République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté par

BOUSSADI Abdelkrim

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN HYDROBIOLOGIE MARINE ET CONTINENTALE

Spécialité:

Bioressources marines

Intitulée:

Valorisation des microalgues *Arthrospira platensis* et *Nannochloropsis gaditana* pour la production d'énergie renouvelable

Soutenue le 15/10/2026

Devant le Jury

Président :	**BELBACHIR Nor Eddine**	**MCA**	**U. Mostaganem**
Encadreur :	**BENZIDANE Dehiba**	**MCA**	**U. Mostaganem**
Co-encadreur :	**NEMCHI Fadela**	**Prof**	**U. Mostaganem**
Examinateur :	**CHIKH DJAOUTSI Djamila**	**MCB**	**U. Mostaganem**

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu, le Tout-Puissant et le Miséricordieux, qui m'a donné la force, la patience et le courage nécessaires à l'accomplissement de ce modeste travail.

J'adresse mes sincères remerciements à mon encadrante, **Dr. BENZIDANE Dehiba**, pour sa grande disponibilité, son précieux apport scientifique et la qualité de son encadrement tout au long de ce travail. Je tiens à lui exprimer une gratitude toute particulière pour son immense patience. Elle a toujours su rester à l'écoute, répondre à mes questions et faire preuve de bienveillance et de compréhension face à mes hésitations et à mes retards, avec un calme que je n'oublierai jamais. Elle m'a également offert un cadre de travail propice à l'apprentissage et m'a appris à aller au-delà de mes propres limites.

Je remercie vivement ma co-encadrante, **Dr. BELHAKEM Fadila**, pour son soutien, ses conseils avisés et sa précieuse contribution scientifique.

Mes remerciements s'adressent également aux membres du jury, **Dr. BELBACHIR Nor Eddine et Dr. CHIKH DJAOUTSI Djamila**, qui ont accepté de consacrer une partie de leur temps à l'évaluation de ce mémoire.

Je tiens aussi à exprimer ma reconnaissance à toute l'équipe des laboratoires de l'université, en particulier aux techniciens et techniciennes, à **M. BENBOUZIANE Djilali**, responsable des laboratoires, ainsi qu'à **M. SOUANE**, responsable du magasin, pour leur accueil chaleureux, leur aide technique et leur patience tout au long de mes manipulations.

Je n'oublie pas les enseignants du département d'Hydrobiologie marine et continentale de l'Université de Mostaganem, qui m'ont transmis leurs connaissances tout au long de mon cursus universitaire et dont les enseignements et les échanges ont largement contribué à mon enrichissement personnel et scientifique.

J'adresse également mes remerciements à mes camarades de promotion et à mes amis, avec qui j'ai partagé de nombreux moments, aussi bien au laboratoire, entre les paillasses, qu'en dehors de celui-ci.

À mes chers parents, je dois tout. Merci de m'avoir toujours fait confiance, de m'avoir soutenu et encouragé sans jamais douter de moi. Je mesure pleinement les sacrifices que vous avez consentis pour me permettre de poursuivre mes études et de réaliser mes projets. Votre soutien a été essentiel tout au long de ce parcours.

J'adresse toute mon affection à mes frères et sœurs, ainsi qu'à l'ensemble de ma famille, pour leur présence, leur amour et leurs encouragements.

Enfin, à toutes celles et à tous ceux qui, de près ou de loin, m'ont accompagné et soutenu tout au long de ce parcours, j'adresse mes plus sincères remerciements.

Merci du fond du cœur à toutes et à tous.

RÉSUMÉ

Dans un contexte de transition énergétique et de recherche de ressources renouvelables, les microalgues constituent une matière première prometteuse pour la production de biocarburants, notamment en raison de leur diversité biochimique et de leur capacité à accumuler des lipides valorisables. La présente étude vise à évaluer le potentiel de deux organismes photosynthétiques, *Arthrospira platensis* et *Nannochloropsis gaditana*, pour la production de biodiesel par transestérification *in situ*.

La teneur lipidique des biomasses sèches a d'abord été déterminée par extraction au Soxhlet à l'aide d'un mélange hexane–2-propanol (2:1). Les deux biomasses ont ensuite été soumises à un procédé de transestérification *in situ*, puis les produits obtenus ont été caractérisés par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), afin d'identifier les principaux groupements fonctionnels associés aux composés estérifiés.

Les résultats ont révélé une différence marquée entre les deux espèces. La teneur lipidique moyenne de *N. gaditana* a atteint 14,07 ± 1,36 % de la matière sèche, contre 4,92 ± 0,54 % chez *A. platensis*. Cette différence s'est également reflétée dans les rendements gravimétriques des produits obtenus après transestérification *in situ*, estimés respectivement à 22,35 % et 3,24 % de la matière sèche. L'analyse FTIR a mis en évidence, dans les deux produits, des bandes caractéristiques des chaînes aliphatiques et des fonctions ester, notamment dans la région du carbonyle, compatible avec la présence d'esters d'acides gras. Dans les conditions expérimentales étudiées, *N. gaditana* présente ainsi un potentiel de valorisation énergétique supérieur à celui d'*A. platensis*.

Toutefois, la confirmation de la composition en esters méthyliques et l'évaluation de la qualité du biodiesel nécessitent des analyses complémentaires, notamment par chromatographie en phase gazeuse et par la détermination des propriétés physicochimiques du carburant.

Mots-clés : microalgues, *Arthrospira platensis*, *Nannochloropsis gaditana*, biodiesel, extraction lipidique, transestérification *in situ*, FTIR.

ABSTRACT

In the context of the energy transition and the search for renewable resources, microalgae represent a promising feedstock for biofuel production, particularly owing to their biochemical diversity and ability to accumulate valuable lipids. This study aimed to assess the potential of two photosynthetic microorganisms, *Arthrospira platensis* and *Nannochloropsis gaditana*, for biodiesel production through *in situ* transesterification.

The lipid content of the dried biomass was first determined by Soxhlet extraction using a hexane–2-propanol mixture (2:1). Both biomasses were then subjected to in situ transesterification, and the resulting products were characterized by Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) to identify the main functional groups associated with esterified compounds.

The results revealed a marked difference between the two species. The mean lipid content of *N. gaditana* reached 14.07 ± 1.36% of dry biomass, compared with 4.92 ± 0.54% for *A. platensis*. This difference was also reflected in the gravimetric yields of the products obtained after *in situ* transesterification, which were estimated at 22.35% and 3.24% of dry biomass, respectively. FTIR analysis revealed, in both products, characteristic bands associated with aliphatic chains and ester functional groups, particularly in the carbonyl region, consistent with the presence of fatty acid esters. Under the experimental conditions investigated, *N. gaditana* therefore exhibited greater potential for energy recovery than *A. platensis*.

However, confirming the composition of the fatty acid methyl esters and assessing biodiesel quality require further analyses, particularly gas chromatography and the determination of the fuel's physicochemical properties.

Keywords: microalgae, *Arthrospira platensis*, *Nannochloropsis gaditana*, biodiesel, lipid extraction, *in situ* transesterification, FTIR.

Table des matières

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAU

ABREVIATION

INTRODUCTION GENERALE……..1

Partie I – Synthèse bibliographique

Chapitre I — Les microalgues et leur valorisation biotechnologique 4

1. Généralités sur les microalgues 4

1.1. Définition et caractéristiques générales 4

1.2. Diversité et classification..... 5

2. Composition biochimique des microalgues 6

2.1. Protéines 7

2.2. Lipides 7

2.3. Glucides..... 8

2.4. Pigments et autres composés d'intérêt 9

3. Potentiel biotechnologique des microalgues 9

3.1. Principales applications..... 9

3.2. Valorisation énergétique..... 10

4. Les microalgues comme source de biocarburants 11

4.1. Principaux biocarburants issus des microalgues 11

4.2. Intérêt de la biomasse microalgale pour la production de biodiesel 12

Chapitre II — *Arthrospira platensis* et Nannochloropsis *gaditana* 13

1. *Arthrospira platensis*..... 13

1.1. Caractéristiques générales..... 13

1.2. Composition biochimique et profil lipidique 13

2. Nannochloropsis *gaditana* 14

2.1. Caractéristiques générales 14
2.2. Composition biochimique et profil lipidique 15
1.2. Biodiesel et biocarburants de troisième génération 17
2. Lipides microalgaux et production de biodiesel 17
2.1 Lipides d'intérêt 17
2.2. Rôle de la composition en acides gras 18
3. Processus de production du biodiesel 18
3.1 Principe de la transestérification 18
3.2. Principaux paramètres influençant la transestérification 19
3.3. Transestérification classique et transestérification in situ 20
3.3.1. Principe de la transestérification classique 20
3.3.2. Principe de la transestérification in situ 21
3.3.3. Principales différences entre les deux approches 21
4. Caractérisation et qualité du biodiesel 23
4.1. Rendement de production 23
4.2. Composition en FAME 23
4.3. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) 24
4.4. Principaux paramètres de qualité 25
5. Intérêts et limites du biodiesel microalgale 26

Partie II – Matériels et Methodes

1. Introduction 28
2. Matériaux biologiques 28
3. Estimation de la teneur totale en lipide 28
4. Production de biodiesel par transestérification in-situ 31
5. Caractérisation du biodiesel produit 35
5.1. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) 35
5.2. Procédure 35

Partie III – Résultats et discussion

1. Introduction 37
2. Teneur en lipides totaux (extraction au Soxhlet) 37
3. Production de biodiesel par transestérification in situ 39

4. Analyse FTIR des produits de transestérification..... 41

CONCLUSION GENERAL……45

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES……..46

LISTES DES FIGURES

Figure 01. Différentes formes des microalgues 5
Figure 02. Systemes d'elvage des microalgues, a) bassins raceway, b) photobioréacteurs 5
Figure 03. Position des organismes étudiés (*Arthrospira platensis* et *Nannochloropsis gaditana*) parmi les principaux groupes de microalgues. 6
Figure 04. Teneur en huile (% de la matière sèche) de quelques microalgues. Les barres représentent les intervalles rapportés ; le point correspond à une valeur unique. 8
Figure 05. Principaux domaines d'application de la biomasse microalgale. 10
Figure 06. Principales voies de conversion de la biomasse microalgale en biocarburants. 11
Figure 07. Rendement en huile de différentes cultures et des microalgues (L ha^{-1} an^{-1}, échelle logarithmique). 12
Figure 08. Composition biochimique globale (a) et classes d'acides gras (b) d'une souche d'*Arthrospira platensis* (NIOF17/003). 14
Figure 09. Effet de la carence en azote sur la teneur en lipides et sur les productivités chez Nannochloropsis sp. 16
Figure 10. Réaction de transestérification d'un triacylglycérol avec le méthanol : réaction globale et étapes successives. 19
Figure 11. Schéma comparatif de la transestérification classique (a) et de 22
la transestérification in situ (b). 22
Figure 12. Extracteur de soxhlet 29
a) schéma du dispositif ; b) photo du dispositif (Boussadi, 2026) 29
Figure 13. Difference entre la couleur des extraits de 30
a) *Arthrospira Platensis* et b) *Nanochlopsis Gaditana* (Boussadi, 2026) 30
Figure 14. Rotavapor 30
a) shema ; b) photo du dispositif (Boussadi, 2026) 30
Figure 15. l'extrait de la spiruline obtenue du Soxhlet 31
a) avant évaporation au Rotavapor ; b) après évaporation (Boussadi, 2026) 31
Figure 16. pulvérisation des échantillons 32
a) poudre de spiruline ; b) poudre de *Nannochlopsis* (Boussadi, 2026) 32

Figure 17. Dispositif de la réaction de transterification *in-situ* 33
a) shema du dispositif ; b) photo du dispositif (Boussadi, 2026) 33
Figure 18. Lavage de la phase contenante l'EMAG (Boussadi, 2026) 34
Figure 19. l'extrait apres l'evaporation de l'hexane avec le Rotavapor (Boussadi, 2026) 35
Figure 20. Teneur en lipides extraits au Soxhlet pour les deux espèces. 38
Figure 21. Spectres FTIR des produits de transestérification in situ obtenus à partir de (a) Nannochloropsis *gaditana* et (b) *Arthrospira platensis*. 42
Figure 22. Agrandissement des principales régions spectrales des produits de transestérification in situ obtenus à partir de N. *gaditana* et A. *platensis* : (a) région du carbonyle (1800–1650 cm^{-1}) et (b) région comprise entre 1350 et 950 cm^{-1}. 43

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01. Composition globale (% de la matière sèche) de quelques microalgues et cyanobactéries (Becker, 2007) 7
Tableau 02. Principales applications des microalgues et exemples de produits. 10
Tableau 03. Classification des biocarburants selon la matière première. 17
Tableau 04. Influence de la structure des esters méthyliques sur les propriétés du biodiesel (tendances). 18
Tableau 05. Principaux paramètres influençant la transestérification. 20
Tableau 06. Comparaison entre transestérification classique et transestérification in situ. 22
Tableau 07. Principales bandes FTIR utilisées pour caractériser le biodiesel. 24
Tableau 08. Quelques spécifications des normes EN 14214 et ASTM D6751 pour le biodiesel (B100). 25
Tableau 09. Intérêts et limites du biodiesel microalgal . 26
Tableau 10. Teneur lipidique de la biomasse sèche. 37
Tableau 11. Comparaison de la teneur en lipides et du rendement gravimétrique en biodiesel chez *Arthrospira platensis* et Nannochloropsis *gaditana*.` 40

ABREVIATIONS

ACP : Protéine Porteuse d'Acyle

AG : Acide Gras

AGL : Acide Gras Libre

CO2 : Dioxyde de carbone

EMAG : Esters Méthyliques d'Acides Gras

EPA : Acide Eicosapentaénoïque

FT-IR : Fourier Transform Infrared

TAG : Triglycéride

MS : Matière Sèche

GC-FID :

GC-MS : Gas Chromatography-Mass Spectrometry

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La demande mondiale en énergie ne cesse d'augmenter sous l'effet de la croissance démographique, du développement économique et de l'intensification des activités humaines. Cette demande repose encore largement sur l'utilisation des combustibles fossiles, dont la combustion contribue aux émissions de gaz à effet de serre et à diverses formes de pollution environnementale (Höök et Tang, 2013). Dans ce contexte, le développement de sources d'énergie renouvelables et de solutions alternatives aux ressources fossiles constitue un enjeu majeur pour la transition énergétique et la recherche d'un développement plus durable (Chu et Majumdar, 2012).

Parmi les alternatives étudiées, les biocarburants occupent une place importante en raison de leur potentiel à réduire la dépendance aux ressources fossiles. Cependant, les biocarburants produits à partir de cultures agricoles peuvent entrer en concurrence avec les productions alimentaires et mobiliser d'importantes superficies agricoles ainsi que des ressources en eau (Naik et *al.*, 2010). Ces limites ont favorisé l'émergence de nouvelles matières premières, notamment les microalgues, considérées comme des ressources biologiques particulièrement intéressantes pour la production de molécules et de produits à valeur ajoutée (Mata et *al.*, 2010).

Les microalgues constituent un ensemble diversifié de microorganismes photosynthétiques capables de produire, à partir de l'énergie lumineuse et du dioxyde de carbone, une biomasse riche en composés d'intérêt (Morais Junior et *al.*, 2020). Selon les espèces et les conditions de culture, cette biomasse peut présenter des teneurs importantes en protéines, lipides, glucides, pigments, vitamines et autres métabolites. Cette diversité biochimique leur confère un potentiel biotechnologique considérable dans plusieurs domaines, notamment l'alimentation, la nutraceutique, la cosmétique, l'aquaculture, le traitement des effluents et la production de bioénergies (Spolaore et *al.*, 2006).

Dans le domaine énergétique, l'intérêt porté aux microalgues repose notamment sur leur capacité à accumuler des lipides pouvant être transformés en biodiesel (Hu et *al.*, 2008). Contrairement aux matières premières végétales traditionnelles, leur production ne nécessite pas

nécessairement de terres agricoles fertiles et certaines espèces peuvent être cultivées dans différents systèmes et conditions environnementales (Chisti, 2007). Toutefois, la production de biodiesel à partir de microalgues reste influencée par plusieurs facteurs, notamment la croissance et la productivité de la biomasse, sa composition biochimique, la teneur et la nature des lipides ainsi que les conditions mises en œuvre lors de leur transformation en biodiesel (Griffiths et Harrison, 2009).

Parmi les espèces présentant un intérêt biotechnologique, *Arthrospira platensis* et Nannochloropsis *gaditana* se distinguent par leurs caractéristiques physiologiques et leur composition biochimique. *Arthrospira platensis*, communément appelée spiruline, est largement étudiée pour sa richesse en protéines et en différents composés d'intérêt, mais elle peut également constituer une source de lipides valorisables (Becker, 2007 ; Griffiths et *al.*, 2012). Nannochloropsis *gaditana*, quant à elle, est particulièrement étudiée pour son potentiel d'accumulation lipidique et son profil en acides gras, ce qui lui confère un intérêt particulier pour la production de biodiesel (Simionato et *al.*, 2013). L'étude comparative de ces deux espèces permet ainsi d'examiner leur potentiel respectif en tant que matières premières pour la valorisation énergétique de la biomasse microalgale.

La transformation des lipides microalgaux en biodiesel repose principalement sur la conversion des triglycérides et autres lipides appropriés en esters d'acides gras, généralement par une réaction de transestérification (Meher et *al.*, 2006). L'efficacité de cette transformation dépend de nombreux paramètres, tels que la nature et la quantité de lipides, le type de catalyseur, le rapport alcool/huile, la température, le temps de réaction et les caractéristiques de la biomasse (Ehimen et *al.*, 2010). Deux approches peuvent notamment être envisagées : la transestérification classique, qui nécessite une extraction préalable des lipides, et la transestérification in situ, permettant de réaliser l'extraction et la conversion des lipides au cours d'un même procédé (Velasquez-Orta et *al.*, 2012).

Dans ce contexte, ce travail s'inscrit dans une démarche de valorisation biotechnologique de la biomasse de *Arthrospira platensis* et de Nannochloropsis *gaditana* en vue de leur utilisation comme matières premières pour la production de biodiesel. Il vise à caractériser le potentiel de ces

deux microalgues, à étudier leurs caractéristiques biochimiques (teneur lipidique), ainsi qu'à évaluer leur aptitude à la production de biodiesel et la qualité du biocarburant obtenu. Une attention particulière est accordée à la caractérisation du biodiesel produit par analyse FT-IR.

Ainsi, la problématique générale de ce travail peut être formulée comme suit : dans quelle mesure *Arthrospira platensis* et Nannochloropsis *gaditana* peuvent-elles constituer des ressources microalgales appropriées pour la production de biodiesel, et quels paramètres influencent leur potentiel de valorisation énergétique ?

Pour répondre à cette problématique, le travail est structuré en quatre chapitres :

- La première partie est une étude bibliographique qui présente les généralités sur les microalgues, leur potentiel biotechnologique, les procédés de transestérification, les méthodes de caractérisation du biodiesel ainsi que les principaux paramètres permettant d'évaluer sa qualité et son potentiel énergétique.
- Le deuxième chapitre est relatif à la description du matériel et des méthodes expérimentales ayant permis la réalisation de cette étude.
- La troisième partie est consacrée à la présentation de nos résultats expérimentaux et leurs discussions.
- Enfin, nous terminons par une conclusion, résumant l'ensemble des résultats expérimentaux obtenus et les perspectives pour la poursuite de ce travail.

PARTIE I

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I — Les microalgues et leur valorisation biotechnologique

1. Généralités sur les microalgues

1.1. Définition et caractéristiques générales

Les microalgues sont des micro-organismes photosynthétiques microscopiques, unicellulaires ou organisés en colonies ou en filaments simples, qui regroupent à la fois des organismes procaryotes (les cyanobactéries) et des organismes eucaryotes (figure 01) (Mata et *al.*, 2010 ; Markou et *al.*, 2012). Comme les plantes supérieures, elles utilisent l'énergie lumineuse pour fixer le dioxyde de carbone et le transformer en biomasse en libérant de l'oxygène, mais elles le font plus efficacement que les plantes terrestres (Chisti, 2007). Leur capacité à se développer en eau douce, en eau saumâtre ou en eau de mer, et même dans des effluents agro-industriels, sans occuper de terres arables, constitue l'un de leurs principaux atouts (Markou et *al.*, 2012).

Sur le plan métabolique, la plupart des espèces sont phototrophes, mais certaines peuvent aussi croître en mode hétérotrophe ou mixotrophe, ce qui ouvre des possibilités de culture variées (Mata et *al.*, 2010). Leur croissance est particulièrement rapide : les microalgues doublent couramment leur biomasse en moins de 24 heures, et des temps de doublement de l'ordre de 3,5 heures ont été rapportés en phase exponentielle (Chisti, 2007). Ces cultures sont réalisées dans des bassins ouverts de type « raceway » (figure 02 a), utilisés depuis les années 1950, ou dans des photobioréacteurs fermés (figure 02 b), qui limitent les contaminations mais sont plus coûteux (Chisti, 2007).



Figure 01. Différentes formes des microalgues



Figure 02. Systemes d'elvage des microalgues, a) bassins raceway, b) photobioréacteurs

1.2. Diversité et classification

La diversité des microalgues est considérable : le nombre d'espèces est estimé à plusieurs dizaines de milliers (environ 50 000), dont seule une fraction (de l'ordre de 30 000) a été étudiée et caractérisée (Mata et *al.*, 2010). Parmi les groupes les plus abondants figurent les diatomées (Bacillariophycées), les algues vertes (Chlorophycées), les algues dorées (Chrysophycées) et les cyanobactéries (Cyanophycées) (Hu et *al.*, 2008). Le groupe des cyanobactéries, bien que procaryote, est traditionnellement inclus dans les microalgues en biotechnologie en raison de son métabolisme photosynthétique et de ses usages (Mata et *al.*, 2010). D'autres lignées, comme les Eustigmatophycées auxquelles appartient le genre *Nannochloropsis*, sont également largement étudiées pour leur richesse en lipides (Fawley et *al.*, 2015 ; Rodolfi et *al.*, 2009).

La figure 3 situe, de manière simplifiée, les deux organismes retenus dans ce travail (*Arthrospira platensis* et *Nannochloropsis gaditana*) parmi les principaux groupes de microalgues.

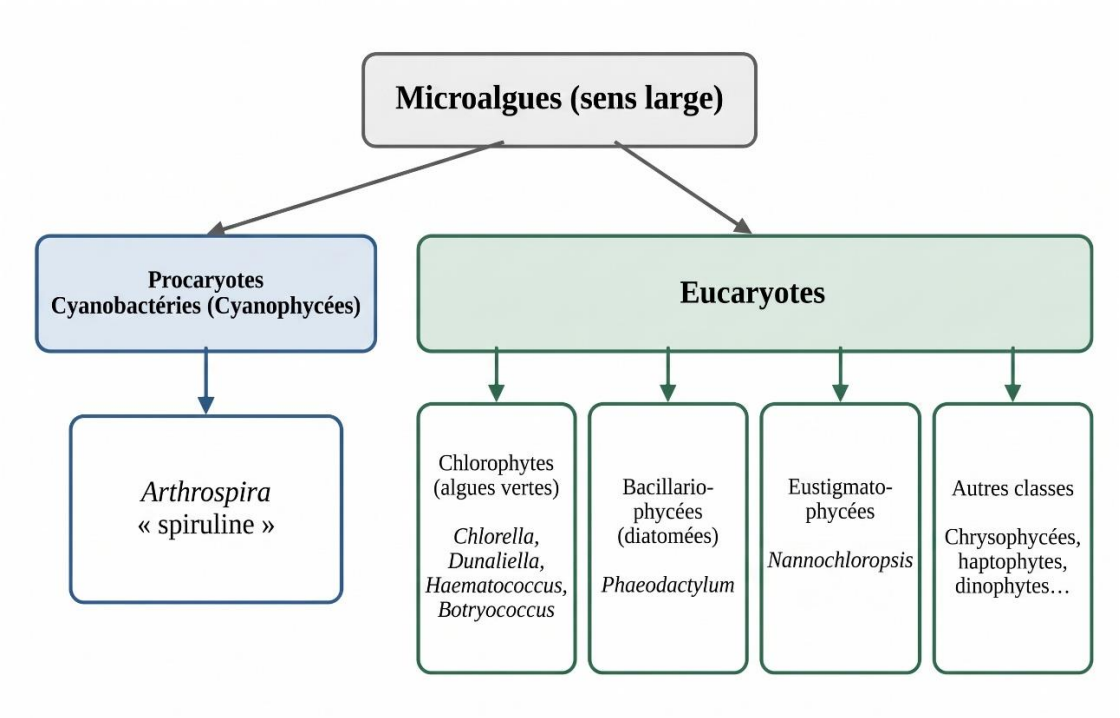


Figure 03. Position des organismes étudiés (*Arthrospira platensis* et *Nannochloropsis gaditana*) parmi les principaux groupes de microalgues.

2. Composition biochimique des microalgues

La composition biochimique des microalgues varie fortement d'une espèce à l'autre et, pour une même souche, selon les conditions de culture (lumière, température, nutriments, salinité, phase de croissance) (Williams et Laurens, 2010 ; Becker, 2007). Les trois grandes classes de macromolécules — protéines, lipides et glucides — représentent l'essentiel de la matière sèche, auxquelles s'ajoutent des pigments, des vitamines, des minéraux et divers métabolites secondaires. Le tableau 1 illustre l'amplitude de cette variabilité pour quelques espèces.

Tableau 01. Composition globale (% de la matière sèche) de quelques microalgues et cyanobactéries (Becker, 2007)

Espèce	Protéines %	Glucides %	Lipides %
Scenedesmus obliquus	50–56	10–17	12–14
Chlamydomonas reinhardtii	48	17	21
Chlorella vulgaris	51–58	12–17	14–22
Dunaliella salina	57	32	6
Euglena gracilis	39–61	14–18	14–20
Porphyridium cruentum	28–39	40–57	9–14
Arthrospira platensis	46–63	8–14	4–9
Spirulina maxima	60–71	13–16	6–7
Anabaena cylindrica	43–56	25–30	4–7

2.1. Protéines

Les protéines constituent la fraction dominante de la biomasse chez de nombreuses espèces, avec des teneurs pouvant dépasser 50 à 60 % de la matière sèche chez *Chlorella*, *Scenedesmus* ou les spirulines (tableau 1) (Becker, 2007). Elles assurent des fonctions structurales et enzymatiques, notamment au sein de l'appareil photosynthétique. Leur profil en acides aminés essentiels est généralement comparable à celui de protéines conventionnelles comme celles de l'œuf ou du soja, ce qui explique l'intérêt porté aux microalgues comme source de protéines alimentaires (Becker, 2007).

La teneur en protéines dépend étroitement de la disponibilité en azote : une carence azotée réduit la synthèse protéique et réoriente le carbone fixé vers le stockage de lipides ou de glucides (Hu et *al.*, 2008 ; Markou et *al.*, 2012).

2.2. Lipides

Les lipides microalgaux se répartissent en deux grandes catégories. Les lipides polaires (phospholipides et glycolipides tels que le MGDG, le DGDG et le SQDG) sont les constituants des membranes cellulaires, notamment des thylakoïdes, tandis que les lipides neutres, essentiellement les triacylglycérols (TAG), constituent la forme de stockage de l'énergie et du carbone (Hu et *al.*, 2008). Ce sont les TAG qui représentent la matière première privilégiée pour la production de biodiesel. Leur synthèse est fortement stimulée par des conditions de stress, en

particulier la carence en azote, mais aussi la forte irradiance, la limitation en phosphore ou en silicium, la salinité ou la température (Hu et *al.*, 2008 ; Sukenik et *al.*, 1989).

Les teneurs en huile rapportées varient de quelques pourcents à plus de 70 % de la matière sèche selon les espèces ; des niveaux de 20 à 50 % sont courants (Chisti, 2007) (figure 4). Les genres *Botryococcus*, *Schizochytrium* et *Nannochloropsis* figurent parmi les plus riches. L'accumulation de lipides se fait toutefois au détriment de la croissance : chez *Nannochloropsis* sp., la carence en azote fait passer la teneur en lipides d'environ 32 % à plus de 60 % de la matière sèche, alors que la productivité en biomasse diminue (Rodolfi et *al.*, 2009).

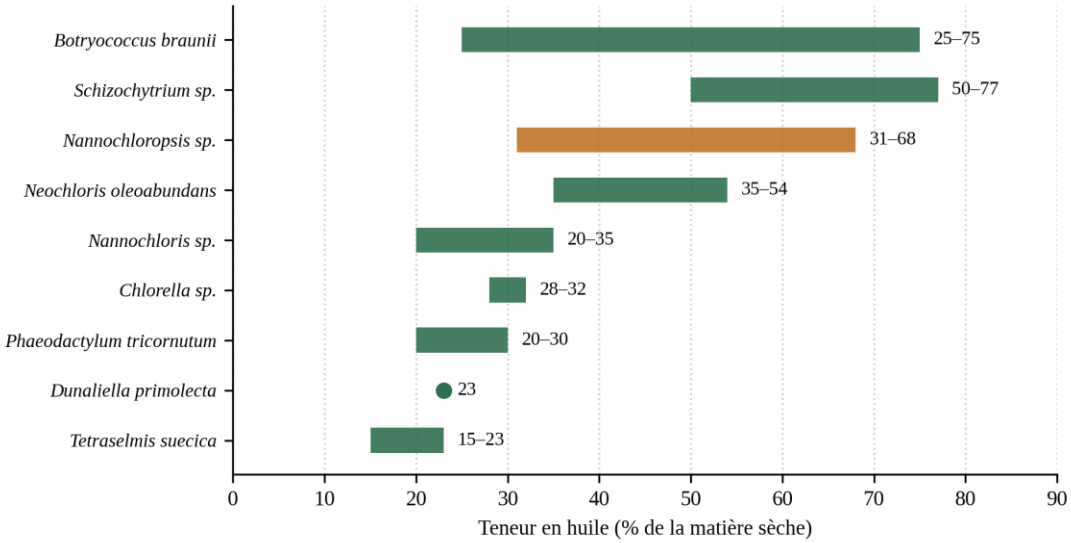


Figure 04. Teneur en huile (% de la matière sèche) de quelques microalgues. Les barres représentent les intervalles rapportés ; le point correspond à une valeur unique.

2.3. Glucides

Les glucides des microalgues remplissent une double fonction, de réserve et de structure. Ils sont stockés sous forme d'amidon chez les algues vertes et de glycogène chez les cyanobactéries, tandis que la cellulose et d'autres polysaccharides entrent dans la constitution des parois cellulaires (Markou et *al.*, 2012 ; Chen et *al.*, 2013). Les teneurs sont généralement modérées, mais certaines espèces en accumulent de grandes quantités, comme *Dunaliella salina* ou *Porphyridium cruentum* (tableau 1). Comme pour les lipides, la carence en nutriments favorise l'accumulation de glucides (Markou et *al.*, 2012). Ces glucides sont fermentescibles et peuvent servir de substrat à la production de bioéthanol, de biogaz ou de biohydrogène (Chen et *al.*, 2013).

2.4. Pigments et autres composés d'intérêt

Les microalgues synthétisent une grande variété de pigments. La chlorophylle *a* est universelle, la chlorophylle *b* caractérise les algues vertes, tandis que les cyanobactéries possèdent des phycobiliprotéines (phycocyanine, allophycocyanine) et que de nombreuses lignées accumulent des caroténoïdes (Spolaore et *al.*, 2006 ; Borowitzka, 2013). Plusieurs de ces molécules ont une valeur commerciale élevée : le β-carotène de *Dunaliella salina*, l'astaxanthine de *Haematococcus pluvialis* et la phycocyanine de la spiruline sont exploités industriellement comme colorants, antioxydants ou compléments alimentaires (Spolaore et *al.*, 2006 ; Borowitzka, 2013). Les microalgues renferment en outre des vitamines, des minéraux, des polyphénols et des acides gras polyinsaturés à intérêt nutritionnel (Zanella et Vianello, 2020 ; Borowitzka, 2013).

3. Potentiel biotechnologique des microalgues

3.1. Principales applications

La polyvalence de la biomasse microalgale ouvre des débouchés dans de nombreux secteurs (figure 5, tableau 2). Les applications les plus anciennes et les mieux établies concernent l'alimentation humaine et animale ainsi que l'aquaculture, où des genres comme *Chlorella*, *Arthrospira* ou *Nannochloropsis* sont cultivés à l'échelle commerciale (Spolaore et *al.*, 2006 ; Habib et *al.*, 2008 ; Zanella et Vianello, 2020). Viennent ensuite les produits à haute valeur ajoutée : pigments, acides gras polyinsaturés (EPA, DHA) et antioxydants destinés aux marchés de la nutraceutique, de la cosmétique et de la santé (Borowitzka, 2013 ; Martins et *al.*, 2020). Des usages émergents sont également décrits comme biostimulants agricoles et matière première pour des bioplastiques (Martins et *al.*, 2020). Enfin, les microalgues contribuent à la séquestration du CO_2 et à l'épuration des eaux usées, en valorisant les nutriments qu'elles contiennent (Mata et *al.*, 2010 ; Markou et *al.*, 2012).

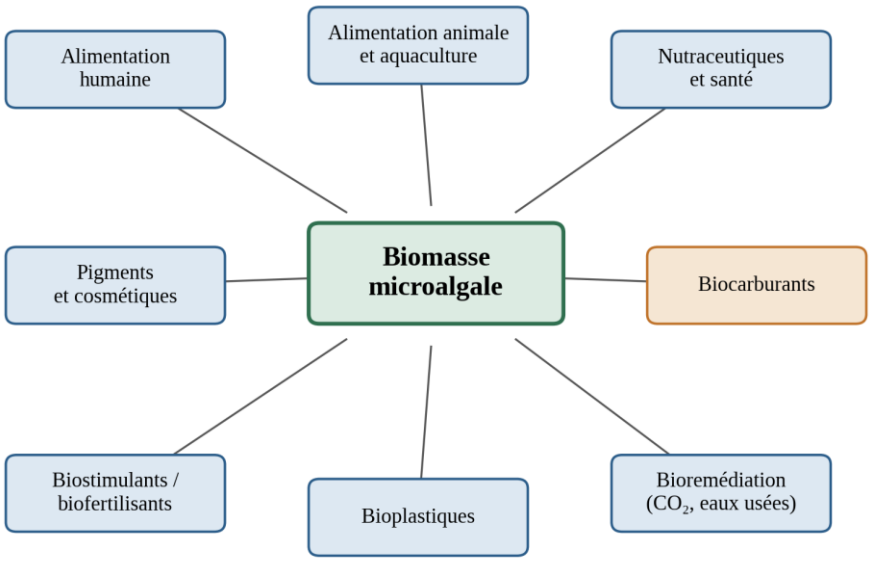


Figure 05. Principaux domaines d'application de la biomasse microalgale.

Tableau 02. Principales applications des microalgues et exemples de produits.

Secteur	Exemples
Alimentation humaine	Compléments et ingrédients riches en protéines (*Chlorella*, spiruline)
Alimentation animale et aquaculture	Aliments pour poissons, crustacés, volailles ; proies vivantes (*Nannochloropsis*)
Nutraceutiques et santé	EPA, DHA, antioxydants, phycocyanine
Pigments et cosmétiques	β-carotène, astaxanthine, phycocyanine
Agriculture et matériaux	Biostimulants, biofertilisants, bioplastiques
Environnement	Biofixation du CO_2, traitement des eaux usées
Énergie	Biodiesel, bioéthanol, biogaz, biohydrogène

3.2. Valorisation énergétique

Sur le plan énergétique, la biomasse microalgale peut être convertie par plusieurs filières selon la fraction exploitée : les lipides conduisent au biodiesel, les glucides au bioéthanol ou au biobutanol, la biomasse entière à du méthane par digestion anaérobie ou à de l'hydrogène par voie photobiologique, et des procédés thermochimiques permettent d'obtenir des huiles de pyrolyse ou de liquéfaction (Chisti, 2007 ; Markou et *al.*, 2012 ; Williams et Laurens, 2010). La viabilité économique de ces filières passe toutefois par une valorisation intégrée de l'ensemble de la

biomasse selon le concept de bioraffinerie : après extraction de l'huile, le résidu peut être digéré pour produire du biogaz ou utilisé comme aliment, et les co-produits à haute valeur ajoutée contribuent à équilibrer le bilan économique (Chisti, 2007 ; Williams et Laurens, 2010 ; Wijffels et Barbosa, 2010).

4. Les microalgues comme source de biocarburants

4.1. Principaux biocarburants issus des microalgues

Les microalgues sont une source de plusieurs familles de biocarburants (figure 6). Le biodiesel, obtenu par transestérification des lipides, est de loin la filière la plus étudiée ; le bioéthanol et le biobutanol sont produits par fermentation des glucides après hydrolyse ; le méthane est généré par digestion anaérobie de la biomasse entière et le biohydrogène par voie photobiologique ou fermentaire (Chisti, 2007 ; Markou et *al.*, 2012 ; Chen et *al.*, 2013). À ces voies biologiques s'ajoutent les conversions thermochimiques (liquéfaction hydrothermale, pyrolyse, gazéification) qui valorisent la biomasse humide ou sèche sans distinction de composition (Markou et *al.*, 2012 ; Williams et Laurens, 2010).

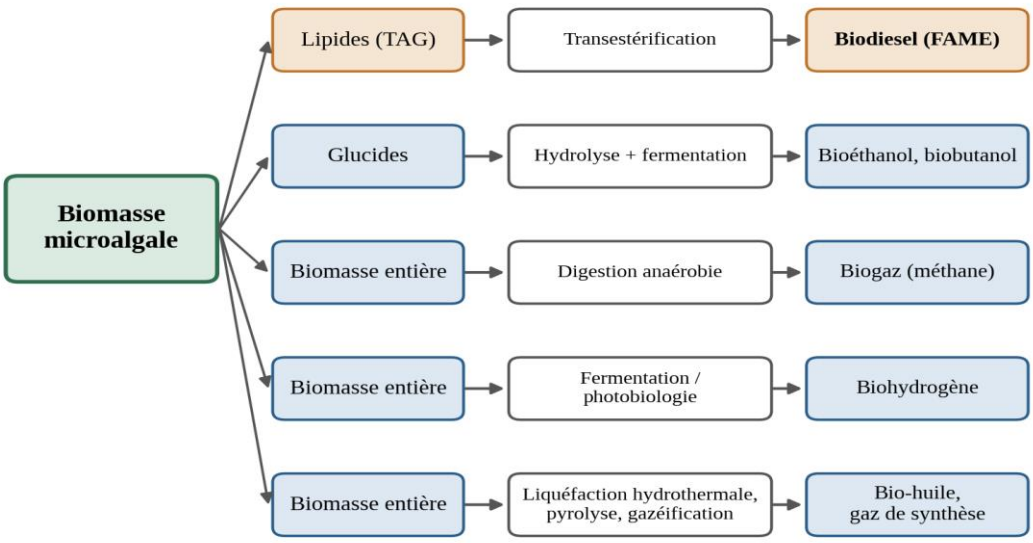


Figure 06. Principales voies de conversion de la biomasse microalgale en biocarburants.

4.2. Intérêt de la biomasse microalgale pour la production de biodiesel

L'intérêt de la biomasse microalgale pour la production de biodiesel tient d'abord à sa productivité. Selon Chisti (2007), le biodiesel issu de cultures oléagineuses, d'huiles usagées ou de graisses animales ne peut satisfaire qu'une faible fraction de la demande en carburants de transport, alors que les microalgues apparaissent comme la seule source de biodiesel renouvelable capable de le faire. Le rendement en huile par hectare et par an d'une culture de microalgues contenant 70 % d'huile (136 900 L) est de l'ordre de 23 fois celui du palmier à huile (5 950 L), et de plus de 300 fois celui du soja (446 L) (figure 7). Pour produire du biodiesel en quantité équivalente, les microalgues n'exigeraient ainsi que 1 à 3 % de la surface cultivée des États-Unis, contre 24 % pour le palmier à huile (Chisti, 2007). Il convient toutefois de rappeler que ces valeurs sont des estimations théoriques fondées sur des productivités élevées (Chisti, 2007 ; Wijffels et Barbosa, 2010).

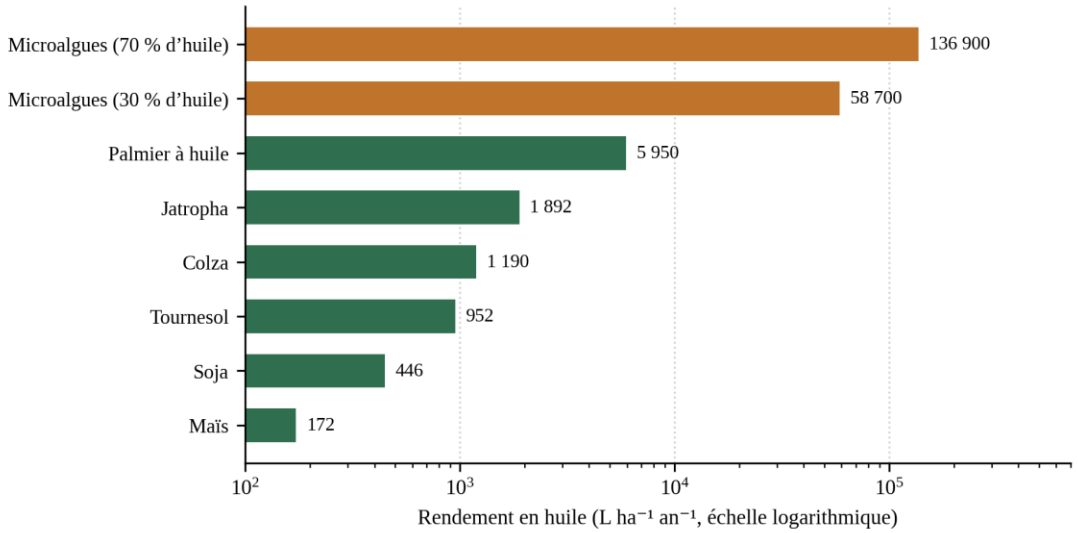


Figure 07. Rendement en huile de différentes cultures et des microalgues (L ha^{-1} an^{-1}, échelle logarithmique).

À cet avantage s'ajoutent d'autres atouts : les microalgues ne concurrencent pas les cultures alimentaires pour l'usage des terres, peuvent être cultivées en eau saline ou usée, fixent du CO_2 et se prêtent à une orientation de leur métabolisme vers l'accumulation de lipides par le contrôle des conditions de culture (Chisti, 2007 ; Hu et *al.*, 2008 ; Rodolfi et *al.*, 2009). Sur le plan qualitatif,

l'huile microalgale est constituée majoritairement de TAG dont les chaînes à 16 et 18 carbones donnent des esters méthyliques proches de ceux des huiles végétales (Hu et *al.*, 2008). La présence d'acides gras fortement polyinsaturés demande cependant d'être maîtrisée pour respecter les exigences de stabilité à l'oxydation des normes de qualité (Chisti, 2007 ; Hoekman et *al.*, 2012).

Chapitre II — *Arthrospira platensis* et Nannochloropsis *gaditana*

1. *Arthrospira platensis*

1.1. Caractéristiques générales

Arthrospira platensis est une cyanobactérie filamenteuse multicellulaire dont les trichomes non ramifiés sont enroulés en hélice, ce qui lui donne son aspect caractéristique en spirale. Les filaments atteignent quelques centaines de micromètres de longueur et sont visibles au microscope optique (Habib et *al.*, 2008). Comme toutes les cyanobactéries, elle est procaryote, possède une paroi de type Gram-négatif et réalise une photosynthèse oxygénique ; elle contient de la chlorophylle *a* et des phycobiliprotéines, notamment la phycocyanine qui lui confère sa teinte bleu-vert (Spolaore et *al.*, 2006 ; Habib et *al.*, 2008).

L'espèce est naturellement présente dans des lacs alcalins et salins des régions tropicales et subtropicales, comme le lac Tchad en Afrique ou l'ancien lac Texcoco au Mexique, où elle est consommée depuis des siècles (Habib et *al.*, 2008). Elle se développe de manière optimale à des pH alcalins (typiquement 8,5 à 11) et à des températures de 30 à 37 °C, ce qui limite les contaminations par d'autres micro-organismes dans les cultures (Habib et *al.*, 2008). Elle est cultivée à grande échelle en bassins ouverts sur des milieux minéraux de type Zarrouk (Zarrouk, 1966), principalement pour l'alimentation humaine et animale et pour l'extraction de phycocyanine (Spolaore et *al.*, 2006 ; Habib et *al.*, 2008).

1.2. Composition biochimique et profil lipidique

La composition biochimique de *Arthrospira platensis* se distingue par une très forte teneur en protéines, de l'ordre de 46 à 63 % de la matière sèche, pour 8 à 14 % de glucides et 4 à 9 % de lipides (Becker, 2007). Une souche égyptienne d'*Arthrospira platensis* (NIOF17/003) a donné 52 % de protéines, 14 % de glucides et 8,5 % de lipides (Zaki et *al.*, 2021) (figure 8). La fraction

lipidique est donc faible et principalement membranaire, à la différence de nombreuses microalgues eucaryotes qui stockent des TAG en conditions de stress (Hu et *al.*, 2008).

Le profil en acides gras de cette souche est dominé par l'acide palmitique (C16:0, 33,6 %) et l'acide linoléique (C18:2, 27,9 %), avec 42,3 % d'acides gras saturés, 26,7 % de monoinsaturés et 31,0 % de polyinsaturés (Zaki et *al.*, 2021). Les spirulines sont par ailleurs connues pour leur teneur en acide γ-linolénique (Habib et *al.*, 2008). Les propriétés du biodiesel calculées à partir de ce profil (indice de cétane de 52,9, indice d'iode de 85,5 g I_2/100 g, point de colmatage du filtre à froid de −2,2 °C) sont conformes aux normes ASTM et EN, à l'exception de la viscosité cinématique, supérieure à la valeur recommandée (Zaki et *al.*, 2021). D'autres travaux ont évalué les propriétés carburant du biodiesel de *Spirulina platensis* et de ses mélanges avec du gazole (Mostafa et El-Gendy, 2017) ou ont appliqué la transestérification directe à cette cyanobactérie (Shirazi et *al.*, 2017 ; Wahlen et *al.*, 2011).

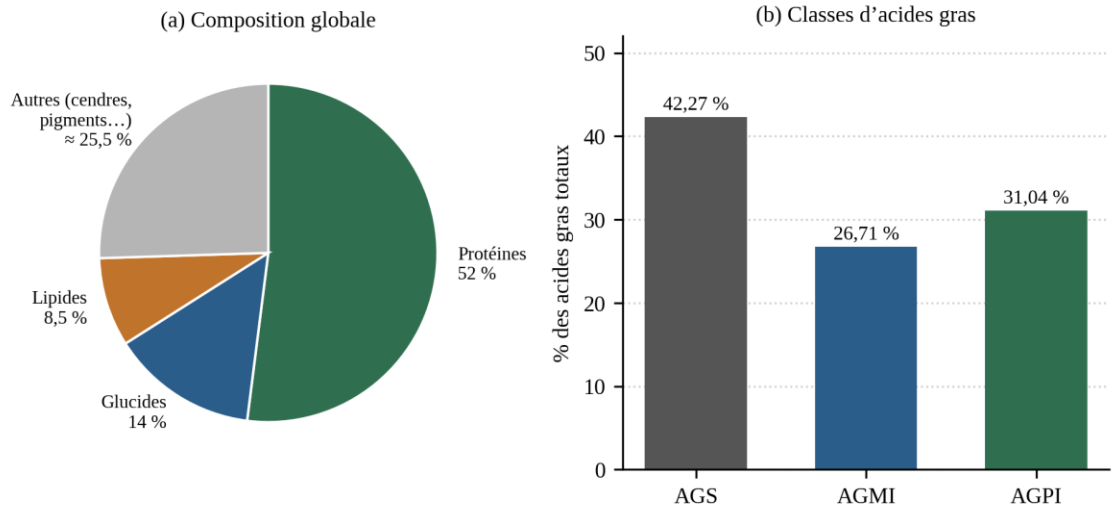


Figure 08. Composition biochimique globale (a) et classes d'acides gras (b) d'une souche d'*Arthrospira platensis* (NIOF17/003).

2. Nannochloropsis *gaditana*

2.1. Caractéristiques générales

Nannochloropsis gaditana est une microalgue marine unicellulaire de très petite taille (quelques micromètres), de forme sphérique à ovoïde, dépourvue de flagelle. Elle appartient à la classe des Eustigmatophycées, dont la chlorophylle *a* est la seule chlorophylle et dont les pigments

accessoires sont des caroténoïdes (Fawley et *al.*, 2015 ; Zanella et Vianello, 2020). Sa paroi cellulaire est épaisse et résistante, constituée de cellulose et d'une couche externe de nature algaenane, ce qui rend l'extraction des composés intracellulaires plus difficile (Scholz et *al.*, 2014).

Cette espèce est tolérante à des variations de salinité, de lumière et de température, et est largement utilisée en aquaculture comme source de lipides et d'acides gras polyinsaturés (Zanella et Vianello, 2020 ; Ashour et *al.*, 2019). Son intérêt pour la bioénergie est apparu avec la publication de la séquence de son génome nucléaire, accompagnée d'une méthode de transformation génétique, qui ont mis en évidence la richesse de ses voies de biosynthèse des lipides et ont fait de cette espèce un modèle d'algue oléagineuse (Radakovits et *al.*, 2012).

2.2. Composition biochimique et profil lipidique

En conditions de croissance favorable, *Nannochloropsis* est riche en protéines (50 à 55 % de la matière sèche) et contient des acides gras principalement incorporés dans les lipides polaires membranaires, avec une teneur en EPA de 4,2 à 4,9 % de la matière sèche (Hulatt et *al.*, 2017). Sous carence en azote, la cellule accumule massivement des TAG dans des corps lipidiques (Janssen et *al.*, 2019) : les acides gras incorporés sont surtout l'acide palmitique (C16:0) et l'acide palmitoléique (C16:1 n-7), et les acides gras totaux peuvent atteindre 28,3 % de la matière sèche dans les photobioréacteurs étudiés par Hulatt et *al.* (2017). Une partie de l'EPA, jusqu'à 37 %, est alors transférée des lipides polaires vers les lipides neutres (Hulatt et *al.*, 2017 ; Janssen et *al.*, 2019). La lumière modifie aussi le profil : une forte irradiance augmente la proportion de C16:0 et de C16:1 et diminue celle d'EPA et d'acide arachidonique (Sukenik et *al.*, 1989).

Au niveau du genre, des teneurs en lipides de 31 à 68 % de la matière sèche sont rapportées (Chisti, 2007). Dans l'étude de sélection de souches de Rodolfi et *al.* (2009), *Nannochloropsis* sp. passe d'environ 32 % de lipides en conditions suffisantes en azote à plus de 60 % en carence azotée, la productivité lipidique augmentant de 117 à 204 mg L^{-1} j^{-1} malgré une légère baisse de la productivité en biomasse (figure 9). Ces données montrent qu'une phase de carence permet de combiner richesse en lipides et productivité satisfaisante, ce qui rend ce genre attractif pour le biodiesel (Rodolfi et *al.*, 2009).

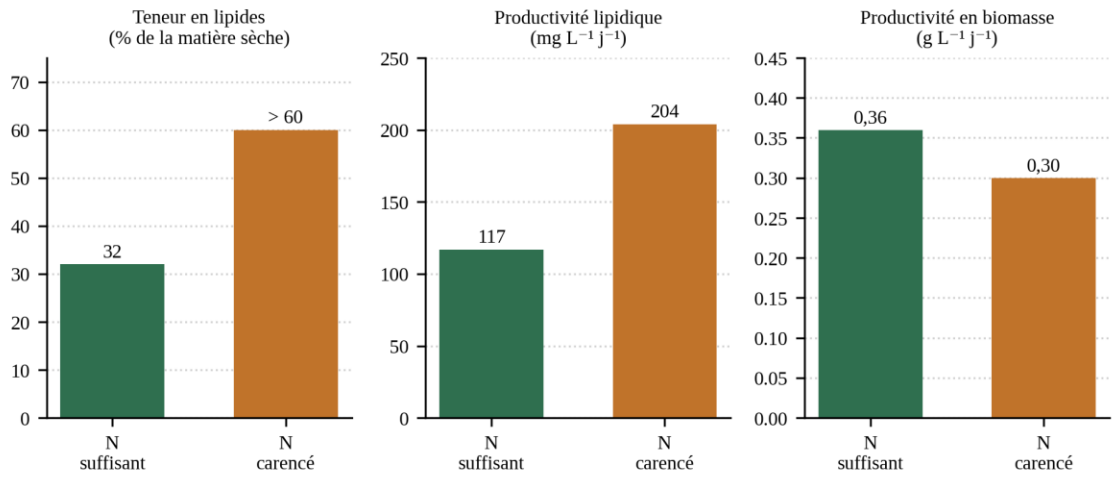


Figure 09. Effet de la carence en azote sur la teneur en lipides et sur les productivités chez *Nannochloropsis sp.*

Chapitre III — Biodiesel à partir de biomasse microalgale

1. Généralités sur le biodiesel

1.1. Définition et caractéristiques

Le biodiesel est un carburant constitué d'esters mono-alkyliques d'acides gras à longue chaîne, issus d'huiles végétales ou de graisses animales ; lorsque l'alcool est le méthanol, on parle d'esters méthyliques d'acides gras (FAME, fatty acid methyl esters) (Knothe et Razon, 2017 ; Ma et Hanna, 1999). Il est utilisé pur (B100) ou en mélange avec le gazole fossile, le chiffre indiquant la proportion de biodiesel (par exemple B20) (Thermo Fisher Scientific, s. d.). Sa production industrielle repose sur la réaction de transestérification.

Par rapport au gazole d'origine pétrolière, le biodiesel est renouvelable, biodégradable, pratiquement dépourvu de soufre et possède un point d'éclair plus élevé ; sa teneur en oxygène améliore la combustion et réduit les émissions de monoxyde de carbone, d'hydrocarbures imbrûlés et de particules (Knothe et Razon, 2017 ; Hoekman et *al.*, 2012). Ses principaux inconvénients sont une viscosité plus élevée, une moins bonne tenue à froid, une sensibilité à l'oxydation liée aux liaisons insaturées et un pouvoir calorifique légèrement inférieur (Knothe et Razon, 2017 ; Hoekman et *al.*, 2012). Ces caractéristiques dépendent directement de la composition en esters, donc de la matière première (Knothe, 2005).

1.2. Biodiesel et biocarburants de troisième génération

Les biocarburants sont classés en générations selon leur matière première (tableau 3). Les biocarburants de première génération proviennent de cultures alimentaires (huiles de soja, de colza ou de palme pour le biodiesel ; sucres et amidon pour le bioéthanol) ; ceux de deuxième génération sont issus de ressources non alimentaires telles que la biomasse lignocellulosique ou les huiles usagées ; ceux de troisième génération sont produits à partir de biomasse algale (Nigam et Singh, 2011). Cette classification n'est pas uniforme : certains auteurs rangent les microalgues parmi les sources de deuxième génération (Schenk et *al.*, 2008 ; Mata et *al.*, 2010). Quelle que soit la terminologie, l'intérêt des microalgues réside dans l'absence de concurrence avec les cultures vivrières et dans leur productivité élevée en huile (Chisti, 2007).

Tableau 03. Classification des biocarburants selon la matière première.

Génération	Matières premières	Exemples de biocarburants	Limites principales
1re	Cultures alimentaires (soja, colza, palme, canne, maïs)	Biodiesel, bioéthanol	Concurrence avec l'alimentation, usage des terres arables
2e	Biomasse lignocellulosique, huiles usagées, résidus	Bioéthanol cellulosique, biodiesel d'huiles usagées	Prétraitements coûteux, disponibilité limitée
3e	Microalgues et autres biomasses algales	Biodiesel, bioéthanol, biogaz, biohydrogène	Coûts de culture et de récolte, maturité technologique

2. Lipides microalgaux et production de biodiesel

2.1 Lipides d'intérêt

Les lipides convertibles en biodiesel sont avant tout les triacylglycérols, mais aussi les acides gras libres (AGL) et, selon le procédé, les lipides polaires (phospholipides et glycolipides) dont les chaînes acyles peuvent être transestérifiées lorsque la totalité des lipides est ciblée (Wahlen et *al.*, 2011). Les fractions non saponifiables (pigments, stérols, hydrocarbures) ne sont pas converties et peuvent être co-extraites, ce qui diminue la pureté du produit (Hu et *al.*, 2008 ; Wahlen et *al.*, 2011). Une teneur élevée en AGL ou en eau est problématique avec un catalyseur alcalin, car elle provoque une saponification qui consomme le catalyseur et gêne la séparation du glycérol (Ma et Hanna, 1999 ; Meher et *al.*, 2006).

2.2. Rôle de la composition en acides gras

La composition en acides gras des lipides détermine les propriétés du biodiesel obtenu (Knothe, 2005 ; Ramos et *al.*, 2009 ; Hoekman et *al.*, 2012). L'indice de cétane, la chaleur de combustion et la stabilité à l'oxydation évoluent différemment de la viscosité et du comportement à froid selon la longueur de chaîne et le nombre de doubles liaisons (tableau 4). Les esters saturés à longue chaîne sont favorables à l'indice de cétane mais cristallisent plus facilement à basse température ; les esters polyinsaturés restent liquides à froid mais s'oxydent rapidement et dégradent le cétane (Knothe, 2005). Un compromis satisfaisant est généralement obtenu avec une forte proportion d'esters monoinsaturés (Ramos et *al.*, 2009). Des relations empiriques permettent de prévoir plusieurs propriétés (cétane, viscosité, densité, pouvoir calorifique) à partir de la composition en FAME (Ramírez-Verduzco et *al.*, 2012).

Tableau 04. Influence de la structure des esters méthyliques sur les propriétés du biodiesel (tendances).

Évolution de la structure	Indice de cétane	Tenue à froid	Stabilité à l'oxydation	Viscosité
↑ longueur de chaîne	↑	↓ (point de fusion plus élevé)	—	↑
↑ nombre de doubles liaisons	↓	↑	↓↓	↓
Chaînes saturées	↑	↓	↑	↑

↑ : augmente ; ↓ : diminue ; — : effet faible ou non déterminant.

Pour les microalgues, ce constat est essentiel car le profil en acides gras varie selon l'espèce et les conditions de culture (Islam et *al.*, 2013). Le cas d'*Arthrospira platensis*, dont le biodiesel respecte la plupart des spécifications mais présente une viscosité supérieure à la limite, illustre cet équilibre (Zaki et *al.*, 2021).

3. Processus de production du biodiesel

3.1 Principe de la transestérification

La transestérification (ou alcoolyse) est la réaction par laquelle un triacylglycérol réagit avec trois molécules d'alcool, le plus souvent du méthanol, pour donner trois molécules d'esters d'acides gras et une molécule de glycérol (figure 10) (Ma et Hanna, 1999 ; Meher et *al.*, 2006).

Elle se déroule en trois étapes successives et réversibles, via les diacylglycérols puis les monoacylglycérols ; l'alcool est employé en excès pour déplacer l'équilibre vers la formation des esters (Ma et Hanna, 1999). La réaction est catalysée par une base (soude, potasse, méthylate de sodium), un acide ou une enzyme (lipase) ; la catalyse basique est la plus rapide et la plus utilisée industriellement, mais elle exige des matières premières peu acides et anhydres (Ma et Hanna, 1999 ; Meher et *al.*, 2006). Dans les conditions décrites par Chisti (2007), la réaction se déroule à environ 60 °C sous pression atmosphérique, avec environ 1 % de catalyseur par rapport à la masse d'huile, et est achevée en 90 minutes environ avec un rendement en esters méthyliques supérieur à 98 %.

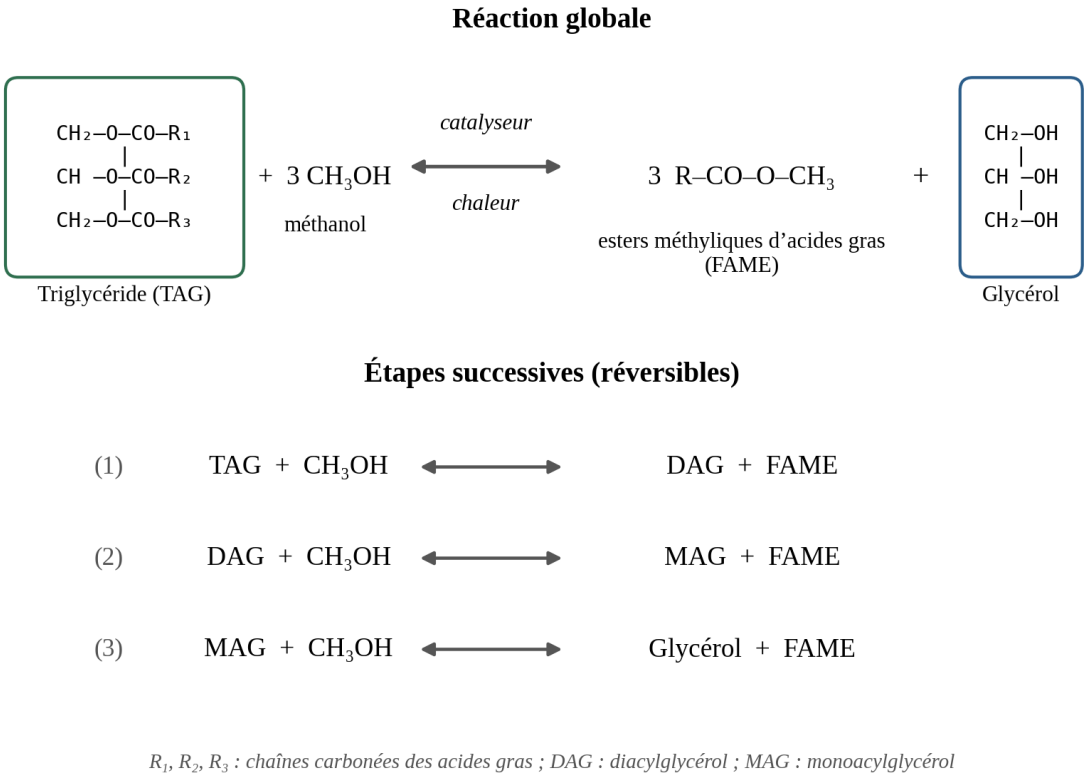


Figure 10. Réaction de transestérification d'un triacylglycérol avec le méthanol : réaction globale et étapes successives.

3.2. Principaux paramètres influençant la transestérification

Le déroulement et le rendement de la transestérification dépendent de plusieurs paramètres, résumés dans le tableau 5 : le rapport molaire alcool/huile, le type et la concentration du catalyseur,

la température, la durée, la teneur en AGL et en eau, l'agitation et la nature de l'alcool (Ma et Hanna, 1999 ; Meher et *al.*, 2006). Pour les procédés in situ, s'ajoutent le rapport solvant/biomasse, la présence éventuelle d'un co-solvant, la teneur en humidité de la biomasse et sa granulométrie ou la rupture de ses parois (Ehimen et *al.*, 2010 ; Wahlen et *al.*, 2011).

Tableau 05. Principaux paramètres influençant la transestérification.

Paramètre	Effet
Rapport molaire alcool/huile	Stœchiométrie de 3:1 ; un excès d'alcool déplace l'équilibre vers les esters, mais complique la séparation du glycérol
Catalyseur (nature, concentration)	Base : réaction rapide mais sensible aux AGL et à l'eau ; acide : plus lent, tolère les AGL ; lipase : conditions douces, coût élevé ; environ 1 % de la masse d'huile en catalyse basique
Température	Proche du point d'ébullition du méthanol (≈ 60–65 °C) ; accélère la réaction
Durée	Environ 90 min en transestérification classique ; plus longue en in situ
AGL et eau	Saponification et hydrolyse : baisse du rendement et formation d'émulsions
Agitation	Améliore le contact entre phases (huile/alcool, biomasse/alcool)
Spécifique à l'in situ : solvant, co-solvant, humidité, état de la paroi	Conditionnent l'accessibilité des lipides et leur extraction simultanée

3.3. Transestérification classique et transestérification in situ

3.3.1. Principe de la transestérification classique

Dans la voie classique, la transestérification est précédée d'une étape distincte d'extraction des lipides de la biomasse (séchée et souvent broyée) par des solvants organiques. Les méthodes de référence sont l'extraction au Soxhlet (Soxhlet, 1879) et les méthodes à mélange chloroforme–méthanol de Folch et *al.* (1957) et de Bligh et Dyer (1959). L'huile obtenue, après élimination du solvant, est ensuite transestérifiée avec l'alcool et le catalyseur, puis le mélange réactionnel est

décanté pour séparer le glycérol, et les esters sont lavés et séchés (Ma et Hanna, 1999 ; Meher et *al.*, 2006). Cette approche est bien maîtrisée, mais elle multiplie les opérations, consomme des quantités importantes de solvants, et entraîne des pertes de lipides à chaque étape, en particulier pour les microalgues dont la paroi est épaisse (Griffiths et *al.*, 2010 ; Wahlen et *al.*, 2011).

3.3.2. Principe de la transestérification in situ

La transestérification in situ, aussi appelée transestérification directe, consiste à mettre la biomasse directement en contact avec l'alcool et le catalyseur, de sorte que l'extraction des lipides et leur conversion en esters s'effectuent simultanément dans un seul réacteur (Johnson et Wen, 2009 ; Wahlen et *al.*, 2011). L'alcool joue à la fois le rôle de solvant d'extraction et de réactif. Ce principe a été appliqué à *Schizochytrium limacinum* (Johnson et Wen, 2009), à *Chlorella vulgaris* en catalyse alcaline (Velasquez-Orta et *al.*, 2012), à un mélange de microalgues, de cyanobactéries et de cultures mixtes (Wahlen et *al.*, 2011), à la spiruline en conditions supercritiques proches (Shirazi et *al.*, 2017) et à la biomasse humide de *Nannochloropsis oceanica* (Im et *al.*, 2014). Les variables clés — température, volume d'alcool, quantité de catalyseur, humidité et agitation — ont été étudiées en détail par Ehimen et *al.* (2010), qui montrent que l'humidité excessive inhibe la réaction et que la température, la quantité d'alcool et l'agitation la favorisent. Griffiths et *al.* (2010) ont de plus montré que la transestérification directe était la méthode à privilégier pour doser les acides gras des microalgues.

3.3.3. Principales différences entre les deux approches

La différence essentielle tient à la suppression de l'étape d'extraction préalable dans la voie in situ (figure 11, tableau 6) : le nombre d'opérations, le temps de traitement et la consommation de solvants sont réduits, et les pertes de lipides sont limitées, ce qui peut être déterminant pour des biomasses pauvres en lipides comme la spiruline (Wahlen et *al.*, 2011 ; Griffiths et *al.*, 2010). En contrepartie, le méthanol doit être employé en large excès par rapport à la quantité de lipides, l'eau de la biomasse nuit à la réaction, la co-extraction de composés non lipidiques complique la purification du biodiesel et le procédé reste moins standardisé (Ehimen et *al.*, 2010 ; Wahlen et *al.*, 2011).

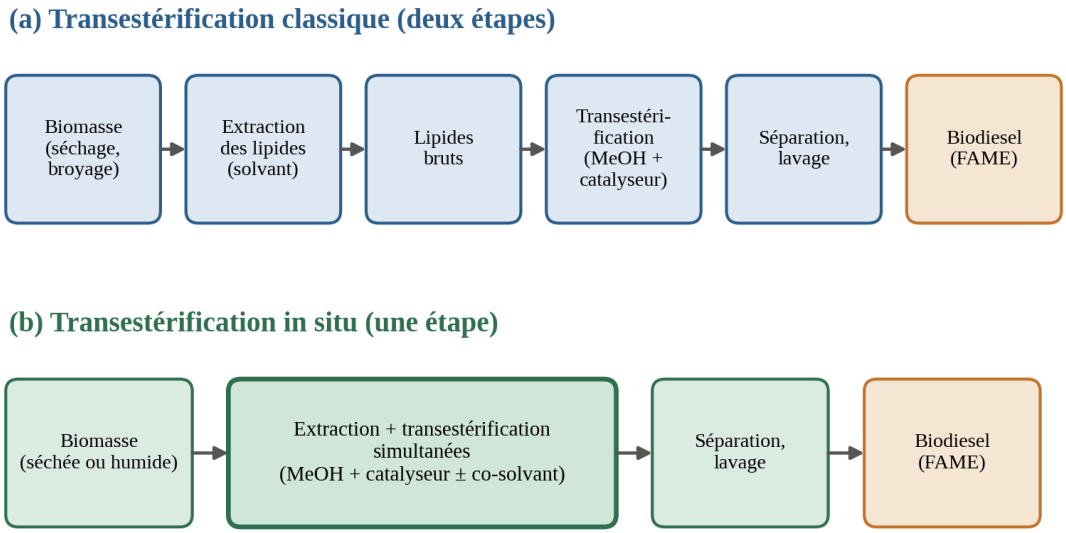


Figure 11. Schéma comparatif de la transestérification classique (a) et de la transestérification in situ (b).

Tableau 06. Comparaison entre transestérification classique et transestérification in situ.

Critère	Classique	In situ
Nombre d'étapes	Deux (extraction, puis transestérification)	Une (extraction et réaction simultanées)
Matière première	Biomasse séchée, lipides extraits	Biomasse séchée, voire humide
Solvants et alcool	Solvant d'extraction + alcool	Alcool (± co-solvant), en large excès
Pertes de lipides	Possibles à chaque étape	Réduites
Sensibilité à l'humidité	Faible sur la biomasse, forte sur l'huile	Forte
Pureté du produit	Meilleure (lipides isolés)	Co-extraction de composés non lipidiques
Standardisation	Bien établie	Moins avancée

4. Caractérisation et qualité du biodiesel

4.1. Rendement de production

Le rendement de production du biodiesel peut être exprimé de plusieurs façons, ce qui impose de toujours préciser la base de calcul avant toute comparaison entre études.
Pour un procédé en deux étapes, on distingue le rendement d'extraction R_e et le rendement de transestérification :

$$\mathbf{R_e} = \frac{\textbf{masse de lipides}}{\textbf{masse de biomasse sèche}} \times \mathbf{100}$$

$$\mathbf{R_t} = \frac{\textbf{masse de biodiesel}}{\textbf{masse de lipides}} \times \mathbf{100}$$

Pour un procédé in situ, on exprime le plus souvent la teneur en FAME rapportée à la biomasse :

$$\boldsymbol{T_{FAME}}\ \% = \frac{\boldsymbol{masse\ de\ FAME}}{\boldsymbol{masse\ de\ biomasse\ sèche}} \times \mathbf{100}$$

éventuellement comparée à la teneur en acides gras totaux déterminée par transestérification directe de référence (Griffiths et *al.*, 2010 ; Ehimen et *al.*, 2010). Le rendement dépend de l'espèce, de la teneur en lipides, de l'efficacité de la rupture cellulaire et des paramètres opératoires.

4.2. Composition en FAME

La composition en FAME est déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à ionisation de flamme (GC-FID) ou à un spectromètre de masse (GC-MS). Les esters sont identifiés par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux d'étalons et, en GC-MS, par leurs spectres de masse, puis dosés par rapport à un étalon interne, un ester méthylique d'acide gras à nombre impair d'atomes de carbone tel que l'heptadécanoate ou le nonadécanoate de méthyle ; la teneur en esters fait l'objet de la méthode normalisée EN 14103 (EN 14103 ; Hoekman et *al.*, 2012). Les résultats sont exprimés en pourcentage des acides gras et regroupés en acides

gras saturés, monoinsaturés et polyinsaturés, ce qui permet de prévoir les propriétés du biodiesel (Knothe, 2005 ; Zaki et *al.*, 2021). La norme européenne EN 14214 impose une teneur en esters d'au moins 96,5 % (Hoekman et *al.*, 2012).

4.3. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) repose sur l'absorption du rayonnement infrarouge par les liaisons moléculaires, dont les vibrations d'élongation et de déformation sont caractéristiques des groupes fonctionnels (Stuart, 2004 ; Larkin, 2018). En mode de réflexion totale atténuée (ATR), l'analyse est rapide et ne demande qu'une préparation minimale de l'échantillon (Thermo Fisher Scientific, s. d.). Appliquée au biodiesel, elle permet de vérifier la conversion de l'huile en esters et de détecter des résidus. La bande d'élongation du carbonyle d'ester, vers 1740–1750 cm^{-1}, est la plus intense et n'est pas perturbée par les hydrocarbures du gazole, tandis que la région 1170–1200 cm^{-1} correspond aux élongations C–O de l'ester (Thermo Fisher Scientific, s. d.). La transestérification se traduit en outre par l'apparition de bandes propres aux esters méthyliques, notamment vers 1436 cm^{-1} (déformation asymétrique du groupe CH_3 lié à l'oxygène) et vers 1196 cm^{-1} (élongation du groupe CH_3–O), absentes du spectre de l'huile (Mahamuni et Adewuyi, 2009 ; Juárez Morán et Díaz Reyes, 2015) (tableau 7).

Tableau 07. Principales bandes FTIR utilisées pour caractériser le biodiesel.

Nombre d'onde (cm^{-1})	Attribution	Intérêt pour l'analyse
≈ 2925 et 2855	Élongation C–H des CH_2 et CH_3	Chaînes carbonées (présentes aussi dans l'huile et le gazole)
≈ 1740–1750	Élongation C=O de l'ester	Marqueur des esters, sans interférence du gazole ; suivi de la conversion
≈ 1460	Déformation C–H des CH_2/CH_3	Chaînes aliphatiques
≈ 1436	Déformation asymétrique de CH_3 (O–CH_3)	Apparition lors de la formation des esters méthyliques
≈ 1196	Élongation de CH_3–O	Marqueur de la transestérification
1170–1200	Élongation C–O de l'ester	Confirmation de la fonction ester ; peut interférer avec le gazole
≈ 722	Balancement des $(CH_2)_n$	Chaînes longues

Les positions varient légèrement selon l'échantillon et l'appareil

Couplées à des méthodes chimiométriques, les spectroscopies dans le moyen et le proche infrarouge permettent aussi de suivre la transestérification et de doser le biodiesel dans des mélanges avec le gazole (Thermo Fisher Scientific, s. d. ; Knothe, 1999). Cette technique reste une méthode qualitative ou semi-quantitative : elle ne renseigne pas sur la distribution des acides gras, qui nécessite la chromatographie en phase gazeuse.

4.4. Principaux paramètres de qualité

La qualité du biodiesel est encadrée par des normes, principalement la norme européenne EN 14214 et la norme américaine ASTM D6751, qui fixent des limites pour les propriétés liées à la composition (teneur en esters, indice d'iode, esters linoléniques), à la combustion (indice de cétane), à l'écoulement (viscosité, comportement à froid), à la pureté (glycérol libre et total, méthanol, eau, indice d'acide) et à la sécurité et la conservation (point d'éclair, stabilité à l'oxydation) (tableau 8) (EN 14214 ; ASTM D6751 ; Hoekman et *al.*, 2012).

Tableau 08. Quelques spécifications des normes EN 14214 et ASTM D6751 pour le biodiesel (B100).

Propriété	EN 14214	ASTM D6751
Teneur en esters (% m/m)	≥ 96,5	—
Masse volumique à 15 °C (kg/m³)	860–900	—
Viscosité cinématique à 40 °C (mm²/s)	3,5–5,0	1,9–6,0
Point d'éclair (°C)	≥ 101	≥ 93
Indice de cétane	≥ 51	≥ 47
Indice d'acide (mg KOH/g)	≤ 0,50	≤ 0,50
Indice d'iode (g I_2/100 g)	≤ 120	—
Ester méthylique de l'acide linolénique (% m/m)	≤ 12	—
Glycérol libre (% m/m)	≤ 0,02	≤ 0,020
Glycérol total (% m/m)	≤ 0,25	≤ 0,240
Méthanol (% m/m)	≤ 0,20	—
Stabilité à l'oxydation (110 °C, h)	≥ 8	—

Plusieurs de ces propriétés découlent directement du profil en acides gras : l'indice de cétane, la viscosité, l'indice d'iode et la stabilité à l'oxydation sont liés au degré d'insaturation et à la longueur des chaînes (Knothe, 2005 ; Ramos et *al.*, 2009). Pour les microalgues, les études

publiées montrent que le biodiesel respecte souvent la plupart des critères, avec des écarts possibles sur la viscosité et la stabilité à l'oxydation selon l'espèce et les conditions de culture (Zaki et *al.*, 2021 ; Mostafa et El-Gendy, 2017 ; Islam et *al.*, 2013).

5. Intérêts et limites du biodiesel microalgale

Le biodiesel microalgale présente des intérêts agronomiques, environnementaux et énergétiques bien identifiés (tableau 9). Les microalgues offrent un rendement en huile par unité de surface très supérieur à celui des cultures oléagineuses, n'exigent pas de terres arables, peuvent utiliser des eaux salines ou usées et fixent du CO_2 (Chisti, 2007 ; Markou et *al.*, 2012). Leur métabolisme lipidique peut être orienté par les conditions de culture (Hu et *al.*, 2008 ; Rodolfi et *al.*, 2009), et le biodiesel obtenu, utilisable dans les moteurs diesel en mélange avec le gazole, répond le plus souvent aux principales spécifications (Zaki et *al.*, 2021 ; Mostafa et El-Gendy, 2017).

Tableau 09. Intérêts et limites du biodiesel microalgal .

Intérêts	Limites
Rendement en huile par hectare très élevé (Chisti, 2007)	Coût de production élevé, bilan énergétique défavorable (Chisti, 2013 ; Williams et Laurens, 2010)
Pas de concurrence avec les cultures alimentaires (Chisti, 2007)	Récolte de cellules de très petite taille et séchage coûteux (Wijffels et Barbosa, 2010)
Culture possible en eau saline ou usée, fixation du CO_2 (Markou et *al.*, 2012)	Compromis entre teneur en lipides et productivité en biomasse (Rodolfi et *al.*, 2009)
Profil lipidique orientable par la culture (Hu et *al.*, 2008)	Acides gras polyinsaturés : oxydation, viscosité (Zaki et *al.*, 2021)
Biodiesel compatible avec les moteurs diesel et biodégradable (Knothe et Razon, 2017)	Parois résistantes, extraction délicate (Scholz et *al.*, 2014)
Co-produits valorisables (Williams et Laurens, 2010)	Passage à l'échelle industrielle encore limité (Scott et *al.*, 2010)

Ces avantages sont cependant contrebalancés par des limites importantes. Le coût de production reste élevé et constitue l'obstacle majeur à la commercialisation : culture, récolte de cellules de très petite taille, séchage et extraction mobilisent beaucoup d'énergie et de capitaux (Chisti, 2007 ; Chisti, 2013 ; Wijffels et Barbosa, 2010 ; Williams et Laurens, 2010 ; Scott et *al.*,

2010). L'accumulation de lipides par carence en azote réduit la productivité en biomasse, de sorte que la productivité lipidique n'augmente que dans une mesure limitée (Rodolfi et *al.*, 2009). Les profils riches en acides gras polyinsaturés posent des problèmes de stabilité à l'oxydation et de viscosité (Zaki et *al.*, 2021 ; Hoekman et *al.*, 2012), et la rupture des parois résistantes complique l'extraction (Scholz et *al.*, 2014). La valorisation des co-produits (glycérol, protéines, pigments) est donc déterminante pour la rentabilité (Williams et Laurens, 2010 ; Wijffels et Barbosa, 2010).

En conclusion de ce chapitre, la production de biodiesel à partir de biomasse microalgale est techniquement établie mais reste confrontée à des verrous économiques. Le choix de l'espèce, la maîtrise de la composition lipidique et la simplification du procédé de conversion, par exemple par transestérification in situ, constituent des leviers d'amélioration, dont l'évaluation repose sur des méthodes de caractérisation comme la chromatographie en phase gazeuse et la spectroscopie FTIR (Chisti, 2007 ; Wahlen et *al.*, 2011 ; Mahamuni et Adewuyi, 2009).

PARTIE II

MATERIELS ET METHODES

1. Introduction

Ce document présente l'ensemble du matériels et des méthodes expérimentales employés pour l'extraction de lipides et la production de biodiesel à partir de la biomasse microalgale. Il recense d'abord les souches biologiques utilisées (Nannochloropsis *gaditana* et *Arthrospira platensis*), ainsi que les solvants chimiques et les équipements de laboratoire nécessaires aux manipulations. Le texte décrit ensuite les trois protocoles fondamentaux de l'étude : l'estimation de la teneur en lipides par une extraction solide-liquide continue au Soxhlet, la synthèse directe du biodiesel via une transestérification in-situ, et enfin, la caractérisation qualitative du biocarburant obtenu par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).

2. Matériaux biologiques

La biomasse sèche de *N. gaditana* (poudre) a été fournie par le Laboratoire d'Aquaculture et de Bioremédiation (AQUABIOR) du département de Biotechnologie de l'université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella (Oran, Algérie), d'autre part, la cyanobactérie *A. platensis* séché a été acquise sur le marché local, bien que sa culture et sa récolte aient été initialement réalisées en Allemagne.

3. Estimation de la teneur totale en lipide

La teneur en lipides de *N. gaditana* et d'*A. platensis* a été déterminée par la méthode d'extraction par Soxhlet (Schafer, 1998). Ce procédé repose sur une extraction solide-liquide continue, permettant le traitement efficace de matrices solides de granulométries diverses à l'aide de solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés (Bouhafs et *al.*, 2017).

L'extraction a été effectué de la manière suivante (Benzidane, 2017) :

Six grammes de microalgues sèche sont placés dans une cartouche de soxhlet en cellulose poreuse (25 x 80 mm) et sont traités avec 250 ml d'un mélange hexane:2-propanol (2:1) contenus dans un ballon de 500 ml. Le mélange est porté à reflux (70°C) à l'aide d'un système équipé d'une source de chaleur et d'un condenseur refroidi à l'eau (Figure 12).

Après plusieurs cycles (4 h de réaction) (Figure 13), le solvant a été évaporé au rota-vapeur (55°C) (Figure 14) et le rendement de l'huile extraite a été calculé selon la formule suivante :

$$\textbf{Lipide}\ (\%) = \frac{\textbf{Lipide extrait(g)}}{\textbf{Biomasse sèche (g)}} \times \textbf{100}$$

l'extrait de la spiruline obtenue après passage par l'extraction Soxhlet (avant évaporation et après évaporation au Rotavapor) sont représentés sur la (Figure 15).

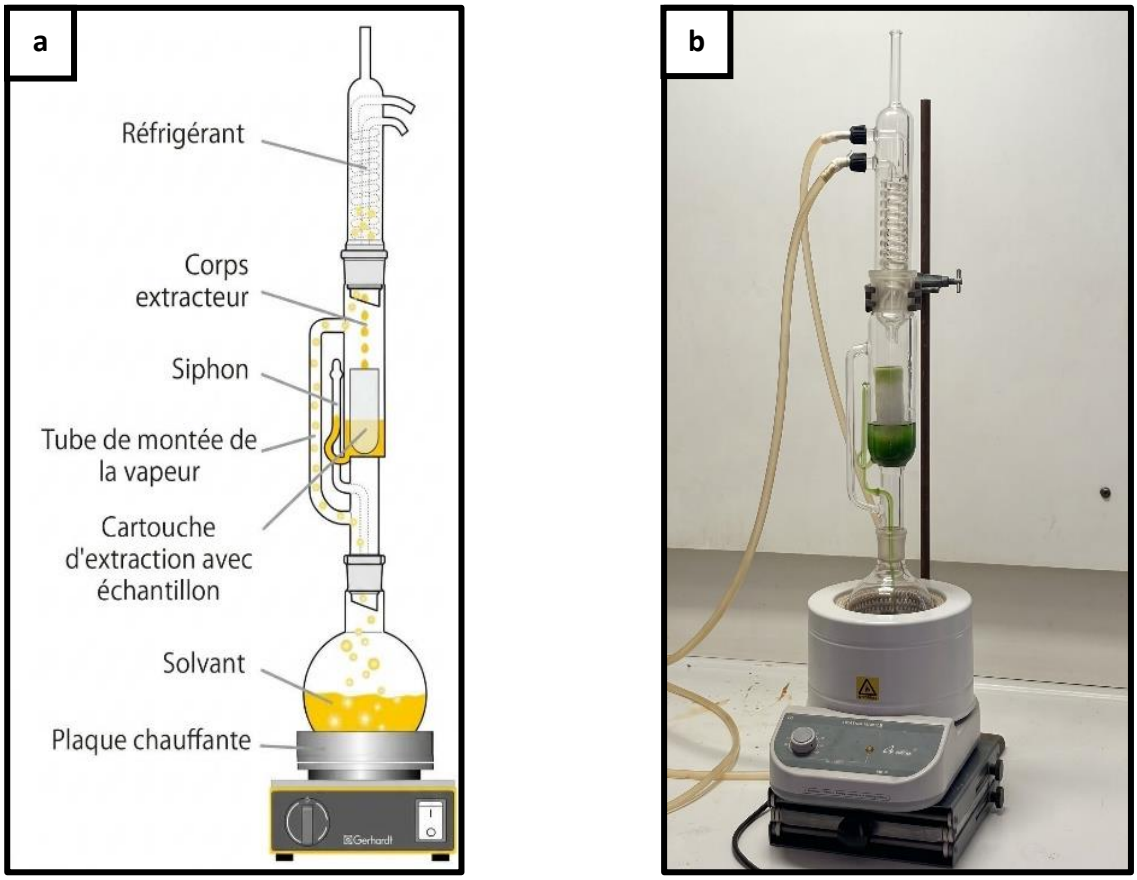


Figure 12. Extracteur de soxhlet

a) schéma du dispositif ; b) photo du dispositif (Boussadi, 2026)

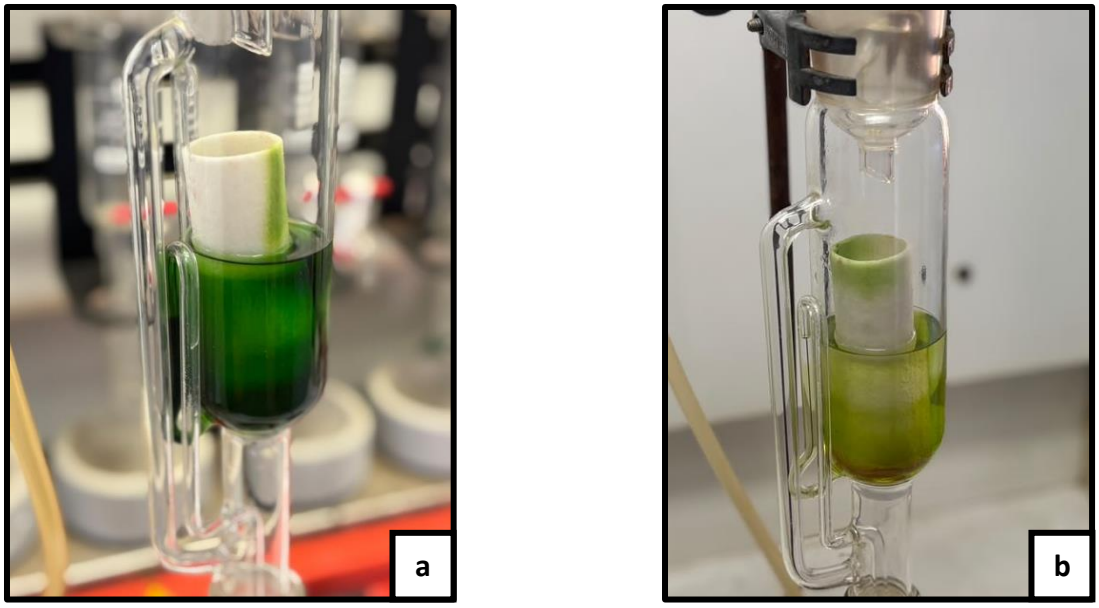


Figure 13. Difference entre la couleur des extraits de

a) *Arthrospira Platensis* et b) *Nanochlopsis Gaditana* (Boussadi, 2026)

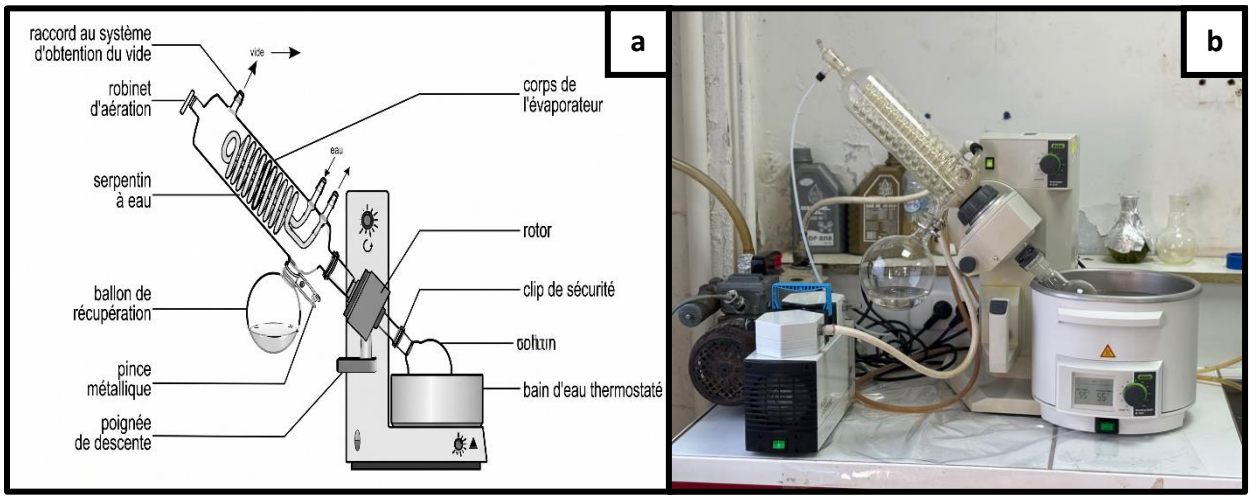


Figure 14. Rotavapor

a) shema ; b) photo du dispositif (Boussadi, 2026)

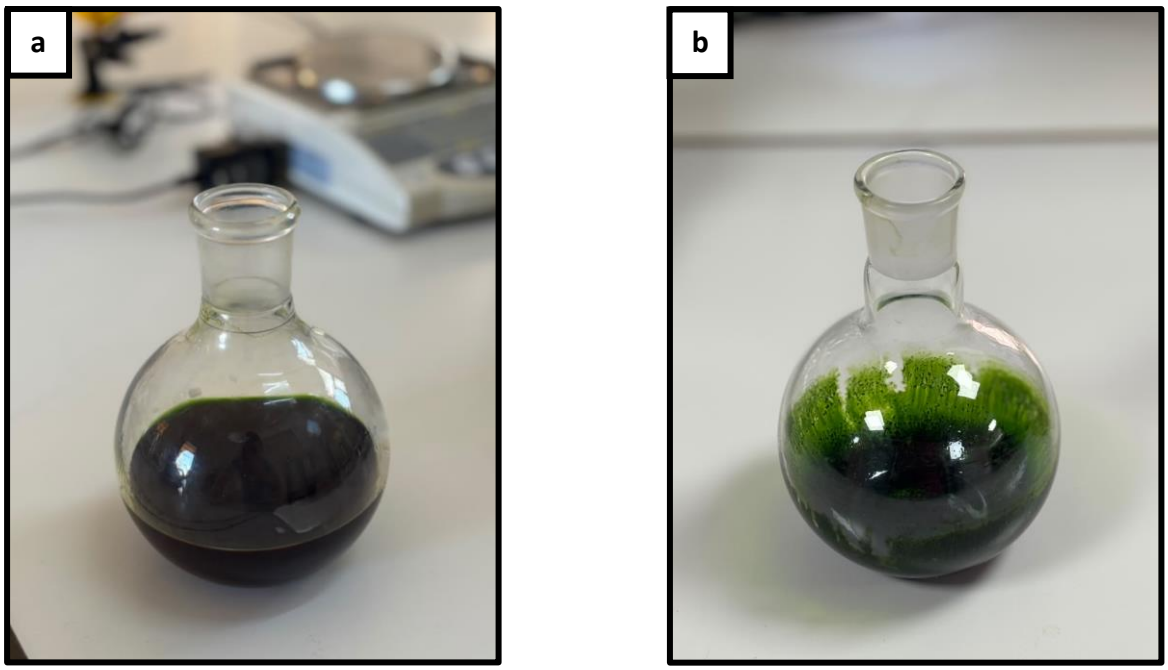


Figure 15. l'extrait de la spiruline obtenue du Soxhlet

a) avant évaporation au Rotavapor ; b) après évaporation (Boussadi, 2026)

4. Production de biodiesel par transestérification in-situ

La transestérification directe est un processus qui associe la biomasse microalgale sèche avec un alcool et un catalyseur sans extraction de lipide préalable. La transestérification in-situ permet de gagner du temps et d'éviter la perte potentielle de lipides lors de l'étape d'extraction.

Cette réaction a été réalisée d'apprêt la méthode de Nautiyal et *al.* (2014) qui a était modifiée par Benzidane (2017). L'algue séchée a été soumise à une pulvérisation dans un mortier pour l'homogénéisation et la destruction des cellules (Figure 16). Cinq grammes de poudre résultante ont été placés dans un ballon de 100 ml préalablement chauffé (90°C). contenant un mélange hexane:méthanol et d'acide sulfurique H_2SO_4 (60 % en poids d'algues).

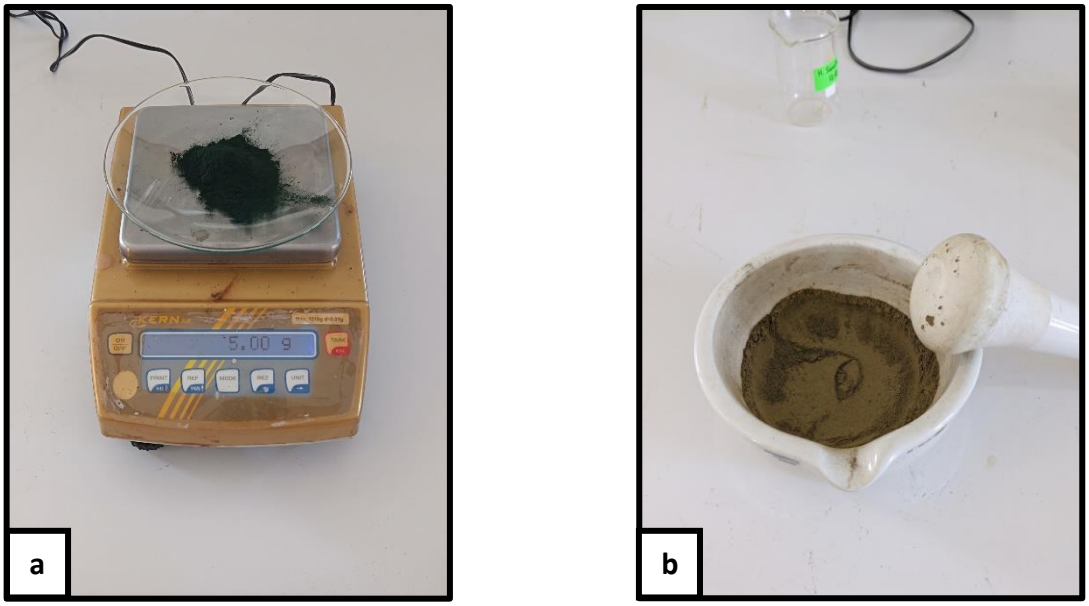


Figure 16. pulvérisation des échantillons

a) poudre de spiruline ; b) poudre de *Nannochlopsis* (Boussadi, 2026)

L'agitateur magnétique (500 rpm) a été utilisé pour mélanger le contenu dans le réacteur en continu. Le mélange a été chauffé à 90°C et la réaction a été maintenue pendant 60 min. Le réacteur est équipé d'un condenseur pour maintenir la pression atmosphérique à l'intérieur de la réaction et pour éviter la perte de solvants par évaporation (Figure 17).

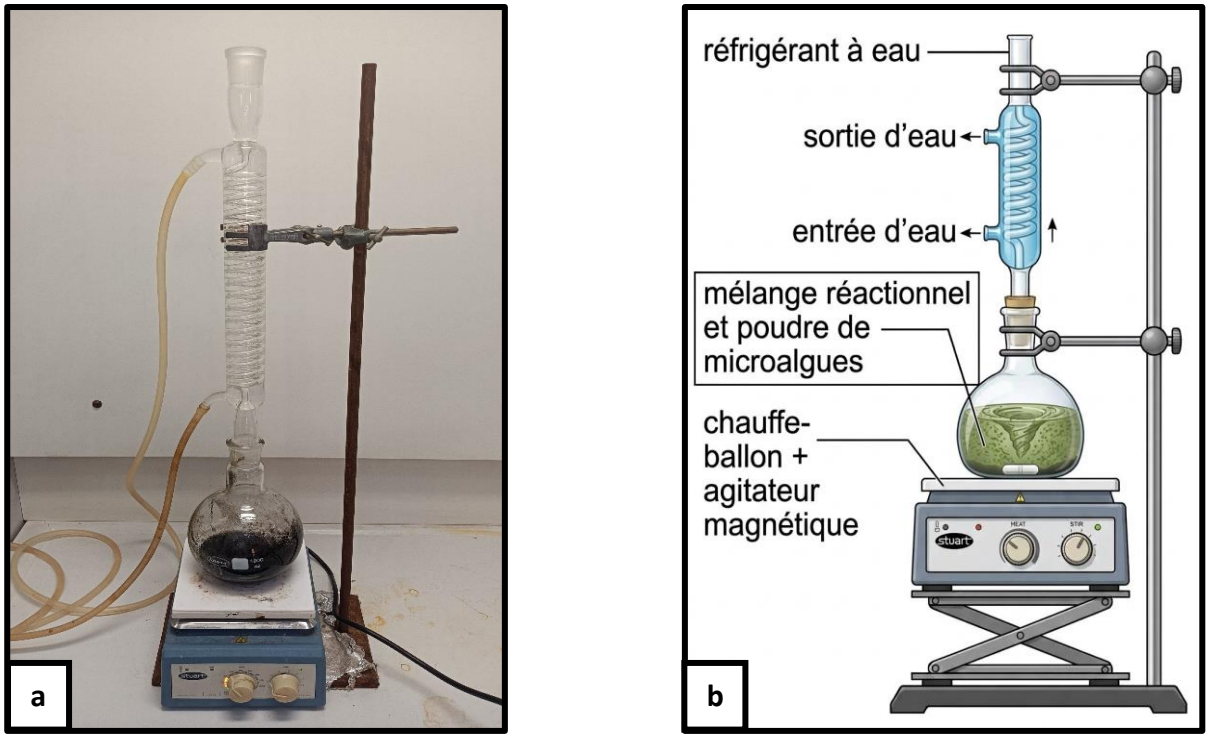


Figure 17. Dispositif de la réaction de transterification *in-situ*

a) shema du dispositif ; b) photo du dispositif (Boussadi, 2026)

A la fin de la réaction, le produit de la transesterification a été filtré à l'aide du dispositif de Buchner et le filtrat a été placé dans une ampoule à décanter pour permettre la séparation des deux phases. La phase inferieure contenant le glycérol, le méthanol et le catalyseur, a été enlevée et la phase supérieure contenant l'hexane et l'esther méthylique d'acide gras a été lavée à l'eau distillée chauffée à 50-60°C (30 % v/v) jusqu'à ce que le pH de l'eau du lavage redevienne neutre (Figure 18).

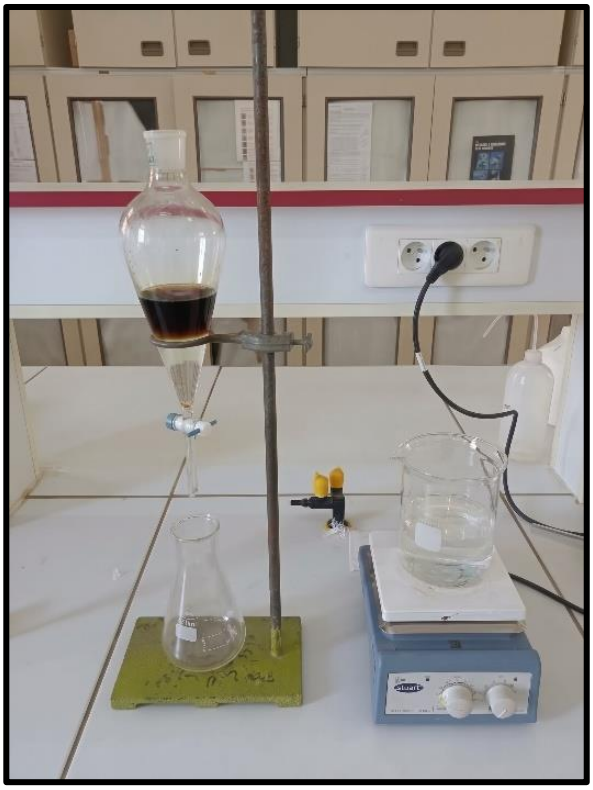


Figure 18. Lavage de la phase contenante l'EMAG (Boussadi, 2026)

Le lavage permet d'éliminer l'excès d'alcool et de catalyseur. Après le lavage, l'hexane est éliminé par évaporation avec le Rotavaport. Le biodiesel obtenu est présenté sur la figure 19. La méthode gravimétrique a été utilisée pour déterminer la teneur en biodiesel. Le rendement a été calculé selon les deux équations suivantes :

$$\textbf{\textit{Biodiesel}}\ (\%\ \textbf{\textit{poids sec}}) = \frac{\textbf{\textit{Biodiesel produit}}\ (\boldsymbol{g})}{\textbf{\textit{Biomasse microalgale sèche}}\ (\boldsymbol{g})} \times \mathbf{100}$$

$$\textbf{\textit{Biodiesel}}\ (\%\ \textbf{\textit{poids huile}}) = \frac{\textbf{\textit{Biodiesel produit}}\ (\boldsymbol{g})}{\textbf{\textit{Huile produite}}\ (\boldsymbol{g})} \times \mathbf{100}$$



Figure 19. l'extrait apres l'evaporation de l'hexane avec le Rotavapor (Boussadi, 2026)

5. Caractérisation du biodiesel produit

5.1. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR)

La spectroscopie IR consiste à envoyer des radiations IR sur un échantillon à analyser. Ainsi, certaines longueurs d'onde vont être absorbées par les liaisons chimiques de l'échantillon (par les liaisons chimiques des molécules y présentes). Ce qui génère ensuite un spectre IR présentant les différentes liaisons chimiques.

Pour interpréter un spectre IR, il suffit de sélectionner les pics ou les bandes les plus identifiables sur ce spectre et puis comparer leurs nombres d'ondes à ceux de tables de valeurs connues dans la littérature. Ce qui permettra ainsi d'avoir des informations sur les liaisons chimiques susceptibles de constituer la molécule en question.

5.2. Procédure

L'analyse a été réalisée au niveau du CRAPC (centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques) à l'Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem. Les caractérisations infrarouges sont menées sur un appareillage Alpha Bruker, selon le procédé ATR

(Attenuated Total Reflection) ou réflexion totale atténuée. Les spectres ont été acquis entre 500 et 4000 cm-1. 4 scannes ont été réalisés.

Les spectres infrarouges ont été analysés à l'aide du logiciel Opus. Les spectres représentent la transmittance (T, %) en fonction du nombre d'onde (cm-1). La transmittance est égale au pourcentage de rayonnement ayant traversé la cellule de mesure par rapport au rayonnement incident.

PARTIE III

RESULTATS ET DISCUSSION

1. Introduction

Ce chapitre présente et discute les résultats obtenus lors de la valorisation de deux biomasses sèches, la microalgue eucaryote Nannochloropsis *gaditana* et la cyanobactérie *Arthrospira platensis*, en vue de la production de biodiesel. Conformément aux protocoles décrits dans le chapitre « Matériels et méthodes », les résultats suivent l'enchaînement des trois étapes de l'étude : (i) l'estimation de la teneur totale en lipides par extraction au Soxhlet ; (ii) la production de biodiesel par transestérification in situ ; (iii) la caractérisation qualitative du produit par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR).

2. Teneur en lipides totaux (extraction au Soxhlet)

Les teneurs en lipides extraits par le mélange hexane:2-propanol (2:1), calculées sur 6 g de biomasse sèche, figurent dans le Tableau 10 et la Figure 20. La teneur moyenne est de 4,92 ± 0,54 % de la matière sèche (MS) pour A. *platensis* et de 14,07 ± 1,36 % MS pour N. *gaditana*, soit un rapport d'environ 2,9 en faveur de la microalgue. Les deux essais de N. *gaditana* (13,11 et 15,04 %) sont supérieurs aux deux essais d'A. *platensis* (4,54 et 5,31 %), et le coefficient de variation entre essais est d'environ 10 % pour les deux espèces.

Tableau 10. Teneur lipidique de la biomasse sèche.

Espèce	Essai	Lipides extraits (g)	Teneur en lipides (% MS)
Arthrospira platensis	1	0,3183	5,31
	2	0,2725	4,54
	Moyenne ± Ecar-type	**0,2954 ± 0,0324**	**4,92 ± 0,54**
Nannochloropsis gaditana	1	0,7868	13,11
	2	0,9021	15,04
	Moyenne ± Ecar-type	**0,8444 ± 0,0815**	**14,07 ± 1,36**

MS : matière sèche.

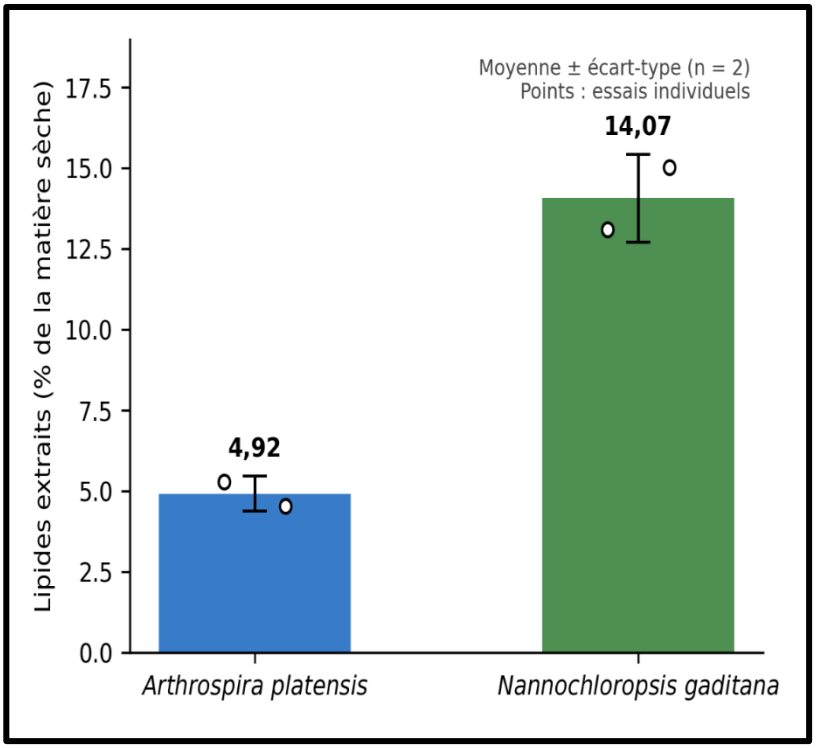


Figure 20. Teneur en lipides extraits au Soxhlet pour les deux espèces.

Le contraste entre les deux espèces est conforme à leur biologie. Les cyanobactéries du genre *Arthrospira* sont des biomasses riches en protéines et pauvres en lipides, dont la teneur lipidique ne dépasse généralement pas quelques pour cent de la matière sèche (Becker, 2007) ; la valeur obtenue ici (4,92 %) s'inscrit dans cet ordre de grandeur, ce qui limite l'intérêt d'A. *platensis* comme matière première lipidique.

Pour N. *gaditana*, la teneur mesurée (14,07 %) est nettement inférieure aux 37 à 60 % du poids sec rapportés, en conditions de carence en azote ou en phosphore, pour les microalgues du genre Nannochloropsis (Rodolfi et *al.*, 2009), valeurs citées dans le chapitre 1. Trois facteurs, non exclusifs, peuvent expliquer cet écart.

- **Les conditions de culture et de récolte :** l'accumulation de lipides neutres chez Nannochloropsis est fortement stimulée par la limitation en nutriments (Rodolfi et *al.*, 2009), et l'état physiologique de la biomasse fournie par le laboratoire AquaBior n'a pas été caractérisé. La teneur lipidique varie en outre sensiblement d'une souche de Nannochloropsis à l'autre (Ma et *al.*, 2014).

- **Le système de solvants :** le mélange hexane:2-propanol, peu polaire, extrait surtout les lipides neutres et laisse une part des lipides polaires membranaires. Chez N. *gaditana*, les extraits obtenus avec des solvants de qualité alimentaire sont enrichis en lipides neutres et appauvris en lipides polaires par rapport à l'extrait lipidique total chloroforme/méthanol (Ryckebosch et *al.*, 2014a). Avec un mélange voisin (hexane/2-propanol 3:2), la récupération en lipides totaux la plus faible a été observée pour les deux espèces de Nannochloropsis testées, avec des valeurs globales de 14 à 76 % selon le solvant et l'espèce, et des caroténoïdes co-extraits en quantité significative (Ryckebosch et *al.*, 2014b). Cancela et *al.* (2019) ont par ailleurs obtenu 29,25 ± 1,10 % d'huile par Soxhlet avec un mélange méthanol–chloroforme (2:1) après désintégration cellulaire par micro-ondes, l'utilisation de l'hexane libérant une quantité d'huile plus faible.
- **La paroi cellulaire :** la paroi de N. *gaditana* comporte une couche interne cellulosique protégée par une couche externe hydrophobe d'algaénane (Scholz et *al.*, 2014), et son épaisseur varie selon les souches de Nannochloropsis (Beacham et *al.*, 2014). Le protocole décrit n'inclut pas d'étape de désintégration cellulaire dédiée avant le Soxhlet ; or le choix du solvant et la désintégration des cellules agissent conjointement sur le rendement d'extraction (Halim et *al.*, 2012).

La méthode gravimétrique mesure en outre la matière extractible totale, et non les acides gras : elle inclut les pigments (chlorophylles, caroténoïdes) responsables de la coloration jaune-orangé de l'extrait, ainsi que d'autres composés liposolubles, tout en sous-estimant les lipides polaires non extraits. Les valeurs obtenues doivent donc être lues comme une teneur en matière extractible à l'hexane:2-propanol (référence opérationnelle) plutôt que comme une teneur absolue en lipides.

3. Production de biodiesel par transestérification in situ

Les résultats présentés dans le tableau 11 montrent une nette différence entre les deux espèces étudiées, *Arthrospira platensis* et Nannochloropsis *gaditana*, en termes de récupération du produit après traitement, de rendement en biodiesel et de teneur en lipides.

Chez *Arthrospira platensis*, le produit récupéré après traitement in situ est de 0,1618, avec un rendement gravimétrique en biodiesel de seulement 3,24 % de la matière sèche (MS) et une teneur en lipides de 4,92 % MS. Ces valeurs indiquent une production relativement faible de lipides et, par conséquent, une faible quantité de biodiesel obtenue dans les conditions expérimentales étudiées (Becker, 2007 ; Griffiths et *al.*, 2012).

Tableau 11. Comparaison de la teneur en lipides et du rendement gravimétrique en biodiesel chez *Arthrospira platensis* et Nannochloropsis *gaditana*.`

Espèce	Produit récupéré après traitement in situ (g)	Rendement gravimétrique (% MS)	Teneur en lipides (% MS)
Arthrospira platensis	0,1618	3,24	4,92
Nannochloropsis gaditana	1,1175	22,35	14,07

En revanche, Nannochloropsis *gaditana* présente des valeurs nettement supérieures. Le produit récupéré après traitement atteint 1,1175, soit environ 6,9 fois la valeur obtenue chez A. *platensis*. De même, le rendement gravimétrique en biodiesel atteint 22,35 % MS, contre seulement 3,24 % MS chez A. *platensis*. La teneur en lipides est également plus élevée chez N. *gaditana* (14,07 % MS) que chez A. *platensis* (4,92 % MS), soit près de 2,9 fois plus (Simionato et *al.*, 2013).

Cette différence de rendement en biodiesel peut donc être partiellement associée à la teneur lipidique plus élevée de N. *gaditana*. Toutefois, l'écart entre les deux espèces est plus important pour le rendement en biodiesel que pour la teneur en lipides (Ghasemi Naghdi et *al.*, 2014). Cela suggère que la quantité de lipides n'est pas le seul facteur déterminant et que la nature des lipides, leur accessibilité lors du traitement, ainsi que l'efficacité des différentes étapes de conversion peuvent également influencer le rendement final en biodiesel (Scholz et *al.*, 2014 ; Johnson et Wen, 2009).

Ainsi, dans les conditions expérimentales considérées, Nannochloropsis *gaditana* semble présenter un potentiel de valorisation lipidique plus important qu'*Arthrospira platensis* pour la production de biodiesel (Griffiths et Harrison, 2009 ; Ma et *al.*, 2016). Cette différence pourrait être liée aux caractéristiques biochimiques propres à chaque espèce et à leur réponse au procédé de traitement utilisé (Ehimen et *al.*, 2010).

4. Analyse FTIR des produits de transestérification

L'analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) a été réalisée afin d'identifier les principaux groupements fonctionnels présents dans les produits de transestérification *in situ* obtenus à partir de *Nannochloropsis gaditana* et *Arthrospira platensis* (Mahamuni et Adewuyi, 2009). Les deux spectres présentent des profils globalement similaires, caractérisés par plusieurs bandes associées aux chaînes aliphatiques ainsi qu'aux fonctions contenant des groupements carbonyle et C–O (Guillén et Cabo, 1997b) (Figure 21).

Dans le spectre de N. *gaditana*, les bandes situées à environ 2920 et 2854 cm^{-1} sont attribuées respectivement aux vibrations d'élongation asymétrique et symétrique des liaisons C–H des groupements méthylène (–CH_2–). Des bandes similaires sont observées dans le spectre de A. *platensis*, à environ 2922 et 2856 cm^{-1}. La présence de ces bandes dans les deux échantillons est compatible avec des chaînes aliphatiques riches en groupements méthylène, caractéristiques des constituants lipidiques et de leurs dérivés estérifiés (Guillén et Cabo, 1997b ; Coates, 2000) (Figure 21).

La région du carbonyle constitue l'une des zones les plus informatives des spectres. Une bande située à environ 1741 cm^{-1} est observée pour N. *gaditana*, tandis que A. *platensis* présente une bande autour de 1734 cm^{-1}. Ces absorptions sont attribuées à l'élongation de la liaison C=O des fonctions ester et sont compatibles avec la présence d'esters d'acides gras (Mahamuni et Adewuyi, 2009 ; Guillén et Cabo, 1997b). La comparaison des profils dans cette région met en évidence une différence de position et de forme de la bande carbonylée entre les deux produits (Figure 22a).

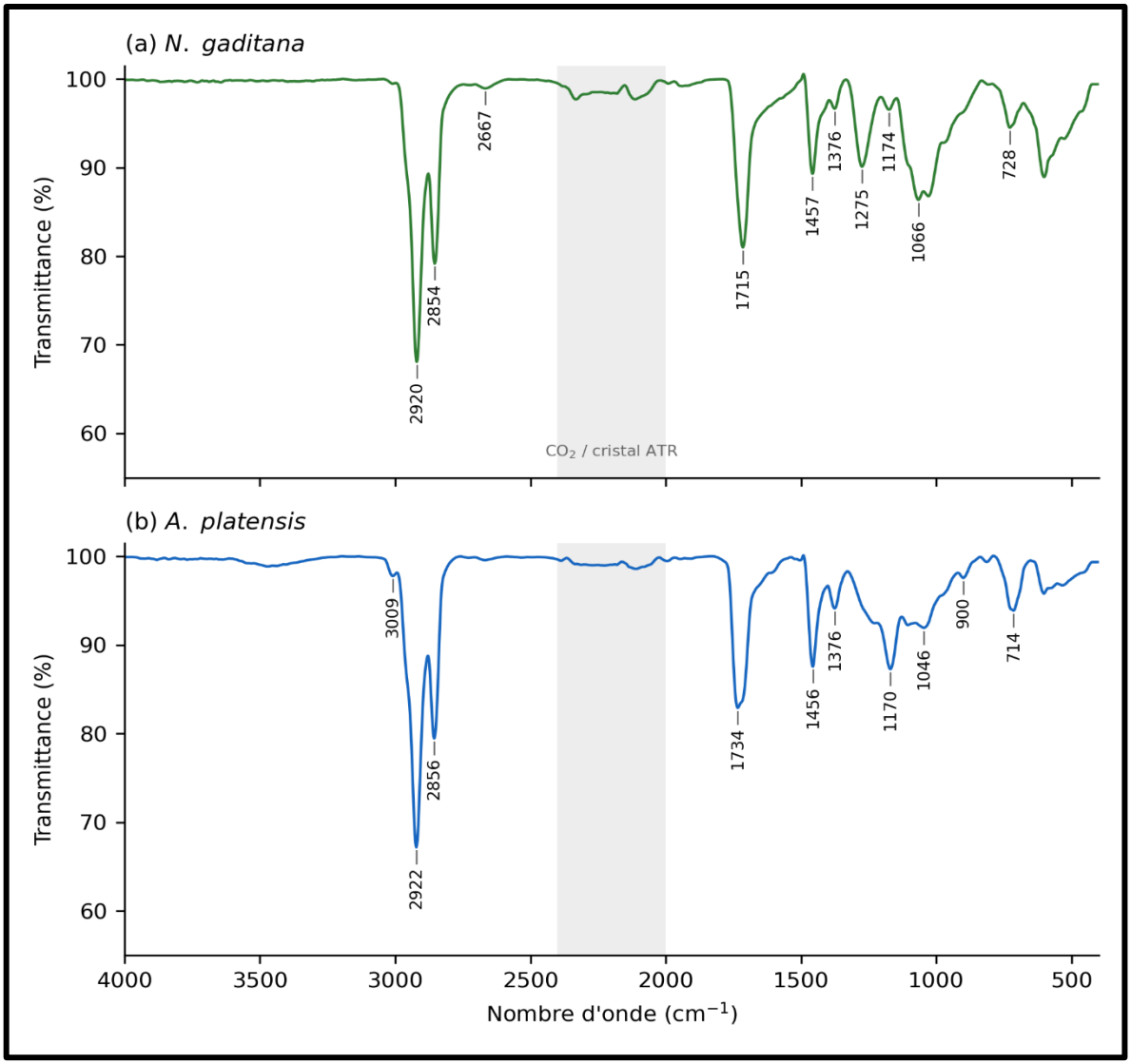


Figure 21. Spectres FTIR des produits de transestérification in situ obtenus à partir de (a) Nannochloropsis *gaditana* et (b) *Arthrospira platensis*.

Le spectre de N. *gaditana* présente également une contribution autour de 1712–1715 cm^{-1}, située dans la région caractéristique de l'élongation C=O des acides carboxyliques. Cette bande peut ainsi être associée à la présence potentielle d'une fraction d'acides gras non estérifiés dans l'échantillon (Guillén et Cabo, 1997b). Toutefois, cette interprétation doit être considérée comme qualitative, car la FTIR ne permet pas, à elle seule, de déterminer précisément la teneur en acides gras libres (Figure 22a).

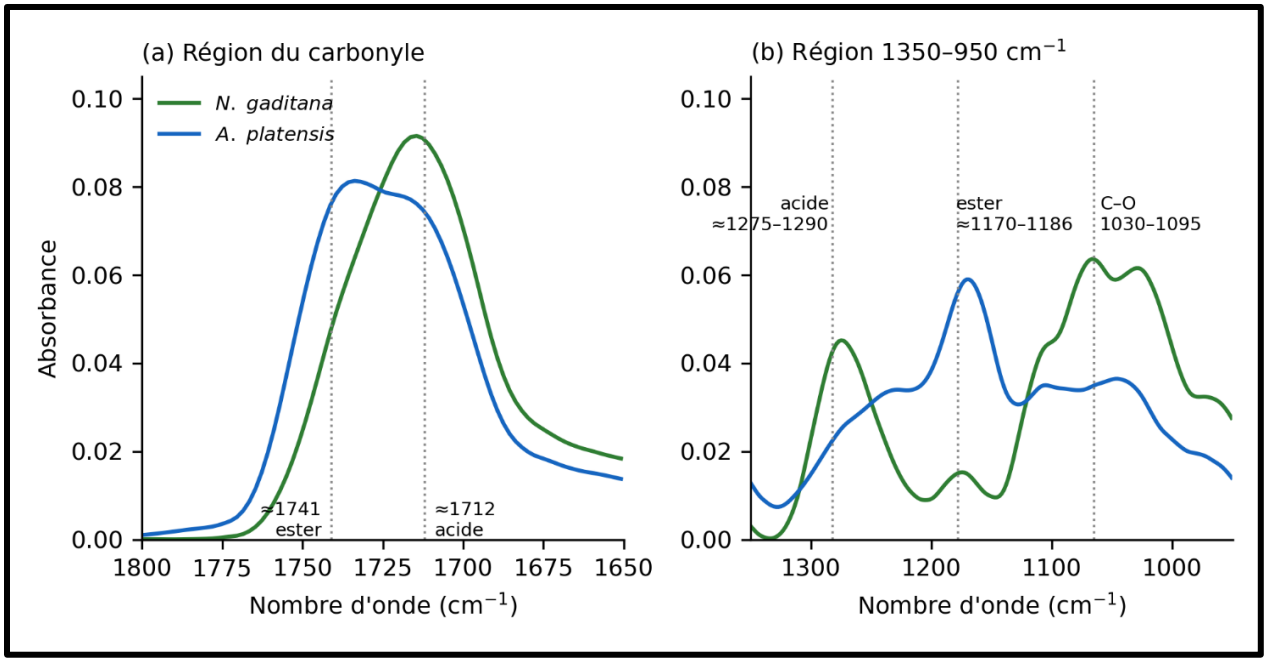


Figure 22. Agrandissement des principales régions spectrales des produits de transestérification in situ obtenus à partir de N. *gaditana* et A. *platensis* : (a) région du carbonyle (1800–1650 cm^{-1}) et (b) région comprise entre 1350 et 950 cm^{-1}.

Dans la région 1500–1300 cm^{-1}, les bandes observées vers 1456–1457 cm^{-1} et 1376 cm^{-1} sont principalement associées aux vibrations de déformation des groupes $–CH_2–$ et $–CH_3$, respectivement (Coates, 2000). La présence de ces bandes dans les deux échantillons est cohérente avec la contribution importante des chaînes aliphatiques dans les produits analysés (Figure 21).

La région comprise entre 1300 et 950 cm^{-1} présente également plusieurs absorptions d'intérêt (Figure 22b). Une bande située autour de 1170–1174 cm^{-1} peut être attribuée à l'élongation des liaisons C–O associées aux fonctions ester (Guillén et Cabo, 1997a ; Mahamuni et Adewuyi, 2009). Cette absorption, considérée conjointement avec la bande carbonylée observée autour de 1734–1741 cm^{-1}, apporte un élément supplémentaire en faveur de la présence d'esters d'acides gras dans les deux produits. Des contributions sont également observées autour de 1275 cm^{-1} pour N. *gaditana* et dans la région 1046–1066 cm^{-1} pour les deux échantillons. Ces dernières peuvent être associées à des vibrations impliquant les liaisons C–O, mais leur interprétation reste moins spécifique en raison du recouvrement potentiel avec les contributions d'autres composés oxygénés (Figure 22b).

Une différence notable est observée autour de 3009 cm^{-1} dans le spectre de A. *platensis*. Cette bande est compatible avec l'élongation des liaisons =C–H associées aux doubles liaisons C=C, notamment dans les chaînes d'acides gras insaturés (Guillén et Cabo, 1997b). Sa présence plus apparente dans A. *platensis* suggère une contribution spectrale plus marquée de structures insaturées dans cet échantillon (Figure 21). Cette observation demeure toutefois qualitative et devrait être confirmée par une analyse chromatographique de la composition en acides gras, notamment par GC-FID ou GC-MS (Meher et *al.*, 2006).

Enfin, les bandes observées vers 728 cm^{-1} pour N. *gaditana* et 714 cm^{-1} pour A. *platensis* sont compatibles avec les vibrations de rocking des groupes $–CH_2–$ appartenant à des chaînes aliphatiques relativement longues (Coates, 2000 ; Guillén et Cabo, 1997b). Ces absorptions complètent les informations obtenues dans les régions 2920–2850 et 1450–1370 cm^{-1} et sont cohérentes avec la présence de structures hydrocarbonées à longue chaîne (Figure 21).

Globalement, les deux profils FTIR présentent donc plusieurs caractéristiques spectrales compatibles avec la présence d'esters d'acides gras, notamment les vibrations C–H des chaînes aliphatiques, l'absorption du carbonyle ester et les vibrations impliquant les liaisons C–O (Figure 21). Le spectre de A. *platensis* se distingue notamment par une contribution plus apparente de la bande autour de 3009 cm^{-1}, compatible avec la présence de structures insaturées, tandis que N. *gaditana* présente une contribution supplémentaire autour de 1712–1715 cm^{-1}, pouvant être associée à la présence potentielle d'une fraction d'acides gras non estérifiés (Figure 22a). Ces différences suggèrent une composition chimique différente des fractions lipidiques issues des deux microalgues.

Cependant, l'analyse FTIR doit être considérée comme une caractérisation qualitative des principales fonctions chimiques et ne permet pas, à elle seule, de confirmer la composition précise en esters d'acides gras, de quantifier les acides gras libres ou de déterminer directement le degré de conversion de la réaction de transestérification (Laurens et Wolfrum, 2011). Une caractérisation chromatographique complémentaire, notamment par GC-FID ou GC-MS, serait donc nécessaire pour confirmer et quantifier les différences de composition en acides gras et pour évaluer avec précision la conversion des lipides en esters d'acides gras (Meher et *al.*, 2006).

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Cette étude a permis d'évaluer comparativement le potentiel de *Arthrospira platensis* et de *Nannochloropsis gaditana* pour la production de biodiesel par transestérification *in situ*, en combinant l'extraction lipidique, l'évaluation des rendements gravimétriques et la caractérisation des produits obtenus par spectroscopie FTIR.

Les résultats ont révélé une teneur lipidique nettement supérieure chez *N. gaditana* (14,07 ± 1,36 %) par rapport à *A. platensis* (4,92 ± 0,54 %). Cette différence s'est également traduite par des rendements gravimétriques respectifs de 22,35 % et 3,24 %, mettant en évidence le potentiel de valorisation plus élevé de *N. gaditana* dans les conditions expérimentales étudiées.

L'analyse FTIR a révélé des bandes caractéristiques des fonctions ester et des chaînes aliphatiques, compatibles avec la formation d'esters d'acides gras. Toutefois, cette caractérisation qualitative ne permet pas, à elle seule, de confirmer la composition exacte ni la pureté du biodiesel obtenu.

Ces résultats soulignent l'importance du choix de l'espèce microalgale dans l'efficacité de la valorisation énergétique. Des analyses chromatographiques (GC-FID ou GC-MS), associées à l'optimisation des conditions de transestérification et à l'évaluation des propriétés physicochimiques des produits, demeurent nécessaires pour confirmer les rendements réels en esters méthyliques et apprécier leur conformité aux normes internationales.

En conclusion, *Nannochloropsis gaditana* apparaît comme une ressource microalgale plus prometteuse que *Arthrospira platensis* pour la production de biodiesel, sous réserve d'une validation analytique approfondie et d'une évaluation de la faisabilité technico-économique du procédé

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

~ 𝒜 ~

Ashour, M., Elshobary, M.E., El-Shenody, R., Kamil, A.W., Abomohra, A.E.F. 2019. Evaluation of a native oleaginous marine microalga Nannochloropsis oceanica for dual use in biodiesel production and aquaculture feed. Biomass and Bioenergy, 120, 439– 447.

~ ℬ ~

Becker, E.W. 2007. Micro-algae as a source of protein. Biotechnology Advances, 25(2), 207–210.

Benzidane D., Baba Hamed M.B. and Abi-Ayad S.-M. E.-A., 2017. Biodiesel production from marine microalgae *Nannochloropsis gaditana* by in situ transesterification process. African Journal of Biotechnology 16, no. 22: 1270-1277.

Bligh, E.G., Dyer, W.J. 1959. A rapid method of total lipid extraction and purification. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 37, 911–917.

Borowitzka, M.A. 2013. High-value products from microalgae: their development and commercialisation. Journal of Applied Phycology, 25(3), 743–756.

Bouhafs nourelhouda & hadjaidji Amina, 2017. Extraction d'huile des plantes oléagineuses locales (plant de ricin) pour la production du biocarburant en Algérie, université echahid hamma lakhdar. El oued faculté de la technologie. P24-27-28-43

~ 𝒞 ~

Chisti, Y. 2007. Biodiesel from microalgae. Biotechnology Advances, 25(3), 294–306.

Chisti, Y. 2013. Constraints to commercialization of algal fuels. Journal of Biotechnology, 167, 201–214. 13. Habib, M.A.B., Parvin, M., Huntington, T.C.,

Chu, S., & Majumdar, A. 2012. Opportunities and challenges for a sustainable energy future. Nature, 488(7411), 294–303.

Coates, J. 2000. Interpretation of infrared spectra, a practical approach. In R. A. Meyers (Ed.), Encyclopedia of Analytical Chemistry (pp. 10815–10837). John Wiley & Sons.

~ ℰ ~

Ehimen, E.A., Sun, Z.F., Carrington, C.G. 2010. Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids. Fuel, 89(3), 677–684.

EN 14214 (European biodiesel specification) and ASTM D6751 (US specification), cited by standard number only.

~ ℱ ~

Fawley, M.W., Jameson, I., Fawley, K.P. 2015. The phylogeny of the genus Nannochloropsis (Monodopsidaceae, Eustigmatophyceae), with descriptions of N. australis sp. nov. and Microchloropsis gen. nov. Phycologia, 54(5), 545–552.

~ G ~

Ghasemi Naghdi, F., Thomas-Hall, S. R., Durairatnam, R., Pratt, S., & Schenk, P. M. 2014. Comparative effects of biomass pre-treatments for direct and indirect transesterification to enhance microalgal lipid recovery. Frontiers in Energy Research, 2, 57.

Griffiths, M. J., & Harrison, S. T. L. 2009. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. Journal of AppliedPhycology, 21(5), 493–507.

Griffiths, M. J., van Hille, R. P., & Harrison, S. T. L. 2012. Lipid productivity, settling potential and fatty acid profile of 11 microalgal species grown under nitrogen replete and limited conditions. Journal of Applied Phycology, 24(5), 989–1001.

Griffiths, M.J., van Hille, R.P., Harrison, S.T.L. 2010. Selection of direct transesterification as the preferred method for assay of fatty acid content of microalgae. Lipids, 45(11), 1053–1060.

Guillén, M. D., & Cabo, N. 1997a. Characterization of edible oils and lard by Fourier transform infrared spectroscopy. Relationships between composition and frequency of concrete bands in the fingerprint region. Journal of the American Oil Chemists' Society, 74(10), 1281–1286.

Guillén, M. D., & Cabo, N. 1997b. Infrared spectroscopy in the study of edible oils and fats. Journal of the Science of Food and Agriculture, 75(1), 1–11.

~ H ~

Hasan, M.R. 2008. A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034.

Hoekman, S.K., Broch, A., Robbins, C., Ceniceros, E., Natarajan, M. 2012. Review of biodiesel composition, properties, and specifications. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 16(1), 143–169.

Höök, M., & Tang, X. 2013. Depletion of fossil fuels and anthropogenic climate change: A review. Energy Policy, 52, 797–809.

Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., Darzins, A. 2008. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. The Plant Journal, 54(4), 621–639.

~ I ~

Im, H., Lee, H., Park, M.S., Yang, J.-W., Lee, J.W. 2014. Concurrent extraction and reaction for the production of biodiesel from wet microalgae. Bioresource Technology, 152, 534–537.

Islam, M.A., Ayoko, G.A., Brown, R., Stuart, D., Heimann, K. 2013. Influence of fatty acid structure on fuel properties of algae derived biodiesel. Procedia Engineering, 56, 591–596.

~ J ~

Johnson, M.B., Wen, Z. 2009. Production of biodiesel fuel from the microalga Schizochytrium limacinum by direct transesterification of algal biomass. Energy & Fuels, 23(10), 5179–5183.

~ K ~

Knothe, G. 1999. Rapid monitoring of transesterification and assessing biodiesel fuel quality by near-infrared spectroscopy using a fiber-optic probe. Journal of the American Oil Chemists' Society, 76, 795–800.

Knothe, G. 2005. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. Fuel Processing Technology, 86(10), 1059–1070.

Knothe, G., Razon, L.F. (2017). Biodiesel fuels. Progress in Energy and Combustion Science, 58, 36–59.

~ L ~

Laurens, L. M. L., & Wolfrum, E. J. 2011. Feasibility of spectroscopic characterization of algal lipids: Chemometric correlation of NIR and FTIR spectra with exogenous lipids in algal biomass. BioEnergy Research, 4, 22–35.

~ M ~

Ma, F., Hanna, M.A. 1999. Biodiesel production: a review. Bioresource Technology, 70(1), 1–15.

Ma, X., Chen, T., Yang, B., Liu, J., & Chen, F. 2016. Lipid production from Nannochloropsis. Marine Drugs, 14(4), 61.

Mahamuni, N. N., & Adewuyi, Y. G. 2009. Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) method to monitor soy biodiesel and soybean oil in transesterification reactions, petrodiesel–biodiesel blends, and blend adulteration with soy oil. Energy & Fuels, 23, 3773– 3782.

Martins, A.A., Mata, T.M., Caetano, N.S., Morais Junior, W.G., Gorgich, M., Corrêa, P.S. 2020. Microalgae for biotechnological applications: cultivation, harvesting and biomass processing. Aquaculture, art. 735562.

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

Meher, L. C., Vidya Sagar, D., & Naik, S. N. 2006. Technical aspects of biodiesel production by transesterification: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 10(3), 248–268.

Morais Junior, W. G., Gorgich, M., Corrêa, P. S., Martins, A. A., Mata, T. M., & Caetano, N. S. 2020. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. Aquaculture, 528, 735562.

Mostafa, S.S.M., El-Gendy, N.S. 2017. Evaluation of fuel properties for microalgae Spirulina *platensis* bio-diesel and its blends with Egyptian petro-diesel. Arabian Journal of Chemistry, 10, S2040–S2050.

~ *N* ~

Naik, S. N., Goud, V. V., Rout, P. K., & Dalai, A. K. 2010. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14(2), 578–597.

Nautiyal P., Subramanian K.A. & Dastidar M.G., 2014. Kinetic and thermodynamic studies on biodiesel production from Spirulina *platensis* algae biomass using single stage extraction–transesterification process. Fuel. 135: 228-234.

~ *R* ~

Radakovits, R., Jinkerson, R.E., Fuerstenberg, S.I., Tae, H., Settlage, R.E., Boore, J.L., Posewitz, M.C. 2012. Draft genome sequence and genetic transformation of the oleaginous alga Nannochloropis *gaditana*. Nature Communications, 3, 686.

Ramírez-Verduzco, L.F., Rodríguez-Rodríguez, J.E., Jaramillo-Jacob, A.R. 2012. Predicting cetane number, kinematic viscosity, density and higher heating value of biodiesel from its fatty acid methyl ester composition. Fuel, 91, 102–111.

Ramos, M.J., Fernández, C.M., Casas, A., Rodríguez, L., Pérez, Á. 2009. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. Bioresource Technology, 100, 261–268.

Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., Tredici, M.R. 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. Biotechnology and Bioengineering, 102(1), 100–112.

~ *S* ~

Schafer K., 1998. Accelerated solvent extraction of lipids for determining the fatty acid composition of biological materi*al.* Analytica Chimica Acta, 358: 69-77.

Schenk, P.M., et *al.* 2008. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. BioEnergy Research, 1, 20–43.

Scholz, M. J., Weiss, T. L., Jinkerson, R. E., Jing, J., Roth, R., Goodenough, U., Posewitz, M. C., & Gerken, H. G. 2014. Ultrastructure and composition of the Nannochloropsis *gaditana* cell wall. Eukaryotic Cell, 13(11), 1450–1464.

Scott, S.A., et *al.* 2010. Biodiesel from algae: challenges and prospects. Current Opinion in Biotechnology, 21, 277–286.

Shirazi, H.M., Karimi-Sabet, J., Ghotbi, C. 2017. Biodiesel production from Spirulina microalgae feedstock using direct transesterification near supercritical methanol condition. Bioresource Technology, 239, 378–386.

Simionato, D., Block, M. A., La Rocca, N., Jouhet, J., Maréchal, E., Finazzi, G., & Morosinotto, T. 2013. The response of Nannochloropsis *gaditana* to nitrogen starvation includes de novo biosynthesis of triacylglycerols, a decrease of chloroplast galactolipids, and reorganization of the photosynthetic apparatus. Eukaryotic Cell, 12(5), 665–676.

Simionato, D., Block, M. A., La Rocca, N., Jouhet, J., Maréchal, E., Finazzi, G., & Morosinotto, T. 2013. The response of Nannochloropsis *gaditana* to nitrogen starvation includes de novo biosynthesis of triacylglycerols, a decrease of chloroplast galactolipids, and reorganization of the photosynthetic apparatus. Eukaryotic Cell, 12(5), 665–676.

Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E., & Isambert, A. 2006. Commercial applications of microalgae. Journal of Bioscience and Bioengineering, 101(2), 87– 96.

~ 𝒱 ~

Velasquez-Orta, S. B., Lee, J. G. M., & Harvey, A. 2012. Alkaline in situ transesterification of Chlorella vulgaris. Fuel, 94, 544–550.

~ 𝒲 ~

Wahlen, B.D., Willis, R.M., Seefeldt, L.C. 2011. Biodiesel production by simultaneous extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixed-cultures. Bioresource Technology, 102(3), 2724– 2730.

Wijffels, R.H., Barbosa, M.J. 2010. An outlook on microalgal biofuels. Science, 329(5993), 796–799.

Williams, P.J.le B., Laurens, L.M.L. 2010. Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. Energy & Environmental Science, 3, 554–590.

~ 𝒵 ~

Zaki, M.A., Ashour, M., Heneash, A.M.M., Mabrouk, M.M., Alprol, A.E., Khairy, H.M., Nour, A.M., Mansour, A.T., Hassanien, H.A., Gaber, A., Elshobary, M.E. 2021. Potential applications of native cyanobacterium isolate (*Arthrospira platensis* NIOF17/003) for biodiesel production and utilization of its byproduct in marine rotifer production. Sustainability, 13(4), 1769.

Zanella, L., Vianello, F. 2020. Microalgae of the genus Nannochloropsis: chemical composition and functional implications for human nutrition. Journal of Functional Foods, 68, 103919.