



DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MER ET DE L'AQUACULTURE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

KHICHANE Hiba Ouiza MERSALI Rachid

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN HYDROBIOLOGIE MARINE ET
CONTINENTALE**

Spécialité: Bioressources Marines

THÈME

Modélisation et optimisation de la production de biodiesel
à partir de la microalgue *Nannochloropsis gaditana*

Soutenue publiquement le 29 /08/2020

DEVANT LE JURY

Président	Mme. SOUALILI D.	Pr.	U. Mostaganem
Encadreur	Mme. BENZIDANE D.	MAA	U. Mostaganem
Co-encadreur	Mme. BELHAKEM F.	MCA	U. Mostaganem
Examineur	Mme. BORASALI S.	MCB	U. Mostaganem

Année universitaire 2019/2020

Remerciement

NOUS tenons tout d'abord à remercier :

Notre Encadreur Mme BENZIDANE Dehiba, Maître assistante à l'Université d'Abd El Hamid Ben Badis, pour la confiance qu'elle nous a accordé en acceptant d'encadrer ce travail. J'aimerais également lui dire à quel point nous avons apprécié sa grande disponibilité, sa patience et ses encouragements.

Tout le respect à notre Co-encadreur Dr. BELHAKEM F., pour son soutien

Notre gratitude revient à Pr. SOUALILI D., d'avoir accepté de présider notre jury.

On tiens à exprimer toute notre reconnaissance à Dr. BORALI S., de nous avoir fait l'honneur de participer au jury de cette soutenance.

Merci aux chef de département Dr. BELBACHIR N. ainsi qu'à son adjoint Dr. Bouzaza Z. pour leurs disponibilité.

Nous voulons également remercier tous les professeurs ainsi que tous nos collègues en leurs souhaitant une bonne continuation

En fin nous remercions nos frère BENALI cherif et Simoud Thiziri Hiba pour leurs soutien et encouragement afin de finir notre mémoire de fin d'étude merci infiniment.

Dédicace

Je dédie ce MEMOIRE a

: Mes parents

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle. Gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi et mes frères.

Mes grand parents Qu'Allah leur fasse miséricorde et repose leur esprit

Ma grand-mère pour son encouragement que dieu la protège

*Mes professeurs qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un savoir bien acquis
Et enfin a moi-même pour tous les défis que J'ai soulever dans mes études et d'être courageuse et déterminer pour pouvoir en finir*

Hiba Ouiza

Dédicace

*Je dédie ce mémoire de fin d'étude à la meilleure mère au monde qui m'a
accompagné tout au long de mes études0*

À mon frère,

À ma sœur,

Et à toutes mes familles,

À tous mes amis

À Mes camarades de la promotion

À tous nos amis et nos collègues.

M. Rachid

Résumé

Face à l'épuisement des réserves en carburants fossiles et afin de subvenir à une demande toujours croissante en énergie pour le transport, les scientifiques se tournent désormais vers une ressource quasi-inépuisable et renouvelable : la biomasse. Au sein de la biomasse, les microalgues représentent une source potentielle de biocarburant car elles peuvent contenir des fortes teneurs en lipides et hydrocarbures. Leur croissance extrêmement rapide, l'utilisation du CO₂ et de l'énergie solaire pour leur croissance et l'absence de compétition avec l'agriculture traditionnelle confèrent aux micro-algues une très forte attractivité. Ce qui incite à développer de nouvelles techniques pour optimiser cette production d'esters méthyliques d'acides gras (FAME, biodiesel) à partir de la biomasse microalgale de *Nannochloropsis gaditana*

L'objectif de notre travail était d'étudier des articles scientifiques qui traitent sur la production du biodiesel et l'optimisation de la transestérification chez la microalgue *Nannochloropsis gaditana* et d'élaborer une synthèse, à partir de ces travaux. Deux articles ont été traités (Macias-Sanchez *et al.*, 2015 ; Macias-Sanchez *et al.*, 2018) et les conclusions suivantes ont été tirées :

Le résultat de Macias-Sanchez *et al.* (2015) ont constaté que le contenu total des lipides lipidiques et des lipides saponifiables (SL) de la biomasse de *N. gaditana* était de 22,5 % et 11,1 % de la biomasse sèche, respectivement.

Une conception Box-Behnken (BBD) à trois variables a été appliquée par Macias-Sanchez *et al.* (2018) pour les trois paramètres suivants : concentration d'acide sulfurique (catalyseur), le rapport méthanol/SL et le rapport hexane/SL. Le meilleur rendement FAME a été obtenu avec un rapport méthanol/SL de 254 mL/g, une concentration d'acide sulfurique de 3,7 % (v/v) et un rapport hexane/SL de 107,7 mL/g à 100°C et pendant 105 min. Dans ces conditions, 100% des SL ont été transformés en FAMEs.

Mots clés : Microalgues, Biodiesel, *Nannochloropsis gaditana*, Transestérification, Box-Behnken, Modélisation.

TABLE DES MATIERES

I.	Introduction.....	01
II.	Synthèse bibliographique	03
1.	Généralités sur les algues	
1.1.	Les macroalgues.....	03
1.2.	Les microalgues	04
1.2.1.	Classification.....	04
1.2.2.	Composition biochimique des micro-algue.....	05
1.2.3.	Principales utilisations des algues	06
	A. Alimentation humaine et animales	06
	B. Pharmaceutique	07
	C. Environnement et énergie	07
	D. Production d'énergie.....	09
	E. Cosmétique	10
	F. Agroalimentaire	10
2.	Le biocarburant	
2.1.	Définition.....	11
2.2.	Les sources de biocarburants	11
2.2.1.	Biocarburants de 1ere génération	11
2.2.2.	Biocarburants de 2eme génération	12
	A. Filière biochimique	13
	B. Filière thermochimique	14
2.2.3.	Biocarburants de 3eme génération	15
3.	Production du biodiesel	
3.1.	Définition du biodiesel	16
3.2.	Transestérification	16
3.2.1.	Historique	17
3.2.2.	Les différents paramètres influent la réaction de transestérification	
3.2.2.1.	Le type e catalyseur	17
3.2.2.2.	Nature d'alcool	18
3.2.2.3.	Influence du rapport molaire alcool/huile	18
3.2.2.4.	Influence d'eau et d'acide libre	19
3.2.2.5.	Influence de temps et température de réaction	19
4.	Espèce étudiée	
4.1.	<i>Nannochloropsisgaditana</i>	20
4.1.1.	Taxonomie	20
4.1.2.	Caractéristiques	20
4.1.3.	Paroi cellulaire de <i>Nannochloropsisgaditana</i>	21

III. Matériel et méthode

1. Espèces de microalgues étudiées.....	22
2. L'extraction.....	22
2.1 Extraction des lipides par la méthode de soxhlet	22
2.1.1. Protocole de soxhlet.....	22
2.2. Extraction des lipides par la méthode de transestérification.....	24
2.2.1. La réaction de transestérification.....	24
2.2.2. Caractéristiques des produits utilisés.....	25
2.2.2.1. Méthanol.....	25
2.2.2.2. Acide sulfurique.....	26
2.2.2.3. Hexane.....	27
2.2.3. Mode opératoire.....	28
2.2.3.1. Calcul le rendement de la synthèse de biodiésel.....	30

IV. Méthode et logiciel utilisé

1. Introduction.....	33
1.1. Définition de plan de Box –behnken.....	33
1.2. Avantage du modèle de Box –behnken.....	33
1.3. Plan Box –behnken.....	34
2. Application du Box –behnken.....	35
2.1. Placement des points.....	36
3. Construction de la matrice d'expérimentation.....	36

V. Synthèse et interprétation des résultats trouvés par différents auteurs

1. Teneur en lipides de la biomasse micro-algale	33
2. Analyse de Box-Behnken.....	39
3. Comparaison avec des études récentes de transestérification directe avec la biomasse microalgue humide	44
4. Teneur en lipides de la biomasse micro algales	46
5. Influence du rapport méthanol/SL sur le rendement FAME	47

6. Influence de la concentration du catalyseur	49
7. Influence de la température et du temps de réaction.....	49
VI. Conclusion	48
VII. Références bibliographiques	50

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les quatre principaux processus de valorisation énergétique de la biomasse de microalgues	09
Figure 2 : les trois générations des biocarburants	11
Figure 3 : Biodiesel de première génération	12
Figure 4 : procédé de production d'éthanol 2eme génération	13
Figure 5 : Gazole de synthèse ou BTL (Biomass To Liquid)	14
Figure 6 : les biocarburants de 3eme génération	15
Figure 7 : Réaction de la transestérification	16
Figure 8 : Les trois étapes successives et réversibles de la réaction de la transestérification .	17
Figure 9 : <i>Nannochloropsis gaditana</i> (100).....	20
Figure 10 : Protocole de l'extraction	22
Figure 11 : Montage d'un appareil de Soxhlet	23
Figure 12 : Transestérification des triglycérides avec un alcool pour obtenir un biodiesel	25
Figure 13 : Structure développée de méthanol	25
Figure 14 : structure développée de l'acide sulfurique	27
Figure 15 : structure développée de L'hexane	28
Figure 16 : Schéma de la transestérification	29
Figure 17 : plan de Box-Behnken pour trois facteurs	34
Figure 18 : Le domaine de variation du facteur	36
Figure 19A : Les parcelles de surface de réponse du rendement fameux ont été affectées par la concentration du catalyseur, le rapport méthanol/SL et le rapport hexane/SL	42.
Figure 19B : Les parcelles de surface de réponse du rendement fameux ont été affectées par la concentration du catalyseur, le rapport méthanol/SL et le rapport hexane/SL	43.
Figure 19C : Les parcelles de surface de réponse du rendement fameux ont été affectées par la concentration du catalyseur, le rapport méthanol/SL et le rapport hexane/SL.....	44.
Figure 20 : Influence du rapport méthanol/SL sur le rendement FAME par transestérification directe de la biomasse humide de <i>N. gaditana</i> micro-algal	48.
Figure 21 : Effet de la concentration de catalyseur (chlorure d'acétyl) sur le rendement fameux par transestérification directe de la biomasse humide de <i>N. gaditana</i> micro-algale...	50
Figure 22 : Effet de la température et du temps de réaction sur le rendement fameux par transestérification directe de la biomasse humide de <i>N. gaditana</i> micro-algale	51

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Diversité des microalgues eucaryotes et procaryotes, marines et d'eau douce...	05
Tableau 2 : Compositions biochimiques de micro-algues (Becker, 2007).....	06
Tableau 3 : propriétés physico chimiques du méthanol	26
Tableau 4 : propriétés physico chimiques de l'acide sulfurique	27
Tableau 5 : propriétés physico chimiques de l'hexane	28
Tableau 6 : Paramètres Box-Behnken pour une expérience à trois facteurs	35
Tableau 7 : Domaine d'étude	36
Tableau 8 : Composition en acides gras (% des acides gras totaux dans la biomasse) de la biomasse humide de la microalgue <i>N. gaditana</i> (Macias-Sanchez <i>et al.</i> 2018).	38
Tableau 9 : Domaine expérimental (A) et conception de Box-Behnken : variables naturelles et codées pour chaque expérience et réponses expérimentalement observées pour le rendement FAME (B).....	40
Tableau 10 : Effets estimés et analyse de la variance du processus étudié	41
Tableau 11 : Conditions et résultats obtenus dans des études récentes concernant la production de FAME par transestérification directe de SL contenues dans la biomasse micro-algale ...	45
Tableau 12 : Composition des acides gras (wt% par rapport aux acides gras totaux de la biomasse) de la biomasse de pâte humide de micro-algale <i>Nannochloropsis gaditana</i>	46
Tableau 13 : Conditions et résultats obtenus dans des études récentes sur la production d'AMP par transestérification directe des SL contenues dans la biomasse micro-algale humide et lyophilisée	47.

LISTE DES ABREVIATIONS

BBD	Box Behnken design
CH₃OH	méthanol
C₆H₁₄	hexane
H₂SO₄	Acide Sulfurique
RSM	Reynolds stress model
% :	Pour cent
CO₂ :	Dioxyde de carbone
β	Béta
DHA	acide docosahzxaénoïque
EPA	acide eicosapentaénoïque
E10	éthanol 10
EMHV	Ester Méthylique d'Huile Végétale
EEHV	Ester Ethylique d'Huile Végétale
Btl	Biomass to Liquid
DME	Le diméthyl-éther
BP	british petroleum
TG	Triglycérides
DG	diglycérides
MG	monoglycérides
TLs	lipides totaux
SLs	des lipides saponifiables
NSLs	des lipides non saponifiables
FAMEs	faty esters de méthyle d'acide gras
PUFA	acide gras polyinsaturé
Σ	somme
FFA	acide α-linolénique
°C	Degré Celsius
ml/g.	Millilitre par gramme
H :	Heur



Introduction



I. Introduction :

Les récentes préoccupations de plusieurs spécialistes au niveau des ressources et des réserves disponibles en pétrole ont soulevé plusieurs inquiétudes au niveau de l'approvisionnement à plus long terme. La dépendance de la société face aux combustibles d'origine fossile, et ce principalement dans le secteur des transports, en relation avec l'épuisement des ressources, la fluctuation des cours de pétroles et l'augmentation des gaz à effet de serre, tous concourent à des avancées considérables dans le domaine de la recherche en énergies renouvelables.

Ces recherches visent une substitution ou un remplacement des combustibles fossiles par diverses énergies renouvelables telles que le bioéthanol et le biodiesel (*Isabelle Cantin 2010*) Qui de par ses caractéristiques physico-chimiques proches de celles du diesel d'origine pétrolière, son utilisation sur les moteurs diesels, sans nécessiter d'une modification majeure, et la technique de fabrication facilement décentralisable des biocarburants, incite à étudier et à optimiser leur technique d'élaboration. (*Rajaonarivony 2014*)

Ces efforts de recherche se sont orientés vers la production à partir des microalgues à métabolisme autotrophe, c'est-à-dire utilisant le rayonnement solaire comme source d'énergie ainsi que le CO₂ comme source de carbone. Des résultats intéressants ont été obtenus tout en permettant une production sur des terres infertiles ou délaissées. Pour l'atteinte d'une productivité intéressante, ces microalgues nécessitent toute fois un rayonnement solaire optimal retrouvé principalement dans la zone équatoriale.

Une autre alternative explorée est la production de biodiesel à partir des microalgues à métabolisme hétérotrophe. Celles-ci se caractérisent par leur capacité de croissance dans l'obscurité et donc indépendamment du rayonnement solaire. Une source de carbone doit toutefois être fournie pour assurer la croissance de celles-ci. Étant donné la possibilité de cultiver ces microalgues dans des fermenteurs.

pour optimiser les paramètres de processus de production de biodiesel , plusieurs auteurs ont utilisé la technique box behenken design (BBD) en étudiant les principaux facteurs (le rapport molaire méthanol-huile, la température de réaction, la pression et le temps de réaction), affectant le rendement du biodiesel à l'aide de RSM avec la technique BBD, utilisé pour étudier l'interaction des variables de processus dans la synthèse du biodiesel à partir de microalgues et pour prédire les conditions de processus optimales pour le rendement maximal (91 % de biodiesel). (*Srikanthet all 2018*)



Synthèse Bibliographique



II. Synthèse bibliographique :

1. Généralités sur les algues :

Les algues sont des organismes photosynthétiques que l'on trouve dans les milieux aquatiques d'eau douce ou marin, ainsi que dans de nombreux milieux terrestres. Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18% du règne végétal. (*Garon-lardiere 2004*)

Les algues regroupent un ensemble d'organismes très variés, divisés en deux groupes :

- Les macro-algues
- Les micro-algues

1.1. Les macro-algues :

Les algues regroupent un ensemble de végétaux photosynthétiques très divers et dont l'appareil végétatif relativement simple est appelé «thalle». Celui-ci contient une structure à sa base (rhizoïdes, crampons, disques...) permettant l'ancrage de l'algue sur un support: une roche (algues épilithes), ou une plante (algues épiphytes), ou un animal (algues épibiontes) ou parfois même le sable. Le thalle présente une grande diversité de formes allant de lames simples à des structures plus complexes semblables à des tubes, des tiges et des feuilles ou encore des boules remplies d'eau. La texture est également très variée: certaines algues sont gélifiées, voire de texture cartilagineuse ou spongieuse.

Le nombre et le type de ramifications (insertion, organisation et hiérarchisation de ces ramifications par rapport à l'axe principal) sont des critères importants pour identifier les algues. Enfin, certaines algues présentent un thalle très rigide, suite à l'accumulation de carbonate de calcium ou aragonite, dans les parois de leurs cellules. Certaines algues rouges sont même presque entièrement calcifiées et forment des croûtes aussi dures que les rochers leur servant de support. (*Zitouni.,2015*)

1.2. Les micro-algues :

Les micro-algues sont des organismes microscopiques unicellulaires photosynthétiques qui se développent dans les milieux fortement aqueux et sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone (CO₂) en un ensemble de produits

organiques. On utilise le terme «micro» car la taille d'une micro-algue varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres.

L'existence des micro-algues et plus précisément des cyanobactéries remontent à plus de trois milliards d'années. En utilisant l'énergie solaire, elles produisirent de l'oxygène qui s'accumula lentement dans l'atmosphère primitive, atmosphère hostile riche en gaz carbonique et en méthane. L'enrichissement en oxygène de l'atmosphère primitive conduisit à la création de la couche d'ozone, qui protège la Terre des rayonnements solaires ultraviolets, et provoqua des modifications du climat et de la composition de la croûte terrestre. Ces changements ont ainsi permis une colonisation des continents par de nouvelles formes de vie animale et végétale (*Dejoyetanzi 2013*).

Tableau 1 : Diversité des microalgues eucaryotes et procaryotes, marines et d'eau douce (*Sialve & Steyer, 2013*).

Règne	Embranchement/Classe
Procaryotes	Cyanophytes
	Prochlorophytes
Eucaryotes	Bacillariophytes
	Charophytes
	Chlorophytes
	Chrysophytes
	Cryptophytes
	Dinophytes
	Euglenophytes
	Glaucophytes
	Haptophytes
	Phaeophytes
	Rhodophytes

1.2.1. Classification :

Les microalgues constituent un groupe extrêmement hétérogène rassemblé autour d'une cohérence physiologique : la photosynthèse oxygénique. Cette famille rassemblerait de

plusieurs centaines de milliers à plusieurs millions d'espèces selon les estimations, parmi lesquelles 47000 espèces sont décrites.

Par comparaison, la diversité des plantes supérieures est de l'ordre de 400 000 espèces. La classification (**Tableau 1**) de cette diversité est complexe et la taxonomie est sujette à de fréquents bouleversements du fait notamment de l'utilisation des techniques de phylogénie moléculaire. (*Sialveet al, 2013*).

1.2.2. Composition biochimique des microalgues :

L'intérêt des micro-algues se manifeste par la diversité de leurs compositions biochimiques. Cette biomasse se différencie principalement des autres végétaux par sa richesse en lipides, protéines, polysaccharides, vitamines, pigments et antioxydants. Le (**Tableau 2**) recense la composition chimique de différentes micro-algues. (*Dejoye 2013*).

Tableau 2 : Compositions biochimiques de micro-algues (*Becker, 2007*)

Micro-algues	protéines	Polysaccharides (%)	Lipides (%)
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6
<i>Porphyridiumoruenium</i>	28-39	4-57	9-14
<i>Sporulina plantensis</i>	46-63	8-14	4-9
<i>Synechococcus sp</i>	63	15	11

1.2.3. Principales utilisations des algues :

Au cours des dernières années, de nombreux pays se sont intéressés aux algues pour satisfaire leurs besoins nutritionnels et économiques par la recherche de nouvelles applications dans divers domaines (*El Gamal, 2010*).

a. Alimentation humaine et animale

Depuis des millénaires, macro-algues et microalgues sont récoltées pour un usage alimentaire. Utilisée par les Mayas, la Spiruline est par exemple encore récoltée et consommée par les habitants des bords du lac Tchad. Si certains pigments sont utilisés comme

colorants alimentaires (β -carotène, phycobiliprotéines), la contribution à la nutrition humaine des sociétés modernes reste essentiellement confinée à la nutraceutique (*Milledge, 2011*).

Le phytoplancton en tant que producteur primaire des milieux aquatiques est par ailleurs tout « naturellement » exploité comme ressource nutritive pour l'aquaculture (*Spolaoreet al., 2006*). Dans cette filière majeure de la production mondiale, les microalgues sont utilisées directement pour subvenir aux besoins des stades larvaires des mollusques bivalves et des crustacés (*Muller-Feugaet al., 2003*) ou indirectement comme complément alimentaire et comme substrat pour le zooplancton, base alimentaire de nombreuses espèces aquacoles.

A l'exception de la Spiruline, la faible digestibilité de ces cellules, due à une paroi pseudo-cellulotique, rend toutefois difficile la consommation de cette ressource protéique par les animaux terrestres (*Becker, 1994*).

b. Pharmaceutique

A l'instar des plantes supérieures, un certain nombre de métabolites d'intérêt sont extraits de la dizaine d'espèces exploitées industriellement à l'heure actuelle. Parmi ceux-ci, les caroténoïdes sont utilisés comme antioxydants (Asthaxanthine) et comme colorants à usage alimentaire, pharmaceutique (β -carotène, phycobiliprotéines).

Les lipides constituent également une très large classe de molécules que la plupart des microalgues peuvent accumuler dans d'importantes proportions de leur poids sec. Les acides gras polyinsaturés – qui dans le milieu naturel se retrouvent concentrés dans les organismes marins en position inférieure dans la chaîne trophique – appartiennent à la classe des oméga-3 et oméga-6 comme les DHA et EPA. Également, des molécules élaborées par des diatomées, dinoflagellés et cyanobactéries font l'objet de travaux de recherche car elles présentent des propriétés anticancéreuses (*Folmeret al., 2010*). D'autres composés aux propriétés antifongiques, antibactériennes, antivirales et antihistaminiques comptent également parmi les molécules à intérêt pharmaceutique.

c. Environnement et énergie

➤ Traitement des effluents liquides

Etant donné que leurs conditions de croissance et leur activité métaboliques requièrent de l'eau et des éléments nutritifs (macro et micro-éléments), les microalgues ont la capacité de croître sur une vaste gamme d'effluents. La littérature scientifique rapporte un grand nombre

de gisements auxquels les microalgues furent confrontées avec succès: eaux résiduaires urbaines, effluents d'élevages (*Mulbryet al., 2008*) et effluents industriels comme les digestats (*Levineet al.,2011*) ou encore les lixiviats de décharges (*Lin et al, 2007 ; Eminenour-Muzalinaet al, 2011 ; Richards et al, 2013*).

➤ **Traitement des métaux**

Indispensables au métabolisme de tous les êtres vivants à l'état de trace, les ions métalliques se révèlent toxiques pour des concentrations excessives. A la différence des polluants organiques, ils sont non biodégradables et s'accumulent dans les organismes vivants, directement ou concentrés via la chaîne trophique, et expriment alors leur toxicité. Ils sont transférés en excès dans le milieu naturel portés dans les rejets d'un grand nombre d'activités industrielles (métallurgie, exploitation minière, production de fertilisants et de pesticides, ...). Le traitement de ces métaux en solution se réalise couramment via des techniques physico-chimiques (précipitation/chélation, filtration membranaire...) et biologiques. Parmi ces dernières solutions, les microalgues se distinguent à la fois par une certaine tolérance à la présence de ces métaux et des rendements importants de fixation. A ce titre et étant donné leur position dans les chaînes trophique des milieux aquatiques, ces organismes sont utilisés comme indicateurs éco-toxicologiques de la qualité des eaux vis-à-vis des métaux lourds notamment. (*Monteiro et al. 2012*) décrivent un mécanisme de fixation des métaux qui se décompose en deux temps :

- Adsorption : l'adsorption peut se réaliser directement sur la paroi des cellules et/ou indirectement dans un mucus exo-polysaccharidique. Cette première étape, rapide et réversible, mobilise les charges portées par les groupes fonctionnels chargés négativement portés par la paroi.
- Assimilation dans le cytoplasme : cette réaction est plus lente, mobilise un mécanisme actif et est irréversible. Les ions rejoignent leur destination et leur fonction métabolique ou expriment leur toxicité.

➤ **Traitement des effluents gazeux**

Le CO₂, identifié comme le gaz contributeur majeur à l'effet de serre, voit sa concentration en constante augmentation dans l'atmosphère depuis la révolution industrielle. Avec un impact avéré sur le réchauffement climatique, cette problématique a notamment motivé la recherche de solutions de piégeage de ce gaz avant sa libération et sa dilution dans l'atmosphère. Parmi

ces technologies envisageables, sont étudiées les procédés physiques (capture et stockage du CO₂) et les solutions biologiques de fixation.

Les solutions physiques de capture et de stockage se révèlent toutefois particulièrement coûteuses mais font l'objet de nombreuses expérimentations aux échelles pilotes et préindustrielles. La croissance des microalgues en conditions non limitantes en carbone compte parmi les enjeux clés de la production de masse (*Benemann et Woertz, 2012*). L'utilisation de la photosynthèse pour la fixation de CO₂ d'origine anthropique répond ainsi à la fois à un enjeu environnemental du point de vue des activités industrielles particulièrement émettrices et à un enjeu économique sur le versant culture de masse des microalgues.

d. Production d'énergie

La production d'énergie à partir de microalgues est sans aucun doute le moteur de l'engouement et des activités de recherches croissantes mobilisées autour du potentiel offert par ces organismes depuis le début du XXI^{ème} siècle.

A l'instar des gisements de biomasses mobilisés dans les filières bioénergies, et du fait d'une expression phénotypique métabolique identique aux plantes supérieures, les travaux portant sur la valorisation énergétique des microalgues concernent pour l'essentiel les mêmes filières (**Figure 1**). D'autres voies sont également explorées, comme la production directe d'hydrogène et l'utilisation de ces organismes dans des piles microbiennes.

On distingue plusieurs types de biocarburants dont :

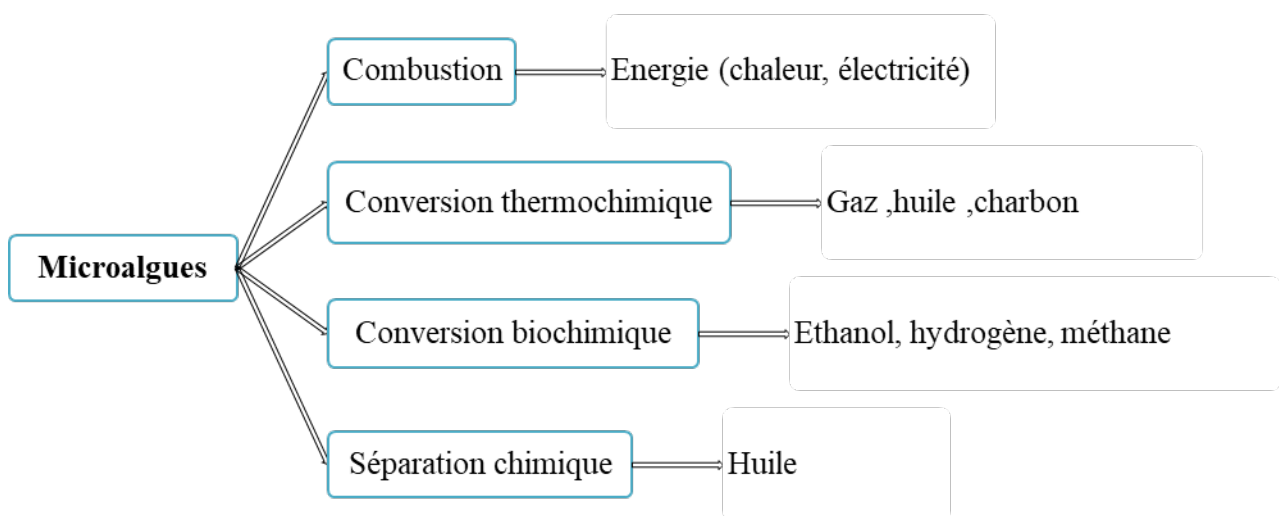


Figure 1 : Les quatre principaux processus de valorisation énergétique de la biomasse de microalgues

- **Le bioéthanol**

Alcool obtenu par fermentation puis distillation des sucres contenus dans les plantes sucrières telles que la canne à sucre, la betterave à sucre, le topinambour. Lorsque le bioéthanol est produit à partir de céréales telles que le maïs ou le blé, une étape intermédiaire d'hydrolyse (généralement enzymatique plutôt que chimique) est nécessaire pour transformer l'amidon contenu dans la céréale en sucre. L'éthanol est mélangé à l'essence dans une proportion de 10 % pour donner un carburant automobile couramment appelé E10, Récemment, des chercheurs ont formulé de nouveau bioéthanol, qui ont la particularité d'être issus de la matière lignocellulosique (*Tarabet 2012*)

- **Le biométhane**

Est le principal constituant du biogaz issu de la fermentation méthanique (ou méthanisation) de matières organiques animales ou végétales riches en sucres (amidon, cellulose, plus difficilement les résidus ligneux) par des micro-organismes méthanogènes qui vivent dans des milieux anaérobies. Les principales sources sont les boues des stations d'épuration, les lisiers d'élevages, les effluents des industries agroalimentaires³⁶ et les déchets ménagers. Les gaz issus de la fermentation sont composés de 65 % de méthane, 34 % de CO₂ et 1 % d'autres gaz dont le sulfure d'hydrogène et le diazote. (*Tarabet 2012*)

e. Domaine cosmétique

Plusieurs espèces de microalgues sont exploitées industriellement dans le domaine cosmétique, principalement les deux espèces *Arthrospira* et *Chlorella* (*Stolz and Obermayer, 2005*). Des extraits d'algues, ayant une activité antioxydante, sont exploitées sur le marché dans la fabrication des produits de soin capillaire, du visage et de la peau ainsi que dans les crèmes solaires (*Pulzet al., 2004*). Par exemple, l'astaxanthine a été reconnue pour avoir des propriétés protectrices contre les rayons ultraviolets et elle a été ajoutée à certains produits. Les cosmétiques à base de lipides (créâmes et lotions) peuvent bénéficier d'extraits de microalgues Synthèse bibliographique 14 pour ses propriétés nutritives et protectrices pour la peau (*Pultz & Gross, 2004*). De plus, des extraits de microalgues sont utilisés pour pigmenter les produits cosmétiques (*Pultz & Gross, 2004*). (*bensoulanaïma et al, 2017*).

f. Domaine agroalimentaire

Les microalgues apparaissent également comme de bons fertilisants des sols pauvres puisqu'elles apportent notamment du potassium, de l'azote, éléments essentiels à la croissance Végétale. Elles permettent aussi de capturer et de garder l'humidité. Enfin, elles accélèrent la pousse des cultures et les protègent en limitant la prolifération des épiphytes (organismes à végétaux qui croient et vivent sur d'autres végétaux sans se nourrir à leurs dépens) et des parasites (*Ville & champs, 2014*). (*Ouali et al, 2017*).

2-Les biocarburants :

2-1- Définition :

Un biocarburant est un hydrocarbure liquide obtenu à partir de matières premières végétales ou animales, par extraction des chaînes carbonées que ces matières contiennent .

2-2- Les sources de biocarburants :

Les conditions technologiques de production des biocarburants évoluent très rapidement, si bien qu'on distingue déjà une première et une deuxième génération de biocarburants, une troisième génération étant même parfois évoquée. (**Figure 2**)

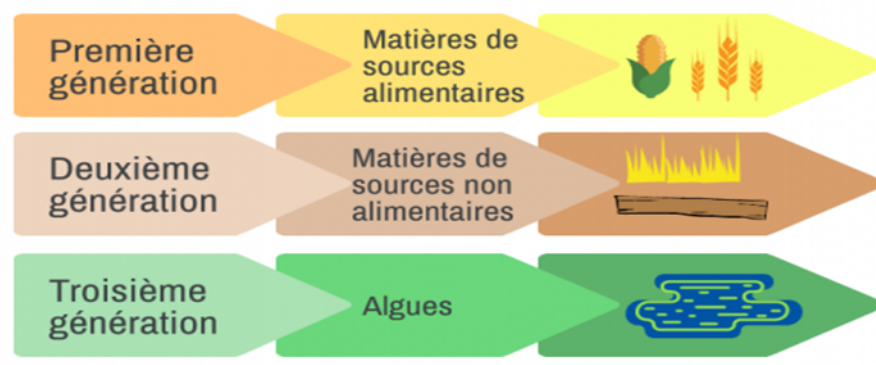


Figure 2 :les trois générations des biocarburants ; <https://parlonssciences.ca/ressources-pedagogiques/les-stim-en-contexte/biocarburants-des-sources-denergie-de-remplacement>)

2-2-1 biocarburants de la première génération :

Actuellement commercialisés, sont produites a partir de la fraction comestible des végétaux ou d'huile usage, au moyen de procédé chimique ou biologiques .les cultures

correspondantes sont alors détournées de la filière alimentaire. Ils sont principalement de deux filières(Christine2015) (Figure 3)

Filière alcool : fermentation des sucres

- Sucres simples: canne à sucre, betterave
- Amidon hydrolysé : blé, maïs, pomme de terre =>Ethanol

Filière huile : La transestérification d'huiles végétales (Colza, Tournesol, Palmier à huile...):

- Ester Méthylique d'Huile Végétale (EMHV)
- Ester Ethylique d'Huile Végétale (EEHV) => Biodiesel

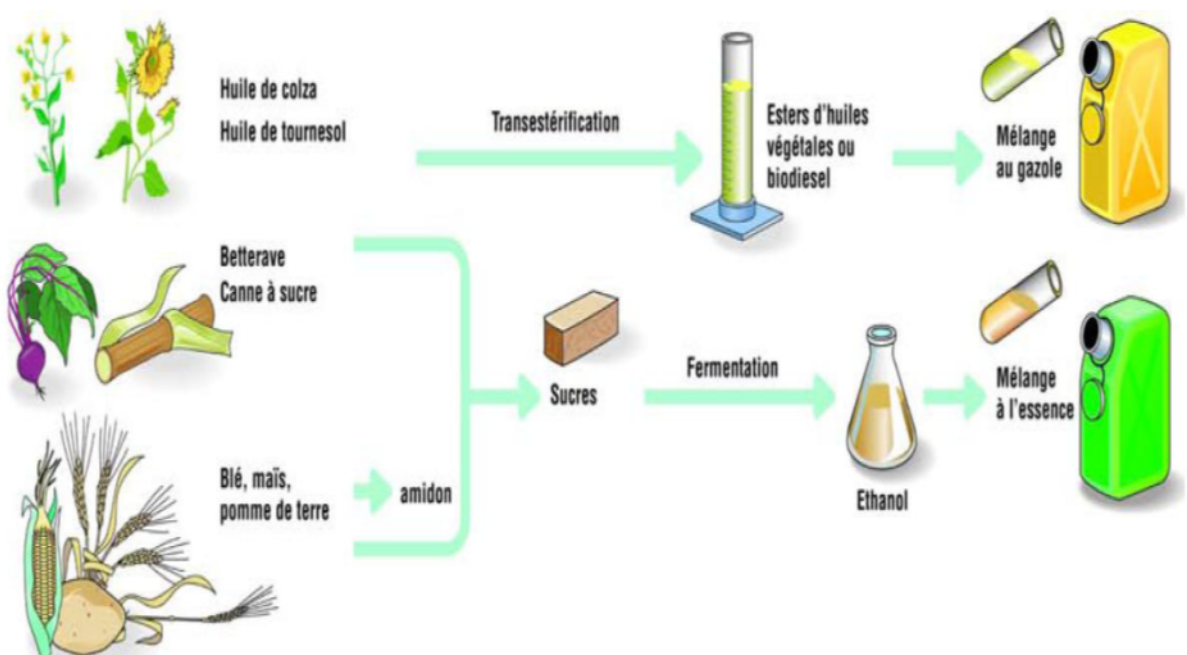


Figure 3 :Biodiesel de première génération

(https://besancon.udppc.asso.fr/images/olympiades_chimie/2015/agrocarburants_sujet.pdf).

2-2-2. Les biocarburants de 2ème génération

Les biocarburants de 2ème génération ou biocarburants cellulosiques sont obtenus à partir de biomasse sans concurrence d'usage avec l'utilisation alimentaire : paille de céréales, miscanthus, bois et résidus forestiers et cultures dédiées. Il y a deux filières de production possibles: la filière biochimique de production d'éthanol cellulosique et la filière thermochimique de production de carburant diesel de synthèse btl (Biomass to Liquid).(Figure 4).

A). Filière biochimique :

Les procédés de production d'éthanol à partir de biomasse lignocellulosique intègrent plusieurs considérations de base:

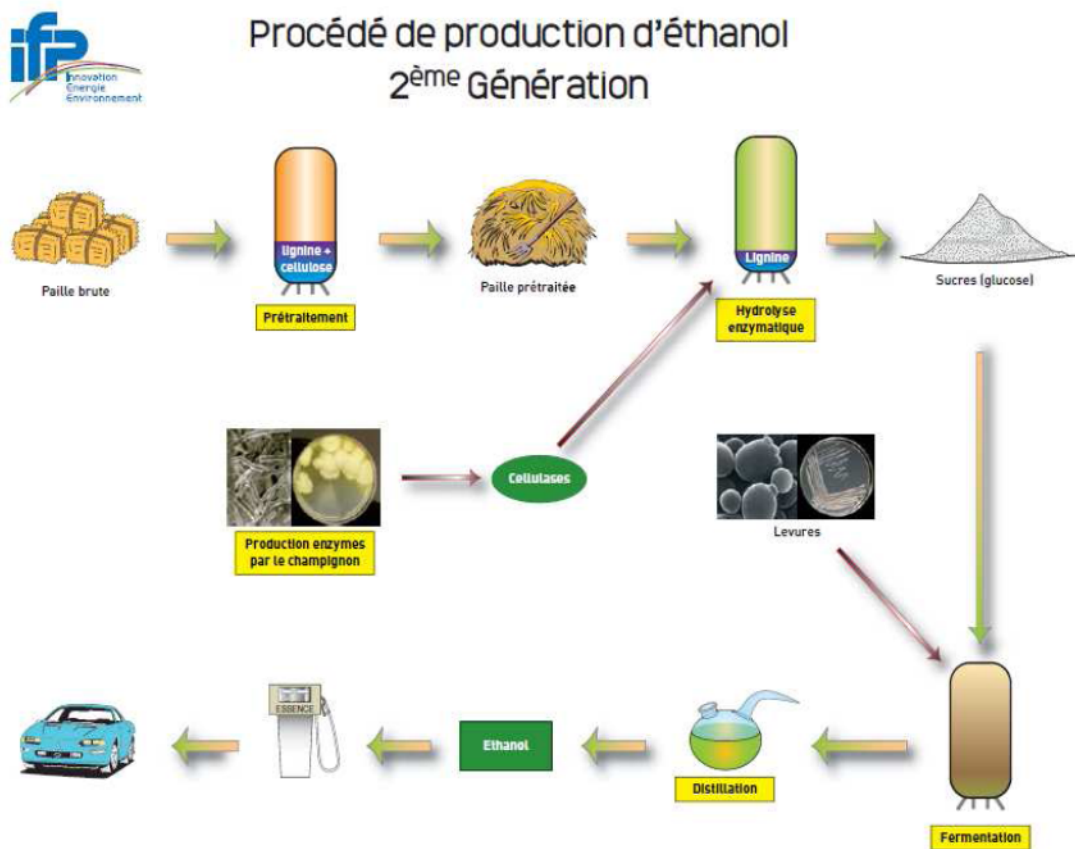


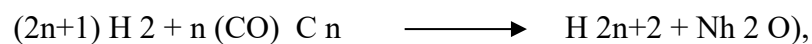
Figure 4 : procédé de production d'éthanol 2eme génération (<http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/pdf/Biocarburants.pdf>)

- La lignine ne peut être fermentée en éthanol
- La matrice lignocellulosique doit être prétraitée pour rendre cellulose et hémicelluloses hydrolysables,
- Les fractions cellulosiques et hémi-cellulosiques sont des sources potentielles de sucres fermentescibles.

Les principales opérations unitaires du procédé sont : le prétraitement de la matière première, l'hydrolyse, la fermentation éthanolique et la séparation de l'éthanol du moût de fermentation.

B-Filière thermochimique :

Gazole de synthèse ou BTL (Biomass To Liquid) Le terme btl est appliquée aux carburants synthétiques produits à partir de biomasse par voie thermochimique l'objectif est de produire des carburants similaires à ceux actuels issus de l'énergie fossile et qui pourront donc être utilisé dans les systèmes existants de distribution de carburant et avec des moteurs standard. Les biocarburants de synthèse tels que le diesel Fischer-Tropsch (qui s'agit d' une réaction chimique catalysée dans lesquels l'oxyde de carbone et d'hydrogène sont convertis en hydrocarbures liquides. Généralement les catalyseurs utilisés, pour la réaction suivante, sont basés sur le fer et le cobalt



Le diméthyl-éther (DME) l'hydrogène (H₂) et, dans une moindre mesure, le bio-méthanol, figurent parmi les filières de biocarburants liquides les plus prometteuses à moyen-long terme. Les projets les plus ambitieux, notons le projet RENEW (dont Volkswagen, BP et Total sont partenaires). L'un des processus de production évalués dans le cadre de ce projet est le procédé Carbo-V® de la société Choren. **(Figure 5)**

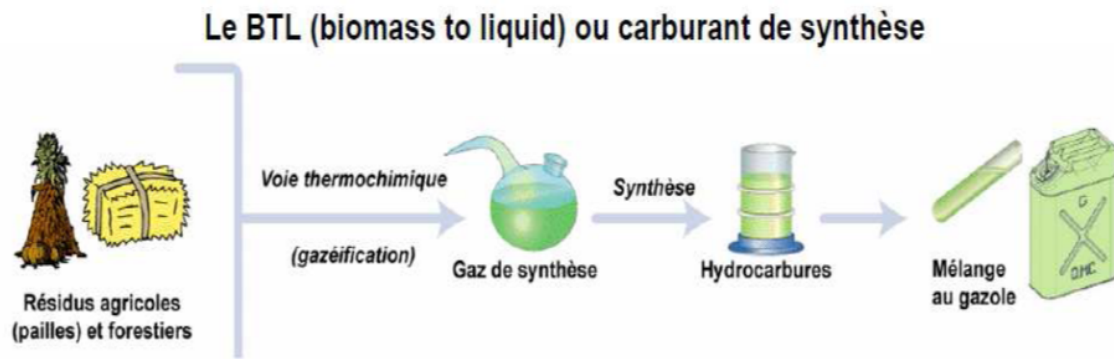


Figure 5 : Gazole de synthèse ou BTL (Biomass To Liquid) (<http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/pdf/Biocarburants.pdf>)

2-2-3 . Les biocarburants de troisième génération

Sont fabriqués à partir de certaines espèces d'**algues**. C'est pourquoi on les appelle aussi algocarburants. Certaines algues sécrètent des substances huileuses, qui peuvent servir de biocarburants.

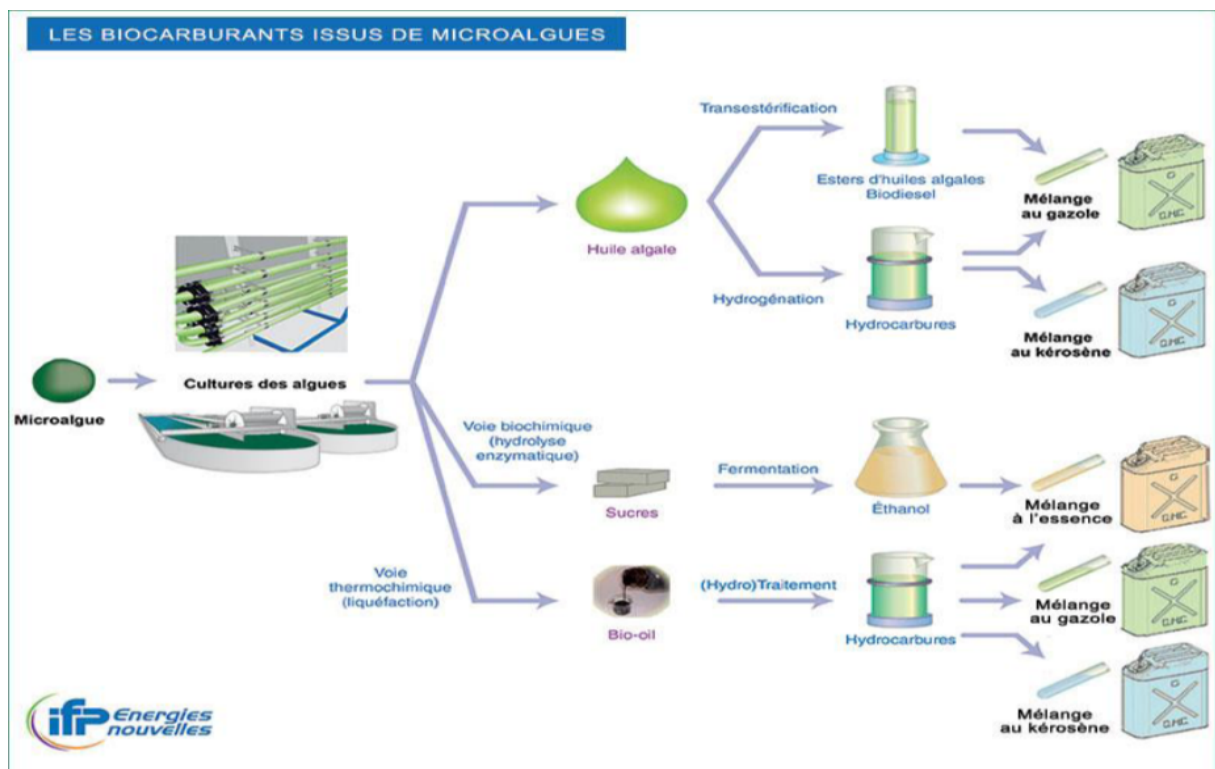


Figure 6 : les biocarbuants de 3eme generation .(<https://www.ifpenergiesnouvelles.fr/enjeux-et-prospective/decryptages/energies-renouvelables/quel-avenir-les-biocarburants>)

Étant donné qu'elles sont capables de **photosynthèse**, elles peuvent fabriquer leur propre énergie. De ce fait, elles sont considérées comme des sources peu coûteuses et hautement énergétiques (d'un point de vue théorique 30 à 100 fois plus efficaces que les oléagineux terrestres) (*Rajaonarivony 2014*) sans déforestation massive ni concurrence avec les cultures alimentaires. (Figure 6)

3-Production du biodiesel :

3-1-définition de biodiesel :

Le biodiesel est un biocombustible biodégradable et une alternative écologique au diesel. Le biodiesel est un ester méthylique obtenu par réaction chimique avec un alcool léger et des matières grasses végétales ou animales (Hamad, 2009). C'est un carburant renouvelable propre qui a récemment été considéré en tant que meilleur candidat pour une substitution de gazole parce qu'il peut être employé dans n'importe quel moteur à allumage par compression sans le besoin de modification (*Nguyen, 2010*).

3-2. La transestérification :

Transestérification est la technique classique de production du biodiesel. Cette réaction permet d'augmenter la volatilité de l'huile indispensable pour une bonne inflammation, et aussi de réduire de deux tiers la masse moléculaire de l'huile, qui a pour conséquence une réduction de la viscosité de la densité de l'huile (*Nguyen Van 2010*).

La réaction de transestérification encore appelée alcoololyse est une transformation d'un estère en un autre ester. Il s'agit d'un procédé dans lequel les huiles végétales, les graisses animales ou les huiles à base de microalgues sont mélangées à un alcool (méthanol ou éthanol) en présence d'un catalyseur. La réaction de transestérification est présentée généralement par l'équation suivante: (Figure 7)

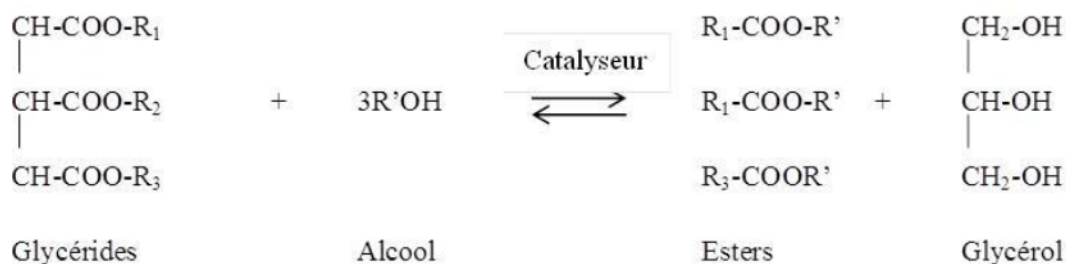


Figure 7 : Réaction de transestérification des triglycérides avec l'alcool.

Elle se décompose en trois réactions successives et réversibles. La première étape est la conversion des triglycérides (TG) en diglycérides (DG); suivie de la conversion des diglycérides en monoglycérides (MG), qui sont finalement transformés en glycérol. À chaque étape, une molécule d'ester d'acide gras est formée.

Les trois étapes successives et réversibles de la réaction de transestérification se présentent comme suit:

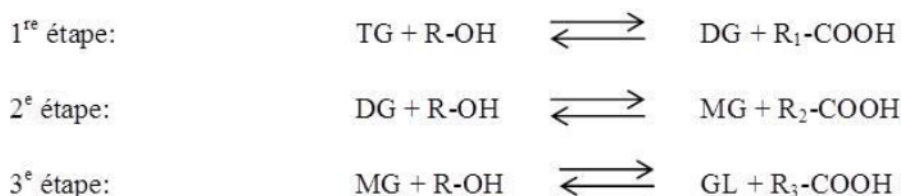


Figure 8 : les trois étapes successives et réversibles de la réaction de transestérification.

3.2.1. Historique :

La transestérification des triglycérides n'est pas un processus nouveau. Elle date dès 1853 lorsque Patrick et Duffy ont mené cette réaction beaucoup d'années avant que le premier moteur Diesel soit fonctionnel. (*Benerab 2016*)

3.2.2. Les différents paramètres influençant la réaction de Transestérification

La transestérification des huiles végétales a été largement étudiée en milieu homogène par Bradshaw, Freedman, Schwab et Hanna ... Ces études expliquent que cette réaction est influencée fortement par la nature du catalyseur (acide ou basique), la nature de l'alcool et de l'huile, la température, la présence des acides libres et d'eau, la vitesse de l'agitation et le temps de la réaction. (*Benerab 2016*)

3.2.2.1. Les types de catalyseurs

Il est admis que, dans le cas de la réaction de transestérification, la catalyse basique est beaucoup plus rapide que la catalyse acide. Ainsi, les temps de réaction varient de 3 à 48 heures avec un catalyseur acide, les réactions sont pour la plupart complètes au bout d'une heure avec un catalyseur basique. Cependant, dans le cas de la catalyse acide, une température élevée, permet d'accélérer la vitesse de réaction. (*Berna 2009*).

3.2.2.2. La nature d'alcool

Comme la réaction est équilibrée, un excès d'alcool est recommandé afin de pousser la réaction dans le sens direct. L'alcool utilisé est un mono alcool aliphatique primaire ou secondaire ayant 1-8 atomes de carbone . Parmi les alcools qu'on peut utiliser dans le processus de transestérification, on trouve le méthanol, l'éthanol, le propanol, le butanol et l'alcool amylique.

Les alcools utilisés le plus fréquemment sont le méthanol et l'éthanol et spécialement le méthanol vu son coût bas et ses avantages physiques et chimiques (chaîne d'alcool plus courte et plus polaire) . Les esters méthyliques d'acides gras ainsi obtenus (connus sous le nom de biodiesel) (*Issariyakul. 2006*)

3.2.2.3. Influence du rapport molaire alcool/huile

D'après la majorité des études, ce rapport et la température semblent être les deux facteurs les plus importants qui gouvernent la vitesse de la réaction de transestérification des huiles végétales .La stœchiométrie de la réaction implique l'utilisation de trois moles d'alcool pour une mole de triglycéride afin d'obtenir une mole de glycérol et 3 moles d'esters d'acides gras.

Toutefois, la réaction de transestérification est une réaction d'équilibre dans laquelle un grand excès d'alcool est demandé pour favoriser la réaction dans le sens de formation des esters . (*Bradshaw et Meuly en 1944*)(*Freedman et al en 1984*) qui a tenté l'optimisation des conditions de la réaction de transestérification des huiles végétales et (*Schwab et al en 1987*) ont montré que pour un maximiser le rendement en catalyse basique, un rapport molaire d'au moins 6 :1 doit être utilisé.

Ils mentionnent aussi qu'un rapport molaire plus grand que 6 :1 rend plus difficiles la décantation du glycérol et la séparation des esters lorsque la glycérine reste dans le milieu réactionnel, elle contribue au déplacement de l'équilibre vers la formation des triglycérides en abaissant le rendement des esters . Par contre, en catalyse acide, un rapport plus élevé est recommandé pour augmenter le rendement de la réaction .(*Berna 2009*)

3.2.2.4. Influence de l'eau et des acides libres

La présence d'eau et des acides libres constitue un paramètre à prendre en considération lors de la réaction de transestérification.

Cette réaction est favorisée dans le cas d'une huile acide ou en présence d'eau. En effet, en présence d'eau les triglycérides s'hydrolysent facilement donnant lieu au glycérol et aux acides libres.

Avec la soude ou la potasse, on obtient facilement les savons de ces acides.

Wright *et al* ont observé qu'en présence d'eau, il y avait une baisse de l'alcalinité à cause de la réaction de saponification (formation de savon) et donc une diminution significative du rendement de la réaction. (FittaFouzi2017)

Ils ont conclu alors que tous les produits doivent être anhydres et que les triglycérides devront avoir une acidité inférieure à 1.

3.2.2.5. Influence de la température et du temps de réaction

La littérature (Freedman *et al* 1984) révèle que la température a une forte influence sur la vitesse de réaction. L'augmentation de température permet d'atteindre rapidement l'état d'équilibre [12]. Cependant, cet équilibre peut être atteint même avec une température ambiante mais nécessitera un temps assez long. Pour un temps donné, on atteint l'équilibre à des températures de 60 –70°C (Aboïna 2009)

En catalyse basique, les réactions de transestérification sont mises en œuvre, généralement, au voisinage de la température de l'ébullition de l'alcool utilisé à pression atmosphérique. Mais ces conditions modérées impliquent l'utilisation d'une huile non acide ou raffinée. Ce prétraitement de l'huile n'est pas nécessaire quand la réaction se déroule à haute température (240°C) et pression (9000 kpa) car dans ces conditions, l'estérification et la transestérification se déroulent en même temps.

En catalyse acide, la réaction est beaucoup plus lente. C'est pourquoi, une température plus élevée est souvent recommandée afin d'augmenter le rendement en ester. (Poré *et Verstraete*, 1952), ont étudié des réactions à des températures plus élevées (120°C) afin d'augmenter la conversion (Berna 2009)

4. Espèces étudiées :

4.1. *Nannochloropsisgaditana*

4.1.1 taxonomie

Embrenchement	Ochrophyta
Classe	<i>Eustigmatophyceae</i>
Ordre	<i>Eustigmatales</i>
Famille	<i>Monodopsidaceae</i>
Genre	<i>Nannochloropsis</i>
Especes	<i>Nannochloropsis aditana</i> (Lubián, 1982).

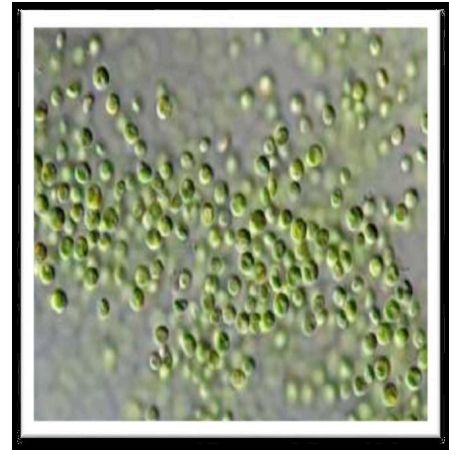


Figure 9: *Nannochloropsisgaditana* (×100)

4.1.2 Caractéristiques :

Le genre *Nannochloropsis* est composé des espèces unicellulaires de très petite taille environ 2 à 5 μm (Kandilianet al., 2013). Ces microorganismes sont des sources de différents pigments comme la chlorophylle a, la zéaxanthine, la canthaxanthine et l'astaxanthine (Lubiànet al., 2002)

Les espèces ont des formes très variables. En effet, les cellules de *N.granulata* ont une forme globulaire à ovale alors que *N.salina* et *N.gaditana* ont une forme cylindrique ; *N.limnetica* et *salina* n'est pas établie (Sudaet al., 2002) (Fawley & Fawley, 2007)

4.1.3. La paroi cellulaire de *Nannochloropsisgaditana*

Est constituée d'une structure bicouche composée d'une paroi intérieure cellulosique (75% de bilan de masse) protégée par une couche hydrophobe algaenan externe (Scholz, 2014).

4.1.4. Les espèces du genre *Nannochloropsis*

Les cinq espèces qui ont été décrites dans le milieu marin ne peuvent pas être discriminées par la lumière ou la microscopie électronique, et par conséquent, les espèces ont été délimitées principalement par analyse de séquence d'ADN. Ces espèces sont : *N. oculata*, *N. salina*, *N. gaditana*, *N. granulata* et *N. limnetica* (Sudaet al., 2002). L'espèce *Nannochloropsis gaditana* est l'exemple de cette étude... (Bouaissa 2014)



Matériels

Et

Méthodes



III. Matériels et méthodes

1. Espèces de microalgues étudiées

Durant cette étude, nous avons utilisé les microalgues *Nannochloropsisgaditana*. Cette souche provient du Laboratoire d'Aquaculture et de Bioremédiation (AquaBior) du département de Biotechnologie à l'université d'Oran 1 Ahmed Ben Bella. La souche nous a été fournie en forme de poudre.

2. L'extraction

L'extraction est une étape nécessaire qui est présente dans de nombreux procédés de fabrication et dans différents domaines industriels relevant de la pharmacie, de la cosmétique, de la parfumerie et de l'agroalimentaire. (Guendzi, 2017)

2.1 Extraction des lipides par la méthode de Soxhlet :

Le schéma d'extraction des lipides est le suivant :

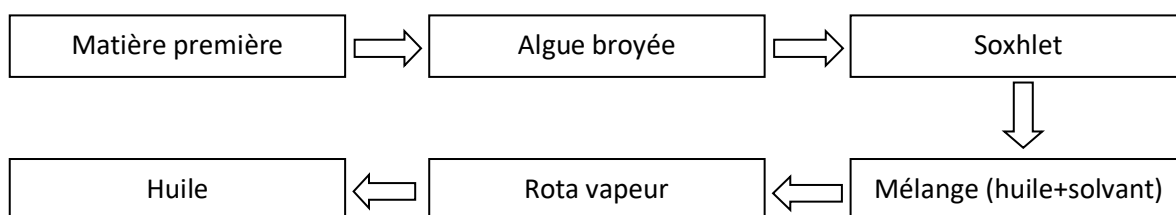


Figure10: Protocole de l'extraction

2.1.1. Protocole de Soxhlet

Il s'agit d'une extraction solide-liquide, L'extracteur de Soxhlet permet le traitement de solides de toutes tailles avec des solvants en phase liquide ou partiellement vaporisés. (Bouhafis et al, 2017)

Le schéma d'un appareil Soxhlet est représenté sur la **figure11**, Il est composé d'un corps en verre, dans lequel est placée une cartouche en papier-filtre épais (une matière pénétrable pour le solvant), d'un tube siphon et d'un tube de distillation. Dans le montage, l'extracteur est placé sur un ballon contenant le solvant d'extraction. Le ballon est chauffé afin de pouvoir faire bouillir son contenu. La cartouche contenant le solide à extraire est insérée dans

l'extracteur, au-dessus duquel est placé un réfrigérant servant à liquéfier les vapeurs du solvant.

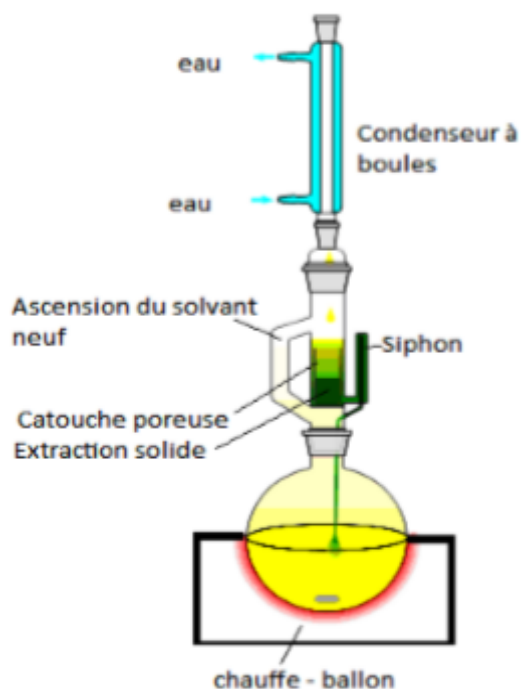


Figure11: Montage d'un appareil de Soxhlet

Le ballon étant chauffé, le liquide est amené à l'ébullition, les vapeurs du solvant passent par le tube de distillation et rentrent dans le réfrigérant pour être liquéfiées. Ensuite, le condensat retombe dans le corps de l'extracteur sur la cartouche, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'au niveau du sommet du tube-siphon, suivi par le retour dans le ballon du liquide de l'extracteur accompagné de substances extraites. Ainsi le solvant dans le ballon s'enrichit progressivement en composants solubles. L'extraction continue jusqu'à l'épuisement de la matière solide chargée dans la cartouche.

La séparation du solvant de l'extrait est fait à l'aide de l'appareil appelé Rotavapor. Dans cet appareil on réalise une évaporation sous vide en utilisant une pompe à vide avec une vanne de contrôle. Pendant l'évaporation le ballon est mis en rotation et plongé dans un bain liquide chauffé. L'appareil est muni d'un réfrigérant avec un ballon-collecteur de condensat. La rotation du ballon crée une surface d'échange plus grande et renouvelée permettant donc d'effectuer une évaporation rapide.

L'abaissement de la pression permet d'évaporer le solvant à température réduite, évitant ainsi la dégradation thermique éventuelle des composés. C'est une méthode d'évaporation simple, utile, douce et rapide. (Penchev, 2010)

Après l'extraction nous avons calculé le rendement d'huile extrait par la relation suivant:

$$\eta = \frac{m_h}{m_t} \times 100$$

Où :

η : Rendement d'extraction

m_h : La masse d'huile extraire en g

m_t : La masse d'algue avant l'extraction en g

2.2. Production du biodiesel par la méthode de transestérification

2.2.1. La réaction de transestérification

La réaction de transestérification encore appelée alcoololyse est une transformation d'un ester en un autre ester. La transestérification est la technique classique de production du biodiésel. Il s'agit d'un procédé dans lequel les huiles végétales, les graisses animales ou les huiles à base de microalgues sont mélangées à un alcool (méthanol ou éthanol) en présence d'un catalyseur. La réaction de transestérification est présentée généralement par l'équation suivante: (Rouamba, 2016)

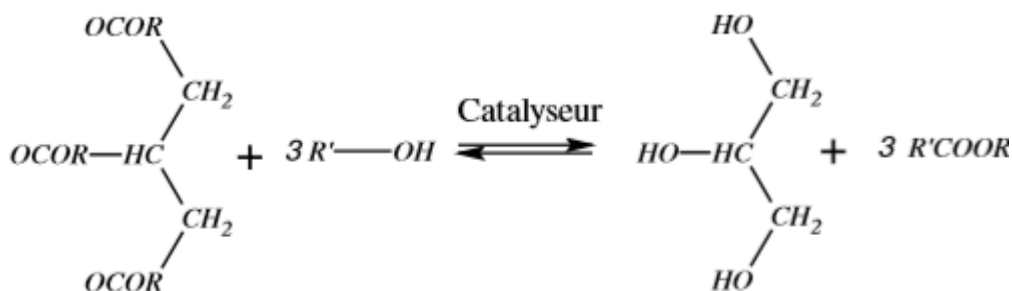


Figure12: Transestérification des triglycérides avec un alcool pour obtenir un biodiesel.

(Khiari, 2016)

2.2.2. Caractéristiques des produits utilisés :

2.2.2.1 Méthanol

Dérivé du gaz naturel, le méthanol est un hydrocarbure composé de carbone, d'hydrogène et d'oxygène. Sa formule chimique est CH₃OH.

Le méthanol est un alcool. C'est un liquide incolore, neutre, polaire et inflammable. Il est miscible à l'eau, aux alcools, aux esters et à la plupart des autres solvants organiques. Il n'est que peu soluble dans les graisses et les huiles. (Bouzine, 2009)

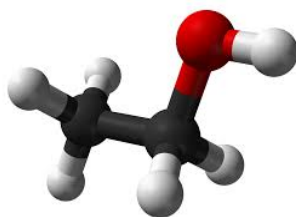


Figure13: Structure développée de méthanol

- **Propriétés :**

Tableau3: propriétés physico chimiques du méthanol

Nom Substance	Détails	
Méthanol	Formule CH ₃ OH	
	Etat Physique liquide	
	Masse molaire	32,04
	Point de fusion 97,8°C	-
	Point d'ébullition	64,5°C

2.2.2.2 Acide sulfurique:

pur est un liquide huileux incolore, inodore, hygroscopique qui se colore en jaune brun en présence d'impuretés.

Il est miscible à l'eau. La dissolution dans l'eau ou dans un mélange eau-alcool s'accompagne d'un grand dégagement de chaleur et d'une contraction du liquide (voir aussi Propriétés chimiques). On trouve, dans le commerce, l'acide sulfurique à diverses concentrations ; l'acide sulfurique concentré est aux environs de 98 %, l'acide sulfurique pour les batteries a une concentration de 33 à 34 %.

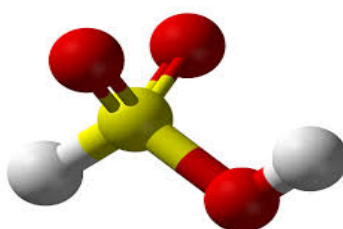


Figure14: structure développée de l'acide sulfurique

Propriétés :

Tableau4: propriétés physico chimiques de l'acide sulfurique

Nom Substance	Détails	
Acide sulfurique	Formule	H ₂ SO ₄
	Etat Physique	liquide
	Masse molaire	98,08
	Point de fusion	10,5 °C (acide pur) 3 à 5 °C (acide à 98 %)
	Point d'ébullition	290 °C (acide pur) 335 (acide à 98 %)

2.2.2.3 Hexane :

Le n- hexane est un liquide incolore avec une odeur légèrement désagréable semblable à celle de l'essence.

Il se dissout légèrement dans l'eau. La limite inférieure d'explosivité du n- hexane est de 1,1%. Le n- hexane est produit à partir de gaz naturel et de pétrole brut. Son utilisation principale dans l'industrie est dans des produits appelés solvants.

Les principales utilisations de ces solvants sont dans la transformation des aliments pour extraire les huiles végétales des cultures, comme agents de nettoyage dans les industries de l'impression, du textile, et dans la fabrication de produits pharmaceutiques. En raison de leur accessibilité facile, les solvants et les colles contenant du n- hexane sont souvent utilisés dans l'abus d'inhalants.

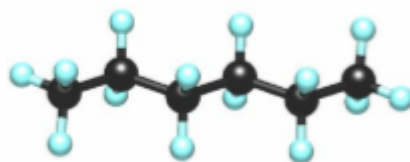


Figure 15: structure développée de L'hexane

Propriétés :

Tableau5: propriétés physico chimiques du méthanol

Nom Substance	Détails	
Hexane	Formule	C ₆ H ₁₄
	Etat Physique	liquide
	Masse molaire	86,17
	Point de fusion	De -95,35°C à -95°C
	Point d'ébullition	De 68,7°C à 69°C

2.2.3. Mode opératoire

La réalisation de la réaction de transestérification est effectuée suivant ce protocole (Nautiyal *et al.*, 2014):

Avant l'expérience nous avons nettoyé tous les équipements par le HCl concentré à 95%, puis on a réalisé le montage de la transestérification. Nous avons rempli le ballon avec un volume calculé d'hexane et de méthanol et ensuite nous avons rajouté 10 g de poudre d'algues sèches (macro-algues et microalgues).

Nous avons utilisé l'acide sulfurique comme catalyseur. Le ballon a été placé dans une plaque chauffante à 75°C avec un agitateur magnétique. Le solvant évaporé va entrer en contact avec le condenseur afin de se refroidir et tombe sur le ballon qui contient les (10g) de poudre d'algue.

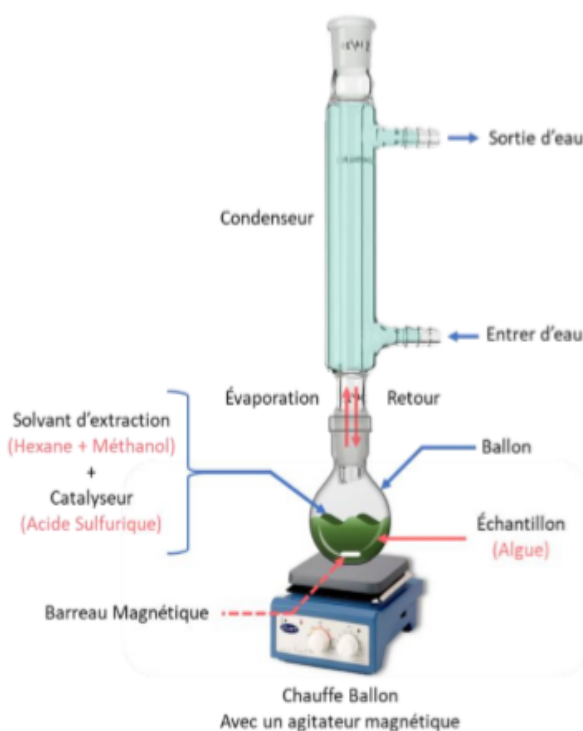


Figure16: Schéma de la transestérification

On a laissé cette opération pendant 2h pour une extraction idéale, après l'opération de l'extraction on a laissé le ballon se refroidir pendant 20min afin de transmettre le mélange obtenu dans une fiole à filtration sous vide pour filtrer le mélange et récupérer le filtrant ;

Ensuite on a mis le filtrant récupérer dans une ampoule a décantation afin d'obtenir 2 phases, phase inferieur (Glycérine) et phase supérieur (Biodiesel), on a gardé la phase supérieure et la phase inferieur a été conservée dans un flacon à 4°C.

Ensuite on a effectué une opération de lavage de la phase supérieur (biodiesel) en utilisant de l'eau distillée à une température de 30°C, Après l'opération de lavage de biodiesel on passe à l'étape d'évaporation à l'aide du Rotavapor pour l'évaporation du solvant (hexane) et récupération du biodiesel.

2.2.3.1 Calcul le rendement de la synthèse de biodiésel

Le rendement a été calculé selon l'équation suivante :

$$\eta = \frac{m}{m'} \times 100$$

Où

η : le rendement

m : la masse de biodiesel

m' : la masse d'huile

IV. Méthode et logiciel utilisé

1. Introduction

Pour optimiser l'organisation des expériences et exploiter efficacement les résultats obtenus, on peut avoir intérêt à utiliser des méthodes telles que les plans d'expérience. (*Gouasmia et al, 2017*)

L'application des plans d'expériences était un moyen pour minimiser le nombre d'expériences à réaliser, montrer l'effet des paramètres étudiés et en déduire les conditions optimales dans le domaine d'étude imposé. Dans ce chapitre on va présenter la méthodologie des plans d'expériences adoptée afin de chercher les conditions optimales pour une extraction avec un meilleur rendement. (*Bazizi, 2017*)

1.1. Définition de plan de Box-Behnken:

Un plan de Box et Behnken est une fraction d'un plan factoriel complet 3^m qui permet d'estimer un modèle du second ordre. Un plan de Box-Behnken pour m facteurs est composé d'un plan en blocs incomplets équilibrés suivant un arrangement particulier de m traitements dans b blocs de taille k , et un plan factoriel à deux niveaux, complété par des points au centre. Dans chaque bloc, un certain nombre de facteurs est utilisé dont les combinaisons constituent le plan factoriel, pendant que les autres facteurs sont maintenus à leurs valeurs centrales. (Abderrahim et al, 2009)

1.2. Avantage du modèle de Box-Behnken

Le modèle de Box-Behnken (BB) présente donc l'avantage d'être moins coûteux en temps (nombre d'essais réduits) et ressources à investir pour l'expérimentation. Le modèle de BB ne permet pas de tester les traitements pour lesquels tous les facteurs sont placés simultanément à leur niveau élevé ou bas. La matrice de Box-Behnken minimise donc les combinaisons situées dans les extrémités du domaine de variation des facteurs où l'on observe en général une réponse non satisfaisante (réponse élevée ou faible). Ceci peut être avantageux lorsque les points situés sur les coins du cube représentent des combinaisons de niveaux de facteurs qui sont chères ou impossible de tester en raison des contraintes physiques du processus. Le plan de BB connaît de nombreuses applications dans plusieurs domaines scientifiques.

Il a été utilisé, dans plusieurs branches de la chimie (chimie analytique, spectrophotométrie, chromatographie etc....) dans le but d'optimiser plusieurs processus chimique et physique, en microbiologie et en phytopathologie le plan de BB est utilisé pour évaluer l'influence des facteurs environnementaux sur la croissance des micro-organismes agroalimentaires. (Bouzaouit et al, 2016)

1.3. Plan Box-Behnken

Un plan Box-Behnken permet d'établir directement des modèles du second degré. Tous les facteurs ont trois niveaux : -1, 0 et +1. Ces plans sont faciles à mettre en œuvre et possèdent la propriété de séquentialité. On peut entreprendre l'étude des k premiers facteurs en se

réservant la possibilité d'en ajouter de nouveaux sans perdre les résultats des essais déjà effectués. Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est construit sur un cube

On place les points expérimentaux non pas aux sommets du cube mais au milieu des arêtes ou au centre des faces (carrés) ou au centre des cubes (**Figure17**) (Jacques, 2006). Cette disposition a pour conséquence de répartir tous les points expérimentaux à égale distance du centre du domaine d'étude, On ajoute des points au centre du domaine d'étude. (Bazizi, 2017)

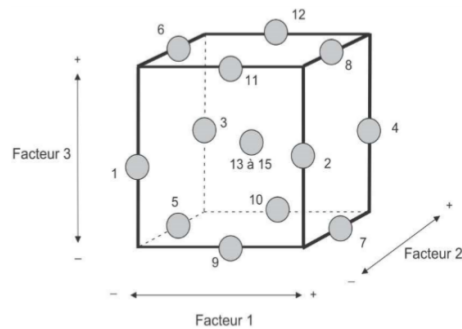


Figure17: plan de Box-Behnken pour trois facteurs.

- **Plan de Box-Behnken pour trois facteurs**

C'est le premier plan de Box-Behnken. Les points expérimentaux de ce plan sont situés aux milieux des arêtes du cube. Le cube possède 12 arêtes. On a l'habitude d'ajouter les points d'expérience au centre du domaine d'étude, en général trois. Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs a donc: $12 + 3$ essais, soit 15 essais, c'est le plan classique indiqué par Box-Behnken. Toutefois les trois essais supplémentaires sont utilisés pour l'analyse statistique. (Rasmal et al, 2017) (**tableau 6**)

Tableau 6: Paramètres Box-Behnken pour une expérience à trois facteurs

Procès	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	-1	-1	0
2	-1	1	0
3	1	-1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	-1	0	1
7	1	0	-1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	-1	1
11	0	1	-1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

2. Application du plan Box-Behnken

La méthodologie des plans d'expérience fait parfois appel à des notions de statistiques et d'analyses un peu poussées, de nombreux logiciels donnent un accès simple et rapide à ces outils performants pour les non spécialistes.

Dans cette étude on a utilisé le logiciel Mini Tab 18 pour établir le plan expérimental, et interpréter les résultats à travers la modélisation avec les surfaces des réponses (Un exemple d'exécution du logiciel est inséré en annexe).

2.1. Placement des points

Les matrices de box-Behnken sont caractérisées par le nombre fixe de valeurs différentes prises par chaque facteur : 3. Par la suite, les différents niveaux seront alors notés (-b, 0, b) (**Tableau7**)

De telles matrices sont construites à partir de matrices factorielles complètes, auxquelles des blocs incomplets équilibrés sont ajoutés. A noter également la présence de point(s) au centre. La construction des matrices de box-Behnken n'étant pas figée, pour une valeur de k à une autre, les coordonnées des points d'expériences sont tabulées pour chacune de ces configurations. (Stéphane, 2002)

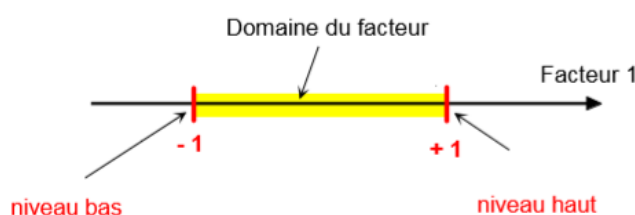


Figure18: Le domaine de variation du facteur

3. Construction de la matrice d'expérimentation

Dans la présente étude on a étudié les trois facteurs suivants : temps d'extraction, la concentration de méthanol et la concentration de catalyseur H₂SO₄.

Le domaine d'étude défini par les niveaux: bas, moyen et haut (**Figure18**) de chaque facteur est résumé dans le (**Tableau7**).

Tableau7: Domaine d'étude

FACTEUR	-1	0	+1
Biomasse :Méthanol (P/V)	1 : 2	1 :6	1 :10
Catalyseur (%)	10	30	50
Temps d'extraction (h)	1	2	3



*Synthèse et
interprétation des
résultats trouvés par
différents auteurs*



V. Synthèse et interprétation des résultats trouvés par différents auteurs

En vue des circonstances (contexte COVID19), nous étions dans l'incapacité d'effectuer la partie matériel et méthodes prévu pour notre mémoire de master II. Nous avons donc présenté la partie résultats et discussion sous forme d'étudier d'articles scientifiques. Les articles en question sont les suivant :

- Biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification (Macias-Sanchez *et al.*, 2015)
- Optimization of biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification using the surface response methodology (Macias-Sanchez *et al.*, 2018)

1. Teneur en lipides de la biomasse micro-algale

Selon le résultat de (Macias-Sanchez *et al.* 2018) (**Tableau8**), le contenu des lipides totaux (TLs) et des lipides saponifiables (SLs) de la biomasse de *N. Gaditana* était de 29,4 % et 28,1% de la biomasse sèche, respectivement ; ce qui signifie que cette biomasse ne contenait que 4,4% des lipides non saponifiables (NSLs) qui ne pouvaient pas être transformés en esters de méthyle d'acide gras (FAMES).

Le **tableau 8** montre également que 76,8 % des acides gras totaux étaient saturés et monoinsaturés, tandis que les acides gras insaturés (PUFA) représentaient 19,1 % du total des acides gras. Le contenu lipidique des microalgues change d'une espèce à une autre. En effet, Contrairement aux trois mêmes contenus dans la microalgue utilisée par *Macias-Sanchez et al.* (2015) (49,3 % des lipides totaux étant des LS, 42 % des acides gras saturés et monoinsaturés et 52,5 % des LNS). Ces différences étaient dues au fait que la microalgue utilisée dans ce travail était cultivée dans des conditions de carence d'azote, ce qui a permis aux pourcentages de SL, d'acides gras saturés et monoinsaturés et de NSL d'augmenter.

Tableau 8 : Composition en acides gras (% des acides gras totaux dans la biomasse) de la biomasse humide de la microalgue *N. gaditana* (Macias-Sanchez et al. 2018).

Acides gras	Composition (wt)
14 :0	7.7± 0.0
16 :0	30.7±0.0
16 : 1n7	24.6±0.0
18 :0	1.4±0.0
18 : 1n9	11.8±0.1
18 : 1n7	0.6±0.0
18 : 2n6	6.2±0.0
18 : 3n3	1.0±0.0
20 : 4n6	3.6±0.0
20 : 5n3	8.3±0.1
Autres	4.1±0.1
Σ Saturé + monoinsaturé	76.8±0.0
Σ PUFAs	19.1±0.0
TLs	29.4±0.5
SLs	28.1±0.2
NSLs	64.0±0.2

D’après le résultat de *Macias-Sanchez et al.* (2015) (**Tableau8**), le contenu total des lipides lipidiques et des lipides saponifiables (SL) de la biomasse de *N. gaditana* était de 22,5 wt% et 11,1 wt% de la biomasse sèche, respectivement. Cela signifie que 50 % des lipides sont des lipides non saponifiables et non convertibles en esters méthyliques à base d’acide gras (FAMEs). Le profil des acides gras de la micro-algale est indiqué dans le tableau 1. Le fractionnement des lipides totaux dans les classes lipidiques a montré que 52,5 wt% des SL étaient des lipides saponifiables neutres et les 47,5 wt% restants des lipides polaires. Les lipides neutres comprennent les LS ainsi que les lipides non saponifiables. Les lipides polaires contiennent également des SL acyglycérols représentaient respectivement 54,7 et 45,3 wt%., Cetteneur élevée en FFA (28,7 wt% des SL et 3,2 wt% du total des lipides) indique que la réaction de transestérification ne peut pas être catalysée par un catalyseur alcalin.

2. Analyse de Box-Behnken:

Dans une étude antérieure, l'extraction du biodiesel a été faite par transestérification direct de biomasse humide de *N. Gaditana* caractérisé par une teneur en eau faible et une teneur en SL plus faible.

Dans l'expérience de *Macias-Sanchez et al.* (2015) l'influence du catalyseur (chlorure d'acétyle), du méthanol/SL, de la température et du temps de transestérification ont été suivies. Un rendement de 100 % de FAME a été atteint à l'aide de 171,1 ml de méthanol/SL, de 5 % (v/v) de chlorure d'acétyle, par rapport au méthanol, à 100° C et pendant 105 min. Les FAMES formés ont été extraits à l'aide de 104 ml d'hexane/g sls; cependant, l'influence de cette variable n'a pas été étudiée.

Dans la présente étude (*Macias-Sanchez et al 2018*), la température optimisée et le temps de réaction ont été maintenus constants et nous avons utilisé la biomasse humide de *N. gaditana* avec une teneur en eau plus élevée (81,8 % ; parce qu'une seule étape de centrifugation a été effectuée) et une teneur en SL plus élevée (28,1 %). En outre, nous avons utilisé de l'acide sulfurique comme catalyseur en raison de son prix inférieur. En conséquent, nous pourrions nous attendre à ce qu'un rapport méthanol/SL et une concentration de catalyseur soient différentes.

Une conception box-Behnken à trois niveaux a été appliquée afin d'optimiser l'influence de la concentration de catalyseur (% v/ v), le rapport méthanol/SL (ml/g,) et le rapport hexane/SL (ml/g,) sur le rendement FAME. Les valeurs choisies pour ces variables (**tableau 9A**) ont été établies en tenant compte des valeurs obtenues ou utilisées dans les travaux précédents. Les rendements expérimentaux de Fatty Acid Methyl Esters (FAME) obtenus dans chacune des 15 expériences effectuées sont indiqués au (**tableau 9B**). Le rendement maximum de FAME (103.3%) dans les conditions expérimentales a été enregistré avec une concentration catalyseur de 5% (v/v), un rapport méthanol/SL de 212 ml/g et un rapport hexane/SL de 107,7 ml/g.

Tableau 9 : Domaine expérimental (A) et conception de Box-Behnken : variables naturelles et codées pour chaque expérience et réponses expérimentalement observées pour le rendement FAME (B).

(A)				
Variables indépendantes	Symboles codés	Niveau		
	X	-1	0	1
Concentration de catalyseur (% v/v)	X ₁	1	3	5
Rapport méthanol /SL (ml/g)	X ₂	62	212	362
Ration hexane/SL (ml/g)	X ₃	26.9	67.3	107.7

(B)				
Test	X ₁ (concentration de catalyseur)	X ₂ (rapport méthanol/SL)	X ₃ (rapport hexane/SL)	Rendement d'extraction Y _{exp} (%±SD)
1	0 (3)	1 (362)	1 (107.7)	78.0 ± 8.0
2	-1 (1)	0 (212)	-1 (26.9)	7.9 ± 6.4
3	1 (5)	0 (212)	-1 (26.9)	51.5 ± 1.1
4	-1 (1)	0 (212)	1 (107.7)	90.3 ± 7.8
5	0 (3)	-1 (62)	1 (107.7)	31.3 ± 4.9
6	0 (3)	0 (212)	0 (67.3)	84.5 ± 6.4
7	0 (3)	-1 (62)	-1 (26.9)	15.0 ± 4.2
8	1 (5)	-1 (62)	0 (67.3)	30.2 ± 3.7
9	0 (3)	1 (362)	-1 (26.9)	1.8 ± 0.5
10	1 (5)	0 (212)	1 (107.7)	103.3 ± 4.7
11	-1 (1)	1 (362)	0 (67.3)	11.8 ± 4.0
12	1 (5)	1 (362)	0 (67.3)	60.6 ± 2.8
13	0 (3)	0 (212)	0 (67.3)	91.0 ± 4.4
14	0 (3)	0 (212)	0 (67.3)	92.3 ± 1.2
15	-1 (1)	-1 (62)	0 (67.3)	19.3 ± 0.9

Les effets estimés et les interactions dans la gamme des variables étudiées et l'analyse de la variance du processus transestérification direct et du processus d'extraction sont donnés au **tableau 10**. Une valeur positive pour l'effet estimé indiquait une augmentation du rendement de la FAME si la variable augmentait à son niveau élevé. Une valeur négative indiquait qu'un meilleur rendement fameux avait été obtenu à de faibles niveaux variables. En ce qui concerne les interactions, une valeur positive a indiqué que la réponse augmenterait si les deux variables changeaient au même niveau, qu'elles soient élevées ou faibles.

Tableau 10 : Effets estimés et analyse de la variance du processus étudié.

Variable	Effets	Valeur-P
X ₁	29.10	0.0000
X ₂	14.08	0.0004
X ₃	56.70	0.0000
X ₁ ²	-27.08	0.0000
X ₁ . X ₂	18.95	0.0007
X ₁ . X ₃	-15.30	0.0039
X ₂ ²	-90.53	0.0000
X ₂ . X ₃	29.90	0.0000
X ₃ ²	-24.93	0.0001

Figure 19. Montre l'effet de la concentration du catalyseur et du rapport méthanol/SL à un rapport hexane/SL fixé de 67,3 ml/g. À une concentration constante de catalyseur, le rendement FAME a augmenté avec le rapport méthanol/SL à une valeur moyenne pour cette variable de 212 ml/g, au-dessus de laquelle le rendement FAME a diminué. Si le rapport méthanol/SL est resté constant, trois tendances ont été observées : à un rapport méthanol/SL de 62 ml/g sl, une augmentation de la concentration de catalyseur jusqu'à 3 % (v/v) a augmenté le rendement fameux; ce rendement a ensuite diminué lorsque la concentration du catalyseur a atteint 5 % (v/v). Lorsque le rapport méthanol/SL était de 212 ml/g, une augmentation de la concentration de catalyseurs favorisait le rendement fameux, restant constant au-dessus de 3 % (v/v). Enfin, à un rapport méthanol/SL de 362 ml/g, le rendement FAME a augmenté dans l'ensemble du rang de concentration du catalyseur, mais le rendement maximal de la FAME n'a pas été atteint ; le rendement maximal (90 % dans ce

cas) a été atteint à l'aide d'une concentration catalyseur de 3 % (v/v) à un rapport molaire méthanol/SL de 212 ml/g.

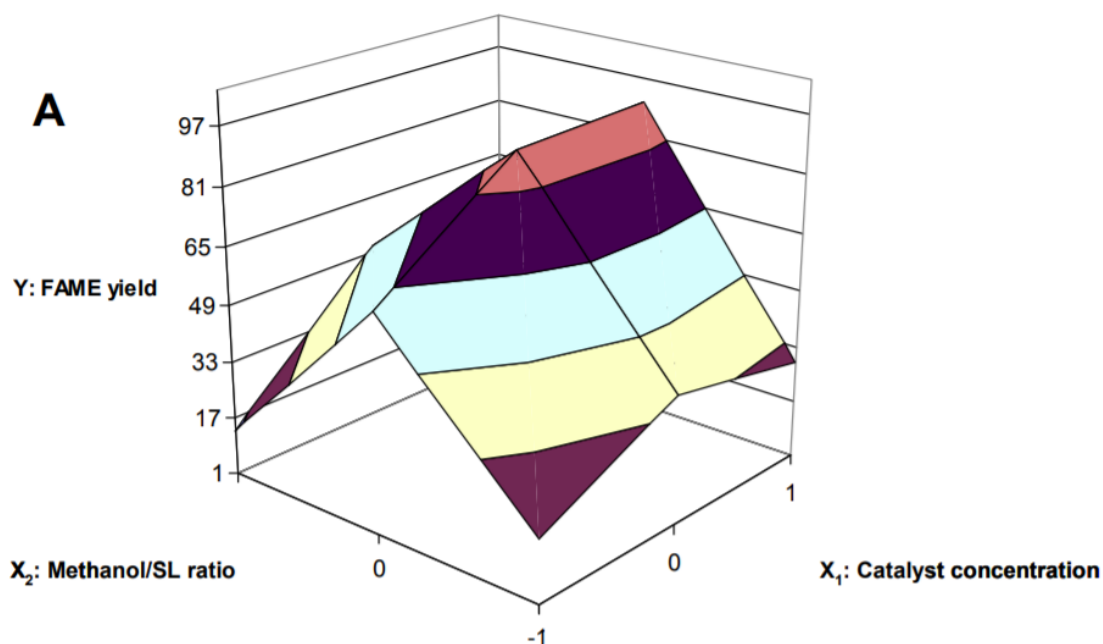


Figure 19: Les parcelles de surface de réponse du rendement fameux ont été affectées par la concentration du catalyseur, le rapport méthanol/SL et le rapport hexane/SL.

La **Figure 19** montre l'effet sur le rendement FAME de la concentration du catalyseur et le rapport hexane/SL à un rapport fixé de méthanol/SL de 212 ml/g. Pour un rapport hexane/SL constant, trois tendances similaires à celle indiquée dans la figure 1A ont été observées; pour un rapport hexane/SL de 26,9 ml/g, le rendement FAME a augmenté en fonction de la concentration du catalyseur. Pour un rapport hexane/SL de 67,3 ml/g, le rendement FAME a augmenté jusqu'à une concentration de catalyseur de 3 % (v/v), restant constant jusqu'à 5 % (v/v). Enfin, pour le rapport hexane/SL maximal utilisé (107,7 ml/g), le rendement fameux a atteint un maximum de 100 % pour une concentration catalysée d'environ 3 % (v/v), diminuant lentement à mesure que cette concentration augmentait jusqu'à 5 % (v/v).

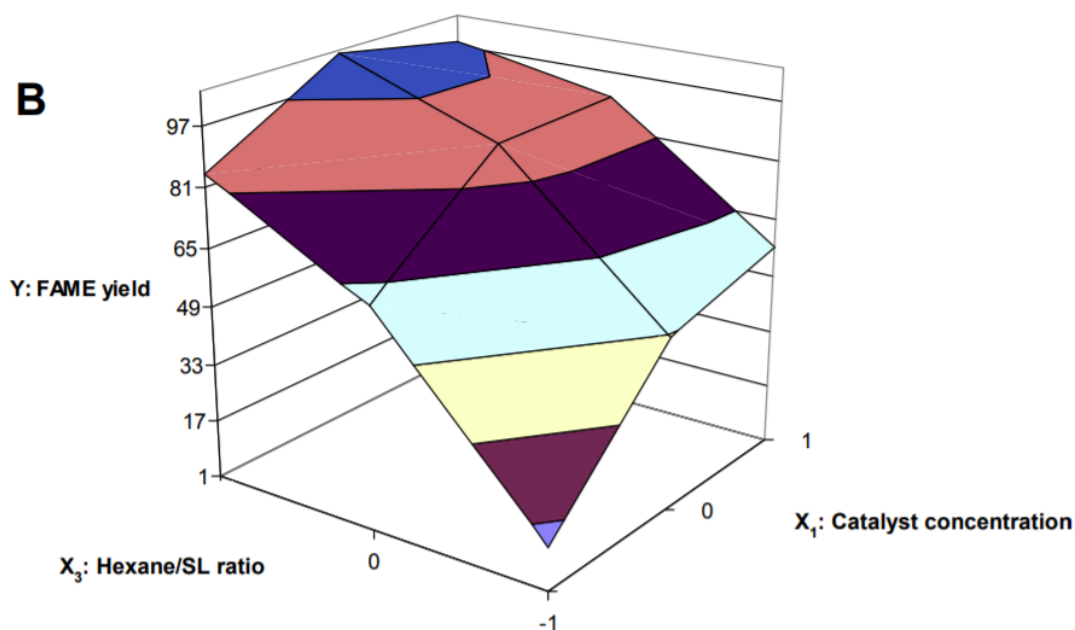


Figure 20 : Les parcelles de surface de réponse du rendement fameux ont été affectées par la concentration du catalyseur, le rapport méthanol/SL et le rapport hexane/SL.

Figure 20 Montre l'effet des rapports hexane/SL et méthanol/SL à une concentration de catalyseur fixée à 3% (v/v). Pour un rapport constant méthanol/SL, nous avons observé que généralement une augmentation du rapport hexane/SL augmentait le rendement fameux, et un rendement maximal de 100 % a été atteint pour un rapport hexane/SL approximatif de 107,7 ml/g et un rapport méthanol/SL de 212 ml/g (voir également fig. 1B). Si le ratio hexane/SL est resté constant, le rendement FAME a augmenté jusqu'à un rapport moyen méthanol/SL de 212 ml/g ; puis le rendement fameux a considérablement diminué si le rapport méthanol/SL augmentait.

Les conditions optimales obtenues à l'aide de la méthodologie de la surface de réponse (RSM) étaient les suivantes : concentration de catalyseur, 3,7 % (v/v) ; rapport méthanol/SL, 254 ml/g ; et le ratio hexane/SL, 107,7 ml/g. Pour comparer le résultat prévu (109,4 %) avec la valeur pratique, une expérience de re vérification a été effectuée en utilisant ces conditions optimales déduites. La valeur moyenne de $106,3 \pm 1,5$ % (n 1/4 2), obtenue à partir d'expériences réelles, a démontré la validité du modèle RSM. La forte corrélation entre le réel

et les résultats prévus confirmé que le modèle de réponse était suffisant pour refléter l'optimisation attendue.

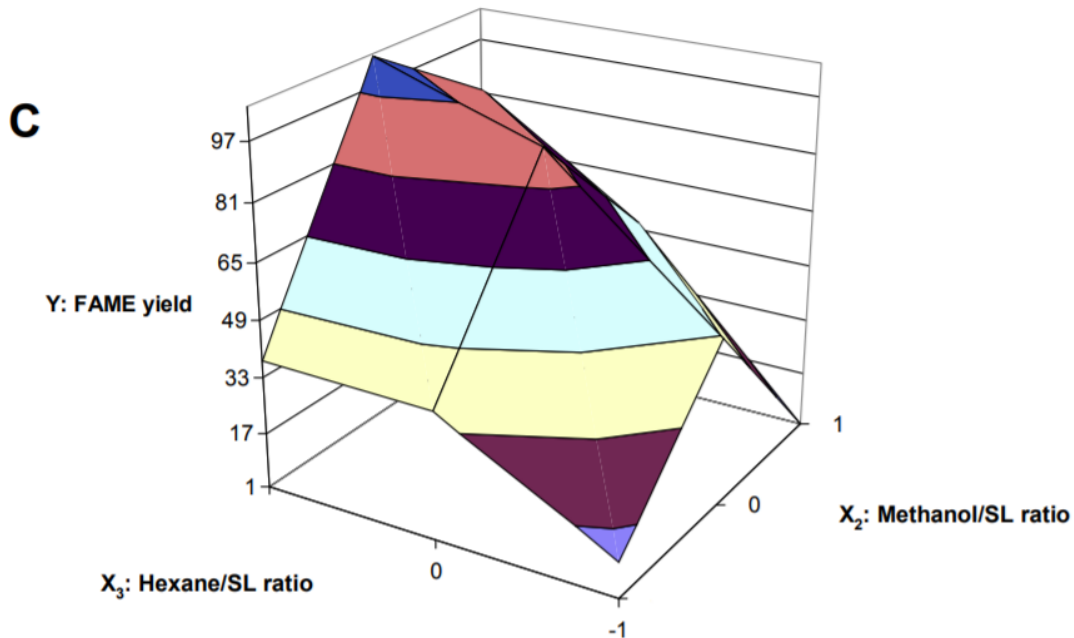


Figure 21 : Les parcelles de surface de réponse du rendement fameux ont été affectées par la concentration du catalyseur, le rapport méthanol/SL et le rapport hexane/SL.

3.Comparaison avec des études récentes de transestérification directe avec la biomasse microalgue humide :

Dans le processus transestérification direct, l'alcool joue un rôle vital, agissant à la fois comme un solvant dans l'extraction des lipides et des FAME de la biomasse, et comme un réactif dans la conversion des SL en FAME. Le volume de méthanol à utiliser dépendait de la teneur en eau du milieu de réaction, Plus le ratio méthanol/SL est élevé, plus le rendement FAME est élevé ; cela est logique puisque l'équilibre transestérification a été plus déplacé vers la formation du produit à mesure que la concentration de méthanol augmentait.

Tableau11: Conditions et résultats obtenus dans des études récentes concernant la production de FAME par transesterification directe de SL contenues dans la biomasse microalgale humide.

Microalga [Reference]	Moisture content (wt%)	SL content (wt% of dry biomass)	Methanol/SL ratio (ml/g)	H ₂ SO ₄ concentration (%v/v)	Temperature (°C)	Reaction time (min)	FAME yield (%)
<i>C. gracilis</i>	75	36	111	1,8	80	20	84
<i>N. oceanica</i>	65	19,2	40	10	95	120	82,8
	65	19,2	40	30	95	60	84,7
<i>N. salina</i>	76,5	18,6	228;9	1,8	90	60	94,2
	76,5	18,6	171,7	3,3	100	60	99,8
<i>N. gaditana</i>	75	11,1	171;1	5 (acetyl chloride)	100	105	100
					90	180	
					80	300	
<i>N. gaditana</i> [this study]	81,8	28,1	254	3,7	100	105	100

Le **tableau 11** montre les résultats obtenus auprès de trois espèces de *Nannochloropsis* (*N. oceanica*, *N. salina* et *N. gaditana*) avec différentes concentrations de catalyseurs, ainsi que des conditions de température et de temps de réaction différentes pour obtenir des rendements élevés de FAME. (Beachman et al 2014). ont mené une étude sur l'ultrastructure de la paroi cellulaire des espèces mentionnées concluant qu'il y avait différences d'épaisseur. Les différences observées, est due a un trait génétique distinct de chaque espèce. *N. océanique* était l'espèce ayant la plus grande épaisseur de la paroi cellulaire. *N.gaditana* avait une épaisseur de $86,5 \pm 3,2$ nm. Dans le cas de *N. salina*, l'étude a été réalisée avec deux souches qui ont montré des épaisseurs différentes; CCAP 849/3 avec $65,5 \pm 2,8$ nm et CCAP 849/6 avec $108,1 \pm 4,7$ nm. Ceci pourrait expliquer la forte concentration de catalyseur utilisée dans la transestérification directe des SL contenue dans *N. Oceania* (Park et al 2014) .

Dans le cas de *N. salina*, il se pourrait que son épaisseur soit inférieure à celle de *N. Gaditana* puisque le temps de réaction était d'une heure (dans des conditions, temps et concentration de catalyseur, similaires) (kim et al 2015). Si on compare les résultats obtenus à ceux de *N. gaditana* dans cette étude, la concentration de catalyseur pourrait être réduite à 40 %, mais le rapport méthanol/SL devait augmenter à 49 %, peut-être parce que la biomasse humide utilisée dans ce travail avait une teneur en eau plus élevée (81,8 % contre 75 %). Le rapport optimal hexane/SL était similaire à celui utilisé dans les travaux précédents.

4. Teneur en lipides de la biomasse micro algales :

Selon le résultat de (Macias-Sanchez et al. 2015) (Tableau12) Le contenu total des lipides lipidiques et des lipides saponifiables (SL) de la biomasse de *N. gaditana* était de 22,5 wt% et 11,1 wt% de la biomasse sèche, respectivement. Cela signifie que 50 % des lipides sont des lipides non saponifiables et non convertibles en esters méthyliques à base d'acide gras (FAMES). Le profil des acides gras de la micro-algale est indiqué dans le tableau 1. Le fractionnement des lipides totaux dans les classes lipidiques a montré que 52,5 wt% des SL étaient des lipides saponifiables neutres et les 47,5wt% restants des lipides polaires. Les lipides neutres comprennent les LS ainsi que les lipides non saponifiables. Les lipides polaires contiennent également des SL acyglycérols représentaient respectivement 54,7 et 45,3 wt%., Cette teneur élevée en FFA (28,7 wt% des SL et 3,2 wt% du total des lipides) indique que la réaction de transestérification ne peut pas être catalysée par un catalyseur alcalin.

Tableau12 :Composition des acides gras (wt% par rapport aux acides gras totaux de la biomasse) de la biomasse de pâte humide de micro-algale *Nannochloropsisgaditana*.

Acides gras	Composition (wt)
14 :0	4.3± 0.3
16 :0	17.0± 1.9
16 : ln7	17.3 ±1.6
16 : 3ln4	2.9 ± 2.5
18 : 0	0.4 ± 0.0
18 : ln9	3.6 ± 0.3
18 : ln7	0.3 ± 0.3
18 : 2ln6	7.2 ± 0.7
18 : 3ln3	7.1 ± 1.6
20 : 4ln6	5.2 ± 0.3
20 : 5ln3	22.0 ± 1.5
Autres	13.6 ± 3.0
P saturé	20.8 ± 2.2
P monoinsaturé	21.2 ± 1.8
PUFAS DE PUFA	44.8 ± 2.6

5. Influence du rapport méthanol/SL sur le rendement FAME :

D'après la **figure 20** plus le rapport méthanol/SL est élevé, plus le rendement FAME est élevé, ce qui est logique puisque l'équilibre de transestérification est plus déplacé vers la formation du produit à mesure que la concentration de méthanol augmente. Le chiffre montre que pour un rapport de 171,1 ml méthanol/g SLs) des rendements FAME de près de 100 wt% ont été atteints après deux extractions de FAMES avec de l'hexane. Après ces étapes d'extraction, aucun FAMES n'a été détecté dans la phase méthanol-eau.

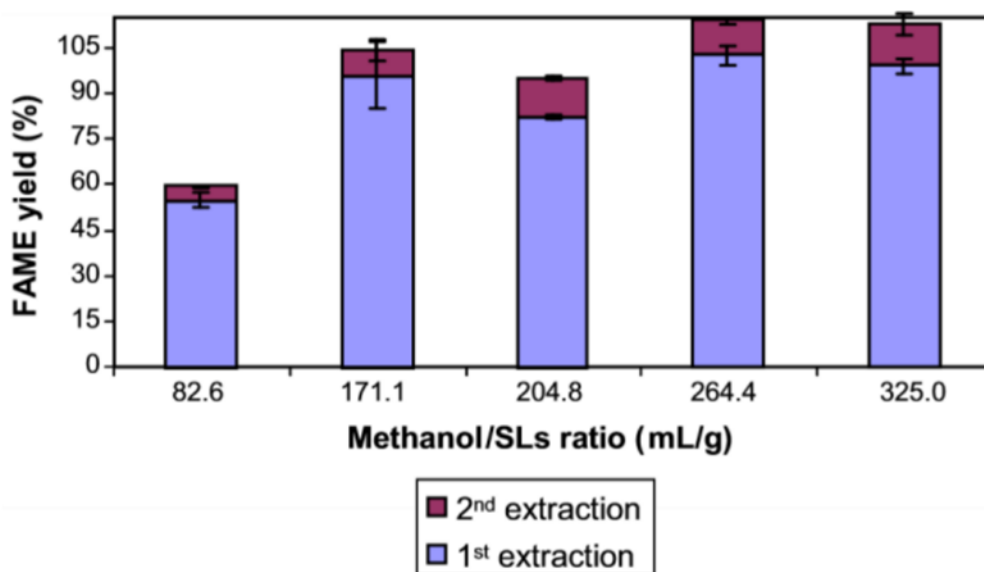
Tableau 13 : Conditions et résultats obtenus dans des études récentes sur la production d'AMP par transestérification directe des SL contenues dans la biomasse micro-algale humide et lyophilisée

Microalga [Référence]	Humidité (wt%)	Teneur en SL (wt% de biomasse sèche)	Rapport Méthanol /SL (mL/g)	Concentration de catalyseur (% I/A)	Température (C)	Temps de réaction (min)	Fame rendement (%)
<i>S.limacinum</i>	0	40-50	6.8-8.5	17.6	90	40	84.1-105.1
	80	40-50	6.8-8.5	17.6	90	40	10-13
<i>P.tricornutum</i>	82	10.9	107.5	5	100	120	90
<i>C.protothécoides</i>	68	42	79.4	5	100	120	97
<i>C. gracilis</i>	75	36	111	1.8	80	20	84
	0	36	55.6	1.8	80	20	100
<i>Chlorella (Souches locales)</i>	0	27.6	14.5	3.7	60	120	93
	72.5	27.6	14.5	3.7	60	120	5
<i>N. gaditana [Cette étude]</i>					100	105	
	75	11.10	171.1	5	90	180	100
					80	300	

La difficulté de comparaison de ces résultats avec ceux obtenus par d'autres auteurs, s'avèrent dans la dépendance des conditions opérationnelles sur la micro-algale utilisée (structure cellulaire et teneur en SL, **tableau13**. En outre, peu d'études ont utilisé la biomasse humide, et dans la plupart d'entre eux les auteurs appliquent les conditions optimisées atteintes avec la biomasse sèche. Dans ce travail, en utilisant la biomasse humide de *N. gaditana*, le rapport méthanol/SL était 1,5 fois plus élevé que celui utilisé pour les

microalgues *C. gracilis* et *P. tricornutum* (111 et 107,5 ml/g SL, respectivement), mais les rendements obtenus étaient plus élevés (100% contre 90% et 80%, respectivement).

Le rapport méthanol/SL obtenu dans ce travail est deux fois plus élevé que celui requis pour les protothécoides de *chlorella* micro-algale (tableau13), bien que le pourcentage d'humidité de la biomasse de *N. gaditana* soit plus élevé (75 % contre 68 %). Pris dans leur ensemble, ces résultats confirment que des ratios méthanol/SL élevés sont nécessaires pour obtenir un rendement élevé de la FAME par transestérification directe de la biomasse micro-algale humide. À cet égard, la biomasse humide dont la teneur en humidité était de 85 % (section 2.1) était également soumise à une transestérification directe, mais avec cette biomasse, un rendement fameux de seulement 60 wt % a été atteint (dans les mêmes conditions que lors de l'utilisation de la biomasse humide avec une teneur en humidité de 75 wt%); en outre, en augmentant même le rapport mélange méthylant/SL jusqu'à 279 ml/g, le



rendement fameux était d'environ 70 %, ce qui est beaucoup plus bas que le rendement de 100 % atteint à l'aide de biomasse avec 75 % d'eau et un rapport mélange méthylant/SL de 171 ml/g.

Figure 20 Influence du rapport méthanol/SL sur le rendement FAME par transestérification directe de la biomasse humide de *N. gaditana* micro-algal

D'autre part, des tests antérieurs (résultats non présentés) ont démontré que lorsque le solvant (hexane) a été introduit avec le méthanol pour effectuer la réaction de transestérification, des rendements inférieurs d'ester méthylique ont été atteints. Ces

rendements étaient plus élevés en utilisant uniquement du méthanol avec le catalyseur dans la transestérification directe des lipides saponifiables. En fait, un grand excès de méthanol est utilisé et il agit comme réactif et solvant.

6. Influence de la concentration du catalyseur

Les catalyseurs acides et basique aident également à briser la paroi cellulaire de micro-algale dans la procédure de transestérification directe, ce qui peut être important pour *N. gaditana* parce que cette micro-algale contient une enveloppe avec quatre membranes cellulaires. Dans ces expériences, trois concentrations de catalyseurs (2,5 %, 5 % et 10,5 % v/v) ont été testées. **La figure 21** montre que le rendement maximal de la FAME (100 %) a été atteint à une concentration catalyseur de 5% (v/v), diminuant lorsque la concentration a augmenté à 10,5% (v/v). Des auteurs expliquent que cette diminution du rendement de FAME peut être due à des réactions latérales, comme une polymérisation acide-promue des acides gras insaturés, qui peuvent se produire avec l'excès d'acide, la température élevée et le temps de réaction long (70 C et 20 h). Dans ce travail, aussi ces réactions indésirables peuvent se produire en raison des mêmes paramètres (100 C et 2 h), surtout à des concentrations élevées d'acide, comme 10%. D'après les travaux de (*Bo Liu et Zhao 2007*) et de (*Molina Grima et all 2013*) on a conclu que les deux catalyseur (l'acide sulfurique et le chlorure d'acétyl) ont fourni des rendements semblables de FAME.

Si les résultats obtenus dans ce travail sont comparés à ceux d'autres auteurs (**tableau13**), il est difficile d'observer une relation entre la concentration de catalyseur utilisée et le rendement fameux atteint, parce que d'autres variables, telles que la teneur en humidité ou le rapport méthanol/SL, semblent être plus importantes.

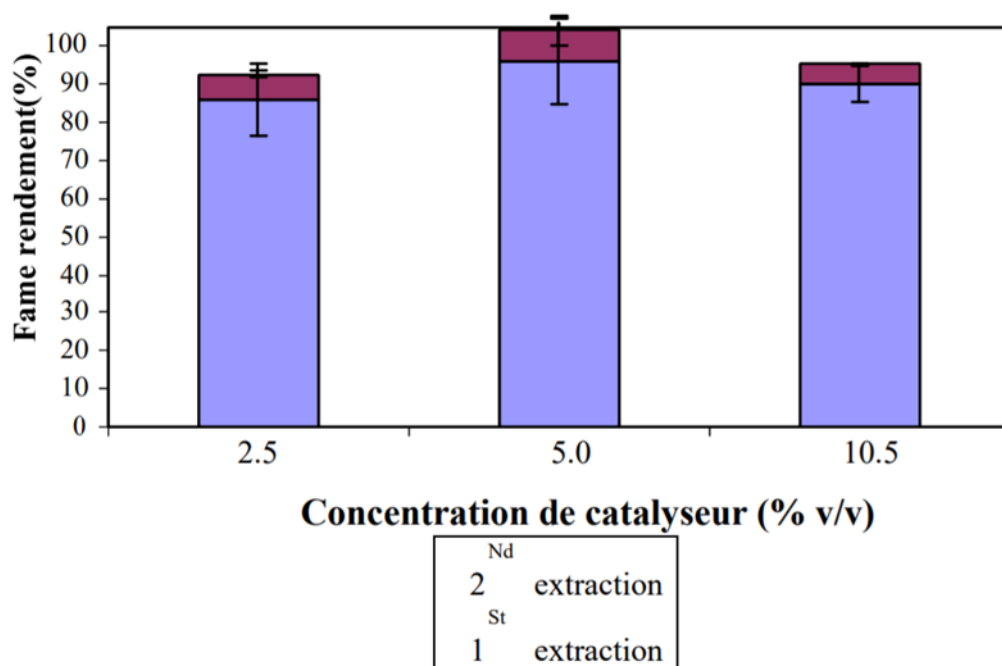


Figure 21 : Effet de la concentration de catalyseur (chlorure d’acétyl) sur le rendement fameux par transestérification directe de la biomasse humide de *N. gaditana* micro-algale.

7. Influence de la température et du temps de réaction

Figure. 22a montre qu’à des températures plus élevées, le rendement fameux augmente également. Afin d’obtenir des rendements de plus de 80% à 120 min de temps de réaction, il est nécessaire d’opérer entre 80 et 100 C. Par conséquent, l’effet du temps de réaction a été étudié dans cette rang de température (**Figure. 22b**). Les températures utilisées par d’autres auteurs pour la transestérification directe de la biomasse humide se situent également dans ce rang. Fig. 3b montre qu’un rendement de près de 100 % a été atteint dans les conditions de température et de temps suivantes : 80 C– 300 min, 90 C–180 min et 100 C–105 min. Pour choisir parmi ces conditions la consommation d’énergie a été estimée. Étant donné que le temps de réaction a eu une incidence sur la consommation d’énergie beaucoup plus que la température, les conditions les plus appropriées étaient celles de 100 C et 105 min. La consommation d’énergie dans ces conditions a été estimée à environ 35 % de celle de 80 H à 300 min.

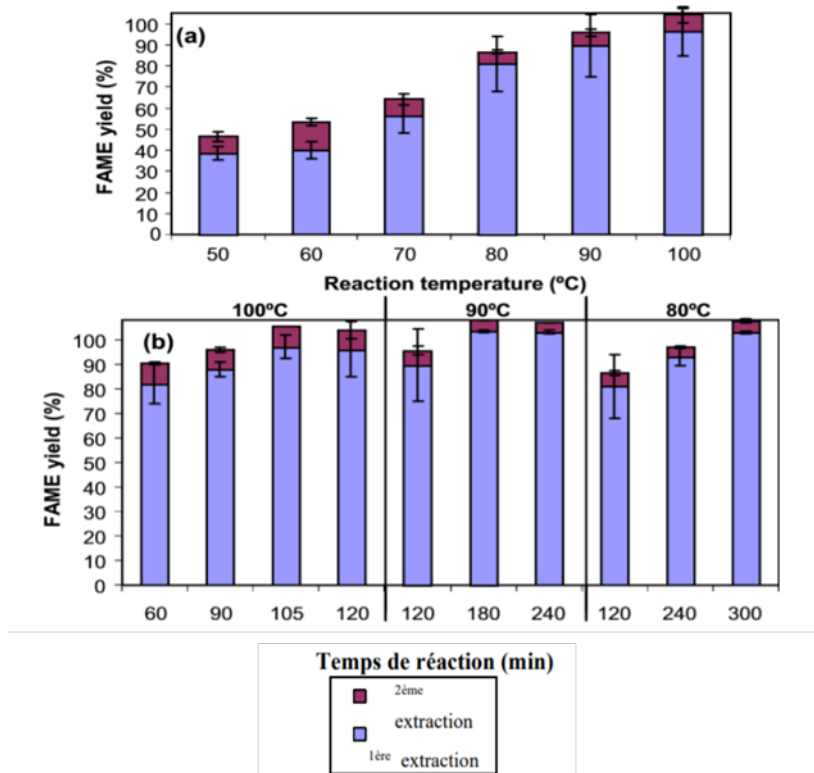


Figure 22 : Effet de la température et du temps de réaction sur le rendement fameux par transestérification directe de la biomasse humide de *N. gaditana* micro-algale

D'autre part, dans la première et deuxième extraction de FAMES avec des chlorophylles d'hexane ont également été extraites à des taux de 0,2 et 0,3 g de biomasse sèche chlorophylle/g, respectivement, dans toutes les conditions opérationnelles. En d'autres termes, dans les premières et deuxièmes extractions d'hexane 0,01 et 0,36 g de chlorophylle ont été extraites par gramme d'AMF, Respectivement. Les FAMES extraits dans la deuxième étape étaient donc beaucoup plus non purifiés avec de la chlorophylle que ceux extraits dans la première étape. Cela nous a amenés à envisager d'éviter la deuxième étape d'extraction d'hexane des FAME dans le processus de transestérification directe.



Conclusion



VI. Conclusion :

Un biocarburant ou agrocaburant est un carburant produit à partir de matériaux organiques non fossiles, provenant de la biomasse et qui vient en complément ou en substitution du combustible fossile.

La transestérification est la technique classique de production de biodiesel. Il s'agit d'un procédé dans lequel les huiles végétales, les graisses animales ou les huiles à base de microalgues sont mélangées à froid à un alcool (éthanol ou méthanol) en présence d'un catalyseur (hydroxyde de sodium ou de potassium). La transformation des huiles ou des graisses en esters éthyliques ou méthyliques permet de réduire la masse moléculaire à un tiers de celle de l'huile, de réduire la viscosité d'un facteur huit, de réduire la densité et d'augmenter la volatilité.

Les propriétés physiques des esters éthyliques et méthyliques obtenus lors de la réaction de transestérification sont alors proches de celles du diesel. L'objectif de ce travail consiste à synthétiser le biodiesel à partir d'huile des micro-algues : (*Nannochloropsis gaditana*) par la réaction de « transestérification », en utilisant une méthode d'optimisation qu'est la technique de box bhenken design (BBD)

La transestérification directe des lipides saponifiables (LS) dans la biomasse micro-algale humide est une alternative d'un intérêt considérable pour la production de biodiesel micro-algale. Les variables les plus importantes du processus sont le rapport méthanol/SL, la concentration du catalyseur, la température et le temps de réaction.

L'objectif de notre travail était d'étudier des articles scientifiques qui traitent sur la production du biodiesel et l'optimisation de la transestérification chez la microalgue *Nannochloropsis gaditana* et d'élaborer une synthèse, à partir de ces travaux. Deux articles ont été traités (Macias-Sanchez *et al.*, 2015 ; Macias-Sanchez *et al.*, 2018) et les conclusions suivantes ont été tirées :

Le résultat de Macias-Sanchez *et al.* (2015) ont constaté que le contenu total des lipides lipidiques et des lipides saponifiables (SL) de la biomasse de *N. gaditana* était de 22,5 % et 11,1 % de la biomasse sèche, respectivement.

Une conception Box-Behnken (BBD) à trois variables a été appliquée par Macias-Sanchez *et al.* (2018) pour les trois paramètres suivants : concentration d'acide sulfurique

(catalyseur), le rapport méthanol/SL et le rapport hexane/SL. Le meilleur rendement FAME a été obtenu avec un rapport méthanol/SL de 254 mL/g, une concentration d'acide sulfurique de 3,7 % (v/v) et un rapport hexane/SL de 107,7 mL/g à 100°C et pendant 105 min. Dans ces conditions, 100% des SL ont été transformées en FAMEs.

Références

Abderrahim zakariya&hachemiabdelaziz, 2009. Optimisation des paramètres géotechnique des sols par la méthode des surfaces de réponse, l'université 08 mai 1945 de guelmafaculte des sciences et de la technologie département de : génie civil & hydraulique. p15-75

Aboïna Gerard Tchakblo ,2009. Production de biodiesel par transesterification alcoolique : étude sur réacteur pilote p14 mémoire pour l'obtention de master

Annouhanane& chibani amina, 2016. Synthèse de biodiesel d'une algue verte, université kasdimerbahouarglafaculte des sciences appliquées département de génie des procédés .p12-31

Annouhanane& chibani amina, 2016. Synthèse de biodiesel d'une algue verte, université kasdimerbahouarglafaculte des sciences appliquées département de génie des procédés .p16-17-31

Bazizimarwa, 2017. Extraction d'huile essentielle de l'espèce végétale salviaofficinalis l. par hydrodistillation : caractérisation physicochimique et modélisation paramétrique, université badjimokhtar- Annaba. p48-50-53-75

BENALI Cherif et CHAREF BENDAHA Cherif, 2019. Production de biocarburant (biodiesel) à partir des huiles des microalgues et des macro-algues

Benalicherif&CharefBendahacherif, 2019. Production de biocarburant (biodiesel) a partir des huiles des microalgues et des macroalgues, université abdelhamid ibn badis-mostaganemfaculte des sciences de la nature et de la vie. p37-57

BENERAB Noureddine , 2016. Étude comparative des procédés de la transestérification assistée par microonde des huiles végétales et usagées en milieu liquides ioniques. P21. Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de MASTER

BENSOULA naima et BRAHIM nour el houda, 2017. Effet de la salinité et de l'azote sur la croissance et la composition biochimique d'une souche microalgale marine « *Nannochloropsisgaditana* ».

BERNA Hamad ,2009. Transestérification des huiles végétales par l'éthanol en conditions douces par catalyses hétérogènes acide et basique p32,35-37

- Berna hamad, 2012. Transesterification des huiles végétales par l'éthanol en conditions douces par catalyses hétérogènes acide et basique, université claudebernard. p43-43-44-197
- Berna hamad, 2012. Transesterification des huiles végétales par l'éthanol en conditions douces par catalyses hétérogènes acide et basique, université claudebernard. p43-197
- BOUAISSA sarra ,2014. Détermination des effets d'un régime à base d'algue verte sur quelques paramètres biochimiques chez la rate Wistar obèse gestante et allaitante mémoire fin d'étude p12
- Bouhafsnourelhouda&hadjaidji Amina, 2017. Extraction d'huile des plantes oléagineuses locales (plant de ricin) pour la production du biocarburant en Algérie, université echahidhammalakhdar. El oued faculté de la technologie. P24-27-28-43
- Bouzine mokhtar, 2009. Biodégradation du méthanol en réacteur batch et étude de l'impact des paramètres physico- chimique sur la cinétique université mentouri- Constantine faculte des sciences exactes département de chimie. p33 -113
- Bruno SIALVE ,Jean philippesteyer, 2013. Les microalgues promesse et défis innovation agronomique p33-35
- Céline DEJOYE TANZI ,2013. Eco-Extraction et Analyse de lipides de
- Christine DAVID ,2015 . Énergie renouvelable.les biocarburants liquides et le transport p94
- CUONG NGUYEN Van ,2010 . Maîtrise de l'aptitude technologique des oléagineux par modification structurelle ; applications aux opérations d'extraction et de transestérification in-situ, Thèse doctorat, p49
- FITTA Fouzi, GHDEIR AMAR Fatma , 2017.Synthèse du biodiesel par transestérification des huiles de friture usées (HFU) p 14 .
- Gouasmiahoussam et Chaibsoufyane, 2017. Détermination de la température de coupe de l'acier aisi1060 : application au tournage en utilisant la méthode de surface de réponse (rsm), université kasdimerbahouarglafaculte des sciences appliquées département de génie mécanique. P31-35-65
- GuendziChahira, 2017. Contribution à l'analyse physico-chimique de l'huile d'arachides, d'amandes et de leur mélange. Détermination de leurs pouvoirs antimicrobiens, université de

tlemcenfaculte des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers. P29-51

H. V. Srikanth, J. Venkatesh & Sharanappa Godiganur, 2018 Box-Behnken Response Surface Methodology for Optimization of Process Parameters for Dairy Washed Milk Scum Biodiesel Production P2

Hind ZITOUNI, 2015. Valorisation nutritionnelle d'algues marines du littoral Algérien chez le ruminant via des méthodes chimiques, biologiques et moléculaires thèse de doctorat p5.

Isabelle CANTIN, 2010. La production de biodiesel à partir des microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe p1

ISSARIYAKUL Titipong, 2006. Biodiesel production from fryer grease. These de doctorat. Department of chemical engineering of the university Saskatchewan. Canada... P16

Karim khiari, 2016. Contribution à l'étude des propriétés thermo-physiques de biocarburants de deuxième génération et leur influence sur le comportement des moteurs, université Bretagne Loire. p11-140

L. Esteban-Cerdan, P.A. Gonzalez-Moreno, E. Navarro-Lopez, E. Molina-Grima, 2018 Optimization of biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification using the surface response methodology P143-148

M.D. Macias-Sanchez, A. Robles-Medina, E. Hita-Peña, M.J. Jiménez-Callejón, L. Esteban-Cerdan, P.A. Gonzalez-Moreno, E. Molina-Grima 2015 Biodiesel production from wet microalgal biomass by direct transesterification P17-19

M.D. Macías-Sánchez*, A. Robles-Medina, M.J. Jiménez-Callejón, E. Hita-Peña, Micro-algues pour la production d'algo-carburant p18, 24

Mme Bouzaouit & Boudjenibanadia, 2016. Optimisation de la synthèse enzymatique d'esters de sucres par la méthodologie des plans d'expériences, université Badjimokhtar – Annaba. p39-269

Nour-eddine el meghari, 2016. Optimisation de la conservation des olives vertes par utilisation du romarin et par application des plans d'expériences, université sidi mohammed ben abdallah faculté des sciences et techniques. p21-41

OUALI Mohamed, El-Amine et smail Belkacem ,2017. Effet de la supplémentations du milieu de culture en carbone sur la croissance et la composition biochimique d'une souche microalgale marine « *Nannochloropsis gaditana* » p 13

Penchevpetkoivanov, 2010. : Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, université de toulouse. P50-51-52-229

RAJAONARIVONY AndriaharimananaFaniry ,2014. préparation et caractérisation d'un biodiesel obtenu a partir de *ravenala madagascariensis* p1-10

Rasmalhadjernaahla&Kermanezahia, 2017. Modification de la bentonite par l'hexadecyltrimethylammonium application a l'adsorption du l'indigo carmine, université Dr moulay tahar – saïda – faculté des sciences département chimie. P27-28-28-73

Rouamba Aïda Adjara, 2016. Transesterification in-situ des graines pour la production du biodiesel, Institut International d'Ingénierie. P8-47

Sandrine GARON-LARDIERE, 2004. Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales) douces par catalyses hétérogènes acide et basique p4

Stéphane vivier, 2002.stratégies d'optimisation par la méthode des plans d'expériences et application aux dispositifs électrotechnique modélisés par éléments finis, école centrale de lille université des sciences et technologie de lille. P247-306

TARABET Iyes ,2012. Etude de la combustion d'un biocarburant innovant dans les moteurs à combustion interne de véhicules p8 thèse doctorat Bouzine mokhtar, 2009. Biodégradation du méthanol en réacteur batch et étude de l'influence des paramètres physico- chimique sur la cinétique, université mentouri- Constantine faculté des sciences exactes département de chimie.p32-113

Webographie :

[.https://parlonssciences.ca/ressources-pedagogiques/les-stim-en-contexte/biocarburants-des-sources](https://parlonssciences.ca/ressources-pedagogiques/les-stim-en-contexte/biocarburants-des-sources). <Http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/pdf/Biocarburants.pdf>

[-denergie-de-remplacement\)](#)

[.http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/pdf/Biocarburants.pdf](http://biotech.spip.ac-rouen.fr/IMG/pdf/Biocarburants.pdf)

http://www.inrs.fr/dms/ficheTox/FicheFicheTox/FICHETOX_5-2/FicheTox_5.pdf

http://www.inrs.fr/dms/ficheTox/FicheFicheTox/FICHETOX_30-1/FicheTox_30.pdf

http://www.inrs.fr/dms/ficheTox/FicheFicheTox/FICHETOX_113-3/FicheTox_113.pdf