

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا للعلوم والبحر وتهيئة الساحل
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 : Aquaculture

Thème :

Culture de *Chlorella* sp. et extraction des pigments chlorophylliens par
ultrasons.

Présenté par :

Melle Aissa Rayene

Melle Hemaïssia Oumaima

Soutenu le 01/07/2025 devant le jury composé de :

Mme Boukharouba A	Maître de conférences B	ENSSMAL	Président
Mme Behbeh Lamia	Maître de conférences B	ENSSMAL	Examineur
M.AITSAIDI A.	Maître de conférences B	ENSSMAL	Promoteur
Mme.SAFFEH A.	Maître de conférences B	CNRDPA	Co-Promoteur

Remerciements

Louange à Allah, Le Très-Savant, Le donneur de force et de volonté, par sa grâce nous avons terminé ce travail.

*Nous tenons à exprimer notre gratitude au directeur de notre mémoire
M. Adel AIT SAIDI*

À notre co-encadrante, Mme Seffah Amina,

Un grand merci pour votre accompagnement, vos orientations et vos remarques constructives qui ont grandement contribué à l'aboutissement de ce travail.

Nous remercions les membres de jury Mme Boukharouba Aya et Mme Behbeh Lamia pour tous leurs efforts, non seulement dans l'évaluation de ce travail, Mais aussi pour tous les efforts qu'ils ont faits pour nous former tout au long de notre carrière scientifique à l'ENSSMAL, Vous méritez notre entière reconnaissance.

Merci aux ingénieurs des laboratoires de l'ENSSMAL : Madame HOUDA et M. NOUREDDINE, et aux ingénieurs de Cnrdpa Mme Rahma et Mme Merieme. Votre aide, vos conseils et vos encouragements nous ont été d'un bien inestimable.

Nous remercions toutesenseignants, nous gardons une dette de gratitude pour leur transmission du savoir, qui a façonné notre parcours académique.

Dédicaces

Je dédie Ce mémoire :

À mes chers parents :

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez. Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

À mes frères adorés, Ibrahim et Chouaib et à ma sœur chérie Chaima.

Merci pour votre présence, vos encouragements et cette complicité unique qui me donne toujours le sourire. Vous êtes bien plus que des frères : mes protecteurs, mes confidents et mes meilleurs alliés.

Ma sœur, ton affection, ta douceur et tes conseils précieux ont illuminé mon chemin. Merci d'être cette lumière dans ma vie, toujours là pour me soutenir et me comprendre sans jugements.

À ma chère collègue : AissaRayene

Je ne peux pas trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi une sœur 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.

À mes petits trésors (Adem, Meriem, Djoud, Djouri et Israa),

Merci d'égayer ma vie par votre innocence, votre joie et vos câlins remplis d'amour. je suis si fier/fière de vous voir grandir.

À mes amies exceptionnelles (Amina, Roufaïda, Nour elhouda, Wasila, Manel et Chafika)

Merci d'avoir marché à mes côtés dans les bons comme dans les moments difficiles. Vos rires, vos conseils et votre loyauté ont fait de ce parcours une aventure inoubliable. Vous êtes bien plus que des amies : une famille de cœur.

À toutes les personnes qui ont participé à L'élaboration de ce travail et à tous ceux que j'ai omis de citer.

HEMAISSIA OUMAIMA.

Dédicaces

Je dédie Ce mémoire :

À mes chers parents :

Ces pages sont un reflet de vos sacrifices infinis, de votre amour inconditionnel et de votre soutien indéfectible qui ont pavé mon chemin. Vos efforts pour mon éducation et mon bien-être ont été le socle de toutes mes réussites. Je vous exprime ma plus profonde gratitude pour chaque instant de votre présence et pour l'amour que vous me prodiguez depuis toujours. Puisse votre bénédiction continuer d'être mon guide, aujourd'hui et à jamais.

Que ce travail, modeste fruit de mes efforts, soit à la hauteur de vos espoirs les plus chers et honore la somme inestimable de vos sacrifices, même si ma dette envers vous restera éternelle. Je prie le Tout-Puissant de vous accorder une santé florissante, un bonheur sans fin et une longue vie paisible, et de me donner la force de ne jamais décevoir la confiance que vous avez placée en moi.

À Mon Encadreur Mr. Ait Saidi A

C'est avec une immense gratitude que je vous dédie ce travail. Votre expertise précieuse, votre disponibilité sans faille et la pertinence de vos conseils ont été des piliers fondamentaux tout au long de ce projet de fin d'études. Votre patience exemplaire et votre pédagogie inspirante ont non seulement enrichi mes connaissances, mais ont également consolidé ma passion pour la recherche. Je vous exprime mes remerciements les plus sincères pour avoir accepté de me guider dans cette aventure. Votre rôle a été déterminant dans la réussite de ce mémoire.

À Co-encadrante : Seffah Amina,

Je tiens à vous exprimer mes plus sincères remerciements pour votre accompagnement éclairé. Votre écoute attentive, vos précieux conseils et la pertinence de vos remarques constructives ont grandement contribué à l'enrichissement et à la concrétisation de ce mémoire. Votre soutien a été un moteur essentiel.

À ma chère collègue : Hemaissia Oumaima : *Ma partenaire de recherche. Travailler avec toi a été une expérience aussi enrichissante que divertissante. Ta créativité et ton soutien ont été des atouts majeurs tout au long de ce projet. Merci pour tous les moments partagés, les idées géniales et ton amitié. Ce voyage académique a été d'autant plus mémorable grâce à toi.*

À mes chères sœurs : Sana , Asma , Houda , Malak , Basmala : *Ce mémoire vous est humblement dédié. Je vous remercie infiniment pour votre amour, votre soutien constant et votre disponibilité, qui ont été une source de support moral et intellectuel indispensable tout au long de ma démarche.*

Et Mon précieux Awab : *tu es mon étoile, celle qui guide et illumine mes jours. Merci pour l'amour infini que tu m'offres et pour ta présence Et la joie que tu apportes à ma vie.*

À mes chères amies, Manal, Shanna et Freil et Amina : *Pour votre amitié précieuse, votre soutien inconditionnel et les moments de joie et de réconfort partagés. Votre présence a rendu ce parcours plus léger et plus agréable. Merci d'avoir été là.*

Un grand merci à toutes les personnes qui ont participé à ce travail, et à celles que j'aurais pu oublier de citer , Et merci à moi même .

AISSA RAYENE

Résumé

La chlorelle (CHL) est une micro-algue verte riche en protéines (50-60%); en vitamines et pigments (~5% de chlorophylle). La chlorophylle extraite par des méthodes physiques et chimiques est valorisée pour intérêts médicinaux (antioxydants et à potentiel cicatrisant) et cosmétique (effets purifiants et anti-âge). L'optimisation des conditions de culture permettrait de récolter une biomasse en quantité et qualité suffisantes pour extraire des pigments chlorophylliens. Les conditions de culture de la chlorelle d'eau de mer (salinité, 25 psu) en système fermé (PBR) ont été optimisées, avec une luminosité de 950 lux, une température de 22°C, un apport en milieu de culture (F/2) de 2,4 l (CHL:F/2, 1:3) et un diffuseur d'air actionné 24h/24. Après 21 jours de culture, la biomasse a été récoltée par la méthode de floculation, utilisant une solution de Fe(SO₄) à concentration de 12 g/l. Le mélange a été séparé par centrifugation (6000 tr/min pendant 10 min) puis rincé avec de l'eau distillée. La masse algale séparée a été séchée dans l'étuve à 30 °C pendant 18h. La chlorelle séchée a été dissoute dans l'éthanol à 90% (1:100, g/ml), pour l'extraction des pigments chlorophylliens (*Ch_a*, *b*) et caroténoïdes par un bain à ultrasons (200 watts ; 40 KHz ; 2h). Un volume de 1 ml des pigments extraits a été dilué dans l'éthanol 90% à 1/20 (v/v) et deux échantillons de dilution obtenue (4 ml) ont été analysés par spectrophotométrie UV (*Ch_a*, *b* et caroténoïdes ; 664, 649 et 470 nm) pour chaque analyse. La quantité de masse algale récoltée (40,6 g) a produit 26,0 g de chlorelle séchée (à 7,76± 1.38% d'humidité). Les concentrations des pigments extraits puis analysés ont été de 27,26± 0.18, 22,19± 5.17 et 5,86± 1.49µg/ml en *ch_a*, *b* et caroténoïdes ; respectivement. Dans les conditions optimisées de culture, la chlorelle produite a permis d'extraire des pigments chlorophylliens, caractérisés par une intensité colorimétrique élevée.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	1
GÉNÉRALITÉS	3
1 GÉNÉRALITÉS	3
1.1 LES MICRO-ALGUES	3
1.2 HISTORIQUE.....	4
1.2.1 DÉCOUVERTE ET APPARITION DANS LE MONDE	4
1.2.2 RÉPARTITION GÉOGRAPHIQUE	4
1.2.3 LA PRODUCTION MONDIALE DES ALGUES D'INTÉRÊT AQUACOLE	4
1.3 CARACTÉRISTIQUES DE LA CHLORELLE	5
1.3.1 STRUCTURE	6
1.3.2 SYSTÉMATIQUE	6
1.3.3 REPRODUCTION	7
1.3.4 DÉVELOPPEMENT ET ACTIVITÉ	7
1.3.5 LA PHOTOSYNTÈSE.....	8
1.4 Valeur nutritionnelle	8
1.4.1 Protéines	8
1.4.2 POLYSACCHARIDES	8
1.4.3 ACIDES GRAS ESSENTIELS	8
1.4.4 VITAMINES	9
1.4.5 PIGMENTS.....	9
1.4.6 FIBRES	9
2. L'IMPORTANCE DE LA CHLORELLE	10
2.1. SOURCE ALIMENTAIRE POUR LES HUMAINS.....	10
2.2. SOURCE ALIMENTAIRE POUR LES ANIMAUX	10
2.3. ATTÉNUATION DU CO ₂ ET DÉPOLLUTION	11
2.4. APPLICATIONS DIVERSIFIÉES DE LA CHLORELLE : DE LA BIO-INGÉNIERIE AUX BIOCARBURANTS.....	11
3. CONDITIONS DE CULTURE DE LA CHLORELLE	11
3.1. LES CONDITIONS PHYSIQUES.....	11
3.1.1. <i>La Lumière</i>	11
3.1.2. <i>La Température</i>	12
3.1.3. <i>La salinité</i>	13
3.2. <i>Les conditions chimiques</i>	14
3.2.1. <i>pH</i>	14
3.2.2. <i>Nutriments</i>	14
3.3. AGITATION :	16
3.4. RÉCOLTE	16
3.5. MILIEU DE CULTURE	17
3.6. LES MODES DE CULTURE	17
3.6.1. <i>Culture en photoautotrophie</i>	17
3.6.2. <i>Culture en hétérotrophie</i>	19
4. LES PIGEMENTS CHLOROPHYLLIENS	20
4.1. DÉFINITION.....	20
4.2. COMPOSITION ET STRUCTURE DE LA CHLOROPHYLLE	21
4.3. LE RÔLE DE LA CHLOROPHYLLE.....	21
4.4. MÉTHODES D'EXTRACTION COURANTES DES CHLOROPHYLLES	22
4.4.1. <i>Macération</i>	22
4.4.2. <i>Extraction Soxhlet (SOX)</i> :	22
4.4.3. <i>Extraction par Ultrason</i>	23

4.5.	UTILISATIONS DES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS	23
MATÉRIEL ET MÉTHODES.....		265
1	LA CULTURE DE LA CHLORELLE.....	26
1.1	PRÉSENTATION DE LA ZONE D'ÉTUDE.....	26
1.2	MATÉRIEL BIOLOGIQUE	26
1.2.1.	<i>Souche micro-algale.....</i>	26
1.2.2.	<i>Le milieu de culture</i>	27
1.3	MÉTHODE DE CULTURE	28
1.3.1	<i>Préparation de l'eau de mer</i>	28
1.3.2	<i>Préparation du milieu de culture</i>	29
1.3.3	<i>Inoculation</i>	29
1.4	SUIVI DES PARAMÈTRES DE LA CULTURE	32
1.5	SUIVI DE LA CROISSANCE CELLULAIRE	32
1.5.1	<i>Préparation des échantillons</i>	33
1.5.2	<i>Préparation de la cellule de Malassez</i>	33
1.5.3	<i>Comptage des cellules.....</i>	33
2	LA RÉCOLTE.....	34
2.1	PRÉPARATION DE LA SOLUTION FLOCCULANT.....	34
2.2	PRÉPARATION DE SOLUTION DE SULFATE DE FER.....	35
2.3	PARAMÈTRES DE LA FLOCCULATION (MACHADO <i>ET AL.</i> , 2024)	36
2.4	SÉDIMENTATION ET RÉCUPÉRATION	36
2.5	SÉPARATION DE LA BIOMASSE PAR CENTRIFUGATION	37
2.6	LAVAGE ET PURIFICATION DE LA BIOMASSE	37
2.7	SÉCHAGE DE LA BIOMASSE ALGALE.....	37
2.8	STOCKAGE DE LA BIOMASSE SÈCHE.....	38
3	EXTRACTION DES PIGMENTS CHLOROPHYLLIENS	38
3.1	EXTRACTION DES PIGMENTS PAR ULTRASONS.....	39
3.2	RÉCUPÉRATION DES PIGMENTS	39
3.3	ANALYSE PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE	40
RÉSULTATS ET DISCUSSION		42
1	SUIVI DE LA CROISSANCE DE CHLORELLA ELLIPSOIDEA	43
2	LA RÉCOLTE.....	45
3	ANALYSES SPECTROPHOTOMÉTRIQUES DES PIGMENTS EXTRAIENT	46
3.1	RAPPORT DE CONCENTRATIONS DE CH A/CH B.....	47
3.2	RAPPORT DE CONCENTRATION TOTALE DE CHLOROPHYLLE/ CONCENTRATION DE CAROTÉNOÏDE :	48
CONCLUSION		49
ANNEXE.....		56

LISTE DES ABRÉVIATIONS

%	Pour cent
°C	Degré Celsius
μ	Micron
μm	Micro mètre
ATP	L'adénosine triphosphate
AGPI l'acide	Acides gras polyinsaturés
Oméga-3	L'acide alpha-linolénique
CO ₂	Dioxyde de carbone
CHL	Chlorelle
Cha, b	Chlorophylle <i>a</i> et <i>b</i>
CNRDPA	Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture
Enssmal	École Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et l'Aménagement du Littoral
FAO	Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
G	Gramme
H	Heure
KHz	Kilos Hertz
Kg	Kilo gramme
L	Litre
LHCs	les complexes collecteurs de lumière
Mg	Milligramme
ml	Millilitre
m ²	Mètre carré
NADPH	le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate
PBRs	Photobioréacteurs
Ph	Potentiel hydrogène
T	Température
W	Watt
WHO	Organisation Mondiale de la Santé

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I.1:production mondiale aquacole des algues (FAO,2024).

Tableau I.2:Systématique de la *Chlorellasp*(Levy,2023).

Tableau I.3 : Composition chimique de *Chlorellasp*.

Tableau II.1 :Composition de milieu de culture F/2 pour 1 litre d'eau distillée.

Tableau II.2 : Paramètres critiques pour l'optimisation de la floculation de la biomasse algale (Machado, C.A., 2024).

Tableau III.1 : Taux de croissance journalier de *Chlorelle ellipsoïdea*.

Tableau III.2 : Observation microscopique des cultures de la Chlorelle et leurs significations.

Tableau III. 3 : Analyses spectrophotométriques des pigments extraient.

TableauIII.4 : rapports des concentrations *Cha / Chb*.

Tableau III.5 :Le rapportde concentration totale de chlorophylle (chtot)/ concentration de caroténoïde(carot).

LISTE DES FIGURES

- Figure I.1** : Structures cellulaires d'une microalgue eucaryote (**Boileau, 2015**).
- Figure I.2** : Les pays producteurs des algues dans le monde (**FAO,2024**)
- Figure I.3** : Schéma d'une cellule de *Chlorella sp* (**Safi et al. 2014**)
- Figure I.4** : L'algue *Chlorella* sous microscope (**Ben Nasr, 2013**)
- Figure I.5**: Dessins illustrant les différentes phases de formation de la paroi des cellules filles chez la *Chlorellavulgaris*
- Figure I.6**: Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse (Masojidek et al., 2004)
- Figure I.7**:Températures optimales de croissance des microalgues (cyanobactéries en bleu, algues rouges en rouge, algues vertes en vert et diatomées en marron) (Varshney et al. 2015).
- Figure I.8** : Forme du carbone dissous dans l'eau selon le PH
- Figure I.9**: Culture en Raceways (ANONYME, 2011)
- Figure I.10** : Photobioréacteur(PBR) de laboratoire pilote à éclairage externe.
- Figure I.11** : Fermenteur de production d'Oméga-3 à partir de microalgues (FERMENATLG, 2013).
- Figure I.12** : Observation sous microscope de la Chlorophylle.
- Figure I.13** : Le rôle fonctionnel des chlorophylles
- Figure I.14** : méthode d'extraction SOX (Tien Do, 2016).
- Figure II.1** : Localisation de Cnrdpa
- Figure II.2** : Observation de la souche utilisée de *Chlorellaellipsoidea* sous microscope optique (BOECO ;Gx400)
- Figure II.3** : Produit des stocks de base pour la préparation du milieude culture f/2
- Figure II.4** : Système de filtration de l'eau de mer (UV, filtre à sable, filtre a cartouches)
- Figure II.5** : Ajustement de la salinité de l'eau de mer
- Figure II.6** : Représentation schématique de la préparation du milieu de culture algale
- Figure II.7** : Schéma synoptique du processus de production algale (FAO,1951)
- Figure II.8** : Inoculation contrôlée sous la hôte
- Figure II.9** : Schéma d'amplification progressive de la culture de *Chlorellaellipsoidea* à travers des inoculations successives
- Figure II.10** : Première Inoculation (11/03/2025)
- Figure II.11** : Deuxième Inoculation (18/03/2025)
- Figure II.12** : Matériel utilisé pour le comptage cellulaire
- FigureII.13** : Mesure de sulfate de fer par balance analytique (KERN ABJ-NM/ABS-N)
- Figure II.14** :étapes de préparation de la solution de floculation
- FigureII.15** : L'ajout du floculant et agitation de la solution par un Agitateur magnétique (IbxH03D).
- Figure II.16** : Sédimentation de la biomasse algale.
- Figure II.17** : Récupération et purification de la biomasse algale
- Figure II.18** : Séchage de la patte algale dans l'étuve (Memmert ; 600) à 30°C
- Figure II.19** : Pesage et extraction par ultrasons.
- Figure II.20** : Récupération des Pigments par rotavapeur (IKA).
- Figure II.21** : Dilution d'extrait de pigment.
- Figure II.22** : Analyses spectrophotométriques.
- Figure III.1** : Évolution du nombre de cellules de *Chlorellasp* au cours de 11 j

Figure III.2: Résultats comparatives de la croissance de *Chlorella ellipsoidea*.

Figure III.3: comparaison ses concentration des pigments.

Figure III.4: Comparaison entre les rapports des pigments.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Dans un contexte mondial où les enjeux liés à la sécurité alimentaire, la santé publique et la recherche de sources durables de composés bioactifs sont devenus primordiaux, les biotechnologies marines offrent des pistes de solutions prometteuses. Parmi les micro-organismes aquatiques, les micro-algues représentent une ressource inestimable, capables de synthétiser une grande diversité de molécules d'intérêt à forte valeur ajoutée, tout en nécessitant moins de terres cultivables et d'eau douce que les cultures terrestres (FAO, 2020). Leur potentiel est immense pour des applications allant de l'aquaculture à la nutraceutique, en passant par l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

Parmi ces micro-algues aux propriétés remarquables, la *Chlorella* (genre *Chlorella*) est une micro-algue verte unicellulaire bien connue et largement étudiée. Souvent considérée comme l'une des micro-algues les plus cultivées pour la consommation humaine et animale en raison de sa composition nutritionnelle complète (Leonard *et al.*, 1967 ; Guillou, 2006), elle est une source exceptionnelle de protéines, de lipides, de vitamines et, plus particulièrement, de pigments chlorophylliens. Ces pigments, notamment les chlorophylles a et b, ne jouent pas seulement un rôle fondamental dans la photosynthèse, mais possèdent également des propriétés antioxydantes, détoxifiantes et colorantes, les rendant précieux pour les industries agroalimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Scheldeman *et al.*, 1999).

Cependant, malgré le potentiel de la *Chlorella*, l'optimisation de sa culture pour une production de biomasse économiquement viable, ainsi que le développement de méthodes d'extraction efficaces et sélectives des pigments chlorophylliens, demeurent des défis majeurs pour une exploitation à grande échelle. La variabilité des conditions de culture peut fortement influencer la productivité de la biomasse et la synthèse des métabolites secondaires. De même, les techniques d'extraction doivent être adaptées pour garantir un rendement élevé et une bonne qualité des pigments.

À partir de ce constat, notre recherche s'est articulée autour de plusieurs axes principaux :

La réalisation d'essais de culture de la *Chlorella* : explorer et tester différentes conditions de culture pour optimiser la production de biomasse.

L'optimisation des méthodes d'extraction des pigments chlorophylliens : évaluer et comparer diverses approches pour une récupération maximale et qualitative des pigments.

Notre travail est présenté en trois parties principales :

La première partie est dédiée à une revue bibliographique approfondie, traitant des généralités sur les micro-algues, la *Chlorella*, et les pigments chlorophylliens.

La deuxième partie expose le matériel et les méthodes appliquées pour la culture de la *Chlorella* et l'extraction de ses pigments.

La troisième partie présente et interprète les résultats obtenus, suivie d'une discussion détaillée et enfin, des conclusions générales.

CHAPITRE I : GÉNÉRALITÉS

1. Généralités

1.1 Les Micro-algues

Les micro-algues désignent un groupe hétérogène de microorganismes aquatiques, unicellulaires et majoritairement photosynthétiques, regroupant à la fois des espèces eucaryotes et procaryotes (notamment les cyanobactéries). Chez les eucaryotes, ces organismes, parfois appelés microphytes, sont classés parmi les thallophytes, c'est-à-dire des végétaux inférieurs dépourvus d'organes différenciés tels que racines, tiges ou feuilles. Leur taille varie de quelques à plusieurs centaines de micromètres selon les espèces (**Boileau, 2015**). Dotées d'un appareil photosynthétique performant, les micro-algues utilisent l'énergie lumineuse pour convertir le dioxyde de carbone (CO₂) et l'eau en biomolécules organiques, libérant simultanément de l'oxygène moléculaire. Elles jouent ainsi un rôle écologique majeur en contribuant à près de 50% de la production d'oxygène atmosphérique (**Li et al, 2011**) tout en participant activement à la séquestration du carbone. Leur diversité taxonomique permet de les classer en deux grandes catégories : les micro-algues eucaryotes, dotées d'un noyau cellulaire, et les micro-algues procaryotes, représentées principalement par les cyanobactéries (**Lee et al, 2009 ; Mollo et Noury, 2013**). Ces caractéristiques font des micro-algues un objet d'étude privilégié en biotechnologie, en écologie marine et en sciences de l'environnement (**KhatabetToumi, 2019**).

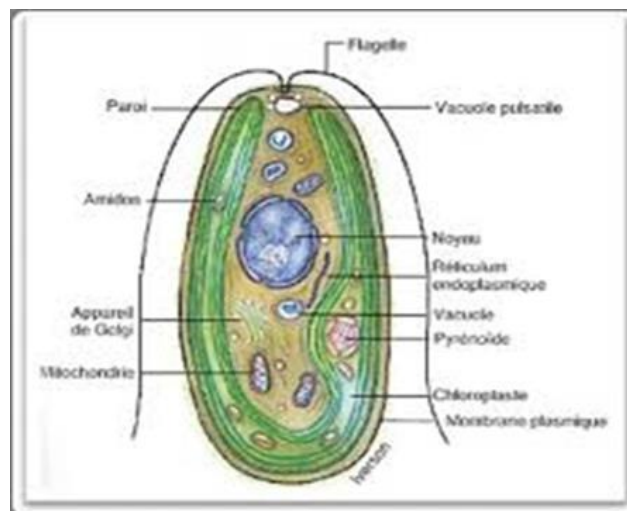


Figure I.1 : Structures cellulaires d'une micro-algue eucaryote (**Boileau, 2015**).

Les micro-algues sont largement réparties dans une grande diversité de milieux aquatiques, qu'ils soient marins ou eaux douces, et certaines espèces peuvent également coloniser des environnements terrestres extrêmes. Leur adaptabilité écologique s'explique en partie par leur diversité morphologique remarquable, incluant une large gamme de tailles, de formes cellulaires et de pigments (**Richmond, 2001**). Cette variabilité structurelle leur confère une grande plasticité physiologique, leur permettant de s'établir dans des niches écologiques variées. En raison de leur composition biochimique riche et de leurs performances métaboliques, les micro-algues suscitent un intérêt croissant à l'échelle mondiale, notamment pour des applications dans les domaines de l'alimentation, ducosmétique, de la pharmacologie, de la bio-remédiation et des énergies renouvelables. Toutefois, malgré cette biodiversité, seule une dizaine d'espèces font actuellement l'objet de cultures industrielles à grande échelle, parmi lesquelles les genres *Chlorella*, *Dunaliella* et *Spirulina* sont les plus exploités (**Amor, 2015**).

1.2 Historique

1.2.1 Découverte et apparition dans le monde

Chlorella sp est le plus ancien micro-organisme photosynthétique connu. Elle fut identifiée pour la première fois en 1890 par le microbiologiste hollandais Martinus Willem Beijerinck (1851–1931), grâce aux progrès du microscope optique (Anonyme, 2011 ; Singh et al, 1995 ; Pigani, 2011). Cette découverte marque un tournant dans la compréhension des microorganismes autotrophes, en particulier des algues microscopiques capables de produire de l’oxygène.

L’intérêt scientifique et industriel pour *Chlorella* s’est fortement développé au cours de la seconde moitié du XXe siècle, notamment en raison de sa valeur nutritionnelle exceptionnelle. En effet, cette micro-algue contient jusqu’à 20 vitamines et 19 acides aminés, ce qui en faisait une candidature prometteuse pour lutter contre la malnutrition mondiale. Dans un contexte de crainte de crise alimentaire liée à la surpopulation planétaire, plusieurs programmes de recherche furent initiés, notamment aux États-Unis dans les années 1940, afin d’évaluer la faisabilité de son exploitation à grande échelle (Beijerinck, 2012 ; Pigani, 2011).

Cependant, les premiers travaux furent rapidement confrontés à une limite technologique majeure : la paroi cellulaire de *Chlorella*, très rigide et riche en sporopollénine, la rendait difficilement digestible. Ce problème d’assimilation a réduit les perspectives d’utilisation directe dans l’alimentation humaine, malgré son profil nutritionnel très complet (Anonyme III, 2012).

C’est dans les années 1970 que le Japon mit au point un procédé technologique de rupturémécanique de la paroi cellulaire, permettant d’atteindre une digestibilité supérieure à 80 %. Ce progrès technique a permis une consommation à grande échelle et a conduit à la reconnaissance officielle de la *Chlorella* comme “nutriment d’intérêt national” (Philippe, 2009 ; Terziev et al, 1983 ; Takechi et al, 1990).

Aujourd’hui encore, le Japon demeure le principal pays consommateur, avec une production annuelle dépassant 1500 tonnes. Des recherches complémentaires ont été menées par diverses institutions, notamment aux États-Unis et en Allemagne, notamment durant les périodes de guerre, en vue d’utiliser cette micro-algue comme source alimentaire alternative (Pigani, 2011 ; Anonyme III, 2012).

1.2.2 Répartition géographique :

La chlorelle se développe dans divers environnements d’eau douce à travers le monde. Ses premières cultures ont été établies à Taiwan, suivies par des initiatives en Indonésie, en Corée et même au Portugal. Cependant, la production la plus importante provient des exploitations taiwanaises, ainsi que de l’île Hainan, située au large de la Chine.

On trouve également cette micro-algue aux États-Unis, en Allemagne, au Danemark, en Belgique, en Espagne, en Autriche et en France, témoignant de sa large distribution géographique.

1.2.3 La production mondiale des algues d’intérêt aquacole

La production mondiale d’algues d’élevage a atteint 36,5 millions de tonnes en 2022, soit une hausse de 1,4 million de tonnes (4,1 pour cent) par rapport à la production de 2020 (35,1 millions de tonnes). Cette augmentation a été stimulée par la Chine, suivie de la Malaisie, des Philippines, de la République-Unie de Tanzanie, de la Fédération de Russie et de quelques autres pays, mais malheureusement modérée par une réduction de la production (par ordre décroissant) en Indonésie, en République de Corée, au Japon et dans quelques autres pays producteurs de moindre importance (FAO, 2024).

Tableau I.1 : production mondiale aquacole des algues (FAO,2024).

Espèces	2018	2019	2020	2021	2022	Pourcentage du total, 2022
	Millier de tonnes, équivalent poids vif					
Algues	33428	34582	35073	35097	36505	100
Algues rouges	18334	18015	18118	17393	20379	55.8
Algues brunes	14980	16475	16843	17512	15985	43.8
Algues vertes	20	18	24	28	19	0.1
Cyanobactéries	70	56	64	85	102	0.3
Algues non identifiées	23	17	25	28	20	0.1

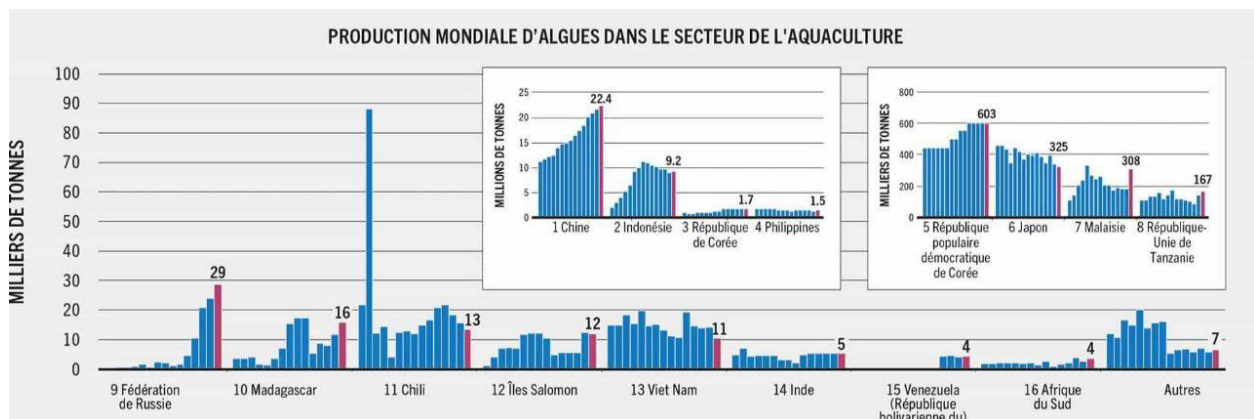


Figure I.2 : les pays producteurs des algues dans le monde(FAO,2024).

1.3 Caractéristique de la chlorelle

La Chlorelle est une micro-algue unicellulaire verte (2–10 μm), riche en chlorophylle *a* et *b*, immobile, et se reproduisant par auto-sporulation. Elle possède une paroi rigide composée de sporopollénine, ce qui lui confère une forte résistance (Wyatt *et al*, 2013).

1.3.1 Structure

Les cellules de Chlorelle sont généralement sphériques ou ellipsoïdales, mesurant entre (2 et 10 μm) de diamètre. Elles peuvent se présenter isolément ou en petits groupes irréguliers. Plus de 100 espèces de *Chlorella* ont été décrites dans des habitats d'eau douce, marins et terrestres (Krienitz, 2009). La cellule de Chlorelle possède une paroi rigide composée de sporopollénine, ce qui lui confère une forte résistance (Wyatt *et al*, 2013), dont l'épaisseur évolue au cours du développement cellulaire : fine durant les premiers stades (environ 2 nm), elle atteint jusqu'à 21 nm à maturité. Cette paroi est constituée majoritairement de chitosane, un polymère de glucosamine, et peut intégrer de la sporopollénine, connue pour sa robustesse face aux conditions environnementales extrêmes (Safi *et al.*, 2014 ; Wyatt *et al*, 2013). Son organisation en couches laminaires et micro-fibrilles participe à la protection de la cellule contre les agents chimiques et mécaniques.

À l'intérieur, le cytoplasme dense contient les principaux organites des cellules eucaryotes : un noyau bien défini, des mitochondries à double membrane, un appareil de Golgi, et plusieurs vacuoles. Le chloroplaste unique, localisé en périphérie, renferme un pyrénoïde central, dans lequel se concentrent la RuBisCO et l'anhydrase carbonique, facilitant la capture efficace de CO_2 nécessaire à la photosynthèse (Guérin-Dumartrait, 1968 ; Martínez *et al.*, 1991).

En réponse au stress, la cellule adapte son métabolisme en accumulant des réserves de glucides (amylose et amylopectine) ainsi que des lipides neutres, assurant ainsi sa survie. Cette combinaison d'adaptabilité structurale et de flexibilité métabolique positionne *Chlorella* comme un modèle d'étude privilégié en biologie cellulaire et en physiologie des micro-algues.

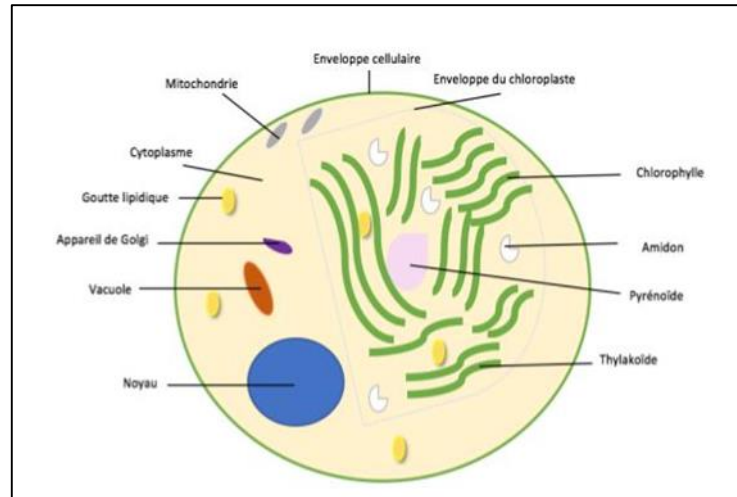


Figure I.3 : Schéma d'une cellule de *Chlorella sp.*(Safi et al, 2014)

1.3.2 Systématique

Le genre *Chlorella* regroupe des micro-algues vertes unicellulaires appartenant au phylum des Chlorophyta. Elles se distinguent notamment par leur teneur exceptionnellement élevée en chlorophylle, ce qui leur confère une efficacité photosynthétique remarquable. Certaines espèces du genre sont également capables d'établir des relations symbiotiques avec divers organismes hétérotrophes, tels que les coraux, les éponges ou encore certains protozoaires; ce qui souligne leur plasticité écologique (Blanc et al, 2010). Sur le plan taxonomique, *Chlorella* est rattachée à la classe des Trebouxiophyceae, un groupe majeur des algues vertes contenant de nombreuses espèces terrestres et symbiotiques (Krienitz et al, 2004).

La classification hiérarchique de *Chlorella* est résumée dans le tableau I.2

Tableau I.2: Systématique de *Chlorella sp.* (Beijerinck, 1890) ;(WORMS, 2025) .

Domaine	Eukaryota
Règne	Plantae
Embranchement	Chlorophyta
Classe	Trebouxiophyceae
Ordre	Chlorellales
Famille	Chlorellaceae
Genre	<i>Chlorella</i>

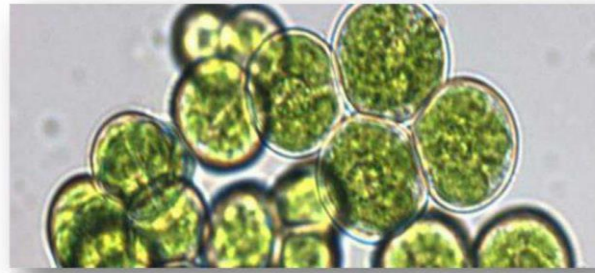


Figure I.4 : *Chlorella* sp sous microscope (Ben Nasr, 2013).

1.3.3 Reproduction

La reproduction de *Chlorella* s'effectue principalement par auto-sporulation, une forme de reproduction asexuée caractéristique des algues unicellulaires. Lorsqu'elle est cultivée dans des conditions optimales, la cellule mère se divise environ toutes les 24 heures. Ce processus débute par la formation, à l'intérieur de la cellule mère, de quatre autospores (cellules filles génétiquement identiques), chacune entourée de sa propre paroi cellulaire naissante. La division implique plusieurs étapes cytologiques, notamment la croissance cellulaire, la division du chloroplaste, puis celle du protoplaste, avant la maturation des cellules filles et leur libération par éclatement de la paroi maternelle. À ce stade, les débris de la cellule mère peuvent servir de source nutritive pour les cellules nouvellement formées (Levy, 2017).

L'analyse microscopique met en évidence une synthèse précoce de la paroi à la surface de la membrane plasmique, suivie de phénomènes d'invagination lors de la division du protoplaste. La paroi des cellules filles, encore mince après l'éclosion, devient visible lorsque celles-ci atteignent un diamètre d'environ 3,0 μm , bien qu'elle soit difficile à distinguer des couches précédentes en raison de la similitude de texture et de coloration. Ce mécanisme rapide et efficace assure une croissance exponentielle de la population algale, ce qui fait de *Chlorella* un modèle privilégié en culture intensive et en recherche appliquée sur la division cellulaire des micro-algues (Levy, 2017 ; Blanc et al, 2010).

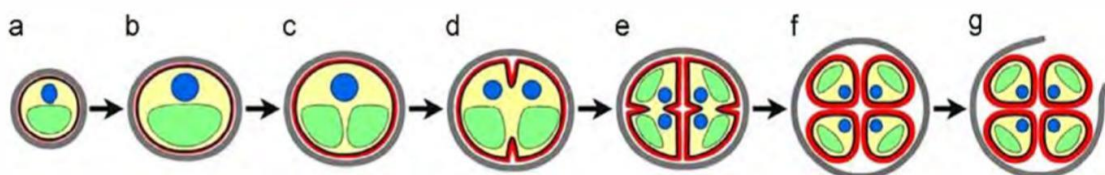


Figure I.5 : Illustration des différentes phases de formation de la paroi des cellules filles chez la *Chlorella*: (a) phase précoce de croissance cellulaire ; (b) phase tardive de croissance cellulaire ; (c) phase de division des chloroplastes ; (d) phase précoce de division des protoplastes; (e) phase tardive de division des protoplastes ; (f) phase de maturation des cellules filles ; (g) phase d'éclosion (Yamamoto et al, 2015).

1.3.4 Développement et activité

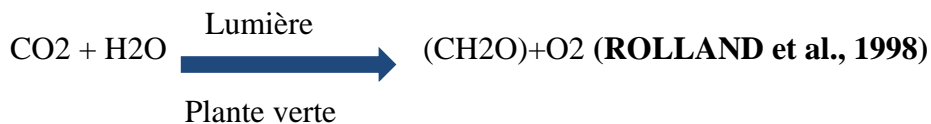
Chlorella est une micro-algue eucaryote caractérisée par un métabolisme de type photo-litho-autotrophe, ce qui signifie qu'elle tire son énergie de la lumière (photo-), utilise des composés inorganiques comme sources d'électrons (litho-) et assimile le carbone sous forme minérale (autotrophe). Elle réalise la photosynthèse oxygénique, au cours de laquelle le CO_2 atmosphérique est réduit grâce à l'énergie lumineuse, permettant la synthèse de matière organique (Justine Levy, 2017). Ce microorganisme requiert un milieu minéral pour se développer, notamment des éléments nutritifs comme le phosphore, l'azote, le fer et le magnésium, et peut utiliser l'azote

inorganique(sous forme de nitrate ou d'ammonium) pour synthétiser des acides aminés et des protéines, contribuant à son autonomie métabolique. Les algues, dont *Chlorella* fait partie, représentent la principale source de production d'oxygène à l'échelle planétaire, générant environ 90 % de l'O₂ atmosphérique, soit près de 330 milliards de tonnes par an, contre seulement 10 % pour les plantes terrestres (arbres, herbacées) (**Justine Levy, 2017**). En captant le dioxyde de carbone présent dans l'atmosphère, elles participent activement à la régulation du cycle du carbone et à la lutte contre le réchauffement climatique. De plus, en tant que composants majeurs du phytoplancton, les micro-algues comme *Chlorella* occupent une position fondamentale à la base des réseaux trophiques aquatiques. Toute altération de leur abondance ou de leur diversité pourrait entraîner des déséquilibres écologiques importants, affectant la structure et la dynamique des chaînes alimentaires marines, avec des répercussions encore difficiles à anticiper.

1.3.5 La photosynthèse

La photosynthèse est le processus biologique par lequel les êtres vivants utilisent l'énergie solaire pour leur croissance et développement. La photosynthèse se manifeste par une absorption de gaz carbonique pour la synthèse de molécules carbonées et par un dégagement d'oxygène (**MATHIS, 1996**).

La réaction générale de la photosynthèse est comme suite:



1.4 Valeur nutritionnelle

1.4.1 Protéines (50-60% de la composition)(Becker, 2007)

La *Chlorella* se distingue par sa teneur exceptionnelle en protéines végétales (jusqu'à 60%), représentant environ 3% de l'apport journalier recommandé (Saarbrücken, 2011). Ces protéines sont dites « complètes », car elles incluent 19 acides aminés, dont les 9 essentiels (non synthétisés par l'organisme humain), comme le tryptophane (0,3% de la matière sèche). Ce dernier est un précurseur clé de la sérotonine, une hormone régulant l'humeur, le sommeil et les performances cognitives (**Hagino et al, 1967**). Une cuillère à soupe de poudre de *Chlorella* apporte autant de protéines que 50 g de viande bovine, trois fois plus qu'une portion équivalente de poulet, et vingt fois plus que le riz ou les pommes de terre (**Saarbrücken, 2011**). Cette richesse en fait un substitut idéal pour les régimes végétariens et sportifs.

1.4.2 Polysaccharides (10-30%de glucides)(Safi et al., 2014)

Les glucides de la *Chlorella* (environ 20%) sont principalement composés de saccharose, glucose et fructose, des sucres simples essentiels à l'énergie cellulaire. Une mention spéciale est faite sur l'interaction entre sucre et urée dans les milieux de culture : selon une formule empirique, la toxicité de l'ammoniac généré dépend du ratio urée + (sucre / 2501,7) × concentration en ammonium (exprimé en mg/l). Bien que non explicitement référencée, cette règle pratique met en lumière l'importance de contrôler les paramètres de culture pour éviter la toxicité.

1.4.3 Acides gras essentiels (10-20%de lipides)(Caporgno et Mathys, 2018)

Les lipides de la *Chlorella* sont majoritairement des acides gras polyinsaturés (AGPI), dont l'acide alpha-linolénique (Oméga-3) et les acides gamma-linoléique et linoléiques. Ces composés, utilisés en pharmacopée occidentale, sont prescrits pour traiter les maladies cardiovasculaires (réduction du cholestérol LDL) et les dermatites inflammatoires (**Pierre, 2005**). Leur action anti-inflammatoire et vasodilatatrice en fait des agents thérapeutiques polyvalents.

1.4.4 Vitamines

- *Vitamine B12 (0.1-0.3 mg/100g)(Bito et al., 2020)*

Absente des plantes terrestres, elle est cruciale pour la synthèse de l'ADN, la formation des globules rouges et la protection des neurones (gainage de la myéline). Une carence entraîne une anémie pernicieuse ou des risques de démence (**Vogiatzoglou et al., 2008**). La *Chlorella* en contient suffisamment pour couvrir les besoins des végétaliens : 8 comprimés de *Chlorella* Flamant Vert = apport quotidien (**Anonyme II, 2012**).

- *Vitamines B1-B9, C, E*

Essentielles au métabolisme énergétique, à la lutte contre le stress oxydatif et à la santé cutanée. Une carence en vitamines B altère la cognition, comme démontré chez la souris (réduction des capillaires cérébraux) (**Troenet al, 2008 ; Pierre, 2005**).

1.4.5 Pigments

- *Caroténoïdes (bêta-carotène, lutéine) 0.3-1%(Bito et al., 2020)*

Antioxydants puissants, protecteurs de la peau et des yeux (**Pierre, 2005**).

- *Chlorophylle (2-5%dans Chlorella Flamant Vert)*

Avec une concentration 4 fois supérieure à la spiruline, la chlorophylle de la *Chlorella* présente une structure moléculaire proche de l'hémoglobine (remplacement du fer par du magnésium). Elle permet de :

- Neutraliser l'acidose métabolique liée aux régimes industrialisés, préservant les réserves de calcium et magnésium (prévention de l'ostéoporose).
- Assainir l'intestin en inhibant les pathogènes et en favorisant les probiotiques (**Pierre, 2005; Françoise, 2008**).
- Agir comme un détoxifiant sanguin, chélateur de métaux lourds et stimulateur de la régénération cellulaire.

1.4.6 Fibres (10-20%) (Caporgno et Mathys, 2018)

Non digestibles, ces fibres chélatrices captent les métaux lourds (plomb, mercure) et les toxines, tout en régulant le transit intestinal. Leur action mécanique nettoie le système digestif, réduisant les risques d'inflammation (**Pierre, 2005**).

Tableau I.3 : Composition chimique de *Chlorella sp.*

Composant	Teneur (% ou mg/100g)	Référence scientifique
Protéines	50-60%	Becker, 2007
Glucides	10-30%	Safi <i>et al.</i> , 2014
Lipides	10-20%	Caporgno et Mathys, 2018
Chlorophylle	2-5%	Safi <i>et al.</i> , 2014
β -carotène	0.3-1%	Bito <i>et al.</i> , 2020
Vitamine B12	0.1-0.3 mg/100g	Bito <i>et al.</i> , 2020
Fibres	10-20%	Caporgno et Mathys, 2018

2. L'importance de la chlorelle

2.1 Source alimentaire pour les humains

La chlorelle se positionne comme une source alimentaire d'intérêt majeur pour l'alimentation humaine, principalement en raison de sa composition nutritionnelle remarquable. Cette micro-algue est caractérisée par une teneur élevée en protéines, pouvant atteindre 68% de son poids sec, et contient l'ensemble des acides aminés essentiels nécessaires à l'organisme. Au-delà de son profil protéique complet, la chlorelle est également une source significative d'acides gras essentiels, de caroténoïdes, de fibres alimentaires, ainsi que d'une large gamme de vitamines et de minéraux essentiels (Li *et al.*, 2002 ; Fernandes *et al.*, 2012). Cette densité nutritionnelle a conduit à son utilisation répandue comme complément alimentaire, disponible sous diverses formes telles que les comprimés, les capsules, les poudres et les extraits. Historiquement, sa capacité à fournir des nutriments essentiels en grande quantité lui a même permis de jouer un rôle dans la lutte contre les pénuries alimentaires, notamment durant les périodes de guerres mondiales (Lin, 2005).

2.2 Source alimentaire pour les animaux

La chlorelle est également un ingrédient de plus en plus valorisé dans le domaine de la nutrition animale, principalement pour l'alimentation des espèces aquacoles et de la volaille. Son incorporation dans les régimes alimentaires vise notamment à optimiser la pigmentation des chairs de poissons et des jaunes d'œufs, conférant ainsi des attributs organoleptiques améliorés aux produits finis (Gouveia *et al.*, 1996). Cette application s'inscrit dans une tendance plus large où environ 30% de la production mondiale de micro-algues est désormais dédiée à l'alimentation animale, une proportion qui témoigne de la demande croissante du marché pour des sources d'aliments naturels et durables (Becker, 2007).

2.3 Atténuation du CO₂ et dépollution

La chlorelle est reconnue pour ses remarquables capacités environnementales, notamment sa fixation photosynthétique du dioxyde de carbone (CO₂), contribuant ainsi significativement à la réduction des émissions de gaz à effet de serre (**Fulkeet al, 2010 ; Borkenstein et al, 2011 ; Yewalkaret al, 2011**). Parallèlement, cette micro-algue trouve une application prometteuse dans la biorestauration des eaux usées industrielles, où elle démontre une efficacité notable dans l'élimination de nutriments excessifs tels que l'azote et le phosphore (**González et al, 1997**).

2.4 Applications diversifiées de la Chlorelle : de la bio-ingénierie aux biocarburants

La chlorelle présente un spectre d'applications industrielles et biotechnologiques étendu, allant au-delà de sa valeur nutritionnelle. Elle est notamment reconnue comme une source naturelle et prometteuse de composés bioactifs, tels que des caroténoïdes spécifiques comme la lutéine et la zéaxanthine, des pigments aux propriétés antioxydantes significatives. Ces derniers trouvent des débouchés majeurs dans les industries alimentaires, nutraceutiques et pharmaceutiques en raison de leurs bénéfices pour la santé (**Fraser et Bramley, 2004**). Parallèlement, la chlorelle est activement étudiée pour son potentiel en tant que matière première pour la production de biocarburants, notamment le biodiesel, bien que cette technologie en soit encore à un stade de développement précoce (**Ibrahim et Elbaily, 2020**). En outre, ses caractéristiques biologiques en font une plateforme attrayante pour diverses applications biomédicales et pharmaceutiques. Elle est employée comme système d'expression pour la production de protéines recombinantes d'intérêt thérapeutique, telles que des enzymes, des vaccins et des anticorps monoclonaux, ouvrant ainsi de nouvelles voies pour la bio-production (**Liu et Chen, 2004**).

3. Conditions de culture de la Chlorelle

La prolifération des micro-algues est régulée par un ensemble de facteurs, lesquels peuvent être classés en deux catégories principales : les paramètres physiques et les paramètres chimiques. Ces variables conditionnent non seulement l'efficacité de la photosynthèse et la productivité en biomasse, mais également les réponses physiologiques et métaboliques des micro-algues au sein des systèmes de culture (**Richmond, 2004**).

3.1 Les conditions physiques

Les exigences de croissance de la culture de la chlorelle sont similaires à celles des plantes terrestres, mais elles utilisent ces ressources très efficacement pour augmenter la productivité de la biomasse, en consommant comparativement moins d'eau (**Sudhakar et al, 2014**).

3.1.1 La Lumière

La lumière constitue un facteur environnemental primordial et indispensable à la croissance des micro-algues du genre *Chlorella*, agissant comme source d'énergie essentielle à leur métabolisme photosynthétique. Les paramètres clés de l'éclairement, incluant l'intensité (ou irradiante), la qualité spectrale et la photopériode, doivent être rigoureusement contrôlés afin d'optimiser l'activité photosynthétique et la productivité de la biomasse algale (**Richmond, 2004**). La croissance de *Chlorella* est directement dépendante de la disponibilité et de l'efficacité de l'utilisation de l'énergie lumineuse (**Smith, 2000**). Une irradiante insuffisante, même en présence de conditions optimales pour les autres facteurs de culture, peut significativement limiter la productivité et la prolifération cellulaire (**Richmond, 1999**).

En culture contrôlée, l'apport lumineux est fréquemment assuré par des sources artificielles telles que des tubes fluorescents (typiquement de 40 à 60 Watts), positionnés pour une diffusion homogène. Des intensités lumineuses comprises entre 3500 et 5000 lux sont souvent requises pour un développement optimal des espèces cultivées, avec une illumination continue de 24 heures favorisant la maximisation de la production photosynthétique (**Audineau et al, 1986**). Cependant, une gestion précise de l'exposition lumineuse est impérative, car un excès d'éclairement peut induire une photoinhibition, caractérisée par une diminution du taux de photosynthèse, ce qui s'avère préjudiciable à la productivité algale (**Dautae et al, 1990**).

L'activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse suit une courbe caractéristique. Au-delà d'un certain seuil, l'intensité de compensation (I_c), la photosynthèse nette débute, équilibrant la respiration cellulaire (**Lucchetti, 2015**). L'intensité de saturation (I_s) correspond à l'éclairement où le taux de photosynthèse atteint son maximum (phénomène de photolimitation), tandis que l'intensité d'inhibition (I_{pi}) marque le seuil où l'activité photosynthétique est inhibée par un excès de lumière. La photoinhibition devient généralement prononcée pour des intensités lumineuses dépassant $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (**Barbosa et al, 2003**). L'efficacité photosynthétique est couramment évaluée par la mesure du dégagement d'oxygène ou de la consommation de dioxyde de carbone, et l'énergie lumineuse disponible est exprimée en densité de flux de photons ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) ou en taux d'absorption de photons ($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) (**Csögöret et al, 1999; Yun et Park, 2003**).

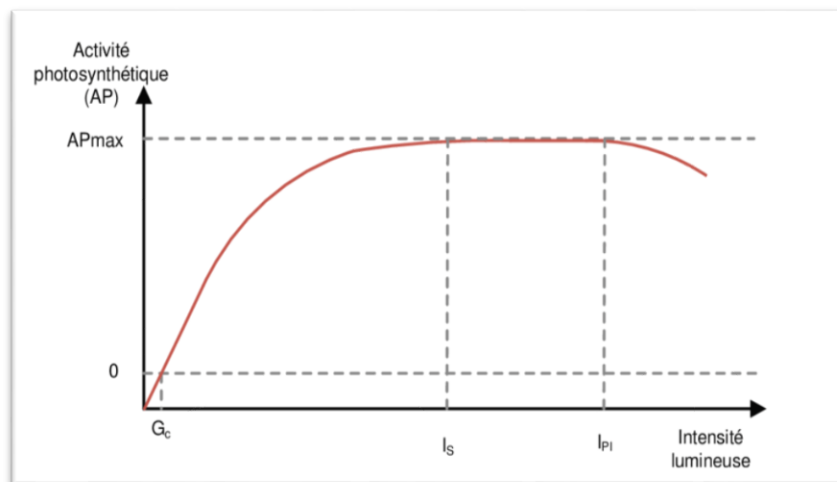


Figure I.6: Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse (**Masojidek et al, 2004**).

3.1.2 La Température

Représente un facteur environnemental fondamental qui régule de manière synergique avec l'éclairement la cinétique photosynthétique et, par conséquent, la productivité des cultures de micro-algues, y compris *Chlorella* sp. Ce paramètre est essentiel, car il module l'activité enzymatique, la fluidité des membranes cellulaires, et l'ensemble des réponses cellulaires, physiologiques et morphologiques des micro-algues (**Kumaret et al, 2010**).

Les variations de température peuvent induire des altérations significatives de la structure cellulaire, notamment des changements dans le volume cellulaire (**Richmond, 2004**). Par exemple, une température excédant la valeur optimale peut provoquer une augmentation du volume des cellules (**Harris, 1988**), ce qui peut impacter les processus de division cellulaire et de transport membranaire.

La majorité des espèces de micro-algues sont classées comme mésophiles, ce qui implique que leur température optimale de croissance se situe généralement dans une plage comprise entre 15 °C et 40 °C. Pour de nombreuses souches, dont *Chlorella vulgaris* pour laquelle une température optimale est rapportée entre 20 °C et 30 °C (Todisco, 2019), le maintien dans cet intervalle est crucial. Une exposition prolongée à des températures supra-optimales, typiquement supérieures à 45 °C pendant plus de vingt-quatre heures, peut entraîner des dommages irréversibles aux cultures (Richmond et Hu, 2008), par dénaturation des protéines et altération des processus métaboliques fondamentaux. Il est important de noter que l'éventail des températures optimales est diversifié au sein du règne des micro-algues, avec l'existence de souches psychrophiles (température optimale < 15 °C) et thermophiles (température optimale > 50 °C), adaptées à des environnements extrêmes (Varshney *et al*, 2015).

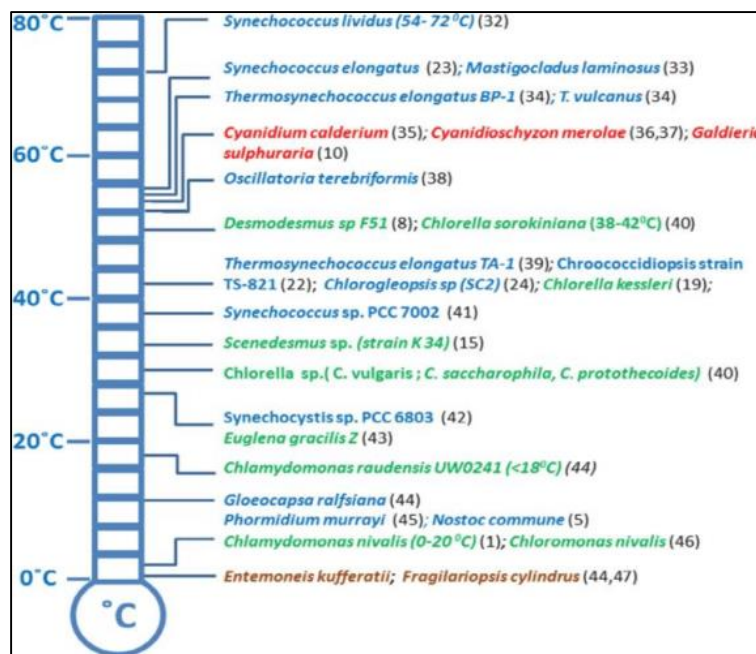


Figure I.7 : Températures optimales de croissance des micro-algues (cyanobactéries en bleu, algues rouges en rouge, algues vertes en vert et diatomées en marron) (Varshney *et al*, 2015).

3.1.3 La salinité

La salinité constitue un paramètre environnemental critique, exerçant une influence directe sur l'équilibre osmotique des cellules micro-algales et par conséquent, sur leur croissance et leur métabolisme. La remarquable diversité des espèces micro-algales se manifeste par leur capacité à prospérer dans des environnements variés, allant des eaux douces (*Chlorella*, *Synura*) aux milieux marins (*Rhodella*, *Porphyridium*), et même aux écosystèmes hypersalins où des espèces halophiles comme *Dunaliella* peuvent tolérer des concentrations de chlorure de sodium (NaCl) allant jusqu'à 50% (m/v) (Asfour, 2010). Ces adaptations sont cruciales, car des changements abrupts de salinité peuvent altérer la physiologie cellulaire, induisant des réorientations métaboliques telles qu'une augmentation de la teneur lipidique en réponse au stress (Fillali, 2012), ou entraînant la formation de précipités dans le milieu. En culture contrôlée, l'optimisation de la salinité est donc impérative ; par exemple, il a été démontré que des conditions hypohalines, à environ 20 PSU, peuvent favoriser une croissance optimale pour certaines souches marines, comparativement à la salinité standard de l'eau de mer à 35 PSU (Bérnabé, 1989). Une maîtrise précise de ce facteur est essentielle pour maximiser les rendements et orienter la biosynthèse de métabolites d'intérêt.

3.2 Les conditions chimiques

3.2.1 pH

Le pH du milieu de culture est un paramètre environnemental d'une importance capitale, car il régule directement la disponibilité des nutriments, l'activité enzymatique et l'intégrité cellulaire des micro-algues. Sa valeur est intrinsèquement liée à la dynamique du système carbonaté dissous (incluant CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^{3-} et CO_3^{2-}), dont l'équilibre est constamment perturbé par l'activité biologique. L'apport externe de dioxyde de carbone (CO_2), essentiel pour la photosynthèse, peut initialement abaisser le pH du milieu par la formation d'acide carbonique, pouvant potentiellement inhiber la croissance de certaines souches sensibles à l'acidification excessive. Inversement, la consommation photosynthétique du CO_2 et des bicarbonates par les micro-algues entraîne une alcalinisation progressive du milieu, ce qui complexifie significativement le contrôle du pH à grande échelle.

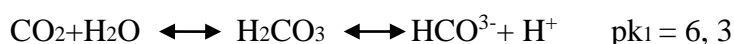
En laboratoire, cette fluctuation est souvent gérée par un suivi en ligne du pH couplé à une injection automatisée de CO_2 . En règle générale, la majorité des micro-algues présente un taux de croissance optimal dans une plage de pH proche de la neutralité, voire légèrement alcaline, toute déviation significative de cette zone étant susceptible de compromettre leur physiologie et leur productivité.

3.2.2 Nutriments

a) Micronutriments

- Carbone

Le carbone est le macronutriment le plus abondant, constituant l'épine dorsale de la biomasse algale. En conditions autotrophes, la source de carbone inorganique dissous (CID) est principalement constituée des espèces chimiques en équilibre dynamique dans le milieu aqueux : le dioxyde de carbone dissous ($\text{CO}_2(\text{aq})$), l'acide carbonique (H_2CO_3), l'ion bicarbonate (HCO_3^{3-}) et l'ion carbonate (CO_3^{2-}). Ces équilibres sont régis par les constantes de dissociation de l'eau et du système carbonate-bicarbonate, influencées par le pH et la température (**Livansky, 1990 cité in Fillali, 2012**) :



La forme de carbone majoritaire varie en fonction du pH : le $\text{CO}_2(\text{aq})$ prédomine à des pH inférieurs à 6,4 ; les ions HCO_3^{3-} sont majoritaires dans la plage de pH allant de 6,4 à environ 10,4 ; et les ions CO_3^{2-} deviennent prédominants au-delà de pH 10,4. Les micro-algues assimilent activement le dioxyde de carbone pour leur photosynthèse, nécessitant typiquement environ 1,8 kg de CO_2 pour produire 1 kg de biomasse sèche (**Livanský et Doucha, 1996; Cadoret et Bernard, 2008**). Un apport excessif de CO_2 peut entraîner une acidification du milieu, ce qui peut inhiber la croissance de plusieurs espèces par un déplacement du pH hors de leur zone de tolérance.

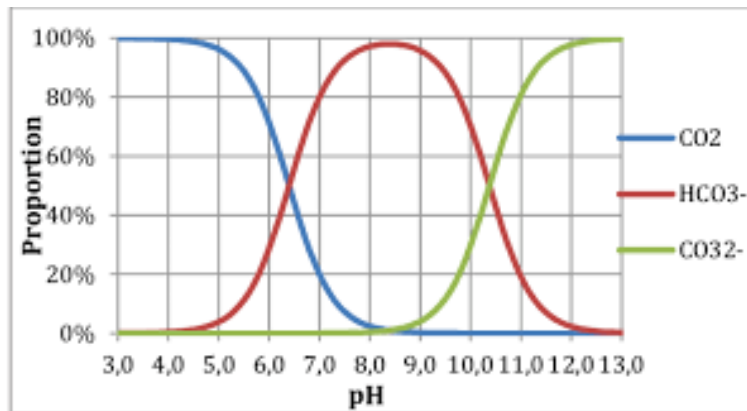


Figure I.8: Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH.

- **Azote**

L'azote est le second macronutriment le plus important après le carbone, étant un composant essentiel des protéines structurales et fonctionnelles, des acides nucléiques et de la chlorophylle (**Becker, 1994**). Les micro-algues sont capables d'assimiler diverses formes d'azote inorganique, telles que les nitrates (NO_3^-), les nitrites (NO_2^-) et l'ammonium (NH_4^+), ainsi que certaines formes organiques comme l'urée. La croissance des micro-algues peut rester comparable indépendamment de la source d'azote utilisée, pourvu qu'elle soit disponible. Cependant, une carence en azote représente un stress nutritif majeur qui induit une reprogrammation métabolique notable, se traduisant souvent par une augmentation significative de la production et du stockage de lipides neutres (triacylglycérols) et par une accumulation de caroténoïdes secondaires, comme la production d'astaxanthine chez certaines algues vertes.

- **Phosphore**

Le phosphore est un macronutriment vital, indispensable à de nombreux processus de métabolisme cellulaire, notamment la synthèse d'adénosine triphosphate (ATP), des acides nucléiques (ADN, ARN) et des phospholipides membranaires. Il représente environ 1% de la matière sèche algale (**Richmond, 2004**). Les micro-algues peuvent assimiler diverses formes inorganiques du phosphore (PO_4^{3-} , H_2PO_4^- , HPO_4^{2-}). Elles sont également capables d'hydrolyser et d'utiliser des formes organiques du phosphore grâce à la sécrétion d'enzymes de la famille des phosphatases (**Alcaine, 2010**). Une carence en phosphore a des répercussions profondes sur la physiologie algale, affectant directement l'activité photosynthétique en particulier au niveau de l'enzyme Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco), cruciale pour la fixation du CO_2 (**Maziliak, 1998 ; Agren, 2004**) et stimulant l'accumulation de réserves lipidiques (**Wanget al, 2008**), tout en réduisant globalement la productivité en biomasse (**Borowitzka, 1988**).

b) Macronutriments

En plus des macronutriments, la croissance optimale des micro-algues nécessite la présence de divers microéléments, requis en quantités moindres, mais essentiels comme cofacteurs enzymatiques, constituants structuraux ou acteurs dans des voies métaboliques clés. Parmi ceux-ci, on retrouve des éléments tels que le fer (Fe), le soufre (S), le magnésium (Mg), le potassium (K), le sodium (Na), ainsi que des oligo-éléments comme le cuivre (Cu), le manganèse (Mn), le zinc (Zn), le cobalt (Co) et le molybdène (Mo).

Une carence en fer, par exemple, entraîne des altérations métaboliques importantes, se manifestant par une diminution de la densité et de la taille cellulaire et une inhibition significative de la synthèse protéique et lipidique (**Valeraet al, 2011 cité in Fillali, 2012**). Le fer est également un catalyseur indispensable à la biosynthèse de la chlorophylle (**Becerra-Celis, 2009**), pigment essentiel à la photosynthèse. Le soufre est un constituant fondamental de deux acides aminés essentiels, la cystéine et la méthionine, et sa carence induit une inhibition de la synthèse protéique et de l'activité photosynthétique des micro-algues (**Wanget al, 2008**).

3.3 Agitation :

L'agitation du milieu de culture représente un paramètre opérationnel fondamental pour la croissance et la productivité des micro-algues, bien que sa modalité (continue ou intermittente) puisse varier selon les espèces et les objectifs de production (**Grobbelaar, 2000 ; Richmond, 2004 ; Grobbelaar, 1994**). Sa mise en œuvre répond à plusieurs impératifs physiologiques et bio-ingénieriques.

Premièrement, l'agitation prévient la sédimentation des cellules algales, assurant ainsi une suspension homogène essentielle à leur exposition uniforme aux nutriments et à la lumière. Deuxièmement, elle élimine les gradients de concentration des nutriments, des gaz dissous (comme le CO₂) et de la température au sein du photobioréacteur, garantissant ainsi une disponibilité équitable des ressources pour toutes les cellules. Troisièmement, le mélange des cellules dans le champ lumineux est crucial pour optimiser l'exposition lumineuse de chaque cellule, atténuant les phénomènes de photolimitation (insuffisance d'éclairage) et de photoinhibition (excès d'éclairage) par la création d'un "Effet de lumière clignotante" (flashing light effect) qui favorise une utilisation plus efficace de l'énergie photonique (**Chisti, 2007**). Quatrièmement, l'agitation facilite les échanges gazeux, notamment l'approvisionnement en CO₂ et la désorption de l'oxygène (O₂) produit par la photosynthèse ; une accumulation excessive d'O₂ pouvant inhiber la photosynthèse via la photorespiration. Enfin, l'agitation améliore significativement les coefficients de transfert de masse pour les nutriments et les gaz, éléments directement corrélés à la cinétique de croissance.

3.4 Récolte :

La récolte des micro-algues, qui consiste à séparer ces microorganismes du milieu de culture dans lequel ils prolifèrent, représente une étape technologique particulièrement ardue et souvent un goulot d'étranglement significatif dans l'ensemble de la chaîne de production, notamment pour les applications à grande échelle comme la production de biocarburants (**Cadoret et Bernard, 2008**). La difficulté inhérente à cette étape réside principalement dans les caractéristiques physico-chimiques des cellules : leur taille micrométrique (typiquement de 2 à 20 µm de diamètre) et leur densité cellulaire très proche de celle de l'eau, rendant la séparation solide-liquide énergétiquement et économiquement coûteuse.

Pour surmonter ces défis, diverses technologies de séparation sont employées, incluant la centrifugation, la floculation (par auto-floculation, floculation chimique ou bio-floculation) et la flottation par moussage. Néanmoins, l'efficacité et l'applicabilité de chaque méthode sont fortement dépendantes de plusieurs paramètres, notamment la morphologie de l'espèce microalgale, la concentration cellulaire de la culture et les conditions spécifiques du milieu (**Sadi, 2012**).

La filtration membranaire, par exemple, peut s'avérer efficace pour la récupération de grandes quantités de biomasse, particulièrement pour les micro-algues de taille relativement importante telles que *Spirulinaplantensis*. Cependant, son efficacité diminue drastiquement pour les espèces de plus petite taille, comme *Scenedesmus*, *Dunaliella* ou *Chlorella*, en raison de phénomènes de colmatage rapide des membranes et de débits de filtration excessivement lents, ce qui en compromet la viabilité économique pour de nombreuses applications (**ANEX, 2012**).

3.5 Milieu de culture :

Le milieu de culture f/2 est l'un des milieux les plus utilisés pour la culture de micro-algues marines en laboratoire et en aquaculture.

Dans les années 1950-1960, le développement des recherches en océanographie biologique et en aquaculture marine a créé un besoin croissant pour des cultures de micro-algues en laboratoire. Ces micro-algues servaient à la fois de modèles biologiques pour l'étude de l'écologie marine et de nourriture vivante pour les organismes d'élevage (comme les larves de mollusques, crustacés, poissons, etc.).

Le chercheur R.R.L. Guillard, travaillant au WoodsHoleOceanographic Institution (WHOI) aux États-Unis, a alors entrepris de développer un milieu synthétique standardisé, facilement reproductible, économique, et capable de soutenir la croissance de nombreuses espèces de phytoplancton marin.

Il a initialement formulé un milieu riche appelé "f" (probablement pour "formula" ou "fertilizer"). Ce milieu s'est révélé trop concentré pour certaines espèces ou pour une culture prolongée, causant parfois des croissances déséquilibrées ou des effets toxiques dus à des excès de nutriments. C'est ainsi qu'il a créé une version diluée de moitié, nommée f/2, qui s'est révélée plus efficace, plus stable, et mieux tolérée par une large gamme d'espèces.

La formulation f/2 a été décrite pour la première fois dans un article de Guillard & Ryther en 1962, dans lequel ils ont utilisé ce milieu pour cultiver diverses espèces de micro-algues marines, notamment dans le contexte de la production de nourriture pour larves de coquillages.

3.6 Les modes de culture

La majorité des micro-algues sont photoautotrophes, tirant leur énergie de la photosynthèse et fixant le CO₂. Cependant, certaines sont hétérotrophes, se développant grâce à une source de carbone organique, indépendamment de l'énergie solaire (**Sadi, 2012**).

3.6.1 Culture en photoautotrophie

a) Systèmes ouverts (Raceways)

L'évaluation des technologies de culture micro-algale, incluant l'analyse des rendements de conversion biosynthétique, constitue la base de la faisabilité technico-économique des bioproduits issus des algues (**Deschenes, 2009**). Parmi ces systèmes, les cultures ouvertes, typiquement sous forme d'étangs de type raceway, bien que conceptuellement simples, présentent des défis inhérents à leur principe de fonctionnement. Par nature, ces systèmes exigent l'utilisation d'espèces micro-algales robustes et compétitives face à la contamination par des organismes indésirables. Leur faible niveau de contrôle sur les paramètres physico-chimiques du milieu et leur forte dépendance aux variations saisonnières et climatiques limitent souvent la production aux périodes propices (**Pruvost et al., 2011**). L'évaporation élevée, bien que contribuant à la régulation thermique de la culture, induit une consommation d'eau significative. De plus, ces systèmes souffrent fréquemment d'une double limitation : par la lumière, due à l'auto-ombrage dans des volumes importants, et par l'apport en carbone, en raison d'un contact limité avec le CO₂ atmosphérique, dont la concentration est nettement inférieure aux besoins photosynthétiques. En mode continu, des nutriments sont ajoutés en amont d'une roue à aubes qui assure le mélange, tandis que la récolte s'effectue en aval après un temps de circulation défini (**Sadi, 2012**). Malgré ces contraintes, des systèmes ouverts optimisés, notamment ceux installés en Californie, à Hawaï et au Nouveau-Mexique, ont permis

d'atteindre des productivités maximales de 50 grammes de micro-algues par mètre carré et par jour. Ces succès sont souvent attribués à l'utilisation d'espèces natives naturellement adaptées aux conditions locales, surpassant la performance des souches cultivées en laboratoire. Les défis liés aux basses températures nocturnes ont par ailleurs conduit au développement de formes de contrôle thermique passives, comme l'enclot des étangs (**Becerra-Celis, 2009**).



Figure I.9 : Culture en Raceways(**ANONYME, 2011**).

b) Systèmes fermés (PBR) :

Les photobioréacteurs (PBRs) se définissent comme des systèmes de culture confinés et contrôlés, où la bioconversion de l'énergie lumineuse est optimisée pour la production de biomasse micro-algale à partir de dioxyde de carbone (CO_2) et de lumière (**Olivo, 2007**). Ces systèmes offrent des avantages substantiels par rapport aux cultures ouvertes, notamment en permettant la culture de souches micro-algales sensibles, qui seraient autrement vulnérables à la contamination par des microorganismes indésirables. Grâce à un contrôle rigoureux des paramètres physico-chimiques (pH, température, disponibilité des nutriments et intensité lumineuse), les PBRs atteignent des productivités volumétriques significativement plus élevées. Leur environnement contrôlé est également propice à la production de molécules destinées à des applications exigeantes en normes de pureté élevées, telles que les produits pharmaceutiques ou cosmétiques, avec des exemples de PBRs conçus pour se conformer aux Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) (**Becerra-Celis, 2009**). Bien que l'investissement initial et les coûts opérationnels des photobioréacteurs soient généralement supérieurs à ceux des étangs à ciel ouvert, ces systèmes compensent par une utilisation plus efficace de la lumière et un encombrement spatial réduit. La préférence des scientifiques pour les PBRs s'explique par leur capacité à assurer la monoculture d'une espèce d'algue, minimisant la compétition interspécifique et les risques de contamination (**SADI, 2012**). Cette production de molécules à haute valeur ajoutée justifie l'investissement, rendant la culture industrielle de ces microorganismes viables à travers le développement de PBRs fermés, stérilisables, hautement contrôlés et à haute productivité (**Becerra-Celis, 2009**). Un avantage clé des PBRs réside dans l'optimisation du transfert de masse du CO_2 de la phase gazeuse vers la phase liquide, assurant un approvisionnement suffisant pour les taux de photosynthèse élevés. Par ailleurs, en raison de cette forte productivité, l'oxygène (O_2) produit doit être continuellement éliminé pour prévenir toute inhibition de la croissance due à une concentration excessive en O_2 dissous (**Person, 2010**).

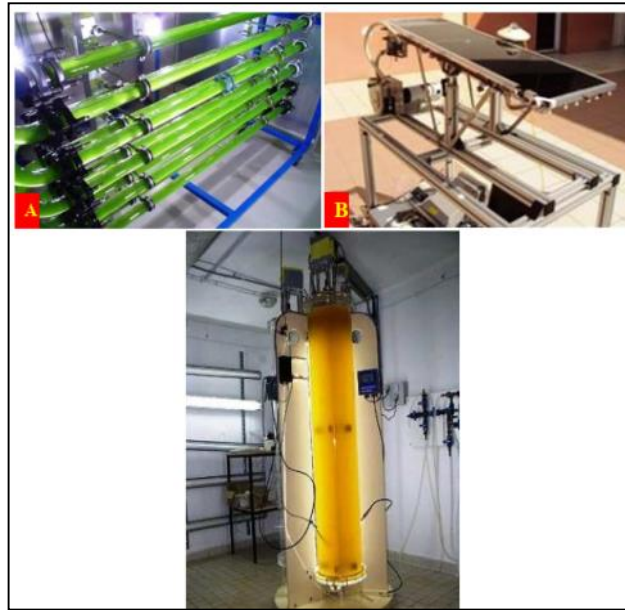


Figure I.10 : Photobioréacteur(PBR) de laboratoire pilote à éclairage externe.

A : PBR solaire plat (laboratoire GEPEA, 2012 ; France)

B : PBR Tubulaire (SolarBiofuelsResearch Centre ; Allemagne)

C : PBR Cylindrique (laboratoire de l'Ifremer ; France)

3.6.2 Culture en hétérotrophie

La culture hétérotrophe des micro-algues représente une modalité distincte où la biomasse est synthétisée à partir de sources de carbone organique exogènes, en l'absence de lumière, principalement au sein de bioréacteurs fermés communément désignés sous le terme de fermenteurs (**Sadi, 2012**). Cette approche permet un contrôle environnemental rigoureux, garantissant une protection accrue contre la contamination par des microorganismes indésirables et favorisant ainsi la culture de souches sensibles. Le principal avantage réside dans la capacité à atteindre des densités cellulaires et des productivités volumétriques exceptionnellement élevées, car l'énergie chimique des substrats organiques remplace l'énergie solaire, permettant une distribution homogène de l'énergie dans tout le volume du réacteur. Cependant, cette technologie est confrontée à des défis majeurs, notamment des coûts d'investissement et d'opération importants liés à l'infrastructure des réacteurs, à la nécessité de sources de carbone organiques spécifiques, stérilisées et coûteuses, ainsi qu'à la gestion de la chaleur métabolique élevée. De plus, bien que la production de certains pigments puisse être affectée ou nécessiter des conditions d'induction spécifiques en hétérotrophie stricte, il est inexact d'affirmer que ce système ne permet pas la production de pigments, de nombreuses micro-algues hétérotrophes synthétisant activement des molécules pigmentaires. En conséquence, la culture hétérotrophe est principalement valorisée pour la production de composés à haute valeur ajoutée, tels que des molécules organiques complexes pour les industries pharmaceutique ou nutraceutique. Contrairement aux photobioréacteurs qui nécessitent un apport additionnel de lumière comme substrat énergétique (**Becerra-Celis, 2009**), les rendements des systèmes hétérotrophes sont exclusivement dépendants des caractéristiques nutritives du milieu et de l'efficacité métabolique de la souche. Cette

distinction se reflète également dans les métriques de productivité : les rendements hétérotrophes sont exprimés en productivité volumétrique (grammes par litre par temps, g/L/temps), tandis que les systèmes autotrophes dépendants de la lumière sont évalués en productivité surfacique (grammes par mètre carré par temps, g/m²/temps) (Deschenes, 2009).



Figure I.11 : Fermenteur de production d'Oméga-3 à partir de micro-algues (FERMENATLG, 2013).

4. Les pigments Chlorophylliens

4.1 Définition

La chlorophylle, dont le terme fut forgé par Pelletier et Caventou en 1818 pour désigner la substance verte des feuilles, constitue la classe de pigments photorecepteurs les plus abondants et les plus cruciaux sur Terre. En tant que molécule centrale de la photosynthèse, elle confère non seulement leur couleur verte aux micro-algues, mais surtout elle est indispensable à la captation de l'énergie lumineuse et à sa conversion en énergie chimique. Ce processus bioconvertif, opéré au sein des thylakoïdes chloroplastiques, est le fondement de la productivité primaire des écosystèmes aquatiques et la source énergétique indirecte de la quasi-totalité des formes de vie. La chlorophylle (Ch) agit ainsi à la fois comme antenne collectrice de photons et comme centre de réaction où débute la cascade de transferts d'électrons (Li et Chen, 2015). Parmi les microorganismes photosynthétiques, la *Chlorella* se distingue par une concentration exceptionnellement élevée en chlorophylle, avec des souches telles que la "Chlorella Flamant vert" dépassant 5% en poids sec (Anonyme II, 2012) ; ce qui la positionne comme une source privilégiée de ce pigment. Il est pertinent de noter que cette richesse pigmentaire est exclusive à la chlorophylle, car, contrairement à la cyanobactérie *Spirulina* qui accumule la phycocyanine, *Chlorella* ne synthétise pas ce pigment bleu-vert (Françoise, 2008).



Figure I.12 : Observation sous Microscope de la chlorophylle qui se trouve en forte concentration dans les chloroplastes des cellules végétales et les microalgues .

4.2 Composition et structure de la chlorophylle

Les chlorophylles, pigments essentiels et majoritaires de la photosynthèse, sont des chromophores complexes caractérisés par un noyau tétrapyrrolique cyclique coordonné à un atome de magnésium central via des liaisons covalentes, structure fondamentale pour leur activité photophysique (**Lehninger, 1987**). La diversité de leurs propriétés spectrales est déterminée par la nature des substituants latéraux fixés sur ce squelette tétrapyrrolique, modulant ainsi leur capacité d'absorption dans le spectre visible (400-700 nm) et définissant des longueurs d'onde d'absorption spécifiques (λ_{\max}) (**Jeffrey et Wright, 2005; Scheer, 2006**). Parmi ces variantes, la chlorophylle *a* est universellement reconnue comme le pigment actif, car elle est directement impliquée dans la capture et la conversion de l'énergie lumineuse au niveau des centres réactionnels. Les autres chlorophylles, telles que les chlorophylles *b*, *C1*, *C2*, *C3*, *d* et *f*, agissent comme pigments accessoires, élargissant le spectre d'absorption et transférant efficacement l'énergie lumineuse vers la chlorophylle *a* des centres réactionnels (**Scheer, 2006**). Ces pigments se distinguent par des modifications structurales précises, comme la présence d'un groupement formyle en *C3* pour la *Chb*, l'absence de chaîne phytyle dans les *ChC*, ou des substitutions spécifiques (e.g, formyle en *C3* pour *Chd*, en *C2* pour *Chf*) qui permettent à certaines chlorophylles d'absorber des photons dans le proche infrarouge (**Miyashita et al., 1996; Larkum et al, 1994; Chen et al, 2010, 2012**). In vivo, ces pigments sont étroitement associés à des protéines au sein de complexes antennaires et des centres réactionnels (PSI/PSII), optimisant le transfert d'énergie et d'électrons. Parallèlement, les caroténoïdes associés jouent un rôle photoprotecteur essentiel en dissipant l'excès d'énergie lumineuse, prévenant ainsi les dommages photo-oxydatifs (**Angerhofer et al, 1998; Markwell et al, 1979**).

4.3 Le rôle de la chlorophylle

La chlorophylle, pigment fondamental chez les organismes phototrophes tels que les plantes vertes et les algues, est l'acteur principal de la photosynthèse, processus vital qui sous-tend la chaîne alimentaire de la biosphère. Sa fonction essentielle réside dans la capture de l'énergie lumineuse et sa conversion en énergie chimique. Plus précisément, la chlorophylle absorbe l'énergie photonique, laquelle est ensuite utilisée pour initier la photolyse des molécules d'eau, générant ainsi la capacité réductrice (NADPH) et l'Adénosine Triphosphate (ATP) nécessaires à

l'assimilation du carbone lors des réactions biochimiques ultérieures du cycle de Calvin (**Kourilet al, 2005**). Bien que toutes les molécules de chlorophylle au sein des complexes collecteurs de lumière (LHCs) absorbent l'énergie électromagnétique à des longueurs d'onde spécifiques, seule une fraction de celles-ci, localisée dans les centres réactionnels, parvient à la convertir en énergie chimique. La chlorophylle agit comme le pigment central, transférant l'énergie absorbée aux pigments accessoires, tels que les caroténoïdes et la lutéine, qui relayent à leur tour cette énergie aux centres réactionnels pour la conversion du dioxyde de carbone et de l'eau en matière organique. Par ailleurs, des études suggèrent que la chlorophylle pourrait également intervenir comme intermédiaire dans la biosynthèse d'autres pigments, comme les caroténoïdes (**Herrin et al, 1992**). Au-delà de son rôle biologique primaire, l'interaction spécifique de la chlorophylle avec le spectre visible du rayonnement électromagnétique la rend particulièrement pertinente pour diverses applications technologiques et spectroscopiques (**Chen et al, 2016**). Cette propriété a été exploitée, par exemple, dans la conception d'un biocapteur fluorescent à base de chlorophylle pour évaluer la viabilité des cellules micro-algales dans l'eau de ballast des navires (**Wang et al, 2013**), ou dans le développement de biocapteurs tissulaires immobilisant des algues photosynthétiques comme *Chlorellavulgaris* et la cyanobactérie *Nostoc commune* sur des supports filtrants (**Sanders et al, 2001**).

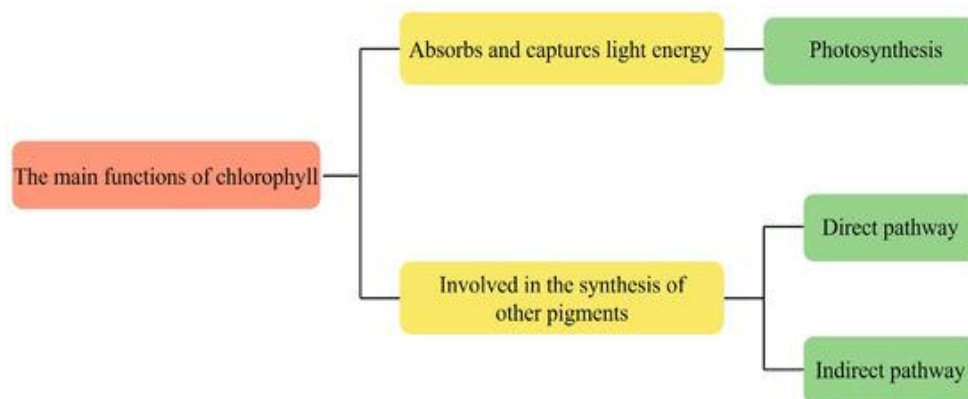


Figure I.13 : Le rôle fonctionnel des chlorophylles

4.4 Méthodes d'extraction courantes des Chlorophylles

4.4.1 Macération

L'extraction par macération est une méthode conventionnelle consistant à immerger la biomasse végétale dans un solvant à température ambiante pendant une durée prolongée. Bien que cette technique soit simple à mettre en œuvre, elle présente des limitations en termes de cinétique d'extraction et d'efficacité d'extraction des composés d'intérêt (**Kwanget al, 2010**).

4.4.2 Extraction Soxhlet (SOX) :

L'extraction par Soxhlet est une méthode d'extraction continue qui utilise un appareil éponyme. Le principe repose sur le chauffage et l'évaporation du solvant, dont les vapeurs se condensent ensuite avant de percoler à travers l'échantillon solide. Ce processus cyclique permet de dissoudre et de concentrer les composés d'intérêt. Comparée à la macération, cette technique offre une efficacité d'extraction supérieure ; cependant, elle est caractérisée par une durée d'opération plus longue et une consommation de solvant plus importante (**Kwanget al, 2010**).

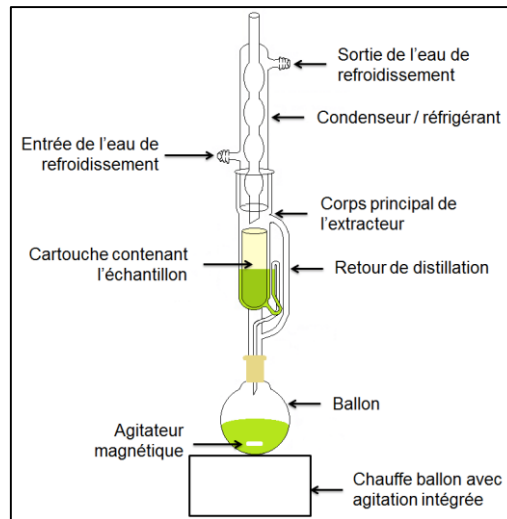


Figure I.14 : méthode d'extraction SOX (Tien Do, 2016).

4.4.3 Extraction par Ultrason

L'extraction assistée par ultrasons (UAE) est une technique qui tire parti des ondes ultrasonores pour induire la cavitation acoustique au sein de la matrice végétale. Ce phénomène physique provoque la rupture des parois cellulaires et améliore significativement le transfert de masse des composés d'intérêt vers le solvant. Comparativement aux méthodes d'extraction conventionnelles, l'UAE permet une réduction notable du temps d'extraction et de la consommation de solvant (Kwanget al, 2010)(Rahimi et al,2017).

4.5 Utilisations des pigments Chlorophylliens

- **Colorant Alimentaire Naturel :** La chlorophylle est utilisée comme colorant en raison de son absorption sélective de la lumière et de sa couleur verte (Spears, 1988 ; Timberlake et Henry, 1986).
- **Propriétés Antioxydants et Antimutagènes :** La chlorophylle et ses dérivés présentent de fortes propriétés antioxydants. Ces composés, présents dans les fruits et légumes, pourraient jouer un rôle dans la prévention du cancer grâce à leurs activités antioxydants et Antimutagènes, notamment en piégeant les mutagènes dans le tractus gastro-intestinal.
- **Capture du CO₂ par les Micro-algues :** Les micro-algues, qui contiennent de la chlorophylle, sont utilisées pour la capture du dioxyde de carbone (CO₂), un gaz à effet de serre. Cette approche biologique est considérée comme favorable, car, contrairement aux méthodes

chimiques, elle permet non seulement de capter le CO₂, mais aussi de générer de l'énergie via la photosynthèse.

La chlorophylle *a* que la chlorophylle *b*, ainsi que les caroténoïdes, présentent une activité inhibitrice sur la croissance bactérienne (**Mahanomet *al*, 1990**).

CHAPITRE II :

MATERIEL & METHODES

Matériel et méthodes

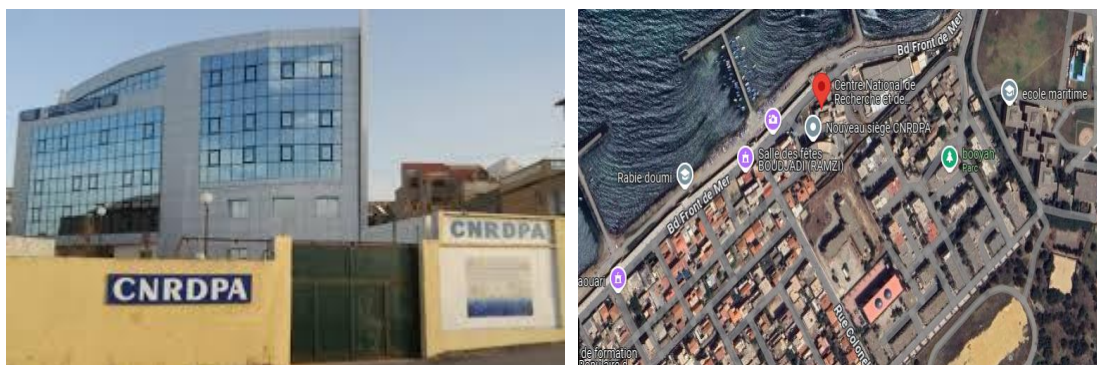
1 La culture de la chlorelle

1.1 Présentation de site de déroulement de la culture de la chlorelle

Le Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture (CNRDPA), situé à Bou-Ismaïl, dans la wilaya de Tipaza (Algérie), est une institution scientifique et technique dédiée à la promotion et au développement durable des secteurs de la pêche et de l'aquaculture en Algérie. Ce centre joue un rôle clé dans la recherche appliquée, l'innovation technologique et la formation dans ces domaines stratégiques pour l'économie nationale. Le CNRDPA a pour mission de contribuer à l'amélioration des performances des secteurs de la pêche et de l'aquaculture à travers la recherche scientifique, le développement technologique et formation et transfert de compétences.

Le centre dispose d'infrastructures modernes et d'équipements spécialisés, notamment :

- **Laboratoires de recherche** : dédiés à l'analyse biologique, chimique et environnementale.
- **Stations expérimentales** : pour tester et développer des techniques aquacoles.
- **Plateformes technologiques** : pour l'innovation dans les domaines de la pêche et de l'aquaculture.
- **Bibliothèque scientifique** : contenant des ressources documentaires spécialisées



FigureII.1 : Localisation de CNRDPA.

1.2 Matériel biologique

1.2.1. Souche micro-algale

La souche de micro-algue utilisée dans cette étude est *Chlorella ellipsoidea*. Cette souche, acquise auprès du CNRDPA, est maintenue en laboratoire depuis 2016 et a été rigoureusement sélectionnée pour sa vitalité et sa pureté avant son utilisation expérimentale.

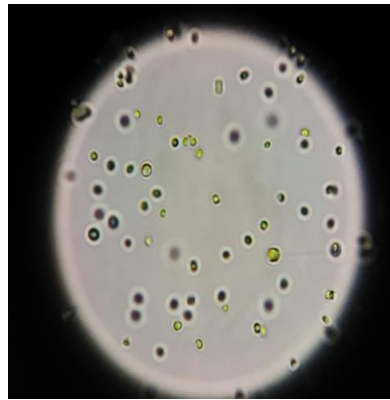


Figure II.2 : Observation de lasoucheutilisée de *Chlorellaellipsoidea* sous microscope optique (BOECO ; Gr.×400).

1.2.2. Le milieu de culture

Le milieu de culture employé est la solution d'enrichissement f/2 de **Guillard (1982)**, une formulation standard largement reconnue pour la culture des micro-algues, comme décrit par **Lavens et Sorgeloos (1996)**. Ce milieu est spécifiquement conçu pour apporter les nutriments essentiels à la croissance algale, incluant l'azote, le phosphore et le silicium sous forme inorganique dissoute, ainsi que des oligo-éléments (métaux traces) et des vitamines (Tableau II.1). Le milieu f/2, développé par **Guillard et Ryther (1982)**, est un milieu de culture standard pour les micro-algues et est composé de quatre solutions stocks pour les chlorophycées. La composition détaillée pour 1 litre d'eau distillée est présentée dans le TableauII.1

Tableau II.1 : Composition de milieu de culture F/2 pour 1 litre d'eau distillé, **Guillard et Ryther (1982)**,

Stocks	Ingrédients	Concentration (g/l)	Volume prélevé (ml)
S1	Nitrate de sodium (NaNO_3).	75	1
S2	Di-hydrogénophosphate de sodium ($\text{Na H}_2 \text{PO}_4$).	5,65	1
S3	Chlorure de fer ($\text{Fe Cl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	3,15	1
	Na_2EDTA	4,16	
	Sulfate de cuivre($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)	0,01	
	$\text{Na}_2 \text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,006	
	Sulfate de zinc ($\text{Zn SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0,022	
	Sulfatées cobalte ($\text{Co Cl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	0,01	
	Chlorures de manganèse ($\text{Mn Cl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	0,18	

S4 (vitamines)	Thiamine HCl (B1)	0,1	1
	Cyanocobalamine (B12)	0,0005	
	Biotine	0,0005	



Figure II.3 : les produits des stocks de base pour la préparation du milieu de culture f/2.

1.3 Méthode de culture

1.3.1 Préparation de l'eau de mer

La préparation de l'eau de mer a été réalisée en plusieurs étapes successives pour assurer sa qualité et sa stérilité:

L'eau de mer brute a d'abord été soumise à une filtration mécanique séquentielle à travers des filtres de différentes porosités, dans le but d'éliminer les macroéléments tels que le sable et les matières organiques. Cette étape a été complétée par une filtration biologique via une exposition aux rayons UV.



Figure II.4 : Systèmes de filtration de l'eau de mer (UV, filtres à sable, filtres à cartouches).

Par la suite, la salinité de l'eau de mer a été ajustée par un volume d'eau douce à une valeur finale de 25 PSU (Practical Salinity Units). La mesure de la salinité a été effectuée à l'aide d'un multiparamètre (Ponsel)(Figure II.5).

Enfin, l'eau de mer ainsi préparée a été chauffée à 70 °C pendant 1 heure en utilisant un thermostat. Après cette phase de stérilisation thermique, la solution a été ramenée à température ambiante pour prévenir tout stress osmotique ou thermique lors de l'ensemencement de la culture micro-algale.



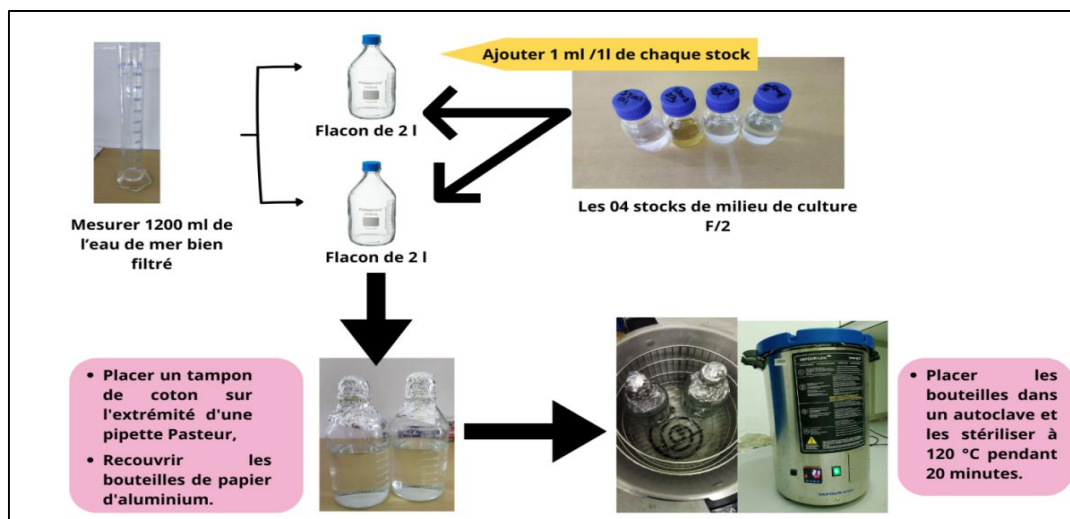
Figure II.5 : Ajustement de la salinité de l'eau de mer.

1.3.2 Préparation du milieu de culture

La préparation du milieu de culture a été effectuée sous des conditions strictes de stérilisation. Tout le matériel a été stérilisé avec l'alcool ou l'eau de javel.

Pour préparer le milieu de culture, deux flacons de 2 l ont été utilisés. Un volume de 1200 ml d'eau de mer a été mesuré précisément en respectant un ratio de (1:3 ou 1:5 du volume final de culture) puis transféré dans chaque flacon. Ensuite, 2 ml de chaque solution stock ont été ajoutés, en suivant le principe de 1 ml de stock par 1 litre de volume final de culture (Figure II.6).

La stérilisation finale du milieu a été assurée en scellant chaque flacon avec un tampon de coton inséré dans une pipette Pasteur et en les recouvrant de papier d'aluminium pour assurer leur stérilisation. Enfin, les flacons ont été autoclavés à 120 °C pendant 20 minutes pour une stérilisation complète.



FigureII.6 : Représentation schématique de la préparation du milieu de culture algale.

1.3.3 Inoculation

Le protocole d'inoculation a été exécuté sous des conditions d'asepsie strictes, au sein d'une hotte à flux laminaire. La surface de travail a été préalablement désinfectée avec de l'alcool à 70%. Les

flacons contenant la culture mère (inoculum) ainsi que les nouveaux flacons de milieu stérile ont été disposés sous la hotte.

Pour chaque transfert, l'aluminium et les tampons de coton ont été retirés, et les goulots des flacons donneurs et receveurs ont été passés à la flamme d'un bec Bunsen pour assurer la stérilité. L'inoculum, d'un volume approximatif de 400 ml, a été transféré rapidement et en un seul geste du flacon donneur vers le nouveau flacon, en veillant à éviter tout contact des goulots ou des surfaces internes des bouchons. Immédiatement après le transfert, le tampon de coton a été replacé sur le flacon donneur, et le goulot du nouveau flacon a été à nouveau passé à la flamme avant d'être scellé.

La date d'inoculation a été apposée sur chaque nouveau flacon à l'aide d'un marqueur indélébile. Cette procédure a été répétée pour l'ensemble des flacons requis sous la hotte. Une fois l'opération terminée, le bec Bunsen a été éteint et la hotte désactivée.

Les flacons inoculés ont ensuite été transférés vers l'incubateur situé dans la salle de culture des microalgues. Les conditions d'incubation ont été maintenues à une température de 22 °C, sous une source d'air filtré et un éclairage d'une intensité lumineuse comprise entre 500 et 1000 lux (pour les volumes de 150 à 2500 ml). Après une période d'incubation de 7 jours, les cultures ont été subcultivées dans des volumes intermédiaires de 5 litres.

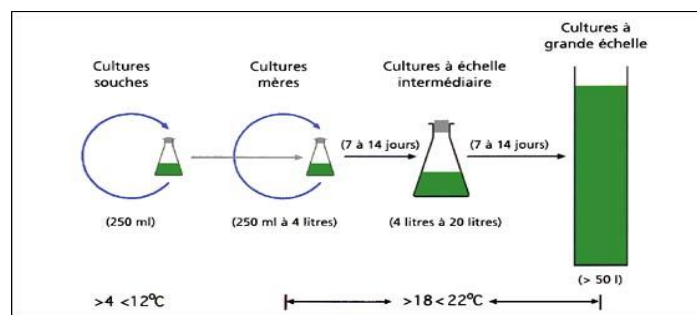


Figure II.7 : Schéma synoptique du processus de production algale (FAO, 1951).

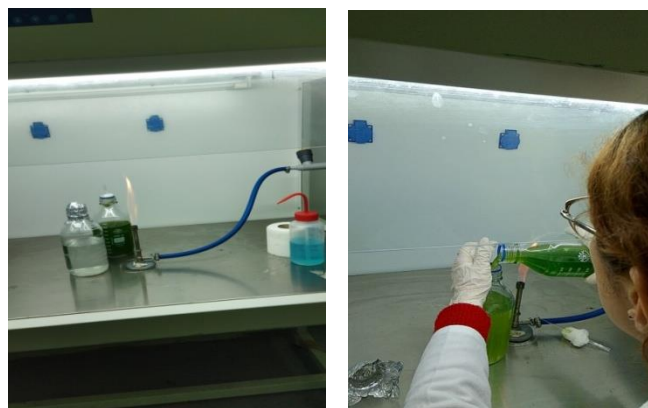


Figure II.8 : Inoculation contrôlée sous la hotte.

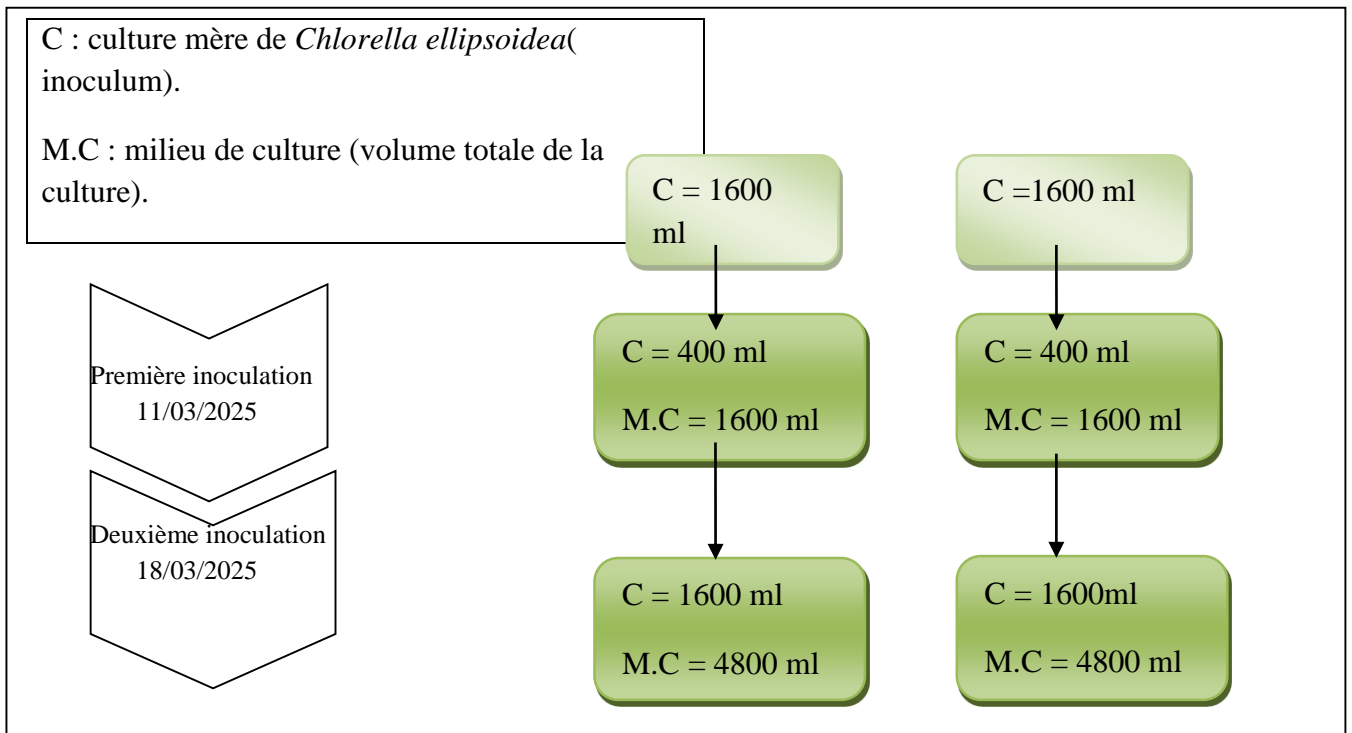


Figure II.9 : Amplification progressive de la culture de *Chlorella ellipsoidea* à travers des inoculations successives.

Selon la Figure II.9, le processus d'ensemencement s'est déroulé en deux phases principales pour l'expansion de la culture :

- *Première inoculation (11/03/2025)*

Deux flacons de culture mère (inoculum, S) d'un volume de 1600 ml chacun ont été utilisés. De chacun de ces flacons, 400 ml d'inoculum ont été transférés dans de nouveaux flacons contenant 1600 ml de milieu de culture (M.C), résultant en deux cultures de 1600 ml chacune (S=400 ml, M.C=1600 ml).



Figure II.10: Première Inoculation (11/03/2025)

- *Deuxième inoculation (18/03/2025)*

Sept jours (7j) après la première inoculation, une expansion supplémentaire a été réalisée. Les cultures de 1600 ml obtenues lors de la première inoculation ont servi d'inoculum ($S=1600$ ml) pour des volumes de culture plus importants. Chaque culture de 1600 ml a été transférée dans de nouveaux réacteurs ou flacons contenant un volume de milieu de culture (M.C) de 4800 ml, portant le volume total de chaque culture à 4800 ml ($S=1600$ ml, M.C=4800 ml). Cette étape vise à augmenter la biomasse algale de manière progressive et contrôlée.

**Figure II.11:** Deuxième Inoculation (18/03/2025).

1.4 Suivi des paramètres de la culture

La culture des micro-algues a été maintenue dans des conditions environnementales contrôlées afin d'optimiser leur croissance. Un régime lumineux continu (24h/24) a été appliqué, fourni par des néons positionnés directement en face des réacteurs de culture pour les deux flacons de cultures. La température ambiante de la salle de culture a été réglée à 22 °C. L'homogénéisation des cultures a été assurée par un système de diffusion d'air, maintenant une vitesse d'agitation moyenne. La salinité a été de 25 PSU. L'approvisionnement en dioxyde de carbone (CO_2), préalablement pressurisé et filtré, a été diffusé en quantité contrôlée dans la salle de culture, avec un pH optimal maintenu à 8,5 pour assurer une croissance stable de la chlorelle.

1.5 Suivi de la Croissance Cellulaire

La cellule de Malassez, inventée par Louis-Charles Malassez, est un type d'hémocytomètre, un dispositif couramment employé pour la quantification des cellules en suspension dans un liquide biologique. Dans le cadre de cette étude, elle est utilisée pour le comptage des cellules de *Chlorella ellipsoidea*. Cet instrument se compose d'une lame de verre spécifique dotée d'un quadrillage gravé avec une précision métrique. Ce quadrillage permet de définir des volumes exacts, facilitant ainsi le dénombrement des cellules au microscope.

1.5.1 Préparation des échantillons

Deux flacons de culture ont été disposés sous une hotte à flux laminaire, en zone stérile, accompagnés de deux béchers destinés au prélèvement des échantillons. Pour optimiser la précision du comptage cellulaire, un facteur de dilution de 10 a été appliqué pour chaque échantillon.

1.5.2 Préparation de la cellule de Malassez

La cellule de Malassez et sa lamelle ont été méticuleusement nettoyées. Un volume de l'échantillon dilué a été prélevé par une micropipette puis déposé sur la chambre de comptage de la cellule de Malassez. La lamelle a été placée délicatement sur la cellule de Malassez pour former une chambre de comptage de volume défini.

1.5.3 Comptage des cellules

Le suivi de la croissance de la culture a été effectué quotidiennement par des observations microscopiques et des dénombrements cellulaires. Ces derniers ont été réalisés à l'aide d'un microscope optique (OPTIKA) et d'un hémocytomètre (cellule de Malassez) ; les comptages étant facilités par un compteur manuel (HAND TALLY COUNTER)(Figure II.12).

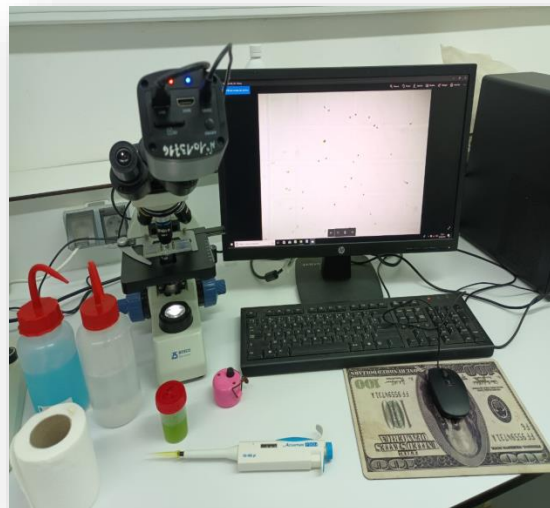


Figure II.12 : Matériel utilisé pour le comptage cellulaire

Le dénombrement des cellules a été effectué à l'aide d'une cellule de Malassez positionnée sous un microscope optique (BOECO), équipé d'objectifs offrant des grossissements de $\times 100$, $\times 400$ et $\times 1000$. La procédure a débuté par l'utilisation d'un objectif à faible grossissement ($\times 100$) pour localiser les cellules dans le champ visuel et s'assurer d'une répartition homogène de l'échantillon. Un objectif à plus fort grossissement ($\times 400$) a ensuite été sélectionné pour procéder au comptage individuel des cellules.

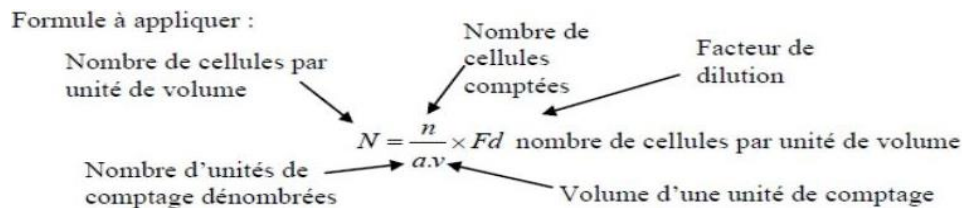
Les cellules ont été dénombrées dans 25 chambres de comptage de Malassez. Pour garantir l'exactitude du comptage et éviter toute double inclusion, une règle stricte a été appliquée : seules les cellules situées sur les lignes de droite et du bas des carrés ont été prises en compte, tandis que celles se trouvant sur les lignes du haut et de gauche ont été systématiquement exclues du

dénombrement. Cette méthodologie standardisée est essentielle pour obtenir une quantification fiable de la densité cellulaire.

- **Calcul de la concentration cellulaire**

Sur Malassez un rectangle ou unité de comptage contient $0,01 \text{ mm}^3$ c'est-à-dire $0,01 \mu\text{L}$ d'échantillon (rappel : $1 \text{ mm}^3 = 1 \mu\text{L} = 1.10^{-3} \text{ mL} = 1.10^{-6} \text{ L}$).

La concentration des chlorelles (cellules /ml) est calculée selon la formule suivante (Lazar,2018) :



- **Taux de croissance**

Le taux de croissance quotidien de la chlorelle a été calculé par la formule :

$$\mu = \frac{\ln(N_t) - \ln(N_0)}{t - (t-1)}$$

N_t = nombre de cellules au temps t

N_0 = nombre de cellules initial (au temps 0)

t = temps (en jours)

\ln = logarithme népérien

2 La récolte

La biomasse de *Chlorella* a été récoltée par la méthode de floculation où un agent floculant (sulfate de fer) de concentration de 12 g/l a été utilisé.

La floculation est un processus crucial pour la récupération de la biomasse algale. Ce phénomène débute par la coagulation, au cours de laquelle les espèces de fer hydrolysées, issues de l'ajout de sulfate de fer, neutralisent les charges de surface des particules algales. Cette déstabilisation électrostatique permet aux particules, auparavant en suspension stable, de s'agglomérer sous l'influence des forces de Van der Waals et de la formation de ponts chimiques. Il en résulte la formation de petits agrégats appelés micro-flocs, qui sont les précurseurs des flocs de plus grande taille

2.1 Préparation de la Solution Floculant

La préparation de la solution floculant a nécessité une pesée précise du sulfate de fer. Conformément à la concentration souhaitée de 12 g/L pour un volume final de 1 l, la masse requise de sulfate de fer a été calculée à 12 g. Cette masse de 12 g de sulfate de fer a été pesée avec précision à l'aide d'une balance analytique (KERN ABJ-NM/ABS-N)



Figure II.13 :Pesée de sulfate de fer par balance analytique(KERN ABJ-NM/ABS-N).

2.2 Préparation de solution de sulfate de fer

La solution de sulfate de fer a été préparée avec précision. Initialement, un volume d'environ 400mL d'eau distillée a été introduit dans un bécher. Les 12 g de sulfate de fer préalablement pesés ont ensuite été ajoutés à ce volume d'eau. La solution a été agitée continuellement à l'aide d'un agitateur magnétique ou d'une tige d'agitation jusqu'à dissolution complète du sel, garantissant ainsi l'homogénéité de la solution. Par la suite, la solution a été transférée quantitativement dans une fiole jaugée de 1 L à l'aide d'un entonnoir pour éviter toute perte de matière. Le volume final a été ajusté avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge de 1 L, assurant ainsi la concentration désirée de 12 g/L.



Figure II.14 : Étapes de préparation de la solution de floculation.

Après dissolution, la solution a été soigneusement mélangée par plusieurs inversions de la fiole jaugée, ou par une agitation adéquate, afin d'assurer une homogénéité parfaite de la concentration du floculant. La solution ainsi préparée a ensuite été transférée dans un flacon propre et dûment étiqueté pour son stockage.

2.3 Paramètres de la floculation (Machado *et al.*, 2024)

Le pH optimal pour le flocculant inorganique (sulfate d'aluminium) et une efficacité de récolte plus élevée de *Chlorella* sp a été déterminé à 9 (Surendhiran *et al.*, 2013 ; Machado *et al.*, 2024).

Tableau II.2 : Paramètres critiques pour l'optimisation de la floculation de la biomasse algale.

pH optimal de culture.	Dosage optimal de flocculant (mg/l)	Temps de mélange rapide (MR)	Temps de dosage de mélange lent (MI) (min)	Temps de sédimentation (min)
9	200	3	15	5-15

- *Méthode opérationnelle defloculation*

La première étape consiste à induire la coagulation des cellules microalgales. Le pH de la culture est ajusté à 9 à l'aide d'une solution de NaOH, créant ainsi des conditions favorables à la floculation. Ensuite, un volume de la solution de sulfate de fer a été ajouté pour obtenir une concentration finale de 200 mg/L. Le mélange est d'abord agité vigoureusement (200 tr/min pendant 3 minutes) pour permettre la formation de floccs stables.



Figure II.15 : L'ajout du flocculant et agitation de la solution par un Agitateur magnétique (Ibx H03D).

3.4 Sédimentation et récupération

La deuxième étape vise à séparer la biomasse du milieu de culture. Après agitation, la solution est laissée au repos pendant 5 à 15 minutes, permettant aux floccs de sédimenter sous l'effet de la gravité (Figure II.16). La biomasse agglomérée est ensuite récupérée soit par décantation du surnageant, soit par collecte directe des floccs déposés au fond du réacteur.



Figure II.16 : sédimentation de la biomasse algale.

3.5 Séparation de la Biomasse par Centrifugation

Une fois que les floccs sont formés, il faut les séparer du milieu de culture liquide. La centrifugation est une méthode efficace pour cela. En faisant tourner la suspension à grande vitesse (200 tr/10min), une force centrifuge importante est générée. Cette force pousse les particules plus lourdes (les floccs de biomasse) vers le fond du tube ou du rotor de la centrifugeuse, tandis que le liquide plus léger (le surnageant) reste au-dessus. Cela permet une séparation rapide et nette de la biomasse concentrée.

2.6 Lavage et Purification de la Biomasse

Après la centrifugation initiale, la biomasse récoltée contient encore des résidus du flocculant utilisé et des sels dissous provenant du milieu de culture. Pour garantir la pureté de la biomasse et éviter toute interférence dans les étapes ultérieures (comme l'extraction de composés), une étape de lavage est nécessaire. La biomasse est mélangée à de l'eau distillée, ce qui dissout les impuretés. Ensuite, une nouvelle centrifugation est effectuée pour séparer la biomasse rincée de l'eau de lavage chargée d'impuretés (**Figure II.17**). Ce processus peut être répété plusieurs fois pour une purification optimale.



Figure II.17 : Récupération et purification de la biomasse algale.

2.7 Séchage de la Biomasse Algale

La biomasse purifiée est encore sous forme de pâte humide. Pour pouvoir la stocker à long terme et la préparer pour des traitements ultérieurs (comme l'extraction de lipides ou de protéines), il est nécessaire de la sécher. Le séchage en étuve (Memmert ; 600) à une température contrôlée 30°C

permet d'éliminer la majeure partie de l'eau contenue dans la biomasse (Figure II.18). Le but est d'atteindre une teneur en humidité inférieure de 10%, qui permet de réduire le risque de dégradation microbienne et de détérioration chimique ; ce qui est essentiel pour maintenir la qualité nutritionnelle et fonctionnelle de la biomasse algale, et pour assurer l'efficacité de l'extraction des composés bioactifs (Kannah et Banu, 2023).



Figure II.18 : Séchage de la patte algale dans l'étuve (Memmert ; 600) à 30°C.

- *Calcul du taux d'humidité de la biomasse algale*

Le taux d'humidité est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité} = [(m_{\text{humide}} - m_{\text{sec}}) / m_{\text{humide}}] \times 100$$

m_{humide} : la masse algale avant séchage.

m_{sec} : la masse algale séchée.

2.8 Stockage de la Biomasse Sèche

Une fois la biomasse séchée à la teneur en humidité désirée, elle doit être stockée dans des conditions appropriées pour maintenir son intégrité et la qualité de ses composants. Un stockage à basse température (4°C) est souvent recommandé pour ralentir les processus de dégradation biologique ou chimique. Cela garantit que la biomasse reste stable et que ses constituants d'intérêt (lipides, protéines, pigments,....) sont préservés jusqu'à leur utilisation pour des analyses ou des extractions.

3 Extraction des pigments Chlorophylliens

L'extraction des pigments chlorophylliens est une étape fondamentale dans de nombreuses études en biologie et biotechnologie, permettant d'isoler ces molécules essentielles à la photosynthèse. Ce processus débute généralement après la récolte de la biomasse végétale ou algale. L'objectif est de libérer et de recueillir les pigments intracellulaires, préparant ainsi leur analyse ou leur valorisation.

3.1 Extraction des Pigments par Ultrasons

L'extraction des pigments par ultrasons est initiée par la mise à température ambiante de la biomasse algale séchée. Ensuite, cette dernière a été dissoute dans l'éthanol à 90% à un ratio de 1:100 (g/ml).

Un échantillon précis de 25g de biomasse algale est pesé par une balance de précision (KERN ABJ-NM/ABS-N) et introduit dans une fiole erlenmeyer avec un bouchon Glassco de 250ml. Ce dernier est ensuite additionné de 250 ml d'éthanol à 90%. Après une agitation douce d'une minute, visant à homogénéiser la suspension, l'extraction est ensuite réalisée par sonication (Figure II.19) dans un bain à ultrasons (200 W et 30 °C pendant 2 heures). À l'issue de cette période, l'extrait pigmentaire est récupéré par centrifugation à 4000 tr/10min, permettant la séparation du surnageant riche en pigments des résidus solides de la biomasse.



Figure II.19 : Pesage et extraction par ultrasons.

3.2 Récupération des pigments

Après le traitement par ultrasons, l'étape suivante consiste à récupérer et à purifier les pigments extraits. Le mélange obtenu est transféré dans un évaporateur rotatif (rotavapeur ; IKA). Cet appareil utilise le vide pour abaisser le point d'ébullition de l'éthanol, permettant ainsi une évaporation douce et à basse température. Cette technique est essentielle pour éviter d'endommager les pigments, qui sont sensibles à la chaleur. L'éthanol s'évapore et est récupéré, laissant un concentré de pigments au fond du ballon (Figure II.20). Pour finir, ces pigments concentrés sont re-dissous dans un volume précis d'éthanol à 90%. Cette étape assure une bonne solubilisation des pigments et prépare la solution pour les analyses ultérieures, comme la spectrophotométrie.



Figure II.20: Récupération des Pigments par rotavapeur (IKA).

3.3 Analyse par Spectrophotométrie

La quantification des pigments extraits a été réalisée par spectrophotométrie UV-Visible, une méthode analytique qui exploite la propriété des composés pigmentaires à absorber la lumière à des longueurs d'onde spécifiques. Pour assurer l'exactitude des mesures, un volume de 1mL de l'extrait pigmentaire a été dilué au vingtième (1/20, v/v) dans de l'éthanol à 90% (Figure II.21). Cette dilution a permis de s'assurer que les valeurs d'absorbance se situaient dans la plage de linéarité du spectrophotomètre (Figure II.22).

Les absorbances ont ensuite été mesurées à des longueurs d'onde caractéristiques de chaque classe de pigments : 664 nm pour la chlorophylle *a* (A_{664}), 649 nm pour la chlorophylle *b* (A_{649}), et 470 nm pour les caroténoïdes (A_{470}).

Les concentrations des pigments (en $\mu\text{g/mL}$ ou mg/L , selon les unités des coefficients) ont été déterminées en appliquant les équations spectrophotométriques établies, qui intègrent les coefficients d'extinction spécifiques de chaque pigment et corrigent les contributions interférant entre eux. Ces équations sont les suivantes :

$$\left\{ \begin{array}{l} \mathbf{Cha} = (13.36A_{664}) - (5.19 A_{649}) \\ \mathbf{Chb} = (27.43A_{649}) - (8.12 A_{664}) \\ \mathbf{Cx+c} = (1000A_{470} - 2.13Ch - a - 97.63Ch - b) / 209 \end{array} \right.$$

Cha : Représente la concentration de la Chlorophylle *a* (en microgrammes par millilitre, $\mu\text{g/ml}$, ou une autre unité de concentration selon les facteurs de conversion utilisés).

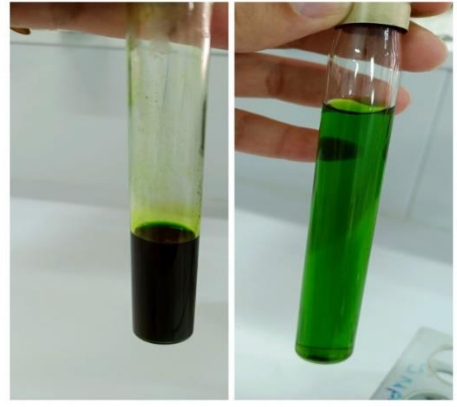
Ch b : Représente la concentration de la Chlorophylle *b* (en $\mu\text{g/ml}$).

Cx+c: Représente la concentration des Caroténoïdes totaux (en $\mu\text{g/ml}$).

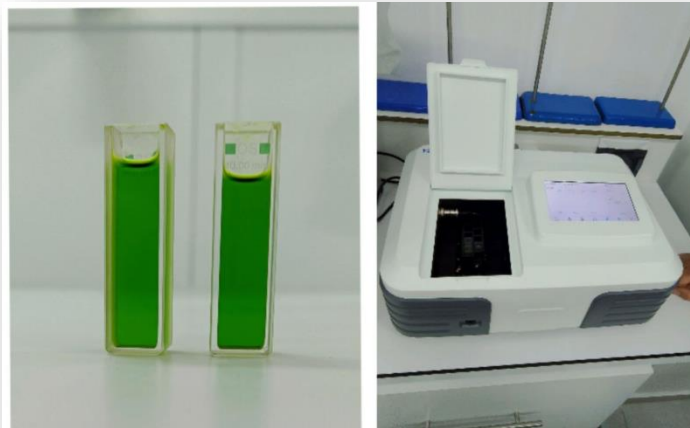
A₆₆₄ : C'est l'Absorbance mesurée à la longueur d'onde de 664 nanomètres (nm). C'est une longueur d'onde où la chlorophylle *a* absorbe fortement.

A₆₄₉ : C'est l'Absorbance mesurée à la longueur d'onde de 649 nanomètres (nm). C'est une longueur d'onde où la chlorophylle *b* absorbe fortement.

A₄₇₀: C'est l'Absorbance mesurée à la longueur d'onde de 470 nanomètres (nm). C'est une longueur d'onde où les caroténoïdes absorbent fortement, mais aussi où les chlorophylles peuvent avoir une certaine absorption.



FigureII.21 : dilution d'extrait de pigment



FigureII.22 : Analyses spectrophotométriques.

CHAPITRE III :

RESULTATS & DISCUSSION

1. Suivi de la croissance de *Chlorella ellipsoidea*

Les résultats de suivi de la culture sont représentés dans la Tableau III.1.

Tableau III.1: Taux de croissance journalier de *Chlorella ellipsoidea*.

Jours	Nombre des cellules ×10 ⁵ (cell/ml)	Ln (N)	Taux de croissance journalier (j ⁻¹)
1	42,2	3,59	/
2	52,0	3,94	0,35
3	66,6	4,17	0,23
4	94,2	4,30	0,13
5	101,8	4,42	0,13
6	131,4	4,75	0,33
7	200,8	5,21	0,46
8	193,2	5,14	-0,04
9	172,0	5,02	-0,12
10	95,8	4,46	-0,56
11	87,6	4,36	-0,09

1.1 Interprétation des résultats

- Phase de latence (jours 0–1)

Durant les premières 24 heures, la croissance est relativement faible et le taux de croissance nul. Cela correspond à la phase de latence. Cette observation est conforme à celle de **Mata et al. (2010)**, qui indiquent un délai d'adaptation de 24 à 48 h pour les souches de *Chlorella vulgaris*. (lumière, nutriments, pH, température, etc.). Les cellules activent leur métabolisme, mais la division cellulaire est encore limitée.

- Phase exponentielle (jours 2–6)

Une augmentation rapide et quasi-linéaire du nombre de cellules est observée de J2 à J6. C'est la phase exponentielle où le taux de croissance est maximal (Tableau III.1), où les cellules se divisent activement à un rythme optimal. Cette phase indique que les conditions environnementales (éclairage, nutriments, agitation, température) sont bien adaptées à la croissance de *Chlorella ellipsoidea*. Le rendement en biomasse est maximal durant cette période. **Converti et al. (2009)** rapportent une croissance similaire sous conditions contrôlées.

- Phase stationnaire (jours 7–9)

À partir du 7^{ème} jour, le rythme de croissance ralentit visiblement (Figure III.1). La courbe commence à se stabiliser autour de 100×10^5 cellules/ml. Cela correspond à la phase stationnaire. **Ugwuet al., (2008)** ont mentionné que la densité cellulaire élevée diminue l'efficacité de la photosynthèse par réduction de la pénétration lumineuse.

- Phase de déclin (jours 9–11)

Une diminution du nombre de cellules de la chlorelle indique le début de la phase de décroissance, traduit par une diminution du taux de croissance à partir du 10^{ème} jour, où les cellules meurent plus vite qu'elles se divisent. Cela peut être causé par l'épuisement complet des nutriments ou une augmentation du stress environnemental et l'accumulation des déchets métaboliques. **Guedes et al. (2011)** ont confirmé ce phénomène dans des cultures prolongées de micro-algues.

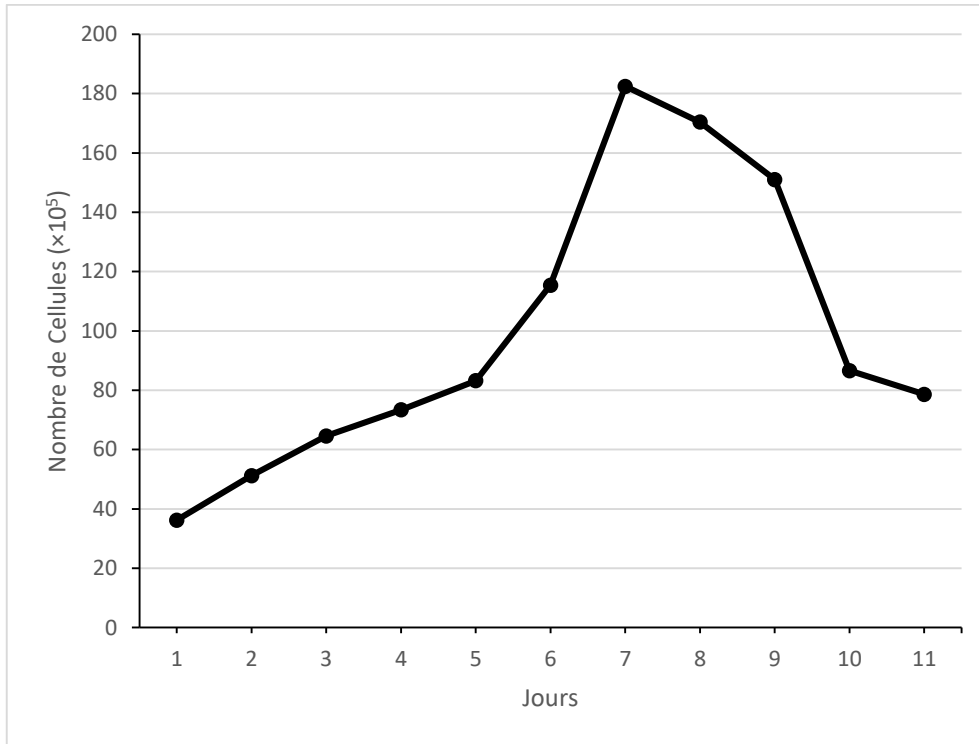


Figure III.1 : Évolution du nombre de cellules de *Chlorella ellipsoidea* durant le cycle de la culture.

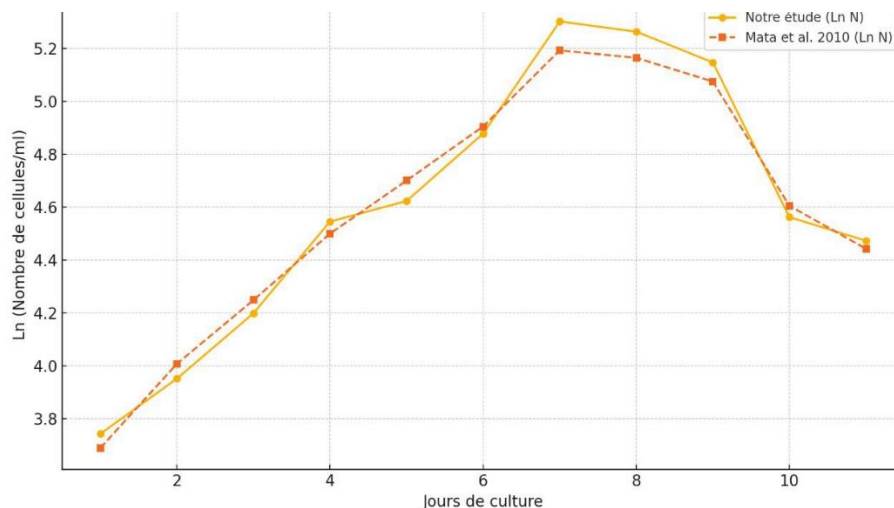


Figure III.2: Résultats comparatives de la croissance de *Chlorella ellipsoidea*.

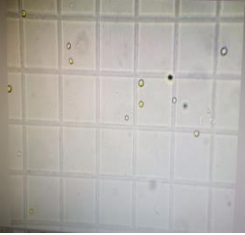
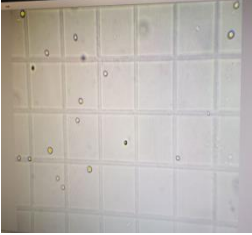


Un test t de Student a été réalisé pour comparer la croissance de *Chlorella ellipsoidea* dans votre étude et celle rapportée par Mata et al. (2010), à partir des valeurs de (log du nombre de cellules).

Test t : 0.0669 ; p-value : 0.947.

La valeur de p très élevée ($p > 0.05$) indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes. Autrement dit, les résultats de votre culture sont statistiquement similaires à ceux de Mata et al. (2010), ce qui valide vos conditions expérimentales.

Le Tableau III.2 résume les observations sous microscope des phases de croissance de la culture de chlorelle, les concentrations des cellules et leur correspondance dans la courbe de croissance.

Tableau III.2 : Observation microscopique des cultures de la chlorelle et leurs interprétations.

	1 ^{er} jour d'ensemencement	3 ^{ème} jour après l'ensemencement	6 ^{ème} jour après l'ensemencement	9 ^{ème} jour après l'ensemencement
Observation microscopique G (x400)				
Interprétation	- Faible concentration de Chlorelle.	- Concentration moyenne de Chlorelle.	- Forte concentration de Chlorelle.	- Très forte concentration de Chlorelle.
Phase de division cellulaire	Phase de latence	Phase de croissance exponentielle	Phase de croissance exponentielle	Phase stationnaire

2. La récolte

- **Méthode de floculation (sulfate de fer)**

La biomasse a été récoltée par floculation à l'aide de sulfate de fer, une méthode couramment utilisée pour les micro-algues du genre *Chlorella ellipsoidea*, en raison de sa simplicité, son coût faible et son efficacité (Vandamme et al., 2013).

La biomasse humide était de 50,15 g, réduite à 25,51 g après séchage, soit une perte d'eau d'environ 49,2 %. Le taux d'humidité calculé était de $7,76 \pm 1,38$ %, ce qui s'accorde aux recommandations relatives au stockage de la biomasse micro-algale ($< 10\%$) afin d'éviter l'oxydation et la dégradation des pigments (Rashid et al., 2019).

3. Analyses spectrophotométriques des pigments extraient

Les résultats de l'analyse spectrophotométrie a été présenté dans le tableau III.

Tableau III. 3:Analyse spectrophotométrique des concentrations des pigments.

Dates d'extractions	Echantillons	Cha	Chb	Caroténoïde
04/05/2025	1	27,15	28,16	4,14
12/05/2025	2	27,48	18,93	6,81
13/05/2025	3	27,17	19,48	6,63
	Moyenne	27,26± 0.18	22,19± 5.17	5,86± 1.49

L'analyse des pigments extraits a révélé des teneurs moyennes en Cha ($27,26 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$), Chb ($22,19 \pm 5,17 \mu\text{g/mL}$) et caroténoïdes ($5,86 \pm 1,49 \mu\text{g/mL}$). Ces valeurs sont cohérentes avec celles rapportées par Li et al. (2011), qui indiquent des concentrations typiques de 25–30 $\mu\text{g/mL}$ pour la cha dans les cultures optimisées de *Chlorellavulgaris*.

La variation observée dans la concentration en Chb pourrait être liée à des différences de l'intensité lumineuse ou à l'âge de la culture au moment de l'échantillonnage, comme indiqué par Markou et Nerantzis (2013). Les caroténoïdes, bien que moins abondants, restent des indicateurs importants de l'état physiologique et du stress oxydatif chez les microalgues.

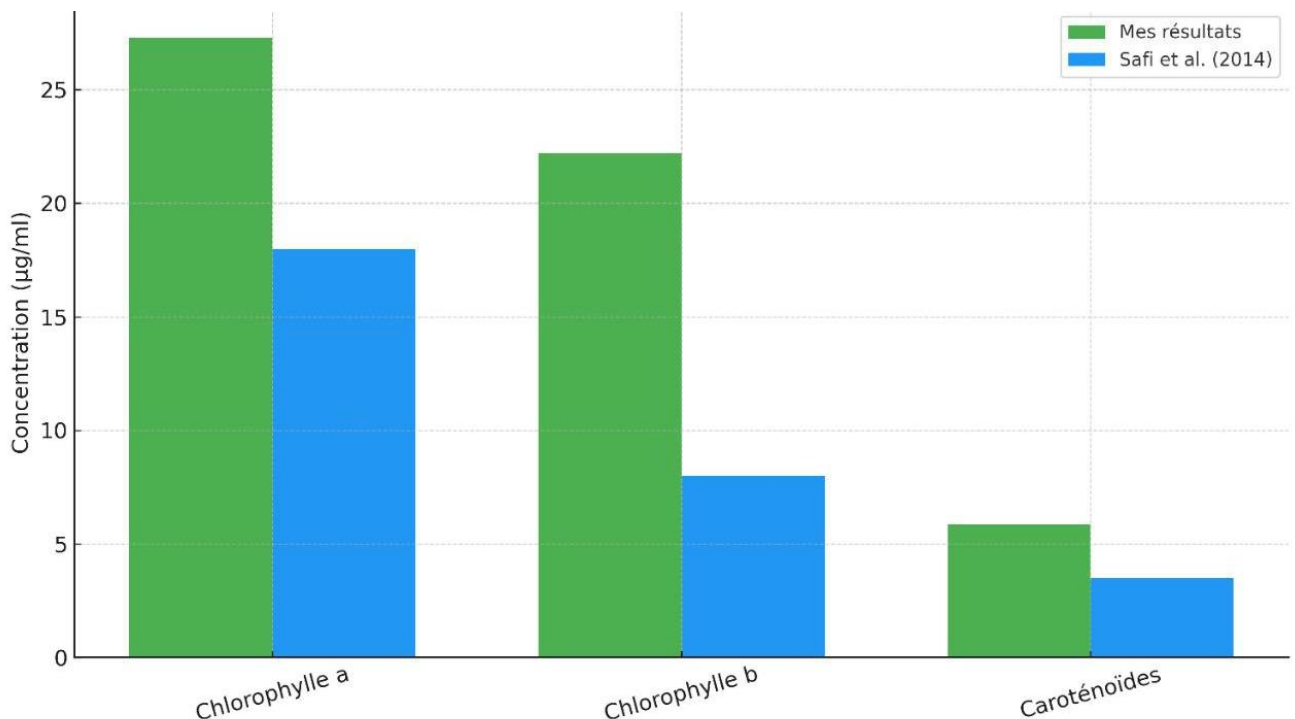


Figure III.3: comparaison ses concentration des pigments.

Analyse statistiques :

Tableau III.2: comparaison des résultats obtenus avec les résultats de *safi et al.*, (2014).

Pigments	Résultats de concentration (µg /ml)	Résultats de <i>safi et al.</i> ,(2014)(µg /ml)
Chlorophylle a	27,26± 0.18	~ 18
Chlorophylle b	22,19± 5.17	~ 8
Caroténoïdes	5,86± 1.49	~ 3,5

Tableau III. 3 : analyse statistique des résultats.

Hypothèse nulle H0 : pas de différence significative entre les moyennes.

Pigment	t- statistique	P- value	Significatif ?
Chlorophylle a	11,54	0 ,0006	Oui
Chlorophylle b	4,46	0,008	Oui
Caroténoïdes	2,33	0,04	Oui

Interprétation : toutes les différences sont significatives au seuil $\alpha = 0,05$

Les concentrations obtenues sont significativement plus élevées que celles rapportées par Safi et al. (2014). La teneur en chlorophylle a est supérieure de 51 %, celle en chlorophylle b près de 2,7 fois plus élevée, et celle en caroténoïdes supérieure de 67 %. Ces différences s'expliquent par l'efficacité accrue de l'extraction par ultrasons (2h, 200 W) et par les conditions de culture optimales.

3.1 Rapport de concentrations de Ch a/Ch b

Le tableau III.4montre les résultats calculés des rapports de concentration de Ch a/ Ch b pour chaque échantillon.

TableauIII.4 : rapports des concentrations *Cha/Chb*

Echantillons	Rapport <i>Cha /Chb</i>
1	1.02
2	1.47
3	1.39

- *Adaptation à la lumière :*

Un rapport plus faible de chlorophylle a/b chez *Chlorella* indique que l'algue est adaptée ou cultivée dans des conditions de faible luminosité. Cela signifie qu'elle produit relativement plus de chlorophylle *b* pour maximiser la capture de lumière dans un environnement où celle-ci est limitée. La chlorophylle *b* agit comme un pigment accessoire, transférant l'énergie lumineuse à la chlorophylle *a* (Falkowski&Raven, 1997).

Dans ce tableau les valeurs faibles indiquent que *Chlorella ellipsoeada* est adaptée à des conditions de faible luminosité, en produisant plus de chlorophylle B pour maximiser la capture de la lumière. Selon Falkowski & Raven en 1997, ceci est expliqué que la chlorophylle B transfère l'énergie lumineuse à la chlorophylle A, comme moyen d'adaptation à un environnement de faible luminosité ou dans des endroits où la lumière fait défaut.

Il est à noter que l'échantillon 1 a été couvert avec un film en aluminium durant les étapes d'extraction, limitant la lumière, alors que les échantillons 2 et 3 n'ont pas été couverts ; ce qui a donné en conséquence des différences entre les rapports de concentrations calculés pour l'échantillon 1 d'un côté et les échantillons 2 et 3 de l'autre côté.

3.2 Rapport de concentration totale de chlorophylle/ concentration de caroténoïde :

Le rapport de chlorophylle a/b est un indicateur clé de l'efficacité photosynthétique et de l'adaptation des microalgues à leur environnement lumineux. La diminution observée dans les valeurs de ce rapport entre l'échantillon 1 et 2, indique une possible transition physiologique de la biomasse, les valeurs élevées étant typiques des cultures jeunes et actives, tandis que les valeurs plus faibles traduisent souvent un début de sénescence ou un stress environnemental selon Safi *et al.* (2014).

Le rapport de concentration totale de ch/ concentration de caroténoïde a été calculée et obtenus les résultats suivantes (tableau III.5)

Tableau III.5 : Le rapport de concentration totale de chlorophylle (chtot)/ concentration de caroténoïde (carot).

Echantillons	Rapport chtot/ carot
1 (04/05/2025)	13,36
2 (12/05/2025)	6,87
3 (13/05/2025)	7,03

Le rapport $\text{chtot} / \text{carot}$, qui passe de 13,36 dans la première série à environ 7 dans les séries suivantes, indique une possible transition physiologique de la biomasse, les valeurs élevées étant typiques des cultures jeunes et actives, tandis que les valeurs plus faibles traduisent souvent un début de sénescence ou un stress environnemental (Safi et al., 2014). Globalement, l'efficacité de l'extraction est confirmée par les concentrations obtenues, et les variations des rapports entre les séries témoignent de l'influence des conditions de culture ou de la maturité cellulaire sur la composition pigmentaire de la *Chlorelle*, ce qui est en accord avec les observations faites dans plusieurs études de référence.

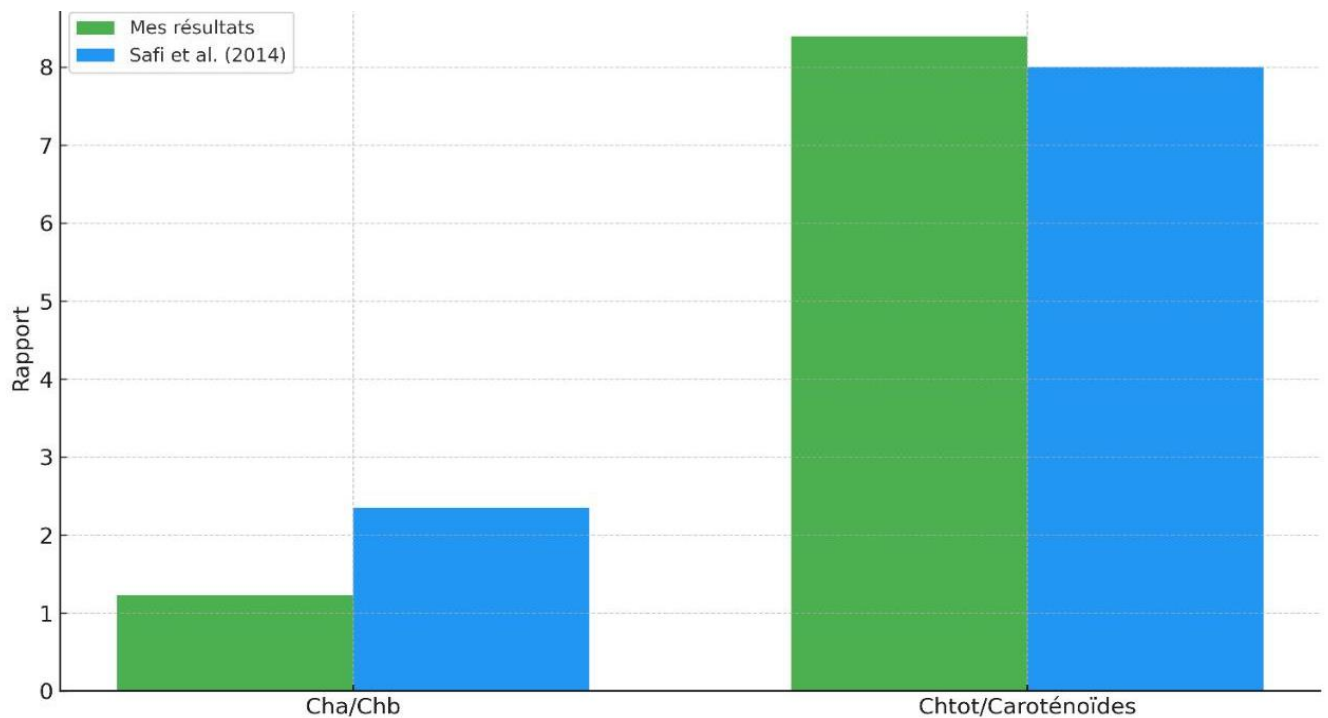


Figure III.4: Comparaison entre les rapports des pigments.

Le rapport Cha/Chb plus bas (1,23 vs 2,35) indique une proportion accrue de chlorophylle b, peut-être liée à l'adaptation au spectre lumineux de culture. En revanche, le rapport $\text{Chtot}/\text{Caroténoïdes}$ est comparable, ce qui montre une stabilité de la proportion relative des caroténoïdes. Ces résultats confirment l'intérêt de la méthode ultrasonique et l'importance du contrôle des paramètres de culture.

L'extraction ultrasonique démontre une efficacité supérieure aux références de la littérature, avec des différences significatives. Le protocole appliqué est donc recommandé pour l'extraction des pigments chlorophylliens de *Chlorella sp.*.

CONCLUSION

Conclusion

Notre étude a porté sur l'optimisation de la culture de la micro-algue *Chlorella ellipsoidea*. Et l'extraction de ses pigments chlorophylliens par ultrasons. Cette approche est motivée par le potentiel significatif des micro-algues en tant que source durable de composés bioactifs pour des applications en aquaculture et dans l'industrie nutraceutique.

La culture de la Chlorelle et l'extraction de chlorophylle par ultrasons ont suscité un intérêt croissant dans le domaine des biotechnologies, en raison de leurs multiples applications potentielles dans les secteurs alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Ce regain d'intérêt se reflète dans les nombreuses études publiées, qui explorent les caractéristiques biologiques, nutritionnelles et technologiques de *Chlorella sp.*

Dans un premier temps, nous avons examiné les aspects biologiques de *Chlorella sp.*, y compris sa cytologie, sa morphologie, sa systématique et son cycle biologique. Cette analyse a révélé une grande plasticité morphologique et une capacité d'adaptation remarquable à des conditions environnementales variées, y compris des milieux hostiles. Ces caractéristiques font de *Chlorella sp.* Une candidate idéale pour des applications industrielles et environnementales.

Les analyses nutritionnelles ont également mis en évidence la richesse de *Chlorella sp.* en nutriments essentiels et en oligoéléments bénéfiques pour la santé humaine et animale. De plus, un aperçu des méthodes de production et de l'évolution de la production mondiale de *Chlorella* montre que, tout comme pour la spiruline, la production peut être artisanale ou industrielle. La production mondiale de *Chlorella* est en constante augmentation, mais elle reste encore limitée dans certaines régions, notamment en Algérie.

Dans le cadre de notre étude, nous avons réalisé une culture à petite échelle de *Chlorella sp.* Dans des conditions contrôlées, afin d'optimiser les paramètres physico-chimiques (température, pH et salinité) et d'éviter les problèmes de contamination. Les résultats obtenus indiquent qu'une gestion adéquate de ces paramètres, combinée à un climat favorable, est essentielle pour assurer une rentabilité optimale de la culture.

Cependant, notre travail demeure préliminaire et il est crucial de poursuivre cette recherche en élargissant le champ des expérimentations. Nous envisageons d'approfondir les études scientifiques et technologiques dans les directions suivantes :

Identification génétique et caractérisation biochimique : Il serait pertinent de mener des études sur la souche algérienne de *Chlorella sp.*, en se concentrant sur son identification génétique, taxonomique et phylogénétique, afin de mieux comprendre ses spécificités et son potentiel.

Optimisation des méthodes d'extraction : L'exploration de différentes techniques d'extraction de chlorophylle, notamment l'extraction par ultrasons, pourrait permettre d'améliorer le rendement et la qualité des pigments extraits, tout en minimisant l'impact environnemental.

Applications en aquaculture : L'utilisation de *Chlorella sp.* Cultivée dans l'aquaculture pourrait être une avenue prometteuse, contribuant à la nutrition des espèces aquatiques tout en favorisant une approche durable.

En somme, la culture de *Chlorella sp* et l'extraction de chlorophylle par ultrasons offrent des perspectives intéressantes pour le développement de solutions durables et innovantes dans divers secteurs. La poursuite de ces recherches pourrait non seulement renforcer la production locale de la chlorelle en Algérie, mais aussi contribuer à la valorisation des ressources algales dans un contexte de durabilité environnementale.

Références bibliographique

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Agren, G. I. (2004). "Role of phosphorus in photosynthesis." *Ecological Modelling*, P178, P.P1-10.

Alcaine, F. (2010). "Phosphatase activity in microalgae." *Journal of Phycology*, 46(2), P.P. 123-130.

Anex, R. P. (2012). "Filtration methods for microalgal biomass recovery." *Biotechnology Advances*, 30(5), P.P. 1234-1240.

Anonyme I. (2012). Spiruline et chlorelle, points communs et différences par Natesis.

Anonyme II. (2012). FLAMANT VERT, - Mentions légales - Réalisation CH1.2p.BOURGES.

Anonyme III. (2012). Centre de promotion et d'études en santé naturelle, une corporation sans but lucratif accueil.

Asfour, M. (2010). "Salinity tolerance in marine microalgae." *Marine Biology Research*, 6(3), P.P.215-223.

Audineau, C., Leclerc, J., & Martin, P. (1986). "Optimisation de l'éclairage pour la culture de microalgues." *Revue de Biotechnologie*, 5(2), P.P. 45-50.

Barbosa, M. J., Janssen, M., Ham, N., & Wijffels, R. H. (2003). "Photo-inhibition in microalgae cultures: implications for productivity." *Biotechnology and Bioengineering*, 81(4), P.P.415-424.

Becker, E. W. (1994). *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*, London: Cambridge University Press.

Becker, E.W. (2007). *Microalgae in human and animal nutrition*, London: Springer.

Becerra-Celis, J., & Olivo, M. (2009). "Improved open systems for microalgal cultivation." *Journal of Applied Phycology*, 21(3), P.P.345-356.

Becerra-Celis, J., & Olivo, M. (2009). "Iron as a catalyst in chlorophyll synthesis." *Biotechnology Advances*, 27(4), P.P.456-467.

Ben Nasr, Anis. (2013). Performances des procédés physico-chimiques et membranaires pour l'élimination des ions fluorure dans les eaux de forage : application aux eaux tunisiennes. P15.

Bérnabé, J., & Martin, P. (1989). "Hypohaline conditions for microalgal growth." *Aquaculture Research*, P.20(2), P.P.123-130.

- BERNARD, C. (2014).** Les cyanobactéries et leurs toxines. Revue Francophone des Laboratoires, 2014(460), P.P. 53-68.
- Bito, T., et al. (2020).** Potential of Chlorella as dietary supplement. *Nutrients*, 12(9), P.2524.
- Blanc G, Duncan G, Agarkova I, Borodovsky M, Gurnon J, Kuo A. (2010).** The Chlorella variabilis NC64A Genome Reveals Adaptation to Photosymbiosis, Coevolution with Viruses, and Cryptic Sex. *Plant Cell*, 22(9): P.P.2943-55.
- Boileau, Marie-Ève. (2015).** "Évaluation du potentiel d'utilisation d'une eau usée industrielle comme substrat de culture pour des microalgues d'eau douce dans une optique de production de biocarburants de 3e génération."
- Borowitzka, M. A. (1988).** *Microalgal Biotechnology*, London: Cambridge University Press.
- Cadoret, J. P., & Bernard, O. (2008).** "CO₂ consumption in microalgal biomass production." *Biotechnology and Bioengineering*, 99(4), P.P.856-863.
- CAILLAT, Philippe. (2009).** CHLORELLA An invaluable resource, a great potential in Nutrition & Health-Did you expect that? Chlorella by ALGOMED, a fountain of benefits for your future products, 9635PublireactionnelchlorellaDEF.
- Cambayrac, Françoise. (2008).** Vérités sur les maladies émergentes, Embourg, Marco Pietteur, coll. « Résurgence », 416 p.
- Cantin I. (2010).** La production biodiesel à partir des Microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe. Mémoire de maître en environnement. Canada : Université de Sherbrooke. 87p.
- Cantin, Isabelle. (2010).** La production de biodiesel à partir des microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe. CENTRE UNIVERSITAIRE DE FORMATION EN ENVIRONNEMENT, UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE. Québec:s.n.
- Caporgno, M.P., & Mathys, A. (2018).** Trends in microalgae incorporation. *Frontiers in Nutrition*, P.5, P.58.
- Chen, Y.C.; Chen, Q.S.; Fan, X.D. (2016).** Optofluidic chlorophyll lasers. *Lab Chip*, P.16, P.P.2228–2235.
- Chisti, Y. (2007).** "Photolimitation and photoinhibition in microalgal cultures." *Biotechnology Advances*, 25(2), P.P. 294-306.
- Converti, A., Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P., & Del Borghi, M. (2009).** Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(6), P.P.1146–1151.
- Deschenes, J., & Pruvost, J. (2009).** "Technological evaluation of microalgal systems." *Journal of Applied Phycology*, 21(4), P.P. 567-574.
- Falkowski P.G., Raven J.A. (1997).** *Aquatic Photosynthesis*. Blackwell Science.

- Fermentatlg (2013).** "Fermenters for Omega-3 production from microalgae." *Biotechnology Advances*, 31(3), P.P. 1234-1245.
- Fillali, A., & Livansky, K. (2012).** "Impact of salinity on lipid production in microalgae." *Journal of Applied Phycology*, 24(4), P.P.567-574.
- FOX, D. (1999).** *Spiruline : technique pratique et promesse.* Aix en Provence : Edi. Sud, p 246.
- GEPEA Laboratory (2012).** "Solar photobioreactors for microalgal cultivation." *Journal of Applied Phycology*, 24(4), P.P.567-578.
- Girardin-Andreani C. (2005).** *Spiruline : système sanguin, système immunitaire et cancer.* *Phytothérapie*, 4: P.P.158-161.
- Grobbelaar, J. U. (2000).** "Agitation in microalgal cultures." *Journal of Applied Phycology*, 12(3-5), P.P.395-401.
- Groobelaar, J. U., & Richmond, A. (1994).** "Light and nutrient gradients in microalgal cultures." *Journal of Applied Phycology*, P6(3), P.P.225-234.
- Guérin-Dumartrait E. (1968).** Étude, en cryodécapage, de la morphologie des surfaces lamellaires chloroplastiques de *Chlorella pyrenoidosa*, en cultures synchrones. *Planta*, 80(1):P.P. 96-109.
- Guedes, A. C., Amaro, H. M., & Malcata, F. X. (2011).** Microalgae as sources of high added-value compounds—a brief review of recent work. *Biotechnology Progress*, 27(3), P.P.597–613.
- Hagino et al. (1967).** *Japan Journal of Hygiène Health Journal*, no 5 décembre, 30 (1)77 April 755.
- Harris, G. P. (1988).** *Phytoplankton Ecology: Structure, Function and Fluctuation.* Springer-Verlag.
- Herrin, D.L.; Battey, J.F.; Greer, K.; Schmidt, W.T. (1992).** Regulation of chlorophyll apoprotein expression and accumulation. Requirements for carotenoids and chlorophyll. *J. Biol. Chem.*, P267, P.P. 8260–8269.
- Ifremer Laboratory (2012).** "Cylindrical photobioreactors for microalgal cultivation." *Journal of Applied Phycology*, P.24(5), P.P.567-578.
- Khettab Zakaria, ToumiFatna. (2019).** Contribution à la production de microalgues riche en lipides isolées de la région d'Oued Righ. Mémoire de fin d'étude Biochimie Appliqué Université EchahidHamma Lakhdar -El OUED P.59.
- Kouril, R.; Zygadlo, A.; Arteni, A.A.; de Wit, C.D.; Dekker, J.P.; Jensen, P.E.; Scheller, H.V.; Boekema, E.J. (2005).** Structural characterization of a complex of photosystem I and light-harvesting complex II of *Arabidopsis thaliana*. *Biochemistry*, P. 44, P.P. 10935–10940.

- Krienitz L.; Hegewald E.H.; Hepperle D.; Huss V.A.R.; Rohr T. & Wolf M. (2004).** Phylogenetic relationship of *Chlorella* and *Parachlorella* gen. nov. (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Phycologia*, 43: P.P.529-542.
- Kumar, K., Singh, R., & Sharma, P. (2010).** "Temperature effects on microalgal growth and photosynthesis." *Journal of Applied Phycology*, P. 22(5), P.P.545-558.
- Lee Y. K. (2001).** Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. *Journal of Applied Phycology*, Springer Netherlands, 13. P.P. 307 – 315.
- Lee Y. K. (2004).** Algal Nutrition – Heterotrophic Carbon Nutrition. in: *Handbook of Microalgal Culture*, Blackwell Publishing Ltd, p.p. 116-124.
- Li, H., & Chen, F. (2015).** Chlorophyll metabolism and photosynthesis. *Functional Plant Biology*, 42(6), P.P. 493–501.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C. Q., & Dubois-Calero, N. (2011).** Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*, P. 24(4), P.P. 815–820.
- Livansky, K. (1990).** "Carbon dynamics in microalgal cultures." *Biotechnology Advances*, P. 8(3), P.P.245-256.
- Livansky, K., & Doucha, J. (1996).** "Carbon fixation in microalgae." *Journal of Applied Phycology*, P. 8(1), P.P. 45-50.
- Lucchetti, G., & Martin, P. (2015).** "Impact of temperature on CO₂ fixation in microalgae." *Environmental Science and Technology*, P. 49(3), P.P.1234-1240.
- Lü, J., Sheahan, C. et al. (2011).** Metabolic engineering of algae for fourth generation biofuels production. *Energy and Environmental Science*, vol.4, n°7, P.159.
- Macedo M.F., Miller A.Z., Dionísio A., Saiz-Jimenez C. (2009).** Biodiversity of cyanobacteria and green algae on monuments in the Mediterranean Basin: an overview. *Microbiology (Reading, England)*, 155(Pt 11), P.P. 3476–90.
- Machado, C.A.; Esteves,A.F.; Pires, J.C.M. (2024)** *Chlorella vulgaris* Harvesting: Chemical Flocculation with Chitosan, Aluminum Sulfate, and Ferric Sulfate. *Appl. Sci.* **2024**, *14*,598. <https://doi.org/10.3390/app1402059>.
- Markou, G., & Nerantzis, E. (2013).** Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances*, P. 31(8), P.P. 1532–1542.
- MARTÍNEZ F, ASCASO C, ORÚS MI. (1991).** Morphometric and Stereologic Analysis of *Chlorella vulgaris* Under Heterotrophic Growth Conditions. *Ann Bot.*P. 67(3).P.P. 239-45.
- Masojidek, J., Torzillo, G., & Bernard, O. (2004).** "Photosynthetic activity in microalgae: effects of light intensity." *Photosynthesis Research*, P. 82(2),P.P. 221-229.

Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, P.14(1), P.P.217–232.

Maziliak, P., & Agren, G. I. (1998). "Phosphorus metabolism in microalgae." *Plant Physiology*, P. 118(3), P.P.123-130.

Merchant, ER, Rice, CD et al. (1990). Dietary *Chlorella pyrenoidosa* for patients with malignant glioma *Phytotherapy Research -Medical* Vol. 4 No. 6.

Mollo, Pierre, and Anne Noury. (2013). *Le Manuel du plancton*. Vol. 195. ECLM.

Mujtaba, G., Lee, K., & Lee, D. H. (2012). Effects of light intensity and wavelength on biomass growth and fatty acid profile of microalga *Chlorella vulgaris*. *Biomass and Bioenergy*, P. 39, P.P.336–342.

Olivo, M., & Becerra-Celis, J. (2007). "Photobioreactor systems for microalgal cultivation." *Biotechnology Advances*, P. 25(3), P.P.456-467.

Person, B., & Richmond, A. (2010). "Oxygen management in photobioreactors." *Journal of Applied Phycology*, P.22(5), P.P.567-578.

Pierre jean. (2005). *Amicalement. Polyradiculonévrite Chronique*.

Pruvost, J., Deschenes, J., & Richmond, A. (2011). "Open pond systems for microalgal cultivation." *Biotechnology Advances*, P. 29(6), P.P.1234-1245.

Rashid, N., Rehman, M. S. U., Sajjad, M., & Han, J. I. (2019). A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, P.129.

Richmond, A. (1999). "Principles for optimizing the productivity of photobioreactors." *Biomolecular Engineering*, P. 20(4-6), P.P.183-192.

Richmond, A. (2004). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blackwell Publishing.

Richmond, A., & Hu, Q. (2008). "Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology." Blackwell Publishing.

Saarbrucken. (2011). *BIO Chlorella*, Biologische Nahrungsergänzung & Heilmittel GmbH, Edition Nature land et BIO GSE Vertrieb GmbH vertrieb, 2p.

Sadi, M., & Richmond, A. (2012). "Harvesting techniques for microalgae." *Journal of Applied Phycology*, 24(6), 1235-1245.

Safi C, Zebib B, Merah O, Pontalier PY, Vaca-Garcia C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renew Sustain Energy Rev*. P.P. 78-265.

- Sanders, C.A.; Rodriguez, M.; Greenbaum, E. (2001).** Stand-off tissue-based biosensors for the detection of chemical warfare agents using photosynthetic fluorescence induction. *Biosens. Bioelectron.*, P.16, P.P.439–446.
- Sharma Naveen Kumar, Rai A.K., Singh S., Brown R.M. (2007).** Airborn algae: their present status and relevance. *Journal of Phycology*, 43(4), 615–627.
- Smith, V. H., & Richmond, A. (2000).** "Effects of light intensity on algal growth and photosynthesis." *Journal of Phycology*, P. 36(3), P.P.1-10.
- Solar Biofuels Research Centre (2012).** "Tubular photobioreactors for microalgal cultivation." *Biotechnology Advances*, P. 30(4), P.P.1234-1245.
- Surendhiran, D.; Vijay, M. Study on flocculation efficiency for harvesting *Nannochloropsis oculata* for biodiesel production. *Int. J. ChemTech. Res.* 2013, P.5, P.P.1761–1769.**
- Takechi, Y, Merchant ER, Rice CD et al. (1990).** Dietary *Chlorella pyrenoidosa* for patients with malignant glioma, MD6. *Phytotherapy Research/Medical* Vol. 4 No 6.
- Terziev, Planski, Vet Med Nauki. (1983).** Use of non-specific agents ...in bronchopneumonia prevention. 20(1):364.
- Todisco, S., & Richmond, A. (2019).** "Optimal growth temperature for *Chlorella vulgaris*." *Journal of Phycology*, 55(1), P.P. 45-50.
- Troen AM, Shea-Budgell M, Shukitt-Hale B, Smith DE, Selhub J, Rosenberg IH. (2008).** "B-vitamin deficiency causes hyperhomocysteinemia and vascular cognitive impairment in mice". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, P.105 (34): P.P.12474-12479.
- Ugwu, C. U., Aoyagi, H., & Uchiyama, H. (2008).** Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*, P. 99(10), P.P.4021–4028.
- Valera, M., Richmond, A., & Hu, Q. (2011).** "Iron deficiency effects on microalgal metabolism." *Journal of Applied Phycology*, P. 23(3), P.P. 345-356.
- Vandamme, D., Foubert, I., & Muylaert, K. (2013).** Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. *Trends in Biotechnology*, P.31(4), P.P. 233–239.
- Varshney, P., Richmond, A., & Hu, Q. (2015).** "Temperature adaptation in microalgae: psychrophiles and thermophiles." *Algal Research*, P.10, P.P.1-10.
- Vogiatzoglou A. , H. Refsum, C. Johnston, S. M. Smith, K. M. Bradley, C. de Jager, M. M. Budge, A. D. Smith. (2008).** "Vitamin B12 status and rate of brain volume loss in community-dwelling elderly". *University of Oxford study* Volume 71, P.P. 826-832.
- Wang, B., Richmond, A., & Hu, Q. (2008).** "Phosphorus limitation and lipid accumulation in microalgae." *Journal of Applied Phycology*, P. 20(4), P.P. 571-577.

Annexe

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
المدرسة الوطنية العليا لعلوم البحر وتهيئة الساحل
Ecole Nationale Supérieure des Sciences de la Mer et de l'Aménagement du Littoral



Attestation de participation

Cette attestation est dévirée à

Mme HEMAISSIA Oumaima

A participé à la conférence intitulée « Interactions anthropiques avec la mer et le littoral :
Perspectives scientifiques et stratégiques » CIAMEL 2025 » qui a eu lieu à l'ENSSMAL le 28 mai
2025 par une communication orale intitulée :

« Culture de *Chlorella sp.* et extraction des pigments chlorophylliens par ultrasons. »

Co-auteurs: AISSA R., AIT SAIDI A., SEFFAG A.

Alger, le 28 mai 2025



Directrice de l'ENSSMAL

Carte d'information**Thème:**

Fabrication d'une crème de visage a base de chlorelle.

1. Equipe d'encadrement

Équipe d'encadrement	
Encadrant principal: M Ait Saidi Adel	Spécialité: Aquaculture
Co-encadrant01: Mme Seffah Amina	Spécialité: Docteur vétérinaire
Co-encadrant 02: M Hennan Elhadi	Spécialité:

2. Équipe de projet :

Étudiant	Faculté	option
Aissa Rayene	ENSSMAL	Aquaculture
Hemaissia Oumaima	ENSSMAL	Aquaculture

Table des matières

INTRODUCTION.....	3
Premier axe : Présentation du projet	4
1. L'idée de projet (la solution proposée)	4
2. Les Valeurs suggérées.....	4
3. L'équipe.....	4
4. Les Objectifs du projet.....	4
5. Le planning de réalisation du projet.....	4
Deuxième axe : Aspects innovants.....	5
1. La nature des innovations.....	5
2. Les domaines d'innovation.....	5
Troisième axe : Analyse stratégique du marché	6
1. Le segment du marché.....	6
2. La mesure de l'intensité de la concurrence.....	6
3. La stratégie marketing	6
Quatrième axe : Plan de production et organisation.....	7
1. Le processus de production.....	7
2. L'approvisionnement.....	7
3. La main d'œuvre.....	8
4. Les principaux partenaires.....	8
Cinquième axe : Plan financier.....	9
1. Les coûts et les charges.....	9
2. Le chiffre d'affaires.....	9
3. Les comptes de résultats escomptés.....	10
4. Le plan de trésorerie.....	10
Sixième axe : Prototype expérimental.....	10

INTRODUCTION

L'univers de la cosmétique est en pleine effervescence. Partout dans le monde, on assiste à une quête grandissante de solutions beauté plus naturelles, plus efficaces et surtout, plus respectueuses de notre planète. Fini le temps des formules complexes et des ingrédients obscurs ! Aujourd'hui, les consommateurs veulent de la transparence et des produits qui répondent à leurs valeurs.

C'est dans ce contexte de transformation que les biotechnologies marines émergent comme une source d'innovation inépuisable. Leurs trésors, cachés au cœur des océans, offrent des possibilités fascinantes pour une beauté saine et durable. Forts de cette prise de conscience et animés par le désir de valoriser les richesses de notre environnement, nous avons initié un projet audacieux : le développement d'une crème de visage régénérante d'un nouveau genre.

Notre secret c'est un ingrédient d'exception issu de la nature algérienne : l'extrait de *Chlorella ellipsoidea*. Cette micro-algue, véritable concentré de bienfaits, est la promesse d'une peau revitalisée, protégée et éclatante, marquant ainsi le début d'une nouvelle approche de la beauté, où l'efficacité rime avec la naturalité.

Premier axe : Présentation du projet

1. L'idée du projet :

L'idée de ce projet a émergé en réponse à une demande forte pour des solutions de soin de la peau plus efficaces et sûres face aux défis comme l'acné ou les rides. Nous avons vu une opportunité de créer mieux que ce qui existe déjà.

Notre cible principale ? Les consommateurs algériens engagés, à la recherche de soins du visage naturels, hydratants et protecteurs. Nous nous adressons spécifiquement à ceux attirés par les ingrédients marins, l'anti-âge et la Clean beauty

2. Les valeurs suggérées :

Innovation Naturelle : Création de produits cosmétiques novateurs basés sur des ingrédients naturels comme la *Chlorella* et des biotechnologies avancées.

Respect de l'Environnement : Engagement pour une production durable, des emballages écoresponsables et une minimisation de l'empreinte écologique.

Soutien à l'Économie Locale : Contribution au développement national par la production locale et la préférence pour les partenariats algériens.

3. L'équipe :

- Aissa Rayene (Ingénieur en Sciences de la mer et Aquaculture, 25 ans, gérante de projet).
- Hemaissia Oumaima (Ingénieur en Sciences de la mer et Aquaculture, 23 ans, cogérante).

4. Les objectifs du projet :

- Concevoir et commercialiser un produit de soin pour la peau hautement qualitatif et efficace, spécifiquement formulé pour résoudre diverses problématiques cutanées.
- Fabriquer une crème 100 % naturelle innovante, ayant la *Chlorella* comme ingrédient principal.
- Positionner un produit 'Made in Algeria' sur le marché, valorisant ainsi notre savoir-faire local.
- Mettre en place une unité pilote de production pour lancer nos opérations.
- Atteindre une production de 1 000 unités par mois dès la première année d'activité

5. Le planning de réalisation :

	1	2	3	4	5	6	7
Études préalables : choix de l'implantation de l'unité de production, préparation des documents nécessaires	✓	✓					
Commande des équipements		✓	✓				
Construction d'un siège de production (usine)		✓	✓	✓			
Installation des équipements				✓	✓		
Achat de matières premières					✓		
Réalisation du prototype						✓	✓

Deuxième axe : Aspects innovants

1. Nature des innovations :

Les propositions pour la nature des innovations adoptées dans le projet de crème de visage pour différents problèmes de peau sont les suivantes :

1.1. Nouveaux ingrédients actifs : Utilisation d'ingrédients actifs innovants et de qualité supérieure, qui offrent des avantages thérapeutiques uniques pour résoudre efficacement les problèmes de peau spécifiques.

1.2. Technologie de formulation avancée : Développement d'une formulation de crème innovante, basée sur des recherches scientifiques approfondies, qui maximise l'efficacité des ingrédients actifs et favorise une absorption optimale par la peau.

1.3. Méthodes de fabrication novatrices : Mise en place de processus de fabrication modernes et efficaces, utilisant des techniques innovantes pour garantir la stabilité, la pureté et la qualité de la crème thérapeutique.

2. Domaines d'innovation :

Dans le projet de fabrication d'une crème thérapeutique pour différents problèmes de peau, les domaines d'innovation envisageables sont les suivants :

➤ **2.1. Nouveaux processus:**

Mise en place de processus de fabrication plus efficaces et rentables pour augmenter l'efficacité des opérations, réduire les coûts de production et optimiser la qualité de la crème thérapeutique.

➤ **2.2. Nouvelles fonctionnalités:**

Intégration de nouvelles fonctionnalités dans la crème thérapeutique pour offrir des produits améliorés, tels que des propriétés hydratantes supplémentaires, une protection solaire intégrée ou des capacités anti-âge.

2.3 Nouveaux clients : Femmes soucieuses de cosmétiques naturels premium

2.4 Nouvelles offres : Premier produit cosmétique algérien aux microalgues

2.5 Nouveau modèle : Production locale de matières premières cosmétiques

Troisième axe : Analyse stratégique du marché

1.Segment du marché:

Segment du marché Dans le projet de fabrication d'une crème de visage à base de la chlorelle pour différents problèmes de peau, le segment du marché est défini comme suit :

- **Le marché potentiel :**

Le marché potentiel pour la crème de visage comprend des individus de tous âges et sexes ayant des problèmes de peau spécifiques, tels que l'acné, les irritations, les rougeurs, la sécheresse, ou les signes de vieillissement cutané. Ces personnes sont susceptibles de rechercher des solutions efficaces et innovantes pour améliorer leur santé et leur apparence de la peau. Le marché potentiel s'étend à une large gamme de consommateurs dans différents lieux géographiques, notamment dans les zones urbaines et les zones rurales.

- **Le marché cible (le segment) :**

Le marché cible pour la crème de visage comprend principalement des adultes de 18 à 50 ans, qui sont préoccupés par leur peau et recherchent des produits de haute qualité et efficaces. Ce segment inclut également des personnes ayant une peau sensible, des problèmes dermatologiques spécifiques ou des besoins de soins ciblés. Le projet vise également à attirer des professionnels de la santé tels que les dermatologues et les esthéticiennes qui peuvent

recommander la crème de visage à leurs patients ou clients. Particulièrement celles intéressées par les bienfaits des ingrédients marins et les produits anti-âges ou "clean beauty".

Cible secondaire : Spas, salons de beauté et dermatologues souhaitant intégrer des produits innovants et naturels dans leurs offres.

Pourquoi ce marché :

- Pouvoir d'achat suffisant (1 500 DA acceptable)
- Sensibilité aux produits naturels
- Recherche d'alternatives aux marques importées

2. Intensité de la concurrence

L'intensité de la concurrence désigne le niveau de rivalité entre les entreprises opérant dans un même secteur d'activité ou marché. Elle reflète à quel point les entreprises se disputent les parts de marché, les clients, ou les ressources disponibles.

Dans le cadre du projet de fabrication d'une crème de visage pour différents problèmes de peau, voici l'analyse de l'intensité de la concurrence :

a) Concurrents directs: Acteurs du Soin Visage Spécifique

Les concurrents directs sont les entreprises qui proposent des produits similaires ou comparables à notre crème hydratante à base de *Chlorella*, ciblant les mêmes problèmes de peau (acné, irritations, sécheresse, vieillissement) et le même segment de consommateurs. Ils répondent directement au besoin d'une crème de soin pour le visage avec des allégations et des bénéfices similaires.

- **Professionnels Locaux de la Cosmétique :** Ces marques sont nos concurrents les plus proches sur le marché algérien. Elles proposent une gamme de crèmes et de soins pour le visage, capitalisant sur leur connaissance du marché local et leur réseau de distribution. On y retrouve des noms tels que Bio Derma, Khadija Cosmétiques, Abusaad, Chaline, Minas, et Valeria. Leur avantage réside souvent dans leur accessibilité et leur adaptation aux spécificités du consommateur algérien.

Forces: Connaissance approfondie du marché local, Accessibilité et adaptation locale, réseaux de distribution locaux établis, prix compétitifs.

Faiblesses: Moins de notoriété, budgets marketing limités, R&D potentiellement moins avancée.

- **Professionnels Étrangers :** Il s'agit de marques internationales bien établies qui possèdent une part de marché significative en Algérie grâce à leur notoriété, leurs budgets marketing importants et leurs réseaux de distribution étendus. Bien que leurs gammes ne soient pas toujours axées sur les ingrédients marins ou la *Chlorella* spécifiquement, des géants comme Nivea, Garnier et L'Oréal offrent une vaste panoplie de crèmes hydratantes et anti-âge qui se positionnent comme des alternatives directes. Leur forte présence représente un défi en termes de visibilité et de pénétration du marché.

Forces: Notoriété internationale, budgets marketing massifs, vastes réseaux de distribution, crédibilité perçue, gamme de produits étendue.

Faiblesses: Moins spécifique au marché local, prix potentiellement plus élevés, moins d'agilité pour les tendances locales.

b) Concurrents indirects :

Les concurrents indirects sont les entreprises ou les produits qui, sans être des crèmes de visage directement comparables à la nôtre, répondent aux mêmes besoins fondamentaux des consommateurs en matière de soin et de bien-être cutané, mais à travers des formats ou des approches différentes. Ils peuvent potentiellement détourner une partie de la dépense des consommateurs dédiée aux soins de la peau comme Flux care, Venus, caliderme.

Forces :Diversité des offres (nettoyants, masques), Spécialisation sur d'autres aspects du soin , prix variés

Faiblesses :Ne remplacent pas directement une crème hydratante spécifique pour le visage, Moins de focalisation sur le soin quotidien du visage.

3. Stratégie marketing :

La stratégie marketing est l'ensemble des techniques utilisées pour sensibiliser les clients potentiels à acheter nos produits. Dans le cadre de notre projet de fabrication d'une crème thérapeutique pour différents problèmes de peau, nous pouvons mettre en œuvre la stratégie suivante :

Produit (Product)

Nous vous proposons notre crème visage hydratante et thérapeutique, désormais disponible en format généreux de 400 ml. Conçue pour répondre aux besoins des professionnels, chaque carton contient 10 boîte pour 10 magasins / J de cette crème d'exception. Cette formule agit efficacement sur l'acné, les taches, les rides et la sécheresse cutanée.

Son secret ? L'extrait de *Chlorella ellipsoidea*, une micro-algue algérienne aux propriétés antioxydantes, hydratantes et régénératrices remarquables. Notre crème est l'incarnation de la "clean beauty" : elle est 100% naturelle, sans parabènes et offre des résultats visibles et rapides. Nous utilisons des technologies de pointe pour l'extraction de nos actifs, et son emballage écoresponsable témoigne de notre engagement pour l'environnement.

Prix

La stratégie de prix sera définie pour refléter la valeur ajoutée de notre crème innovante et thérapeutique, tout en étant compétitive sur le marché. Les tarifs seront fixés en adéquation avec les coûts de production et nos objectifs financiers, garantissant la pérennité du projet. Pour attirer et fidéliser une clientèle diversifiée, nous envisagerons des options de tarification flexibles, incluant des tailles de produits variées pour différents budgets et besoins, des offres promotionnelles lors des lancements ou événements saisonniers, et la possibilité d'un modèle d'abonnement mensuel offrant des avantages exclusifs comme la livraison régulière et des services de suivi. Le prix de notre produit en raison de sa qualité et de 1500 DA.

Place (Distribution)

La stratégie de distribution vise à rendre notre crème accessible à notre cible principale et secondaire en adoptant une approche multicanal pour maximiser notre portée. Nous établirons une présence dans les pharmacies et les boutiques spécialisées en produits de beauté naturels, où les consommateurs recherchent des conseils et des produits de qualité. Parallèlement, la création d'un site web dédié servira de plateforme de vente en ligne principale, offrant une portée nationale et une commodité d'achat. Des collaborations avec des distributeurs seront également établies pour optimiser la logistique et l'acheminement efficace des produits vers les différents points de vente et les consommateurs finaux.

Promotion

La stratégie de promotion visera à sensibiliser, informer et engager nos clients potentiels, en mettant en avant les bénéfices uniques de notre crème à la *Chlorella*. Le marketing numérique sera le pilier de notre promotion, incluant un site web comme vitrine et plateforme e-commerce, une

forte présence sur les médias sociaux (Instagram, Facebook, TikTok) pour la promotion et la construction d'une communauté, et potentiellement une application mobile pour une expérience utilisateur fluide. Nous communiquerons activement sur les propriétés scientifiquement prouvées de la *Chlorella* et participerons à des salons et conférences pertinents pour renforcer notre visibilité, crédibilité, et initier des partenariats stratégiques

4. Analyses

4.1 SWOT

Le SWOT, ou FFOM, est un outil d'analyse stratégique qui permet d'évaluer les points forts et avantages concurrentiels, les faiblesses de l'organisation, les opportunités à saisir (tendances, technologies), et les dangers potentiels :

Forces	Faiblesses
Ingrédient innovant (chlorelle) Produit naturel Image éco-responsable Formulation sans parabènes Emballage écoresponsable Propriétés antioxydantes, hydratantes et régénératrices de la chlorelle Produit adaptable aux besoins locaux	Manque de notoriété Coût potentiel élevé Méconnaissance de la chlorelle par le public
Opportunités	Menaces
Engouement pour les produits naturels Tendance de la "clean beauty" Tendance socioculturelle au naturel et au bien-être Innovations technologiques en extraction d'actifs naturels Besoin croissant de produits durables	Marché très concurrentiel Méconnaissance de la chlorelle par le public Réglementation cosmétique stricte (Politique) Crise économique possible, impact sur les achats non essentiels (Économique) Normes légales sur les ingrédients et les allégations bio/naturels

4.2. PESTEL :

Politique : Réglementation cosmétique stricte.

Économique : Crise économique possible, impact sur les achats non essentiels.

Socioculturel : Tendance au naturel et au bien-être.

Technologique : Innovations en extraction d'actifs naturels.

Écologique : Besoin croissant de produits durables.

Légal : Normes sur les ingrédients et les allégations bio/naturels.

Recommandations et synthèse :

- Positionner le produit comme hautement naturel, innovant et éthique.
- Insister sur les bienfaits prouvés de la chlorelle pour la peau.
- Proposer un packaging recyclable et un engagement écoresponsable.
- Prévoir une campagne de communication ciblée (influenceurs green, réseaux sociaux).
- Tester le produit avec un petit échantillon de la cible pour obtenir des retours avant lancement.

Quatrième axe : Plan de production et organisation

- **Achat des matières premières :**
 - **Poudre /culture de Chlorella :** Initialement achetée auprès de fournisseurs spécialisés (Cherish Pharma), avec l'objectif à long terme de développer une production locale de chlorelle.
 - **Autres ingrédients :** Huiles végétales, glycérine, Carbopol 940, Triéthanolamine, colorants et parfums.
- **Fabrication de l'extrait de Chlorelle :**
 - **Décoction :** 5g de poudre de *Chlorella* extraits dans 100mL d'eau déionisée à 100°C pendant 30 min, puis filtré.
- **Préparation de la base de crème :**
 - Le Carbopol 940 est mélangé à la glycérine, puis hydraté avec de l'eau distillée pendant 24h pour former la base de gel.
- **Formulation de la crème :**
 - Ajouter l'extrait de chlorelle et les autres ingrédients (Aloevera, TEA, colorant, parfum) progressivement à la base, en ajustant le pH.
- **Tests de vérification de la qualité :**
 - Tests sur le produit fini pour s'assurer de sa stabilité, de son pH, de sa viscosité, de son étendue et de son extrudabilité.
- **Conditionnement et Emballage :**
 - La crème sera mise dans des récipients hermétiques et stables, pour préserver ses propriétés. Un contrôle qualité final sera effectué.
- **Distribution :** Organiser la logistique pour acheminer les produits vers les points de vente et les clients.



Figure : schéma récapitulatif de processus de fabrication de la crème

➤ 2. Approvisionnement :

• Pour assurer une production optimale de notre crème à base de chlorelle, l'approvisionnement en matières premières et en équipements sera géré de manière stratégique, en privilégiant les fournisseurs locaux pour soutenir l'économie algérienne et réduire les coûts. La chlorelle sera sourcée auprès des fermes aquacoles ou bien online ou bien des centres de recherche par exemple CNRDPA, tandis que les huiles végétales (argan, olive) proviendront de fournisseurs certifiés tels que Aromabioil. Pour les équipements de laboratoire, nous nous approvisionnerons auprès de sociétés comme Groupe World Lab et L'abomaster Algérie, qui offrent du matériel conforme aux normes internationales. Les emballages écologiques seront fournis par High packaging ou l'Algérie et emballage, garantissant un packaging durable. Cette approche permet de sécuriser la chaîne d'approvisionnement tout en respectant les standards de qualité et d'hygiène requis pour un produit cosmétique.

➤ 3. Main d'œuvre :

Pour assurer le bon fonctionnement de la production de la crème à base de chlorelle, une équipe de 4 à 6 employé(e)s sera constituée, répartie selon les compétences nécessaires à chaque étape du processus. Voici la répartition proposée :

1. Responsable de production (1 personne)
2. Technicien en culture de microalgues (1 personne)
3. Opérateurs de fabrication (2 personnes)
4. Assistant logistique et conditionnement (1 personne)
5. Commercial/Marketing (1 personne – optionnel)

4. Partenaires :

Nos parties prenantes qui vont influencés de près ou de loin, directe ou indirecte, négatives ou positive sur notre entreprise sont :

Ministère du commerce

Ministère de finance

Ministère de l'industrie

Ministère de l'environnement et du développement durable

Centre National du Registre de commerce

ENSSMAL

Media : (Télé, Radio, Réseaux sociaux)

Clients : Grossiste, cosmétiques, pharmacies...

Fournisseur : Une gestion rigoureuse de l'acquisition des matières premières et équipements est essentielle pour assurer la qualité et la continuité de la production.

Fournisseurs locaux : Pour la poudre de chlorelle (à terme) et d'autres ingrédients. Laboratoires de recherche et instituts : Pour le soutien technique et la validation.

Fournisseurs d'équipements de laboratoire : tels que WORLD LAB, pour assurer le respect des normes d'hygiène et des protocoles internationaux.

Cinquième axe : Plan financier

Investissement initial :

- Équipements cultivation/production : 2 000 000 DA
- Aménagement local : 800 000 DA
- Stock initial matières premières : 400 000 DA
- **Total investissement : 3 200 000 DA**

Charges mensuelles :

- Salaires (6 personnes) : 300 000 DA
- Matières premières : 150 000 DA
- Charges fixes : 100 000 DA
- **Total charges mensuelles : 550 000 DA**

2. Le chiffre d'affaires

Scénario réaliste :

- 400 boîtes/mois \times 1 500 DA = 600 000 DA/mois
- **Chiffre d'affaires annuel : 7 200 000 DA**

Scénario optimiste :

- 500 boîtes/mois \times 1 500 DA = 750 000 DA/mois
- **Chiffre d'affaires annuel : 9 000 000 DA**

Scénario pessimiste :

- 300 boîtes/mois \times 1 500 DA = 450 000 DA/mois
- **Chiffre d'affaires annuel : 5 400 000 DA**

3. Comptes de résultats escomptés**Année 1 (scénario réaliste) :**

- Chiffre d'affaires : 3 600 000 DA
- Charges variables : 1 800 000 DA
- Charges fixes : 1 200 000 DA
- **Résultat net : 600 000 DA**

Retour sur investissement : 5,3 ans

4. Plan de trésorerie**Besoins de financement :**

- Fonds propres : 1 000 000 DA (30%)
- Crédit bancaire : 2 200 000 DA (70%)
- Remboursement : 7 ans, taux 8%

Seuil de rentabilité : 147 boîtes/mois (atteint au 8ème mois)

Cinquième axe : Plan financier**Investissements et financements**

INVESTISSEMENTS	Montant € hors taxes
Immobilisations incorporelles	200,00
<i>Frais d'établissement</i>	<i>200,00</i>
<i>Frais d'ouverture de compteurs</i>	
<i>Logiciels, formations</i>	
<i>Dépôt marque</i>	
<i>Droits d'entrée</i>	
<i>Achat fonds de commerce ou parts</i>	
<i>Droit au bail</i>	
<i>Caution ou dépôt de garantie</i>	

<i>Frais de dossier</i>				
<i>Frais de notaire ou d'avocat</i>				
Immobilisations corporelles				8 820,00
<i>Enseigne et éléments de communication</i>				
<i>Achat immobilier</i>				
<i>Travaux et aménagements</i>				3 500,00
<i>Matériel</i>				4 770,00
<i>Matériel de bureau</i>				550,00
Stock de matières et produits				1 000,00
Trésorerie de départ				4 000,00
			TOTAL BESOINS	14 020,00
FINANCEMENT DES INVESTISSEMENTS				Montant € hors taxes
Apport personnel				4 020,00
<i>Apport personnel ou familial</i>				4 020,00
<i>Apports en nature (en valeur)</i>				-
Emprunt	<i>taux</i>		<i>durée mois</i>	-
<i>Prêt bancaire</i>				-
<i>Prêt bancaire</i>				-
				-
Subvention				10 000,00
				-
Autre financement				
			TOTAL RESSOURCES	14 020,00

chiffre d'affaires de la première année :

Année 1		Nombre de jours travaillés	Chiffre d'affaires moyen / jour	Chiffre d'affaires mensuel
	Mois 1	26		-
	Mois 2	26	150.00	3,900.00
	Mois 3	26	150.00	3,900.00
	Mois 4	26	150.00	3,900.00
	Mois 5	26	150.00	3,900.00
	Mois 6	26	150.00	3,900.00

Mois 7	26 150.00	3,900.00
Mois 8	26 150.00	3,900.00
Mois 9	26 150.00	3,900.00
Mois 10	26 150.00	3,900.00
Mois 11	26 150.00	3,900.00
Mois 12	26 150.00	3,900.00
TOTAL		42,900.00

Salaires et charges social

	Année 1	Année 2	Année 3
Rémunération du (des) dirigeants	1,000.00	1,200.00	1,200.00
<i>% augmentation</i>		20%	0%
Charges sociales du (des) dirigeant(s)	1,103.00	1,103.00	1,103.00
Salaires des employés	2,160.00	2,160.00	2,160.00
<i>% augmentation</i>		0%	0%
Charges sociales employés	1,555.20	1,555.20	1,555.20

Détail des amortissements

	Année 1	Année 2	Année 3
Amortissements incorporels	40.00	40.00	40.00
<i>Frais d'établissement</i>	40.00	40.00	40.00
<i>Logiciels, formations</i>	0.00	0.00	0.00
<i>Droits d'entrée</i>	0.00	0.00	0.00
<i>Frais de dossier</i>	0.00	0.00	0.00
<i>Frais de notaire ou d'avocat</i>	0.00	0.00	0.00
Amortissements corporels	1,764.00	1,764.00	1,764.00

Référence bibliographique

<i>Enseigne et éléments de communication</i>	0.00	0.00	0.00
<i>Achat immobilier</i>	0.00	0.00	0.00
<i>Travaux et aménagements</i>	700.00	700.00	700.00
<i>Matériel</i>	954.00	954.00	954.00
<i>Matériel de bureau</i>	110.00	110.00	110.00
Total amortissements	1,804.00	1,804.00	1,804.00

Compte de résultats prévisionnel sur 3 ans

	Année 1	Année 2	Année 3
Produits d'exploitation	42,900.00	48,477.00	57,202.86
<i>Chiffre d'affaires</i>			
<i>HT</i>	42,900.00	48,477.00	57,202.86
<i>Chiffre d'affaires HT autres services</i>	-	-	-
Charges d'exploitation	25,740.00	29,086.20	34,321.72
<i>Achats consommés</i>	25,740.00	29,086.20	34,321.72
Marge brute	17,160.00	19,390.80	22,881.14
Charges externes	7,810.00	3,875.00	4,590.00
<i>Assurances</i>	200.00	800.00	850.00
<i>Téléphone, internet</i>	60.00	35.00	40.00
<i>Autres abonnements</i>	-	-	-
<i>Carburant, transports</i>	150.00	200.00	300.00
<i>Frais de déplacement et hébergement</i>	-	-	-
<i>Eau, électricité, gaz</i>	300.00	800.00	900.00
<i>Mutuelle</i>	-	-	-
<i>Fournitures diverses</i>	100.00	120.00	150.00
<i>Entretien matériel et vêtements</i>	1,000.00	120.00	150.00
<i>Nettoyage des locaux</i>	-	-	-
<i>Budget publicité et communication</i>	-	-	-
<i>Loyer et charges locatives</i>	6,000.00	1,800.00	2,200.00
<i>Expert comptable, avocats</i>	-	-	-
	-	-	-

	-	-	-
Valeur ajoutée	9,350.00	15,515.80	18,291.14
Impôts et taxes	-	-	-
Salaires employés	2,160.00	2,160.00	2,160.00
Charges sociales employés	1,555.20	1,555.20	1,555.20
Prélèvement dirigeant(s)	1,000.00	1,200.00	1,200.00
Charges sociales dirigeant(s)	1,103.00	1,103.00	1,103.00
Excédent brut d'exploitation	3,531.80	9,497.60	12,272.94
Frais bancaires, charges financières	-	-	-
Dotations aux amortissements	1,804.00	1,804.00	1,804.00
Résultat avant impôts	1,727.80	7,693.60	10,468.94
Impôt sur les sociétés	259.17	1,154.04	1,570.34
Résultat net comptable (résultat de l'exercice)	1,468.63	6,539.56	8,898.60

Soldes intermédiaires de gestion

	Année 1	%	Année 2	%	Année 3	%
Chiffre d'affaires	42,900.00	100%	48,477.00	100%	57,202.86	100%
Ventes + autres services	42,900.00	100%	48,477.00	100%	57,202.86	100%
Achats consommés	25,740.00	60%	29,086.20	60%	34,321.72	60%
Marge globale	17,160.00	40%	19,390.80	40%	22,881.14	40%
Charges externes	7,810.00	18%	3,875.00	8%	4,590.00	8%
Valeur ajoutée	9,350.00	22%	15,515.80	32%	18,291.14	32%

Référence bibliographique

Impôts et taxes	-	0%	-	0%	-	0%
Charges de personnel	5,818.20	14%	6,018.20	12%	6,018.20	11%
Excédent brut d'exploitation	3,531.80	8%	9,497.60	20%	12,272.94	21%
Dotation aux amortissements	1,804.00	4%	1,804.00	4%	1,804.00	3%
Résultat d'exploitation	1,727.80	4%	7,693.60	16%	10,468.94	18%
Charges financières	-	0%	-	0%	-	0%
Résultat financier	-	0%	-	0%	-	0%
Résultat courant	1,727.80	4%	7,693.60	16%	10,468.94	18%
Résultat de l'exercice	1,468.63	3%	6,539.56	13%	8,898.60	16%
Capacité d'autofinancement	3,272.63	8%	8,343.56	17%	10,702.60	19%

Capacité d'autofinancement

	Année 1	Année 2	Année 3
Résultat de l'exercice	1,468.63	6,539.56	8,898.60
+ Dotation aux amortissements	1,804.00	1,804.00	1,804.00
Capacité d'autofinancement	3,272.63	8,343.56	10,702.60
- Remboursement des emprunts	-	-	-
Autofinancement net	3,272.63	8,343.56	10,702.60

Seuil de rentabilité économique

	Année 1	Année 2	Année 3
Ventes + Autres services	42,900.00	48,477.00	57,202.86
Achats consommés	25,740.00	29,086.20	34,321.72
Total des coûts variables	25,740.00	29,086.20	34,321.72
Marge sur coûts variables	17,160.00	19,390.80	22,881.14
Taux de marge sur coûts variables	40%	40%	40%
Coûts fixes	15,432.20	11,697.20	12,412.20
Total des charges	41,172.20	40,783.40	46,733.92

Résultat courant avant impôts	1,727.80	7,693.60	10,468.94
Seuil de rentabilité (chiffre d'affaires)	38,580.50	29,243.00	31,030.50
Excédent / insuffisance	4,319.50	19,234.00	26,172.36
<i>Point mort en chiffre d'affaires par jour ouvré</i>	<i>154.32</i>	<i>116.97</i>	<i>124.12</i>

Besoin en fonds de roulement

<i>délagi jours</i>		Année 1	Année 2	Année 3
Besoins				
Volume crédit client HT	<i>30</i>	3,526.03	3,984.41	4,701.60
Ressources				
Volume dettes fournisseurs HT	<i>60</i>	4,231.23	4,781.29	5,641.93
Besoin en fonds de roulement		705.21	796.88	940.32

Plan de financement à 3 ans

	Année 1	Année 2	Année 3
Immobilisations	9,020.00		
Acquisition des stocks	1,000.00		
Variation du Besoin en fonds de roulement	-	-	-
Remboursement d'emprunts	705.21	91.68	143.44
	-	-	-
Total des besoins	9,314.79	91.68	143.44
Apport personnel	4,020.00		
Emprunts	-		
Subventions	10,000.00		
Autres financements			
Capacité d'auto-financement	3,272.63	8,343.56	10,702.60
Total des ressources	17,292.63	8,343.56	10,702.60
Variation de trésorerie	7,977.84	8,435.24	10,846.04
Excédent de trésorerie	7,977.84	16,413.07	27,259.11

Rappel trésorerie début année 1 : 4,000.00
Budget prévisionnel de trésorerie

	Mois 1	Mois 2	Mois 3	Mois 4	Mois 5
Apport personnel	4,020.00				
Emprunts	-				
Subventions	10,000.00				
Autres financements					
Ventes	-	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00
Ventes autres services	-	-	-	-	-
Chiffre d'affaires (total)	-	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00
Immobilisations incorporelles	200.00				
Immobilisations corporelles	8,820.00				
Immobilisations (total)	9,020.00				
Acquisition stocks	1,000.00				
Échéances emprunt	-	-	-	-	-
Achats de marchandises	-	2,340.00	2,340.00	2,340.00	2,340.00
Charges externes	650.83	650.83	650.83	650.83	650.83
Impôts et taxes	-	-	-	-	-
Salaires employés	180.00	180.00	180.00	180.00	180.00
Charges sociales employés	129.60	129.60	129.60	129.60	129.60
Prélèvement dirigeant(s)	83.33	83.33	83.33	83.33	83.33
Charges sociales dirigeant(s)	91.92	91.92	91.92	91.92	91.92
Total charges de personnel	484.85	484.85	484.85	484.85	484.85
Frais bancaires, charges financières	-	-	-	-	-
Total des décaissements	11,155.68	3,475.68	3,475.68	3,475.68	3,475.68
Total des encaissements	14,020.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00
Solde précédent	-	2,864.32	3,288.63	3,712.95	4,137.27
Solde du mois	2,864.32	424.32	424.32	424.32	424.32
Solde de trésorerie (cumul)	2,864.32	3,288.63	3,712.95	4,137.27	4,561.58

Mois 6	Mois 7	Mois 8	Mois 9	Mois 10	Mois 11	Mois 12	TOTAL
							4,020.00
							-
							10,000.00
							-
3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	42,900.00
-	-	-	-	-	-	-	-
3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	42,900.00
							200.00
							8,820.00
							9,020.00
							1,000.00
-	-	-	-	-	-	-	-
2,340.00	2,340.00	2,340.00	2,340.00	2,340.00	2,340.00	2,340.00	25,740.00
650.83	650.83	650.83	650.83	650.83	650.83	650.83	7,810.00
-	-	-	-	-	-	-	-
180.00	180.00	180.00	180.00	180.00	180.00	180.00	2,160.00
129.60	129.60	129.60	129.60	129.60	129.60	129.60	1,555.20
83.33	83.33	83.33	83.33	83.33	83.33	83.33	1,000.00
91.92	91.92	91.92	91.92	91.92	91.92	91.92	1,103.00
484.85	484.85	484.85	484.85	484.85	484.85	484.85	5,818.20
-	-	-	-	-	-	-	-
3,475.68	3,475.68	3,475.68	3,475.68	3,475.68	3,475.68	3,475.68	49,388.20
3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	3,900.00	56,920.00
4,561.58	4,985.90	5,410.22	5,834.53	6,258.85	6,683.17	7,107.48	
424.32	424.32	424.32	424.32	424.32	424.32	424.32	
4,985.90	5,410.22	5,834.53	6,258.85	6,683.17	7,107.48	7,531.80	

Sixième axe : Prototype expérimental

- État du prototype : formulation testée en laboratoire
- Résultats attendus : stabilité, tolérance cutanée, acceptabilité sensorielle

Business Model Canvas

Partenaires clés	Activités Clés	Propositions de valeur	Relation Client	Clients
------------------	----------------	------------------------	-----------------	---------

<p>Incubateurs universitaires (Blue Start ENSSMAL). Fournisseurs de chlorelle Laboratoires d'analyses . Distributeurs. Banques</p>	<p>Production vente</p>	<p>Solution innovante (chlorelle) Qualité & performance Hydratation intense. protection anti-âge Produit adaptable aux besoins locaux</p>	<p>Site web Page sur réseaux sociaux Assurer de produit de qualité. Promotions par saison et évènement. Carte de fidélité.</p>	<p>Femmes – hommes de 20-50 ans, soucieux de la composition. Consommateurs soucieux de leur santé : Ce groupe est composé de personnes qui recherchent des produits sans produits chimiques nocifs, souvent pour des raisons de santé ou de sensibilités cutanées. Éco-consommateurs : Les consommateurs qui privilégient des produits respectueux de l'environnement , fabriqués de manière durable et avec des emballages éco-responsables. Personnes ayant des allergies ou une peau sensible : Ceux qui ont des allergies ou une peau sensible qui réagit négativement aux produits cosmétiques conventionnels contenant des ingrédients synthétiques. Consommateurs adeptes des produits naturels et</p>
	<p>Ressources clés</p>		<p>Canaux</p>	
	<p>Matières premières Extrait de Chlorella ellipsoidea (ingrédient principal), huile végétale, vitamine E, conservateurs bio. Équipements de fabrication : mélangeur chauffant, remplisseuse, homogénéisateur, balance de précision, système de contrôle pH et viscosité. Emballages : tubes souples (plastique recyclable), étiquettes, boîtes secondaires. Ressources humaines : Ingénieur cosmétique Technicien de production Expert en marketing et commercial. Opérateurs. Agent de sécurité.</p>		<p>Vente directe (pharmacies, boutiques spécialisées) / en ligne Distributeurs</p>	

Référence bibliographique

				biologiques : Ce groupe cherche activement des produits naturels et biologiques pour leur routine de soins personnels, valorisant la pureté des ingrédients
Coûts			Revenus	
Matière première ; 10 00000 DA			Le chiffre d'affaire mensuel	
Equipements de fabrication : 4770000 DA			11960000 DA	
Salaire de 6 employés/an :2160000 DA				