



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات  
Ecole Nationale Polytechnique

Ecole Nationale Polytechnique d'Alger  
Département du Génie de l'Environnement

## Mémoire de Projet de Fin d'Etudes

*Thème*

# Optimisation de la production de biomasse destinée à la production de biogaz

Dirigé par :  
Pr. R. BOUARAB  
Et M. AINAS

Présenté par :  
M<sup>elle</sup> Noor- Elimen ZIANI

Soutenu le 22 juin 2014 devant le Jury :

**N. Belhaneche**  
**A. Mazighi**  
**M. Ainas**  
**R. Bouarab**

Professeur, E.N.P.  
M.A.A, E.N.P.  
M.A.A., E.N.P.  
Professeur, E.N.P.

Présidente  
Examineur  
Co- Promoteur  
Promoteur

**PROMOTION JUIN 2014**

ENP, 10 AVENUE HASSAN BADI, EL-HARRACH, ALGER

## ملخص

العمل المقدم في هذه المذكرة يتحدث عن تنمية الزراعة لسيانو بكتريا الغير المثبتة للنيتروجين تسمى سبيرولينا بلانتنسيس. عن طريق تحسين مقاييس النمو هذا الأخير. جمعت سلالة سبيرولينا الطازجة من جنوب الجزائر (تمنراست) وتم إحياءها في مستنبت زاروق لإنتاج الهيدروجين من خلال إنزيمت المسما "، الهيدروجيناز". يتم اختبار هذه القدرة الإنتاج الهيدروجين تحت تأثير ظروف تجريبية مختلفة (شدة الضوء، وتركيز الكتلة الحيوية، ..)، وتأثير شكل صورة المفاعل الحيوي الضوء

من خلال هذا العمل، تبين لنا أن شدة الضوء المثلى للإنتاج هي حوالي lux3250 عند تركيز الكتلة الحيوية من 2 و 3 غرام / لتر.

أفضل معدل H<sub>2</sub> يتم الحصول عليه لمفاعلات الحيوية الأسطوانية الشكل ذات القطر الصغير. مقارنة بالمعدلات الإنتاج H<sub>2</sub> لشكلين يكشف عن زيادة الإنتاج الى (442 مل / لتر) لمفاعل الحيوي مخروطية صورة الذي لديه مساحة سطحية أكبر (82 m<sup>-1</sup>) من المفاعلات الحيوية السابقة.

**الكلمات الرئيسية:** سبيرولينا بلانتنسيس ، الهيدروجيناز ؛ شدة الضوء ، الهيدروجين الحيوي ، شكل صورة المفاعل الحيوي ، مساحة سطحي

## Résumé :

Le travail présenté dans ce mémoire concerne le développement des cultures d'une cyanobactérie non fixatrice d'azote appelée *Spirulina platensis* par optimisation des paramètres de croissance de cette dernière. La souche *Spiruline* recueillie à l'état frais, d'un marais du sud Algérien (Tamanrasset) est revivifiée dans le milieu de culture Zarrouk afin de produire l'hydrogène grâce à son enzyme «hydrogénase». Cette capacité de production d'hydrogène est testée sous l'effet des différentes conditions opératoires (intensité lumineuse, concentration de biomasse,..), ainsi que l'effet de la forme du photo-bioréacteur. A travers ce travail, on a pu constater que l'intensité lumineuse optimale de production est de l'ordre de 3250 lux à une concentration de biomasse de 2 et 3 g/L. Les meilleurs taux de production de H<sub>2</sub> sont obtenus pour les photo-bioréacteurs de forme cylindrique de faible diamètre. La comparaison des taux de production de H<sub>2</sub> pour les deux formes révèle une production plus élevée (442 mL/L) pour le photo-bioréacteur conique qui présente une surface spécifique plus grande (82 m<sup>-1</sup>) des deux photo-bioréacteurs précédents.

**Mots-clés:** *Spirulina platensis*, Hydrogénase, Intensité lumineuse, Bio-hydrogène, Forme du photo-bioréacteur, Surface spécifique.

---

**Abstract:**

The work presented in this thesis concerns the development of cultures of non-nitrogen-fixing cyanobacteria by optimizing the growth parameters

*Spirulina* strain collected fresh, original marshes of southern Algeria is revived in the culture medium Zarrouk to produce hydrogen through her enzyme

This production capacity of hydrogen is tested under the effect of different operating conditions (light intensity, concentration of biomass, ) and the effect of the geometry of the photo-bioreactor.

Through this work, it was found that the optimum intensity production is about 3250 lux for a biomass concentration of 2 and 3 g /L. The best production rates of H<sub>2</sub> are obtained for photo-bioreactors cylindrical shape of small diameter. By comparing the production rates of H<sub>2</sub> of the two forms, we found a higher production (442 mL/L) for a conical photobioreactor with larger surface area (82 m<sup>-1</sup>).

**Keywords:** *Spirulina platensis*, hydrogenase; Light intensity, Bio-hydrogen shape photo-bioreactor specific area.

---

## **REMERCIEMENTS**

*Je tiens à remercier infiniment mon promoteur Monsieur Rabah Bouarab qui m'a offert les conditions nécessaires pour l'élaboration de ce travail ainsi que mon Co-promoteur Mr Mahfoud Ainas. Je les remercie pour leur soutien permanent, leurs orientations, leurs conseils et surtout pour leur patience tout au long de ce projet.*

*Je tiens également à exprimer ma gratitude et mes remerciements aux membres de jury : Madame BELHANACHE qui m'avez fait le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse et Monsieur MAZIGHI d'accepter de juger ce travail ainsi qu'à l'ensemble des professeurs du département de Génie de l'environnement qui nous ont guidé durant notre cursus, veuillez accepter mon respect le plus sincère et ma profondes reconnaissance.*

*Je remercie également le corps administratif, en particulier Madame Bouam Hamida et Monsieur Djamel pour leur encouragement.*

*Je profite de ce mémoire pour exprimer mes plus vifs remerciements envers mes chers parents et mes frères qui m'ont soutenu durant mes années d'études ainsi que tata Lila. sans oublier mes collègues : Islam, Mimi, Amina, ghanou, Samia, Rahim et mes amies: Lynda, Doudou, yasmine , Romayssa et souhila qui ont été à mes côtés tout au long de ce travail.*

---

## **DÉDICACES**

*A mes chers parents :*

*Pour leurs soutiens, leurs sacrifices, leur patience et leur amour, vous méritez tout éloge.*

*Papa, Maman,*

*Vous qui avez fait de moi ce que je suis maintenant.*

*J'espère être l'image que vous êtes fait de moi*

*Que dieu vous garde et vous bénisse.*

*A mes chers frères pour leur affection et leur encouragement,*

*A Islam,*

*A Monsieur Bouarab qui a été compréhensif et patient tout au long de ce travail*

*A tous mes amis,*

*A tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin.*

*Je dédie ce travail.*

---

Table de Matière	
Résumé : .....	2
Dédicaces .....	5
Liste des figures .....	9
Liste des tableaux .....	11
Introduction : .....	12
Chapitre I : <i>A propos de l'hydrogène</i> .....	14
I.1. Les différentes sources d'énergie : .....	15
I.1.1. Les énergies fossiles : .....	15
I.1.2. L'énergie nucléaire : .....	15
I.1.3. Les énergies renouvelables .....	15
I.2. L'hydrogène source d'énergie : .....	15
I.3. Les modes de production de H <sub>2</sub> : .....	16
I.3.1. Production d'hydrogène à partir des énergies fossiles : .....	16
I.3.2. Décomposition de l'eau : .....	18
I.3.3. Production biologique : .....	20
I.3.4. Production de l'hydrogène à partir des énergies renouvelables .....	20
I.4. Stockage de l'hydrogène : .....	20
I.5. Risques associés à la production de l'hydrogène : .....	20
Chapitre II : Généralité sur la spiruline .....	22
II.1. Qu'est-ce que la spiruline : .....	23
II.2. Utilisations de la spiruline : .....	23
II.3. Eléments de biologie de la Spiruline : .....	23
II.3.1. Généralité sur les Cyanobactéries : .....	23
II.3.2. Taxonomie : .....	24
II.3.3. Morphologie : .....	24
II.3.4. Cycle biologique : .....	26
II.4. Milieu de vie et répartition dans le monde : .....	26
II.5. Pigments : .....	27
II.6. Croissance de la spiruline : .....	27
II.6.1. Conditions physique et chimiques de croissance : .....	27
II.7. Production de la spiruline : .....	28
II.8. La récolte de la Spiruline : .....	28
II.8.1. La filtration : .....	29

II.8.2. Le pressage et l'essorage :.....	29
II.8.3. L'extrusion et le séchage :.....	30
II.9. Stockage et conditionnement :.....	30
II.10. Les biens faits de la spiruline :.....	31
II.11. La spiruline et la malnutrition :.....	31
II.12. Problèmes rencontrés lors de la culture de la Spiruline :.....	32
II.13. Photosynthèse de la spiruline :.....	32
II.13.1. Mécanisme de la photosynthèse :.....	32
II.13.2. Les différentes étapes de la photosynthèse.....	33
Chapitre III : le bio-hydrogène.....	35
III.1. Différents voies de production de l'hydrogène:.....	36
III.1.1. Bio-photolyse de l'eau par les algues et les cyanobactéries :.....	36
III.1.2. La décomposition des composés organiques par les bactéries photosynthétiques : .....	38
III.1.3. La fermentation à l'obscurité :.....	39
III.1.4. Système hybride utilisant les bactéries photosynthétiques et anaérobiques :.....	39
III.2. Avantages et inconvénients des voies métaboliques de production d'hydrogène :.....	41
III.3. Production de l'hydrogène par les cyanobactéries :.....	41
III.3.1 Les différents types de cyanobactéries :.....	42
III.3.2. Mécanisme de production d'hydrogène chez les cyanobactéries :.....	42
III.3.3. Enzymes productrices d'hydrogène :.....	43
a) L'hydrogénase :.....	43
Chapitre IV : Matériels et méthodes.....	44
IV.1. Matériels et méthodes pour la croissance de la souche :.....	45
IV.1.1. Micro-algue utilisée :.....	45
IV.1.2. Culture de la spiruline :.....	45
IV.1.3. Matériels utilisés :.....	45
IV.1.4. Condition de croissance de la souche de spiruline :.....	46
IV.1.5. Ensemencement de la culture à partir de la souche mère :.....	47
IV.1.6. Concentration de la biomasse :.....	48
IV.1.7. Courbe étalon :.....	48
IV.1.8. Contrôle de la contamination de la souche :.....	49
IV.2. Production de l'hydrogène par la spiruline :.....	49
IV.2.1. Méthodologie :.....	49

---

IV.2.2. Configuration géométrique du photo-bioréacteur.....	50
IV.2.3. Effet de la lumière sur la production de l'hydrogène .....	50
V.1. La courbe étalon: .....	54
V.2. Observation au microscope optique :.....	54
V.3. L'effet de la lumière sur la production de l'hydrogène .....	55
V.4. Influence de la surface spécifique (A/V):.....	58
Conclusion générale .....	63
Références Bibliographiques.....	64

---

---

## Liste des figures

Figure I 1. Schéma de principe du vapo-reformage . Hight temperature Shift = réaction de conversion du gaz a l'eau haute temperature; low temperature shift = basse temperature. ....	18
Figure I 2. Schéma de décomposition de l'eau par électrolyse .....	19
Figure II 1. Morphologie de la Spiruline au microscope optique (X. 400). ....	25
Figure II 2. Les différentes formes de spiruline.....	25
Figure II 3. Cycle de vie de la spiruline.....	26
Figure II 4. Exemples de bassins de culture. ....	29
Figure II 5. Toile de filtration contenant la spiruline récoltée.....	30
Figure II 6. Schéma du système de pressage. ....	31
Figure II 7. Schéma de la photosynthèse. ....	34
Figure II 8. Cycle de Calvin. ....	34
Figure III 1. La bio photolyse directe. ....	37
Figure III 2. La bio-photolyse indirecte.....	38
Figure III 3. La photo-fermentation.....	39
Figure III 4. Hydrogène produit par fermentation à l'obscurité. ....	40
Figure III 5. . Mécanisme biochimique de la décomposition du glucose par des microorganismes photosynthétiques et des bactéries anaérobiques pour la production hybride de l'hydrogène. ....	40
Figure IV 1. Enceinte maintenant les cultures dans les conditions favorables à sa croissance. ....	47
Figure IV 2. Filtration de la culture. ....	48
Figure IV 3. Barbotage à l'azote. ....	51
Figure IV 4. Schéma succinct de la récupération du biogaz. ....	52
Figure V 1. Courbe étalon donnant la relation entre la DO et le Ps de la spiruline. ....	54
Figure V 2. Production d'hydrogène de 1 g/L de biomasse cellulaire en fonction de l'intensité lumineuse. ....	56
Figure V 3. Production d'hydrogène de 2 g/L de biomasse cellulaire en fonction de l'intensité lumineuse. ....	56
Figure V 4. Production d'hydrogène à 3g/L de biomasse cellulaire en fonction de l'intensité lumineuse. ....	57
Figure V 5. Production d'hydrogène en fonction de la concentration de biomasse. ....	58
Figure V 6. Production de H <sub>2</sub> dans le PBR cylindrique de 8 cm de diamètre. ....	59
Figure V 7. Production de H <sub>2</sub> dans le PBR cylindrique de 5,8 cm de diamètre.....	59
Figure V 8. Optimisation de la production de l'hydrogène dans les deux PBR. ....	60

---

Figure V 9. Evolution de la production de H2 sur le PBR conique. ....	61
Figure V 10. Evolution de la production de H2 sur les PBR cylindriques et conique.....	62

---

## Liste des tableaux

Tableau II 1 . Classification de <i>Spirulina platensis</i> .....	24
Tableau II 2. Teneurs en pigments de matière sèche de la Spiruline. ....	27
Tableau II 3. Eléments chimiques nécessaires à la croissance de la spiruline.....	28
Tableau III 1. Avantages et inconvénients des processus biologique générateurs de H <sub>2</sub> .....	41
Tableau IV 1.. Composition chimique du milieu Zarrouk.	46
Tableau IV 2. Composition chimique de la solution A5.	46
Tableau IV 3. Tableau IV. 3. Composition chimique de la solution B6.	47
Tableau IV 4. Calcul des surfaces spécifiques dans les trois photo-bioréacteurs (PBR).	52
Figure I 1. Schéma de principe du vapo-reformage . Hight temperature Shift = réaction de conversion du gaz a l'eau haute temperature; low temperature shift = basse temperature.	18
Figure I 2. Schéma de décomposition de l'eau par électrolyse	19

---

## **Introduction :**

Au cours des dernières années, la demande énergétique a beaucoup augmentée à cause de l'augmentation de la population et leur consommations d'énergie. En 2100; la demande mondiale équivaldra au double de celle actuelle.

Il faut savoir que 85 % de la demande énergétique mondiale est assurée par les énergies fossiles. Ces dernières ont énormément contribué à l'amélioration de la productivité des industries et du confort des populations. Elles sont néanmoins épuisables, amenées à disparaître dans un future très proche vue la demande mondial en hausse croissante. Il faut ajouter à cela que les énergies fossiles sont aussi génératrices de graves problèmes environnementaux qui se traduisent par un dégagement dans l'atmosphère de polluants organiques et des gaz à effets de serre qui contribuent au réchauffement climatique.

Même si le constat de raréfaction de ces énergies fossiles est bel et bien réel, il existe l'alternative hydrogène. Son principal atout est que sa combustion ne génère que de l'eau. Bien plus, l'utilisation de l'hydrogène ne permet de résoudre qu'une partie du défi écologique de ce début de siècle. Ceci peut avoir un impact environnemental presque nul et il peut être réalisé à partir des sources énergétiques primaires renouvelables, interchangeables et vastement disponibles

La biomasse apparaît comme une source prometteuse dans laquelle s'inscrit la production du bio-hydrogène par les microorganismes photosynthétiques. Certaines micro-algues, bactéries ou cyanobactéries ont développé des capacités métaboliques originales comme celles de produire de l'hydrogène grâce à des enzymes appelées hydrogénase, en utilisant l'eau et l'énergie solaire comme ressources principales. Ces propriétés permettent d'envisager la mise au point de procédés propres et durables de production d'hydrogène *via* la culture de ces organismes à grande échelle.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre sujet d'étude par optimisation des paramètres pouvant influencer la production de  $H_2$  : la concentration, l'intensité lumineuse et la surface spécifique. Notre travail se divise en Cinq chapitres :

- Le premier chapitre porte sur les sources d'énergies fossiles ainsi que sur les différents modes de production d'hydrogène ;

- 
- Le deuxième chapitre est consacré aux généralités sur la spiruline, son type trophique, sa morphologie et ses vertus naturelles ;
  - Le troisième chapitre est consacré à la bio-production d'hydrogène par les microorganismes ;
  - Le quatrième chapitre décrit les matériels et méthodes utilisé ;

Le cinquième chapitre illustre les résultats obtenus et leurs interprétations. Il est suivi d'une conclusion générale.

---

# Chapitre I :

## *A propos de l'hydrogène*



### **Introduction**

L'hydrogène est une alternative intéressante il est considéré comme un vecteur énergétique sa production peut se faire par différentes voies

---

## **I.1. Les différentes sources d'énergie :**

Les sources d'énergies sont innombrables. Cependant, on les décline en général sous trois grandes familles: les énergies fossiles, les énergies renouvelables et les énergies fissiles [1].

### **I.1.1. Les énergies fossiles :**

Les énergies fossiles sont issues de la combustion de matière vivante, végétale ou animale. Elles comprennent le charbon, le pétrole et le gaz naturel. Ces combustibles se sont élaborés durant des centaines de millions d'années. C'est pourquoi on les appelle les combustibles fossiles et l'énergie ainsi produite est l'énergie fossile. Les réserves en matières premières sont abondantes mais malheureusement non renouvelables. Le gaz naturel est le moins polluant des combustibles fossiles, car sa combustion émet moins de CO<sub>2</sub> [2].

### **I.1.2. L'énergie nucléaire :**

L'énergie nucléaire ou l'énergie fissile provient également d'une matière première qui est l'uranium, c'est donc une énergie fossile. Cependant on la considère comme une alternative aux autres énergies fossiles car elle n'émet pas de CO<sub>2</sub> et offre une certaine indépendance énergétique même si elle suscite des problèmes de sécurité et de stockage des déchets radioactifs [3].

### **I.1.3. Les énergies renouvelables :**

Contrairement à leur alter ego les énergies fossiles, les énergies renouvelables ont les avantages d'être propres d'un point de vue écologique, d'être bien réparties au niveau de la planète et de ne pas être limitées en quantité. Parmi les sources d'énergies renouvelables les plus populaires on peut citer l'énergie solaire photovoltaïque, l'énergie éolienne, l'énergie marémotrice, l'énergie biomasse, etc. [1]. L'unique question qui se pose avec les sources d'énergies renouvelables est comment créer les conditions techniques et économiques permettant leur exploitation optimale.

## **I.2. L'hydrogène source d'énergie :**

Tous les amateurs de science-fiction se souviennent que Jules Verne, dans ses merveilleux romans, avait imaginé, il y a maintenant plus de 140 ans, que l'hydrogène deviendrait un jour la principale source d'énergie utilisée par l'homme.

---

Aujourd'hui, la consommation mondiale d'hydrogène est proche des 60 millions de tonnes par an mais elle ne représente encore que 2% du bilan énergétique mondial.

L'hydrogène est un élément paradoxal : cette substance qui est la plus abondante dans l'univers, est très difficile à trouver à l'état pur sur notre planète car elle est presque toujours combinée à d'autres éléments chimiques, soit pour constituer de l'eau (H<sub>2</sub>O), soit pour former différents gaz associant carbone et hydrogène, comme le méthane ou le gaz naturel [4].

L'hydrogène est considéré comme un vecteur énergétique; il transporte de l'énergie. Il est utilisé essentiellement dans la chimie, le raffinage ou l'industrie. Mais à l'heure des préoccupations environnementales, l'hydrogène pourrait bien, à terme, jouer un rôle prépondérant dans le paysage énergétique futur [5].

Deux secteurs sont envisagés pour l'utilisation de l'hydrogène comme vecteur d'énergie: les transports et la production d'électricité qui, éventuellement, peut s'accompagner d'une production de chaleur [6].

**a) Dans le secteur des transports :**

L'utilisation de l'hydrogène dans les transports peut se faire soit par l'intermédiaire d'une pile à combustible, soit avec moteur à combustion interne [7]. Donc ces véhicules électriques fonctionnant à l'hydrogène pourront remplacer avantageusement nos véhicules actuels. [6]

**b) Production d'électricité :**

L'hydrogène peut être transformé en électricité par le biais de la pile à combustible qui convertit l'énergie chimique en énergie électrique. L'hydrogène est également utilisé comme source de chaleur, permettant ainsi d'alimenter les maisons et les immeubles.

**I.3. Les modes de production de H<sub>2</sub> :**

Pour pouvoir utiliser l'hydrogène, il faut donc l'extraire en utilisant différentes techniques

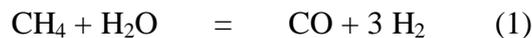
**I.3.1. Production d'hydrogène à partir des énergies fossiles :**

Cette méthode est la plus utilisée pour produire de l'hydrogène, mais elle ne constitue pas une solution à long terme puisque tous ces carburants ont une durée de vie limitée. En plus cette technique est très polluante car elle génère du CO<sub>2</sub>. On distingue quatre procédés de production à partir des énergies fossiles [8].

---

### **I.3.1.1. Le vapo-reformage :**

Il s'agit du mode de production de l'hydrogène qui de nos jours est industriellement le plus répandu et le moins coûteux (Réaction (1) et Figure I- 1). Il est essentiellement produit à partir du méthane, principal constituant du gaz naturel. Avant sa transformation, le gaz naturel est purifié pour obtenir du méthane prêt à réagir. Le méthane est ensuite mélangé à de la vapeur d'eau puis introduit dans des fours où il sera porté aux températures allant de 600 à 900 °C pour donner du gaz de synthèse.



Mais la production de dihydrogène par reformage a l'inconvénient de rejeter du dioxyde de carbone, principal gaz responsable de l'effet de serre dans l'atmosphère.

Pour éviter cela, sa production à partir de combustibles fossiles supposerait donc d'emprisonner le dioxyde de carbone par des techniques qui doivent faire l'objet de développements. On envisage, par exemple, de réinjecter le dioxyde de carbone dans les puits de pétrole épuisés [9].

### **I.3.1.2. L'oxydation partielle :**

Si l'utilisation du gaz naturel ne concerne que quelques applications concrètes pour les besoins de la chimie, l'oxydation partielle (réaction (2)) des hydrocarbures est largement exploitée dans l'industrie pétrolière.



Elle consiste à obtenir de l'hydrogène à partir d'hydrocarbures lourds que l'on fait réagir avec une petite quantité d'oxygène. Toutefois, elle étant exothermique la chaleur dégagée peut être récupérée pour une autre application, cette réaction s'effectue entre 1200 et 1500 °C et à des pressions plus ou moins importantes 20 à 90 bars [6, 10].

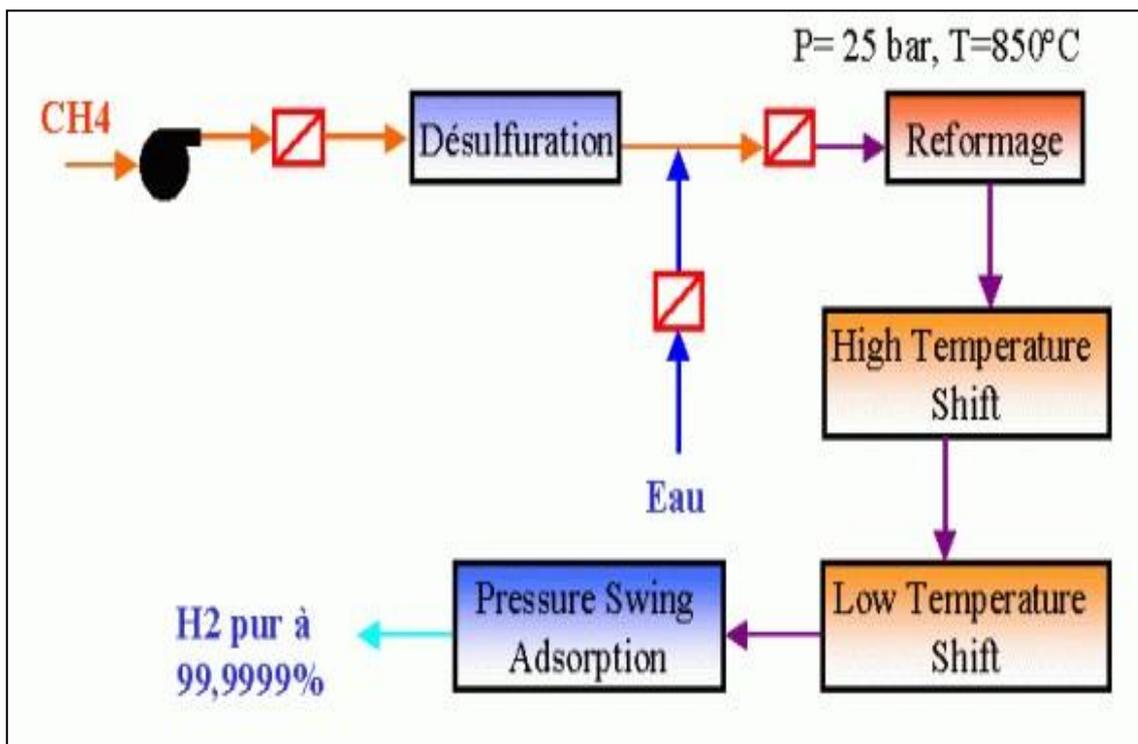
### **I.3.1.3. Reformage auto-therme :**

Le procédé de reformage auto-thermique est probablement le plus intéressant. Son principal atout est de compenser, dans un même réacteur à lit fixe, les réactions endothermiques du vapo-reformage par les réactions exothermiques de l'oxydation partielle. La pression est de 20

à 60 bars et la température est entre 900 à 1100°C. Le rapport  $H_2/CO$  du gaz de synthèse obtenu est compris entre 2 et 2.8 [11].

#### **I.3.1.4. Reformage du méthanol :**

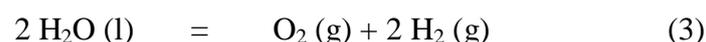
Il est assez simple de décomposer  $CH_3OH$  en  $H_2 + CO$  et  $CO_2$  à basse pression et à une température inférieure à 350 °C sur les gaz d'échappement d'une turbine à gaz par exemple. On peut aboutir à un mélange d'hydrogène et de  $CO_2$  sous pression, ce dernier pouvant alors être capté puis stocké. Si cette voie de production d'hydrogène peut, par sa simplicité, rivaliser avec les unités de vapo-reformage, elle présente l'inconvénient majeur de la grande toxicité du méthanol qui, en plus, est miscible dans l'eau [12].



**Figure I 1. Schéma de principe du vapo-reformage . High temperature Shift = réaction de conversion du gaz a l'eau haute temperature; low temperature shift = basse temperature.**

#### **I.3.2. Décomposition de l'eau :**

Cette méthode consiste à dissocier les atomes d'oxygène et d'hydrogène combinés dans les molécules d'eau selon la réaction d'oxydoréduction:



---

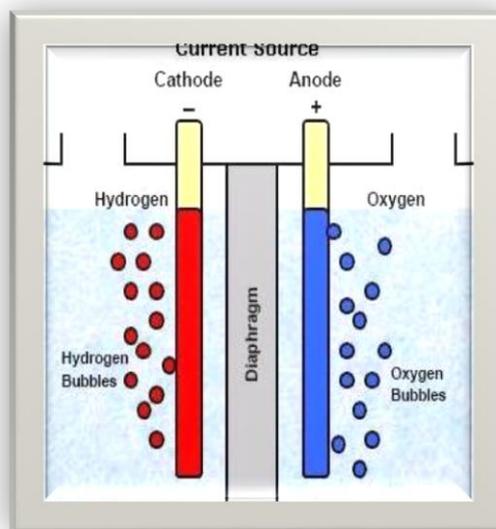
Ce mode de production est très intéressant car aucune émission de gaz à effet de serre n'a lieu. Encore faut-il opérer cette dissociation à partir de sources d'énergies elles-mêmes non-émettrices de CO<sub>2</sub> [13, 14] ! Deux procédés sont à l'étude pour cette méthode de production.

### **I.3.2.1. L'électrolyse chimique :**

C'est la décomposition chimique de l'eau en dioxygène et dihydrogène sous l'action d'un courant électrique. Pour obtenir de meilleurs rendements l'électrolyse est effectuée à hautes températures.

Une cellule d'électrolyse (figure I- 2) est constituée de deux électrodes (anode et cathode, conducteurs électroniques) reliées à un générateur de courant continu, et séparées par un électrolyte qui est le milieu conducteur ionique [8], Cet électrolyte peut être :

- Soit une solution aqueuse acide ou basique ;
- Soit une membrane polymère échangeuse de protons ;
- Soit une membrane céramique conductrice d'ions O<sup>2-</sup>.



**Figure I 2. Schéma de décomposition de l'eau par électrolyse**

### **I.3.2.2. Les Cycles thermochimiques :**

Le principe consiste à dissocier la molécule d'eau à haute température par des réactions chimiques successives en introduisant certains composés qui sont régénérés au cours des réactions pour être réutilisés en boucle dans le procédé. La succession de réactions aboutit à la

---

formation d'hydrogène et d'oxygène. Parmi ceux qui semblent actuellement les plus prometteurs, on peut citer les cycles cérium-chlore, cuivre-chlore, et bien entendu iode-soufre. Ce dernier est le plus développé et étudié [15, 16].

### **I.3.3. Production biologique :**

Les organismes photosynthétiques, comme certaines algues vertes ou cyanobactéries, produisent de l'hydrogène lors de la photosynthèse. Ce procédé est totalement propre [17].

Il est nécessaire dans un premier temps de comprendre les phénomènes métaboliques mis en jeu pour définir le réacteur et les conditions adéquates pour obtenir du bio-hydrogène [18].

### **I.3.4. Production de l'hydrogène à partir des énergies renouvelables:**

L'utilisation de l'hydrogène comme vecteur d'énergie est portée par le souci de limiter le recours aux hydrocarbures en raison de la limitation des stocks disponibles mais aussi en raison de l'émission de gaz à effet de serre résultant de leur utilisation. Dans cette optique de protection de l'environnement, les technologies de production d'hydrogène utilisant les énergies renouvelables (solaire, éolien, géothermique et hydraulique) sont en cours de développement [19, 20].

### **I.4. Stockage de l'hydrogène :**

Le stockage de l'hydrogène reste un verrou technologique majeur si l'on veut que l'hydrogène puisse devenir un vecteur énergétique du futur, en particulier pour l'alimentation des véhicules.

Cette problématique a ainsi fait l'objet de nombreuses recherches ces dernières années. On peut retenir trois voies pour ce stockage :

- Stockage sous forme de gaz pressurisé ;
- Stockage sous forme cryogénique ou liquéfiée ;
- Stockage dans des solides.

### **I.5. Risques associés à la production de l'hydrogène :**

Le premier risque à prendre en compte lors de la production d'hydrogène est bien sûr le risque lié aux caractéristiques physico-chimiques de ce gaz. Selon le procédé considéré, plusieurs des risques précédemment développés peuvent être présents :

- Risque d'inflammation ou d'explosion ;
- Risque lié au caractère toxique ou corrosif des produits ;

---

- Compatibilité des matériaux.

## Chapitre II :

# *Généralité sur la spiruline*

### **Introduction**

En 1940, le physiologiste français **Dangeard** a noté que le peuple de la tribu de Kanembu vivant pas loin de la rive du lac de Chad; consommait le *dihe* qui est un gâteau d'algues bleues-vertes collecte a partir des bords de petits bassins entourant le lac, ensuite sèche et durcie sous le soleil. Dangeard a étudié un échantillon de ce gâteau et il a conclue qu'il s'agit d'une purée de phytoplancton existant dans un large nombre de vallées des lacs africains[21].

Cependant, la spiruline est un trésor de protéines, de vitamines, de minéraux, d'enzymes, et de pigments

Ce chapitre est consacré à des généralités sur la spiruline, son type trophique, sa morphologie, ses vertus naturelles et ses conditions de croissance.

---

## **II.1. Qu'est-ce que la spiruline :**

La Spiruline, de son nom latin *Arthrospira platensis*, est une des premières formes de vie sur la planète terre. Elle fait partie de ces cyanobactéries qui ont réalisé le miracle de la photosynthèse et trouve vie dans les biotopes chauds et salés.

Consommée traditionnellement par les *Aztèques* au Mexique et les *Kanembus* au Tchad car elle témoigne d'une richesse nutritive exceptionnelle. Elle peut être efficacement utilisée dans divers domaines : problèmes de malnutrition, dépollution ainsi que la production de l'hydrogène [22].

Cette merveilleuse créature a été décrite pour la première fois par Wittrock et Nordstedt en 1844 [23] sous le nom *Spirulina Jenneri Platensis Nordstedt*.

## **II.2. Utilisations de la spiruline :**

C'est dans les années 1970 que le Docteur Ripley D. Fox encouragea et créa des sites de production de spiruline en Inde, en Afrique, au Vietnam, au Pérou et en Chine. Le but était d'apporter une réponse aux pays du tiers-monde pour lutter contre la malnutrition et la famine, notamment celle des enfants. Elle a été commercialisée pendant de très longue date aux USA, en Europe, au Japon et en Chine, où elle était produite en masse par des grands laboratoires de l'industrie.

Les études scientifiques sur les avantages nutritionnels et thérapeutiques de la spiruline se multiplient et viennent appuyer cet essor. Mais la reconnaissance des vertus de la spiruline se fait attendre et freine son développement dans les pays en développement, où de petites fermes se multiplient pour distribuer la spiruline aux enfants malnutris [24].

## **II.3. Eléments de biologie de la Spiruline :**

### **II.3.1. Généralité sur les Cyanobactéries :**

Le groupe des Cyanobactéries, anciennement appelées algues bleu-vertes puis Cyanophycées, est constitué de bactéries capables de photosynthèse avec production d'oxygène.

Le terme cyanobactérie (*du grec cyano = bleu*) indique la présence dans cet organisme de la phycocyanine, un pigment photosynthétique accessoire bleu [25]. Une des caractéristiques des Cyanobactéries est la présence de thylakoides, siège de la photosynthèse, recouverts de granules protéiques associées à une partie pigmentaire. Cet ensemble constitue les phycobiliprotéines.

---

Outre la photosynthèse, ils assurent deux autres fonctions: la respiration et, chez certaines espèces, la fixation de l'azote atmosphérique.

Les Cyanobactéries peuvent être unicellulaires (*Aphanocapsa raspigellae*) ou filamenteuses; dans ce dernier cas, leurs cellules s'agglomèrent en amas de type colonies maintenues ensemble par une gelée extracellulaire (*Merismopedia affixa*), ou le plus souvent, en filaments composés de cellules alignées que l'on appelle « trichome » non ramifiées (*Spirulina gigantea*, *Nostoc commune*) ou bien en filaments ramifiés (*Rivularia atra*).

La taille des cellules de cyanobactéries varie de 1 à 10 µm. Leur paroi est de type Gram-négatif classique. Les éléments nucléaires des cellules ne sont pas entourés par des membranes nucléaires ; ce sont de vrais procaryotes.

### **II.3.2. Taxonomie :**

Elle appartient donc au domaine des cyanobactéries et se classe parmi les bactéries gram négatives c'est donc un procaryote pourvu de pigments assimilateurs tels que la chlorophylle A, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines. On la classe donc selon Ripley Fox (1999) dans le tableau II. 1.

**Tableau II 1 . Classification de *Spirulina platensis***

<b>Règne</b>	<b>Monera</b>
<b>Sous règne</b>	<b>Pocaryota</b>
<b>Phylum</b>	<b>Cyanophyta</b>
<b>Classe</b>	<b>Cyanophyceae</b>
<b>Ordre</b>	<b>Nostocales</b>
<b>Famille</b>	<b>Oscillatoriaceae</b>
<b>Genre</b>	<b>Arthrospira</b>
<b>Espece</b>	<b>Platensis</b>

### **II.3.3. Morphologie :**

La Spiruline est une cyanobactérie multicellulaire et filamenteuse d'une longueur moyenne d'environ 250 µm. Sous le microscope, *Spirulina* apparaît en tant que filaments bleu-vert mobiles de 10 à 12 µm de diamètre composés de cellules cylindriques disposées dans les trichomes non ramifiés et hélicoïdaux et enroulés en spirale, généralement en 6 ou 7 spires (Figure II.1).

Le système pigmentaire de la Spiruline est constitué de chlorophylle *a*, de pigments hydrosolubles, de phycobilines rouge (phycoérythrine) et bleu (phycocyanine), de caroténoïdes ( $\beta$ -carotène, cryptoxanthine) [26, 23]



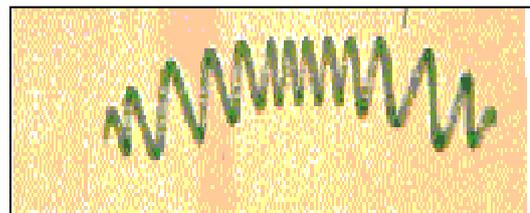
**Figure II 1. Morphologie de la Spiruline au microscope optique (X. 400).**

En ce qui concerne les différentes souches (ou variétés) de spirulines, on distingue les spirulines "spiralées", "ondulées" et "droites".



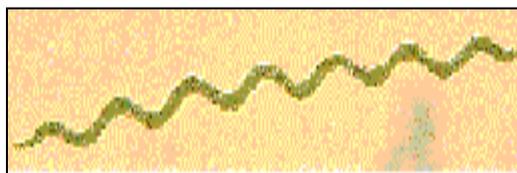
0,02 mm

Forme spiralée de type *Toliara*.



0,1 mm

Forme spiralée de type *Lonar*.



0,1 mm

Forme ondulée de type *Paracas*.



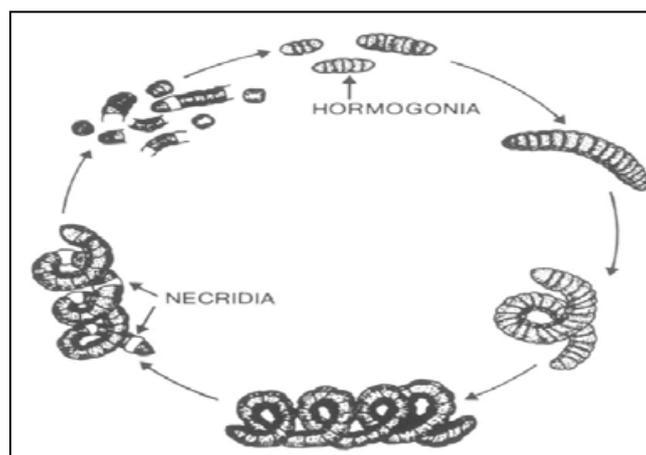
0,1 mm

Forme droite de type *M2*.

**Figure II 2. Les différentes formes de spiruline.**

### **II 3.4. Cycle biologique :**

Le filament de Spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées nécridies. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés hormogonies. Les hormogonies vont croître en longueur par division binaire et prendre la forme typique hélicoïdale. En conditions expérimentales, le temps de génération maximal de la Spiruline est de l'ordre de 7 h (Zarrouk 1966) [28].



**Figure II 3. Cycle de vie de la spiruline.**

### **II.4. Milieu de vie et répartition dans le monde :**

La Spiruline se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales. Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située environ entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud.

Sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande) [28].

---

## **II.5. Pigments :**

La Spiruline contient des chlorophylles dont la chlorophylle *a* (typique des végétaux), des caroténoïdes dont le principal est le  $\beta$ -carotène et des phycobiliprotéines telles la phycocyanine et la phycoérythrine.

Les teneurs en pigments de *Spirulina platensis* apparaissent dans le Tableau II. 2. Ces pigments sont responsables de la couleur caractéristique de certaines espèces de flamants qui consomment cette cyanobactérie dans l'African Valley [28, 24].

## **II.6. Croissance de la spiruline :**

L'environnement doit comprendre une zone de température convenant à la plante, de la lumière fournissant l'énergie pour la photosynthèse et de l'eau. En algoculture, un mouvement de l'eau permet d'assurer une répartition moyenne de la lumière et des éléments nutritifs. Un équilibre acido-basique avec un pH favorables à la plante doit être maintenu et un rythme de récolte/ajout d'éléments nutritifs doit être établi [29].

**Tableau II 2. Teneurs en pigments de matière sèche de la Spiruline.**

<b>Pigments</b>	<b>Teneur en mg/10g</b>
Chlorophylles totales	115
Chlorophylle a	61- 75
Caroténoïdes (orange)	37
Phycocyanine (bleu)	1500- 2000
Phycoérythrine (rouge)	2900- 10000

### **II.6.1. Conditions physique et chimiques de croissance :**

Pour se développer, la Spiruline a besoin d'éléments minéraux simples tels que l'eau, les sels minéraux, le CO<sub>2</sub>, l'oxygène qu'elle puise directement dans son milieu tout en utilisant la lumière solaire comme source d'énergie grâce à son système pigmentaire.

En milieu naturel, lorsque les conditions sont optimales, la spiruline peut se développer en grande quantité et entre alors en compétition avec d'autres organismes.

La spiruline préfère des eaux riches en Na<sup>+</sup> et ne commence à croître d'une manière appréciable qu'au-dessus de 20 °C. La vitesse de croissance est maximale vers 35- 37 °C. Au-delà de cette température, il y a risque de destruction de la souche.

En plus du sel et de la soude, le milieu de culture contient plusieurs oligoéléments pour assurer la croissance de la spiruline: azote, phosphore, potassium sont les trois principaux éléments, mais soufre, magnésium, calcium et fer doivent aussi être ajoutés.

Le tableau II.3 présente quelques éléments chimiques nécessaires à la croissance de la spiruline [26].

### **II.7. Production de la spiruline :**

La production de Spiruline se fait à plusieurs échelles: artisanale, semi-industrielle et industrielle. Les éléments de différenciation de ces modes de production sont la surface totale des bassins de culture ainsi que leurs surfaces unitaires, les moyens et matériaux utilisés, les degrés de technologie et les objectifs. Le processus de fabrication de la Spiruline passe cependant par les mêmes étapes obligatoires, lesquelles seront décrites ci-après, sur la base des méthodes artisanales. Les bassins peuvent être construits en dur, en argile, en bâche plastique, [30, 31].

### **II.8. La récolte de la Spiruline :**

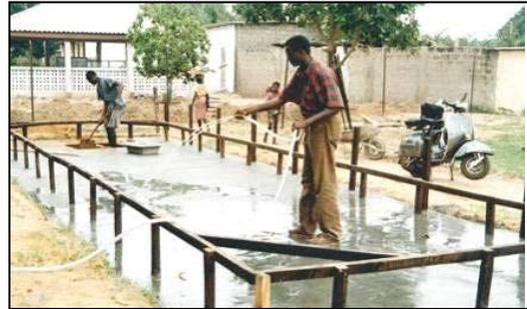
Dans de bonnes conditions, il est possible de récolter chaque jour 1/6 à 1/3 de la culture [26].

**Tableau II 3. Eléments chimiques nécessaires à la croissance de la spiruline.**

<b>Eléments chimiques</b>	<b>Rôle biologique</b>
Potassium et sodium	Régulation de la pression osmotique
Phosphore	Composant de la molécule NADP <sup>+</sup> Accepteur d'énergie dans la photosynthèse
Magnésium	Se trouvant dans la molécule de chlorophylle
Fer	Se trouve dans la molécule le cytochrome qui transfère les électrons dans la chaîne photosynthétique
Calcium	Intervient dans la synthèse de protéines
Manganèse	Donneur d'électrons à l'échelle d'énergie dans la Photosynthèse
Sodium	Activateur d'enzymes
Cuivre, zinc, molybdène Cobalt, les oligoéléments	Dans les vitamines et les enzymes, qui permettent l'édification et l'entretien des molécules essentielles.



**Bâche plastique**



**Armature en bois avec lit de cendre**



**Parpaings revêtus de plastique**



**Béton**

**Figure II 4. Exemples de bassins de culture [18].**

### **II.8.1. La filtration :**

La culture est filtrée à travers deux dispositifs, en général superposés. Le premier est constitué d'une toile fine, dotée d'un maillage à environ 300  $\mu\text{m}$  de vide, qui retient les grumeaux, insectes, larves et feuilles. Le second est un tissu à mailles plus fines, environ 30  $\mu\text{m}$  [32].

### **II.8.2. Le pressage et l'essorage :**

L'opération consiste à enlever le maximum de liquide du milieu de culture. Pour cela, on utilise une presse fabriquée en bois, constituée d'un levier, d'un coffret, d'un support, d'une tablette et d'un contre poids (Figure II.7). Au cours de cette étape, la biomasse humide est enveloppée dans un filtre de 30  $\mu\text{m}$ , puis dans un tissu résistant à la pression provenant de la presse. Elle est ensuite introduite délicatement dans un coffret pour pressage. On obtient ainsi, une biomasse de Spiruline fraîche que l'on peut soit consommer directement, soit sécher pour la conserver.



**Figure II 5. Toile de filtration contenant la spiruline récoltée.**

### **II.8.3. L'extrusion et le séchage :**

La biomasse est extrudée en spaghettis afin de pouvoir la sécher plus facilement. Elle est mise à sécher dans des séchoirs solaires, à gaz ou électriques. La norme de la teneur en eau de Spiruline sèche est inférieure à 10%. En général, la Spiruline vouée à la commercialisation contient environ 7 % d'eau [31, 33].

### **II.9. Stockage et conditionnement :**

Les contenants doivent être stockés dans un lieu clair et à l'ombre. Il est prudent de ne pas les stocker en dessous de 18 °C pendant de longues périodes car les risques de contamination augmentent [34, 35]

La Spiruline peut être conditionnée dans un sachet à l'abri de la lumière sous diverses formes selon l'appréciation des consommateurs :

- de brindilles,
- de la poudre,
- de gélules et de comprimés

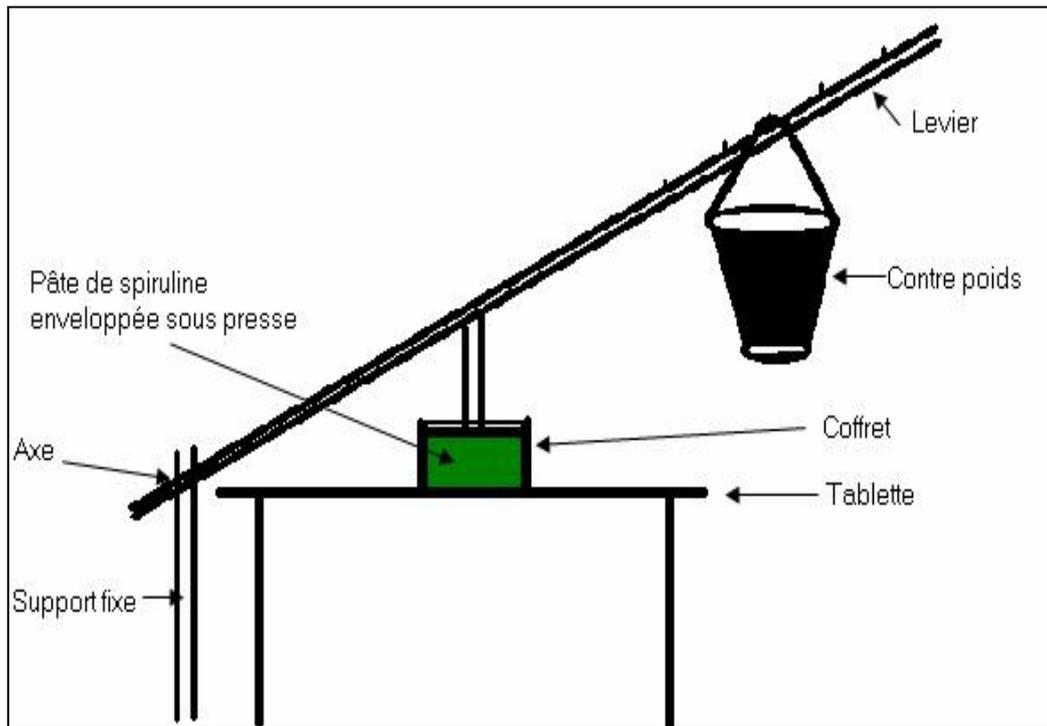


Figure II 6. Schéma du système de pressage.

#### **II.10. Les biens faits de la spiruline :**

Beaucoup de choses ont été écrites sur les bienfaits pour la santé offerts par la spiruline. Les données sur ses bienfaits ne sont pas acceptées par des autorités médicales et nutritionnelles. La spiruline présente des effets miraculeux sur la santé humaine et le traitement de certaines maladies, Parmi les principaux bienfaits [23] :

- Elle est utilisée comme complément alimentaire ;
- Elle peut aider naturellement à avoir un bon système immunitaire ;
- Elle contient des vitamines en particulier la B12 ;
- Elle a la capacité de guérir les oreillons, l'ulcère, le diabète, l'hypertension ;
- Elle permet de ralentir le phénomène de vieillissement ;
- Elle a une action de stimulation de la production de lactobacilles (micro-organismes qui améliorent la digestion et également l'absorption intestinale),... [35].

#### **II.11. La spiruline et la malnutrition :**

Les enfants souffrant de malnutrition ont été sauvés en recevant de petite quantités (jusqu'à 10 grammes par jour) de spiruline en poudre mélangée dans une bouteille liquide de céréales. En donnant à ces enfants de petite dose de spiruline en même temps que les sels de

---

réhydratation. De cette façon, les enfants non seulement recevraient l'eau qui leur sauve la vie, les sels et le sucre, mais aussi les vitamines essentielles, les lipides et minéraux, plus une petite quantité de protéine de bonne qualité.

Cet additif facilement assimilable commencerait le processus de régénération sur le champ, aidant à limiter les dégâts de malnutrition sans, en aucun cas, charger les systèmes digestif, circulatoire ou respiratoire de l'enfant [24].

## **II.12. Problèmes rencontrés lors de la culture de la Spiruline :**

Au cours de la culture, plusieurs paramètres sont à contrôler régulièrement. Les cinq premiers cités doivent être contrôlés quotidiennement [35].

- La température du milieu ;
- Le pH du milieu ;
- La salinité du milieu ;
- Le niveau d'eau des bassins ;
- La concentration en spiruline ;
- La fréquence d'agitation ;
- Le degré d'ensoleillement / ombrage des bassins ;
- L'aspect des filaments de spiruline ;
- L'apparition d'anomalies : changement de couleur du milieu de culture, apparition d'une odeur forte et désagréable, formation d'amas, contamination par des bactéries et/ou des métaux lourds [36].

## **II.13. Photosynthèse de la spiruline :**

La spiruline contient de nombreux pigments photosynthétiques pouvant être activés par la lumière. Ces derniers servent ainsi d'antennes pour recueillir l'énergie lumineuse totale et la transmettre aux centres de réaction de la molécule de chlorophylle. De la sorte, la spiruline présente donc un processus photosynthétique similaire à celui des plantes supérieures [37].

### **II.13.1. Mécanisme de la photosynthèse :**

La photosynthèse est le processus biologique par lequel l'énergie solaire est utilisée par des cellules vivantes pour leurs besoins énergétiques. Ce phénomène très complexe est réalisé par les plantes mais aussi par les algues et par de nombreuses bactéries. Parmi ces dernières, les cyanobactéries mettent en œuvre le même type de photosynthèse que les plantes et les algues, qui les rendent capables d'oxyder l'eau et de dégager de l'oxygène.

---

L'ensemble des étapes de la photosynthèse se déroule dans les chloroplastes, organites internes aux cellules végétales. Les chloroplastes, de même que les cyanobactéries, contiennent des membranes spécialisées dans lesquelles se trouvent toutes les structures moléculaires nécessaires aux premières étapes de la photosynthèse. Ces membranes sont organisées en structures fermées ; des sortes de vésicules aplaties nommées thylakoides dans les chloroplastes. La lumière solaire visible est absorbée par des molécules colorées principalement des chlorophylles, le pigment universel de la photosynthèse. Ces pigments photorécepteurs sont fixés sur des protéines, elles-mêmes incluses pour la plupart dans la membrane photosynthétique. Ces protéines et leurs pigments sont associés en vastes ensembles regroupant environ 300 chlorophylles, et appelés photosystèmes.

### **II.13.2. Les différentes étapes de la photosynthèse :**

La photosynthèse s'effectue en deux phases complémentaires:

- Une phase photochimique durant laquelle l'énergie de la lumière, captée par les chlorophylles, est convertie en énergie chimique conservée dans l'ATP. Ce processus conduit également à la formation de coenzymes réduits (NADPH) ;
- Une phase chimique non photo-dépendante ou cycle de Calvin. Durant cette phase, le carbone du dioxyde de carbone est assimilé, ce qui aboutit à la synthèse des composés organiques.

#### **II.13.2.1. La phase lumineuse de la photosynthèse :**

Cette phase est réalisée au niveau de la membrane des thylakoides. Les photons excitent les antennes des pigments et l'énergie migre de pigment en pigment vers les centres réactionnels photochimique, photosystème I (P700) et photosystème II (P680).

En premier lieu le photosystème II absorbe l'énergie lumineuse qui fera monter les électrons dans l'échelle des potentiels ou ils passeront par une série de molécules porteuses dans le photosystème I. Ces électrons sont issus de la photolyse de l'eau d'après la réaction suivante:



Le photosystème I prend maintenant le relais. Son centre de réaction P700 a reçu de l'énergie par l'antenne chlorophyllienne et un électron lui a été envoyé par le photosystème II. Cet électron étant excité passe par une série d'accepteurs, jusqu'à ce qu'il arrive au dernier accepteur qui est le  $\text{NADP}^+$  lui-même réduit en NADPH comme montre la Figure. II. 8.

Au même temps que le transfert d'électrons du PSII vers PSI, du triphosphate d'adénosine (ATP) est formé à partir du di-phosphate d'adénosine (ADP) par gain de deux électrons et de deux protons. Ces derniers vont activer la pompe à  $H^+$  qui libère de l'ATP [24, 38].

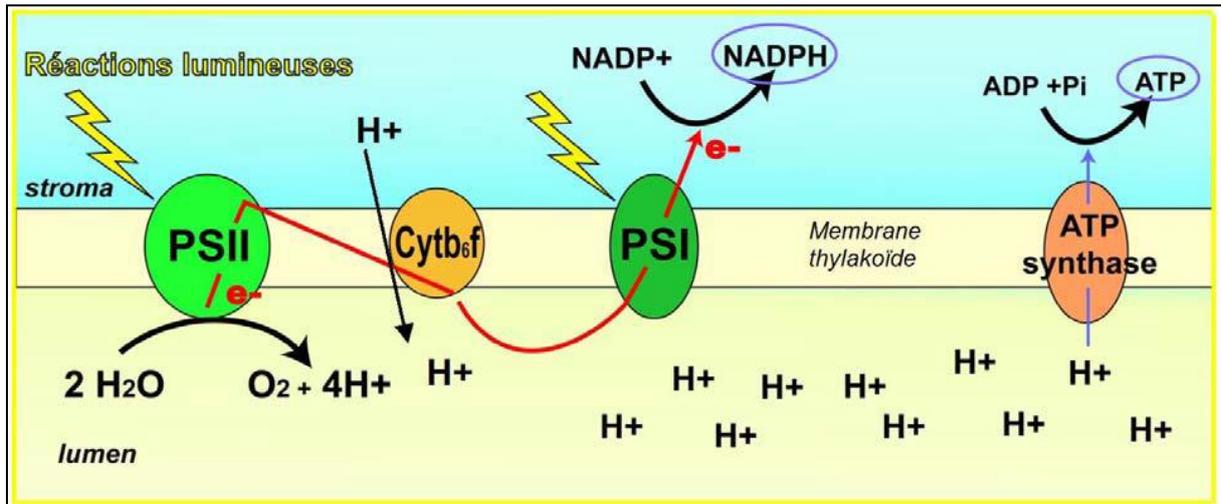


Figure II 7. Schéma de la photosynthèse.

### II.13.2.2. La phase obscure de la photosynthèse et la fixation du carbone :

L'énergie chimique ainsi produite par les processus membranaires de la photosynthèse va rendre possibles les réactions de synthèse de molécules organiques, dont celles de glucides, au sein de la cellule. Ces réactions exigent un apport d'énergie et forment le *cycle de Calvin* (Figure II. 9). La fixation du carbone est un processus grâce à lequel un atome de carbone inorganique ( $CO_2$ ) est converti en carbone réduit organique (carbohydrates). Cette deuxième partie de la photosynthèse se déroule dans le stroma du chloroplaste et demande l'énergie sous forme d'ATP et de NADPH [39].

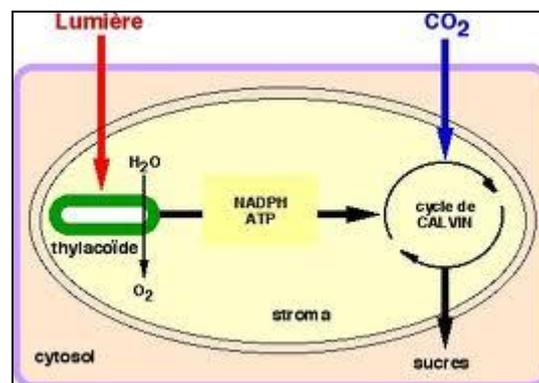


Figure II 8. Cycle de Calvin.

---

## Chapitre III : *Le bio-hydrogène*

### **Introduction**

Pas moins de 80% de la demande énergétique mondiale est assurée par les énergies fossiles. Ces dernières épuisables, sont aussi génératrices de graves problèmes environnementaux liés aux changements climatiques et aux dégagements dans l'atmosphère de polluants organiques et des gaz à effet de serre (NO<sub>x</sub>, CO<sub>2</sub>, CO,...).

L'hydrogène n'est pas lui-même une source d'énergie primaire, il est plutôt produit à partir d'autres sources. Il est d'autant plus intéressant lorsque sa production est de source énergétique propre et renouvelable [40].

La production biologique repose sur l'utilisation d'organismes vivants capables, grâce à leur efficacité photochimique, de convertir l'énergie solaire en bio hydrogène. La production biologique s'opère dans les conditions ambiantes de température et de pression et ne nécessite aucun apport énergétique. Bien plus, elle est sans danger sur l'environnement et permet la mise en valeur de certaines ressources naturelles trop souvent négligées [41].

Les dernières avancées au niveau de la valorisation énergétique de la biomasse laissent entrevoir une place non négligeable pour la production de bio-hydrogène par fermentation de substrats riches en composés carbohydrates tels que les sous-produits d'origine agricole ou eaux résiduaires des industries agro-alimentaires. Un tel procédé appelé dark fermentation permet de coupler épuration d'une charge organique et production d'énergie renouvelable.

---

### **III.1. Différents voies de production de l'hydrogène:**

La production biologique de l'hydrogène est définie comme le résultat du métabolisme d'un organisme vivant qui libère, dans des conditions données, de l'hydrogène gazeux comme métabolite secondaire. Cette voie de production écologique n'a besoin que de lumière solaire et d'eau et ne dégage pas de gaz à effet de serre (CO<sub>2</sub>). Les principaux inconvénients de cette voie est qu'elle utilise un mécanisme physiologique complexe et la production est limitée car l'hydrogénase est très sensible à l'oxygène [41].

#### **III.1.1. Bio-photolyse de l'eau par les algues et les cyanobactéries :**

La production de l'hydrogène par bio-photolyse repose sur le principe de la photosynthèse connue chez toutes les plantes. Le métabolisme des organismes utilisés est réorienté vers la production d'hydrogène au lieu de la synthèse des hydrates de carbone et la formation de la biomasse.

##### **III.1.1.1 La bio-photolyse directe :**

La photosynthèse implique l'absorption de la lumière par deux photosystèmes (Photosystème I: PSI et Photosystème II: PSII) distincts opérant en série pour la dissociation de deux molécules d'eau et libérant de l'oxygène. Ainsi des protons sont libérés et seront utilisés soit pour réduire le CO<sub>2</sub> (Cycle de Calvin) soit sont eux-mêmes réduits en hydrogène gazeux par une enzyme appelée hydrogénase dans des conditions spécifiques en anaérobiose. Cette dernière absente chez les plantes supérieures et spécifiques aux micro-algues, quelques macro-algues vertes et les cyanobactéries, peut réduire les protons en hydrogène gazeux sous certaines conditions. Ce phénomène a été rapporté pour la première fois par Gaffron et Rubin [42], puis repris par plusieurs chercheurs. Ces auteurs expliquent que la bio-décomposition directe de la molécule d'eau par l'énergie des PSI et PSII libère des électrons qui sont transportés via des porteurs (Ferrédoxine: Fd) jusqu'à une hydrogénase les réduisant en gaz. L'oxygène résiduel est alors consommé par la respiration et le milieu devient anoxique, ce qui permet la production d'hydrogène. Cependant, le rendement de cette production est tributaire du taux d'oxygène dans le milieu. Des niveaux d'oxygène  $\geq 2$  % inhibe l'activité de l'hydrogénase, ce qui diminue la production de l'hydrogène [45]. Des conditions d'anaérobiose suivies d'une période d'éclairement suffisante, sont déterminantes pour une production soutenue.

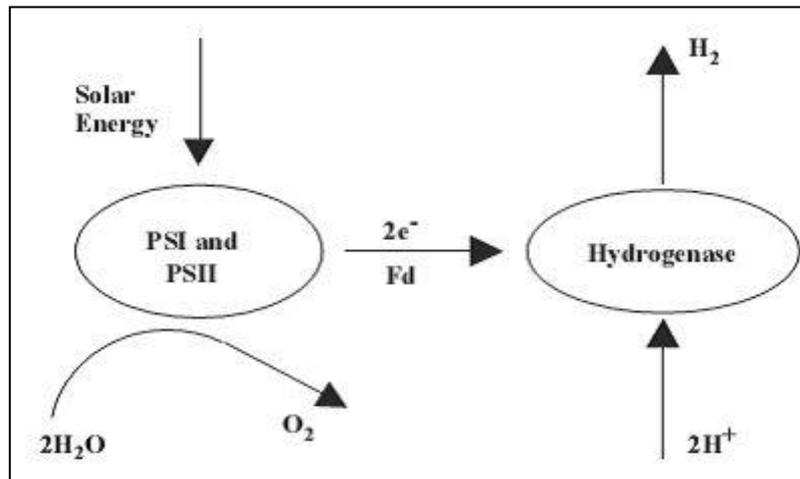


Figure III 1. La bio photolyse directe [45].

### III.1.1.2. La bio-photolyse indirecte :

Cette méthode est utilisée par les cyanobactéries et repose sur le fait de la séparation entre la production de l'oxygène et la production de l'hydrogène [41]. Dans la première phase, les conditions sont favorables à la photosynthèse pour permettre ainsi la croissance et l'accumulation des réserves. Dans une deuxième phase, il se produit une fermentation anaérobie en obscurité et enfin, dans une dernière phase et en présence de lumière, il y a production d'hydrogène [41] (Figure III. 2).

Les cyanobactéries appelées aussi bactéries fixatrices d'azote, sont capables de produire de l'hydrogène via la photosynthèse en impliquant un complexe enzymatique faisant intervenir en plus de l'hydrogénase, une nitrogénase en fonction du type de cyanobactérie [44].

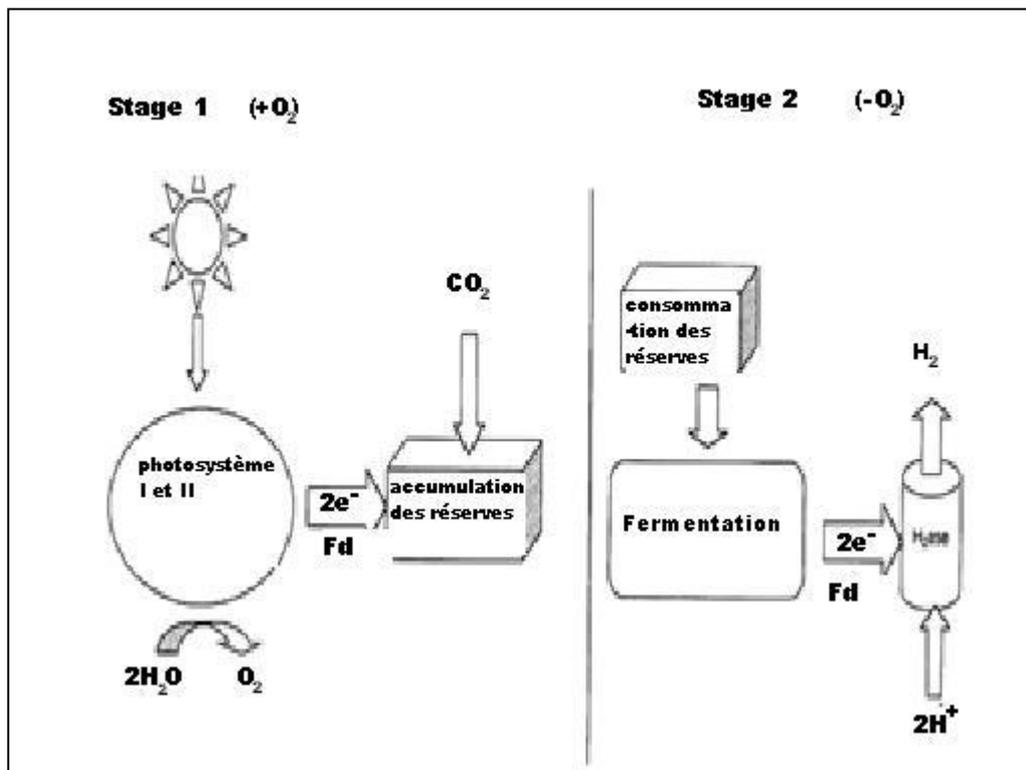


Figure III 2. La bio-photolyse indirecte [44].

### II.1.2. La décomposition des composés organiques par les bactéries photosynthétiques :

Dans les bactéries pourpres non sulfureuse, l'énergie lumineuse n'effectue pas la photolyse de l'eau et donc il n'y a pas de production de  $O_2$ . Pour ce procédé on utilise les substances organiques à bas poids moléculaire comme source d'hydrogène en particulier des acides organiques et donc la réaction est appelée photofermentation.

Les bactéries photo-trophiques peuvent dégrader les composés organiques issus de nombreux substrats dérivés de déchets, en utilisant un large spectre visible et en garantissant un haut rendement de production de l'hydrogène [45, 46].

Cette production d'hydrogène est associée à l'action de la nitrogénase, qui en absence d'azote, en condition d'anaérobie et en présence de lumière, catalyse la réduction des protons en hydrogène [43].

L'équation de conversion d'un substrat organique en hydrogène est la suivante :



Cette méthode de production est intéressante puisque l'oxygène n'est pas un facteur limitant. Il y a plusieurs inconvénients dans ce type de production d'hydrogène comme l'utilisation de la nitrogénase qui nécessite une grande d'énergie sous forme d'ATP [41, 48].

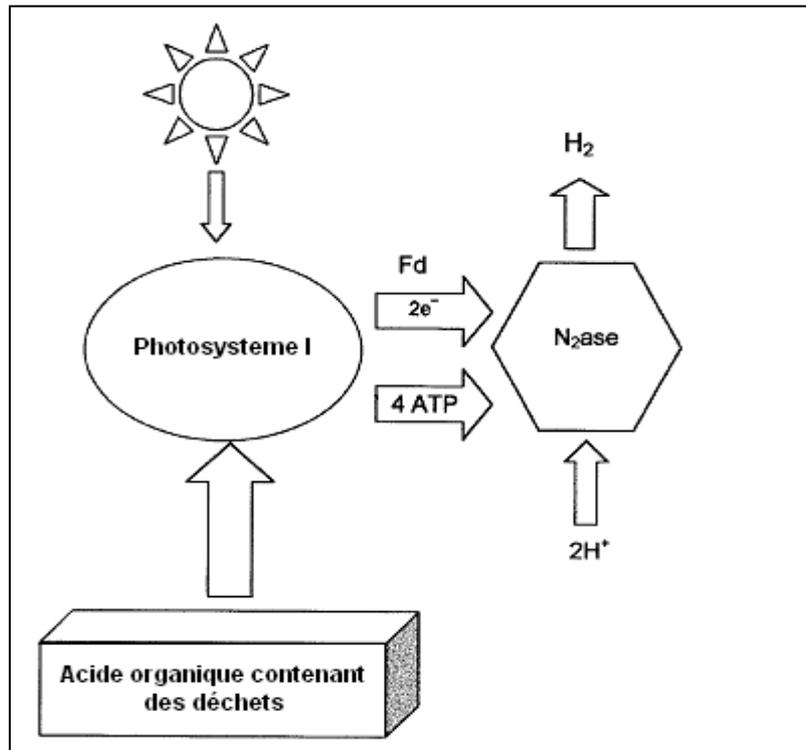


Figure III 3. La photo-fermentation

### II.1.3. La fermentation à l'obscurité :

La fermentation à l'obscurité est le bioprocédé théoriquement le plus simple à mettre en œuvre et celui qui donne, de fait, avec certaines bactéries comme les clostridies qui ont des hautes vitesses de déroulement d'hydrogène. La production d'hydrogène par les substrats organiques est en mode continu [47].

Cette méthode de production d'hydrogène se fait par des bactéries fermentatives qui dégradent dans l'obscurité, les composés organiques issus de l'hydrolyse des déchets de la biomasse, riche en glucose selon les réactions suivantes:



### II.1.4. Système hybride utilisant les bactéries photosynthétiques et anaérobiques :

Dans les systèmes hybrides, les deux types de microorganismes (photosynthétiques et non photosynthétiques) sont impliqués dans le processus de production de l'hydrogène [47].

En effet, certaines bactéries, telle que *Clostridium* peuvent digérer à l'obscurité et en anaérobiose, les carbohydrates produits par des micro-algues (en présence de lumière) en acides organiques (Figure III. 5).

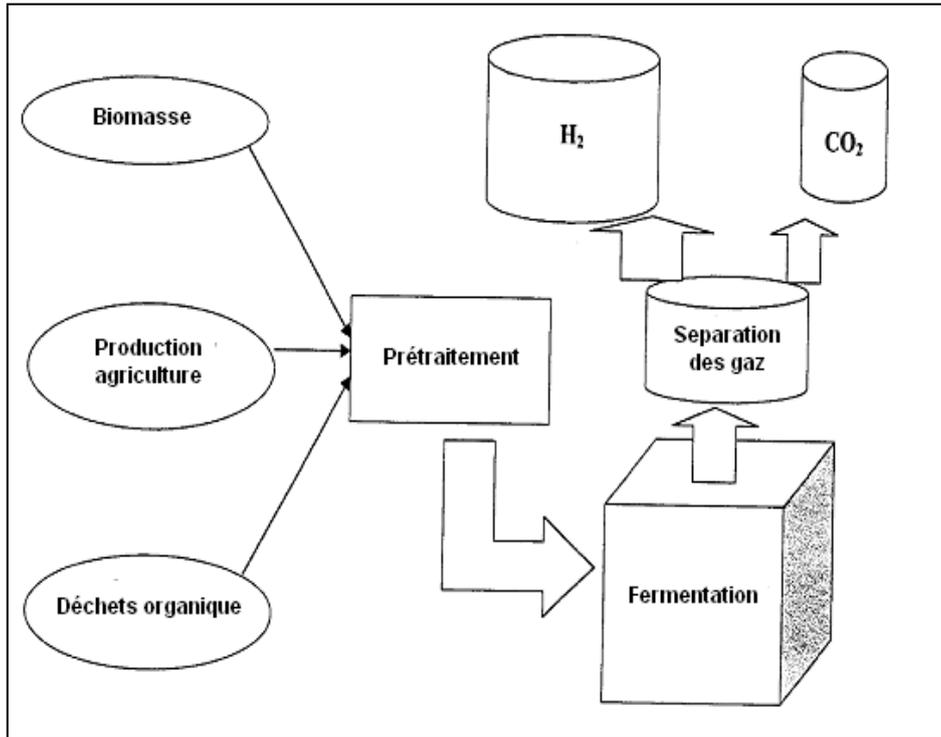


Figure III 4. Hydrogène produit par fermentation à l'obscurité

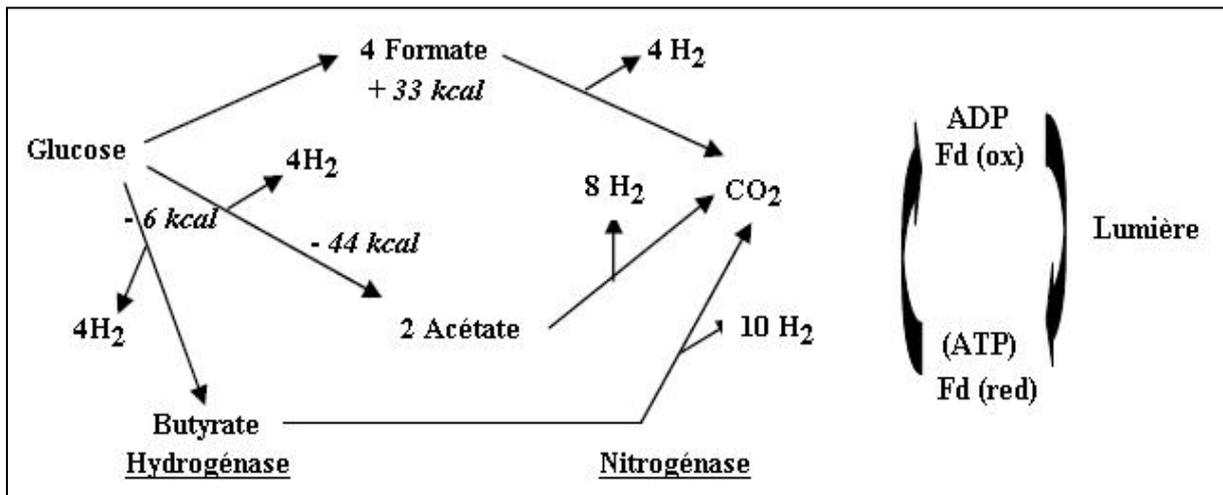


Figure III 5. . Mécanisme biochimique de la décomposition du glucose par des microorganismes photosynthétiques et des bactéries anaérobiques pour la production hybride de l'hydrogène.

### **III.2. Avantages et inconvénients des voies métaboliques de production d'hydrogène :**

Les avantages et les inconvénients des différents processus biologiques générateurs d'hydrogène sont consignés dans le tableau III.1 [48].

**Tableau III 1. Avantages et inconvénients des processus biologique générateurs de H<sub>2</sub>.**

<b>Processus</b>	<b>Avantages</b>	<b>Inconvénients</b>
Bio-photolyse directe	Production d'hydrogène à partir de l'eau.	Présence de lumière. Production d'inhibiteur de production (O <sub>2</sub> ).
Bio-photolyse indirecte	Production d'hydrogène à partir de l'eau. La nitrogénase a la capacité de produire de l'hydrogène et la fixation d'azote moléculaire.	Présence de lumière. Présence d'une hydrogénase consommatrice d'hydrogène. Production d'inhibiteur de production (O <sub>2</sub> ).
Photo-fermentation	Production d'hydrogène en présence de plusieurs substrats carbonés. Pas de production d'oxygène.	Présence de lumière.
Fermentation à l'obscurité	Une production sans lumière. Production d'hydrogène en présence de plusieurs substrats carbonés. Pas de production d'oxygène.	Les produits de fermentation doivent subir un traitement pour éviter les risques de pollution d'eau. Etape de séparation des gaz produit (CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> )

### **III.3. Production de l'hydrogène par les cyanobactéries :**

Chez certains micro-organismes photosynthétiques, comme les algues vertes unicellulaires ou cyanobactéries, ces voies de fermentation sont également présentes de surcroît, l'énergie solaire peut stimuler la production d'hydrogène, soit à partir de matière organique dans le cas de bactéries photosynthétiques anoxygéniques (on parle alors de « photo-fermentation »), soit à partir d'eau dans le cas de certaines cyanobactéries Et micro-algues (biophotolyse de l'eau). Ces différents modes de production microbienne ont des applications potentielles, mais leur mise en œuvre se heurte à différents types de verrous biologiques et technologiques, dont la nature dépend des caractéristiques des micro-organismes considérés. La synthèse d'hydrogène

---

couplée à la photosynthèse oxygénique permet d'envisager des modes de production propres et renouvelables, utilisant l'eau et l'énergie solaire comme principales ressources [49, 50].

### **III.3.1 Les différents types de cyanobactéries :**

#### **a) Les cyanobactéries non-fixatrices d'azotes :**

C'est le cas de la spiruline, la production d'hydrogène et celle de l'oxygène sont séparées temporellement car elles ne produisent l'hydrogène qu'en anaérobiose par fermentation obscure des réserves glucidiques photosynthétiques. Lors de la transition à l'obscurité, la génération de l'oxygène par les photosystèmes cesse et l'oxygène résiduel est consommé par la respiration pour permettre ainsi la production de l'hydrogène.

#### **b) Les cyanobactéries fixatrices d'azote:**

Cependant chez les cyanobactéries fixatrices d'azote (*Nostoc*, *Anabaena spp*), la production d'hydrogène et celle de l'oxygène sont séparées spatialement par cloisonnement. En effet, le glycogène est accumulé dans les akinètes végétatives et il est ensuite fermenté dans les hétérocystes anaérobiques afin de produire l'hydrogène [51, 52].

### **III.3.2. Mécanisme de production d'hydrogène chez les cyanobactéries :**

Les bactéries photosynthétiques n'utilisent pas l'eau comme composé initial pour la production d'hydrogène, mais utilisent des acides organiques, l'équation ci-dessous montre la production d'hydrogène à partir du lactate par les bactéries photosynthétiques, la valeur énergétique en hydrogène est de  $8.5 \text{ kJ mol}^{-1}$  hydrogène.

Contrairement à l'hydrolyse des algues, la quantité d'énergie lumineuse nécessaire à la production d'hydrogène par les bactéries photosynthétiques à partir des substances organiques est beaucoup plus faible, cependant il y a plusieurs types de bactérie photosynthétique et également beaucoup de types de substance organique utilisés destinés à la production de l'hydrogène [53].

Donc la voie métabolique de production d'hydrogène on a travaillé sur la spiruline afin d'optimiser la quantité d'hydrogène produite en jouant sur plusieurs paramètres optimaux. Pour pouvoir exploiter cette voie de production, il est donc nécessaire de trouver les protocoles de mise en culture favorisant un dégagement d'hydrogène. Pour cela, il est important de connaître les mécanismes et les enzymes responsables de la production d'hydrogène chez les cyanobactéries [54, 55].

---

### **III.3.3. Enzymes productrices d'hydrogène :**

Chaque méthode de production du bio-hydrogène dépend du type d'enzymes responsables et présentes dans le microorganisme en question. Ces enzymes catalysent une réduction très simple :



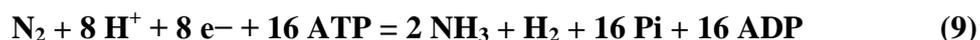
Les enzymes les plus efficaces pour produire de l'hydrogène sont l'hydrogénase et la nitrogénase. En effet, toutes ces enzymes sont généralement sensibles à l'oxygène et doivent être séparées soit spatialement ou temporellement de celui-ci afin de pouvoir générer l'hydrogène à des taux optimaux [52].

#### **a) L'hydrogénase :**

Le terme hydrogénase a été proposé en 1931 par Stephenson et Stickland [58] pour désigner l'enzyme qui, chez E. Coli, pouvait produire de l'hydrogène et l'utiliser pour réduire différents substrats. Cette hydrogénase a été trouvée dans les thylakoides des cyanobactéries, capables d'utiliser les électrons de la chaîne de transport photosynthétique pour réduire les protons en H<sub>2</sub>. C'est-à-dire que cette hydrogénase est capable de capturer l'hydrogène à de basses pressions partielles, réduisant un électron accepteur de haut potentiel (au niveau des couples de NAD/NADH, ou même à FAD/FADH)

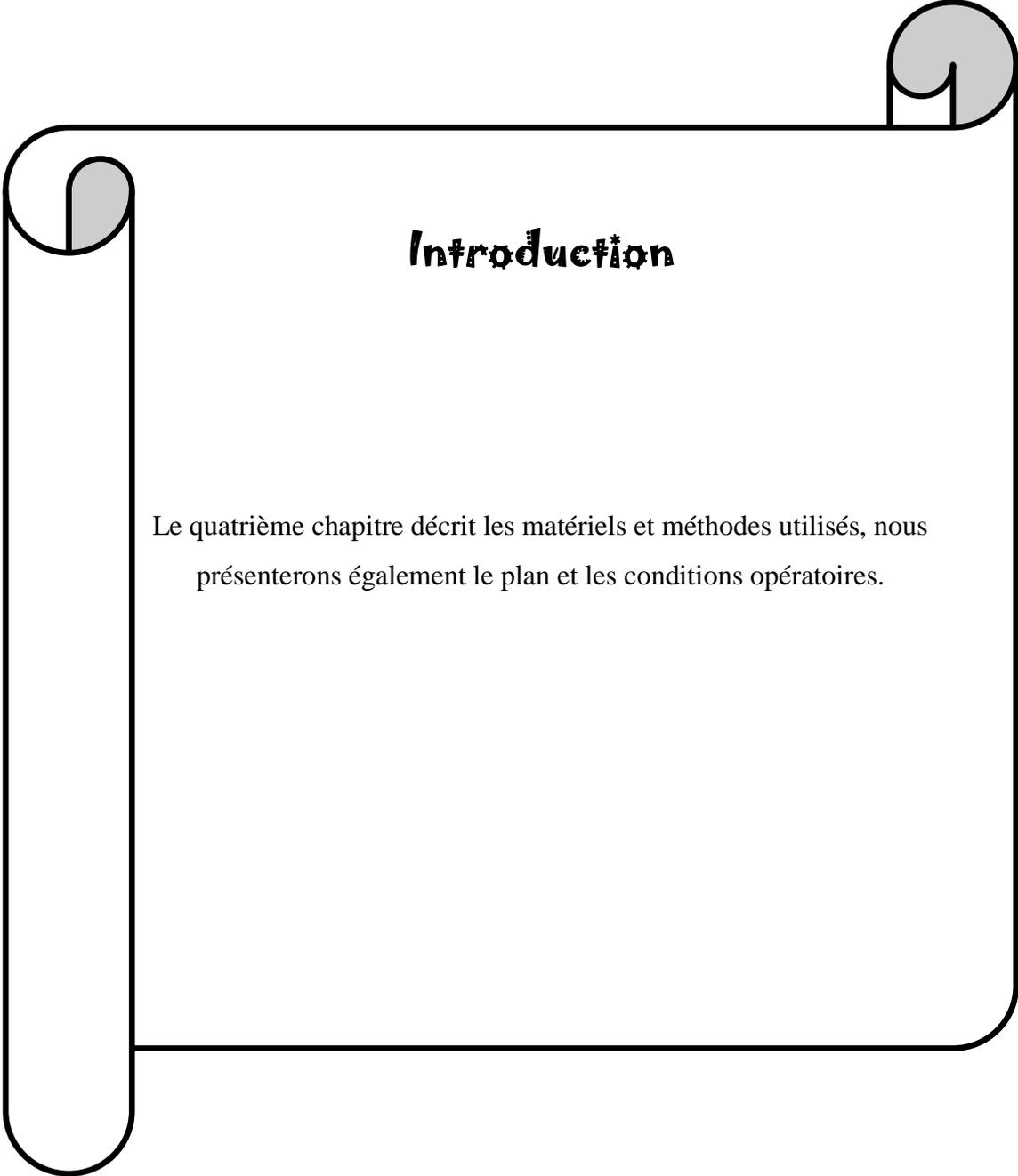
#### **b) Nitrogénase :**

Les nitrogénases sont les principales enzymes productrices d'hydrogène. On les trouve dans les cyanobactéries hétérocystes. Les nitrogénases fixent l'azote atmosphérique le réduisent en ammoniacque et génèrent ainsi de l'hydrogène. La formation de l'ammoniacque par la Nitrogénase est donc parallèle à la production du gaz d'hydrogène avec une stœchiométrie de 2 :1 selon la réaction suivante [52, 53]



---

**Chapitre IV :**  
*Matériels et méthodes*



**Introduction**

Le quatrième chapitre décrit les matériels et méthodes utilisés, nous présenterons également le plan et les conditions opératoires.

---

## **IV.1. Matériels et méthodes pour la croissance de la souche :**

### **IV.1. Micro-algue utilisée :**

Le micro-organisme végétal sélectionné pour les besoins de cette étude est l'algue bleue-verte *Spirulina*. Le prélèvement de la souche mère de *Spirulina* a été effectué dans la région de Tamanrasset au niveau de la *Guelta* du palmier, situé à 1 824 m d'altitude 23°N., 5°E., dans des conditions aseptiques pour éviter toute contamination. Le transport des échantillons a été assuré, de manière à éviter tout contact avec l'air extérieur, dans des récipients stériles et à basse température.

La souche a été entretenue au Laboratoire de Génie de l'Environnement par repiquages successifs dans des flacons de 500 mL contenant 200 mL d'un milieu nutritif adéquat à sa croissance.

### **IV.1.2. Culture de la spiruline :**

Le milieu de culture utilisé est une solution liquide constituée d'eau distillée et de sels avec un pH compris entre 9,5 et 10 [4]. Il s'agit du milieu Zarrouk (1966) comportant des minéraux onéreux dont plusieurs sont en excès (Tableau IV.1). Ce milieu renferme tous les éléments nutritifs nécessaires à la croissance de la spiruline et doit être conservé à l'abri de la lumière et ensemencé par des quantités de spirulines récoltées par filtration à partir d'une culture jeune. A 1 L de la composition ci-dessous, il est ajouté 1 mL de chacune des solutions d'oligo-éléments A<sub>5</sub> et B<sub>6</sub>. [23]

Le milieu Zarrouk ainsi préparé est ensuite stérilisé à l'autoclave à 120 °C pendant 20 min.

### **IV.1.3. Matériels utilisés :**

Au cours de notre étude expérimentale, nous avons eu recours à l'utilisation du matériel et de l'appareillage suivants:

- pH mètre, HANNA Instruments ;
- Pompe d'aération de type CHAMPIONR CX-0088 ;
- Luxmètre Testo R 545 ;
- Spectrophotomètre UV-Visible, SHIMADZUR ;
- Etuve ;
- Balance de précision, OHAUSR.

#### IV.1.4. Condition de croissance de la souche de spiruline :

Les cultures de *Spirulina* sont réalisées au Laboratoire dans des flacons de 500 mL dans un carton couvert de polyester et cela dans le but assurer les conditions d'éclairage, de température et de débit d'air identiques en tout point de la solution (Figure IV. 1)

L'éclairage permanent est contrôlé à l'aide d'une lampe blanche fluorescente de différentes intensités lumineuse allant de 1000, 1500, 2000, 3000 et 4000 lux.

**Tableau IV 1.. Composition chimique du milieu Zarrouk.**

<b>Composés</b>	<b>Teneur en (g. L<sup>-1</sup>)</b>
<b>NaHCO<sub>3</sub></b>	<b>16.80</b>
<b>K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub></b>	<b>0.50</b>
<b>NaNO<sub>3</sub></b>	<b>2.50</b>
<b>K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	<b>1.00</b>
<b>NaCl</b>	<b>1.00</b>
<b>MgSO<sub>4</sub>. 7 H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.20</b>
<b>CaCl<sub>2</sub></b>	<b>0.04</b>
<b>FeSO<sub>4</sub>.7 H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.01</b>
<b>EDTA</b>	<b>0.08</b>

**Tableau IV 2. Composition chimique de la solution A5.**

<b>Oligo-éléments</b>	<b>Teneur (g. L<sup>-1</sup>)</b>
<b>H<sub>3</sub>BO<sub>4</sub></b>	<b>2.86</b>
<b>MnCl<sub>2</sub>. 4 H<sub>2</sub>O</b>	<b>1.80</b>
<b>ZnSO<sub>4</sub>. 7 H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.22</b>
<b>CuSO<sub>4</sub>. 7 H<sub>2</sub>O</b>	<b>0.08</b>
<b>MoO<sub>3</sub></b>	<b>0.01</b>

**Tableau IV 3. Tableau IV. 3. Composition chimique de la solution B6.**

Oligo- éléments	Teneur (g. L <sup>-1</sup> )
K <sub>2</sub> Cr(SO <sub>4</sub> ). 24 H <sub>2</sub> O	960 × 10 <sup>-4</sup>
NiSO <sub>4</sub> . 7 H <sub>2</sub> O	477 × 10 <sup>-4</sup>
Ti(SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	400 × 10 <sup>-4</sup>
NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	229 × 10 <sup>-4</sup>
Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub>	179 × 10 <sup>-4</sup>
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> . 6 H <sub>2</sub> O	44 × 10 <sup>-4</sup>

Un programme spécifique assure 12 h de lumière et 12 h d'obscurité à la souche. La température est maintenue à une valeur optimale de 32 °C. L'agitation des cultures est assurée par barbotage à l'air durant 1 minute pour chaque heure à l'aide de pompes à air.



**Figure IV 1. Enceinte maintenant les cultures dans les conditions favorables à sa croissance.**

#### **IV.1.5. Ensemencement de la culture à partir de la souche mère :**

La culture de la spiruline débute par un ensemencement réalisé par dilution d'un inoculum, 100 % spirulé de grande taille, d'un vert tirant vers le bleu-vert tout en respectant les mêmes conditions physiques. Après 6 à 8 jours, un dédoublement est réalisé par repiquage dans 200 mL de milieu de culture.

---

La filtration de la biomasse optimale de spiruline est réalisée à l'aide d'un papier filtre afin de renouveler la souche (Figure IV. 2).

#### IV.1.6. Concentration de la biomasse :

La concentration de la biomasse consiste en une lecture d'absorbance à 618 nm par spectrométrie, de type mini 1240 SHIMADZU, d'une culture de spiruline. La concentration de la biomasse ( $C_b$ ) exprimée en g/L est déterminée à partir l'équation de Beer Lambert:

$$k L C_b = \text{Log } I_0/I \quad \text{Equation (1)}$$

Où:

$I_0$  : Intensité faisceau lumineux monochromatique incident ;

$I$  : Intensité faisceau lumineux ;

$L$  : Epaisseur de la cuve ;

$K$  : Coefficient d'extinction moléculaire ;

$C_b$  : Concentration du corps absorbant dans la solution.



**Figure IV 2. Filtration de la culture.**

#### IV.1.7. Courbe étalon :

Dans le but d'obtenir une courbe étalon de la spiruline, nous avons établi le lien entre la densité optique et le poids sec de l'algue qui représente la concentration cellulaire. A cet effet, un volume connu de culture est filtré puis placé dans une étuve à 105 °C pendant 2 h. Ayant

---

déjà pesé le papier filtre vide, après 5 h de temps à la sortie de l'étuve, les papiers filtres sont de nouveau pesés. La différence de masse permet de déterminer la masse sèche.

#### **IV.1.8. Contrôle de la contamination de la souche :**

Il est bien connu que la spiruline ne se contamine pas facilement par d'autres micro-organismes et ce, du fait de son pH élevé (pH = 9) qui inhibe la croissance de la plupart des contaminants.

Par ailleurs, il a été signalé le risque que certains microbes pathogènes introduits dans des cultures de spiruline sans doute par suite d'une mauvaise observation des règles d'hygiène deviennent résistants aux pH élevés, tels que les streptocoques, les chlorelles, etc. Ceci nous à amener à effectuer régulièrement des observations au microscope optique avec agrandissement X 40 tout en stérilisant la verrerie et en utilisant des filtres.

## **IV.2. Production de l'hydrogène par la spiruline :**

Nous avons rapporté dans la partie bibliographique que les cyanobactéries sont capables de produire l'hydrogène par photolyse.

La spiruline est une cyanobactérie filamenteuse non fixatrice d'azote apte à produire de l'hydrogène en passant par une phase obscure et une phase lumineuse.

#### **IV.2.1. Méthodologie :**

Le milieu de production est le milieu de croissance Zarrouk exempt d'azote ( $0.005 \text{ g. L}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$ ). Nos expériences ont été effectuées dans deux types de bioréacteurs avec différents diamètres dans lesquels un volume de biomasse est introduit sous des conditions d'anaérobiose. Les bioréacteurs ont été bien fermés pour empêcher toute contamination par de l'air.

L'oxygène dissous dans le milieu est éliminé par ajout d'une faible quantité de di thionate de sodium,  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ . Le milieu est également barboté à l'azote pendant 30 min pour chasser l'oxygène pouvant inhiber la production d'hydrogène (IV. 3).

Les flacons ont été ensuite incubés dans l'étuve, pendant 24 h, afin d'assurer l'obscurité et une température de  $32 \text{ }^\circ\text{C}$  puis placés dans l'enceinte de culture (Figure IV. 1) sous différentes intensités lumineuses 1500, 3250 et 5000 Lux.

---

Nous procédons par la suite à la récupération de l'hydrogène via un flacon rempli d'eau qui communique à la fois avec le flacon contenant la biomasse et une burette (Figure IV. 4).

#### **IV.2.2. Configuration géométrique du photo-bioréacteur**

La géométrie du photo-bioréacteur dépendra principalement du volume fixé pour la culture, l'homogénéité et surtout l'accès à la lumière. Pour ce faire, deux types de photo-bioréacteurs ont été envisagés:

- Flacon cylindrique de 500 mL avec une surface spécifique de  $50 \text{ m}^{-1}$  ;
- Flacon cylindrique de 250 mL avec une surface spécifique de  $68 \text{ m}^{-1}$  ;
- Erlenmeyer de 250 mL avec une surface spécifique de  $82 \text{ m}^{-1}$ .

Le but principal recherché ici est un accès optimum à la lumière par la spiruline et un éclairage sur l'ensemble de la surface (Tableau IV. 4).

#### **IV.2.3. Effet de la lumière sur la production de l'hydrogène**

Pour étudier l'effet de la lumière sur la production de l'hydrogène, nous avons réalisé une série de flacons cylindriques de 250 mL de concentration 2 g/L sous différentes intensités lumineuses: 1500, 3250 et 5000 Lux.



**Figure IV 3. Barbotage à l'azote.**

**IV.2.4.Effet de la concentration sur la production d'hydrogène :**

La concentration de la culture est également un paramètre important dans la production d'hydrogène. La diffusion de la lumière dans la culture est très influencée par la densité de la biomasse. Afin de déterminer la concentration de la culture qui donne la meilleure production d'hydrogène, l'étude a été faite avec trois concentrations de biomasse : 1g/L, 2 g/L et 3g/L sous différentes intensités.

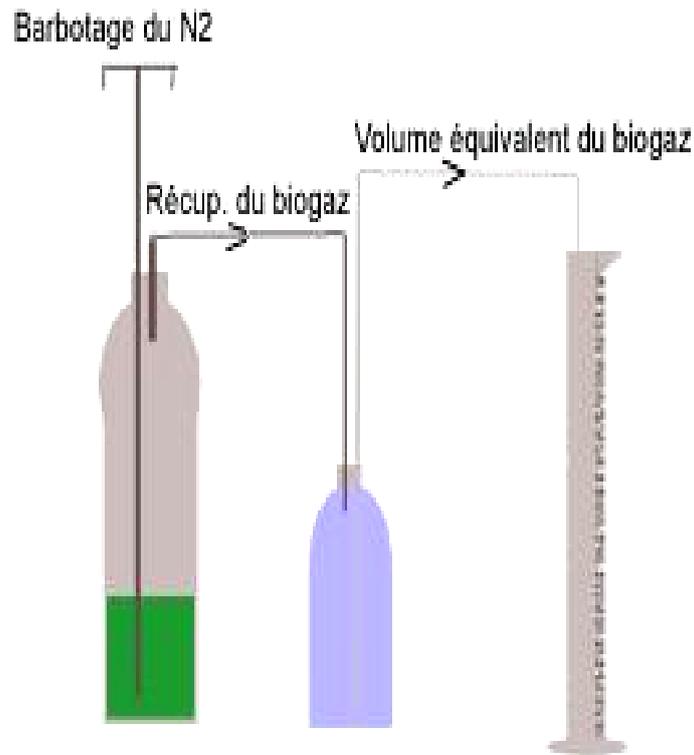
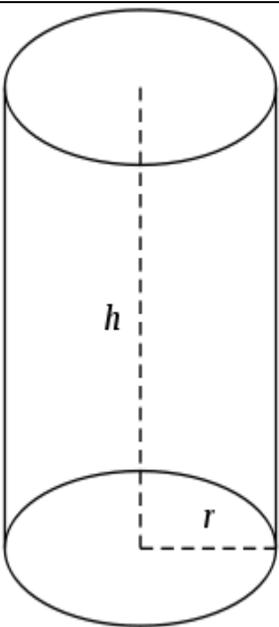
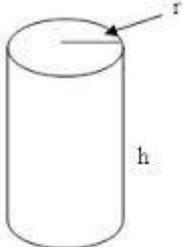
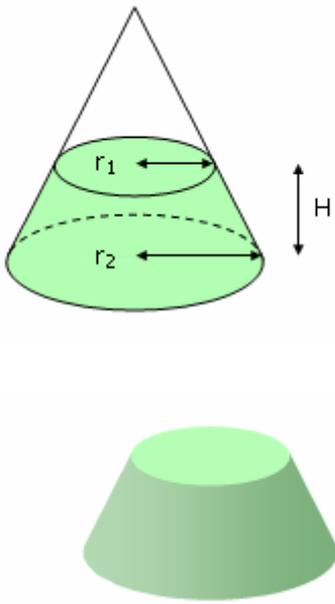


Figure IV 4. Schéma succinct de la récupération du biogaz.

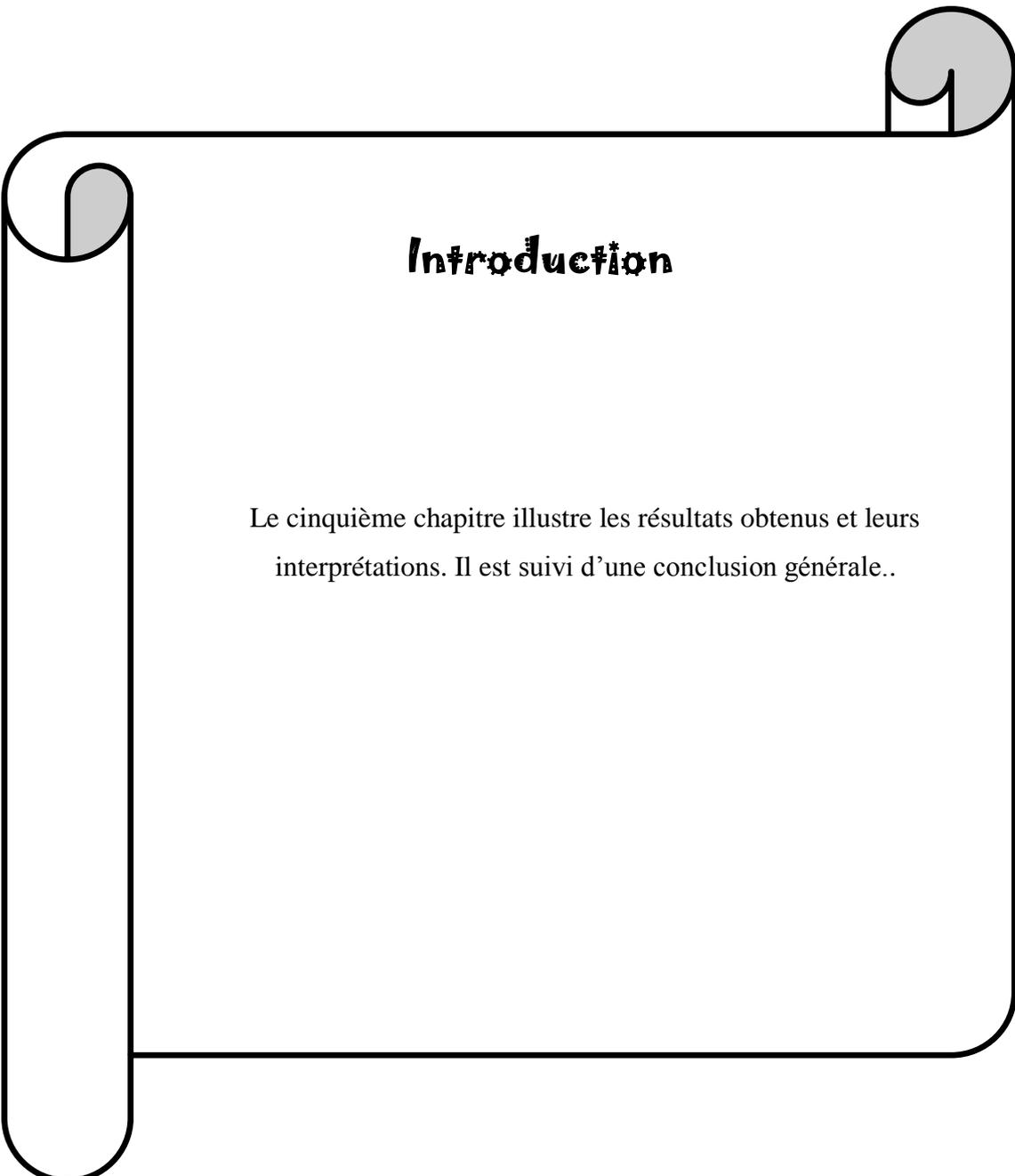
Tableau IV 4. Calcul des surfaces spécifiques dans les trois photo-bioréacteurs (PBR).

	PBR cylindrique D = 8 cm	PBR cylindrique D = 5.8 cm	PBR conique tronqué
			
S/V (m <sup>-1</sup> )	2/r = <b>50</b>	<b>68</b>	$\pi \times (r_2 + r_1) \times a / (h \times \pi/3) \times (r_1^2 + r_2^2 + r_1 \times r_2) = \mathbf{82}$

---

## CHAPITRE V :

### *Résultats et discussions*



#### **Introduction**

Le cinquième chapitre illustre les résultats obtenus et leurs interprétations. Il est suivi d'une conclusion générale..

### V.1. La courbe étalon:

La courbe étalon a été réalisée pour avoir la relation entre la concentration de la culture de spiruline et la densité optique (DO). Les résultats de cette étude sont illustrés dans la figure V. 1, présentant les différentes densités optiques en fonction du poids sec (Ps) de la souche à la longueur d'onde  $\lambda = 618 \text{ nm}$ .

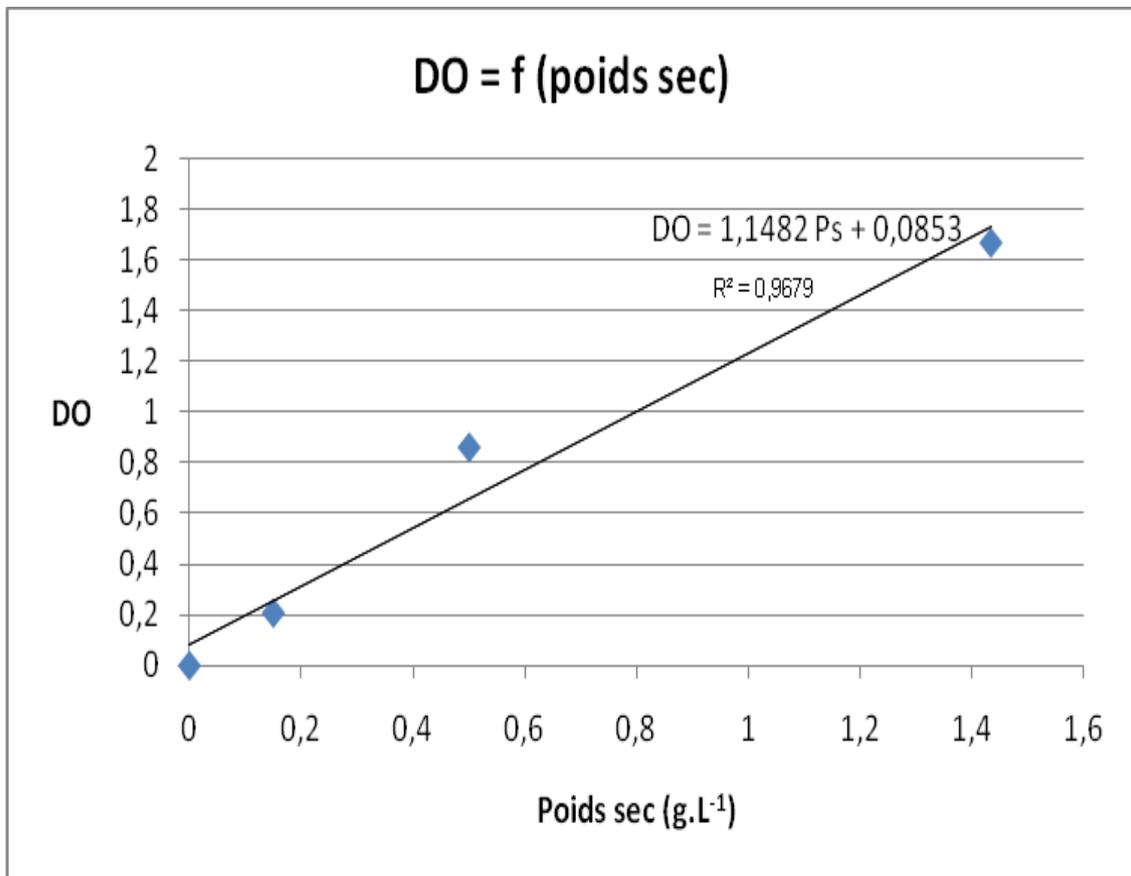


Figure V 1. Courbe étalon donnant la relation entre la DO et le Ps de la spiruline.

### V.2. Observation au microscope optique :

L'observation au microscope optique avec un agrandissement X 40, permet de fournir des détails sur la pureté de la souche. Lors de l'étude, on n'a observé que des cellules de la spiruline de formes spirales.

Notre souche n'est donc pas contaminée. Néanmoins, il est nécessaire de la surveiller au quotidien.

---

### **V.3. L'effet de la lumière sur la production de l'hydrogène :**

Dans un photo-bioréacteur, il est important de connaître et de contrôler l'intensité lumineuse incidente sur le réacteur, car elle est à la base de la vitesse de production de la biomasse et de l'hydrogène sachant que 75% de l'hydrogène est produit durant cette phase. Nous avons donc essayé de déterminer l'intensité lumineuse qui donne la meilleure production dans le photo-bioréacteur pour chaque concentration. Les expériences ont été réalisées à des différentes intensités lumineuses incidentes à savoir: 1500, 3250,5000 Lux.

Les résultats de cette sont donnés dans les figures V. 2, 3, 4 et 5. Il ressort de ces figures que l'évolution de la production d'hydrogène en fonction de l'intensité lumineuse est très fluctuante.

Dans le cas d'une concentration initiale de 1g/l, la quantité d'hydrogène produite est inversement proportionnelle à l'intensité lumineuse. En revanche, des optimums de production ont été obtenus vers 3250 Lux pour les concentrations de 2g/L et 3g/L. Au-delà de cette intensité, les taux de production diminuent progressivement jusqu'atteindre 27 mL et 34 mL avec 2g/L et 3g/L respectivement. Nos résultats sont en bon accord avec ceux décrits par Ogbonna et Tanaka [54].

Le maximum de génération d'hydrogène est fort probablement dû à la bonne diffusion de lumière dans la culture de spiruline. Lorsque de faibles concentrations sont exposées aux fortes intensités, nous avons remarqué que le taux de production diminue et nous assistons donc au phénomène de photolyse. Bien au contraire, dans le cas de fortes concentrations, exposées aux faibles intensités, le taux de production est faible et assistons là à l'effet d'ombre.

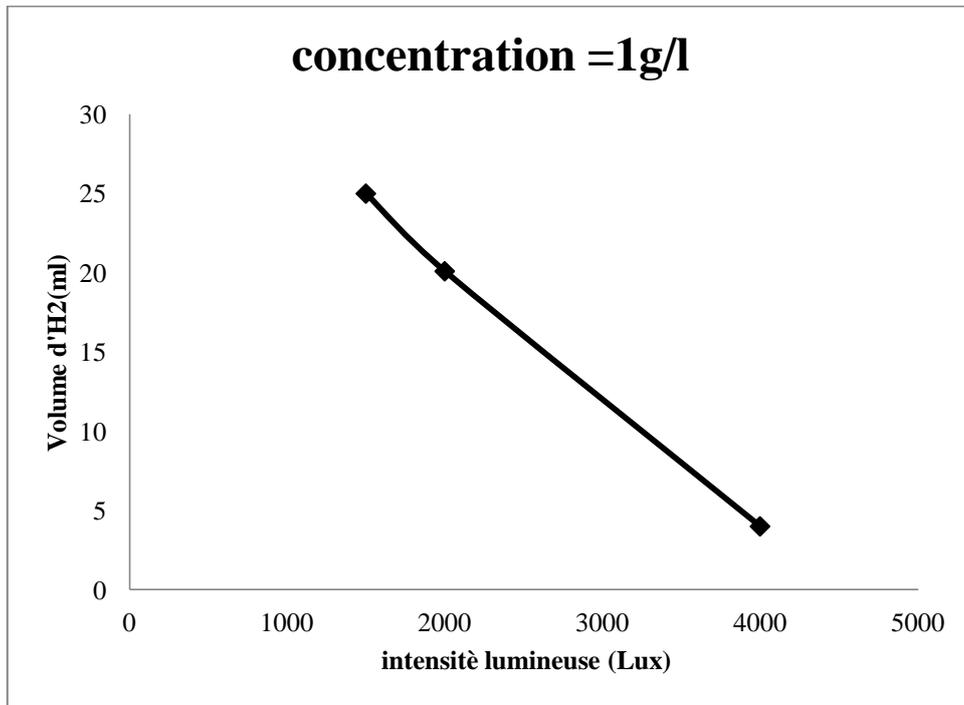


Figure V 2. Production d'hydrogène de 1 g/L de biomasse cellulaire en fonction de l'intensité lumineuse.

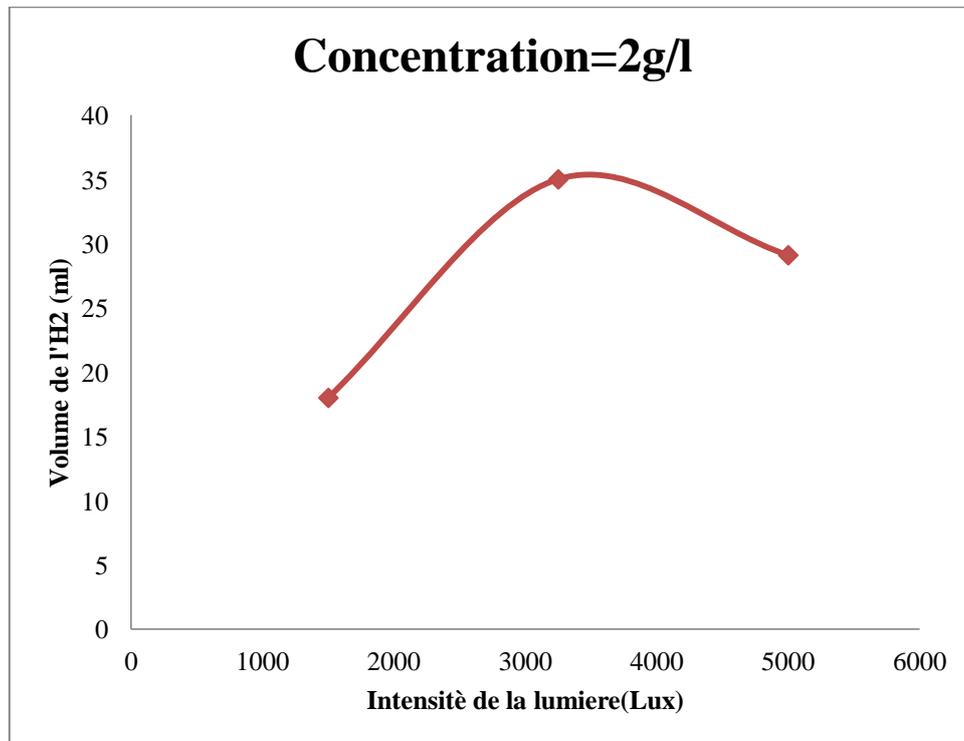
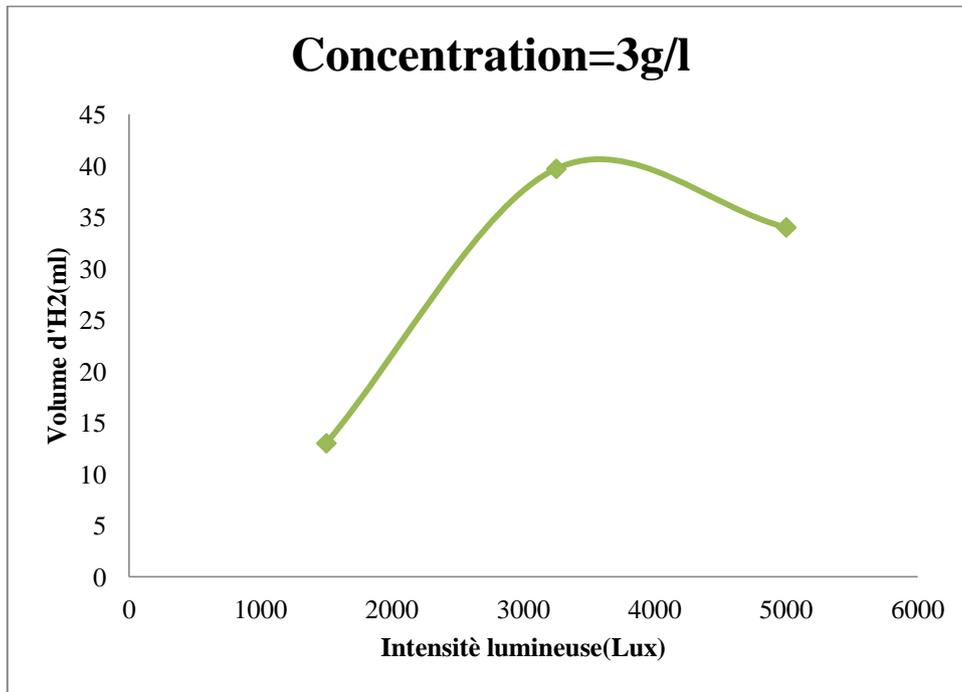
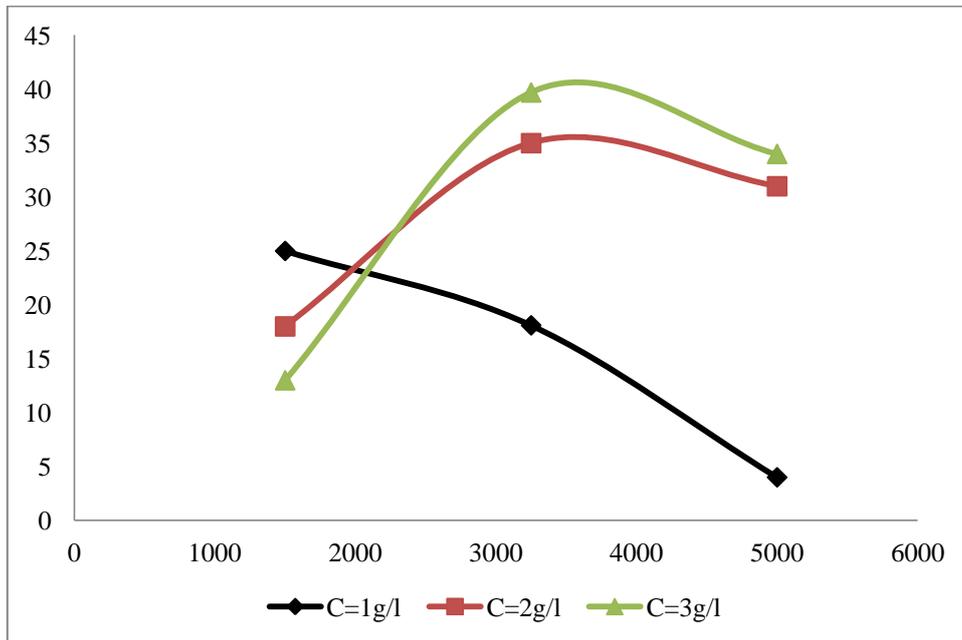


Figure V 3. Production d'hydrogène de 2 g/L de biomasse cellulaire en fonction de l'intensité lumineuse.



**Figure V 4. Production d'hydrogène à 3g/L de biomasse cellulaire en fonction de l'intensité lumineuse.**

Dans un photo-bioréacteur, plusieurs phases peuvent être définies : (i) intervalle de faible production d'hydrogène due à l'intensité lumineuse négligeable, (ii) intervalle de photo-limitation ou la production d'hydrogène dépend de l'intensité lumineuse; donc elle augmente proportionnellement avec la lumière, (iii) intervalle de photo-saturation comportant le point optimale de production d'hydrogène, cela peut s'expliquer par la saturation des antennes collectrices de lumière par les photons lumineux, (iv) intervalle de photo-inhibition au cours duquel la production d'hydrogène diminue. Ce qui peut être dû à son inhibition par les fortes intensités lumineuses ou la photolyse.



**Figure V 5. Production d'hydrogène en fonction de la concentration de biomasse.**

Pour obtenir une bonne productivité, il faudra exposer nos cultures à des intensités lumineuses adéquates pour chaque concentration de biomasse juste en dessous du point de photolyse où le point de destruction par l'effet photoélectrique.

#### **V.4. Influence de la surface spécifique (A/V):**

Le rapport A/V est un paramètre très important qui détermine la quantité de lumière dans un système par unité de volume d'un photo-bioréacteur. Pour augmenter le taux de production de l'hydrogène, il faut assurer une bonne pénétration de la lumière.

Les expériences ont été réalisées sur deux photo-bioréacteurs de même géométrie mais de diamètres différents 8,2 cm et 5,7 cm. Le premier flacon cylindrique de 250 mL avec un diamètre de 8,2 cm est rempli de 100 mL de culture, le deuxième flacon cylindrique de 500 mL est rempli avec 200 mL.

Le remplissage à 1/3 du volume du de photo-bioréacteur permet une bonne accumulation de l'hydrogène dans la partie *head space* durant la fermentation et évite la saturation en H<sub>2</sub>. Car la saturation en hydrogène conduit à une réaction inverse de l'hydrogénase et à la consommation l'hydrogène produit [60]. Les résultats de cette étude sont consignés dans les figures V. 6, 7 et 8.

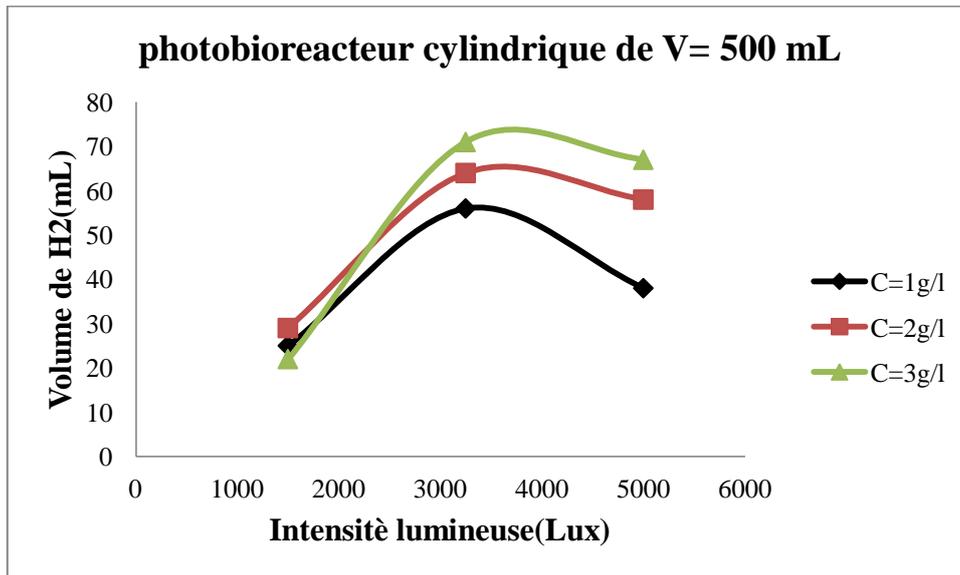


Figure V 6. Production de H<sub>2</sub> dans le PBR cylindrique de 8 cm de diamètre.

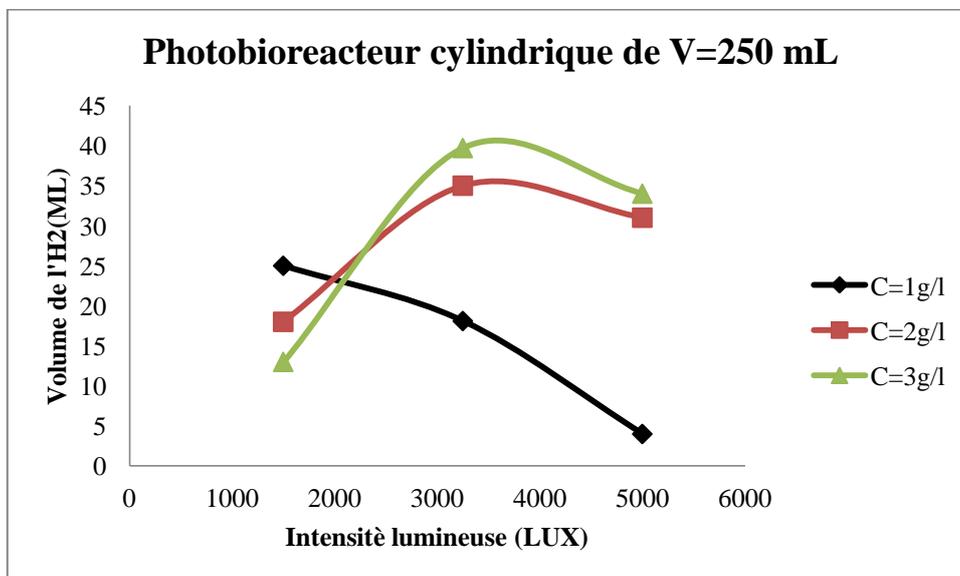
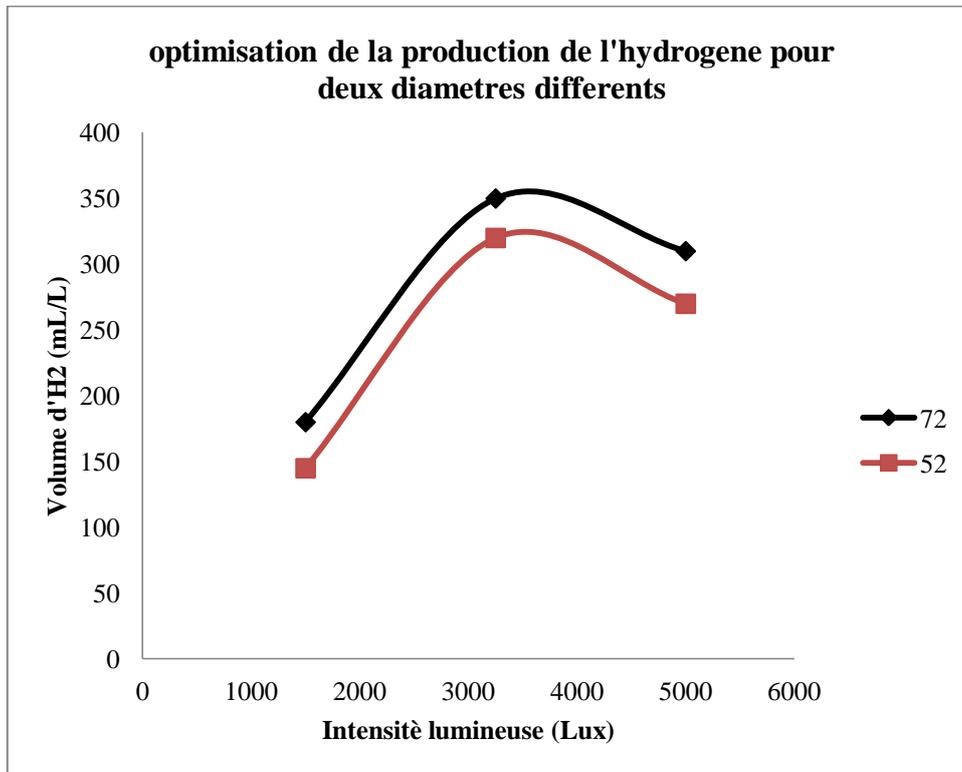


Figure V 7. Production de H<sub>2</sub> dans le PBR cylindrique de 5,8 cm de diamètre.



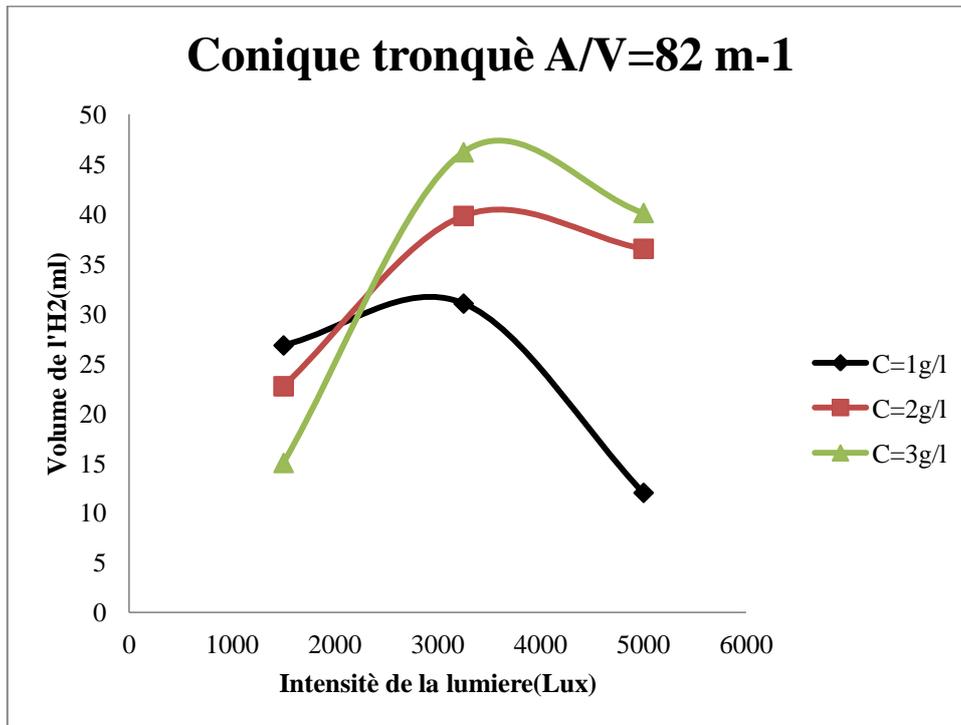
**Figure V 8. Optimisation de la production de l'hydrogène dans les deux PBR.**

Les taux de production d'hydrogène obtenus sur le photo-bioréacteur de petit diamètre sont supérieurs à ceux obtenus sur le photo-bioréacteur de grand diamètre. A la concentration de 2 g/L, le volume d'hydrogène accumulé dans les photo-bioréacteurs cylindriques de 5,7 cm et de 8,2 cm de diamètre est de 350 mL et 320 mL respectivement. Nous pouvons donc conclure que le taux de production est inversement proportionnel au diamètre du photo-bioréacteur tel que indiqué par la relation suivante.

$$A/V = \text{surface} / \text{volume} = 2 \pi r h / \pi r^2 h = 2/r$$

Nous notons bien que le diamètre est intimement à la surface éclairée. Quant  $r$  diminue la diffusion de la lumière augmente. Ceci peut bien expliquer l'augmentation de la production d'hydrogène dans les photo-bioréacteurs de petits diamètres.

Afin de bien comprendre l'effet de la configuration géométrique sur la bio-production d'hydrogène, nous avons réalisé notre étude sur un photo-bioréacteur conique tronqué de surface spécifique égale à  $82 \text{ m}^{-1}$ . Les résultats obtenus sont illustrés par la figure V. 9.



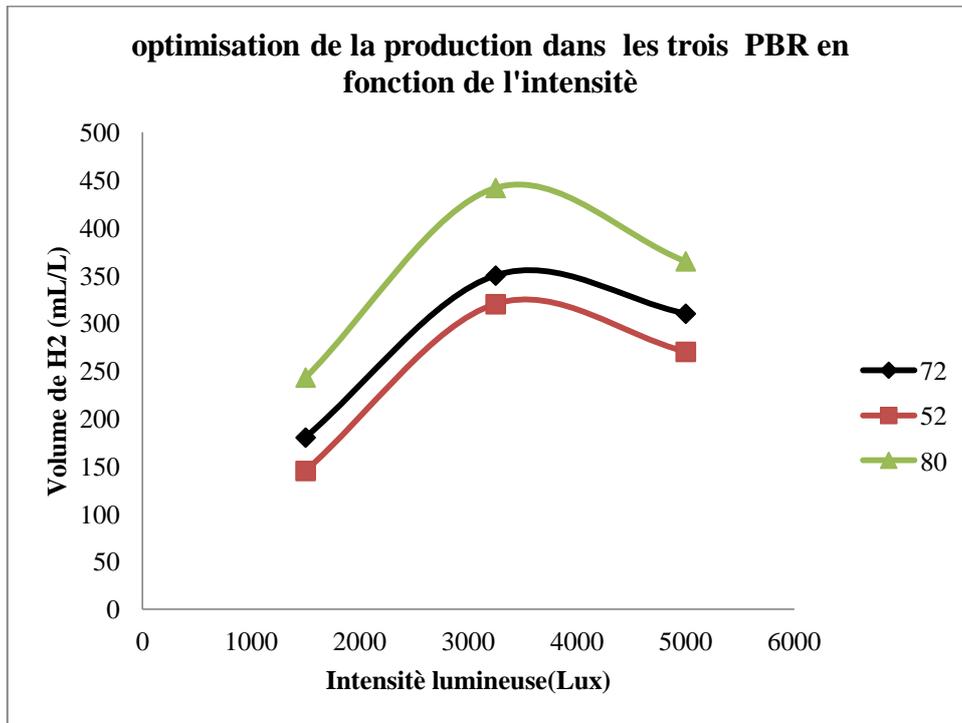
**Figure V.9. Evolution de la production de H<sub>2</sub> sur le PBR conique.**

Les résultats de la figure V. 9 mettent en évidence, pour les trois cultures, des productions d'hydrogène adoptant une allure de Gaussiennes avec des points maxima à une intensité avoisinant 3250 Lux. Une meilleure production est constatée pour la culture la plus dense, en l'occurrence 3g/L.

L'évolution du taux de production de l'hydrogène, exprimé en ml/L, en fonction de la surface spécifique est présentée dans la figure V. 10. Nous remarquons que dans le cas du photo-bioréacteur conique, la quantité d'hydrogène produite est plus conséquente que celles obtenues sur les bioréacteurs cylindriques. Par suite logique, une augmentation de la surface spécifique conduit à une meilleure production de H<sub>2</sub> et ce, en lien direct avec la surface d'exposition du réacteur et donc du taux de diffusion de la lumière.

Par le jeu de la diffusion de la lumière et en fonction du degré d'inclinaison des rayons solaires, il est possible d'éclairer l'ensemble des parois du photo-bioréacteur conique afin d'en optimiser la production de l'hydrogène.

En fin, La géométrie du photo-bioréacteur doit autant que faire se peut privilégier un rapport élevé de la surface spécifique - surface éclairée sur le volume de culture - tout en limitant l'encombrement et en restant en adéquation avec les objectifs de concentration en biomasse souhaitée et de besoins physiologiques de la spiruline cultivés. Un compromis sur le diamètre ou l'épaisseur est donc à rechercher.



**Figure V 10. Evolution de la production de H2 sur les PBR cylindriques et conique.**

---

## CONCLUSIONS GENERALES

Notre travail a porté sur l'optimisation des paramètres conduisant à une meilleure production d'hydrogène à savoir : la concentration de la biomasse, l'intensité de la lumière et la surface spécifique de photo-bioréacteur.

La bio-production d'hydrogène est très influencé par l'éclairage des cultures. Les résultats se présentent sous forme de courbes de Gauss avec un point optimum pour chaque intensité appliquée. La meilleure production est obtenue, en accord avec la littérature, à 3250 lux pour les cultures de 2 et 3g/L.

L'effet de la concentration en poids sec révèle une proportionnalité entre la concentration des cultures et du taux de production de H<sub>2</sub>. Les maxima de bio-génération d'hydrogène obtenus sont fort probablement dus à la bonne diffusion de lumière dans la culture de spiruline. Bien au contraire pour les fortes concentrations, exposées aux faibles intensités, le taux de bio-production de H<sub>2</sub>.

La production d'hydrogène est inversement proportionnelle aux dimensions des photo-bioréacteurs : diamètre et A/V. Le taux de production du photo-bioréacteur de petit diamètre est supérieur à celui possédant le grand diamètre.

### **En perspective**

Concevoir des photo-bioréacteurs possédant de bonnes surfaces spécifiques afin d'optimiser la diffusion de lumière vis-à-vis des cellules et améliorer le taux de production d'hydrogène.

---

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

---

## Références bibliographiques

[1] : Les différentes sources d'énergies existantes, 2008-2014 Calculeo.

<http://www.calculeo.fr/Eco-travaux/Economies-d-energie/differentes-sources-d-energies-existant>

[2] : Les différentes énergies.

<http://www.cea.fr/jeunes/themes/l-energie/la-production-d-energie/les-differentes-energies>

[3] : <http://www.kelwatt.fr/energie.php>

[4] : [www.gizmodo.fr](http://www.gizmodo.fr)

[5] : **Moussa DICKO, Farida DARKRIM-LAMARI, Pierre MALBRUNOT**. 10 oct. 2013. **Combustible hydrogène – Production**, technique de l'ingénieur

[6] : **S. His**. Décembre 2003. IFP, L'Hydrogène vecteur énergétique du futur ?

[7] : **R. Benchrif, D. Zejli et A. Bennouna** . 1992. Hydrogène solaire : Vecteur d'énergie de l'avenir .L'espace marocaine, Magazine Scientifique pour une Nouvelle Dynamique, n°5.

[8] : Source :AFHYPAC-Th. A. mai 2013. Mémento de l'Hydrogène. fiche 3.2.1. PRODUCTION D'HYDROGÈNE PAR ÉLECTROLYSE DE L'EAU

[9] : <http://www.cea.fr/jeunes/themes/les-energies-renouvelables/l-hydrogene/modes-de-production-du-dihydrogene>;

[10] : **L.B.Systemtechnik**. Juillet.2003. Well-to-Wheel Analysis of Energy Use and Greenhouse Gas Emissions of Advanced Fuel/Vehicle Systems - A European Study.

[11] : **Christophe BOYER**. 10/02/2012. Hydrogène Technique de l'ingénieur.

[12] : Teigret.D .2008 les techniques de production de l'hydrogène e les risques associés rapport d'étude

[13] : **A. Bennouna** .1994 Vers un Maroc Exportateur d'Energie. Ouvrage publié en langue Arabe.

[14] : **M.I.Hoffert, K.Caldeirat**. Novembre 2002, Advanced Technology Paths to Global Climate Stability :

Energy for a Greenhouse Planet, Science.

[15] : **ALLEAU (T)** .26-28 (2001). – La production nucléaire de l'hydrogène. L'Actualité Chimique, p.

- 
- [16] : **WERKOFF (F.)**. 2007– Production d’hydrogène par dissociation de l’eau à partir d’un réacteur nucléaire. Mémento de l’hydrogène, Fiche 3.2.2, AFH2 .
- [17] : **Demirbas Ayhan**. 2009, biohydrogen for futur Engine fuel Demands .
- [18] : **J. Legrand**, *Mémento de l’hydrogène*, Fiche 3.3.2, AFH2
- [19]: **M. Korpås, C. J. Greiner**. 2008. *Renewable Energy*, 33 1199-1208
- [20]: **J. Mathur, N. Agarwal, R. Swaroop, N. Shah**. 2008. *Energy Policy*, 36 1212- 1222
- [21] introducin
- [22] : **J. Falquet ,J.P. Hurni**. 2006. Spiruline Aspects Nutritionnels. Antenna Technologies  
Novembre
- [23] : **D.Fox.Ripley**. 1999. Spiruline technique pratique et promesse.
- [24] : <http://www.antenna.ch/recherche/malnutrition/spiruline-histoire>
- [25] : **JARISOA Tsarahevitra**, 24 Mars 2005 – Adaptation de la spiruline du sud de Madagascar à la culture en eau de mère. Mise au point de structure de production a l’échelle villageoise p 12
- [26] : **J.P Jourdan** . 2006. Cultivez votre spiruline. Manuel de culture artisanale pour la production de spiruline.
- [27] : **H. Cruchot**. 13 mai 2008. La spiruline bilan et perspectives. Thèse de doctorat.  
578 vol 47.
- [29] **S.-laurent**.1995, la photosynthèse e la respiration. CAMPBELL, N.biologie.
- [30] : <http://www.spirunet.org/livres/livret-guide-de-production-de-Spiruline>
- [31] **Loic Charp, Marie José Langlande e Romain Alliod**, Aout 2008. La spiruline peut être un atout pour la santé e le développement en Afrique ?
- [32] : **Hélène CRUCHOT**. 13 mai 2008. LA SPIRULINE BILAN ET PERSPECTIVES
- [33] : **Julien Gonnet**. Université de Genève. Développement durable des espaces et sociétés à fortes contraintes La spiruline, une cyanobactérie comme instrument de développement durable pour réduire l’insécurité alimentaire et soutenir une activité traditionnelle féminine.
- [34] : ENSM Saint Etienne. Conditionnement de la spiruline récoltée.  
Disponible sur <http://webelevs.emse.fr/~shilaire/spiruline/conditionnement.html>
- [35] : **Darcas C. La spiruline**, 2000, une algue pour la santé-Livret guide de production. Conditionnement/Hygiène].cTechnap/Credeva Disponible .  
<http://credeva.online.fr/fich4.htm#6Conditionnement>

- 
- [36] : **Falquet J. Spiruline** : aspects nutritionnels. Genève : Antenna Technologies ; 1996.  
Disponible sur : [http://www.technap\\_spiruline.org/datas/Aspects%20nutritionnels1.doc](http://www.technap_spiruline.org/datas/Aspects%20nutritionnels1.doc).
- [37] : M.Merceron. C 2006 les bactéries photosynthétiques productrices d'oxygène.  
Disponible sur [http://membres.lyco.fr/neb5000/BacteriologieI/GroupesBacteriens/Bacteries\\_photosynthetiques\\_productrices\\_d\\_oxygene.htm](http://membres.lyco.fr/neb5000/BacteriologieI/GroupesBacteriens/Bacteries_photosynthetiques_productrices_d_oxygene.htm)
- [38] : **F. Moreau, R. Prat**. C05/04/2005 La photosynthèse : Structure et fonctionnement du PSII . Disponible sur : <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/Photosynthese-cours/09-PSII.htm>
- [39] : **G. Peltier**. Production d'hydrogène par les énergies renouvelables. Rapport final du programme de recherche intégré.
- [40] : **S. Chader1, H. Hacene, M. Belhamel et . Agathos**. 25 Décembre 2007.  
Etudes des procédés de production biologiques de l'hydrogène
- [41] : **P. C. Hallenbeck, J. R. Benemann**. November 2002 Biological Hydrogen production; fundamentals and limiting processes. *International Journal of Hydrogen Energy*. Vol. 27, No. 11, p. 1185-1193.
- [42] : **H. Gaffron and J. Rubin**, 1942 'Fermentative and Photochemical Production of Hydrogen in Algae', *Journal of General Physiology*, Vol. 26, pp. 219 - 240,.
- [43]: **F.P. Healey**,1970 'Hydrogen Evolution by Several Algae', *Planta*, Vol. 91, p. 220.
- [44] : **P. Hollmuller, B. Lachal, F. Romerio, W. Weber, J.M. Zgraggen** .2004-2005 L'hydrogène future vecteur énergétique. Centre universitaire d'étude des problèmes de l'énergie. Colloque du cycle de formation du Cuepe .
- [45]: **G.D. Smith, G.D. Ewart and W. Tucker**, 1992'Hydrogen Production by Cyanobacteria', *International Journal Hydrogen Energy*, Vol. 17, N°9, pp. 695 - 698.
- [46] . **J.S. Kim, K. Ito and H. Takahashi**,1981 'Production of Molecular Hydrogen by *Rhodospseudomonas sp.*',*Journal of Fermentation Technologies*, Vol. 59, N°3, pp. 185 - 190.
- [47]: **Vincenzini, R. Materassi, M.R. Tredici and G. Florenzano**, 1982 'Hydrogen Production by Immobilized Cell-I. Light Dependent Dissimilation of Organic Substances by *Rhodospseudomonas Palustris*', *International Journal Hydrogen Energy*, Vol. 7, N°3, pp. 231 - 236.
- [48]: **K. L. Kovacs et coauteurs**, 2004. Improvement of biohydrogen production and Intensification of biogas formation. *Environnemental Science & Bio / Technology*. Vol. 3, No. 4, p. 321-330.

---

[49] **J. Miyake**, 1990. ‘*Application of Photosynthetic Systems for Energy Conversion*’, In: T.N. Veziroglu and P.K. Takashashi, Editors. *Hydrogen Energy Progress VIII*, Proceedings of the 8th WHEC, Hawaii, N-Y, Pergamon Press, pp. 755 - 764.

[50]: **D.B. Levin, L. Pitt, M. Love**. 2004. Biohydrogen production: prospects and limitations to practical application. *International Journal of Hydrogen Energy* 29 173 – 185

[51]: **A. A. Tsygankov**. September 24, 2006 Biological Generation of Hydrogen. *Journal of General Chemistry*, 2007, Vol. 77, No. 4, pp. 693.

[52] : **P. Tamagnini, R. Axelsson, P. Lindberg, F. Oxelfelt, R. Wünschiers, P. Lindblad**.

Hydrogenases and Hydrogen Metabolism of Cyanobacteria. *Micobiology and molecular biology reviews*.

[53]: **Chader Samira , Belhamel Maiouf , Spyros Agathos**. October 2007. *PROCEDES BIOLOGIQUES DE PRODUCTION DE L’HYDROGENE APERÇU ET PERSPECTIVES*

[54] : **Ogbonna, j.C Yada H, Masui et Tanaka H**. 1996. A novel internally illuminated stirred tank photobioreactor for large-scale cultivation of photosynthetic cells *journal of Fermentation and Bioreengineering* P 61-67