuf. "Biodiesel from Microalgae." *Biotechnology Advances*, vol. 25, no. 3, 2007, pp. 294–306.

- Couté, A. “Diversite Chez Les Microalgues.” *Techniques Sciences Methodes*, vol. 90, 1995.
- de Godos, Ignacio, et al. “A Comparative Evaluation of Microalgae for the Degradation of Piggery Wastewater under Photosynthetic Oxygenation.” *Bioresource Technology*, vol. 101, no. 14, 2010, pp. 5150–58.
- Faurie, Bertrand. *Cellule de Malassez*. no. March, 2019, pp. 2–4, <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.25854.23368>.
- Figueroa-Torres, Gonzalo, et al. “Microalgae Strain Catalogue.” *EnhanceMicroalgae Project - Interreg Atlantic Area*, 2020, pp. 1–58.
- Gantt, E., and S. F. Conti. “The Ultrastructure of *Porphyridium Cruentum*.” *The Journal of Cell Biology*, vol. 26, no. 2, 1965, pp. 365–81.
- Gatamaneni, Bhalamurugan Loganathan, et al. “Factors Affecting Growth of Various Microalgal Species.” *Environmental Engineering Science*, vol. 35, no. 10, 2018, pp. 1037–48.
- Ghobrini, Djillali, et al. “Production of Biodiesel from the Locally Isolated Yellow Strain of *Chlorella* Sp. Using Dairy Wastewater as a Growth Medium.” *AIP Conference Proceedings*, vol. 2190, no. 1, AIP Publishing, 2019.
- Gonçalves, Ana L., et al. “The Effect of Increasing CO₂ Concentrations on Its Capture, Biomass Production and Wastewater Bioremediation by Microalgae and Cyanobacteria.” *Algal Research*, vol. 14, 2016, pp. 127–36, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.01.008>.
- Hallmann, Armin. “Algae Biotechnology—Green Cell-Factories on the Rise.” *Current Biotechnology*, vol. 4, no. 4, 2015, pp. 389–415.
- Heimann, Kirsten, and Roger Huerlimann. “Microalgal Classification: Major Classes and Genera of Commercial Microalgal Species.” *Handbook of Marine Microalgae*, Elsevier, 2015, pp. 25–41.
- Katiyar, Richa, et al. “An Integrated Approach for Phycoremediation of Municipal Wastewater and Production of Sustainable Transportation Fuel Using Oleaginous *Chlorella* Sp.” *Journal of Water Process Engineering*, vol. 42, no. January, 2021, <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2021.102183>.
- Kaur, Manpreet, et al. “Microalgal Bioactive Metabolites as Promising Implements in Nutraceuticals and Pharmaceuticals: Inspiring Therapy for Health Benefits.” *Phytochemistry Reviews*, vol. 22, no. 4, 2023, pp. 903–33.
- Kong, Qing Xue, et al. “Culture of Microalgae *Chlamydomonas Reinhardtii* in Wastewater for Biomass Feedstock Production.” *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 160, no. 1, 2010, pp. 9–18, <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8670-4>.

- Kumar, Ramesh, et al. "Synergy of Biofuel Production with Waste Remediation along with Value-Added Co-Products Recovery through Microalgae Cultivation: A Review of Membrane-Integrated Green Approach." *Science of the Total Environment*, vol. 698, 2020, p. 134169, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134169>.
- Lee, Yuan-Kun. "Microalgal Mass Culture Systems and Methods: Their Limitation and Potential." *Journal of Applied Phycology*, vol. 13, 2001, pp. 307–15.
- Leinfelder, Reinhold, et al. *Paleoecology, Growth Parameters and Dynamics of Coral, Sponge and Microbolite Reefs from the Late Jurassic*. 1996.
- Leliaert, Frederik, et al. "Phylogeny and Molecular Evolution of the Green Algae." *Critical Reviews in Plant Sciences*, vol. 31, no. 1, 2012, pp. 1–46.
- Lutzu, Giovanni Antonio. *Analysis of the Growth of Microalgae in Batch and Semi-Batch Photobioreactors*. 2012.
- Manual, Procedures. *DR 2800 Spectrophotometer*. no. September, 2005.
- Órpez, Rafael, et al. "Growth of the Microalga *Botryococcus Braunii* in Secondarily Treated Sewage." *Desalination*, vol. 246, no. 1–3, 2009, pp. 625–30, <https://doi.org/10.1016/j.desal.2008.07.016>.
- Park, Hanwool, and Choul-Gyun Lee. "Theoretical Calculations on the Feasibility of Microalgal Biofuels: Utilization of Marine Resources Could Help Realizing the Potential of Microalgae." *Biotechnology Journal*, vol. 11, no. 11, 2016, pp. 1461–70.
- Pittman, Jon K., et al. "The Potential of Sustainable Algal Biofuel Production Using Wastewater Resources." *Bioresource Technology*, vol. 102, no. 1, 2011, pp. 17–25, <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.06.035>.
- Prabowo, Danang Ambar, et al. "Diversity of *Cryptocodinium* Spp.(Dinophyceae) from Okinawa Prefecture, Japan." *Journal of Marine Science and Technology*, vol. 21, no. 7, 2013, p. 23.
- Richmond, Amos. *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Wiley Online Library, 2004.
- Salomez, M. "Opportunités de Développement de La Filière Microalgues à l'Ile de La Réunion." *P32*, 2009.
- Siddiki, Sk Yasir Arafat, et al. "Microalgae Biomass as a Sustainable Source for Biofuel, Biochemical and Biobased Value-Added Products: An Integrated Biorefinery Concept." *Fuel*, vol. 307, 2022, p. 121782.
- Spolaore, Pauline, et al. "Commercial Applications of Microalgae." *Journal of Bioscience and Bioengineering*, vol. 101, no. 2, 2006, pp. 87–96.

- Stanier, R. Y., and Germaine Cohen-Bazire. "Phototrophic Prokaryotes: The Cyanobacteria." *Annual Review of Microbiology*, vol. 31, no. 1, 1977, pp. 225–74.
- Suda, Shoichiro, et al. "Taxonomic Characterization of a Marine Nannochloropsis Species, N. Oceanica Sp. Nov.(Eustigmatophyceae)." *Phycologia*, vol. 41, no. 3, 2002, pp. 273–79.
- Ting, Han, et al. "Progress in Microalgae Cultivation Photobioreactors and Applications in Wastewater Treatment: A Review." *International Journal of Agricultural and Biological Engineering*, vol. 10, no. 1, 2017, pp. 1–29.
- Voloshin, Roman A., et al. "Biofuel Production from Plant and Algal Biomass." *International Journal of Hydrogen Energy*, vol. 41, no. 39, 2016, pp. 17257–73.
- Vonshak, Avigad, and Amos Richmond. "Mass Production of the Blue-Green Alga Spirulina: An Overview." *Biomass*, vol. 15, no. 4, 1988, pp. 233–47.
- Wang, Liang, et al. "Cultivation of Green Algae Chlorella Sp. in Different Wastewaters from Municipal Wastewater Treatment Plant." *Applied Biochemistry and Biotechnology*, vol. 162, no. 4, 2010, pp. 1174–86, <https://doi.org/10.1007/s12010-009-8866-7>.
- Xue, Jiao, et al. "The Pivotal Role of Malic Enzyme in Enhancing Oil Accumulation in Green Microalga Chlorella Pyrenoidosa." *Microbial Cell Factories*, vol. 15, 2016, pp. 1–9.
- Zabed, Hossain M., et al. "Biogas from Microalgae: Technologies, Challenges and Opportunities." *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 117, 2020, p. 109503.
- Znad, Hussein, et al. "Bioremediation and Nutrient Removal from Wastewater by Chlorella Vulgaris." *Ecological Engineering*, vol. 110, no. October 2017, 2018, pp. 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2017.10.008>.
- Zuccaro, Gaetano, et al. "Microalgae Cultivation Systems." *Microalgae Cultivation for Biofuels Production*, Elsevier Inc., 2019, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817536-1.00002-3>.

Annexe

Carte d'information

À propos de l'équipe d'encadrement du groupe de travail

Équipe d'encadrement :	
Encadrant principal : Mme Mokrane Zakia	Spécialité : Océanographie (Biologie et Environnement)
Co-encadrant : Mme Aiouaz Fatma	Spécialité : Génie de l'Environnement

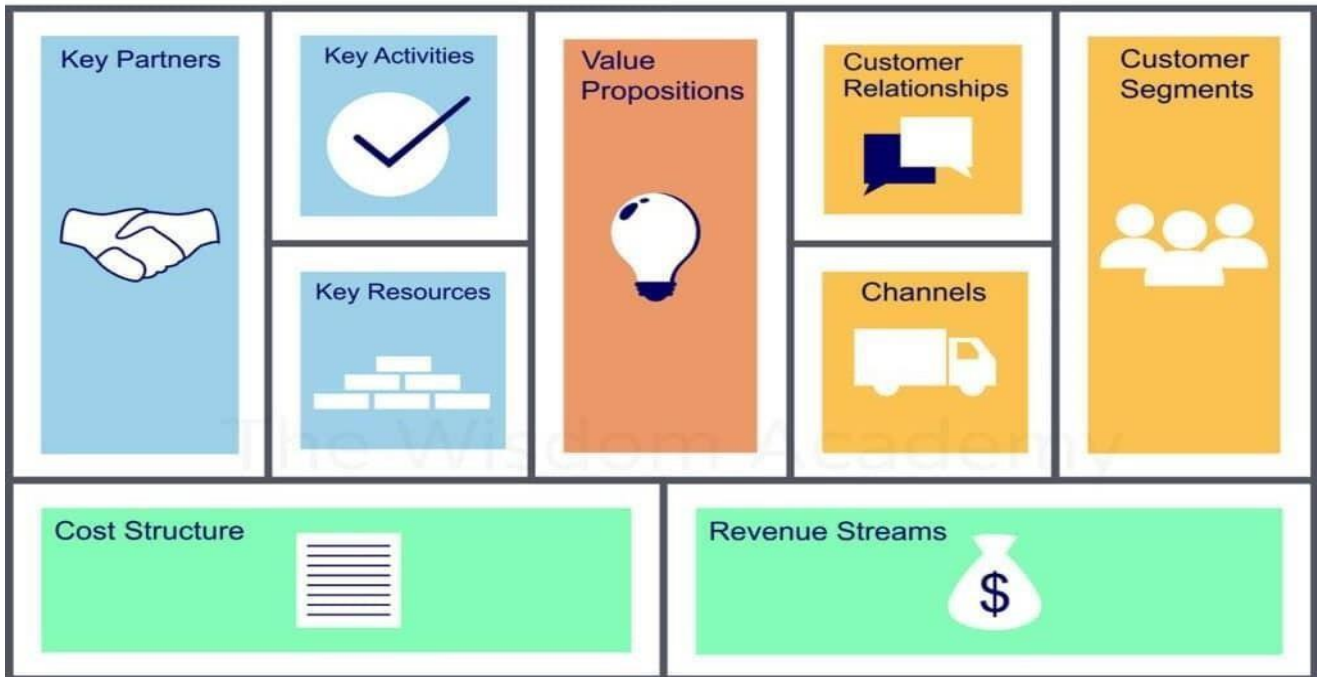
Équipe de projet (à titre indicatif)	Faculté	Spécialité
Étudiant 01 : Bensaidani Abdelaziz	ENSSMAL	Biotechnologie marine
Étudiant 02 : Elhattah Abderrahmane	ENSSMAL	Biotechnologie Marine

Business Model CANVAS

Le Business Model Canvas (BMC) se révèle être un puissant instrument pour la visualisation et l'analyse des principaux éléments constitutifs d'un modèle économique d'entreprise. Il offre un cadre structuré permettant de saisir les aspects essentiels d'une entreprise et d'évaluer ses perspectives de succès. Pour notre projet, nous exploiterons le BMC afin de concevoir un nouveau produit alimentaire en tirant parti des propriétés exceptionnelles de la Chlorella.

Cette méthode stratégique de gestion se présente sous la forme d'un cadre visuel comprenant neuf éléments essentiels. La figure illustre ces éléments clés.

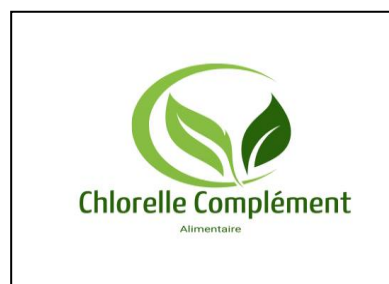
Business Model Canvas



Présentation du projet

Dans le cadre de la réalisation du projet de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur en biotechnologie marine, on a décidé de produire un complément alimentaire à la base d'une espèce marine, notre projet concentre sur la production des molécules bioactives précieuses à partir d'algues, offrant ainsi des alternatives bio durables et innovantes aux produits synthétiques que nous utilisons tous les jours.

Notre entreprise, une SARL enregistrée sous le code de registre de commerce 104224, se nomme Chlorelle Complément Alimentaire. Nous sommes spécialisés dans la production de compléments alimentaires à base de chlorelle, destinés à ceux qui cherchent à améliorer leur santé de manière naturelle.



Nos propositions de valeur pour les clients incluent les éléments suivants,

- Apporter une touche de modernité à l'industrie de la nutrition.
- Offrir une solution innovante à une demande croissante de produits naturels bio et bénéfiques pour la Santé.
- introduire une véritable révolution et offrir une performance exceptionnelle dans le domaine de la nutrition (solution nutritionnelle complète).
- Adopter une approche flexible dans la formulation de notre produit.
- fournir une expérience exceptionnelle à nos clients.

Notre complément alimentaire offre une aide précieuse, fournissant les nutriments nécessaires pour les soutenir dans leur chemin vers une vie plus saine et plus épanouissante. Assurer la qualité et la sécurité alimentaire.

Analyse stratégique du marché

Après avoir effectué une étude de marche, on a sélectionné ces clients cibles :

- ✓ **Personnes soucieuses de leur santé** (Végétariens/ **Individus souffrant de carences nutritionnelles** / Détoxification) : Bénéficient des protéines, vitamines et minéraux de la chlorelle, elle est aussi Utilisée pour ses propriétés détoxifiantes, notamment l'élimination des métaux lourds, ainsi elle est Utile pour combler les déficits en vitamines et minéraux.
- ✓ **Sportifs et amateurs de fitness** (Athlètes professionnels et amateurs, Personnes fréquentant les salles de sport) : La chlorelle peut aider à améliorer la récupération musculaire et à augmenter l'endurance grâce à sa richesse en protéines et en antioxydants.
- ✓ **Personnes âgées** : La chlorelle peut aider à améliorer la santé digestive, à renforcer le système immunitaire et à fournir des nutriments essentiels, ce qui est particulièrement bénéfique pour les personnes âgées.
- ✓ **Personnes atteintes de maladies chroniques** (Diabétiques, Personnes ayant des problèmes de cholestérol) : La chlorelle peut aider à réguler la glycémie. Elle peut contribuer à abaisser les niveaux de cholestérol.
- ✓ **Femmes enceintes et jeunes mamans** (Grossesse / Allaitement) : La chlorelle est riche en fer, en acide folique et en vitamine B12, essentiels pour une grossesse en santé, elle peut aussi aider à augmenter la qualité et la quantité de lait maternel.
- ✓ **Professionnels de la santé** (Nutritionnistes et diététiciens / Médecins et praticiens de

médecine alternative) : Ils peuvent recommander la chlorelle à leurs clients pour divers bienfaits nutritionnels, Ils peuvent notamment intégrer la chlorelle dans leurs traitements pour améliorer la santé générale de leurs patients.

Canaux de distribution

Cette composante concerne les différents canaux par lesquels ton entreprise communiquera avec ses clients et leur fournira ses produits ou services.

Les moyens de distribution des services proposés par notre entreprise incluent :

1. Participer à des conférences et salons professionnels pour promouvoir nos services.
2. Utiliser un site web informatif.
3. Utiliser des plateformes comme Amazon, eBay, etc., pour atteindre une audience plus large.
4. Vendre via des boutiques intégrées sur Facebook, Instagram, etc.
5. Collaborer avec des professionnels de la santé qui peuvent recommander vos produits à leurs patients (Médecins, nutritionnistes et Pharmacies)
6. Travailler avec des influenceurs pour promouvoir les produits sur les réseaux sociaux et autres plateformes.
7. Proposer les produits dans des établissements de soins et de bien-être.

Relation clients

Ces relations client décrivent le type de lien que ton entreprise entretient avec chaque segment de Clientèle. Pour maintenir une relation durable avec nos clients, notre entreprise propose à offrir des réductions spéciales, des cadeaux ou des avant-premières de nouveaux produits aux clients fidèles, Mettre en place un programme de points ou de récompenses pour les achats récurrents, Impliquer les clients dans le développement des produits en recueillant leurs avis et suggestions, Créer des plans personnalisés basés sur les objectifs et la santé de chaque client, Offrir un service clientèle réactif pour assister les clients en cas de problème ou de question concernant les produits ,Créer des groupes sur les réseaux sociaux ou des forums pour permettre aux clients d'échanger des conseils et des expériences.

Besoin	nombre	Prix
Local	1	468.000DA/année
Equipement de culture : Matière première (souche de chlorelles purifiées) Photobioreacteur Equipement de laboratoire : Etuve Spectrophotomètre Broyeur Autoclave Centrifugeuse Système de filtration Verreries de laboratoire	 1 1 1 1 1 1	130.000 3.700.000 250.000 20.000 200.000 1000.000 265.000 140.000 180.000
Contrôle de qualité du produit	varie	
Equipement de conditionnement Emballage et étiquetage	varie	
Personnel et expertise Equipe de production et de fabrication Equipe de vente et de marketing Equipe de recherche et de développement Salariés	Varie Varie varie 5	 250.000
Distribution	2	150.000
moyen de transport	2	150.000
autres charges	varie	

total		6.903.000

Sources de revenus

- Vente directe aux consommateurs par l'intermédiaire du site web
- Vente dans des magasins de détail spécialisés, pharmacies, parapharmacies et grandes surfaces.
- Revenus générés par l'organisation de formations et d'ateliers sur la nutrition et les compléments alimentaires.
- Revenus issus de services de conseil nutritionnel personnalisé pour les clients.

Ressources clés

Les ressources clés sont les éléments matériels et immatériels indispensables pour faire fonctionner notre entreprise et concrétiser notre proposition de valeur. Pour que notre entreprise fonctionne de manière optimale, nous avons besoin des ressources suivantes :

- ❖ Expertise scientifique et technique (connaissances approfondies en biologie, nutrition, et chimie)
- ❖ Matériaux et Équipement de fabrication et de conditionnement (matières premières, **photobioréacteurs, Laboratoires....**)
- ❖ Des stratégies de marketing efficaces et des canaux de distribution bien établie

Les activités clés

Cet élément comprend les actions et les processus essentiels que l'entreprise doit réaliser pour créer et offrir sa proposition de valeur. Les activités principales de notre entreprise comprennent :

- Isolement et identification des chlorelles
- Culture et entretien des chlorelles dans des bassins (photobioréacteurs)
- collecte et valorisation de la biomasse
- Contrôle de Qualité (Tests en Laboratoire, Assurance Qualité)
- Commercialisation (mise en marché)

Les partenaires clés

Les partenaires stratégiques désignent les entités externes avec lesquelles ton entreprise collabore pour renforcer son modèle d'affaires.

- CNRDP : fournisseur de souches de chlorelles, notre matière première
- Algérie Ginidex : fournisseur de machines industrielles telles que les bioréacteurs et l'équipement de laboratoire.
- NASDA : partenaire pour le financement
- Lilia Labo : laboratoire de contrôle de qualité.
- ABC Communication : pour le marketing.

Structure des coûts

Cette composante englobe les coûts liés à l'exploitation de l'entreprise, y compris les coûts fixes et variables.

Coûts fixes

- Coûts d'acquisition ou de location des locaux
- Assurance
- Salaires et charges sociales du personnel
- Services Publics (l'électricité, l'eau, le gaz, gestion des déchets)
- Équipement (réacteurs photo biologiques, machines, bassins)

Coûts variables

- a) Réparation et maintenance du matériel bureautique et informatique
- b) Publicité
- c) Distribution
- d) Fourniture
- e) Transport

Titre de projet : compliment alimentaire

26/06/2024

Les partenaires clés :

- Laboratoire de recherche (ENSSMAL/ Instituts de biotechnologie marine) : Collaborations pour optimiser les techniques de culture et de récolte et pour étudier les bénéfices nutritionnels et les applications de la chlorelle
- Fournisseurs de Matières Premières : Fermes aquacoles spécialisées dans la culture de chlorelle
- Organisations Environnementales et de Développement Durable (ONG et fondations environnementales) : pour promouvoir des pratiques durables dans la culture et la récolte de chlorelle.
- Agences de Marketing et Communication
- Des entreprises de surveillance alimentaire et de contrôle de qualité
 - -ANADE/ASF

Les activités clés :

- -isolement et identification des chlorelles
- Culture et entretien des chlorelles dans des bassins (photobioréacteurs)
- collecte et valorisation de la biomasse
- Contrôle de Qualité (Tests en Laboratoire, Assurance Qualité)
- Commercialisation (mise en marché)

La proposition de valeur :

- apporter une touche de modernité à l'industrie de la nutrition.
- offrir une solution innovante à une demande croissante de produits naturels et bénéfiques pour la Santé
- introduire une véritable révolution et offrir une performance exceptionnelle dans le domaine de la nutrition (solution nutritionnelle complète).
 - Adopter une approche flexible dans la formulation de notre produit.
 - fournir une expérience exceptionnelle à nos clients.
- notre complément alimentaire offre une aide précieuse, fournissant les nutriments nécessaires pour les soutenir dans leur chemin vers une vie plus saine et plus épanouissante.
 - Assurer la qualité et la sécurité alimentaire

Les relations avec les clients :

- notre entreprise propose a offrir des réductions spéciales, des cadeaux ou des avant-premières de nouveaux produits aux clients fidèles
- Impliquer les clients dans le développement des produits en recueillant leurs avis et suggestions
 - Créer des plans personnalisés basés sur les objectifs et la santé de chaque client
 - Mettre en place un programme de points ou de récompenses pour les achats récurrents
 - Offrir un service clientèle réactif pour assister les clients en cas de problème ou de question concernant les produits
 - Créer des groupes sur les réseaux sociaux ou des forums pour permettre aux clients d'échanger des conseils et des expériences

Les segments des clients :

- Personnes soucieuses de leur santé
- **Sportifs et amateurs de fitness**
 - **Personnes âgées**
 - **Personnes atteintes de maladies chroniques**
- Professionnels de la santé

Les ressources clés :

- Expertise scientifique et technique (connaissances approfondies en biologie, nutrition, et chimie)
- Matériaux et Équipement de fabrication et de conditionnement (matières premières, **photobioreacteurs, Laboratoires....**)
- Des stratégies de marketing efficaces et des canaux de distribution bien établis

Canaux de distribution potentiels :

- Participer à des conférences et salons professionnels pour promouvoir nos services.
- Utiliser un site web informatif
- Utiliser des plateformes comme Amazon, eBay, etc., pour atteindre une audience plus large
- Vendre via des boutiques intégrées sur Facebook, Instagram, etc.
- Collaborer avec des professionnels de la santé qui peuvent recommander vos produits à leurs patients (Médecins, nutritionnistes et Pharmacies)
- Travailler avec des influenceurs pour promouvoir les produits sur les réseaux sociaux et autres plateformes.
- Proposer les produits dans des établissements de soins et de bien-être.

La structure de coûts :

Coûts fixes :

- Coûts d'acquisition ou de location des locaux
 - Assurance
 - Salaires et charges sociales du personnel
- Services Publics (l'électricité, l'eau, le gaz, gestion des déchets)
- **Équipement** (réacteurs photobiologiques, machines, bassins)

Coûts variables :

- Réparation et maintenance du matériel bureautique et informatique
 - Publicité
 - Distribution
 - Fourniture
 - Marketing
 - transport

Les flux de revenus :

- Vente directe aux consommateurs par l'intermédiaire du site web
- Vente dans des magasins de détail spécialisés, pharmacies, parapharmacies et grandes surfaces.
- Revenus générés par l'organisation de formations et d'ateliers sur la nutrition et les compléments alimentaires.
- Revenus issus de services de conseil nutritionnel personnalisé pour les clients.

Culture de Chlorelle



Récolte et séparation (Centrifugation / filtration)



Lavage et séchage



Broyage



Conditionnement



Produit fini (poudre)



ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تنقية وتقييم نمو الطحالب الدقيقة التي تنتمي إلى مجموعة الكلوريللا في وسطين مختلفين للزراعة؛ وهي وسط ومياه الصرف الصحي المعالجة من أجل المساهمة في تحقيق أقصى إنتاج للكتلة الحيوية من الطحالب الدقيقة الجاهزة للاستخدام في BBM استزراع تطبيقات الطاقة الحيوية، في سياق تطوير الطاقات المتجددة. تم إجراء التجارب على نطاق مختبري في نظام مغلق، في وضع الدفعة وتحت ظروف تشغيل خاضعة للرقابة (درجة الحموضة ودرجة الحرارة والضوء والإثارة). كشفت النتائج التي تم الحصول عليها عن نمو سريع وإنتاج جيد للكتلة الحيوية مع ؛ على التوالي. وبالإضافة إلى ذلك، BBM أقصى كثافة للخلايا ومعدلات نمو تتراوح بين 1.75 - 5.107 خلية/مل؛ 0.217-0.367 د-1 في مياه الصرف الصحي و 0.89 جم/لتر)، تليها هذه الكتلة الحيوية العالية في مياه الصرف الصحي (0.89 جم/لتر). أظهر تحليل 1.45) BBM تم الحصول على أعلى كتلة حيوية جافة في ومياه الصرف الصحي، مما يجعل من الممكن تقدير إنتاج الوقود BBM دهون الكتلة الحيوية للطحالب مستوى دهون يبلغ 8.6 و16% على التوالي في الحيوي بحدود 0.1992 و0.224 زيت/لتر.

الكلمات المفتاحية: الطحالب الدقيقة، التنقية، الثقافة، عوامل النمو، الكتلة الحيوية، الدهون، الطاقة الحيوية.

Résumé

L'objectif principal de cette étude est de purifier et évaluer la croissance des microalgues appartiennent au groupe *Chlorella* dans deux milieux de culture différents; à savoir le milieu de culture BBM et l'eau usée traité à fin de contribuer à la production maximale d'une biomasse microalgale prête à employer à une application bioénergétique, dans un contexte de développement des énergies renouvelables. Les expériences ont été effectuées à l'échelle laboratoire dans un system fermé, en mode batch et sous des conditions opératoires contrôlées (pH, Température, lumière et agitation). Les résultats obtenus ont révélaiient une croissance rapide et une bonne production de biomasse avec des densités cellulaires maximales et des taux de croissances allant de $1,75 - 5 \cdot 10^7 \text{ cell/mL}$; $0,217 - 0,367 \text{ j}^{-1}$ dans l'eau usée et le BBM; respectivement. De plus la biomasse sèche la plus élevée s'est obtenue dans le BBM (1.45g/L), suivi d'une biomasse si importante dans l'eau usée (0.89 g/L). L'analyse des lipides de la biomasse algale à montrés un taux de lipide de 8.6 et 16% respectivement dans le BBM et l'eau usée, ce qui permet d'estimer une production de biocarburant de l'ordre de 0.1992 et 0.224 Huile /L.

Mots clés: Microalgues, purification, culture, paramètres de croissance, biomasse, lipides, bioénergie.

Abstract

The main objective of this study is to purify and evaluate the growth of microalgae belonging to the *Chlorella* group in two different culture media; namely the BBM culture medium and wastewater treated in order to contribute to the maximum production of a microalgal biomass ready to use for a bioenergy application, in a context of development of renewable energies. The experiments were carried out on a laboratory scale in a closed system, in batch mode and under controlled operating conditions (pH, temperature, light and agitation). The results obtained revealed rapid growth and good biomass production with maximum cell densities and growth rates ranging from $1.75 - 5.10^7 \text{ cell/mL}$; $0.217 - 0.367 \text{ d}^{-1}$ in wastewater and BBM; respectively. In addition, the highest dry biomass was obtained in the BBM (1.45 g/L), followed by such a high biomass in the wastewater (0.89 g/L). The analysis of the lipids of the algal biomass showed a lipid level of 8.6 and 16% respectively in the BBM and wastewater, which makes it possible to estimate a biofuel production of the order of 0.1992 and 0.224 Oil /L.

Keywords: Microalgae, purification, culture, growth parameters, biomass, lipids, bioenergy.