

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie Chimique

Mémoire de projet de fin d'études
Pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie chimique

Les microalgues : source d'énergie renouvelable pour la production de biomasse et biodiesel

Abdelkader BENALI et Mohamed Ouassil BOURAI

Présenté et soutenu publiquement le 06/10/2020

Composition du Jury :

| | | | |
|--------------|------------------------------|-----|------|
| Président | Mr. Rabah BOUARAB, | Pr | ENP |
| Rapporteurs | Mme. Yamina TCHOULAK-DAHOUN, | MAA | ENP |
| | Mr. Mohamed AMOURI, | MRB | CDER |
| Examineur | Mr. Toudert AHMED ZAID, | Pr | ENP |
| Examinatrice | Mme. Ouardia REBAS, | MCB | ENP |
| Invité | Mr. Ammar SELATNIA, | Pr | ENP |

ENP 2020

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



المدرسة الوطنية المتعددة التقنيات
Ecole Nationale Polytechnique



Département Génie Chimique

Mémoire de projet de fin d'études
Pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Génie chimique

Les microalgues : source d'énergie renouvelable pour la production de biomasse et biodiesel

Abdelkader BENALI et Mohamed Ouassil BOURAI

Présenté et soutenu publiquement le 06/10/2020

Composition du Jury :

| | | | |
|--------------|------------------------------|-----|------|
| Président | Mr. Rabah BOUARAB, | Pr | ENP |
| Rapporteurs | Mme. Yamina TCHOULAK-DAHOUN, | MAA | ENP |
| | Mr. Mohamed AMOURI, | MRB | CDER |
| Examineur | Mr. Toudert AHMED ZAID, | Pr | ENP |
| Examinatrice | Mme. Ouardia REBAS, | MCB | ENP |
| Invité | Mr. Ammar SELATNIA, | Pr | ENP |

ملخص

بعد الشعور بالآثار الضارة للموارد الأحفورية على البشر والبيئة، وحتى تأثير استنفادها، يبدو أنه من الضروري تطوير موارد جديدة يمكنها تلبية احتياجات الطاقة مع الحفاظ على البيئة المحيطة بنا.

الوقود الحيوي هو أحد طاقاتها الجديدة. يركز هذا العمل على الجيل الثالث من الوقود الحيوي المشتق من الكتلة الحيوية البحرية. يتعلق الأمر بإنتاج وقود الديزل الحيوي من الطحالب الدقيقة الغنية بما يسمى بالزيوت الدهنية. يمكن زراعتها في أنظمة مختلفة ثم حصادها من خلال عمليات مختلفة. بعد هذه المرحلة، تتم خطوة استخلاص لاستخراج أكبر قدر من زيوت الطحالب لإنتاج وقود الديزل الحيوي من خلال تفاعل الأسترة التبادلية.

الكلمات المفتاحية: الوقود الحيوي، وقود الديزل الحيوي، الطحالب الدقيقة، الاستخلاص، الدهون، التركيب الضوئي، الكتلة الحيوية، الأحماض الدهنية غير المشبعة، الأسترة التحويلية، الطاقة الحيوية.

Abstract

After having felt the harmful effects of fossil resources on humans, environment, and even the impact of their depletion, it seems crucial to develop new resources that can meet energy needs while preserving our surrounding the environment.

Biofuels are one of these new energies. This work focuses on third generation biofuels derived from marine biomass. The aim is to produce biodiesel from microalgae rich on lipids. These can be grown in different systems and then harvested through various operations. After this phase, an extraction step follows, allowing the maximum extraction of algal oils to produce biodiesel through a transesterification reaction.

Keywords : biofuels, biodiesel, microalgae, extraction, lipids, photosynthesis, biomass, unsaturated fatty acids, transesterification, bioenergy.

Résumé

Après avoir ressenti les effets néfastes des ressources fossiles sur l'homme et l'environnement voire même l'impact de leur épuisement, il semble crucial de mettre le point sur des nouvelles ressources pouvant répondre aux besoins énergétiques tout en préservant notre milieu environnant.

Les biocarburants font partie de ses nouvelles énergies. Ce travail se focalise sur les biocarburants de troisième génération issus de la biomasse marine. Il s'agit de produire du biodiesel à partir des microalgues riches en huiles dites lipidiques. Ces derniers peuvent être cultivés selon différents systèmes puis récoltés au moyen de diverses opérations. Suite à cette phase, s'enchaîne une étape d'extraction permettant d'extraire le maximum des huiles algales pour en produire du biodiesel par le biais d'une réaction de transestérification.

Mots-clés : biocarburants, biodiesel, microalgues, extraction, lipides, photosynthèse, biomasse, acides gras insaturés, transestérification, bioénergie.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents, pour tous leurs sacrifices, leur amour et leur soutien tout au long de mes études. Puisse Dieu me les garder,

À mes chers frères et sœurs, merci d'être toujours là pour moi.

À mes chers amis qui ont toujours été à mes côtés : Nassima, Nihad, Ilham, Kader, Rabah, Hichem, islam, m'hamed , Abderrazak, Ramzi, Aymen, Bachir, Azzedine, Tarek ,Yasser...

À mes professeurs qui m'ont beaucoup appris,

À toutes les personnes qui compte pour moi.

Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Mohamed Ouassil BOURAI

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents et mes frères, pour leur perpétuel soutien et leur amour incessant.

À mes grands-parents pour ses supplications de réussite.

À tous mes Meilleurs amis, spécialement : Nesrine, Tarek, Mokhtar, Sofiane, Fouad, Hako, Nordine, Rabah, Abderrazak, Ramzi, Aymen, Bachir, Azzedine, Yasser.

À mes professeurs qui m'ont beaucoup appris,

À toutes les personnes qui compte pour moi.

Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Abdelkader BENALI

Remerciements

Avant toute personne, je remercie le bon Dieu de m'avoir prêté vie, santé et volonté pour achever ce modeste travail.

Nous adressons en premier lieu, nos remerciements à Mme. Y. TCHOULAK, notre promotrice et enseignante pour son encadrement, son soutien, ses encouragements et ses conseils avisés qui nous ont permis de donner le meilleur de nous-mêmes tout au long de ce projet.

Nos sincères remerciements vont également à Mr. A. SELATNIA, pour sa serviabilité, ses implications, sa disponibilité et ses remarques qui nous ont permis d'affiner les étapes de notre travail.

Un grand merci à notre encadrant au sein de CDER Mr. M. AMOURI pour son accueil, sa confiance et sa précieuse aide.

Nous remercions les membres de jury : R. BOUARAB pour avoir accepté de présider le jury, Mr. T. AHMED ZAID et Mme O. REBAS pour nous avoir fait l'honneur de consulter et d'évaluer notre travail.

Pour conclure, notre reconnaissance s'adresse à l'équipe pédagogique du Département Génie Chimique de l'École Nationale Polytechnique, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire, et à tous ceux qui ont cru en nos capacités.

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

| | |
|--|----|
| INTRODUCTION GENERALE..... | 11 |
| Chapitre 1 : Généralités sur les biocarburants | 13 |
| 1.1 Introduction..... | 14 |
| 1.2 Définition des biocarburants..... | 14 |
| 1.3 Filières de production des biocarburants | 15 |
| 1.3.1 Les biocarburants de première génération | 15 |
| 1.3.2 Les biocarburants de deuxième génération..... | 16 |
| 1.3.3 Les biocarburants de troisième génération..... | 16 |
| Chapitre 2 : Généralités sur les microalgues..... | 17 |
| 2.1 Définition et caractéristiques des microalgues | 18 |
| 2.2 Classification des microalgues | 19 |
| 2.2.1 Les Cyanophycées (algues bleues-vertes)..... | 19 |
| 2.2.2 Les Chrysophycées (algues dorées) | 20 |
| 2.2.3 Les Rhodophycées (algues rouges)..... | 20 |
| 2.2.4 Les Euglenophycées..... | 21 |
| 2.2.5 Les chlorophycées (algues vertes) | 21 |
| 2.2.6 Les bacillariophycées (diatomées)..... | 22 |
| 2.3 Compositions biochimiques des microalgues | 23 |
| 2.3.1 Les lipides | 23 |
| 2.3.2 Les glucides..... | 24 |
| 2.3.3 Les protéines | 24 |
| 2.3.4 Autres constituants | 24 |
| 2.4 Photosynthèse | 24 |

| | | |
|--------------|---|----|
| 2.5 | Système de cultures des microalgues | 26 |
| 2.5.1 | Systèmes ouverts | 27 |
| 2.5.2 | Systèmes fermés | 28 |
| 2.6 | Récupération des microalgues | 30 |
| 2.6.1 | La centrifugation | 30 |
| 2.6.2 | La sédimentation | 30 |
| 2.6.3 | La filtration..... | 30 |
| 2.6.4 | La floculation | 30 |
| 2.6.5 | La flottation | 30 |
| 2.7 | Paramètres influençant la culture des microalgues | 31 |
| 2.7.1 | Lumière | 31 |
| 2.7.2 | Température | 32 |
| 2.7.3 | Carbone | 32 |
| 2.7.4 | Besoins nutritifs..... | 33 |
| 2.7.5 | Mélange..... | 34 |
| 2.8 | Intérêt de l'utilisation des microalgues..... | 34 |
| 2.8.1 | Production de biomasse à but alimentaire..... | 36 |
| 2.8.2 | Production de molécules à haute valeur ajoutée | 37 |
| 2.8.3 | Applications environnementales | 39 |
| 2.8.4 | Applications en bioénergie..... | 40 |
| Chapitre 3 : | Production du biodiesel à partir de la biomasse algale..... | 43 |
| 3.1 | Extraction des huiles algales..... | 44 |
| 3.1.1 | Les techniques d'extraction conventionnelles | 44 |
| 3.1.2 | Les techniques d'extraction nouvelles | 44 |
| 3.2 | Transestérification | 47 |
| 3.2.1 | Cinétique de la réaction de transestérification | 49 |
| 3.2.2 | Catalyse homogène | 50 |
| 3.2.3 | Catalyse hétérogène..... | 53 |
| Chapitre 4 : | Etude de cas d'extraction | 55 |

| | | |
|-------|---|----|
| 4.1 | Introduction..... | 56 |
| 4.2 | Extraction conventionnelle selon Bligh and Dyer..... | 56 |
| 4.3 | Extraction par le n-hexane selon la procédure standard de Soxhlet..... | 57 |
| 4.4 | Les solvants alternatifs pour l'extraction de lipides de microalgues | 57 |
| 4.4.1 | Extraction à partir de biomasse sèche | 57 |
| 4.4.2 | Extraction à partir de biomasse humide (Simultaneous Distillation and Extraction Process, SDEP) | 59 |
| 4.5 | Discussions | 61 |
| 4.6 | Conclusion | 63 |
| | Conclusion Générale | 64 |
| | Table des références | 67 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure 1.1 Schématisation de la production des biocarburants. | 15 |
| Figure 2.1 Différentes formes de microalgues. | 18 |
| Figure 2.2 Photographie d'une cyanophycée Nostoc ou Crachat. | 20 |
| Figure 2.3 Photographie d'une chrysophycée Dinobryon. | 20 |
| Figure 2.4 Photographie d'une rhodophycée Stylonema Alsiddii. | 21 |
| Figure 2.5 Photographie d'une euglenophycée Phacus. | 21 |
| Figure 2.6 Photographie d'une chlorophycée Chlorella Protothecoides. | 22 |
| Figure 2.7 Photographie d'une bacillariophycée Navicula. | 23 |
| Figure 2.8 La photosynthèse - Réaction globale. | 25 |
| Figure 2.9 Schéma d'un chloroplaste en coupe transversale. | 26 |
| Figure 2.10 Bassins de culture des microalgues. A gauche : bassin en boucle fermée, infrastructure de Roswell, Nouveau Mexique (USA) [45]. A droite : bassins circulaires d'environ 500 m ² , production de chlorelle (Chlorella Industries, Japon) [46]. | 28 |
| Figure 2.11 Photographies de différentes installations de PBR tubulaires. A gauche : PBR hélicoïdal, vertical Murdoch University, Australie [40]. A droite : PBR tubulaire horizontal immergé dans l'eau, Solix's Lumian™ Algae Growth System. | 29 |
| Figure 2.12 Schéma de principe d'un PBR. | 29 |
| Figure 2.13 Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse [57]. | 31 |
| Figure 2.14 Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH [57]. | 33 |
| Figure 2.15 Les principales voies de valorisation des microalgues. | 35 |
| Figure 2.16 Culture de Spiruline au Burkina Faso. | 36 |
| Figure 2.17 Différents pigments présents chez les microalgues. | 37 |
| Figure 2.18 Traitement des eaux usées par les microalgues ("Algae Control Thrive «Water – Alternative Wastewater Treatment Solutions»"). | 40 |
| Figure 2.19 Productivité en huile des microalgues par rapport à d'autres plantes oléagineuses. ... | 41 |
| Figure 3.1 Progression qualitative des étapes de la réaction de transestérification | 50 |
| Figure 4.1 Concept de production d'huile de microalgues visant à obtenir du biodiesel[123]. | 56 |
| Figure 4.2 Représentation schématique du Soxhlet (1 : Sortie d'eau, 2 : Entrée d'eau, 3 : Réfrigérant, 4 : Soxhlet, 5 : Chambre du Soxhlet, 6 : Cartouche, 7 : Système de distillation, 8 : Siphon, 9 : Ballon, 10 : Solvant, 11 : Chauffe ballon) [123]. | 57 |
| Figure 4.3 Clevenger distillation [123]. | 58 |
| Figure 4.4 Démarche expérimentale [123]. | 58 |
| Figure 4.5 Schéma du Dean Stark modifié [123]. | 59 |
| Figure 4.6 Schéma descriptif du SDEP (vert : pâte algale, bleu : eau de la pâte algale et marron : solvant terpénique) [123]. | 60 |
| Figure 4.7 Démarche expérimentale [123]. | 60 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 2.1 Principales espèces de métabolisme hétérotrophe pour la production de biodiesel..... | 23 |
| Tableau 2.2 Contenu lipidique de quelques espèces de microalgues [27]..... | 24 |
| Tableau 2.3 Une sélection d'espèces de microalgues avec leurs produits et domaines d'application [17]. | 35 |
| Tableau 3.1 Les principales méthodes d'extraction des fractions lipidiques à partir de différentes espèces de microalgue. | 47 |
| Tableau 3.2 Influence de la nature du catalyseur sur les valeurs des constantes de vitesse [106]. | 49 |
| Tableau 3.3 Quantités d'acides gras libres recommandées - Catalyse homogène basique..... | 51 |
| Tableau 3.4 Avantages et inconvénients des catalyseurs basiques et acides [111][112]..... | 53 |
| Tableau 4.1 Teneur en lipides extraits de <i>C. Vulgaris</i> (g de lipides totaux pour 100g de biomasse sèche) [124]. | 59 |
| Tableau 4.2 Teneur en lipides extraits de <i>N. Oculata</i> et <i>D. Salina</i> (g de lipides totaux pour 100g de biomasse sèche) [125]..... | 61 |

Liste des abréviations

| | |
|------------------------|---|
| ADP : | Adénosine Di-Phosphate |
| AGLs : | Acides Gras Libres |
| AGPI : | Acides Gras PolyInsaturés |
| ATP : | Adénosine Tri-Phosphate |
| CPG : | Chromatographie en Phase Gazeuse |
| GES : | Gaz à Effet de Serre |
| GL : | Glycolipides |
| GREEN : | Groupe de Recherches en Eco-Extraction de produits Naturels |
| HCMV : | Cytomégalovirus humain |
| HPTLC : | High Performance Thin Layer Chromatography |
| ISO : | International Standards Organisation |
| SDEP : | Procédé d'Extraction et de Distillation Simultané |
| MS : | Matière Sèche |
| PBR : | Photobioréacteur |
| P_c : | Pression critique (atm) |
| R&D : | Recherche et Développement |
| SOD : | SuperOxyde Dismutase |
| T_c : | Température critique (°C) |
| Tpm : | Tour par minute |
| Vit : | Vitamine |

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les récentes préoccupations de plusieurs spécialistes au niveau des ressources et des réserves disponibles en pétrole ont soulevé plusieurs inquiétudes au niveau de l'approvisionnement à plus long terme. La dépendance de la société face aux combustibles d'origine fossile, et ce, principalement dans le secteur des transports, en relation avec l'épuisement des ressources et le réchauffement climatique ont eu pour conséquences des avancées considérables dans le domaine de la recherche en énergies renouvelables.

Ces recherches visent une substitution ou un remplacement des combustibles fossiles par diverses énergies renouvelables telles que le bioéthanol et le biodiesel.

Le développement des biocarburants comme le bioéthanol produit à partir du maïs et le biodiesel à partir de cultures comme le soya a toutefois entraîné l'apparition de plusieurs problématiques. En effet, l'essor de ces biocarburants a provoqué une hausse des prix des aliments présentant ainsi de nombreux impacts pour les populations, une utilisation accrue des terres favorisant la déforestation à travers le monde ainsi qu'une augmentation de la pollution due à l'utilisation d'engrais et de pesticides. Pour ces raisons et en plus de la crise énergétique, que des efforts ont été fournis dans la recherche de solutions alternatives comme la production de biodiesel à partir des huiles produites par les microalgues.

Notre modeste travail s'intègre ainsi dans ce cadre. Le manuscrit consiste en un amas d'information et de connaissances théoriques décliné en quatre chapitres.

Le premier chapitre présentera un aperçu général sur les biocarburants. Il rassemblera les différentes générations des biocarburants après les avoir définis clairement.

Le second chapitre consistera en une étude bibliographique des microalgues : définition, caractéristiques des espèces, classification et composition biochimiques. Il s'enchainera par aborder la photosynthèse, les modes existants de culture et de récolte en citant les facteurs influençant la culture des microalgues. La fin de ce chapitre sera axée sur les applications des souches marines dans divers secteurs.

Le troisième chapitre sera dédié à la production du biodiesel. D'abord, les types d'extraction des huiles algales seront décrits puis une partie sur la réaction de transestérification sera entamée.

Le dernier chapitre fera le point sur l'étude d'un cas d'extraction par solvants alternatifs et la réalisation des méthodes citées précédemment. Une analyse comparative des résultats obtenus sera présentée également.

Nous clôturons notre manuscrit par une conclusion générale résumant l'essentiel du travail.

Chapitre 1 : Généralités sur les biocarburants

1.1 Introduction

La production et la consommation des biocarburants a connu un essor exceptionnel depuis les années 2000 . Toutefois, la plus grande expansion est atteinte dans les dix dernières années, face à la poussée démographique et au développement des secteurs des transports et de l'industrie. Les besoins en pétrole ne font que croître et les ressources ne cessent de s'épuiser. La consommation du pétrole engendre des problèmes environnementaux lourds de conséquences. En effet, les gaz dégagés par la combustion des carburants sont des causes principales de pollution de l'atmosphère et du réchauffement climatique [1].

Le monde ainsi s'intéresse de plus en plus aux biocarburants élaborés à partir de sources renouvelables non comestibles dont le biodiesel. Le souci à remplacer les carburants d'origine fossile a orienté les axes de recherche sur les matières premières de production des biocarburants et sur une biomasse non comestible [1], d'où l'intérêt de notre travail qui consiste à exploiter la biomasse marine : les algues, afin de produire le biodiesel.

Avant d'étaler sur le vif du sujet, définissons dans un premier lieu les biocarburants d'une manière générale. Une classification selon les générations sera tracée par la suite.

1.2 Définition des biocarburants

Les biocarburants sont des fluides produits à partir de matériaux organiques non fossiles et issus de la biomasse ou matière première considérée comme étant la fraction biodégradable des produits, déchets et résidus provenant de l'agriculture [2] y compris les substances végétales et animales issues de la terre et de la mer [3], de la sylviculture et de leurs industries connexes, ainsi que la fraction biodégradable des déchets industriels et municipaux. Le terme biocarburant est générique et inclut le bioéthanol, le biodiesel, la bio-huile, le biogaz, le procédé de Fischer-Tropsch et le biohydrogène [4]. Les biocarburants représentent une source d'énergie renouvelable, sans grand danger pour l'environnement et constituent ainsi une voie de développement soutenable et durable. En effet, ils contribuent à réduire les émissions de gaz à effet de serre et de ce fait, à améliorer la qualité de l'air [5]. De plus, ils peuvent se substituer aux carburants fossiles et assurer une certaine stabilité économique en réduisant la dépendance énergétique[6].

La figure 1.1 illustre le schéma de production des biocarburants.

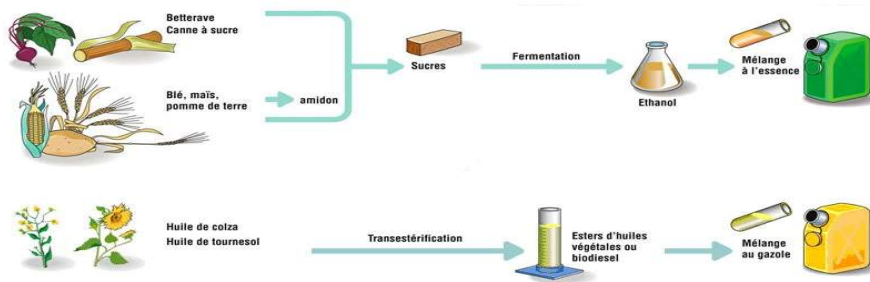


Figure 1.1 Schématisation de la production des biocarburants.

On distingue trois générations de biocarburants selon l'origine de la biomasse utilisée et les procédés de transformation associés.

1.3 Filières de production des biocarburants

Les biocarburants sont classés en trois générations déclinées comme suit :

1.3.1 Les biocarburants de première génération

Les biocarburants issus de la première génération sont les premiers qui ont été produits et sont donc utilisés depuis plus longtemps et mieux maîtrisés. Effectivement, ils sont connus depuis l'époque de Rudolf Diesel et Henry Ford [7]. Ils ont cependant commencé à être développés à grande échelle dans les années 1970 au Brésil et aux Etats-Unis [8]. Ils sont offerts sur le marché actuel [9].

Leur particularité réside en la matière première utilisée pour leur élaboration. Ils sont des agro-carburants produits à partir de cultures destinées traditionnellement à l'alimentation, plus spécifiquement les organes de réserves des plantes oléifères ou encore à sucres [1]. Ces biocarburants sont caractérisés par une commercialisation à grande échelle et par des technologies assimilées et des procédés de production relativement simples [5][10].

Les biocarburants de première génération les plus répandus sont l'éthanol et le biodiesel. Le premier est obtenu principalement par fermentation par des levures de sucres simples issus des plantes (canne à sucre et betterave), ou de l'amidon issu des céréales (maïs et blé). Il peut être mélangé directement à l'essence à des teneurs allant de 5 à 26% ou à des taux encore plus élevés pour les véhicules dits flexibles introduits avec succès au Brésil [11]. Tandis que le second est produit à partir de plantes oléagineuses par transestérification ou craquage [12], à l'exemple du biodiesel synthétisé à partir de l'huile de colza en Allemagne et à partir de l'huile de palme en Malaisie [10].

Certaines limitations des biocarburants de première génération ont été identifiées et ont mis l'accent sur la nécessité de trouver de nouvelles ressources énergétiques renouvelables extraites de la biomasse, d'où un nouveau type de produit, en l'occurrence le biocarburant de deuxième génération.

1.3.2 Les biocarburants de deuxième génération

Afin de dépasser les critiques associées aux carburants de première génération, la deuxième génération se développe graduellement. La principale distinction entre ces deux générations consiste au choix des matières premières pour leur production qui peuvent différer [9].

Les biocarburants de deuxième génération sont obtenus à partir d'une biomasse dédiée au non-alimentaire, moins exigeante en termes de qualité de terre. Il s'agit plus spécifiquement de la biomasse lignocellulosique (lignine et cellulose) [5] associée aux parties non comestibles des plantes, aux déchets, aux résidus des récoltes agricoles, aux activités forestières, ainsi qu'à la fraction organique des déchets municipaux [13]. Il devient alors envisageable de valoriser les pailles, les tiges, les feuilles ou même des plantes à croissance rapide cultivées spécialement pour cette utilisation comme le *Miscanthus* et *Jatropha curcas* dont l'huile est non comestible et qui suscite un engouement général de la part de la communauté scientifique en raison de son important potentiel pour la production du biodiesel [1]. Deux méthodes sont principalement utilisées pour fabriquer de tels carburants : la voie biochimique ou la voie thermochimique [9].

Le principal avantage des biocarburants de deuxième génération réside dans le fait que ces produits limitent l'incommodante dualité qui oppose la production des denrées alimentaires à celle des biocarburants, tout en permettant, c'est à espérer, une exploitation plus efficiente des terres agricoles [1].

1.3.3 Les biocarburants de troisième génération

Suite à l'utilisation des cultures aux fins d'alimentation et des déchets végétaux pour la production des biocarburants, une troisième génération se développe actuellement et présente des perspectives d'avenir particulièrement intéressantes. Il est aujourd'hui question de produire du carburant grâce à des organismes microscopiques dont les microbes et les microalgues [9].

Les avancées récentes ont montré que des espèces microbiennes comme la levure, les champignons (mycètes et champignons) et les microalgues, peuvent être utilisées pour produire du biodiesel, du fait que ces organismes peuvent biosynthétiser et stocker des quantités importantes d'acides gras, similaires à celles présentes dans les huiles végétales. Les algues sont recensées comme l'une des plus vieilles formes de vie sur terre ; elles sont présentes dans pratiquement tous les écosystèmes, dans une large variété d'espèces et qui présentent le taux de croissance le plus élevé de l'ensemble du règne végétal ; elles s'adaptent à des conditions environnementales très variées. Les cellules des algues sont de véritables usines biochimiques miniaturisées qui absorbent du CO₂ et produisent des lipides, des protéines et des hydrates de carbone. De plus, leur activité photosynthétique est beaucoup plus forte que celle des plantes terrestres et donc plus productives [12][13].

Cette génération reste jusqu'aujourd'hui au stade de la recherche. Mais les experts s'entendent pour dire que les possibilités de production seraient considérables et que cela pourrait être une voie envisageable pour s'affranchir des carburants fossiles.

Nous nous focaliserons néanmoins dans ce travail, sur un biocarburant de troisième génération : le biodiesel produit à partir des microalgues.

Chapitre 2 : Généralités sur les microalgues

2.1 Définition et caractéristiques des microalgues

Les microalgues sont des organismes microscopiques photosynthétiques unicellulaires ou pluricellulaires indifférenciés, dont la taille varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres. Pour les étudier, il est donc nécessaire de les observer au microscope optique ou électronique [14]. La microalgue est délimitée par une membrane plasmique, qui contient au sein de leur cytoplasme de nombreux organites nécessaires à leur fonctionnement et à leur métabolisme (chloroplaste, amyloplaste, oléoplaste, mitochondrie et noyau) [15]. Elles se trouvent dans les habitats aquatiques, qu'ils soient marins ou d'eau douce.

Le nombre d'espèces est estimé de 200 000 à 1 000 000, ce qui représente un grand potentiel et une grande diversité par rapport aux 250 000 espèces végétales recensées [16][17]. Sur ce grand nombre d'espèces de microalgues estimées, environ 30 000 espèces sont connues et, malgré un intérêt croissant des industriels depuis la moitié du 20^{ème} siècle, seulement quelques dizaines de microalgues sont cultivées à une échelle industrielle [18][19] (Figure 2.1).

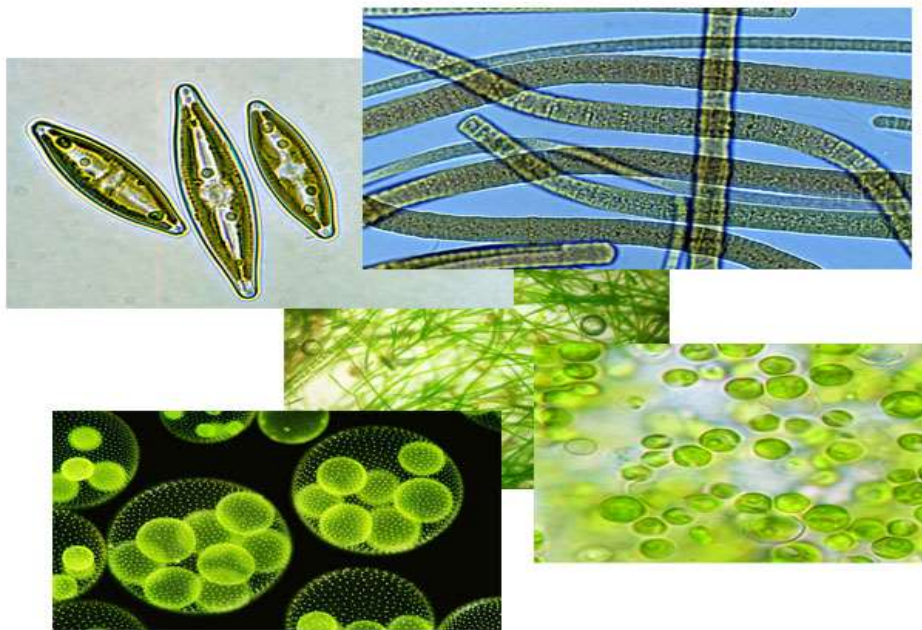


Figure 2.1 Différentes formes de microalgues.

Leur coloration est due à la coexistence de pigments variés, dont le plus important est la chlorophylle. Cette chlorophylle leur confère la capacité de synthétiser la matière organique nécessaire à leur développement à partir de molécules simples comme le gaz carbonique et l'eau.

Par rapport aux autres biomasses, le taux de croissance des microalgues est 50 fois supérieur à celui des plantes terrestres [20]. Les microalgues produisent 20 fois plus d'huiles que les cultures terrestres d'oléagineux [21]. Les microalgues ont une plus grande efficacité photosynthétique, elles

fixent donc plus de dioxyde de carbone que les plantes terrestres [20][22]. Au niveau des besoins en eau, la fixation d'un kilogramme de carbone nécessite 140 à 200 kg d'eau, ce qui est peu en comparaison avec les arbres (550 kg d'eau) [23].

Ces microorganismes appartiennent à deux groupes : les eucaryotes et les procaryotes ;

- Les microalgues eucaryotes possèdent une structure cellulaire végétale classique compartimentée, avec ou sans paroi cellulosique, et avec des pigments photosynthétiques renfermés dans des plastes [14].
- Les microalgues procaryotes, appelées aussi cyanobactéries (bactéries effectuant la photosynthèse).

2.2 Classification des microalgues

Le terme algue regroupe des individus chlorophylliens vivant essentiellement dans l'eau et qui ne sont pas des embryophytes et sont très rarement regroupées en fonction de leur métabolisme énergétique ou encore en fonction de leur habilité à synthétiser les métabolites nécessaires, mais plutôt en fonction de leurs propriétés morphologiques. Il existe donc plusieurs classifications taxonomiques différentes de microalgues, mais elles peuvent être réparties dans sept embranchements, dont les principales sont les cyanophycées, les chrysophycées, les rhodophycées, les euglenophycées, les chlorophycées, les charophycées et les phacophycées [24].

2.2.1 Les Cyanophycées (algues bleues-vertes)

Les cyanophycées ou algues bleues-vertes sont des algues procaryotes très répandues ne possédant aucun noyau dont environ 7 500 espèces sont connues à ce jour. Elles sont habituellement de petites tailles, soit 10 μm ou moins, et peuvent être retrouvées dans pratiquement tous les habitats (eaux fraîches, eaux salées, eaux saumâtres et sols) étant donné leur aptitude à résister à des températures extrêmes et leur résistance à la dessiccation [25] (Figure 2.2). Cependant, la majorité des algues bleues-vertes ont des températures optimales de croissance de 32 à 35°C [25]. La principale restriction des cyanophycées provient du fait que ces dernières nécessitent la présence de lumière pour leur croissance et sont donc principalement des organismes autotrophes obligatoires. Certaines espèces seraient toutefois en mesure d'oxyder certains sucres en absence de lumière. Les cyanophycées emmagasinent principalement leur énergie sous forme d'amidon (amylose et amylopectine) ou encore sous forme d'huiles [25].



Figure 2.2 Photographie d'une cyanophycée *Nostoc* ou *Crachat*.

2.2.2 Les Chrysophycées (algues dorées)

Les chrysophycées ou algues dorées sont généralement présentes dans les eaux douces (Figure 2.3).

Cette classe est représentée par 150 genres et environ 800 espèces. Le mode de nutrition de ces algues est très varié, mais certaines d'entre elles possèdent un mode de nutrition hétérotrophe comme *Ochromonas danica* qui comprend un pourcentage de 27,4 % en acides gras et dont la source de carbone assimilée est le glucose [25].



Figure 2.3 Photographie d'une chrysophycée *Dinobryon*.

2.2.3 Les Rhodophycées (algues rouges)

Il existe près de 4 000 espèces d'algues rouges qui sont retrouvées dans les eaux saumâtres et salées et très rarement dans les eaux douces (Figure 2.4). Comme les phacophycées, cette classe ne comprend aucune algue de métabolisme hétérotrophe et la plupart d'entre elles sont photoautotrophes ou photo organotrophes [25]. Bien que certaines espèces contiennent des acides gras, leur utilisation pour produire du biodiesel en absence de lumière ne semble pas envisageable.



Figure 2.4 Photographie d'une rhodophycée *Stylonema Alsiddii*.

2.2.4 Les Euglenophycées

Il existe plus de 800 espèces d'euglenophycées qui sont retrouvées généralement dans les eaux saumâtres et douces (Figure 2.5). Les principales réserves de ces algues sont constituées de paramylon, une substance glucidique, et d'huiles. Les études réalisées à partir des euglenophycées démontrent que celles-ci possèdent une nutrition complexe et qu'il est difficile de définir des besoins nutritionnels communs pour plusieurs espèces. Une espèce en particulier, *Euglena gracilis*, peut croître en mode autotrophe et hétérotrophe [25]. Lorsqu'elle est cultivée en absence de lumière, un substrat contenant acétate, acides organiques, alcool ou sucres peut être utilisé. Cette espèce possède d'ailleurs un intérêt particulier quant à la production d'acides gras.



Figure 2.5 Photographie d'une euglenophycée *Phacus*.

2.2.5 Les chlorophycées (algues vertes)

Les chlorophycées sont retrouvées dans tout types d'habitat. L'amidon et l'huile constituent leurs principales réserves énergétiques. Parmi les microalgues de ce groupe, celles ayant un métabolisme photoautotrophe, photohétérotrophe ou chemohétérotrophe.

L'espèce la plus étudiée possédant un métabolisme chemohétérotrophe est *Chlorella vulgaris*. Cette espèce est très intéressante pour la production de biodiesel en raison de son pourcentage intéressant en acides gras. Les principales sources de carbone assimilables le sont sous forme de sucres et d'acide acétique. D'autres espèces faisant partie de cette classe ont un potentiel intéressant en huile pour la production d'algocarburants dont notamment l'espèce *Chlorella protothecoides* (Figure 2.6).



Figure 2.6 Photographie d'une chlorophycée *Chlorella Protothecoides*.

2.2.6 Les bacillariophycées (diatomées)

Les diatomées représentent souvent le groupe dominant de microalgues parmi les populations de phytoplancton et sont extrêmement répandues dans tous les types d'habitat (Figure 2.7).

En effet, plus de 100 000 espèces sont connues et il en existerait plus d'un million. Celles-ci sont unicellulaires et mesurent de 2 μm à 1 mm. Les diatomées emmagasinent leurs réserves sous forme de chrysolaminaran, un polysaccharide, ainsi que d'huiles. Elles sont d'ailleurs reconnues pour leur contenu en acides gras et pendant plusieurs années, les scientifiques croyaient que les lipides représentaient le seul composé de réserve [26]. Les composants majeurs de ces lipides sont les triglycérides. Les microalgues telles que *Nitzschia sp* et *Navicula pelliculosa* sont intéressantes pour la production de biodiesel en mode hétérotrophe étant donné l'importance du pourcentage en acides gras (Tableau 2.1).

Parmi les espèces de diatomées, plusieurs possèdent un métabolisme hétérotrophe obligatoire ou encore facultatif (principalement les diatomées pennales), alors que certaines autres possèdent plutôt un métabolisme photohétérotrophe (principalement les diatomées centriques) [26]. Les diatomées possédant un métabolisme hétérotrophe ou encore mixotrophe sont très diversifiées quant au taux d'assimilation des hydrates de carbone ainsi qu'au type d'hydrate de carbone utilisé [26]. Les substrats organiques favorisant leur croissance varient, alors que la présence de vitamines semble être essentielle pour la plupart des diatomées.



Figure 2.7 Photographie d'une bacillariophycée *Navicula*.

Parmi les principales classes ou phylums, certaines espèces de microalgues possèdent un potentiel intéressant pour la production de biodiesel en raison de leur importante production d'acides gras. Ces principales espèces sont présentées dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 Principales espèces de métabolisme hétérotrophe pour la production de biodiesel.

| Phylum ou Classe | Espèce | Contenu en huiles (% poids sec) |
|-------------------|---|---------------------------------|
| Chlorophycées | <i>Chlorella vulgaris</i> | 56,6 |
| Chlorophycées | <i>Chlorella</i> <i>Protothecoides</i> | 44,3-48,7 |
| Bacillariophycées | <i>Nitzschia sp.</i> | 45-47 |
| Dinoflagellés | <i>Cryptocodinium</i> | 20-30 |
| Chrysophycées | <i>Schyzochytrium</i> | 50-77 |

2.3 Compositions biochimiques des microalgues

2.3.1 Les lipides

Les lipides, plus précisément, les acides gras polyinsaturés sont les molécules d'intérêts les plus recherchés dans les microalgues. Pour les microalgues, ces lipides servent à la défense contre les prédateurs herbivores par leur faculté de produire des aldéhydes toxiques, et à l'adaptation aux fluctuations environnementales.

Les microalgues accumulent plus de 50% de leur poids sec en lipides dans les conditions favorables. Ces derniers sont principalement constitués de triglycérides, de phospholipides, et de glycolipides. Ils contiennent des acides gras saturés et polyinsaturés (AGPI) comme les oméga-3 : Acide linoléique, Acide eicosapentaénoïque (timnodonique), Acide docosahéxaénoïque ou les oméga-6 : Acide arachidonique.

Le tableau 2.2 résume le contenu lipidique de quelques espèces de microalgues.

Tableau 2.2 Contenu lipidique de quelques espèces de microalgues [27].

| ESPECES | Contenu maximal en lipides (% de son poids sec) |
|---------------------------------|--|
| <i>Botryococcus braunii</i> | 29-75 |
| <i>Chlorella protothecoides</i> | 15-55 |
| <i>Cyclotella DI-35</i> | 42 |
| <i>Dunaliella tertiolecta</i> | 71 |
| <i>Hantzschia DI-160</i> | 66 |
| <i>Nannochloris</i> | 6-63 |
| <i>Nannochloropsis</i> | 31-68 |
| <i>Neochloris oleoabundans</i> | 35-54 |
| <i>Nitzschia sp</i> | 45-50 |
| <i>Pleurochrysis carterae</i> | 31-45 |
| <i>Stichococcus</i> | 9-59 |
| <i>Spirulina platensis</i> | 4-17 |
| <i>Scenedesmus TR-84</i> | 15-55 |

2.3.2 Les glucides

Les réserves glucidiques des microalgues sont également variées avec des polysaccharides tels que le paramylon, le rhodamylon et la chrysolaminarine. En dehors de ces polysaccharides structuraux, les microalgues synthétisent également des exopolysaccharides. Ces derniers sont des composés hydrophiles et polyanioniques qui forment une gangue, retiennent l'eau et piègent les cations permettant ainsi aux microalgues de résister à la dessiccation [28].

2.3.3 Les protéines

Plusieurs espèces de microalgues ont un contenu élevé en protéines, peptides et acides aminés, entre 12 à 65% de la matière sèche. Ces espèces sont considérées comme une source non conventionnelle de protéines dans l'alimentation humaine et animale.

2.3.4 Autres constituants

Les microalgues présentent également une très grande richesse en vitamines (vit. B1, B6, B12, C, E, K1), en pigments (caroténoïdes, phycoérythrine et phycocyanine) et en antioxydants (lutéine, phycocyanine, astaxanthine). Certaines espèces contiennent aussi des molécules à activités antivirales et antibiotiques pour l'homme [29].

2.4 Photosynthèse

Les microalgues sont des eucaryotes autotrophes, c'est à dire qu'elles transforment le dioxyde de carbone inorganique (ou minéral), comme celui présent dans l'air, en matière organique. Cette transformation s'effectue grâce à l'énergie lumineuse par un processus unique de conversion de l'énergie solaire : la photosynthèse [30]. Les microalgues ont un rendement photosynthétique élevé (rapport de l'énergie lumineuse incidente sur l'énergie stockée dans les microalgues) [16].

Le principe de la photosynthèse a été découvert par Priestley en 1780, le dioxyde de carbone est absorbé par les plantes grâce à un pigment vert : la chlorophylle. Lors de la photosynthèse, par action de la lumière, le dioxyde de carbone est réduit en sucre $(\text{CH}_2\text{O})_n$ servant à la construction des réserves (l'amidon ou des huiles). L'eau est quant à elle photo-oxydée en oxygène. La photosynthèse est donc la transformation de carbone inorganique en matière organique ou encore la transformation d'énergie lumineuse (représentée par $h\nu$ dans la Figure 2.8) en énergie chimique, c'est un processus de capture de l'énergie [31].

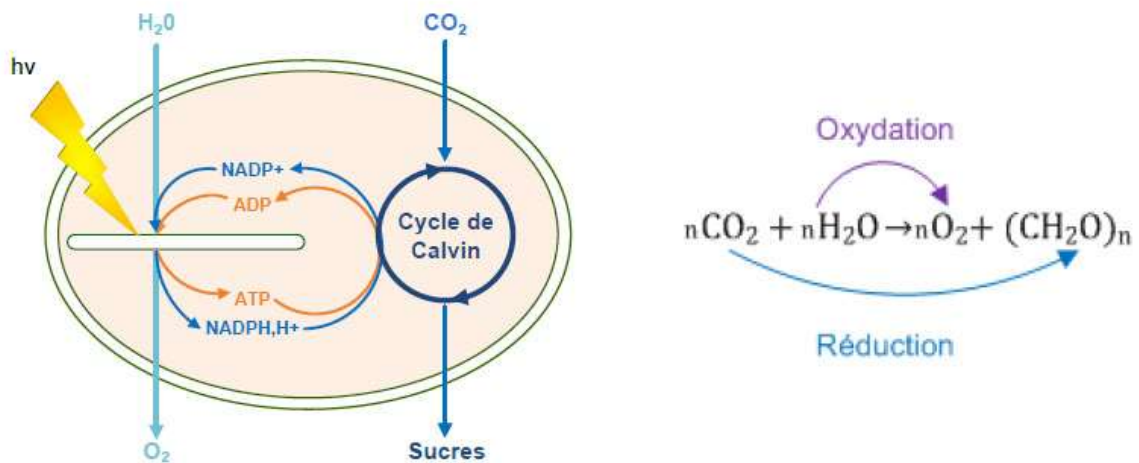


Figure 2.8 La photosynthèse - Réaction globale.

La photosynthèse se déroule dans les membranes thylacoïdiennes des chloroplastes où sont situés des pigments photorécepteurs (chlorophylles, caroténoïdes) (Figure 2.9).

Le chloroplaste est un organe typique des cellules végétales et a pour principal composant la chlorophylle (pigment vert). Il est composé d'une phase aqueuse (stroma) et de couches de membranes lipoprotéiques : les thylacoïdes. Les thylacoïdes sont des « lamelles » disposées parallèlement à l'axe principal du chloroplaste, la membrane thylacoïdienne forme une vésicule plate, formant un espace intra-thylacoïdien : le lumen. Les membranes thylacoïdiennes sont majoritairement composées d'acides gras polyinsaturés [32].

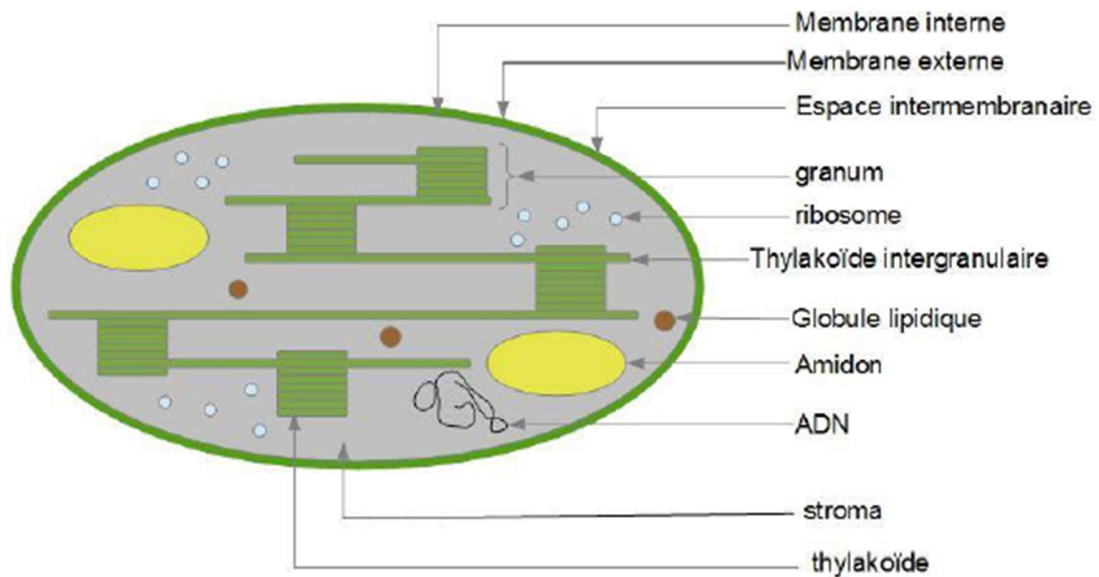


Figure 2.9 Schéma d'un chloroplaste en coupe transversale.

La photosynthèse permet la transformation de l'énergie lumineuse en énergie chimique. Cette transformation est possible grâce à la chaîne photosynthétique et au cycle de Calvin. Elle se déroule en deux phases :

- La phase photochimique dite éclairée (chaîne photosynthétique), dépend directement de la lumière : phase de conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique au niveau des membranes thylacoïdiennes ;
- La phase dite obscure (cycle de Calvin), non dépendante directement de la lumière: phase de synthèse de matière organique (sucres) à partir de produits issus de la phase photochimique et du CO₂ atmosphérique dans le stroma du chloroplaste.

2.5 Système de cultures des microalgues

La culture à l'échelle laboratoire et semi-industrielle est déjà bien étudiée, connue et est maîtrisée, ce qui n'est pas encore le cas pour la culture à grande échelle [33]. Deux moyens principaux de cultures de microalgues ont été développés [34], aussi bien à l'échelle laboratoire qu'à l'échelle industrielle. Les systèmes ouverts, où une partie importante de la culture est exposée à l'atmosphère, communément appelés bassins. Les systèmes fermés, où les cultures n'ont pas, ou peu, de contact direct avec l'atmosphère. Ces systèmes sont appelés des photobioréacteurs [35]. Le choix du système de production dépend du degré de contrôle nécessaire à la production du produit voulu et de sa valeur [36]. Au niveau industriel, les microalgues sont souvent cultivées en bassin mais la production de molécules à haute valeur ajoutée ne peut pas se faire en système ouvert [37].

2.5.1 Systèmes ouverts

Les systèmes ouverts sont les systèmes d'exploitation qui ont été majoritairement utilisés pour la culture industrielle des microalgues dans les dernières décennies. Les systèmes ouverts sont plus faciles et moins chers à construire et à exploiter que les réacteurs fermés (Figure 2.10).

Ces systèmes sont les moins énergivores et ont une maintenance et un nettoyage facile [38]. C'est pour ces raisons qu'ils sont toujours considérés à l'heure actuelle comme des systèmes de cultures viables [22]. Malgré leur faible productivité. Les systèmes ouverts utilisent généralement que la lumière naturelle, il n'y a donc pas de coût associé à l'apport de lumière pour ces systèmes de culture. Cependant, les microalgues dans ces systèmes de culture n'ont qu'une utilisation faible de la lumière [39] et sont soumises aux variations journalières et saisonnières de la température et de l'intensité lumineuse [36]. Des problèmes de contaminations existent (par des bactéries, champignons, protozoaires et d'autres micro-organismes) et de grosses pertes d'eau par évaporation sont observées dans ce type de système de culture [40]. Les conditions de cultures sont peu contrôlables et il existe seulement quelques microalgues assez résistantes pour croître sous les conditions extrêmes qui sont habituelles aux bassins ouverts (pH élevé, haute température ou haute salinité) [41].

Les bassins varient par leur forme, le type de matériaux utilisés, le système de mélange du milieu. Plusieurs familles de bassin existent :

- Les bassins naturels : dans les conditions climatiques et nutritionnelles nécessaires aux microalgues, ces bassins non mélangés, sont souvent utilisés pour la culture de *Dunaliella salina* ou pour la Spiruline. Ils ont en général une faible productivité ($<1 \text{ g.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$).
- Les bassins circulaires : principalement utilisés en Asie pour la culture de *Chlorella*, ils nécessitent un fort investissement en matériel et leur agitation, par un bras rotatif placé au centre, consomme beaucoup d'énergie [42][43].
- Les raceways : ce sont les bassins les plus utilisés depuis leur début dans les années 50 [44], majoritairement pour la culture de Spiruline. Leur principe est de faire circuler les algues sur une faible largeur et profondeur (entre 15 et 50 cm) mais sur une grande distance. La circulation et le mélange s'effectuent grâce à des roues à aubes. La productivité de ces bassins est d'environ $20\text{-}25 \text{ g.m}^{-2}.\text{j}^{-1}$, pour une concentration cellulaire inférieure à $0,6 \text{ g.L}^{-1}$ [42]. L'utilisation de CO_2 n'est pas efficace dans les raceway et il y a un faible mélange [40].



Figure 2.10 Bassins de culture des microalgues. A gauche : bassin en boucle fermée, infrastructure de Roswell, Nouveau Mexique (USA) [45]. A droite : bassins circulaires d'environ 500 m², production de chlorelle (Chlorella Industries, Japon) [46].

2.5.2 Systèmes fermés

Les photobioréacteurs sont des réacteurs fabriqués à partir de matériaux transparents. Leur conception est basée sur la surface éclairée, l'efficacité du mélange et le contrôle des paramètres de culture (température, teneur en dioxyde de carbone et en oxygène, pH), pour atteindre une productivité maximale (Figure 2.12). Les systèmes fermés ont été conçus pour pallier les problèmes des bassins [38].

Ils offrent un environnement de culture clos, ils protègent la culture des contaminations directes, permettent un meilleur contrôle des conditions de cultures : la température est contrôlée efficacement, l'accès à la lumière est augmenté par rapport au bassin, l'évaporation du milieu de culture est minimisée, l'approvisionnement en CO₂ est facilité et ses pertes sont limités [47].

Le photobioréacteur permet la disposition efficace de la lumière mais aussi l'enlèvement de l'oxygène produit par la photosynthèse [48]. Grâce à ce contrôle des paramètres, des microalgues plus fragiles peuvent y être cultivées. Les photobioréacteurs permettent la reproductibilité des conditions de culture ainsi qu'une forte concentration cellulaire et une forte productivité. Les bassins ont une faible productivité (0,05 à 0,1 g.L⁻¹.j⁻¹) et de faibles concentrations cellulaires (<1 g.L⁻¹) par rapport aux photobioréacteurs (concentration supérieure à 1 g.L⁻¹ et productivité supérieure à 0,8 à 1,3 g.L⁻¹.j⁻¹) [49].

Cependant la conception des photobioréacteurs doit être optimisée pour chaque espèce de microalgues, par rapport à ses caractéristiques physiologiques et à ses caractéristiques de croissance [41]. De plus, les photobioréacteurs restent très chers à produire et à exploiter.

Les photobioréacteurs existent sous de nombreuses formes, mais ils peuvent être séparés en plusieurs catégories : les photobioréacteurs plans, les photobioréacteurs cylindriques, les photobioréacteurs « Plastic bag » et un type particulier de réacteurs pour la culture de microalgues en l'absence de lumière : les fermenteurs (Figure 2.11).



Figure 2.11 Photographies de différentes installations de PBR tubulaires. A gauche : PBR hélicoïdal, vertical Murdoch University, Australie [40]. A droite : PBR tubulaire horizontal immergé dans l'eau, Solix's Lumian™ Algae Growth System.

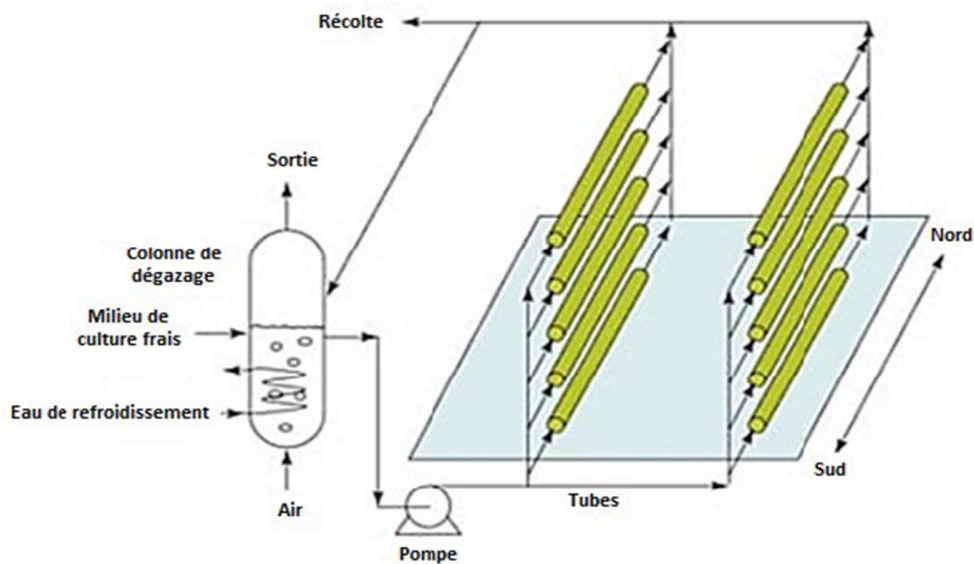


Figure 2.12 Schéma de principe d'un PBR.

2.6 Récupération des microalgues

La récupération des microalgues communément appelée récolte est une étape limitante de nombreuses voies de valorisation des microalgues. En effet, les microalgues ont une taille le plus souvent de l'ordre du micron et leur récolte n'est pas aisée. Cette étape peut s'avérer coûteuse et représenter une part économique importante dans le coût d'un procédé à échelle industrielle [50]. La récupération peut se faire par centrifugation, filtration, floculation, sédimentation ou flottation.

2.6.1 La centrifugation

Cette technique de concentration utilise la force centripète afin de permettre la séparation des microalgues avec le milieu de culture par simple différence de densité. La centrifugation est efficace à 90% et le taux de récupération est directement lié au débit fixé en amont [21]. Cette méthode est rapide et efficace, et représente une des méthodes les plus utilisées à l'échelle industrielle. Cependant, cette méthode est coûteuse en énergie ce qui la rend difficilement réalisable économiquement [51]. De plus, l'exposition des cellules à cette force centripète peut les endommager [52].

2.6.2 La sédimentation

La sédimentation est une technique qui repose sur le principe de gravité. Les cellules en suspension dans le milieu vont être soumises à la gravité et vont former dans la partie inférieure un dépôt de particules solides et dans la partie supérieure une phase liquide. Les microalgues de grande taille et de forte densité vont pouvoir être récoltées par sédimentation comme par exemple la spiruline. La vitesse de sédimentation peut être nettement améliorée grâce à l'ajout de floculants [52][53].

2.6.3 La filtration

Dans cette méthode, la suspension microalgale passe au travers d'un filtre, en ne retenant que les cellules. Il existe différentes formes de filtration ; la microfiltration, la filtration sous vide, sous pression, l'ultrafiltration et la filtration à flux tangentiel. Le choix du type de filtration sera dépendant de la taille de l'espèce à récolter. En dépit d'être des méthodes de récoltes attractives, d'un point de vue énergétique, la microfiltration et la filtration sous vide sont coûteuses en énergie. Le pompage de la biomasse demande une dépense énergétique élevée ainsi que le remplacement des membranes souvent victimes de colmatage.

2.6.4 La floculation

La floculation est un procédé dans lequel les particules en solution se rejoignent afin de former des agrégats appelés « floccs » [53]. Lorsque la floculation est combinée à la sédimentation ou à la filtration son efficacité est nettement augmentée [51].

2.6.5 La flottation

La flottation est un procédé basé sur la gravité, dans lequel des bulles de gaz sont liées aux particules solides (cellules microalgues) leur permettant ainsi de « flotter » à la surface. Des études ont montré que le système de flottation pour la récolte des microalgues était une méthode efficace pour les cellules de petites tailles comme *Nannochloropsis oculata* [51]. Il existe la flottation à air dissout et la flottation à air dispersé [52].

Dans le procédé de flottation à air dissout, les bulles d'air ont une taille réduite de 10 à 100 μm [52]. Les bulles d'air passent à travers le milieu, adhèrent entre elles, se lient sur les particules et ainsi augmentent leur flottabilité, et créent des « flocs » à la surface où une zone de « compactage » est formée [21].

Dans le procédé de flottation à air dispersé, une injection d'air et une forte agitation forment des bulles de 700-1500 μm à l'intérieur du milieu. Ces bulles vont « réagir » avec les charges négatives des cellules de microalgues [52]. Cette technique peut être améliorée avec l'ajout de surfactants cationiques qui vont amener au milieu une charge positive [51].

2.7 Paramètres influençant la culture des microalgues

Pour croître, les microalgues ont besoins, de nombreux paramètres. Les facteurs physiques les plus importants sont une source d'énergie, généralement la lumière et une température optimale. Et les facteurs chimiques sont la concentration disponible en dioxyde de carbone et un apport en macronutriment et en oligo-éléments [54]. Aussi la croissance algale est affectée par plusieurs paramètres comme le mélange et la concentration en oxygène.

2.7.1 Lumière

La lumière est le facteur le plus important pour la croissance photosynthétique des algues. Elle a un effet sur la composition cellulaire des microalgues (photoadaptation ou photoacclimation) [32]. L'énergie radiative ne s'accumule pas, c'est pour cela que la lumière doit être fournie en permanence et doit être considérée comme un substrat [55][56].

A de faibles intensités lumineuses, le taux de photosynthèse (ou activité photosynthétique) dépend linéairement de l'intensité lumineuse mais avec l'augmentation de l'intensité lumineuse, l'activité de la photosynthèse augmente jusqu'à atteindre un plateau, ce phénomène est la photolimitation. Sous de plus fortes intensités lumineuses, l'activité de la photosynthèse diminue, ce phénomène est appelé la photoinhibition (Figure 2.13). Par contre, lors de culture à de grandes concentrations cellulaire, la zone « photoinhibée » est très proche de la zone noire, il est impossible de savoir quelles cellules sont photoinhibées et quelles cellules sont photolimitées [55]. Un bon mélange de la culture permet dans ce cas de réduire le nombre de cellules photoinhibées et photolimitées.

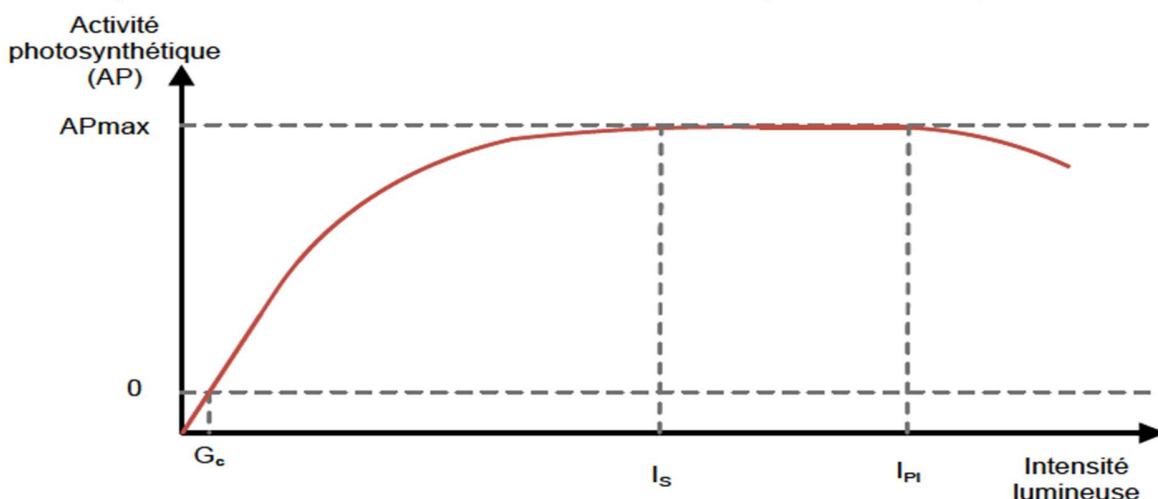


Figure 2.13 Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse [57].

Avant une certaine intensité lumineuse (G_C : Intensité de compensation) il n'y a pas d'activité de photosynthèse. Seule l'activité de respiration cellulaire est présente. L'intensité de compensation est l'intensité où la photosynthèse compense juste la respiration.

L'intensité lumineuse de saturation (I_s) est l'intensité où l'efficacité de la photosynthèse (ou taux de photosynthèse) est maximale (photolimitation). L'intensité lumineuse d'inhibition (I_{PI}) est l'intensité où l'activité de la photosynthèse est inhibée par la lumière. La photoinhibition devient prononcée pour une intensité lumineuse supérieure à $1200 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ [58].

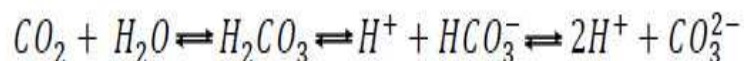
L'efficacité de la photosynthèse est habituellement mesurée par le dégagement d'oxygène ou par la consommation de dioxyde de carbone. La lumière disponible est exprimée en densité de flux de photons ($\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) ou en taux d'absorption de photon ($\mu\text{mol}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{cell}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$) [59][60].

2.7.2 Température

La température est un des facteurs physiques influençant le plus la croissance des microalgues. Pour chaque température il y a une intensité lumineuse spécifique pour atteindre le taux de photosynthèse maximal. La température optimale augmente donc avec l'augmentation de l'intensité lumineuse. Il y a aussi une température optimale pour une production de biomasse maximale mais la variation de la température agit aussi sur la composition cellulaire. La diminution de la température augmente le degré d'insaturation des lipides et l'augmentation de la température entraîne l'augmentation des concentrations des pigments mais aussi une augmentation de la concentration des radicaux d'oxygène. Si les microalgues ne croissent pas à la température optimale, le besoin en carbone et en nutriment pour obtenir le même taux de croissance est plus important [32].

2.7.3 Carbone

Les microalgues ont besoin de carbone inorganique pour la photosynthèse, il peut être apporté sous forme de sels (bicarbonate) ou par enrichissement de l'air insufflé (car l'air ambiant ne contient pas assez de CO_2 pour la culture intensive des microalgues). Pour que les microalgues puissent utiliser le CO_2 pour la photosynthèse, celui-ci doit être solubilisé [16]. Le dioxyde de carbone, dissout dans l'eau prend plusieurs formes, en fonction du pH (Figure 2.14).



Au niveau de la cinétique de ces réactions, la réaction redonnant du CO_2 est plutôt lente, alors que les réactions dont le HCO_3^- est le protagoniste sont presque immédiates [61].

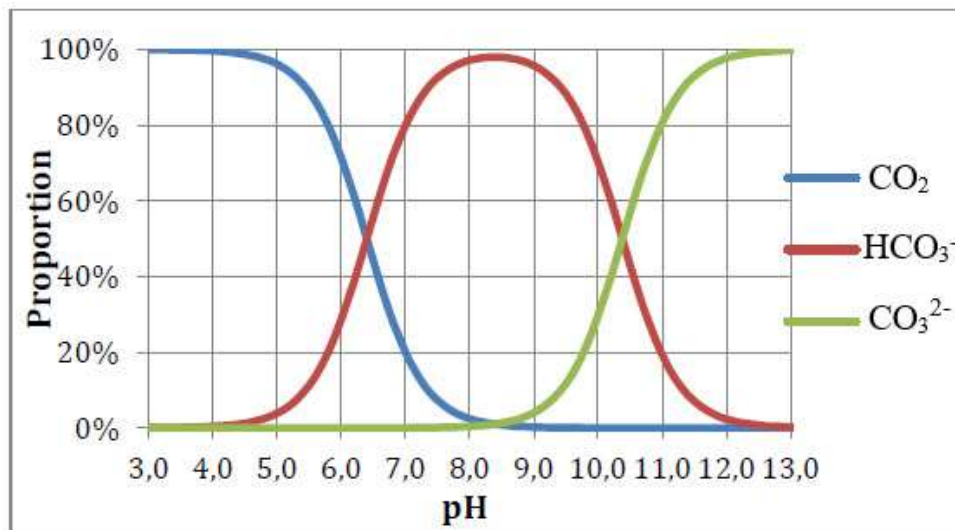


Figure 2.14 Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH [57].

A un pH inférieur à 4,4, la forme du carbone très majoritaire est le dioxyde de carbone. A un pH de 6,4 il y a autant de dioxyde de carbone que d'ions bicarbonates et à un pH de 10,4 il y a autant d'ions carbonates que d'ions bicarbonates. Pour un pH situé entre 8,3 et 9,5, les ions bicarbonates sont majoritaires. A partir d'un pH de 12,3 les ions carbonates sont majoritaires (Figure 2.14).

Les microalgues vivent généralement dans un milieu à un pH neutre. Le carbone dissout sera donc sous forme de dioxyde de carbone et d'ions carbonates. Les microalgues sont très consommatrices de dioxyde de carbone, pour produire 1 kilogramme de biomasse 1,8 kg de dioxyde de carbone sont nécessaires [16][62]. Le dioxyde de carbone est un produit onéreux, une alternative est d'utiliser les effluents d'usines issus de procédés de combustion, riches en dioxyde de carbone et disponibles en grande quantité, et qui contribuent au réchauffement climatique [61]. Il est parfois nécessaire pour cela d'avoir recours à un prétraitement pour concentrer le CO₂ et réduire les substances néfastes au processus de culture.

2.7.4 Besoins nutritifs

L'azote est un élément essentiel des protéines de structure et de fonctionnement, c'est l'élément le plus important après le carbone [61]. Le taux de croissance des microalgues est à peu près identique selon les sources d'azote utilisées (urée, nitrite, nitrate). De nombreuses études montrent l'amélioration de la production et du stockage de lipides dans le cas d'une carence en azote. Il y a aussi une accumulation des caroténoïdes secondaires dans ce cas.

Le phosphore est un macronutriment important dans les processus de métabolisme cellulaire. Une carence en phosphore peut entraîner des accumulations de pigments chez certaines microalgues, mais l'impact est plus faible qu'une carence azotée [61].

Les microalgues ont besoin de potassium, de fer, de silice (pour les diatomées), de soufre, de métaux sous forme de traces et de vitamines. Le fer est un oligo-élément essentiel pour la croissance des microalgues de par son implication dans le transport des électrons dans le processus de la photosynthèse [32].

2.7.5 Mélange

Les cultures de microalgues ont besoin d'être mélangées, continuellement ou non selon les espèces, pour plusieurs raisons [31][63][64] :

- Prévenir la sédimentation algale ;
- Prévenir la formation d'un gradient de nutriment ou de gaz ;
- Déplacer les cellules dans le gradient de lumière, cela diminue la photolimitation et photoinhibition [40] ;
- Diminuer la concentration en oxygène dissous ;
- Augmenter les échanges de nutriments et les transferts de masse.

Le mélange est un facteur important pour avoir un grand rendement en biomasse car cela augmente la productivité et la concentration optimale [63][64].

L'augmentation de la turbulence du milieu permet aussi d'augmenter les échanges de nutriments et de métabolites entre les cellules et le milieu de culture. Cependant, les algues étant sensibles au cisaillement [40][65], tous les types de mélange ne sont pas utilisables (comme les pompes centrifuges). Les forts régimes de turbulence ne sont généralement pas utilisés avec les microalgues car l'augmentation de la turbulence augmente le risque de dommages cellulaires. Les dommages cellulaires sont très probables en airlift ou en colonne à bulles à de fortes turbulences, [66]. Les dommages cellulaires sont dus à [47] :

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

Quand la concentration en biomasse est faible, le mélange ou non ne fait pas de différence [63].

2.8 Intérêt de l'utilisation des microalgues

Les premières utilisations des microalgues étaient en 2000 en Chine, Nostoc, une Cyanobactérie, avait été utilisée comme nourriture afin de survivre à une famine [19].

En 1940, les chercheurs se sont intéressés aux microalgues comme aliments pour leurs teneurs en protéines. En France, l'activité commence à la fin des années 1970 avec l'apparition des premières écloséries de mollusques et la production de microalgues pour l'aquaculture. En 2005, la production mondiale toutes espèces confondues est estimée à 7000 tonnes de matière sèche par an. Aujourd'hui avec seulement quelques dizaines d'espèces cultivées, la production mondiale n'excède pas 10000 tonnes [67].

Actuellement, les applications commerciales des microalgues sont en plein essor.

On cite les principales voies de valorisation des microalgues (Figure 2.15) ;

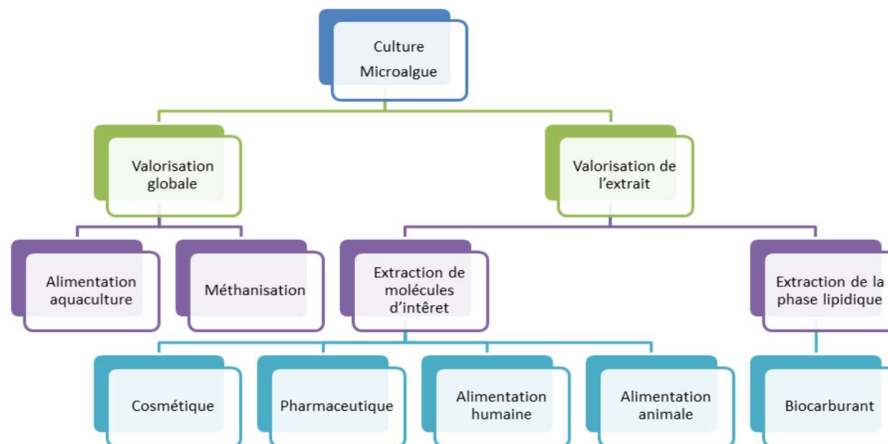


Figure 2.15 Les principales voies de valorisation des microalgues.

Ainsi une sélection d'espèces de microalgues avec leurs produits et domaines d'application est donnée dans le tableau 2.3 [17];

Tableau 2.3 Une sélection d'espèces de microalgues avec leurs produits et domaines d'application [17].

| Espèces | Produits | Domaines d'application |
|---|--------------------------|--|
| <i>Spirulina</i> Cyanobactérie | Phycocyanine Biomasse | Aliments naturels, Cosmétique |
| <i>Chlorella vulgaris</i> Chlorophycée | Biomasse | Aliments naturels, Suppléments alimentaires, Substituts alimentaires |
| <i>Dunaliella salina</i> Chlorophycée | β -carotène | Aliments naturels, Suppléments alimentaires, Substituts alimentaires |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> Chlorophycée | Astaxanthine | Aliments naturels, Suppléments alimentaires, Substituts alimentaires |
| <i>Odontella aurita</i> Bacillariophycée | AGPI | Pharmaceutique, Cosmétique, Aliments pour enfants |
| <i>Porphyridium cruentum</i> Rhodophycée | Polysaccharides | Pharmaceutique, Cosmétique, Nutrition |
| <i>Isochrysis galban</i> Chlorophycée | AGPI | Nutrition animale |
| <i>Phaeodactylum tricorutum</i> Bacillariophycée | Lipides AGPI | Nutrition, Production de carburants |
| <i>Lyngbya majuscula</i> Cyanobactérie | Immunomodulateur | Pharmaceutique, Nutrition |
| <i>Muriellopsis sp.</i> Chlorophycée | Lutéine | Aliments naturels, Suppléments alimentaires, Substituts alimentaires |

Parmi les principales applications des microalgues on peut citer :

2.8.1 Production de biomasse à but alimentaire

Une algue peut être intéressante d'un point de vue alimentaire si elle se rapproche de la composition chimique d'un aliment déjà connu. Elle ne doit pas présenter de toxines qui peuvent être naturelles ou accumulées lors de la production. La qualité de ses protéines va être un facteur important ainsi que leurs disponibilités et leurs valeurs nutritionnelles.

Les microalgues sont plus considérées comme des compléments alimentaires que comme des aliments proprement dit. L'habilitation des microalgues pour l'alimentation humaine porte en Europe essentiellement sur la Chlorelle et la Spiruline.

2.8.1.1 La spiruline :

La *spiruline* est parmi les microalgues les plus cultivées mondialement (Figure 2.16). La spiruline est un phytoplancton utilisé en alimentation humaine depuis l'Antiquité.

Poussant dans des eaux saumâtres alcalines, riches en sels minéraux, elle a, en effet, constitué le seul complément en protéines, lipides insaturés et vitamines pour les populations des zones arides du bord du lac Tchad et d'Amérique centrale. Elle renferme environ 70% de protéines (poids sec), qui sont assimilables à plus de 95%, car la *spiruline* ne contient pas de cellulose. Ce taux est 4 fois plus important que celui du soja par exemple. La *spiruline* contient des acides gras essentiels, γ -linoléique et linoléique que le corps ne sait pas synthétiser. Elle contient aussi des enzymes comme le SOD (superoxyde dismutase), des caroténoïdes, phycocyanine ainsi que plusieurs vitamines et minéraux [68][69][70].

L'industrie agroalimentaire utilise la *spiruline* pour l'alimentation animale et la fabrication d'aliments diététiques, destinés, par exemple, aux régimes hyperprotéiques.

Elle permet aussi de lutter contre la malnutrition, la dénutrition et les carences protéiques dans les pays en voie de développement.



Figure 2.16 Culture de *Spiruline* au Burkina Faso.

2.8.1.2 La Chlorelle :

La *Chlorelle* est une algue verte unicellulaire d'eau douce. Elle se distingue des autres végétaux par une exceptionnelle concentration en chlorophylle. L'intérêt pour la *Chlorelle* comme aliment a commencé à la fin des années quarante, époque à laquelle on craignait que la surpopulation ne mène à une crise alimentaire mondiale. De nombreuses recherches furent alors entreprises par des institutions aux États-Unis. Sa haute teneur en protéines la rendait potentiellement très intéressante.

Elle contient en outre de nombreuses vitamines et acides gras essentiels. Tous ces espoirs furent finalement déçus, la *Chlorelle* s'avérant très onéreuse à produire. La révolution verte ayant été la solution aux problèmes de production alimentaire, elle perdit de son intérêt.

Aujourd'hui, elle constitue un complément alimentaire vendu en magasin diététique.

Elle possède de bonnes vertus détoxifiantes, de fixation des métaux lourds et immunostimulantes.

2.8.2 Production de molécules à haute valeur ajoutée

Dans ce cas, la microalgue est cultivée pour un élément bien précis de sa composition.

Parmi ces molécules on trouve :

2.8.2.1 Les pigments :

Une des voies de valorisations intéressantes à partir de microalgues est celle de la production de pigments (Figure 2.17). Ces pigments peuvent servir dans le domaine alimentaire en tant que colorants ou encore dans le domaine pharmaceutique en tant que pigments fluorescents. Les microalgues renferment une grande variété de pigments dédiés à de nombreuses applications.

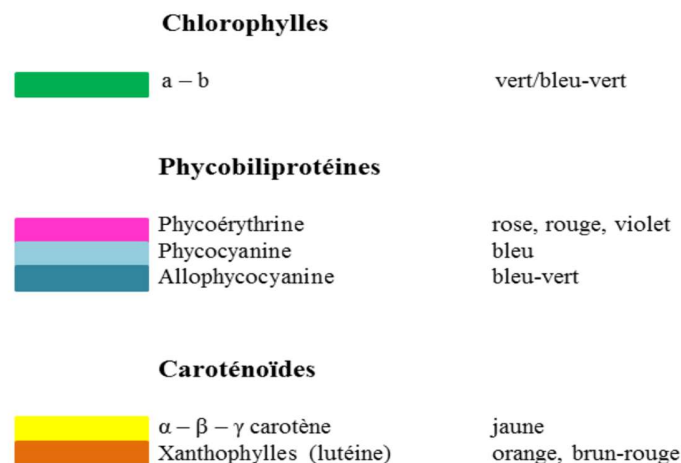


Figure 2.17 Différents pigments présents chez les microalgues.

Les caroténoïdes :

Les caroténoïdes constituent la famille de pigments la plus représentée chez les microalgues.

Ces pigments sont responsables de la couleur rouge-jaune-orange chez de nombreux organismes vivants. Les caroténoïdes jouent un rôle important dans la nutrition et la santé car plusieurs sont des provitamines A (précurseurs de la vitamine A). Les caroténoïdes ont également des propriétés antioxydantes, ce qui va avoir un effet positif sur la peau, le système immunitaire, cardio-vasculaire et pour la lutte contre le cancer.

Avec la demande croissante de molécules d'origine naturelle, et les prévisions de suppression de colorants de synthèse, le marché des caroténoïdes issus des microalgues offre des perspectives commerciales élevées.

✓ Le β -carotène :

Le β -carotène peut être obtenu soit par extraction, soit par synthèse ou par voie biotechnologique. Le β -carotène naturel provient principalement de l'huile de palme rouge et de la carotte. Cependant,

plus de 90% du β - carotène commercial est d'origine synthétique [71]. Le β -carotène (E160a) est utilisé dans le domaine alimentaire comme colorant pour la préparation de la margarine, pour les produits de boulangerie, les boissons gazeuses et les sucreries. Il peut être utilisé comme provitamine A en tant que complément vitaminé. En alimentation animale, il est utilisé pour les aliments du poisson et du bétail. Dans l'alimentation des poulets, le β -carotène améliore la couleur des jaunes d'œufs et l'apparence de la chair. Dans le domaine pharmaceutique, il est incorporé à certaines crèmes solaires en raison de ses propriétés d'agent filtrant contre le soleil et anti-radicaux libres.

✓ **L'astaxanthine :**

Sur le marché actuel, l'astaxanthine est principalement extrait d'une microalgue *Haematococcus pluvialis*. Ce pigment est naturellement présent chez les crustacés (crabes, crevettes, homard, écrevisses, langoustes), le saumon et la daurade rose. Cet antioxydant très puissant peut être utilisé comme complément alimentaire chez l'homme, l'animal et l'élevage de poissons pour la coloration des saumons ou des truites.

✓ **La lutéine :**

La lutéine est traditionnellement extraite de pétales de rose d'Inde (*Tagetes erecta*). La lutéine se rencontre chez certaines microalgues marines comme *Dunaliella salina*, *Muriellopsis* et *Scenedesmus almerensis* à hauteur de 0,6%.

Les phycobiliprotéines :

Les propriétés colorantes et fluorescentes de la phycoérythrine (rouge) et de la phycocyanine (bleue) sont exploitées pour le diagnostic en médecine et en industrie alimentaire. Ces phycobiliprotéines sont synthétisées par les Cyanobactéries

(*Spiruline*) et certaines microalgues rouges (*Porphyridium*, *Cruentum*) dont la production commerciale est assurée en conditions très contrôlées dans des photobioréacteurs. La phycocyanine, extraite de la *Spiruline*, est un pigment bleu utilisé dans les industries cosmétiques et alimentaires, sous le nom de Linablue [72]. Hautement purifiée, elle possède des propriétés de fluorescence qui la rende utilisable dans des tests d'immuno- diagnostique.

2.8.2.2 Lipides et Acides gras polyinsaturés :

Les microalgues ont un avantage sur les espèces oléagineuses terrestres : elles peuvent accumuler jusqu'à 80% de leur poids sec en acides gras, permettant d'envisager des rendements à l'hectare supérieurs aux espèces oléagineuses terrestres.

Les acides gras sont dits essentiels car ils ne peuvent pas être synthétisés par notre organisme, ils sont apportés grâce à notre alimentation. Ils ont une influence particulière sur la structure des membranes des cellules et sur l'équilibre des réactions physiologiques dans l'organisme.

Actuellement, ces acides gras essentiels sont majoritairement produits à partir des huiles de poissons, Avec la raréfaction des ressources en poissons, la production d'acides gras essentiels à partir d'une autre source pourrait constituer une alternative intéressante. Par ailleurs, ces molécules extraites de microalgues procurent un goût plus agréable, une meilleure digestibilité et moins d'odeur.

2.8.2.3 Polysaccharides :

Les polysaccharides sont des polymères solubles dans l'eau, qui ont des propriétés rhéologiques intéressantes particulièrement utiles dans l'industrie alimentaire pour gélifier certains liquides, en cosmétique pour épaissir des crèmes. Certaines espèces de microalgues comme *Porphyridium purpureum* et *Arthrospira platensis*, synthétisent des exopolysaccharides de nature hydrophile et polyanionique [73], capables de retenir l'eau et piéger les cations empêchant la dessiccation de la cellule. Ces propriétés de concentration ont suggéré des applications biotechnologiques dans le domaine de l'environnement via la détoxification de milieux pollués par les métaux lourds (Pb, As, Hg, Cd.) ou dans le domaine de la biorécupération de métaux comme l'or et l'uranium.

2.8.2.4 Substances bioactives :

Un grand nombre de substances ayant une activité biologique intéressante ont été trouvés dans l'environnement marin. Des tests réalisés *in vitro* montrent des activités antibiotiques chez certaines microalgues. Une activité antivirale a été révélée chez les Cyanobactéries principalement dans un produit extracellulaire chez *Arthrospira platensis* contre le virus de l'immunodéficience humaine type 1 (VIH-1), le virus de l'herpès simplex 1 et le virus de l'herpès humain type 6 (HHV-6) [74][75]. Chez *Porphyridium purpureum*, des essais *in vitro* sur les exopolysaccharides (EPS) montrent une activité antivirale contre le cytomégalo virus humain (HCMV) [76]. La microalgue *Porphyridium purpureum* produit également, des superoxydes dismutases (SOD), substances à activité antiradicalaire utilisées dans le traitement de pathologies chroniques comme le SIDA et certaines formes de cancers [77]. Des soins cosmétiques anti-âges sont aussi fabriqués en utilisant des propriétés antiradicalaires d'origine micro algale.

2.8.3 Applications environnementales

2.8.3.1 Traitement des eaux usées :

Les microalgues sont capables d'assimiler de nombreux nutriments nécessaires à leur croissance, elles peuvent donc éliminer certains éléments présents dans les eaux usées. Elles permettent ainsi de baisser les taux de phosphates et nitrates. Elles ont une action détoxifiante et dépolluante et peuvent agir selon deux modes : soit directement grâce à leur capacité à fixer les métaux lourds, soit indirectement afin de fournir de l'oxygène dissous aux bactéries permettant la dépollution des eaux contaminées (Figure 2.18). Des travaux ont déjà été menés sur l'élimination des métaux lourds présents dans les eaux usées [78] et sur la dégradation de contaminants toxiques comme le tributylétain « TBT » par *Chlorella vulgaris* [79].



Figure 2.18 Traitement des eaux usées par les microalgues (“Algae Control Thrive «Water –Alternative Wastewater Treatment Solutions»”).

2.8.3.2 Remédiation du CO₂ :

Un des principaux avantages de la culture des microalgues réside sur la capacité de la photosynthèse à absorber le CO₂, qui est ensuite converti en biomasse, lipides, ou bioproduits précieux. Le CO₂ émis par les centrales thermiques, les industries de la sidérurgie, cimenterie, pétrochimie ou tout autre secteur peut donc être utilisé pour la culture industrielle des microalgues. Cela permet d'obtenir à la fois la réduction des émissions de gaz à effet de serre, la production de combustibles au bilan carbone neutre et des bioproduits valorisables.

2.8.4 Applications en bioénergie

Les microalgues peuvent être une source d'énergie non négligeable. Comme toute biomasse, celles-ci peuvent produire du biogaz par méthanisation. Certaines microalgues sont riches en sucre et peuvent produire alors du bioéthanol. D'autres riches en lipides permettront la production de biodiesel. Parmi ces différents scénarios, la production de biogaz et de biodiesel semblerait être les plus pertinentes.

2.8.4.1 Le biodiesel :

Nous avons vu que, cultivées dans des conditions dites « de stress », certaines espèces de microalgues peuvent accumuler des taux importants de lipides et plus spécifiquement des triglycérides. Ces derniers par réaction de transestérification avec un alcool conduisent à des esters utilisables dans les moteurs à combustion.

La production de biodiesel à partir de microalgues a pris une ampleur mondiale suite au premier choc pétrolier dans les années 70.

Dans le courant des années 90, le prix du pétrole relativement bas conduit à un fort ralentissement des programmes R&D.

Au début des années 2000, devant l'augmentation du prix des carburants et face à une pénurie du pétrole, la production d'algo-carburant revient à l'ordre du jour.

En plus de l'argument de productivité, les microalgues possèdent un atout majeur par rapport aux autres solutions : la non-concurrence avec les cultures alimentaires (Figure 2.19).

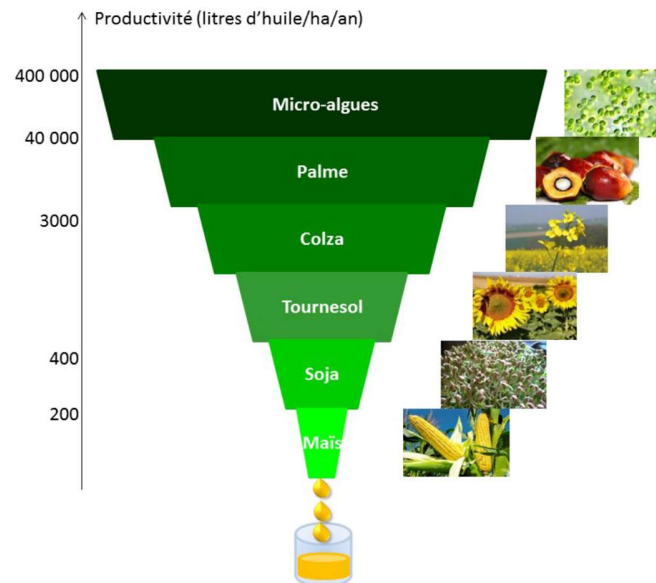


Figure 2.19 Productivité en huile des microalgues par rapport à d'autres plantes oléagineuses.

2.8.4.2 Le bioéthanol :

Généralement, l'éthanol est produit à partir de matière première riche en sucre ou en amidon. Certaines microalgues disposent d'une paroi cellulaire composée de polysaccharides et d'autres peuvent contenir jusqu'à 50% d'amidon. Elles peuvent donc être utilisées comme matière première dans le processus de production d'éthanol. Les microalgues ont le net avantage de ne pas contenir de lignine et d'avoir des polysaccharides plus facilement décomposables que la biomasse ligneuse. Des microalgues comme *Chlamydomonas perigranulata* ou *Chlorella vulgaris* peuvent aisément donner lieu à une production d'éthanol ou d'autres alcools grâce à l'auto-fermentation de leur amidon. La production et le stockage de l'amidon et de sucre dans une microalgue s'effectue au moment de la photosynthèse ou en la nourrissant directement de sucres. Après fermentation anaérobie dans l'obscurité, la production d'éthanol s'opère.

Ce procédé a déjà fait l'objet d'études dans des photobioréacteurs fermés utilisant de l'eau de mer avec des Cyanobactéries OGM métaboliquement améliorées.

2.8.4.3 Le biohydrogène :

Le biohydrogène est une source efficace d'énergie renouvelable qui suscite actuellement de nombreuses recherches. Il n'est ni toxique, ni polluant, plus énergétique que le pétrole et abondant. En revanche, les techniques de production disponibles à ce jour comme par exemple l'électrolyse de l'eau, la gazéification ou la pyrolyse de la biomasse disposent de coûts de production élevés.

Depuis plusieurs années, les microalgues et les bactéries ont été étudiées à cette fin. Hans Gaffron en 1939 fut à l'origine de cette voie de production de l'hydrogène. Certaines microalgues produisent de l'hydrogène lors de la photosynthèse. Le problème majeur de cette technique est l'arrêt de cette production d'hydrogène lorsque les cellules retrouvent des conditions de cultures favorables sans anoxie. Plusieurs travaux ont été menées à ce sujet, l'espèce *Chlamydomonas reinhardtii* reste la plus utilisée [80].

2.8.4.4 Le biométhane :

Une forme différente d'énergie peut également être produite à partir de microalgues, le biométhane. Celle-ci se révèle particulièrement adaptée à cette application. Après fermentation dans un digesteur, elles génèrent un biogaz composé de 70% de méthane, les autres gaz étant du dioxyde de carbone et de l'azote. Cette technologie a été développée dans les années 40 aux États-Unis et est maintenant répandue. Le grand avantage de la méthanisation est que la biomasse n'a pas besoin d'être séchée alors que pour de nombreuses voies de valorisation de la biomasse, une étape de séchage est requise.

Chapitre 3 : Production du biodiesel à partir de la biomasse algale

3.1 Extraction des huiles algales

Afin de produire du biodiesel à partir des lipides de microalgues, il faut d'abord les extraire.

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

3.1.1 Les techniques d'extraction conventionnelles

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

3.1.1.1 L'extraction par Soxhlet :

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

3.1.1.2 L'extraction en mode batch :

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

3.1.1.3 L'extraction par sonication :

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

3.1.2 Les techniques d'extraction nouvelles

3.1.2.1 L'extraction assistée par les micro-ondes :

L'extraction assistée par micro-onde est également une alternative aux méthodes d'extraction conventionnelles [81]. Elle utilise de plus petites quantités de solvant, et n'est pas coûteuse [81][82][83]. Aussi elle est considérablement rapide. Cependant, la température opératoire de cette technique est relativement haute (100 – 150 °C), ce qui pose des problèmes quand il s'agit de l'extraction d'antioxydants [82][83]. Les autres inconvénients de cette technique sont d'une part le

rendement faible lorsque les solutés ou les solvants sont apolaires et d'autre part le besoin de l'étape postérieure de filtration ou de centrifugation pour éliminer le résidu solide de l'extrait [81].

3.1.2.2 L'extraction accélérée par solvants (Accelerated Solvent Extraction) :

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

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

3.1.2.3 Extraction par solvants organiques :

Le solvant organique est choisi en fonction de sa polarité et de son affinité avec les molécules d'intérêt à extraire.

Les lipides des microalgues sont stockés au sein des cellules qui peuvent être protégées par une épaisse paroi. Leur extraction nécessite donc souvent une étape visant à rompre les parois cellulaires afin de les rendre accessibles aux solvants. Pour ce faire, plusieurs traitements sont possibles : le broyage, les ultrasons [84][85], les micro-ondes [86], les chocs osmotiques, la lyse enzymatique, etc... [87][88].

Les lipides sont généralement extraits par un solvant organique non miscible à l'eau tels que le n-hexane, chloroforme, l'éthanol, l'isopropanol, le butanol, les cétones, les esters [89].

Dans certains cas, le fait d'associer plusieurs solvants permet d'améliorer la capacité d'extraction et d'améliorer la sélectivité.

3.1.2.4 Extraction à l'eau subcritique :

L'un des aspects les plus attrayants dans le cas des algues est l'utilisation de l'eau comme solvant d'extraction. Elle permet alors de s'affranchir du besoin de l'étape de séchage ou de déshydratation [29].

Ce procédé est basé sur l'utilisation de l'eau à des températures juste en dessous de la température critique (température maximale supportée par l'eau en phase liquide), et à une pression suffisamment élevée pour maintenir l'eau dans cet état liquide ($T_c=373^\circ\text{C}$ et $P_c=221$ bars).

L'intérêt de cette extraction est que les propriétés physico-chimiques de l'eau, dans ces conditions, sont modifiées : amélioration du pouvoir solvant, modification de la polarité de l'eau et accroissement de la vitesse de diffusion. De plus, les temps d'extraction sont plus courts et il donne des extraits d'une qualité supérieure, des coûts moindres en agents extractants et une bonne compatibilité environnementale (absence de solvants).

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

3.1.2.5 Extraction avec des fluides supercritiques :

L'extraction par fluide supercritique utilise le pouvoir renforcé de solvation des fluides au-dessus de leur point critique. L'extraction par fluide supercritique est le plus souvent employée en mode discontinu, mais le procédé existe aussi en mode continu [29].

L'un des points les plus attractifs de l'extraction par fluide supercritique est qu'une fois la réaction d'extraction faite et les matériaux d'extraction dissous dans le fluide supercritique, le solvant et le produit peuvent être facilement séparés en aval une fois la température et la pression revenues aux conditions atmosphériques. Dans ce cas, le fluide retourne à son état gazeux original pendant que les produits extraits restent dans un état liquide ou solide [89].

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

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

Les fluides supercritiques sont sélectifs, offrant ainsi une grande pureté et concentration du produit. En outre, il n'y a pas de résidus de solvants organiques dans l'extrait ou dans la biomasse traitée [90].

3.1.2.6 Extraction au CO₂ supercritique :

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

Il s'agit d'un état intermédiaire entre le liquide et le gaz. Le dioxyde de carbone présente la caractéristique d'être un bon solvant à l'état supercritique, et un mauvais solvant à l'état gazeux.

Les avantages de ce procédé sont les suivants :

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

L'extraction au CO₂ supercritique est assez intéressante mais elle nécessite un séchage préalable. De plus, à l'échelle industrielle, il y a de nombreux progrès à faire pour améliorer la rentabilité économique [91].

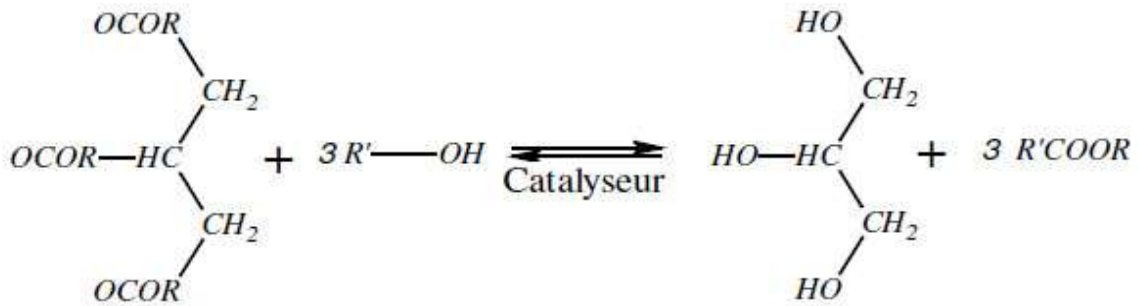
Le tableau 3.1 ci-dessous résume les principales méthodes d'extraction des fractions lipidiques à partir de différentes espèces de microalgue [92].

Tableau 3.1 Les principales méthodes d'extraction des fractions lipidiques à partir de différentes espèces de microalgue.

| Méthode de prétraitement de microalgue | Espèce | Solvant | Condition Opératoire | Fraction Lipidique (%) | |
|--|---|---------------------------------------|--|-------------------------------|--------|
| Micro-onde | <i>Chlorella sp.</i> (Sèche, 10 g) | Chloroforme:methanol (1:1) | 65 °C, 5 min | 2.90 | |
| | | | 65 °C, 20 min | 3.80 | |
| | | | 40 °C, 5 min | 2.40 | |
| | | | 40 °C, 20 min | 2.90 | |
| Micro-onde | <i>Chlorella vulgaris</i> (Sèche, 5 g) | Chloroforme:methanol:eau (2:2:1.9) | 50 s | 31.70 | |
| | | | 100 °C, 10 min | 28.33 | |
| Micro-onde | <i>Scenedesmus sp.</i> (Sèche, 2 g) | Chloroforme:ethanol (1:1) | 100 °C, 10 min | 28.33 | |
| | | | 65 °C, 5 min | 8.47 | |
| Ultrason | <i>Scenedesmus obliquus</i> (sèche, 2 g) | Chloroforme:methanol (2:1) | 2 min | 19.49 | |
| | | | Chloroforme:methanol (1:1) | 40 °C, 5 min | 2.4 |
| | | | | 40 °C, 20 min | 2.2 |
| | | | | 65 °C, 5 min | 2.2 |
| | | | | 65 °C, 20 min | 2.6 |
| <i>Chlorella sp.</i> (Sèche, 10 g) | Chloroforme:methanol (2:1) Hexane:isopropanol (3:2) | 30 min | 67.4 | | |
| | | 60 min | 76.6 | | |
| Ultrason | <i>Nannochloropsis sp.</i> (Humide, 20 g/L) | Hexane | 500–10,000 kJ/kg, 2.8–55.6 min | 5.4–26.9 | |
| | | | <i>Chlorella vulgaris</i> (Sèche, 0.5 g) | Chloroforme:methanol (2:1) | 20 min |

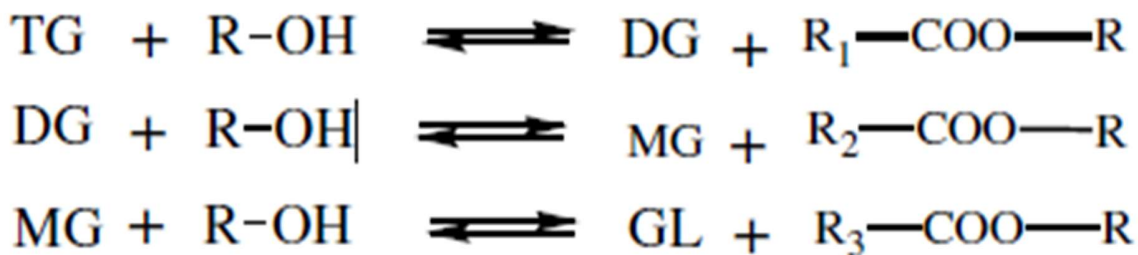
3.2 Transestérification

La transestérification ou alcoololyse, est l'une des plus importantes méthodes utilisées pour la transformation des huiles végétales en carburant Diesel. Elle consiste à remplacer les groupements alcool d'un ester par d'autres types d'alcools, en présence d'un catalyseur, dans un processus similaire à l'hydrolyse en l'absence d'eau. En conséquence, il y a récupération d'un autre ester et d'un autre alcool [93] selon la réaction générale suivante :



Le mécanisme réactionnel de la réaction de transestérification des triglycérides avec un alcool pour obtenir un biodiesel se résume en trois étapes successives et réversibles : la première est la conversion des triglycérides (TG) en diglycérides (DG). Par la suite, les diglycérides se transforment en monoglycérides (MG) qui, finalement pour leur part, sont transformés en glycérol (GL) contenant trois molécules d'ester d'acide gras. A chaque étape, une molécule d'ester d'acide gras est ainsi formée.

Les étapes de la réaction de transestérification :



A température, varie de 40 à 300°C selon la nature de l'huile, du type catalyse de la réaction et du catalyseur, et pression normale, toutes les études de transestérifications catalysées des huiles sont réalisées sous pression atmosphérique, l'huile et l'alcool ne sont pas miscibles : le déroulement de la réaction de transestérification sera en milieu diphasique. Au début de la réaction, les deux phases sont constituées d'huile et d'alcool. En revanche, à la fin de la réaction, il y aura une phase d'ester d'acide gras et une phase constituée de glycérol. Dans ce cas, les proportions stœchiométriques (rapport molaire alcool/huile égal à 3) se traduisent en raisonnant en quantités massiques, par environ une tonne d'huile et 0,1 tonne d'alcool, pouvant donner jusqu'à une tonne d'ester d'acide gras et 0,1 tonne de glycérol [94].

Les esters d'acides gras sont appelés méthyliques si l'alcool utilisé durant la transformation est le méthanol et éthyliques dans le cas de l'éthanol. La viscosité du biodiesel est 7 à 11 fois inférieure à celle de l'huile mère [95][96]. En plus leur point de fusion et leur point trouble sont nettement inférieurs à ceux de la matière première [95][97].

Les esters d'acides gras ont des propriétés proches de celles du Diesel conventionnel, à l'exemple de l'indice de cétane, meilleur que celui du Diesel [98][99]. Leur point d'éclair, assez élevé, assure une sécurité lors de leur stockage et leur manipulation [100][101]. A l'instar de leur biodégradabilité et de leur basse toxicité [99][102], toutes ces caractéristiques rendent le biodiesel attractif et un carburant alternatif au moteur Diesel conventionnel.

Le choix de l'alcool et du catalyseur a une importance cruciale dans la réussite de la réaction de transestérification ; les alcools utilisés pour cette réaction sont le méthanol, l'éthanol, le 1-propanol, le 2-propanol (isopropanol), le 1-butanol, le 2-butanol, le 2-méthyl-1-propanol (iso-butanol) et le 2-méthyl-2-propanol (tertbutanol), mais les plus fréquemment utilisés sont le méthanol et l'éthanol, du fait de leur faible coût et de leurs propriétés physicochimiques avantageuses (alcools à chaîne courte, polaires). La réaction de transestérification étant réversible, l'excès d'alcool est nécessaire pour déplacer l'équilibre de la réaction du côté des produits [103].

3.2.1 Cinétique de la réaction de transestérification

Les trois étapes successives de la réaction de transestérification compliquent la cinétique de cette réaction. De ce fait, la détermination des constantes de vitesse est complexe, car il est généralement admis que les difficultés mathématiques inhérentes à la résolution du système d'équations relatives à des réactions successives, sont souvent difficiles. Ceci explique le nombre limité de travaux concernant les études cinétiques de la transestérification des huiles végétales ou des esters d'acides gras [104]. La résolution de cette problématique est établie grâce à un outil informatique susceptible de calculer simultanément un nombre important de constantes de vitesse [105]. En outre, les premiers travaux de transestérification d'une huile végétale avec un alcool ont été menés avec de l'huile de soja et du butanol à 117°C, en utilisant un rapport molaire alcool/huile égal à 30 [106]. Les constantes cinétiques ont été déterminées dans le cas d'une catalyse acide avec 1% de H₂SO₄. Dans le cas d'une catalyse basique, il convient d'utiliser 0,5 et 1% de butoxyde de sodium (NaOBu).

Le Tableau 3.2 présente les résultats recensés dans la littérature dans le cas des catalyses, acide et basique [106].

Tableau 3.2 Influence de la nature du catalyseur sur les valeurs des constantes de vitesse [106].

| Réaction étudiée | Constante de vitesse ($\cdot 10^3$) | | | Energie d'activation (cal.mol ⁻¹) | | |
|-----------------------|---|------------------|--------------------|---|---------------------|---------------------|
| | 1% H ₂ SO ₄ 77°C | 1% NaOBu 60°C | 0,5% NaOBu 60°C | 1% H ₂ SO ₄ 77-117°C | 1% NaOBu 20-60°C | 1% NaOBu 20-60°C |
| <i>TG</i> → <i>DG</i> | 3 | 3822 | 26626 | 14922 | 15360 | 15662 |
| <i>DG</i> → <i>MG</i> | 8 | 1215 | 3584 | 16435 | 11199 | 13053 |
| <i>MG</i> → <i>GL</i> | 7 | 792 | 2373 | 15067 | 11621 | 13395 |
| <i>DG</i> → <i>TG</i> | 0,02 | 121 | 439 | 19895 | 17195 | 15587 |
| <i>MG</i> → <i>DG</i> | 0,05 | 7 | 8 | 16885 | — | 13336 |
| <i>GL</i> → <i>MG</i> | 0,03 | 11 | 7 | 12196 | — | 13110 |

Dans le cas des réactions directes, les constantes de vitesse sont évaluées en min⁻¹. En revanche, pour les réactions inverses, elles sont évaluées en mL.mmol⁻¹.min⁻¹ (catalyse acide) et en mL.μmol⁻¹.min⁻¹ (catalyse basique). Dans ces conditions, les réactions directes sont du pseudo-premier ordre et celles inverses, du second ordre pour les deux types de catalyses.

En diminuant le rapport molaire butanol/huile à une valeur égale à 6, les réactions consécutives sont plutôt du second ordre, avec utilisation du NaOBu comme catalyseur. La transestérification est une réaction réversible, bien que lors de la production des esters alkyliques d'huiles végétales,

ou des biodiesels, la réaction inverse ne s'effectue pas ou à la limite, négligeable du fait que le glycérol formé n'est pas miscible avec les esters formés, ce qui donne lieu à un système biphasé.

Dans le cas de l'utilisation d'huile de soja avec le méthanol ou le butanol, la transestérification se déroule avec une cinétique de pseudo-premier ordre ou de second ordre, selon le rapport molaire en alcool/huile de soja de 30:1 (pseudo premier ordre), 6:1 (second ordre avec du NaOBu comme catalyseur). En revanche, la réaction inverse est du deuxième ordre [107].

La méthanolyse de l'huile de tournesol avec un rapport molaire méthanol/huile égal à 3:1, commence par une cinétique de second ordre, qui diminue en raison de la formation du glycérol [106].

Les triglycérides réagissent simultanément, dans laquelle chacune des trois positions, pour donner trois molécules d'esters alkylés et des glycérols, est peu probable en tant que réaction directe ; la miscibilité joue un rôle significatif du fait que les produits de départ (huile végétale et méthanol) ne sont pas suffisamment miscibles [107]. Cette spécificité a pour conséquence un temps de latence dans la formation des esters méthyliques comme le montre qualitativement la Figure 3.1. La formation du glycérol à partir des triglycérides s'effectue par étapes, en passant par les diglycérides et les monoglycérides et en formant ainsi une molécule d'ester d'acide gras à chaque étape [108].

Les diglycérides atteignent leur concentration maximale avant les monoglycérides, ce qui permet de conclure que la dernière étape, en l'occurrence la formation du glycérol à partir des monoglycérides, est plus rapide que la formation des monoglycérides et des diglycérides.

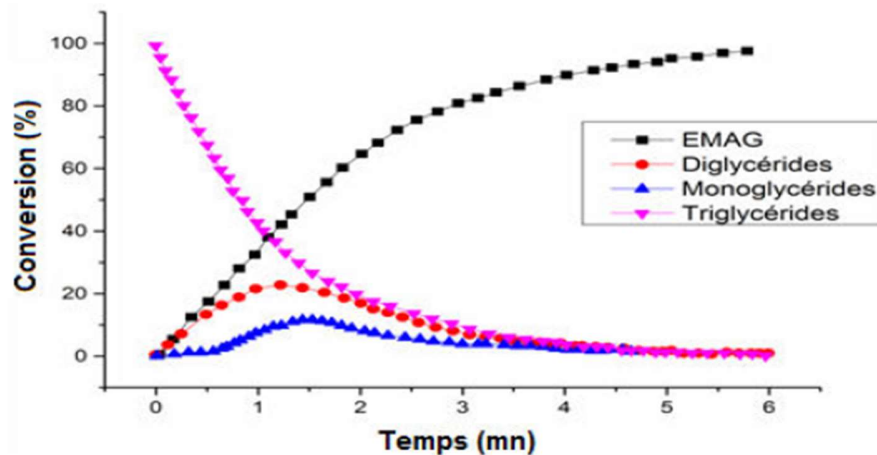


Figure 3.1 Progression qualitative des étapes de la réaction de transestérification

3.2.2 Catalyse homogène

3.2.2.1 Catalyse homogène basique :

Les travaux ayant trait à la production du biodiesel ont été effectués moyennant, le plus souvent, la catalyse basique. Les catalyseurs les plus couramment utilisés sont l'hydroxyde de sodium et l'hydroxyde de potassium [109] ; ces catalyseurs sont utilisés à l'échelle industrielle et ce, pour diverses raisons : aptitude à catalyser à basse température et à pression atmosphérique, importance du taux de conversion atteint en un temps minime, large disponibilité et à faible prix.

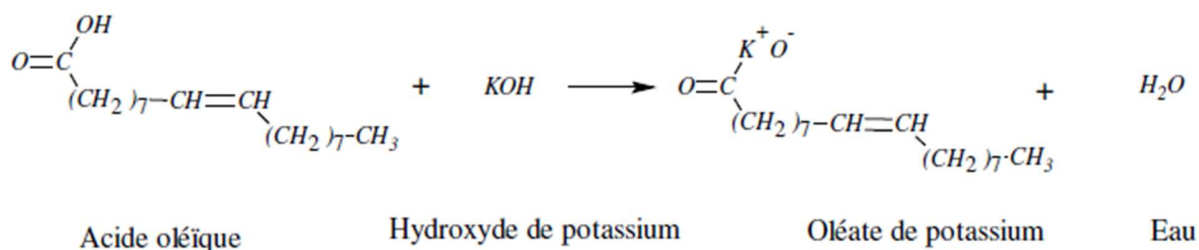
Des recherches effectuées montrent que dans le cas de la transestérification, la catalyse basique est plus rapide que la catalyse acide, à plus forte raison dans le cas des huiles végétales ne contenant qu'une faible teneur en acides gras libres (AGLs) avoisinant 0,5% en masse, ou dans le cas des huiles dont l'indice de saponification est inférieur à 1mg KOH/g [109][110].

Néanmoins, certains travaux rapportent que les catalyseurs basiques peuvent supporter des teneurs en AGLs plus élevées, comme le montre le Tableau 3.3 [109].

Tableau 3.3 Quantités d'acides gras libres recommandées - Catalyse homogène basique.

| Référence | % massique en AGLs |
|-------------------------|--------------------|
| Hanna et al. (1999) | <1 |
| Ramadhas et al. (2005) | ≤ 2 |
| Zhang et al. (2003a) | <0,5 |
| Freedman et al. (1984) | <1 |
| K. Tiwari et al. (2007) | <1 |
| Sahoo et al. (2007) | ≤ 2 |

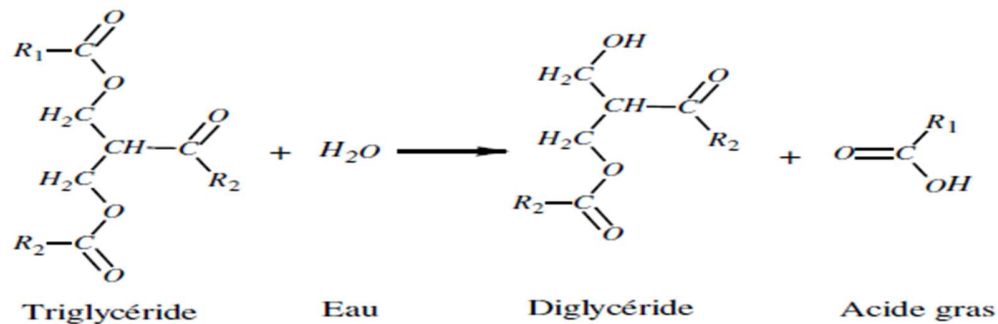
Dans le cas de la catalyse basique lors d'une transestérification, la teneur en AGLs doit être la plus faible possible, de 0,5 à 2%. Ainsi, si l'huile végétale contient une teneur massique moyenne en AGLs supérieure à 6%, la catalyse basique doit être manifestement évitée car, si une huile végétale à forte teneur en AGLs venait à être utilisée, un catalyseur basique de type NaOH ou KOH réagirait inévitablement avec les AGLs, ce qui conduirait à son inhibition et annulerait son effet catalyseur [109]. Une réaction typique entre l'acide oléique, acide gras libre, et un catalyseur basique est la suivante :



C'est une réaction de saponification entre l'acide oléique et l'hydroxyde de potassium.

Cette réaction parasite est évidemment indésirable car la formation excessive d'une émulsion savonneuse réduirait fortement le rendement en ester d'alcool (méthylique, éthylique ou autre) et nécessiterait la planification d'une étape de purification du produit final.

Ce phénomène est fortement accentué par la présence d'eau qui provoque l'hydrolyse du triglycéride et la formation de l'acide carboxylique qui à son tour, en présence d'un catalyseur basique, conduirait à la formation d'un savon, comme le montre la réaction suivante :



C'est une hydrolyse du triglycéride en diglycéride.

Ainsi, la présence d'eau dans l'huile se manifeste par la formation excessive d'une émulsion savonneuse. À température ambiante, l'émulsion tend à se solidifier pour rendre difficile la récupération du produit final.

3.2.2.2 Catalyse homogène acide :

En raison des difficultés rencontrées au niveau de la catalyse basique (dont la principale étant la sensibilité aux AGLs) et dans l'optique de passer outre ces limitations, la catalyse acide s'impose comme une alternative exploitable, par utilisation surtout de catalyseurs tels les acides minéraux (HCl, H₂SO₄, H₃PO₄), mais également les acides sulfoniques comme l'acide paratoluène sulfonique [110].

La catalyse acide permet de s'affranchir des réactions parasites pouvant nuire au rendement de la réaction. En effet, les catalyseurs acides sont insensibles aux AGLs et peuvent catalyser simultanément la réaction d'estérification des AGLs et de transestérification des triglycérides, augmentant ainsi la conversion.

Il a été rapporté dans la littérature que le catalyseur acide devient plus efficace quand la teneur en AGLs dans l'huile dépasse 1% en masse. Cependant, il a été également établi que la transestérification en catalyse acide est beaucoup plus lente que le processus effectué en catalyse basique. Freedman [106] a montré que dans le cas de la catalyse acide, la transestérification est 4000 fois plus lente.

Ainsi, en raison du manque de réactivité et d'une cinétique trop lente, la catalyse acide requiert, lors de la réaction de transestérification, des conditions rigoureuses à savoir une température de réaction élevée, un rapport molaire alcool/huile élevé et un important temps de réaction. De plus, en raison de la nature corrosive des catalyseurs acides, le maintien en état des installations industrielles devient difficile et coûteux [110].

3.2.2.3 Catalyse homogène acido-basique :

La catalyse homogène, acide et basique, est un processus caractérisé par des avantages mais aussi par des limitations. De ce fait, des travaux ont réconcilié les deux voies de la catalyse dans la synthèse du biodiesel à partir d'une huile végétale à forte teneur en AGLs, afin de dégager plus d'avantages de cette combinaison et compenser ainsi les limites de chacune des deux méthodes [111][112].

Les acides gras libres contenus dans l'huile sont convertis moyennant une estérification. Une fois les AGLs transformés en esters et leur teneur entre 0,5 et 1% en masse, la transestérification de

l'huile peut alors être effectuée en utilisant un catalyseur basique. L'estérification des AGLs s'opère à une vitesse relativement lente, ce qui nécessite l'utilisation d'importantes quantités d'acide.

L'association des deux types de catalyse aboutirait à des aléas, car des étapes supplémentaires de régénération des catalyseurs s'imposent et ce, même s'il y a possibilité de neutraliser le catalyseur acide utilisé lors de la première étape par le catalyseur basique de la seconde étape. Le Tableau 3.4 présente les avantages et les inconvénients des catalyseurs basiques et acides.

Tableau 3.4 Avantages et inconvénients des catalyseurs basiques et acides [111][112].

| Catalyseur basique | | Catalyseur acide | |
|---|---|---|--|
| Avantages | Inconvénients | Avantages | Inconvénients |
| - Catalyseurs disponibles (NaOH, KOH), moins coûteux. | -Sensible aux AGLs -Existence de réaction de saponification. -Difficulté de purification du produit final pour cause d'émulsion savonneuse. | -Insensible aux AGLs et à l'eau contenue dans l'huile. -Estérification et transestérification simultanées, ce qui améliore le rendement. | -Réaction très lente. -Réactions coûteuses en énergie. -Corrosion des installations. -Impossibilité de récupérer le catalyseur. |
| - Conditions réactionnelles modérées (T et P faibles). - Réaction 4000 fois plus rapide que la catalyse acide. | | | |

3.2.3 Catalyse hétérogène

3.2.3.1 Catalyse hétérogène acide :

La recherche sur le biodiesel est concentrée actuellement sur l'exploration de nouveaux catalyseurs, soutenable, acides et solides pour la réaction de transestérification. De plus, les catalyseurs acides solides peuvent aisément et potentiellement remplacer les catalyseurs acides liquides [110].

Les avantages dans l'emploi des catalyseurs acides solides sont divers : il s'agira de transestérifier les triglycérides et d'estérifier les acides libres afin d'augmenter le rendement, éliminer l'étape de lavage du biodiesel, séparer facilement le catalyseur du milieu réactionnel, assurer un minimum de contamination du produit et enfin, régénérer et réutiliser le catalyseur tout en réduisant le problème de corrosion, même en présence de l'espèce acide.

Le catalyseur acide idéal pour la réaction de transestérification doit avoir les caractéristiques d'un système compact de grands pores, chargé moyennement ou fortement de sites d'acides forts, avec une surface hydrophobe. Cependant, la recherche de l'utilisation directe du catalyseur acide pour la production d'un biodiesel n'a pas assez évolué, en raison de sa limitation par une cinétique lente et par l'existence éventuelle des réactions parasites.

Les catalyseurs acides les plus utilisés dans la production du biodiesel sont : ZrO₂ [113], SnO₂ [109], zéolithes [114], résines échangeuses d'ions [115] et hétéropolyacides [116].

3.2.3.2 Catalyse hétérogène basique :

Les processus hétérogènes en catalyse basique sont connus bien après la catalyse hétérogène acide, tant les catalyseurs basiques n'ont été utilisés que récemment ; les sites basiques sont facilement couverts de composants atmosphériques tels CO_2 , H_2O et O_2 qui produisent respectivement des carbonates, des hydroxydes et des peroxydes, tout en désactivant les sites basiques. C'est à partir des années 70 que ces derniers ont commencé à subir des prétraitements thermiques à plus de 500°C , afin de s'affranchir des matières toxiques en surface [117].

Des catalyseurs solides basiques ont été développés dans la production du biodiesel, tels les zéolithes basiques, les oxydes alcalins, les alcalino-terreux et les hydrotalcites. Parmi ces catalyseurs, les oxydes ont suscité un intérêt à cause de leur basicité relativement élevée, leur faible solubilité dans les alcools et leur production éventuelle à partir de matières premières moins onéreuses [109].

Les principaux catalyseurs hétérogènes basiques utilisés par l'industrie du biodiesel, sont classés par leur importance, à l'instar des oxydes alcalino-terreux [118], des oxydes métalliques mixtes [119], des sels des métaux alcalins sur supports poreux [120], des zéolithes [121] ou encore, des bases organiques solides [122].

Chapitre 4 : Etude de cas d'extraction

4.1 Introduction

Le potentiel des microalgues visant la production du biodiesel est maintenant bien établi et elles gagnent de plus en plus d'intérêt en tant qu'un biocarburant soutenable. La Figure 4.1 décrit le concept de production d'huile à partir de microalgues en vue d'obtenir du biodiesel. Ce procédé comporte une étape de production de biomasse microalgale, de récolte, concentration, d'extraction des lipides puis transformation en biodiesel.

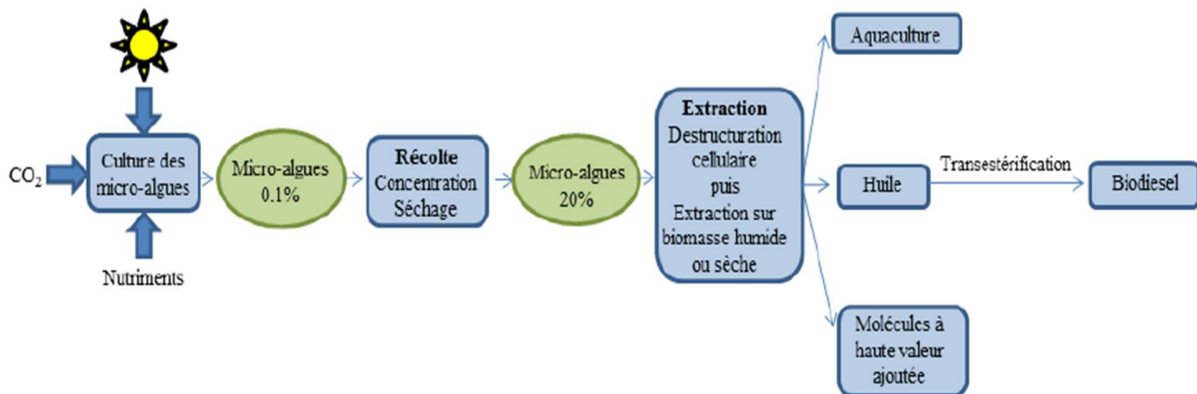


Figure 4.1 Concept de production d'huile de microalgues visant à obtenir du biodiesel[123].

L'étape d'extraction de l'huile algale demeure une étape critique dans la production de biocarburants pour laquelle des efforts importants sont à apporter.

Le présent chapitre sera consacré à l'étude d'un cas d'extraction des lipides à partir des microalgues.

Lors des travaux de recherche de Céline DEJOYE TANZI portant sur l'extraction de la fraction lipidique des microalgues sèches et humides, des solvants alternatifs de type terpène (le d-limonène, l' α -pinène et le p-cymène) ont été utilisés [123]. Les résultats obtenus ont été comparés aux deux méthodes conventionnelles, à savoir la méthode de référence selon Bligh and Dyer et celle de la procédure standard de Soxhlet utilisant le n-hexane comme solvant.

Les solvants utilisés sont issus de ressources renouvelables : les peaux d'orange pour le d-limonène, les résidus de bois pour l' α -pinène et les déchets de l'industrie papetière pour le p-cymène [123].

4.2 Extraction conventionnelle selon Bligh and Dyer

Les extractions dites conventionnelles de référence sont réalisées à partir de la méthode de Bligh and Dyer (Bligh and Dyer, 1959). 100 mg de biomasse microalgale à 20% de matière sèche et un mélange de 3 mL de méthanol:chloroforme (2:1) est ajouté puis agité pendant 10 min. 1 mL de chloroforme et 0.8 mL de chlorure de potassium à 0.8% sont ajoutés au mélange puis agité une seconde fois pendant 10 min. La mixture est ensuite centrifugée à 4000 rpm (rotation par minute) pendant 5 min à 4°C. La phase inférieure est isolée puis analysée directement en chromatographie sur couche mince haute performance (High Performance Thin Layer Chromatography HPTLC) et en Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).

4.3 Extraction par le n-hexane selon la procédure standard de Soxhlet

Les lipides sont extraits des microalgues grâce à une procédure standard de Soxhlet (F. Soxhlet, 1879). 10.0g de biomasse sèche sont pesées et mis dans une cartouche en cellulose de 30 mm x 80 mm (Macherey-Nagel). Le dispositif de Soxhlet est surmonté d'un réfrigérant est positionné sur un ballon de distillation de 500 mL contenant 300 ml de solvant (Figure 4.2). Après 8h de chauffage à reflux (ISO 659-1988), le solvant est évaporé sous pression réduite et le résidu est séché puis pesé.

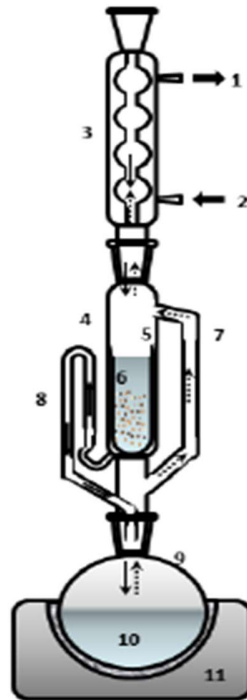


Figure 4.2 Représentation schématique du Soxhlet (1 : Sortie d'eau, 2 : Entrée d'eau, 3 : Réfrigérant, 4 : Soxhlet, 5 : Chambre du Soxhlet, 6 : Cartouche, 7 : Système de distillation, 8 : Siphon, 9 : Ballon, 10 : Solvant, 11 : Chauffe ballon) [123].

4.4 Les solvants alternatifs pour l'extraction de lipides de microalgues

4.4.1 Extraction à partir de biomasse sèche

4.4.1.1 Principe :

Les mêmes démarches dans le mode opératoire de l'extraction par n-hexane, sauf que L'évaporation des solvants terpéniques est réalisée grâce à une distillation azéotropique. Dans ce cas, la verrerie **Soxhlet** est remplacée par une verrerie **Clevenger** (Figure 4.3). De l'eau distillée est ajoutée au mélange terpènes/lipides puis l'ensemble est chauffé. Le solvant terpénique est entraîné avec l'eau et recondensé dans le système de récupération qui les sépare par simple différence de densité. Les lipides sont, quant à eux, isolés dans le ballon [124].

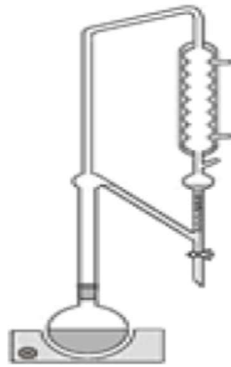


Figure 4.3 Clevenger distillation [123].

La biomasse microalgale testée est celle de *Chlorella vulgaris*, une microalgue verte appartenant à la famille des Chlorophycées.

La figure 4.4 détaille la démarche expérimentale suivie. Afin de valider le potentiel de l'extraction des lipides marins par les solvants alternatifs, cette dernière a été comparée à l'extraction Soxhlet au n-hexane et à une méthode de référence pour l'extraction des lipides totaux à partir de biomasse marine, la méthode de Bligh and Dyer (méthanol/chloroforme) (Bligh and Dyer, 1959).

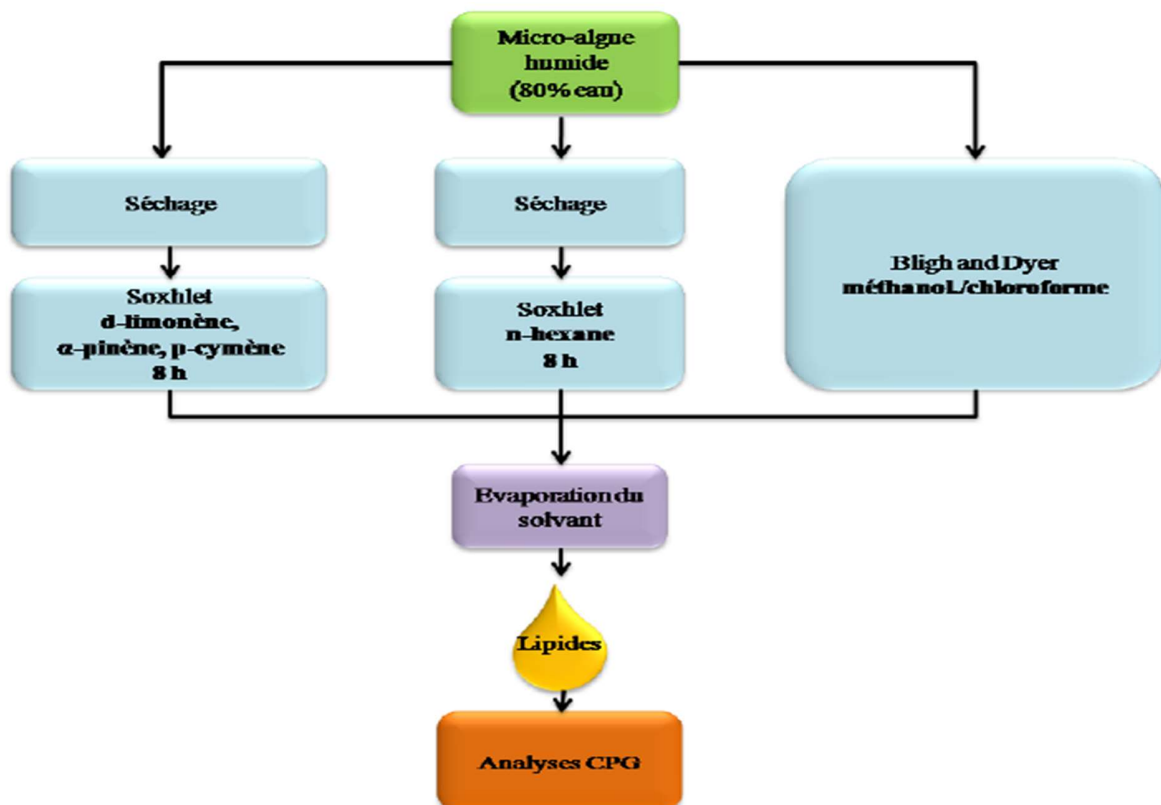


Figure 4.4 Démarche expérimentale [123].

4.4.1.2 Résultats :

Les résultats trouvés sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 4.1) :

Tableau 4.1 Teneur en lipides extraits de *C. Vulgaris* (g de lipides totaux pour 100g de biomasse sèche) [124].

| Solvants | Fraction lipidique (%) |
|-----------------------|------------------------|
| Bligh and Dyer | 3.36 ±0.02 |
| n-hexane | 0.88 ±0.01 |
| d-limonène | 1.29 ±0.01 |
| α-pinène | 0.91 ±0.05 |
| ρ-cymène | 1.52 ±0.03 |

4.4.2 Extraction à partir de biomasse humide (Simultaneous Distillation and Extraction Process, SDEP)

4.4.2.1 Principe :

12g de "pâte" algale (20% de MS) est introduite dans un ballon de 500 ml avec 100 ml de solvant terpénique (d-limonène, α-pinène ou p-cymène). Le ballon est surmonté d'une verrerie de type Dean Stark modifiée muni d'un robinet trois voies permettant de recueillir les condensats (Figure 4.5)[125].

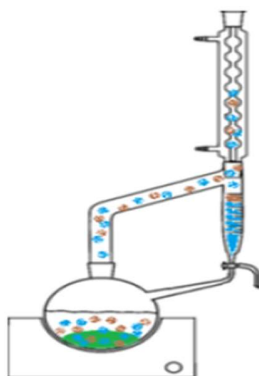


Figure 4.5 Schéma du Dean Stark modifié [123].

Cette méthode d'extraction se déroule selon 3 étapes (Figure 4.6) [125].

L'étape 1 consiste à éliminer par distillation l'eau intrinsèque de la biomasse. Cette étape permet de favoriser l'extraction des lipides avec le solvant terpénique.

L'étape 2 correspond à la phase d'extraction proprement dite où le mélange biomasse/solvant terpénique est chauffé pendant 30 min.

L'étape 3 consiste enfin à réintroduire l'eau "isolée" de l'étape 1 afin d'éliminer le solvant terpénique par entraînement azéotropique.

(L'étape 4).

L'extrait lipidique présent dans le ballon est séché sous vide et stocké à -20°C pour analyses.

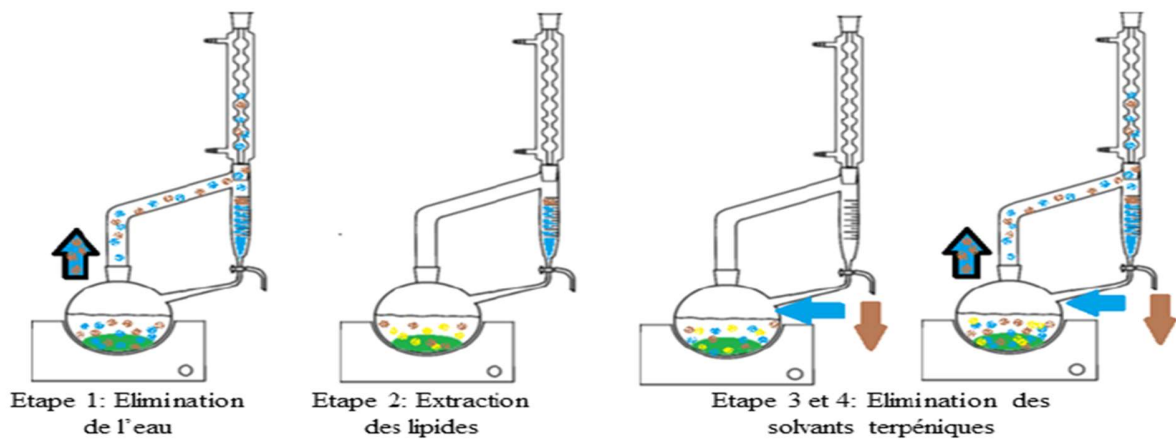


Figure 4.6 Schéma descriptif du SDEP (vert : pâte algale, bleu : eau de la pâte algale et marron : solvant terpénique) [123].

Les microalgues testées sont *Nannochloropsis oculata* et *Dunaliella salina*.

Le schéma 4.7 détaille la démarche expérimentale suivie.

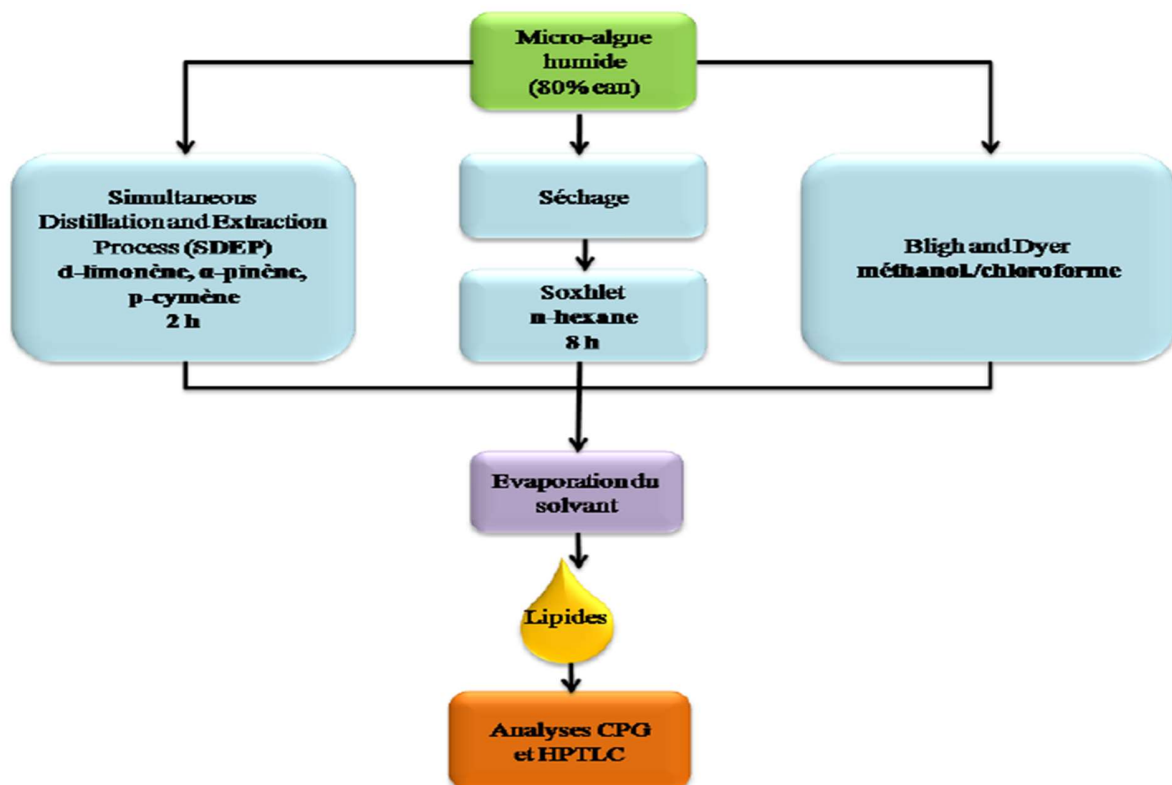


Figure 4.7 Démarche expérimentale [123].

4.4.2.2 Résultats :

Les résultats trouvés sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 4.2) :

Tableau 4.2 Teneur en lipides extraits de *N. Oculata* et *D. Salina* (g de lipides totaux pour 100g de biomasse sèche) [125].

| Biomasse | Solvants | Fraction lipidique (%) |
|-------------------|----------------|------------------------|
| <i>N. Oculata</i> | Bligh and Dyer | 23.78 ±2.13 |
| | n-hexane | 8.31 ±1.05 |
| | d-limonène | 18.73 ±6.58 |
| | α-pinène | 18.75 ±3.01 |
| | ρ-cymène | 21.45 ±2.64 |
| <i>D. Salina</i> | Bligh and Dyer | 4.03 ±0.01 |
| | n-hexane | 1.90 ±0.03 |
| | d-limonène | 2.94 ±0.02 |
| | α-pinène | 3.29 ±0.05 |
| | ρ-cymène | 2.99 ±0.01 |

4.5 Discussions

En premier lieu, les microalgues sèches étaient concernées. L'extraction des lipides à partir *Chlorella vulgaris* a été faite dans un appareil Soxhlet en utilisant quatre types de solvants dont le n-hexane et trois autres considérés comme biodégradables. Les rendements obtenus sont de 1.24% (g de lipides totaux pour 100g de biomasse sèche) en moyenne pour les solvants terpéniques contre 0.8% pour le n-hexane. En outre, le taux de lipides atteint par la méthode de référence Bligh and Dyer est d'environ 3.3%. Ces écarts entre les valeurs obtenues par rapport à la méthode de référence sont l'ordre de 61.6%, 72.9%, 54.8% et 73.8% pour les solvants d-limonène, α-pinène, ρ-cymène et n-hexane respectivement. Ceci est dus à la sélectivité du solvant, le séchage de la biomasse et de la température d'extraction.

Le rendement de la méthode Bligh and Dyer étant supérieur du fait que le solvant employé est un mélange binaire (méthanol:chloroforme) présentant un double pouvoir polaire et apolaire permettant de solubiliser plus de lipides. Les solvants terpéniques viennent en deuxième position. De par leur structure chimique, ils solubilisent les lipides neutres et certains lipides membranaires de type phospho ou glycolipides. En revanche, la structure du n-hexane ne comporte aucun groupement polaire. En effet, il est apolaire et ne solubilise que les lipides neutres.

De plus, le séchage représente un paramètre influençant l'extraction en raison de l'aplatissement des cellules qui endommage les parois des microalgues en provoquant une vidange du contenu cellulaire puis à une solubilisation dans le milieu environnant. Cette modification au niveau de morphologie de la cellule limite le transfert du solvant vers l'intérieur. Par conséquent, la quantité

des lipides est d'autant plus faible pour les méthodes conventionnelles que celle extraite par la méthode de référence.

La température d'extraction quant à elle agit sur les extraits et mène à une dégradation thermique des lipides qui peuvent subir une dégradation à partir d'une température de 150°C selon ce qui a été déjà mentionné dans la littérature. Ce résultat est observé pour l'extraction par Soxhlet et quel que soit le solvant utilisé à la différence de la méthode Bligh and Dyer nécessitant aucun chauffage pendant l'extraction.

L'extraction dépend également du type de la biomasse par sa teneur en lipides, dans le cas de *C. vulgaris* est de l'ordre de 14 à 40% (% poids sec de la biomasse), aussi de point de vue critique, cette espèce n'est pas adéquate à être utilisée pour la production du biodiesel à grande échelle en raison du faible rendement lipidique dans l'extraction.

Dans un second temps, une méthode innovante a été adoptée afin de s'exposer à tout problème et gagner en rendements. Ce procédé dit SDEP repose non seulement sur l'exploitation de la biomasse humide mais également sur l'emploi des solvants alternatifs. L'étude a été faite sur deux espèces algales *Nannochloropsis oculata* et *Dunaliella salina*.

Le maximum a été obtenu avec la méthode de Bligh and Dyer (méthode de référence estimant l'extraction totale) soit 100% des lipides contenus dans la microalgue pour les deux espèces de microalgues *N. oculata* et *D. salina* avec 24 et 4 % (g de lipides totaux pour 100 g de matière sèche) respectivement.

Les taux d'extraction obtenus avec les "SDEP terpènes" représentent pour *Nannochloropsis oculata* et *Dunaliella salina* environ 82 et 76 % en moyenne respectivement des lipides totaux extraits avec la méthode de Bligh and Dyer. En revanche, l'extraction par Soxhlet apparaît une fois de plus comme inférieure aux autres méthodes avec 35 et 47 % de taux d'extraction des lipides totaux. L'extraction Soxhlet sur *Dunaliella salina* montre un taux supérieur, cela est probablement dû à la morphologie de cette microalgue qui ne possède quasiment pas de paroi cellulaire à la différence de *Nannochloropsis oculata*.

Le procédé SDEP présente l'avantage d'amener le solvant d'extraction à sa température d'ébullition ce qui permet de diminuer sa viscosité et d'accroître sa diffusivité vers l'intérieur de la cellule végétale. Après pénétration, le solvant s'enrichi en lipides et un autre phénomène de diffusion s'effectue vers l'extérieur de la cellule. Dans le cas de cellules avec des parois peu perméables, la libération sera très lente. Or, les températures élevées atteintes au cours du SDEP permet d'augmenter la perméabilité des parois voire même d'éclater la cellule ce qui rend plus facile et rapide le transfert vers le milieu environnant.

Il est important de noter que le temps nécessaire pour réaliser un essai SDEP est quatre fois moins du temps pris pour faire une extraction conventionnelle. Il est de 2h en comparaison de 8h pour le processus Soxhlet.

4.6 Conclusion

En résumé, le procédé Bligh and Dyer sert toujours comme méthode de référence avec des rendements relativement élevés. En revanche, l'utilisation du mélange (méthanol:chloroforme) résulte d'impacts significatifs sur l'environnement comme sur la santé humaine. C'est pourquoi, d'autres méthodes ont été testées dont le Soxhlet avec substitution du n-hexane par des solvants alternatifs à l'instar du procédé SDEP afin d'améliorer les rendements d'extraction, de réduire l'énergie consommée, le temps et le coût de la réalisation par conséquent.

Conclusion Générale

CONCLUSION GENERALE

Actuellement , les carburants fossiles causent de nombreuses problématiques reliées, entre autres, au réchauffement climatique dû aux émissions de gaz à effet de serre, à l'instabilité des prix et aux nombreuses tensions géopolitiques et sans oublier la réalité que ses réserves ne sont pas inépuisables. C'est donc face à ces constats que les biocarburants tel le biodiesel ont vu le jour.

Dans l'optique de limiter les impacts de l'utilisation des combustibles fossiles, la production de biodiesel à partir des microalgues a émergé comme une solution idéale pour assurer un remplacement total ou partiel des carburants non renouvelables. Plusieurs avantages sont reliés à l'utilisation des microalgues comparativement aux autres biocarburants. En effet, les microalgues possèdent une capacité de production importante en biomasse, un contenu en huile très intéressant ainsi qu'une croissance extrêmement rapide. Leur production n'entraîne pas une augmentation de l'utilisation des terres et n'affecte pas la sécurité alimentaire. La biomasse produite peut également servir à la production de divers produits dérivés pouvant être utilisés pour l'alimentation humaine et animale (vitamines, nutraceutiques, cosmétiques).

Les microalgues peuvent être cultivées en mode autotrophe ou encore hétérotrophe. Les productivités des microalgues en mode hétérotrophe sont de loin supérieures à celles obtenues en mode autotrophe (dix fois supérieures) ainsi qu'à celles obtenues à partir des cultures terrestres (500 à 1000 fois supérieures).

L'étude des caractéristiques de production des microalgues a permis de constater l'immense diversité des microalgues dont plusieurs espèces sont encore, à ce jour, inconnues. Toutefois, un nombre relativement restreint de microalgues ont été identifiées possédant un métabolisme hétérotrophe.

Les microalgues sont cultivées dans des fermenteurs et différentes étapes sont impliquées dans le processus pour permettre d'obtenir les huiles produites dont la récolte des microalgues et l'extraction des huiles. Ces étapes présentent certaines problématiques au niveau de l'efficacité des techniques utilisées ainsi qu'au niveau de la consommation énergétique exigée notamment en raison des caractéristiques propres à chacune des espèces microalgales. Elles ont d'ailleurs un impact sur le prix de revient du biodiesel.

L'évaluation des possibilités d'utilisation en fonction des aspects technologiques, économiques et environnementaux permet une analyse globale des possibilités de production du biodiesel à partir des microalgues. Cette analyse permet également de souligner les efforts à fournir dans les différents domaines pour assurer la viabilité de la production du biodiesel à l'échelle industrielle.

Au niveau des techniques de récolte et d'extraction, des efforts importants de recherche et développement devront être fournis afin d'identifier des techniques peu coûteuses et efficaces. Pour le moment, ces étapes affectent la rentabilité du processus de production. Des techniques telle la floculation microbienne pour la récolte et l'extraction assistée par les micro-ondes et SDEP devraient être d'avantage développées.

Le facteur économique influence la production industrielle du biodiesel. Pour assurer la commercialisation du biodiesel d'origine microalgale, les prix de celui-ci doivent être concurrentiels par rapport à ceux du pétrole. Les efforts de recherche et développement devront se

CONCLUSION GENERALE

concentrer à la recherche de techniques peu coûteuses, à l'identification de nouvelles espèces microalgales ayant une plus importante productivité en huile ainsi qu'à la recherche de marchés niches, pour la vente des coproduits générés tels que les acides gras oméga-3 et oméga-6, les vitamines, les antioxydants ainsi que les pigments.

Au niveau environnemental et social, la production de biodiesel microalgale engendre divers impacts positifs comme la diminution des émissions des gaz à effet de serre, la création d'emplois, la diminution des conflits liés au pétrole, la possibilité d'utiliser des terres marginales et infertiles ainsi que la diminution de l'utilisation des pesticides. Des analyses de cycle de vie devront toutefois être réalisées pour évaluer la consommation énergétique globale impliquée dans le processus de production.

La commercialisation à grande échelle ne sera possible que si les éléments technologiques et économiques problématiques sont résolus. Étant donné qu'il s'agit d'un domaine en évolution et que des progrès sont constamment réalisés, l'application industrielle demeure un objectif réalisable à plus ou moins long terme.

Table des références

TABLE DES REFERENCES

- [1]. KHIARI, Karim. Contribution à l'étude des propriétés thermo-physiques des biocarburants de seconde génération et leur influence sur le comportement des moteurs. Thèse de doctorat., 2013. .
- [2]. POITRAT, Etienne. Biocarburants. Techniques de l'ingénieur. Génie énergétique, 1999, vol. 3, no BE8550, p. BE8550. 1-BE8550. 13. .
- [3]. GAUTHIER, Guillaume. Synthèse de biocarburants de deuxième génération: étude de la pyrolyse à haute température de particules de bois centimétriques. Thèse de doctorat., 2013. .
- [4]. JEGANNATHAN, Kenthorai Raman, CHAN, Eng Seng et RAVINDRA, Pogaku. *Harnessing biofuels: A global Renaissance in energy production?* 2009.
- [5]. HOEKMAN, S. Kent, BROCH, Amber, ROBBINS, Curtis, CENICEROS, Eric et NATARAJAN, Mani. *Review of biodiesel composition, properties, and specifications.* 2012.
- [6]. KNOTHE, GERHARD. The History of Vegetable Oil-Based Diesel Fuels. In : *The Biodiesel Handbook.* 2005.
- [7]. DOYON, Maurice, MONDOR, Sylvie, et MONDON, Marjolaine. Impacts du développement des biocarburants de seconde génération sur le marché des matières résiduelles. CIRANO, 2011. .
- [8]. GABRIELLE, Benoît. Significance and limitations of first generation biofuels. *Journal de la Societe de Biologie.* 2008. DOI 10.1051/jbio:2008028.
- [9]. HÉBERT, Josianne. Quel avenir pour le développement des biocarburants de deuxième génération au Québec?. Thèse de doctorat. Université de Sherbrooke, 2013. .
- [10]. VAITILINGOM, Gilles. Extraction, conditionnement et utilisation des huiles végétales pures carburant. Enjeux et perspectives des biocarburants pour l'Afrique, 2007. .
- [11]. NDAYISHIMIYE, Pascal. Utilisation d'un biocarburant à base d'huile de palme dans les moteurs à combustion interne. Thèse de doctorat. Nantes., 2010. .
- [12]. NIGAM, Poonam Singh et SINGH, Anoop. *Production of liquid biofuels from renewable resources.* 2011.
- [13]. FILEMON, A. et URIARTE, J. Biofuels from plant oils. Asean Foundation, supported by National Academy of Science and Technology, Government of Japan, 2010. .
- [14]. VILLE and CHAMP. Les microalgues: une usine photosynthétique pour le recyclage du CO2 et la production de biocarburants, 2014, p 5. .
- [15]. SADI, Meriem. Les micro algues: un défi prometteur pour des biocarburants propres. *Revue Des Energies Renouvelables SIENR'12 Ghardaïa*, 2012, p. 195-202. .
- [16]. CADORET, Jean-Paul et BERNARD, Olivier. La production de biocarburant lipidique

TABLE DES REFERENCES

- avec des microalgues : promesses et défis. *Journal de la Société de Biologie* [en ligne]. 4 novembre 2008. Vol. 202, n° 3, pp. 201-211. DOI 10.1051/jbio:2008022. Disponible à l'adresse : <http://www.biologie-journal.org/10.1051/jbio:2008022>
- [17]. PULZ, Otto et GROSS, Wolfgang. *Valuable products from biotechnology of microalgae*. 2004.
- [18]. DEGEN, Jörg, UEBELE, Andrea, RETZE, Axel, SCHMID-STAIGER, Ulrike et TRÖSCH, Walter. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *Journal of Biotechnology*. 2001. DOI 10.1016/S0168-1656(01)00350-9.
- [19]. SPOLAORE, Pauline, JOANNIS-CASSAN, Claire, DURAN, Elie et ISAMBERT, Arsène. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. 2006. DOI 10.1263/jbb.101.87.
- [20]. SUALI, Emma et SARBATLY, Rosalam. *Conversion of microalgae to biofuel*. 2012.
- [21]. PARK, J. B.K., CRAGGS, R. J. et SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology*. 2011. DOI 10.1016/j.biortech.2010.06.158.
- [22]. LANGLEY, N. M., HARRISON, S. T.L. et VAN HILLE, R. P. A critical evaluation of CO₂ supplementation to algal systems by direct injection. *Biochemical Engineering Journal*. 2012. DOI 10.1016/j.bej.2012.07.013.
- [23]. BERBEROGLU, Halil, GOMEZ, Pedro S. et PILON, Laurent. Radiation characteristics of *Botryococcus braunii*, *Chlorococcum littorale*, and *Chlorella* sp. used for CO₂ fixation and biofuel production. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*. 2009. DOI 10.1016/j.jqsrt.2009.04.005.
- [24]. CAVALLA, Michel. Les algues- Les microalgues, 2000, p 17. .
- [25]. LASKIN, A. I. et LECHEVALIER, H. A. Volume II Fungi, Algae, Protozoa, and Viruses. 2ème édition, Floride, Laskin, Allen I., 1977, 874 p. .
- [26]. The Biology of Diatoms Dietrich Werner. *The American Biology Teacher*. 1978. DOI 10.2307/4446340.
- [27]. MÉLANUE SALOMEZ. Opportunités de développement de la filière microalgues à l'île de la Reunion, 2009, P 16-53. .
- [28]. MÜLLER, P., LI, X. P. et NIYOGI, K. K. *Non-photochemical quenching. A response to excess light energy*. 2001.
- [29]. ABERT VIAN, Maryline, DEJOYE TANZI, Céline et CHEMAT, Farid. *Techniques conventionnelles et innovantes, et solvants alternatifs pour l'extraction des lipides de micro-organismes*. 2013.
- [30]. MASOJÍDEK, Jirí, TORZILLO, Giuseppe et KOBLÍZEK, Michal. Photosynthesis in Microalgae. In : *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition*. 2013. ISBN 9781118567166.

TABLE DES REFERENCES

- [31]. GROBBELAAR, Johan U. Physiological and technological considerations for optimising mass algal cultures. In : *Journal of Applied Phycology*. 2000.
- [32]. HU, Qiang. Environmental Effects on Cell Composition. In : *Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology: Second Edition*. 2013. ISBN 9781118567166.
- [33]. SINGH, R. N. et SHARMA, Shaishav. *Development of suitable photobioreactor for algae production - A review*. 2012.
- [34]. OLAIZOLA, Miguel. Commercial development of microalgal biotechnology: From the test tube to the marketplace. In : *Biomolecular Engineering*. 2003.
- [35]. GROBBELAAR, Johan U. et KURANO, N. Use of photoacclimation in the design of a novel photobioreactor to achieve high yields in algal mass cultivation. In : *Journal of Applied Phycology*. 2003.
- [36]. APT, Kirk E. et BEHRENS, Paul W. *Commercial developments in microalgal biotechnology*. 1999.
- [37]. CAMACHO RUBIO, F., ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G., SÁNCHEZ PÉREZ, J. A., GARCÍA CAMACHO, F. et MOLINA GRIMA, E. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnology and Bioengineering*. 1999. DOI 10.1002/(SICI)1097-0290(19990105)62:1<71::AID-BIT9>3.0.CO;2-T.
- [38]. BRENNAN, Liam et OWENDE, Philip. *Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. 2010.
- [39]. RAZZAK, Shaikh A., HOSSAIN, Mohammad M., LUCKY, Rahima A., BASSI, Amarjeet S. et DE LASA, Hugo. *Integrated CO2 capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing - A review*. 2013.
- [40]. CHISTI, Yusuf. *Biodiesel from microalgae*. 2007.
- [41]. SIERRA, E., ACIÉN, F. G., FERNÁNDEZ, J. M., GARCÍA, J. L., GONZÁLEZ, C. et MOLINA, E. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*. 2008. DOI 10.1016/j.cej.2007.06.004.
- [42]. TREDICI, Mario R. Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. In : *Handbook of Microalgal Culture*. 2007.
- [43]. LEE, Yuan Kun. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential. In : *Journal of Applied Phycology*. 2001.
- [44]. CHRISTENSON, Logan et SIMS, Ronald. *Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts*. 2011.
- [45]. WEISSMAN, Joseph C., GOEBEL, Raymond P. et BENEMANN, John R. Photobioreactor design: Mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation. *Biotechnology and Bioengineering*. 1988. DOI 10.1002/bit.260310409.

TABLE DES REFERENCES

- [46]. LUNDQUIST, T J, WOERTZ, I C, QUINN, N W T et BENEMANN, J R. A ! Realistic ! Technology ! and ! Engineering ! Assessment ! of ! Algae ! Biofuel ! Production ! *Energy*. 2010.
- [47]. CONTRERAS, A., GARCÍA, F., MOLINA, E. et MERCHUK, J. C. Interaction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *Phaeodactylum tricornutum* in a concentric tube airlift photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*. 1998. DOI 10.1002/(SICI)1097-0290(19981105)60:3<317::AID-BIT7>3.0.CO;2-K.
- [48]. BABCOCK, Roger W., MALDA, Jos et RADWAY, Jo Ann C. Hydrodynamics and mass transfer in a tubular airlift photobioreactor. *Journal of Applied Phycology*. 2002. DOI 10.1023/A:1019924226457.
- [49]. PULZ, O. *Photobioreactors: Production systems for phototrophic microorganisms*. 2001.
- [50]. MATA, Teresa M., MARTINS, António A. et CAETANO, Nidia S. *Microalgae for biodiesel production and other applications: A review*. 2010.
- [51]. RAWAT, I., RANJITH KUMAR, R., MUTANDA, T. et BUX, F. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*. 2011. DOI 10.1016/j.apenergy.2010.11.025.
- [52]. CHEN, Chun Yen, YEH, Kuei Ling, AISYAH, Rifka, LEE, Duu Jong et CHANG, Jo Shu. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology*. 2011. DOI 10.1016/j.biortech.2010.06.159.
- [53]. UDUMAN, Nyomi, QI, Ying, DANQUAH, Michael K. et HOADLEY, Andrew F.A. Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement. *Chemical Engineering Journal*. 2010. DOI 10.1016/j.cej.2010.06.046.
- [54]. BURLEW, John S. *Current status of the large-scale culture of algae*. 1953. ISBN 0872796116.
- [55]. MOLINA GRIMA, E., FERNÁNDEZ SEVILLA, J. M., SÁNCHEZ PÉREZ, J. A. et GARCÍA CAMACHO, F. A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances. *Journal of Biotechnology*. 1996. DOI 10.1016/0168-1656(95)00144-1.
- [56]. MIRÓN, Asterio Sánchez, CAMACHO, Francisco García, GÓMEZ, Antonio Contreras, GRIMA, Emilio Molina et CHISTI, Yusuf. Bubble-column and airlift photobioreactors for algal culture. *AIChE Journal*. 2000. DOI 10.1002/aic.690460915.
- [57]. LUCCHETTI, Aurélie. Modélisation et conception d'un système de culture de microalgues. Thèse de doctorat. Paris, ENMP, 2014. .
- [58]. BARBOSA, Maria J., JANSSEN, Marcel, HAM, Nienke, TRAMPER, Johannes et WIJFFELS, René H. Microalgae cultivation in air-lift reactors: Modeling biomass yield and growth rate as a function of mixing frequency. *Biotechnology and Bioengineering*. 2003. DOI 10.1002/bit.10563.

TABLE DES REFERENCES

- [59]. YUN, Yeoung Sang et PARK, Jong Moon. Kinetic modeling of the light-dependent photosynthetic activity of the green microalga *Chlorella vulgaris*. *Biotechnology and Bioengineering*. 2003. DOI 10.1002/bit.10669.
- [60]. CSÖGÖR, Zsuzsa, HERRENBAUER, Michael, PERNER, Iris, SCHMIDT, Karsten et POSTEN, Clemens. Design of a photo-bioreactor for modelling purposes. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 1999. DOI 10.1016/S0255-2701(99)00048-3.
- [61]. BECKER, E. Wolfgang. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press, 1994. .
- [62]. LÍVANSKÝ, Karel et DOUCHA, Jiří. CO₂ and O₂ gas exchange in outdoor thin-layer high density microalgal cultures. *Journal of Applied Phycology*. 1996. DOI 10.1007/BF02178578.
- [63]. RICHMOND, Amos. Biological Principles of Mass Cultivation. In : *Handbook of Microalgal Culture*. 2007.
- [64]. GROBBELAAR, Johan U. Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations. *Journal of Applied Phycology*. 1994. DOI 10.1007/BF02181947.
- [65]. BARBOSA, Maria J., ALBRECHT, Marco et WIJFFELS, René H. Hydrodynamic stress and lethal events in sparged microalgae cultures. *Biotechnology and Bioengineering*. 2003. DOI 10.1002/bit.10657.
- [66]. SÁNCHEZ MIRÓN, Asterio, CONTRERAS GÓMEZ, Antonio, GARCÍA CAMACHO, Francisco, MOLINA GRIMA, Emilio et CHISTI, Yusuf. Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae. In : *Journal of Biotechnology*. 1999.
- [67]. PERSON, Julie et COLLOQUE ALGUES, FILIÈRES DU FUTUR!. *Algues, filières du futur: Livre Turquoise*. Editions Adebitech, 2011. .
- [68]. DESMORIEUX, Hélène et DECAEN, Nadège. Convective drying of spirulina in thin layer. *Journal of Food Engineering*. 2005. DOI 10.1016/j.jfoodeng.2004.04.021.
- [69]. RANGEL-YAGUI, Carlota De Oliveira, DANESI, Eliane Dalva Godoy, DE CARVALHO, João Carlos Monteiro et SATO, Sunao. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: Cultivation with urea addition by fed-batch process. *Bioresource Technology*. 2004. DOI 10.1016/j.biortech.2003.09.002.
- [70]. SOLETTI, D., BINAGHI, L., LODI, A., CARVALHO, J. C.M. et CONVERTI, A. Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. *Aquaculture*. 2005. DOI 10.1016/j.aquaculture.2004.10.005.
- [71]. LEÓN, Rosa, MARTÍN, Marta, VIGARA, Javier, VILCHEZ, Carlos et VEGA, José María. Microalgae mediated photoproduction of β -carotene in aqueous-organic two phase systems. In : *Biomolecular Engineering*. 2003.
- [72]. HULBURT, Edward M. *The Biology of Diatoms*. Botanical Monographs, Volume 13.

TABLE DES REFERENCES

- Dietrich Werner . *The Quarterly Review of Biology*. 1978. DOI 10.1086/410701.
- [73]. BECKER, Wolfgang et RICHMOND, Amos. Microalgae in human and animal nutrition. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. 2004. DOI 10.1002/9780470995280.
- [74]. AYE HUNIE, Seyoum, BELAY, Amha, BABA, Timothy W. et RUPRECHT, Ruth M. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*). *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*. 1998. DOI 10.1097/00042560-199805010-00002.
- [75]. HERNÁNDEZ-CORONA, Armida, NIEVES, Irma, MECKES, Mariana, CHAMORRO, Germán et BARRON, Blanca L. Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Research*. 2002. DOI 10.1016/S0166-3542(02)00132-8.
- [76]. RECHTER, Sabine, KÖNIG, Tanja, AUEROCHS, Sabrina, THULKE, Stefanie, WALTER, Hauke, DÖRNENBURG, Heike, WALTER, Christian et MARSCHALL, Manfred. Antiviral activity of *Arthrospira*-derived spirulan-like substances. *Antiviral Research*. 2006. DOI 10.1016/j.antiviral.2006.06.004.
- [77]. GORECKI, Marian, BECK, Yaffa, HARTMAN, Jacob R., FISCHER, Meir, WEISS, Lola, TOCHNER, Zelig, SLAVIN, Shimon et NIMROD, Abraham. Recombinant human superoxide dismutases: Production and potential therapeutical uses. *Free Radical Research*. 1991. DOI 10.3109/10715769109145810.
- [78]. PERALES-VELA, Hugo Virgilio, PEÑA-CASTRO, Julián Mario et CAÑIZARES-VILLANUEVA, Rosa Olivia. *Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae*. 2006.
- [79]. LUAN, T. G., JIN, Jing, CHAN, Sidney M.N., WONG, Y. S. et TAM, Nora F.Y. Biosorption and biodegradation of tributyltin (TBT) by alginate immobilized *Chlorella vulgaris* beads in several treatment cycles. *Process Biochemistry*. 2006. DOI 10.1016/j.procbio.2006.02.020.
- [80]. MELIS, A. et HAPPE, T. *Hydrogen production. Green algae as a source of energy*. 2001.
- [81]. WANG, Lijun et WELLER, Curtis L. *Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants*. 2006.
- [82]. GRIGONIS, D., VENS KUTONIS, P. R., SIVIK, B., SANDAHL, M. et ESKILSSON, C. S. Comparison of different extraction techniques for isolation of antioxidants from sweet grass (*Hierochloë odorata*). *Journal of Supercritical Fluids*. 2005. DOI 10.1016/j.supflu.2004.08.006.
- [83]. REIGHARD, Tricia S. et OLESIK, Susan V. Bridging the Gap Between Supercritical Fluid Extraction and Liquid Extraction Techniques: Alternative Approaches to the Extraction of Solid and Liquid Environmental Matrices. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* [en ligne]. septembre 1996. Vol. 26, n° 2-3, pp. 61-99. DOI 10.1080/10408349608050568. Disponible à l'adresse : <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408349608050568>
- [84]. EHIMEN, Ehiازه A., SUN, Zhifa et CARRINGTON, Gerry C. Use of Ultrasound and Co-

TABLE DES REFERENCES

- Solvents to Improve the In-Situ Transesterification of Microalgae Biomass. *Procedia Environmental Sciences*. 2012. DOI 10.1016/j.proenv.2012.05.009.
- [85]. KIM, Young Hoo, PARK, Saerom, KIM, Min Hoo, CHOI, Yong Keun, YANG, Yung Hun, KIM, Hyung Joo, KIM, Hyungsup, KIM, Han Soo, SONG, Kyung Guen et LEE, Sang Hyun. Ultrasound-assisted extraction of lipids from *Chlorella vulgaris* using [Bmim][MeSO₄]. *Biomass and Bioenergy*. 2013. DOI 10.1016/j.biombioe.2013.04.022.
- [86]. KOBERG, Miri, COHEN, Moshe, BEN-AMOTZ, Ami et GEDANKEN, Aharon. Biodiesel production directly from the microalgae biomass of *Nannochloropsis* by microwave and ultrasound radiation. *Bioresource Technology*. 2011. DOI 10.1016/j.biortech.2010.12.004.
- [87]. CHO, Hyeon Soo, OH, You Kwan, PARK, Soon Chul, LEE, Jae Wook et PARK, Ji Yeon. Effects of enzymatic hydrolysis on lipid extraction from *Chlorella vulgaris*. *Renewable Energy*. 2013. DOI 10.1016/j.renene.2012.08.031.
- [88]. YOO, Gursong, PARK, Won Kun, KIM, Chul Woong, CHOI, Yoon E. et YANG, Ji Won. Direct lipid extraction from wet *Chlamydomonas reinhardtii* biomass using osmotic shock. *Bioresource Technology*. 2012. DOI 10.1016/j.biortech.2012.07.102.
- [89]. DE ROSBO, Guillaume Kerlero et BERNARD, Olivier. Évaluation du gisement potentiel de ressources algales pour l'énergie et la chimie en France à horizon 2030., 2014. .
- [90]. PERSON, J. Livre Turquoise - Algues, Filière du Future. *Actes du Colloque Adebitech 17-19 Novembre 2010, Romainville*. 2011.
- [91]. PENCHEV, Petko Ivanov. Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions. Thèse de doctorat., 2010. .
- [92]. SATI, Himanshu, MITRA, Madhusree, MISHRA, Sandhya et BAREDAR, Prashant. *Microalgal lipid extraction strategies for biodiesel production: A review*. 2019.
- [93]. AHMAD, Mushtaq, KHAN, Mir Ajab, ZAFAR, Muhammad et SULTANA, Shazia. *Practical Handbook on Biodiesel Production and Properties*. 2012.
- [94]. RICHARD, Romain. Transestérification éthanolique d'huile végétale dans des microréacteurs : transposition du batch au continu. *Revue Internationale de Sécurité Sociale*. 2010. DOI 10.1111/j.1752-1718.2010.01366.x.
- [95]. PHAN, Anh N. et PHAN, Tan M. Biodiesel production from waste cooking oils. *Fuel*. 2008. DOI 10.1016/j.fuel.2008.07.008.
- [96]. BULENT KOC, A. Ultrasonic monitoring of glycerol settling during transesterification of soybean oil. *Bioresource Technology*. 2009. DOI 10.1016/j.biortech.2008.05.037.
- [97]. AGARWAL, Avinash Kumar. *Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines*. 2007.
- [98]. TARABET, Lyes, LOUBAR, Khaled, LOUNICI, Mohand Said, HANCHI, Samir et TAZEROUT, Mohand. Eucalyptus biodiesel as an alternative to diesel fuel: Preparation

TABLE DES REFERENCES

- and tests on di diesel engine. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 2012. DOI 10.1155/2012/235485.
- [99]. BALAT, Mustafa et BALAT, Havva. A critical review of bio-diesel as a vehicular fuel. *Energy Conversion and Management*. 2008. DOI 10.1016/j.enconman.2008.03.016.
- [100]. GRABOSKI, Michael S. et MCCORMICK, Robert L. *Combustion of fat and vegetable oil derived fuels in diesel engines*. 1998.
- [101]. SRIVASTAVA, P. K. et VERMA, Madhumita. Methyl ester of karanja oil as an alternative renewable source energy. *Fuel*. 2008. DOI 10.1016/j.fuel.2007.08.018.
- [102]. RAKOPOULOS, C. D., ANTONOPOULOS, K. A., RAKOPOULOS, D. C., HOUNTALAS, D. T. et GIAKOUMIS, E. G. Comparative performance and emissions study of a direct injection Diesel engine using blends of Diesel fuel with vegetable oils or bio-diesels of various origins. *Energy Conversion and Management*. 2006. DOI 10.1016/j.enconman.2006.01.006.
- [103]. DEMIRBAS, Ayhan. *Biodiesel: A realistic fuel alternative for diesel engines*. 2008. ISBN 9781846289941.
- [104]. PANNETIER, Guy et SOUCHAY, Pierre. *Chimie générale: cinétique chimique*. Masson, 1964. .
- [105]. BUTTERFIELD, R. O. Kinetic rate constants determined by a digital computer. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1969. DOI 10.1007/BF02544361.
- [106]. FREEDMAN, Bernard, BUTTERFIELD, Royden O. et PRYDE, Everett H. Transesterification kinetics of soybean oil 1. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1986. DOI 10.1007/BF02679606.
- [107]. LANZA, Marcelo, NETO, Waldomiro Borges, BATISTA, Eduardo, POPPI, Ronei J. et MEIRELLES, Antonio J.A. Liquid-liquid equilibrium data for reactional systems of ethanolysis at 298.3 K. *Journal of Chemical and Engineering Data*. 2008. DOI 10.1021/jc700120d.
- [108]. COTES, A. Conde et WENZEL, L. Kinetics of the transesterification of castor oil. *Latin American Journal of Chemical Engineering and Applied Chemistry*, 1974, vol. 4, p. 125-141. .
- [109]. LAM, Man Kee, LEE, Keat Teong et MOHAMED, Abdul Rahman. *Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review*. 2010.
- [110]. HAMAD, Berna. *Transestérification des huiles végétales par l'éthanol en conditions douces par catalyses hétérogènes acide et basique*. Thèse de doctorat., 2009. .
- [111]. WISNIEWSKI, A., WIGGERS, V. R., SIMIONATTO, E. L., MEIER, H. F., BARROS, A. A.C. et MADUREIRA, L. A.S. Biofuels from waste fish oil pyrolysis: Chemical composition. *Fuel*. 2010. DOI 10.1016/j.fuel.2009.07.017.
- [112]. DEOLIVEIRA, Edimar, QUIRINO, Rafael L., SUAREZ, Paulo A.Z. et PRADO,

TABLE DES REFERENCES

- Alexandre G.S. Heats of combustion of biofuels obtained by pyrolysis and by transesterification and of biofuel/diesel blends. *Thermochimica Acta*. 2006. DOI 10.1016/j.tca.2006.08.005.
- [113]. JITPUTTI, Jaturong, KITIYANAN, Boonyarach, RANGSUNVIGIT, Pramoch, BUNYAKIAT, Kunchana, ATTANATHO, Lalita et JENVANITPANJAKUL, Peesamai. Transesterification of crude palm kernel oil and crude coconut oil by different solid catalysts. *Chemical Engineering Journal*. 2006. DOI 10.1016/j.cej.2005.09.025.
- [114]. KISS, Anton A., DIMIAN, Alexandre C. et ROTHENBERG, Gadi. Solid acid catalysts for biodiesel production - Towards sustainable energy. *Advanced Synthesis and Catalysis*. 2006. DOI 10.1002/adsc.200505160.
- [115]. VICENTE, G., COTERON, A., MARTINEZ, M. et ARACIL, J. Application of the factorial design of experiments and response surface methodology to optimize biodiesel production. *Industrial Crops and Products*. 1998. DOI 10.1016/S0926-6690(97)10003-6.
- [116]. CAO, Fenghua, CHEN, Yang, ZHAI, Fengying, LI, Jing, WANG, Jianghua, WANG, Xiaohong, WANG, Shengtian et ZHU, Weimin. Biodiesel production from high acid value waste frying oil catalyzed by superacid heteropolyacid. *Biotechnology and Bioengineering*. 2008. DOI 10.1002/bit.21879.
- [117]. LEE, Dae Won, PARK, Young Moo et LEE, Kwan Young. *Heterogeneous base catalysts for transesterification in biodiesel synthesis*. 2009.
- [118]. FREEDMAN, B., PRYDE, E. H. et MOUNTS, T. L. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 1984. DOI 10.1007/BF02541649.
- [119]. YAN, Shuli, LU, Houfang et LIANG, Bin. Supported CaO catalysts used in the transesterification of rapeseed oil for the purpose of biodiesel production. *Energy and Fuels*. 2008. DOI 10.1021/ef070105o.
- [120]. XIE, Wenlei, PENG, Hong et CHEN, Ligong. Transesterification of soybean oil catalyzed by potassium loaded on alumina as a solid-base catalyst. *Applied Catalysis A: General*. 2006. DOI 10.1016/j.apcata.2005.10.048.
- [121]. SUPPES, Galen J., DASARI, Mohanprasad A., DOSKOCIL, Eric J., MANKIDY, Pratik J. et GOFF, Michael J. Transesterification of soybean oil with zeolite and metal catalysts. *Applied Catalysis A: General*. 2004. DOI 10.1016/j.apcata.2003.07.010.
- [122]. SCHUCHARDT, Ulf, VARGAS, Rogério Matheus et GELBARD, Georges. Alkylguanidines as catalysts for the transesterification of rapeseed oil. *Journal of Molecular Catalysis. A, Chemical*. 1995. DOI 10.1016/1381-1169(95)00039-9.
- [123]. DEJOYE, Céline. Eco-extraction et analyse de lipides de micro-algues pour la production d'algo-carburant. Thèse de doctorat., 2013. .
- [124]. DEJOYE TANZI, Celine, ABERT VIAN, Maryline, GINIES, Christian, ELMAATAOUI, Mohamed et CHEMAT, Farid. Terpenes as Green Solvents for Extraction of Oil from Microalgae. *Molecules* [en ligne]. 9 juillet 2012. Vol. 17, n° 7, pp. 8196-8205.

TABLE DES REFERENCES

DOI 10.3390/molecules17078196. Disponible à l'adresse : <http://www.mdpi.com/1420-3049/17/7/8196>

- [125]. DEJOYE TANZI, Celine, ABERT VIAN, Maryline et CHEMAT, Farid. New procedure for extraction of algal lipids from wet biomass: A green clean and scalable process. *Bioresource Technology*. 2013. DOI 10.1016/j.biortech.2013.01.168.