



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences
De la Nature et de la Vie
Département des Sciences Agronomiques

MÉMOIRE DE MASTER

Science de la Nature et de la Vie
Sciences Agronomiques
Production végétale

Réf. :

Présenté et soutenu par :

Berramdani Rima

Le:

Thème :

**Contribution à la production des microalgues isolées
partir du barrage Manbaa Elghizlene-Biskra**

Jury:

M.	BACHAR Mohamed	M.C.B	Université de Biskra	Président
M.	HADJEB Ayoub	M.C.A	Université de Biskra	Rapporteur
M	KIRAM Abderrazak	M.A.A	Université d'Eloued	Co-promoteur
M.	BENAZIZA Abdelaziz	M.C.A	Université de Biskra	Examineur

Année universitaire: 2019 – 2020

Remerciment

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

En second lieu, nous tenons à remercier notre :

Encadreur **Dr. Hadjeb Ayoub**

Co-encadreur **Dr. Kiram abderezak**

Sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation de ce mémoire ont été déterminants dans la réalisation de notre travail.

Un très grand merci à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à l'élaboration de ce travail.

Didicace

Je dédie ce modeste travail

*A Mon très cher papa TOUFIK qui est leuvre de persévérance et
d'encouragement.*

*A Mon adorable mère MALIKA pour son soutien el ses encouragements. Merci
maman*

A mes chère grand père Belkacem et grand mère Zohra

*A mes très chères sœurs : FATMA ZOHRA ET HANA pour ses sacrifices, ses
conseils et ses encouragements qui m'on soutenue toujours*

*A mes très chers frères : YUCEF ET ALI pour leurs encouragements depuis
toujours*

A ma chère petite nièce, GHOUFRANE TAHRAOUI

A mon fiancé GADI ABD EL HAK et sa famille.

A mes très chers oncles et tantes.

A Toute le reste de ma famille BERRAMDANI ET SIOUDI

A tous mes enseignants,

A tous Mes très cheres amis et camarades de promotion

A tous ceux que j'aime

SOMMAIRE

Remerciment	I
Didicace.....	II
SOMMAIRE.....	III
Liste des tableaux.....	VII
Liste des figures.....	VIII
Liste des abréviations	X
Introductions générale.....	01

PREMIERE PARTIE SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUYE

CHAPITRE I

Généralité sur les microalgues

1. Définition des microalgues.....	06
2 .Espèces et diversité.....	07
2.1. Diatomées (bacillariophycées).....	07
2.2Algues vertes (chlorophycées).....	07
2.3.cyanobactéries ou algues bleues (cyanophycées).....	08
2.4.Algues dorées (chrysophycées).....	09
3. Caractéristiques de base des microalgues.....	09
4. Composition des microalgues.....	10
5. Photosynthèse.....	11
6. Besoins des microalgues - Facteurs influents sur la croissance des microalgues.....	12
6.1. Lumière.....	12
6.2. Température.....	13
6.3. Carbone.....	13
6.4. Besoins nutritifs.....	14
6.5. Mélange.....	14
7. Mode de vie et reproduction.....	15

Chapitre II

Les Systèmes de Culture des microalgae

1. Les étapes préparatoires à la production en photobioréacteur.....	18
2. Définition d'un photobioréacteur.....	19
3. Système de cultures des microalgues.....	20
3.1. Systèmes ouverts.....	20
3.2. Systèmes fermés.....	22
3.2.1. Photobioréacteurs plans.....	23
3.2.2. Photobioréacteurs de type cylindrique.....	24
3.2.3. Photobioréacteur « Plastic-bag » ou gaine.....	27
3.2.4. Fermenteur.....	27

CHAPITRE III

Les applications et l'intérêt des microalgues

1. Aquaculture.....	30
2. Agriculture.....	31
3. Production de biomasse à but alimentaire.....	31
3.1. Spiruline.....	32
3.2. Chlorelle.....	33
4. Production de molécules à haute valeur ajoutée.....	34
4.1. Pigment.....	34
4.2. Lipides et Acides gras polyinsaturés.....	37
4.3. Polysaccharides.....	38
4.4. Substance bioactives.....	38
5. Applications environnementales.....	38
5.1. Traitement des eaux usées.....	38
5.2. Remédiation du CO_2	39
6. Applications en bio-énergie.....	39
6.1. Biodiesel.....	39
6.2. Bioéthanol.....	40
6.3. Biohydrogène.....	41

6.4. Biométhane.....	41
----------------------	----

**DEUXIEME PARTIE :
PARTIE PRATIQUE**

Chapitre1

Présentation de la région d'étude

1. Généralité sur le site du prélèvement.....	44
---	----

Chapitre II : Matériel et méthode

1. Matériel.....	48
1.1. Matériel d'échantillonnage.....	48
1.2. Matériel de laboratoire.....	48
2. Méthode du travail	49
2.1. Méthode d'échantillonnage.....	49
2.1.1. Prélèvement.....	49
2.1.2. Les analyses physico-chimiques des eaux de prélèvement.....	49
2.2. Condition de conservation au cour de transport	50
2.3. Isolement et Identification phénotypique des microalgues	51
2.3.1. Préparation du milieu de culture.....	51
2.3.2. L'ensemencement et condition d'incubation.....	53
2.3.3. Identification et purification.....	54
2.3.3.1. Observation Macroscopique.....	54
2.3.3.2. Observation Microscopique.....	54
2.3.3.3. Purification.....	54

Chapitre 3 :

Résultats et discussion

1. Les analyses physicochimiques des eaux de prélèvement.....	56
1.1. Détermination des paramètres physique	56
1.2. Détermination des paramètres chimique.....	56
2. Isolement et identification des microalgues.....	57
2.1. Résultat de l'étude macroscopique.....	57

2.2. Résultat de l'étude microscopique.....	58
2.2.1. <i>Scenedesmus SP</i>	58
2.2.2. <i>Chlorella SP</i>	59
2.2.3. <i>Euglena SP</i>	60
Conclusion.....	61
Références bibliographique.....	62
Résumé	

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Répartition du fractionnement biochimique d'une cellule de microalgue	11
02	Procédés technologiques de cultures des microalgues	19
03	Fiche technique du barrage Fontaine des Gazelles	44
04	Milieu de culture BBM+V (Bold Basal Medium)	51
05	Milieu de culture BG 11 (Blue-Green Medium)	52
06	les caractéristiques physiques des eaux prélevés	56
07	la caractéristique chimique des eaux prélevé	56

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Diversité formes des microalgues.	06
02	Diatomées (bacillariophycées)- Emilianahuxleyi	07
03	Algues vertes (chlorophycées) – Micrasterias	08
04	Cyanobactéries (cyanophycées)-Glaucocystis	08
05	Algues dorées (chrysophycées)-Uroglenopsis	09
06	La productivité d'huiles par a port les cultures oléagineuses terrestres	10
07	La photosynthèse – Réaction globale	11
08	Représentation schématique d'un réacteur de culture	12
09	Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse	12
10	Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH	13
11	Les phases de croissance des microorganismes	15
12	Les quatre grandes étapes préparatoires a la culture de microalgues en photobioréacteur	19
13	Arbre technologique des réacteurs de culture de micro-algue	20
14	Culture de Dunaliella salina en bassins naturels de 200 ha	21
15	Culture de Spiruline en raceway, Californie	22
16	Photo bioréacteur plan	23
17	Colonne à bulles	24
18	Les trois types de photobioréacteurs	25
19	Photobioréacteurs tubulaires a) horizontaux b) enroulés	26
20	Système -plastic bag-	27
21	Fermenteur de production d'Oméga-3 à partir de microalgues	28
22	Les principales voies de valorisation des microalgues	30
23	Nourriture pour poisson	31
24	Composition de l'alimentation du poisson (ex : saumon)	31
25	Culture de spiruline au Burkina Faso	32
26	Spiruline pour alimentation humaine	33
27	Forme nutritives des microalgues Chlorella vulgaris	34
28	Différents pigments présents chez les microalgues	34
29	Dunaliella salina dans la lagune Hutt en Australie	36

30	Gélules de Béta-carotène pour alimentation humaine (body science)	36
31	Traitement des eaux usées par les microalgues	39
32	Biodiesel (Symbiotic)	40
33	Productivité en huile des micro-algues par rapport à d'autres plantes oléagineuses	40
34	Carte de localisation du barrage Fontaine des Gazelles	45
35	Barrage de fontaine des gazelles	46
36	Matériels d'échantillonnages	48
37	Les analyses du test rapide (1: Test d'ammonium NH_4 , 2: test de Silicium dioxyde SiO_2 , 3: test de Nitrite NO_2 , 4: test de Nitrate NO_3)	50
38	Conservation au cours de transport	51
39	Préparation du milieu de la culture	53
40	Ensemencement d'échantillonnages dans des conditions stériles	53
41	Observation macroscopique	57
42	Observation microscopique de Scenedesmus sp sous microscope optique Gx40	58
43	Observation microscopique de Chlorella sp sous microscope optique Gx40	59
44	Observation microscopique d'Euglena sp sous microscope optique GX40	60

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

$(NH_4) 2SO_4$: Sulfate d'ammonium.

« TBT » : Tributylétain

°C: Degré Celsius.

AMO : Enzyme Ammoniac Monoxygénase

$CaSO_4$: Sulfate de calcium

EPS : Exopolysaccharides

g/l : Gramme/Litre.

g: Gramme.

HAO : Hydroxylamine Oxydoréductase

HCMV : Cytomégalovirus Humain

HHV-6 : Le virus de l'herpès humain type 6

K_2SO_4 : Sulfate de potassium.

Mg : Milligramme.

Mg/l : Milligramme/Litre.

Mg/ml : Milligramme/Millilitre.

ml : Millilitre.

MS : Matière sèche.

N: Azote.

NaCl : Chlorure de Sodium.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

NH_3 : Ammoniac.

NREL: National Renewable Energy Laboratory

PH : Potentiel d'hydrogène.

SOD : Superoxydes Dismutases

ug : Microgramme.

ul: Microlitre.

um : Micromètre.

VIH-1 : Le virus de l'immunodéficience humaine type 1

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Les plantes sont à l'origine de l'oxygène, en transformant le CO_2 contenu dans l'atmosphère en O_2 , on les retrouve à la base des réseaux trophiques (chaînes alimentaires) et elles constituent ainsi la nourriture de millions d'espèces vivantes. Nous intéressons ici à la 3^{ème} génération des plantes c'est les microalgues après la 1^{ère} (les cultures traditionnellement : le maïs, la canne à sucre, les céréales) et 2^{ème} (la biomasse lignocellulosique comme les résidus forestiers ou agricoles). Car la culture de ces dernières est actuellement en plein essor. Les 1^{ère} et 2^{ème} générations utilisent des terres arables, engendrent de la déforestation et augmentent la consommation d'eau et le prix des denrées alimentaires. Ces générations augmentent aussi la pollution du fait de l'utilisation de pesticides et d'engrais agricoles afin d'augmenter leur productivité. Ces différents problèmes ne s'appliquent pas à la 3^{ème} génération. Plusieurs avantages découlent de la 3^{ème} génération comme une capacité de production de biomasse plus importante et des fréquences de récoltes plus élevées par rapport aux autres plantes (NREL, 2012).

En agriculture la biomasse micro-algale peut être valorisée comme : engrais, fertilisant, stabilisateur de sol ou encore protecteur de cultures. Grâce à leur capacité à fixer l'azote, les micro-algues et plus particulièrement les cyanobactéries permettent de maintenir une fertilité des sols et des cultures. Les micro-algues ont également la capacité à influencer la croissance des plantes à partir de la synthèse de molécules bioactives (Borowitzka, 1995).

Les micro-algues sont des plantes inférieures microscopiques unicellulaires photosynthétiques qui se développent dans les milieux fortement aqueux, elles sont capables de convertir l'énergie lumineuse et une source de carbone (CO_2) 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. Les micro-algues peuvent ainsi trouver des applications dans l'alimentation / nutrition humaine, l'alimentation animale, la chimie, l'énergie ou encore la fabrication de produits cosmétiques et pharmaceutiques. (These de Joye)

L'Algérie est un pays avec une façade maritime s'étalant sur 1200 Km. L'étude de la flore algale d'Algérie a fait l'objet d'un certain nombre de travaux (Tebbal, 2011). Les premières études remontent à la fin du 19^{ème} siècle auxquelles se sont ajoutées celles de Perret Boudouresque et Séridi (1989). En regroupant tous les taxons et stades d'algues signalés sur les côtes Algériennes (d'Ouest en Est), plus de 468 taxons ont été inventoriés à partir de la compilation des travaux anciens et récents sur la communauté algale de l'Algérie. En adoptant la méthode phytosociologique, cet auteur signale que le nombre d'algues a légèrement augmenté (497 espèces). D'autres études orientées sur l'aspect écologique ont été réalisées par Ould Ahmed (1994) dans la région d'Arzew (à l'Ouest d'Alger) et par Kadari-Méziane (1994) dans la baie de

Bou-Ismaïl. Par ailleurs, des contributions d'ordre chimique ont porté sur l'extraction et la purification des alginates chez *Cystoseira* sp. Des côtes algériennes (Benchabanne 1988:1989) et sur la détermination des stérols d'une algue rouge (El Hattab- Bouzidi, 2003).

Au niveau mondial il ya du problème des malnutritions, les chercheurs ont utilisé des microalgues d'intérêt nutritionnel afin de parvenir à la sécurité alimentaire. La première installation industrielle de culture de *Chlorella* sp au Japon développée pour l'alimentation des proies utilisées pour l'alimentation des juvéniles de poissons d'élevage. D'autres applications de *Chlorella* sp et *Dunaliella* sp ont ensuite émergé : les industries agroalimentaires associées à la nutraceutique. L'Asie est le premier producteur de microalgues au monde, et représente à elle seule environ 50% de la production mondiale. Les principaux autres pays producteurs sont les USA, le Chili, l'Argentine, Israël, l'Australie. En Europe, l'Allemagne et les Pays-Bas sont les premiers producteurs avec environ 50 tonnes chaque année (PERSON, 2011).

Dans cette présente étude, est-ce qu'il ya des souches microalgues d'intérêt agricole ? Quels sont ces souches? Quels sont leurs conditions optimales à leur croissance?

L'objectif de notre travail est l'étude de la croissance et l'identification phénotypiquement des différentes espèces des microalgues vert au niveau de la zone humide dans la région de Biskra sous l'influence de nombreux paramètres physico-chimiques qui sont : la lumière (la photopériode) et la nature du milieu de culture. Souche isolée à partir de barrage fontaine des gazelles.

Le présent travail est subdivisé en deux parties:

- ✚ La première partie (partie théorique) est constituée par trois chapitres, Chapitre I: Généralité sur les microalgues, Chapitre II: les systèmes de culture des microalgues, Chapitre III: l'intérêt et l'utilisation des microalgues.
- ✚ La deuxième partie (partie pratique) avec trois chapitres, Chapitre I: présentation de région d'étude, Chapitre II: la présentation des matériels et méthodes utilisées, Chapitre III: résultats et discussion.

Enfin les conclusions essentielles sur l'ensemble de ce travail ainsi que les perspectives de sa continuité seront dégagées.

PREMIERE PARTIE
SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I

Généralité sur les microalgues

1. Définition des microalgues

Les microalgues sont des micro-organismes de formes et de tailles variées, allant de quelques à plusieurs dizaines de micromètres (Cadoret et Bernard, 2008), photosynthétiques, eucaryotes (ex : algues vertes, rouges et brunes) ou procaryotes (ex : cyanobactéries). Elles peuvent être unicellulaires ou multicellulaires. Elles ont la capacité de se développer rapidement dans des milieux et elles peuvent croître dans des conditions extrêmes (espèces halophiles dans les milieux très salés, espèces thermophiles dans les milieux très chauds). Les microalgues sont présentes dans quasiment tous les écosystèmes terrestres, et il en existe une grande variété d'espèces 50 000 à 1 million d'espèces estimées pour 30 000 étudiées (T. M. Mata et al, 2010). La majorité des microalgues croissent à une température de 25-35°C avec un pH neutre (Zeng et al, 2011).

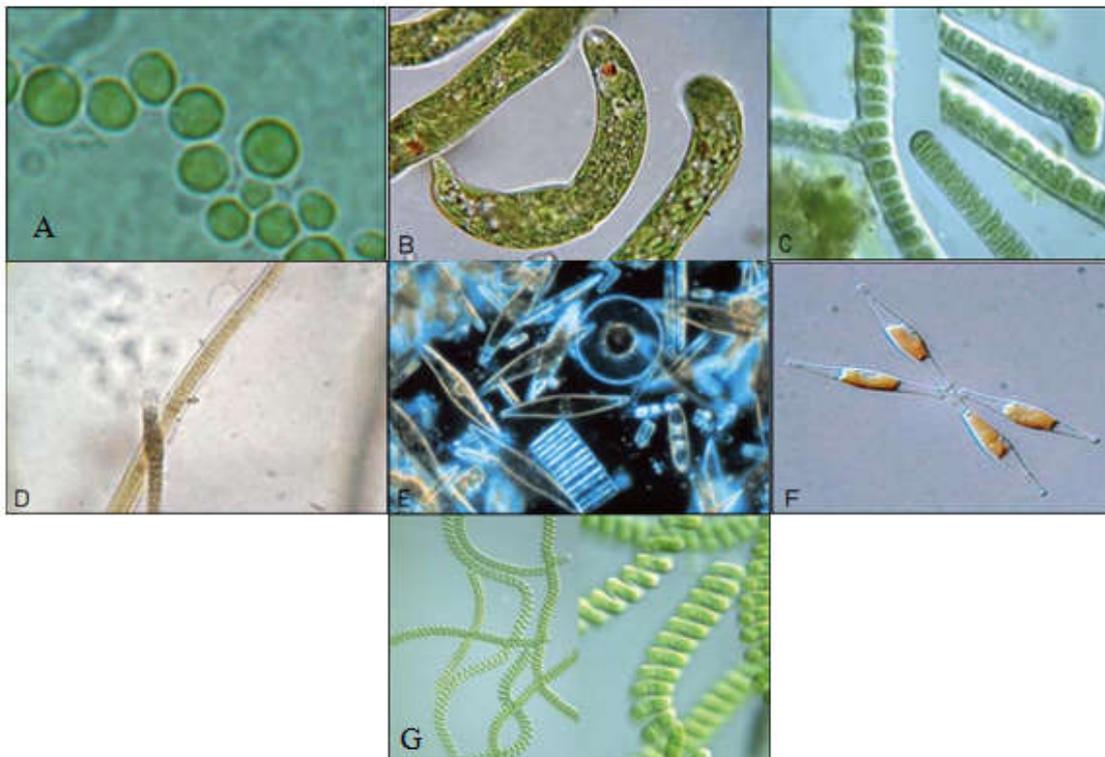


Figure 1 : Diversité des formes des microalgues.

A) *Chlorella vulgaris*, B) *Euglena*, C) *Cyanobacteria*, D) *Phaeodactylum tricorutum*, E) *Thalassiosira pseudonana*, F) *Phaeodactylum tricorutum*, G) *Cyanobactérie: Spirulina platensis* (Jack Legrand., 2002).

2. Espèces et diversité

1. Les microalgues sont très diversifiées et environ 30 000 espèces ont déjà été analysées. Ce nombre représente moins de 10 % du total existant estimé (Cavalla, 2000). Les scientifiques ont analysé les microalgues pour les distinguer et les diviser en plusieurs classes selon des critères généraux comme la pigmentation, la structure biologique et le métabolisme. Les espèces sont ainsi classées en 11 divisions et en 29 classes. Les quatre classes les plus communes au niveau de l'abondance relative sont les diatomées (bacillariophycées), les algues vertes (chlorophycées), les cyanobactéries ou algues bleues (cyanophycées) et les algues dorées (chrysophycées) (Berberoglu .H et al, 2009).

2.1. Diatomées (bacillariophycées)

Les diatomées sont phytoplancton des océans et elles sont aussi présentes en eaux douces ou saumâtres, dans les sols humides ou sous les feuilles humides. Plus de 100 000 espèces de diatomées sont connues. Elles forment des colonies qui apparaissent généralement brunes ou jaunes (NREL, 1998).

Elles sont caractérisées par leurs armures de silice qui présentent des structures géométriques complexes et extrêmement variées. Les enveloppes de silice des diatomées sont très résistantes et persistantes. Elles ont fait l'objet de recherches intensives aux NREL des États-Unis dans le cadre du programme de recherche de l'ASP parce qu'elles produisent des huiles et des protéines intéressantes (NREL, 1998).

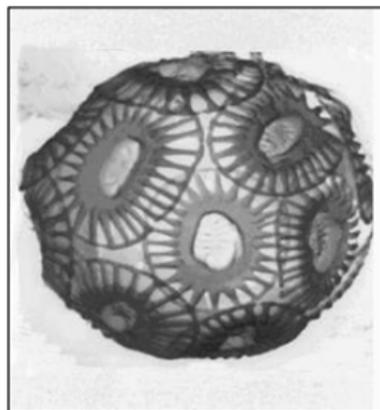


Figure 2 : Diatomées (bacillariophycées)- *Emilianahuxleyi* (Benemann, 2008).

2.2. Algues vertes (chlorophycées)

Les chlorophycées sont très abondantes en eaux douces. Elles peuvent se développer en mode unicellulaire ou en colonies qui peuvent devenir très denses. Elles accumulent l'énergie qu'elles capturent, principalement par photosynthèse, sous la forme d'hydrates de carbone et

d'huiles. Elles peuvent tolérer plusieurs types de conditions. Elles se sont d'ailleurs adaptées à des milieux étonnement variés (Lindblad, 2006).



Figure 3 : Algues vertes (chlorophycées) – Micrasterias, (Coste 2008).

2.3. Cyanobactéries ou algues bleues (cyanophycées)

Cette famille très ancienne de microalgues compte environ 2 000 espèces dans divers habitats. Elle absorbe et fixe l'azote directement à partir de l'atmosphère. Des espèces de cyanobactéries peuvent être aussi rouges, jaunes ou brunes. Mais leur couleur caractéristique bleue signale trop souvent des eaux polluées. Mise à part des traces de NPK, elles ne nécessitent essentiellement que de quatre sources vitales : eau, lumière, azote et CO_2 . On peut en trouver dans tous les habitats, aquatiques ou terrestres. Les spirulines (*Spirulina* sp.) sont parmi les plus produites dans le monde essentiellement pour la consommation humaine (CRBM, 2006)



Figure 4 : Cyanobactéries (cyanophycées)-Glaucocystis (Koning, 1994).

2.4. Algues dorées (chrysophycées)

Les chrysophycées se retrouvent surtout en eaux douces et on en compte environ 1 000 espèces. Elles ressemblent aux diatomées mais elles peuvent arborer plus de couleurs que ces dernières : du jaune au brun en passant par l'orange. Chez plusieurs espèces d'algues dorées l'enveloppe est principalement composée de silice et en plus faibles proportions de cellulose (NREL, 1998).

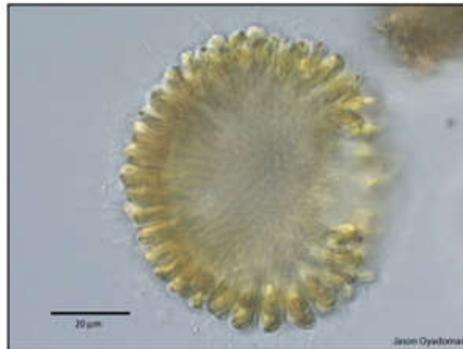


Figure 5 : Algues dorées (chrysophycées)-Uroglenopsis (Oyadomary, 2005).

3. Caractéristiques de base des microalgues

La majorité des microalgues sont dites photo-autotrophes ou autotrophes. Elles tirent leur énergie de la lumière par photosynthèse et leur principale source nutritive est le CO_2 en solution dans l'eau. Leur relative simplicité et la petitesse de leur taille permettent d'effectuer une photosynthèse très efficace (Chisti, 2007).

De plus ces petites plantes peuvent être de dix à trente fois plus productives en huiles par unité de surface de production en comparaison avec les cultures oléagineuses terrestres conventionnelles (NREL, 1998). On note que l'espèce hétérotrophe *Cryptocodinium cohnii* est exploitée pour produire de l'huile DHA, l'acide gras oméga-3 dont l'importance est de plus en plus reconnue pour le maintien d'une bonne santé (Martek, 2008).

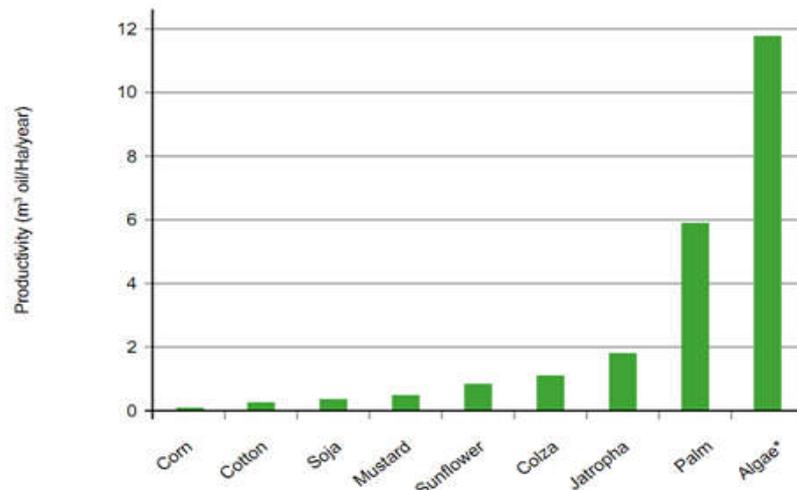


Figure 6 : La productivité d’huiles par a port les cultures oléagineuses terrestres
(Source : ENEA, 2011).

Certaines espèces peuvent aussi être chémo-hétérotrophes ou hétérotrophes. Ainsi, au besoin, elles sont capables de puiser de l’énergie et des nutriments directement des matières organiques présentes dans le milieu aquatique (Chevalier et al, 2002).

Par exemple, l’espèce *Agmenellum quadruplicatum* devient hétérotrophe en conditions de faible luminosité (Van Baalen and al, 1970).

Par rapport aux autres biomasses, le taux de croissance des microalgues est 50 fois supérieur à celui des plantes terrestres (Suali et Sarbatly, 2012). Au niveau des besoins en eau, la fixation d’un kilogramme de carbone nécessite 140 à 200 kg d’eau, ce qui est peu en comparaison avec les arbres (550 kg d’eau) (Berberoglu et al, 2009).

4. Composition des microalgues

Les microalgues se différencient principalement des autres végétaux par leurs richesses en:

- lipides, protéines, acides gras, polysaccharides, stérols, phycobilines, pigments et en antioxydants.
- Elles présentent une source importante de quasi toutes les vitamines essentielles : B1, B6, B12, C, E, K1 (Person, 2011, Dash et al, 2014).
- Et les micro-éléments majeures : C, O, H, N, Na, K, P, S, Mg, Fe, Zn, Mn, Si, B, Mo, Cu, Co (Sialve et Steyer, 2013)

Tableau 1 : Répartition du fractionnement biochimique d'une cellule de microalgue (*Sialve et steyer, 2013*)

Compartiment biochimique	fonction	Ordre de grandeur (%Massique)
protéines	Structure et métabolisme	40-60
Lipides	Structure et réserve énergétique	5-60
Sucres	Structure et réserve énergétique	8-30
Acides nucléiques	Support, vecteur et régulateur de l'information génétique	5-10

5. Photosynthèse

Le principe de la photosynthèse a été découvert par Priestley en 1780, le dioxyde de carbone est absorbé par les plantes grâce à un pigment vert : la chlorophylle. Lors de la photosynthèse, par action de la lumière, le dioxyde de carbone est réduit en sucre (CH_2O) n servant à la construction des réserves (des sucres comme l'amidon ou des huiles). L'eau est quant à elle photo-oxydée en oxygène. La photosynthèse est donc la transformation de carbone inorganique en matière organique ou encore la transformation d'énergie lumineuse en énergie chimique, c'est un processus de capture de l'énergie (Grobbelaar, 2000).

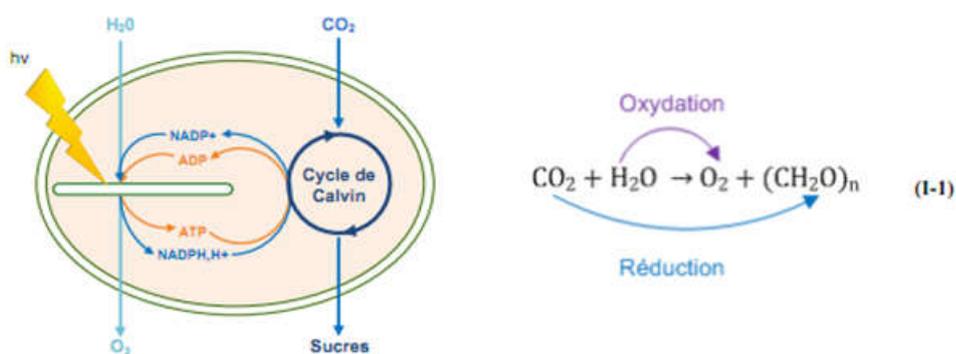


Figure 7 : La photosynthèse – Réaction globale (Grobbelaar, 2000)

6. Besoins des microalgues - Facteurs influents sur la croissance des microalgues

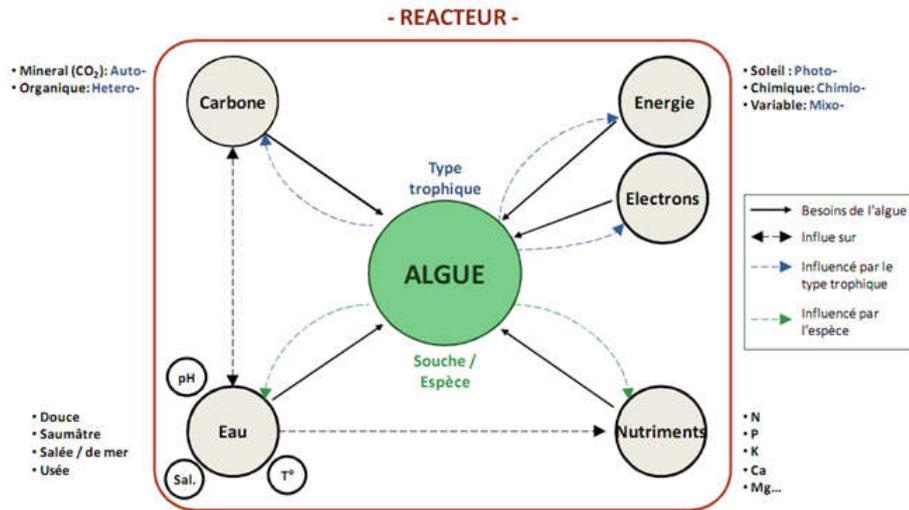


Figure 8 : Représentation schématique d'un réacteur de culture de micro-algues et des besoins de l'algue selon son type trophique

Pour croître, les microalgues ont de nombreux besoins:

6.1. Lumière

La lumière est le facteur le plus important pour la croissance photosynthétique des algues. Elle a un effet sur la composition cellulaire des microalgues (Hu, 2004). A de faibles intensités lumineuses, le taux de photosynthèse dépend linéairement de l'intensité lumineuse mais avec l'augmentation de l'intensité lumineuse, l'activité de la photosynthèse augmente jusqu'à atteindre un plateau. La photopériode 16/8 jour/nuit, l'intensité lumineuse 150 $\mu\text{mole photon.cm}^2/\text{s}$ (Grima et al, 1996).

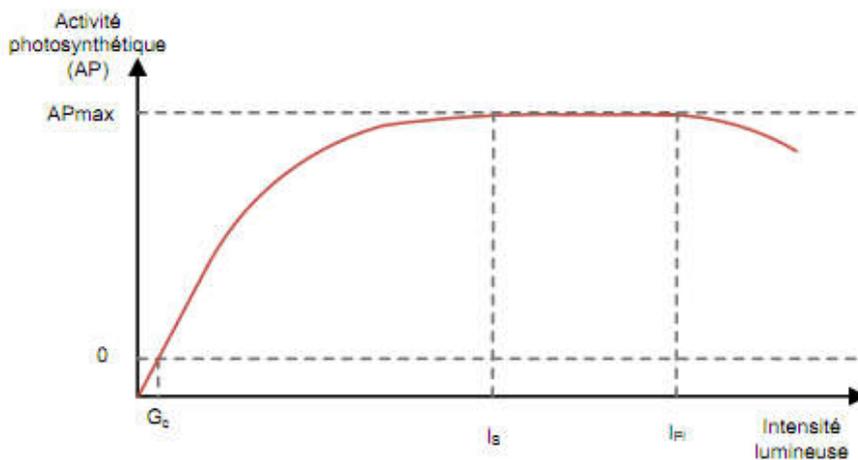


Figure 9 : Activité photosynthétique en fonction de l'intensité lumineuse (Masojidek et al, 2004)

G : Intensité de compensation (il n'y a pas d'activité de photosynthèse).

Is : L'intensité lumineuse de saturation (l'intensité du taux de photosynthèse est maximale).

Ip : L'intensité lumineuse d'inhibition (l'intensité où l'activité de la photosynthèse est inhibée par la lumière). (Yun et Park, 2003 ; Csögör et al, 1999).

6.2. Température

La température est un des facteurs physiques influençant le plus la croissance des microalgues. Pour chaque température il y a une intensité lumineuse spécifique pour atteindre le taux de photosynthèse maximal (Hu, 2004).

- La température optimale augmente donc avec l'augmentation de l'intensité lumineuse.
- La diminution de la température augmente le degré d'insaturation des lipides
- l'augmentation de la température entraîne l'augmentation des concentrations des pigments mais aussi une augmentation de la concentration des radicaux d'oxygène.

Si les microalgues ne croissent pas à la température optimale, le besoin en carbone et en nutriment pour obtenir le même taux de croissance est plus important (Hu, 2004).

6.3. Carbone

Les microalgues ont besoin de carbone inorganique pour la photosynthèse, il peut être apporté sous forme de sels (bicarbonate) ou par enrichissement de l'air insufflé. Le dioxyde de carbone, dissout dans l'eau prend plusieurs formes, en fonction du pH (Cadoret et Bernard, 2008).

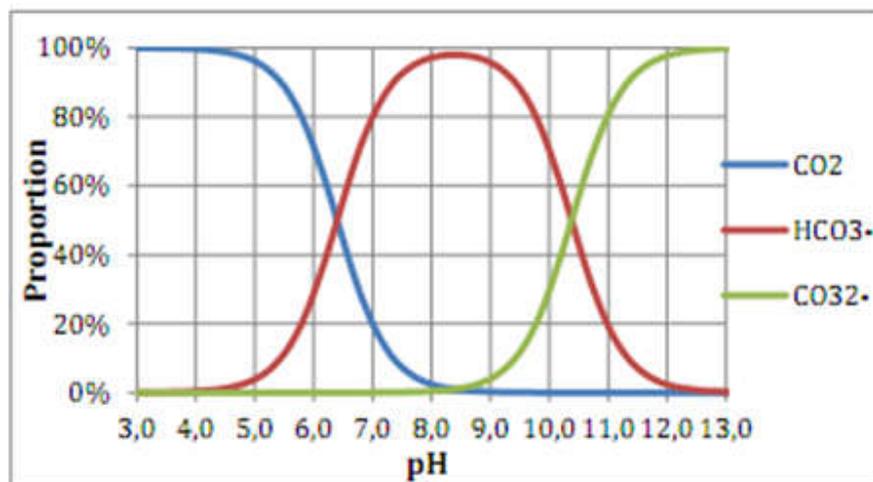
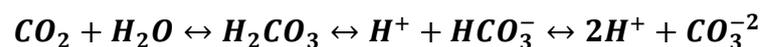


Figure 10: Forme du carbone dissous dans l'eau selon le pH

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

Les microalgues vivent généralement dans un milieu à un pH neutre (Cadoret et Bernard, 2008 ; Livanský et Doucha, 1996). Elles sont très consommatrices de dioxyde de carbone, pour produire 1 kilogramme de biomasse 1.8 kg de dioxyde de carbone sont nécessaires (Cadoret et Bernard, 2008 ; Livansky et Doucha, 1996)

6.4. Besoins nutritifs

- L'azote est un élément essentiel des protéines de structure et de fonctionnement, c'est l'élément le plus important après le carbone (Becker, 1994).
- Le taux de croissance des microalgues est à peu près identique selon les sources d'azote utilisées (urée, nitrite, nitrate) De nombreuses études montrent l'amélioration de la production et du stockage de lipides dans le cas d'une carence en azote.
- Le phosphore est un macronutriment important dans les processus de métabolisme cellulaire. une carence en phosphore peut entraîner des accumulations de pigments chez certaines microalgues, mais l'impact est plus faible qu'une carence azoté (Backer, 1994).
- Les microalgues ont besoin de potassium, de fer, de silice (pour les diatomées), de soufre, de métaux sous forme de traces et de vitamines.
- Le fer est un oligo-élément essentiel pour la croissance des microalgues de par son implication dans le transport des électrons dans le processus de la photosynthèse (Hu, 2004)

6.5. Mélange

Le mélange est un facteur important pour avoir un grand rendement en biomasse car cela augmente la productivité et la concentration optimale. Les cultures de microalgues ont besoin d'être mélangées, continuellement ou non selon les espèces, pour plusieurs raisons (Grobbelaar, 2000 ; Richmond, 2004 ; Groobelaar, 1994) :

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

- Augmenter les échanges de nutriments et les transferts de masse (Chisti, 2007).

7. Mode de vie et reproduction

Plusieurs espèces de micro-algues sont capables de passer d'une croissance photoautotrophe (grâce à de la lumière qui fournit l'énergie pour convertir le CO_2 , en chaînes carbonées) à une croissance hétérotrophe (sans lumière) utilisant le glucose ou d'autres substrats carbonés pour le métabolisme du carbone et de l'énergie. Certaines algues peuvent également se développer par mixotrophie en combinant les deux modes (livre turquoise).

C'est-à-dire

- Les photoautotrophes, pratiquant la photosynthèse comme métabolisme principal
- Les chimiohétérotrophes, pratiquant la respiration comme métabolisme principal

Les micro-algues présentent l'avantage d'avoir un cycle de division très court, de l'ordre de quelques heures, permettant la production rapide de biomasse (plusieurs grammes de matière sèche par litre) (livre turquoise).

La courbe de croissance est divisée en quatre temps :

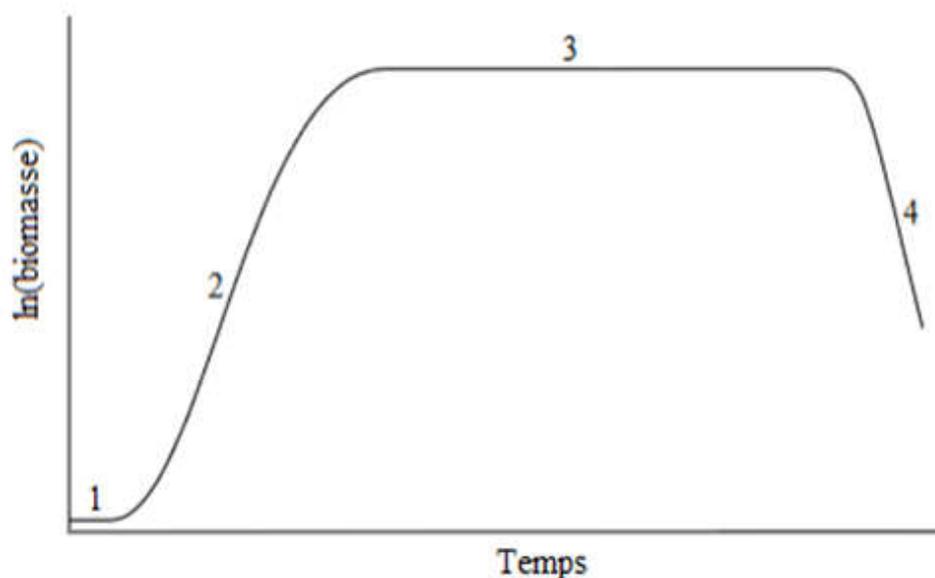


Figure 11 : Les phases de croissance des microorganismes (D'après FAO, 1996)

1. Phase de latence : La phase de latence correspond à la période où le microorganisme s'adapte au milieu, la vitesse de croissance durant cette période est quasi nulle.
2. Phase exponentielle : C'est la phase où la vitesse de croissance est à son maximum et est constante. Les microorganismes se multiplient et la mortalité est faible.
3. Phase stationnaire : Durant cette phase, la capacité du milieu est atteinte, la croissance est nulle, le taux de reproduction est égal au taux de mortalité.

4. Phase de déclin : Phase durant laquelle les microorganismes meurent et ne se reproduisent plus (D'après FAO, 1996).

Leur développement fait intervenir plusieurs facteurs de croissance et conditions de culture comme :

- L'eau (douce, marine ou saumâtre)
- Les nutriments
- La lumière
- Le CO_2
- La température et le pH de la culture
- Ainsi que l'agitation.
- Les macronutriments (azote, phosphore, etc.)
- Les micronutriments (vitamines, fer...).

Pour une croissance optimale en photo bioréacteurs, il est souvent nécessaire de débiter la culture dans une eau stérile dépourvue de tout autre micro-organisme ou molécule pouvant inhiber la croissance des algues .Les nutriments nécessaires à la croissance des algues varient en fonction du : mode trophique, de la souche cultivé et de la source d'eau choisie Dans

- le mode autotrophe : les microalgues capable utiliser des formes minérales azotées (nitrate, nitrite, ammonium), et phosphatées (phosphate)
- Le mode hétérotrophe : les microalgues capable utiliser une source de carbone organique (sucres, acides organiques, glycérol, etc...) (Berberoglu .H et al, 2009).

Chapitre II

**LES SYSTÈMES DE CULTURE
DES MICROALGUES**

1. Etapes préparatoires à la production en photobioréacteur

Cette section présente un bref résumé des techniques nécessaires à la préparation d'une culture de microalgues en photo bioréacteur.

Les souches pures sont:

- conservées dans des « cryovials » (petits flacons conçus pour stocker des solutions à de très basses températures)
- Après entreposées dans l'azote liquide à -196°C . Cette température (dite de « cryopréservation ») permet d'éviter différents problèmes liés notamment à la dérive génétique des espèces. Ainsi, la cryopréservation des souches de microalgues permet une meilleure reproductibilité des expériences, puisque leur point de départ est toujours exactement dans le même état (Andersen et Arthur 2005).

- **Dans la première étape :**

- ✚ un cryovial (entreposé dans de l'azote liquide) est décongelé et une petite partie de son volume (2 ml à une concentration cellulaire de 30 Mcell/ mL) est transféré dans tubes à essai
- ✚ 10,5 mL de culture sont ajoutés pour ramener la concentration cellulaire à 5 Mcell/mL). pendant environ une semaine, la culture croît lentement, jusqu'à l'atteinte de 30 Mcell/mL (Andersen et Arthur 2005).

- **La deuxième et la troisième étape :**

- ✚ L'augmenter de volume de la culture : elle est transférée dans un flacon de 250 à 500 mL, dans lequel elle continuera de croître pendant une semaine pour atteindre 30 Mcell/mL.
- ✚ Ensuite, elle est transférée dans un nouveau contenant plus grand (appelé « tourie », d'un volume total de 4L), où la concentration est d'environ 5Mcell/mL.
- ✚ Après environ trois jours, la culture atteint 30 Mcell/mL (Andersen et Arthur 2005).

- **la quatrième et dernière étape :**

L'ensemencement du photobioréacteur. A ce moment, c'est le réel processus de production qui débute. (Hoff et Snel 2008)

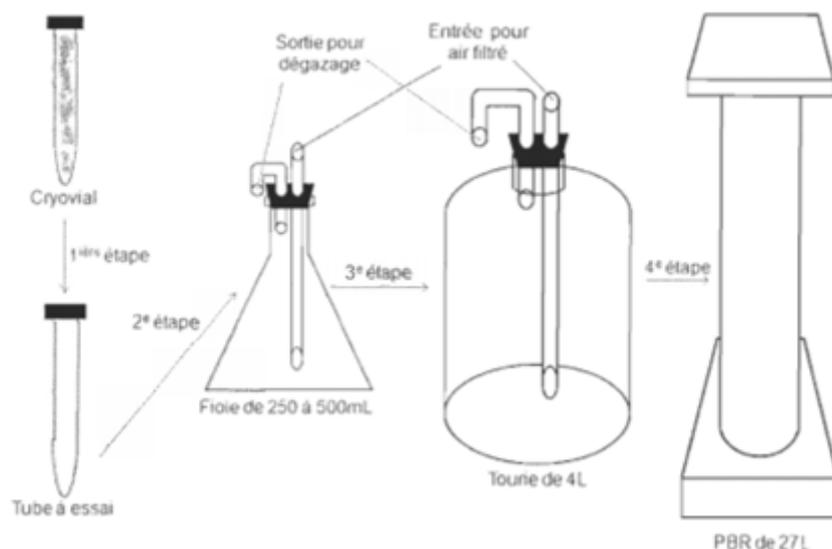


Figure 12 : Les quatre grandes étapes préparatoires a la Culture de microalgues en photobioréacteur

2. Définition d'un photobioréacteur

Un photobioréacteur est défini comme un système clos à l'intérieur duquel se déroulent, en présence d'énergie lumineuse, des interactions biologiques que l'on cherche à contrôler en maîtrisant les conditions de culture. En son sein, une réaction biochimique de photosynthèse a lieu dans le but de produire de la biomasse végétale à partir de microalgues, de CO_2 et de lumière (Barbosa 2003).

TABLEAU 2 : Procédés technologiques de cultures des microalgues

type de microalgues	technologie	variantes
phototrophes	bassins ouverts (open ponds ou raceway)	intensif
		extensif
	pbr (photobioréacteurs)	plats
		tubes
hétérochimiotrophes et mixotrophes	fermenteurs	

Source : adapté de Kerlero et Bernard, Ademe, 2015

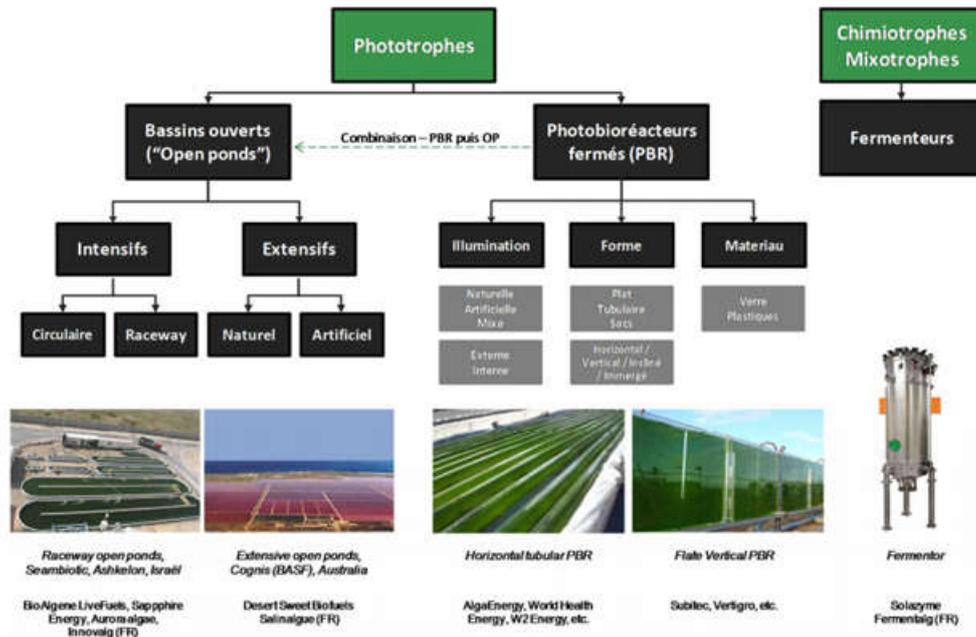


Figure 13 : Arbre technologique des réacteurs de culture de micro-algue (Barbosa 2003).

3. Système de cultures des microalgues

La culture à l'échelle laboratoire et semi-industrielle est déjà bien étudiée, connue et est maîtrisée, ce qui n'est pas encore le cas pour la culture à grande échelle (Singh et Sharma, 2012). Deux moyens principaux de cultures de microalgues ont été développés, aussi bien à l'échelle laboratoire qu'à l'échelle industrielle (Olaizola, 2003).

3.1. Systèmes ouverts

Les systèmes ouverts sont les systèmes d'exploitation qui ont été majoritairement utilisés pour la culture industrielle des microalgues dans les dernières décennies.

Les systèmes ouverts sont:

- ✓ Plus faciles et moins chers à construire et à exploiter que les réacteurs fermés
- ✓ Moins énergivores et ont une maintenance un nettoyage facile.
- ✓ U tilisent généralement que la lumière naturelle (Brennan et Owende, 2010).

Les microalgues dans ces systèmes de culture n'ont qu'une utilisation faible de la lumière (Razzak et al, 2013) et sont soumises aux variations journalières et saisonnières de la température et de l'intensité lumineuse (Apt et Behrens, 1999),

Les problèmes observés dans ce type de système de culture :

- ✓ les contaminations existent (par des bactéries, champignons, protozoaires et d'autres microalgues)
- ✓ grosses pertes d'eau par évaporation (Chisti, 2007).

- ✓ Les conditions de cultures sont peu controlables.
- ✓ il existe seulement quelques microalgues assez résistantes pour croitre sous les conditions extremes qui sont habituelles aux bassins ouverts (haut pH, haute température ou haute salinité) (Sierra et al. 2008).

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

- **Bassins naturels** : ces bassins non mélangés, aux conditions climatiques et nutritionnelles nécessaires aux microalgues, sont souvent utilisés pour la culture de *Dunaliella salina* ou pour la Spiruline. Ils ont en général une faible productivité ($<1 \text{ g/m}^2/\text{j}$) (Lee, 2001).



Figure 14 : Culture de *Dunaliella salina* en bassins naturels de 200 ha
Cognis nutrition (Australie) (Lee, 2001).

- **Bassins circulaires** : principalement utilisés en Asie pour la culture de *Chlorella*, ils nécessitent un fort investissement en matériel et leur agitation, par un bras rotatif placé au centre, consomme beaucoup d'énergie (Tredici, 2004).
- **Raceways** : ce sont les bassins les plus utilisés depuis leur début dans les années 50 (Christenson et Sims, 2011), majoritairement pour la culture de Spiruline. Leur principe est de faire circuler les algues sur une faible largeur et profondeur (entre 15 et 50 cm) mais sur une grande distance. La circulation et le mélange s'effectuent grâce à des roues à aubes. La productivité de ces bassins est d'environ $20\text{-}25 \text{ g/m}^2/\text{j}$, pour une concentration cellulaire inférieure à $0,6 \text{ g/L}$ (Tredici, 2004). L'utilisation de CO_2 n'est pas efficace dans les raceway et il y a un faible mélange (Chisti, 2007).



Figure 15 : Culture de Spiruline en raceway, Californie (Andersen, 2005)

3.2. Systèmes fermés

Les photobioréacteurs sont des réacteurs fabriqués à partir de matériaux transparents. Permettent la reproductibilité des conditions de culture ainsi qu'une forte concentration cellulaire et une forte productivité (concentration supérieure à 1 g/L et productivité supérieure à 0,8 à 1,3 g/L/j) (Pulz, 2001). par rapport les bassins ont une faible productivité (0,05 à 0,1 g/L/j) et de faibles concentrations cellulaires (<1 g/L) (Sierra et al, 2008).

Pour atteindre une productivité maximale (Brennan et Owende, 2010) Leur conception est basée sur :

- ✓ La surface éclairée.
- ✓ L'efficacité du mélange.
- ✓ et le contrôle des paramètres de culture (température, teneur en dioxyde de carbone et en oxygène, pH), Grâce à ce contrôle des paramètres, des microalgues plus fragiles peuvent y être cultivées.

Ils offrent un environnement de culture clos :

- ✓ Pour protéger la culture contre les contaminations directes,
- ✓ permettent un meilleur contrôle des conditions de cultures : la température est contrôlée efficacement, l'accès à la lumière est augmenté par rapport au bassin,
- ✓ l'évaporation du milieu de culture est minimisée,
- ✓ l'approvisionnement en CO_2 est facilité et ses pertes sont limités (Contreras et al, 1998a).

La conception des photobioréacteurs doit être optimisée pour chaque espèce de microalgues, par rapport à ses caractéristiques physiologiques et à ses caractéristiques de croissance (Sierra et al, 2008).

Les photobioréacteurs existent sous de nombreuses formes, mais ils peuvent être séparés en plusieurs catégories : les photobioréacteurs plans, les photobioréacteurs cylindriques, les photobioréacteurs « Plastic bag » et un type particulier de réacteurs pour la culture de microalgues en l'absence de lumière : les fermenteurs (Sierra et al, 2008).

3.2.1. Photobioréacteurs plans

Apparus dans les années 50, les photobioréacteurs plans ont des avantages pour la culture de masse (Sierra et al, 2008). Les photobioréacteurs plans sont:

- ✓ des réacteurs de faibles épaisseurs inférieures à 10 cm.
- ✓ permet de réduire le chemin lumineux (Degen et al, 2001).
- ✓ Ils sont disposés verticalement ou horizontalement avec une certaine inclinaison pour maximiser l'intensité lumineuse incidente.
- ✓ Les plaques utilisées peuvent être des panneaux de verres ou des plaques alvéolaires en polymère.
- ✓ La productivité de ce système va de 24 à 50 $g/m^2/j$.
- ✓ La circulation s'effectue par pompe ou injection d'air (Chisti, 2007).



Figure 16 : Photo bioréacteur plan (Bitog et al, 2011)

De manière générale, moins l'épaisseur de culture est importante, plus la productivité sera élevée, mais il existe une épaisseur optimale pour chaque espèce de microalgue permettant d'obtenir une productivité maximale. D'après Hu et al. 1998, les photobioréacteurs plans d'une épaisseur d'un centimètre ont un meilleur taux de croissance et une meilleure productivité.

L'avantage de ce système est une grande surface d'illumination (Razzak et al, 2013 ; Brennan et Owende, 2010).

Le problème principal de ce type de photobioréacteur est :

- ✓ Le CO_2 est très mal absorbée.
- ✓ Ces systèmes accumuler une forte concentration en oxygène dissous (Tredici, 2004), ce qui inhibe la photosynthèse,
- ✓ Le contrôle de la température est difficile (Razzak et al, 2013 Brennan et Owende, 2010).

3.2.2. Photobioréacteurs de type cylindrique

➤ **Type colonne** Les photobioréacteurs en colonnes sont les plus employés pour les petites productions de microalgues comme pour les écloséries. Plusieurs formes de colonnes existent comme de simples colonnes à bulles, des photobioréacteurs annulaires et des photobioréacteurs à circulation par air (ou airlifts) (Lu et al, 1995).

• Colones à bulles et colonnes annulaires

La colonne à bulles est un cylindre vertical en matériau transparent, de diamètre variable, mais assez faible pour laisser passer la lumière jusqu'au centre de la culture. Le système est éclairé par des tubes fluorescents situés sur les cotés. Les colonnes à bulles sont mélangées et aérées par injection d'air par le bas. Les colonnes a bulles sont généralement utilisées dans l'industrie chimique, les fermentations biologiques et les traitements d'eaux usées (Lu et al, 1995).

Les photobioréacteurs annulaires, composés de deux cylindres concentriques sont éclairés en leur centre par des néons, c'est la seule différence avec les colonnes a bulles. Les cultures sont généralement réalisées en batch, ou tous les nutriments sont apportés en une seule fois au début de la culture (Lu et al, 1995).



Figure 17 : Colonne à bulles (FAO, 1996)

- **Airlifts**

Les photobioréacteurs dits airlift ou à circulation par air sont des systèmes gaz/liquide caractérisés par la circulation du fluide qui est cyclique (Merchuk et Gluz, 1999).

Ils sont composés de deux sections distinctes : la colonne ascendante et la colonne descendante. Ces deux sections sont interconnectées par le haut et par le bas (Chisti, 1989). Deux types d'airlifts existent : le photobioréacteur est désigné airlift interne à cause de la présence d'une chicane ou de deux cylindres concentriques, ou il peut être nommé airlift externe (Merchuk et Gluz, 1999).

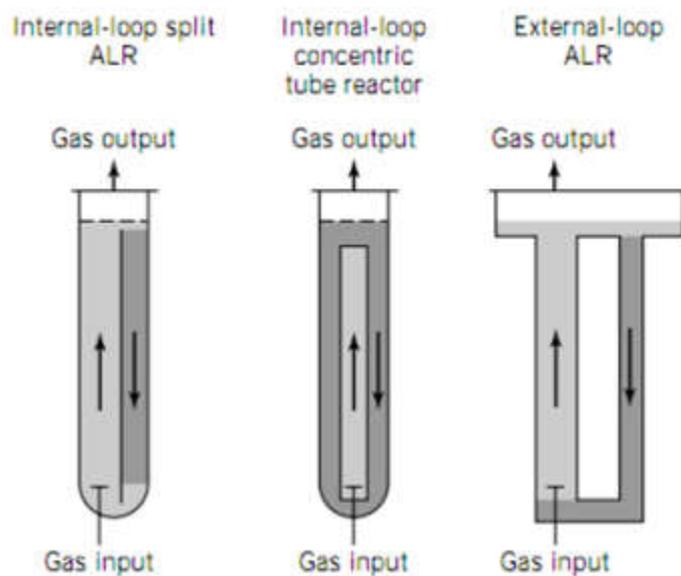


Figure 18 : Les trois types de photobioréacteurs (Marchuk et Gluz, 1999)

Du gaz est injecté dans le compartiment ascendant, c'est la différence de densité apparente entre les deux sections qui fait la circulation du liquide (Chisti et Moo-Young, 1993 ; Al-Masry, 2004). Dans le compartiment descendant, le liquide s'écoule vers le bas du compartiment ascendant. Le gaz est rejeté par le haut et peut recirculer lorsque le débit de gaz injecté est suffisamment important.

Les airlifts ont de nombreux avantages (Razzak et al, 2013):

- ✓ L'excellent contact entre les phases gazeuse et liquide permet l'enlèvement des gaz produits, le mélange du milieu, la diminution du stress lié au cisaillement sur les cellules, l'absence de différents gradients (température, nutriments) et un bon taux de transfert de chaleur ;
- ✓ Il y a moins de risque de contaminations ;

- ✓ L'efficacité de l'aération et la performance de l'aération sont peu sensibles aux changements des conditions opératoires ;
- ✓ Faible énergie de fonctionnement ;
- ✓ Le mélange est contrôlé.

Les airlifts ont aussi des inconvénients (Razzak et al, 2013 ; Brennan et Owende, 2010) : ils ont un grand coût de construction et une faible surface d'illumination. L'airlift peut aussi se combiner à un photobioréacteur et lui servir de pompe pour la circulation du liquide (Chisti, 2007).

➤ Type tubulaire

Les photobioréacteurs tubulaires sont des tubes :

- de faibles diamètres entre 2 et 6 cm environ (Miron et al, 1999) pour permettre la disponibilité de la lumière au centre de la culture.
- Ils peuvent atteindre des longueurs très importantes (jusqu'à 500 km),
- ils sont agencés de manières variables (verticalement ou horizontalement) sous forme de serpentins (Figure 19-a), parallèles, enroulés hélicoïdalement (Figure 19-b). Pour des raisons de structures,
- ils sont limités à une hauteur de 4 mètres (Miron et al, 2000).
- Faits de matériaux transparents, ils sont souvent conçus en verre ou en matière plastique (Chisti, 2007).
- Ils peuvent être éclairés par des tubes fluorescents ou simplement exposés à la lumière du soleil.
- L'apport en nutriment, en CO_2 et en milieu est généralement effectué par une cuve annexe aux tubes (Razzak et al, 2013).



Figure 19 : photobioréacteurs tubulaires

a) horizontaux (Demirbas 2010)

b) enroulés (Biocol) (Andersen, 2005)

Les photobioréacteurs tubulaires sont les seuls systèmes fermés à être utilisés à grande échelle (Christenson et Sims, 2011), ces systèmes ont une bonne productivité en biomasse (Brennan et Owende, 2010). Cependant, ce type de photobioréacteur rencontre des problèmes d'accumulation d'oxygène et de contrôle de la température et ils ont aussi des problèmes d'encrassement (Brennan et Owende, 2010). De plus, ils occupent une grande surface au sol et sont chers à construire (Miron et al, 1999).

3.2.3. Photobioréacteur « Plastic-bag » ou gaine

Ces photobioréacteurs sont des gaines en plastiques, suspendues à chaque extrémité à une structure en métal et généralement éclairées par des néons. D'environ une centaine de litres de culture, le milieu est mélangé par aération. La culture peut se faire en continu ou en batch. Ce système a un faible ratio surface/volume et peut avoir des problèmes d'encrassement. Ce système est encore utilisé par certaines entreprises pour sa simplicité et sa facilité d'utilisation (Rengel, 2010).



Figure 20 : Système -plastic bag-(Pulz, 2007)

3.2.4. Fermenteurs

Un autre type de réacteur existe pour la culture de microalgues : les fermenteurs. Certaines espèces de microalgues peuvent croître en hétérotrophie, c'est à dire sans lumière et avec comme source de carbone des composés organiques comme du sucre. Le système des fermenteurs est une technologie bien connue, sophistiquée et qui existe à grande échelle (jusqu'à 500000 L). Tous les paramètres de la croissance sont facilement contrôlable (Apt et Behrens, 1999; Brennan et Owende, 2010). La culture en hétérotrophie est moins chère (Tredici, 2004 ;

Apt et Behrens, 1999) que la culture photosynthétique en photobioréacteur mais tous les composés moléculaires ne peuvent être produits par cette technique (Degen et al, 2001).



Figure 21 : fermenteur de production d'Oméga-3 à partir de microalgues (FERMENTALG, 2013)

Chapitre III

**LES APPLICATIONS ET
L'INTERET DES MICROALGUES**

Les micro-algues peuvent trouver des applications dans l'alimentation / nutrition humaine, l'alimentation animale, la chimie, l'énergie ou encore la fabrication de produits cosmétiques et pharmaceutiques.

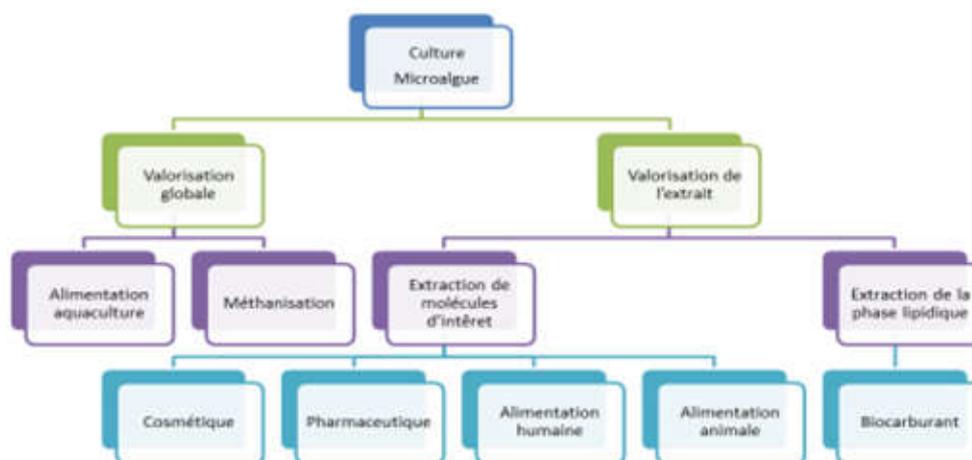


Figure 22 : les principales voies de valorisation des microalgues (these dejoye)

1. Aquaculture

La production d'algues unicellulaires constitue un des éléments fondamentaux de toute opération d'écloserie (crustacés, mollusques, poissons).

- Elles peuvent servir de nourriture pour les bivalves (huitres, coquilles Saint-Jacques, moules, palourdes) tout au long de leur développement.
- Pour les crustacés et certaines espèces de poissons, elles sont utilisées au stade de larves ou juvéniles.
- Elles servent également d'alimentation de base pour la production du zooplancton (Brown et al, 1997; Muller-Feuga A., 2000).

Les besoins nutritionnels en aquaculture sont différents à chaque stade (reproduction, élevage larvaire, grossissement). Les micro-algues riches en acides gras, acides aminés essentielles et multiples oligoéléments sont privilégiées en aquaculture car elles apportent des composés essentiels que les animaux d'élevage aquacoles ne synthétisent pas (Robert et al, 2004).



Figure 23 : Nourriture pour poisson (HBH) (NREL ,2012).

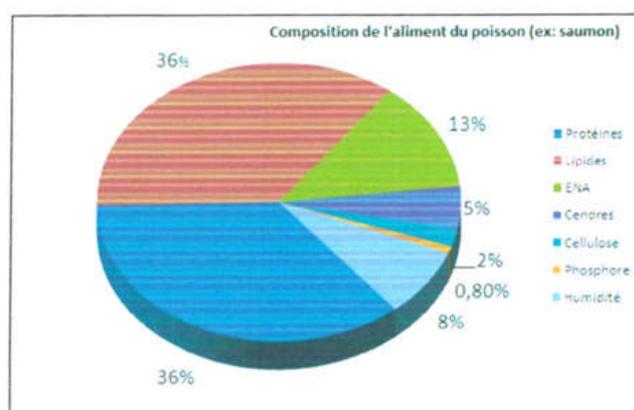


Figure 24 : Composition de l'alimentation du poisson (ex : saumon) FAO 2012.

2. Agriculture

La biomasse micro-algale peut également être valorisée comme :

- engrais, fertilisant, stabilisateur de sol ou encore protecteur de cultures.
- Grâce à leur capacité à fixer l'azote, les micro-algues et plus particulièrement les cyanobactéries permettent de maintenir une fertilité des sols et des cultures.
- Les micro-algues ont également la capacité à influencer la croissance des plantes à partir de la synthèse de molécules bioactives (Borowitzka, 1995).

Par exemple au Japon, *Chlorella vulgaris* est utilisée pour stimuler la biosynthèse de la chlorophylle afin d'améliorer la croissance des plantes.

3. Production de biomasse à but alimentaire

Une algue peut être intéressante d'un point de vue alimentaire si elle se rapproche de la composition chimique d'un aliment déjà connu. Elle ne doit pas présenter de toxines qui peuvent être naturelles ou accumulées lors de la production.

- La qualité de ses protéines va être un facteur important ainsi que leurs disponibilités et leurs valeurs nutritionnelles.
- Les micro-algues sont plus considérées comme des compléments alimentaires que comme des aliments à proprement dit.

L'habilitation des micro-algues pour l'alimentation humaine porte en Europe essentiellement sur la Chlorelle et la Spiruline (Soletto et al, 2005).

➤ 3.1. La Spiruline

La spiruline est une des micro-algues les plus cultivée mondialement.



Figure 25 : Culture de spiruline au Burkina Faso (Rangel-Yagui et al, 2004).

C'est un phytoplancton utilisé en alimentation humaine depuis l'Antiquité.

- elle Pousse dans des eaux saumâtres alcalines, riches en sels minéraux, elle a, en effet, constitué le seul complément en protéines, lipides insaturés et vitamines pour les populations des zones arides du bord du lac Tchad et d'Amérique centrale.
- Elle renferme environ 70% de protéines (poids sec), qui sont assimilables à plus de 95%, car la spiruline ne contient pas de cellulose.

Ce taux est 4 fois plus important que celui du soja par exemple.

- La spiruline contient des acides gras essentiels, γ -linoléique et linoléique que le corps ne sait pas synthétiser.
- Elle contient aussi des enzymes comme le SOD, des caroténoïdes, phycocyanine ainsi que plusieurs vitamines et minéraux (Rangel-Yagui et al, 2004).

L'industrie agroalimentaire utilise la spiruline pour :

- l'alimentation animale et la fabrication d'aliments diététiques, destinés, par exemple, aux régimes hyperprotéiques.
- Elle permet aussi de lutter contre la mal nutrition, la dénutrition et les carences protéiques dans les pays en voie de développement (Soletto et al, 2005).



Figure 26 : *Spiruline* pour alimentation humaine (ANONYME ,2011)

➤ 3.2. Chlorelle

- La Chlorelle est une algue verte unicellulaire d'eau douce.
- Elle se distingue des autres végétaux par une exceptionnelle concentration en chlorophylle.
- L'intérêt pour la Chlorelle comme aliment a commencé à la fin des années quarante, époque à laquelle on craignait que la surpopulation ne mène à une crise alimentaire mondiale. De nombreuses recherches furent alors entreprises par des institutions aux États-Unis.
- Sa haute teneur en protéines la rendait potentiellement très intéressante.
- Elle contient en outre de nombreuses vitamines et acides gras essentiels.
- elle constitue un complément alimentaire vendu en magasin diététique.
- Elle possède de bonnes vertus détoxifiantes, de fixation des métaux lourds et immunostimulantes (Desmorieux and Decaen, 2005).



Figure 27 : forme nutritives des microalgues *Chlorella vulgaris* (ANONYME, 2011)

4. Production de molécules à haute valeur ajoutée

Dans ce cas, la micro-algue est cultivée pour un élément bien précis de sa composition. Parmi ces molécules on trouve : les pigments, les acides gras polyinsaturés, les polysaccharides et les substances bioactives (Céline D, 2013).

4.1. Les pigments

Une des voies intéressantes à partir de micro-algues est celle de la production de pigments. Ces pigments peuvent servir dans le domaine alimentaire en tant que colorants ou encore dans le domaine de la pharmaceutique en tant que pigments fluorescents. Les micro-algues renferment une grande variété de pigments dédiés à de nombreuses applications (Céline D, 2013).

Chlorophylles		
	a - b	vert/bleu-vert
Phycobiliprotéines		
	Phycocérythrine	rose, rouge, violet
	Phycocyanine	bleu
	Allophycocyanine	bleu-vert
Caroténoïdes		
	$\alpha - \beta - \gamma$ carotène	jaune
	Xanthophylles (lutéine)	orange, brun-rouge

Figure 28 : Différents pigments présents chez les microalgues

- **Les caroténoïdes**

Les caroténoïdes constituent la famille de pigments la plus représentée chez les microalgues. Ces pigments sont responsables de la couleur rouge-jaune-orange chez de nombreux organismes vivants. Les caroténoïdes jouent un rôle important dans la nutrition et la santé car plusieurs sont des provitamines A (précurseurs de la vitamine A). Les caroténoïdes ont également des propriétés antioxydantes, ce qui va avoir un effet positif sur la peau, le système immunitaire, cardio-vasculaire et pour la lutte contre le cancer. Beaucoup de pigments utilisés en industrie sont retrouvés chez les microalgues comme le B-carotène, l'astaxanthine, la lutéine, la zéaxanthine, etc.... (León et al, 2003).

- ✓ **B-carotène**

Le B-carotène peut être obtenu soit par extraction, soit par synthèse ou par voie biotechnologique. Le B-carotène naturel provient principalement de l'huile de palme rouge et de la carotte. Cependant, plus de 90% du β - carotène commercial est d'origine synthétique. Le β -carotène (E160a) est utilisé dans le domaine alimentaire comme:

- colorant pour la préparation de la margarine.
- pour les produits de boulangerie.
- les boissons gazeuses et les sucreries.
- Il peut être utilisé comme provitamine A en tant que complément vitaminé.
- En alimentation animale, il est utilisé pour les aliments du poisson et du bétail.
- Dans l'alimentation des poulets, le β -carotène améliore la couleur des jaunes d'oeufs et l'apparence de la chair.
- Dans le domaine pharmaceutique, il est incorporé à certaines crèmes solaires en raison de ses propriétés d'agent filtrant contre le soleil et anti-radicaux libres (León et al, 2003).

La microalgue la plus riche en β - carotène est *Dunaliella salina* qui peut accumuler jusqu'à 14% de son poids sec en β - carotène. Elle est cultivée majoritairement en Australie sur un site de 800 ha exploités (Ben-Amotz, 1993).



Figure 29 : *Dunaliella salina* dans la lagune Hutt en Australie (Ben-Amotz, 1993)



Figure 30 : Gélules de Beta-carotène pour alimentation humaine (body science) (NREL ,2012).

✓ **L'astaxanthine**

Sur le marché actuel, l'astaxanthine est principalement extrait d'une micro-algue, *Haematococcus pluvialis*. Ce pigment est naturellement présent chez les crustacés (crabes, crevettes, homard, écrevisses, langoustes), le saumon et la daurade rose. Cet antioxydant très puissant peut être utilisé comme complément alimentaire chez l'homme, l'animal et l'élevage de poissons pour la coloration des saumons ou des truites (León et al, 2003).

✓ **La lutéine**

La lutéine est traditionnellement extraite de pétales de rose d'Inde. La lutéine se rencontre chez certaines micro-algues marines comme *Dunaliella salina*, *Muriellopsis* et *Scenedesmus almerensis* à hauteur de 0,6% (León et al, 2003).

• **Phycobiliprotéines**

Les propriétés colorantes et fluorescentes de la phycoérythrine (rouge) et de la phycocyanine (bleue) sont exploitées pour le diagnostic en recherche et médecine et en industrie

alimentaire. Ces phycobiliprotéines sont synthétisées par les Cyanobactéries (Spiruline) et certaines micro-algues rouges (*Porphyridium. cruentum*) dont la production commerciale est assurée en conditions très contrôlées dans des photobioréacteurs. La phycocyanine, extraite de la Spiruline, est un pigment bleu utilisé dans les industries cosmétiques et alimentaires, sous le nom de Linablue. Hautement purifiée, elle possède des propriétés de fluorescence qui la rende utilisable dans des tests d'immuno-diagnostic (Morice et Jamma, 1992).

4.2. Lipides et Acides gras polyinsaturés

Les micro-algues ont un avantage sur les espèces oléagineuses terrestres :

- elles peuvent accumuler jusqu'à 80% de leur poids sec en acides gras, permettant d'envisager des rendements à l'hectare supérieurs aux espèces oléagineuses terrestres.

Parmi tous les acides gras présents dans leur composition, certains ont un intérêt spécifique

- ✓ l'acide γ -linoléique GLA (18 :3, cis 6, 9, 12),
 - ✓ l'acide arachidonique AA (20 :4 cis 5, 8, 11, 14),
 - ✓ l'acide eicosapentaénoïque EPA (20 :5 cis 5, 8, 11 14, 17)
 - ✓ et l'acide docosahexaénoïque DHA (22 :6 cis 4, 7, 10, 13, 16, 19).
- Ces acides gras sont dit essentiels car ils ne peuvent pas être synthétisés pas notre organisme.
 - Ils sont apportés grâce à notre alimentation. Ils ont une influence particulière sur la structure des membranes des cellules et sur l'équilibre des réactions physiologiques dans l'organisme.
 - ✓ Le coeur et le cerveau ont besoin de DHA pour fonctionner de manière optimale (Certik and Shimizu, 1999).

Actuellement, ces acides gras essentiels sont majoritairement produits à partir des huiles de poissons. Avec la raréfaction des ressources en poissons, la production d'acides gras essentiels à partir d'une autre source pourrait constituer une alternative intéressante. Par ailleurs, ces molécules extraites de micro-algues procurent un goût plus agréable, une meilleure digestibilité et moins d'odeur (Khozin-Goldberg et al, 2006).

Quelques espèces de micro-algues comme *Nannochloropsis*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Porphyridium*, *Nitzschia laevis*, *Mortierelle*, *Pythiturn* et *Parietochloris incisa* présentent un taux élevé d'EPA dans leur huiles entre 7 et 50 % (Certik and Shimizu, 1999) .

4.3. Polysaccharides

Les polysaccharides sont des polymères solubles dans l'eau, qui ont des propriétés rhéologiques intéressantes particulièrement utiles dans :

- l'industrie alimentaire pour gélifier certains liquides,
- en cosmétique pour épaissir des crèmes.

Certaines espèces de micro-algues comme *Porphyridium purpureum* et *Arthrospira platensis*, synthétisent des exopolysaccharides de nature hydrophile et polyanionique, capables de retenir l'eau et piéger les cations empêchant la dessiccation de la cellule. Ces propriétés de concentration ont suggéré des applications biotechnologiques dans le domaine de l'environnement via la détoxification de milieux pollués par les métaux lourds (Pb, As, Hg, Cd.) ou dans le domaine de la biorécupération de métaux comme l'or et l'uranium (Becker, 2004).

➤ 4.4. Substance bioactives

Un grand nombre de substances ayant une activité biologique intéressante ont été trouvés dans l'environnement marin. Des tests réalisés *in vitro* montrent des activités antibiotiques chez certaines micro-algues. Une activité antivirale a été révélée chez les Cyanobactéries principalement dans un produit extracellulaire chez *Arthrospira platensis* contre le virus de l'immunodéficience humaine type 1 (VIH-1), le virus de l'herpès simplex 1 et le virus de l'herpès humain type 6 (HHV-6) (Ayehunie et al, 1998; Hernández-Corona et al, 2002). Chez *Porphyridium purpureum*, des essais *in vitro* sur les exopolysaccharides (EPS) montrent une activité antivirale contre le cytomégalovirus humain (HCMV) (Rechter et al, 2006). La micro-algue *Porphyridium purpureum* produit également, des superoxydes dismutases (SOD), substances à activité antiradicalaire utilisées dans le traitement de pathologies chroniques comme le SIDA et certaines formes de cancers. Des soins cosmétiques anti-âges sont aussi fabriqués en utilisant des propriétés antiradicalaires d'origine micro-algale (Gorecki et al, 1991).

5. Applications environnementales

5.1. Traitement des eaux usées

Les micro-algues sont capables d'assimiler de nombreux nutriments nécessaires à leur croissance, elles peuvent donc éliminer certains éléments présents dans les eaux usées.

- ✓ Elles permettent ainsi de baisser les taux de phosphates et nitrates.
- ✓ Elles ont une action détoxifiante et dépolluante et peuvent agir selon deux modes :
 - soit directement grâce à leur capacité à fixer les métaux lourds,

- soit indirectement afin de fournir de l'oxygène dissous aux bactéries permettant la dépollution des eaux contaminées (Perales-Vela et al, 2006).

Des travaux ont déjà été menés sur l'élimination des métaux lourds présents dans les eaux usées et sur la dégradation de contaminants toxiques comme le tributylétain « TBT » par *Chlorella vulgaris* (Luan et al, 2006).



Figure 31 : Traitement des eaux usées par les microalgues (Algae Control Thrive water – Alternative Wastewater Treatment Solutions,)

5.2. Remédiation du CO_2

Un des principaux avantages de la culture des micro-algues réside sur la capacité de la photosynthèse à absorber le CO_2 , qui est ensuite converti en biomasse, lipides, ou bioproduits précieux. Le CO_2 émis par les centrales thermiques, les industries de la sidérurgie, cimenterie, pétrochimie ou tout autre secteur peut donc être utilisé pour la culture industrielle des micro-algues (Herman Weiss, 2008)

6. Applications en bio-énergie

Les micro-algues peuvent être une source d'énergie non négligeable. Comme toute biomasse, celles-ci peuvent produire du biogaz par méthanisation. Certaines micro-algues sont

- riches en sucre et peuvent produire alors du bioéthanol.
- D'autres riches en lipides permettront la production de biodiesel.

6.1. Le biodiesel

Nous avons vu que, cultivées dans des conditions dites « de stress », certaines espèces de micro-algues peuvent accumuler des taux importants de lipides et plus spécifiquement des triglycérides. Ces derniers par réaction de transestérification avec un alcool conduisent à des esters utilisables dans les moteurs à combustion. En plus de l'argument de productivité, les micro-algues possèdent un atout majeur par rapport aux autres solutions : la non-concurrence avec les cultures alimentaires (Céline D., 2013).



Figure 32: Biodiesel (Symbiotic) (NREL, 2012).

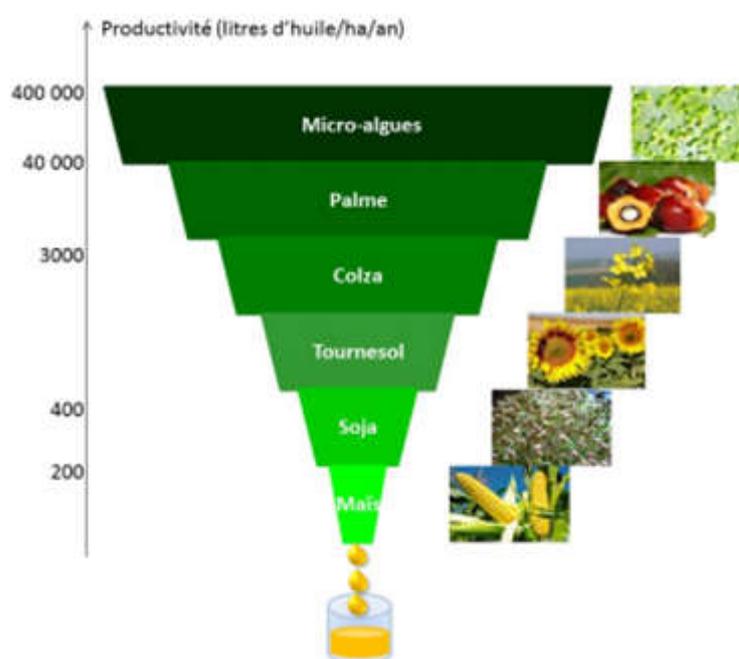


Figure 33 : Productivité en huile des micro-algues par rapport à d'autres plantes oléagineuses (Céline D., 2013).

6.2. Le bioéthanol

Généralement, l'éthanol est produit à partir de matière première riche en sucre ou en amidon. Certaines micro-algues disposent d'une paroi cellulaire composée de polysaccharides et d'autres peuvent contenir jusqu'à 50% d'amidon. Elles peuvent donc être utilisées comme matière première dans le processus de production d'éthanol. Des micro-algues comme *Chlamydomonas perigranulata* ou *Chlorella vulgaris* peuvent aisément donner lieu à une production d'éthanol ou d'autres alcools grâce à l'auto-fermentation de leur amidon (Céline D., 2013).

La production et le stockage de l'amidon et de sucre dans une micro-algue s'effectue au moment de la photosynthèse ou en la nourrissant directement de sucres. Après fermentation anaérobie dans l'obscurité, la production d'éthanol s'opère. Ce procédé a déjà fait l'objet d'études dans des photobioréacteurs fermés utilisant de l'eau de mer avec des Cyanobactéries OGM métaboliquement améliorées (Céline D., 2013).

6.3. Le biohydrogène

Le bio-hydrogène est une source efficace d'énergie renouvelable qui suscite actuellement de nombreuses recherches. Il n'est ni toxique, ni polluant, plus énergétique que le pétrole et abondant. En revanche, les techniques de production disponibles à ce jour comme par exemple l'électrolyse de l'eau, la gazéification ou la pyrolyse de la biomasse disposent de coûts de production élevés. Depuis plusieurs années, les microalgues et les bactéries ont été étudiées à cette fin. Hans Gaffron en 1939 fut à l'origine de cette voie de production de l'hydrogène. Certaines micro-algues produisent de l'hydrogène lors de la photosynthèse (Melis and Happe, 2001).

Le problème majeur de cette technique est l'arrêt de cette production d'hydrogène lorsque les cellules retrouvent des conditions de cultures favorables sans anoxie. Plusieurs travaux ont été menés à ce sujet, l'espèce *Chlamydomonas reinhardtii* reste la plus utilisée (Melis and Happe, 2001).

6.4. Le biométhane

Une forme différente d'énergie peut également être produite à partir de micro-algues, le biométhane. Après fermentation dans un digesteur, elles génèrent un biogaz composé de 70% de méthane, les autres gaz étant du dioxyde de carbone et de l'azote. Cette technologie a été développée dans les années 40 aux États-Unis et est maintenant répandue. Le grand avantage de la méthanisation est que la biomasse n'a pas besoin d'être séchée alors que pour de nombreuses voies de valorisation de la biomasse, une étape de séchage est requise (Céline D., 2013).

2^{EME} Partie:
Partie pratique

Chapitre I:
Présentation de la
région d'étude

Pour la réalisation de cette étude, nous avons choisi barrage fontaine des gazelles loutaya dans la wilaya de Biskra.

1. Généralité sur le site du prélèvement

Le barrage de fontaine des gazelles est construit en matériaux locaux (remblai en alluvions compacté) avec un noyau d'argile, il se situe à l'aval de Oued El Hai, alimenté par une surface de $1\,660\text{Km}^2$, ayant une capacité normale $55,5\text{Mm}^3$, il est rempli actuellement à 100 %, mais une grande tranche de ce volume apparent, n'est que vase et autres apports solides charriés lors des crues avec un débit solide de $360\,000\text{ m}^3/\text{an}$. Le stocke de ce barrage souffre aussi d'une grande perte par évaporation, qui dépasse les 06 Mm^3 par an, ce qui laisse juste 14 Mm^3 à régulariser pour les besoins d'irrigation.

Tableau 03: Fiche technique du barrage Fontaine des Gazelles

Barrage fontaine des Gazelles (W. Biskra, à 35 km Nord de Biskra)	
Années d'exploitation	Avril 2000
Surface	4.051 m^2
Volume	30.600 m^3
Cote	379.13 NGA
Capacité (H m^3)	55.5
Volume régularisé (H m^3)	14
Coordonnées	Lat. $35^\circ 7'$; Long. $5^\circ 34'E$
Type	en terre à noyau
Evacuateur de crue	à surface libre type labyrinthe. $3000\text{ m}^3/\text{s}$
Vidange de fond	Galerie de vidange. $25\text{ m}^3/\text{s}$
Prise d'eau	Tour cylindrique de 10 m de diamètre à quatre Niveaux d'une capacité de $4\text{ m}^3/\text{s}$ pour chaque prise.
Hauteur (m)	42.5
NNR (m NGA)	384.00
Niveau de la crête (m NGA)	389.00
Niveau max (m NGA)	388.00
Longueur en crête	370 m

Largeur en crête:	8.50 m
Mise en eau	2001
Capacité actuelle (h m ³)	Levé 54.57
bathymétrie 2004	
Destination	Irrigation de 1100 ha



Figure 34: Carte de localisation du barrage Fontaine des Gazelles



Figure 35: Barrage de fontaine des gazelles (photo originale)

Chapitre II:

Matériels et

méthodes

1. Matériels

1.1. Matériel d'échantillonnage

Filet a 20 micromètre, Flacons, Glacière, PH-mètre, Entonnoir, test rapide



Figure 36: Matériels d'échantillonnages (photo originale)

1.2. Matériels de laboratoire

La culture *in vitro* doit être totalement aseptique, ce qui implique la stérilisation préalable du matériel suivant:

La verrerie: béchers, Erlen Meyers (1L et 2L), boîtes de pétri, pipettes graduées (1ml et 10 ml), pipette pasteur, entonnoirs, lame et lamelle, des anses et des flacons sombres pour sauvegarder les solutions mères du milieu de culture.

L'appareillage utilisé est le suivant: étuve, autoclave balance de précision, chambre de culture, réfrigérateur, microscope optique, plaque chauffante dotée d'un agitateur, becs bunsen, appareil à photos

🧪 l'eau physiologique 0.9%, les échantillons, milieu de culture (BBM-BG11)

2. Méthode du travail

Le prélèvement des échantillons des microalgues sont réalisés au moins du novembre 2019. Il ya 2 échantillons effectués à chaque site de prélèvement, un échantillon pour faire les analyses physico-chimique et la 2^{ème} échantillon effectuée pour l'isolement et l'identification des souches.

2.1. Méthode d'échantillonnage

2.1.1 Prélèvement

L'échantillonnage se fait par les étapes suivantes :

- ✚ L'opération consiste à filtrer 50 litre d'eau à l'aide du filet
- ✚ La profondeur ne dépasse pas 50cm de la surface de l'eau
- ✚ L'échantillon collecté est versé dans un flacon
- ✚ Les deux sites ont été notés

2.1.2 Les analyses physico-chimiques des eaux de prélèvement

On fait les analyses sur place pour :

➤ paramètres physique

Les paramètres physiques: la température(C°), le potentiel hydrogène (pH) la conductivité électrique (us/cm)

➤ paramètres chimiques

Le dosage des nitrates NO_3 , nitrite NO_2 , ammonium NH_4 , phosphate PO_4 , fer et la dureté ont été effectués sur terrain par l'utilisation des tests rapides.

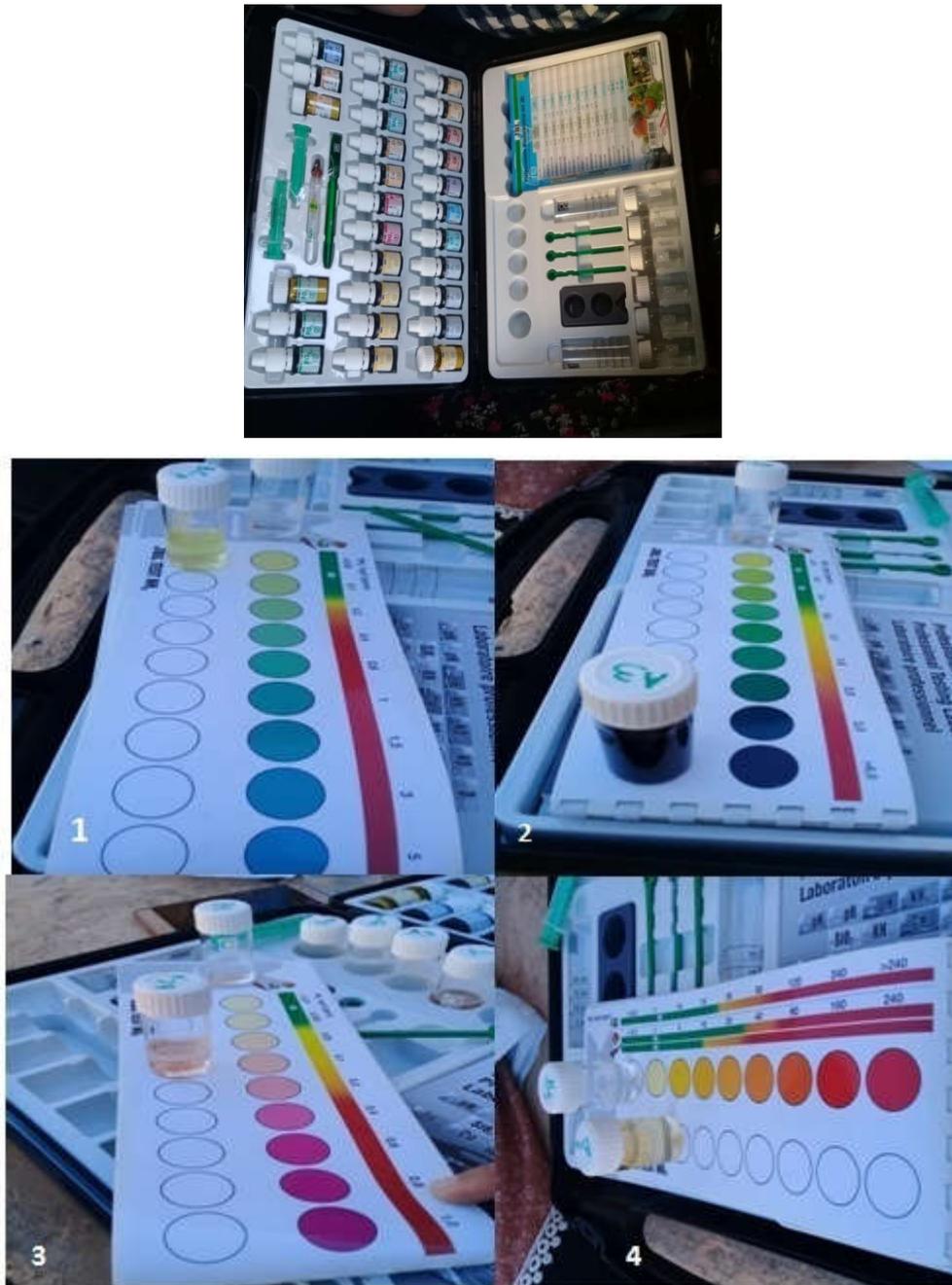


Figure 37: les analyses du test rapide (1: Test d'ammonium NH_4 , 2: test de Dioxyde de silicium SiO_2 , 3: test de Nitrite NO_2 , 4: test de Nitrate NO_3) (photo originale).

2.2 Condition de conservation au cours de transport:

- ✚ Les échantillons doivent être transportés dans une glacière
- ✚ Leur conservation doit se faire à $4c^\circ$ jusqu'à l'analyse au laboratoire qui doit débiter



Figure 38 : la conservation au cours de transport (photo originale)

2.3 Isolement et Identification phénotypique des microalgues

2.3.1 La préparation des milieux de culture

Dans cette expérience on a utilisé les deux milieux de culture: BBM et BG11

Tableau 4: Milieu de culture BBM+V (Bold Basal Medium)

Stock solutions	Quantités (g/l d'H ₂ O)	Solutions mères pour 1 litre de milieu final
1) $NaNO_3$	25.00	30 mL
2) $CaCl_2 \cdot 2H_2O$	2.50	10 mL
3) $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	7.50	10 mL
4) $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	7.50	10 mL
5) KH_2PO_4	17.50	10 mL
6) NaCl	2.50	10 ml
7) Trace element solution (see below)		6 ml
8) Vitamine B1 (see below)		1ml
9) Vitamine B12 (see below)		1ml

Trace element solution (7):

Ajouter à 1000 ml d'eau distillée 0,75 g de Na_2EDTA et les minéraux exactement dans l'ordre suivant:

- $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 97.0 mg
- $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 41.0 mg
- $ZnCl_2 \cdot 6H_2O$ 5.0 mg
- $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 2.0 mg

- $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.0 mg

Vitamine B1 (8)

0,12 g de chlorhydrate de thiamine dans 100 ml d'eau distillée. Filtre stérile.

Vitamine B12 (9)

0,1 g de cyanocobalamine dans 100 ml d'eau distillée, prélever 1 ml de cette solution et ajouter 99 ml d'eau distillée. Filtre stérile.

Tableau 5 : Milieu de culture BG 11 (Blue-Green Medium)

Stocks	Solution mere (g/l)
1) NaNO_3	15.0 g/l
2) K_2HPO_4	2.0 g/500ml
3) $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	3.75 g/500ml
4) $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1.80 g/500ml
5) Citric acid	0.30 g/500ml
6) Ammonium ferric citrate green	0.30 g/500ml
7) EDTANa_2	0.05 g/500ml
8) Na_2CO_3	1.00 g/500ml
9) Trace metal solution :	
H_3BO_3	2.86 g/l
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1.81 g/l
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.22 g/l
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.39 g/l
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.08 g/l
$\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.05 g/l

Moyen

- ✓ Solution mère 1 100,0 ml / l
- ✓ Solutions mères 2 à 8 10,0 ml (pour chaque solution)
- ✓ Solution mère 9 1,0 ml
- ✓ Compléter à 1 litre avec l'eau distillée.
- ✓ Ajuster le pH à 7,1 avec 1M NAOH ou HCl.
- ✓ Pour l'agar, ajouter 15,0 g par litre de gélose.
- ✓ Autoclave pendant 15 minutes.



Figure 39: La préparation des milieux de culture (photos originale)

2.3.2 L'ensemencement et condition d'incubation

Prélever quelque goutte d'échantillon on a d' déjà collecté par un pipete stérile On faire l'ensemencement sous forme des stries.



Figure 40: L'ensemencement d'échantillonnages dans des conditions stériles (photo originale)

L'incubation réalisée dans une chambre (salle de phyto) thermostaté grace a un climatiseur a température de 25c°.

Les boîtes disposées sur des étagères avec une photoperiode: (lumière /obscurité) (16/8)

2.3.3 Identification et purification

Après 15 jours ont vu des colonies sur la surface du milieu gélosé, nous avons procédé des observations macroscopique et microscopique

2.3.3.1 Observations macroscopiques

L'observation à l'œil nu pour définir l'aspect morphologique des colonies (forme, aspect, taille et couleur).

2.3.3.2 Observations microscopiques

L'observation sous microscope, permet la détermination de la morphologie des cellules: Chaque type de colonies a été déposé sur une lame dans une petite quantité d'eau physiologie (on ajoute l'eau physiologique si les échantillons sont condensés).

Prélever quelque goutte d'échantillon et braser la suspension sur une lame (préparé trois lames pour le même échantillon)

La suspension contenant les microalgues doit être montée sous lamelle pour l'observer sous microscope optique

Les lames sont prêtes pour l'observation au microscope (x 40)

2.3.3.3 La purification

Les souches pure d'intérêt ont été prélevées,ensemencées par stries et incubées dans les mêmes conditions.

La purification a été réalisée par l'établissement de plusieurs repiquages successifs sur BG11 et BBM par la méthode de stries.

Chapitre III :

Résultats et

discussion

1. Les analyses physicochimiques des eaux de prélèvement

La connaissance de la nature et la composition de l'eau donne une idée sur la qualité des eaux de chaque site de prélèvement, le développement et la répartition de la flore aquatique (Chader, 2009).

1.1 Détermination des paramètres physique

La méthode colorométrique permet la mesure rapide, elle est utilisable sur le terrain et au laboratoire (Rodiere, 2009). Le tableau résume les résultats obtenus des analyses pour les 3 sites de prélèvement.

Tableau 6: les caractéristiques physiques des eaux prélèvements

	<i>T</i>	conductivité	PH
Bp1-1	21.9	1505	7.44
Bp1-2	22.7	1497	7.62
Bp1-3	22.4	1500	7.84

Les paramètres étudiés sur les 3 sites sont les plus influents sur la croissance des microalgues.

La température est modérée c'est un élément essentiel qui affecte la densité de l'eau, sa viscosité, les réactions chimiques et biochimiques ainsi que la solubilité des gaz, en particulier l'oxygène, (Aminot et Chaussepied, 1983).

Sachant que l'eau est un puissant solvant pour de nombreux minéraux, La salinité désigne la quantité des sels dissous, plus la concentration de ces derniers est forte plus la conductivité de l'eau est importante c'est à dire la qualité d'eau est douce (Rodier, 2009).

Et le pH un peu alcalin, tout cela pourrait s'expliquer par une activité photosynthétique intense de la flore algale.

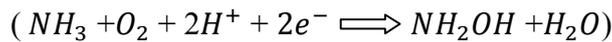
1.2. Détermination des paramètres chimique

Tableau 7: les caractéristiques chimiques des eaux prélèvements

	NH_4	NO_2	NO_3	PO_4	SiO_2	Fe	Dureté
Bp1-1	<0.05	<0.01	<0.05	<0.02	1.6	<0.02	18
Bp1-2	<0.05	<0.01	<0.5	<0.02	2	<0.02	22
Bp1-3	<0.05	<0.01	<0.5	<0.2	2	<0.02	20

La nitrification est définie comme la conversion biologique de l'azote minéral réduit (NH_3 ou NH_4^+) en azote minéral oxydé sous forme NO_2^- ou NO_3^- (Suzuki et al, 1974)

- L'ammoniac est en premier lieu oxydé en hydroxylamine



Sous l'action de l'enzyme ammoniac monooxygénase (AMO).

- L'hydroxylamine est ensuite oxydée en nitrite



Sous l'action de l'hydroxylamine oxydoréductase (HAO).

- Le NO_2^- est ensuite oxydé en NO_3^-



Sous l'action du nitrite déshydrogénase

L'oxydation de NO_2^- en NO_3^- est provoquée par les Nitrobacters et les Nitrospira.

La nitrification est contrôlée essentiellement par la disponibilité de l'ion NH_4^+ pour les organismes nitrifiants. La disponibilité de l'ion NH_4^+ dépend de la minéralisation de l'azote (qui produit de l'ion NH_4^+) (Abeliovich, 2006).

2. Isolement et identification des microalgue

2.1 Résultat de l'étude macroscopique

Après les 15 jours d'incubation, ont observées plusieurs colonies circulaires. Celles qui ont été bien visibles à l'oeil nu, d'un aspect duveteux compact, ou lisse aérés de couleur verte, à bords réguliers ou irréguliers, brillants ou ternes.

En plus on a observé d'autres colonies brunes plus petites à la surface du milieu de culture.

Nous avons constaté que des colonies bactériennes, et des champignons.



Figure 41 : L'observation macroscopique (photo originale)

2.2 Résultat de l'étude microscopique

L'observation microscopique des microalgues vert dans la zone humide étudiées a permis identifiée 3 souches des microalgues

2.2.1 *Scenedesmus sp*

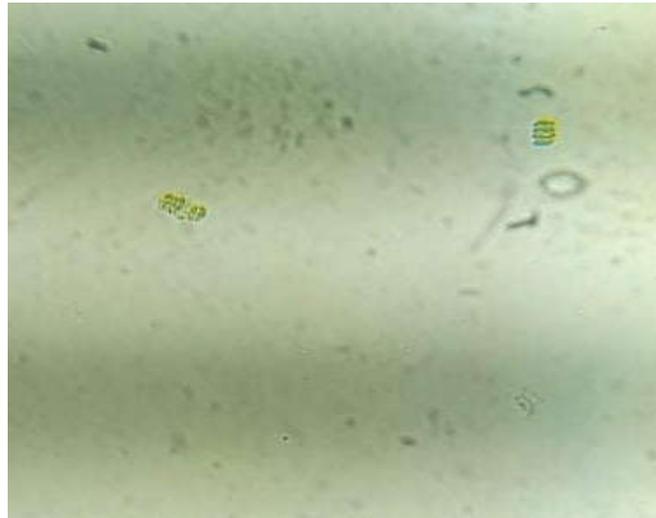


Figure 42 : L'observation microscopique de *Scenedesmus sp* sous microscope optique Gx40

Discription

Ce sont des microalgues vertes présentées sous forme de colonnies de 2-8 cellules, ellipsoïdales à fusiformes, les cellules sont arrangées, avec parois droites, des sommets légèrement arrondies ; des cellules marginales se rétrécissent pour tronquer les sommets, la cellule est convexe au milieu, de longues épines à chaque pole .les cellulless sont taille 1.8-6 um de largeur ,10-13um de longueur (John D .M.et al .2011)

Classification

Selon (BOURRELLY, 1990). Cette souche appartient

Embranchement : *Chlorophyta*

Classe : *Chlorophyceae*

Ordre : *Chlorococcales*

Famille: *Scenedesmaceae*

Genres: *Scenedesmus*

Espèces: *Scenedesmus sp*

2.2.2 *Chlorella sp*

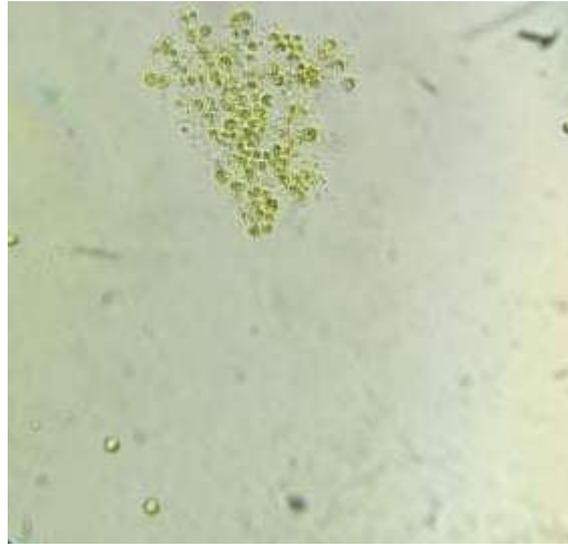


Figure 43 : L'observation microscopique de **Chlorella sp**
Sous microscope optique Gx40

Discription

Chlorella est une micro-algue vertes, unicellulaire, eucaryote, se développant dans les eaux douces .en taxonomie, elle fait partie de la classe des chlorophytes. Cette algue sphérique mesure entre 2et 8 um et possède un noyau bien spécifique et une membrane cellulosique. Elle est constituée de 50à60% de protiénes, de nombreux minéraux (cuivre, fer, magnésium,...) d'acides gras dont certains oméga-3 et de pigments tels que la chlorophylle qui représente de 2à4% de son poids sec. Grace à la photosyntése, elle se reprodit très rapidement : une fois par jour, chaque cellule se divise en quatre (DABBADIEL., 1992).

Classification

Selon (BOURRELLY, 1990). Cette souche appartient

Division : *Chlorophyta*.

Classe : *Chlorophyceae*.

Order: *Chlorococcales*.

Famille : *Chlorellaceae*

Genre : *Chlorella*

Espèces : *Chlorella sp*

2.2.3 *Euglena sp*



Figure 44 : L'observation microscopique d'*Euglena sp*
Sous microscope optique Gx40

Description

Euglena C'est une microalgue unicellulaires, flagellées, rarement coloniales. Lorsque les euglènes sont coloniales, les microalgues ont perdu leurs flagelles, sont retrouvées généralement dans les eaux saumâtres, douces et marines. Le plaste contient les chlorophylles a et b, associée à du B, B-carotène et desxanthophylles. Ils sont pourvues d'une structure péricellulaire caractéristique appelée pellicule (CANTIN, 2010).

Classification

Selon (BOURRELLY, 1990). Cette souche appartient

Classe: *Euglenophyceae*

Ordre: *Euglenales*

Famille: *Euglenoacées*

Genre: *Euglena*

Espèce: *Euglena sp*

Conclusion

Les microalgues sont actuellement envisagées comme des organismes capables valoriser comme engrais, fertilisant, stabilisateur de sol ou encore protecteur de cultures. Grâce à leur capacité à fixer l'azote, les microalgues et plus particulièrement les cyanobactéries permettent de maintenir une fertilité des sols et des cultures. Les microalgues ont également la capacité à influencer la croissance des plantes à partir de la synthèse de molécules bioactives.

Dans notre étude, nous avons répartis et isolé des microalgues issues dans barrage fontaine des gazelles sur des milieux de culture BBM et BG 11. La méthode adoptée pour l'isolement et la purification des souches a permis d'obtenir des souches de *Chlorella sp.*, *Scenedesmus sp* et *Euglena sp* valorisables pour la production de biomasse. Aptes à être valorisées dans divers domaines.

Les analyses physico-chimiques des eaux du barrage fontaine des gazelles ont montré des informations sur les conditions opérationnelles (température, pH) et la composition en éléments nutritifs indispensables (azote, phosphate) pour la culture de ces microalgues.

En conclusion, cette étude a permis d'identifier les espèces des microalgues d'intérêt et de savoir leurs lieux d'habitat afin de les isoler et les exploiter aux futurs travaux de recherche.

Pour des recommandations et des perspectives

- Apportez tous les matériels nécessaires pour cette étude soit au terrain soit au laboratoire.
- La période de prélèvement d'essai se faire dans le mois de novembre.
- Essayer de changer les points des prélèvements
- Nous avons fait Plusieurs répétition pour chaque prélèvement.

Références bibliographique

1. Abeliovich, A., 2006. The Nitrite Oxidizing Bacteria. . In: Dworkin, M.e.a. (Ed.), The Prokaryotes. Springer-Verlag, New York, pp. 861-872.
2. Al-Masry, W. Influence of Gas Separator and Scale-up on the Hydrodynamics of External Loop Circulating Bubble Columns Chemical Engineering Research and Design, 2004, 82, 381-389
3. Andersen, R. A. et R. Arthur (2005). Algal Culturing Techniques. Boston: Elsevier Academic Press, 596 p.
4. Andersen, R. Algal culturing techniques Elsevier academic press, 2005, 578
5. Apt, K. E. & Behrens, P. W. Commercial developments in microalgal biotechnology Journal of Phycology, 1999, 35, 215-226
6. Ayehunie, S., Belay, A., Baba, T.W., Ruprecht, R.M., 1998. Inhibition of HIV-1 replication by an aqueous extract of Spirulina platensis (Arthrospira platensis). J. Acquir. Immune
7. Barbosa, M. J. (2003). "Microalgal photobioreactors: scale up and optimisation." Wageningen Universtateit, Nederland. 90-5808-898-7. pp. 168.
8. Becker, E. Sir James Baddiley, N.H. Carey, I. H. W. P. (Ed.) Microalgae: Biotechnology and Microbiology Cambridge Studies in Biotechnology, 1994, 293
9. Becker, W., 2004. Microalgae in Human and Animal Nutrition, in: Richmond, A. (Ed.), Handbook of Microalgal Culture. Blackwell Publishing Ltd, pp. 312-351.
10. Ben-Amotz, A., 1993. Marine Biotechnology Volume 1: Pharmaceutical and Bioactive Natural Products. Springer.
11. Benemann, J.-R. (2008). Open Ponds and Closed Photobioreactors - Comparative Economics. In Benemann Associates and Manager International Network on Biofixation of CO₂ and Greenhouse Gas Abatement (réd), 5th Annual World Congress on Industrial Biotechnology & Bioprocessing, Chicago, 30 avil, 2008
12. Berberoglu, H.; Gomez, P. S. & Pilon, L. Radiation characteristics of Botryococcus braunii, Chlorococcum littorale, and Chlorella sp. used for CO₂ fixation and biofuel production Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer, 2009, 110, 1879- 1893.
13. BOURRELLY P., 1990, les Algues d'eau douce .Tome 1.Edition. N Boubée. Paris.569 p.
14. Bitog, J.; Lee, I.-B.; Lee, C.-G.; Kim, K.-S.; Hwang, H.-S.; Hong, S.-W.; Seo, I.-H.; Kwon, K.-S. & Mostafa, E. Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: A review Computers and Electronics in Agriculture, 2011, 72, 131-147

15. Borowitzka, M.A., 1995. Microalgae as sources of pharmaceuticals and other biologically active compounds. *J Appl Phycol* 7, 3-15.
16. Brennan, L. & Owende, P. Biofuels from microalgae--A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2010, 14, 557-577
17. Brown, M.R., Jeffrey, S.W., Volkman, J.K., Dunstan, G., 1997. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture* 151, 315-331.
18. Cadoret, J. & Bernard, O. La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis *Journal de la Société de Biologie*, 2008, 202, 201-211.
19. CANTIN I., 2010. La production biodiesel à partir des Microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe. Mémoire de maître en environnement. Université de Sherbrooke. 87p.
20. Cavalla, M. (2000). Les algues - Les microalgues, In Mcavalla.free.fr
21. Céline Dejoye, 2013. Eco-Extraction et analyse de lipide de micro-algues pour la production d'algocarburant thèse de doctorat, université D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE ; P 49.177.
22. Certik, M., Shimizu, S., 1999. Biosynthesis and regulation of microbial polyunsaturated fatty acid production. *J. Biosci. Bioeng.* 87, 1-14.
23. Chevalier, P. et al. (2002). Technologies d'assainissement et prévention de la pollution, Sainte-Foy (Québec), Université du Québec - Télé-université, 440 p. (Collection Sciences de l'environnement).
24. Chisti, M. Y. *Airlift bioreactors*. London and New-York : Elsevier Applied Science, 1989, 345
25. Chisti, Y. & Moo-Young, M. Improve the Performance of Airlift Reactors *Chemical Engineering Progress*, 1993, June 1993, 38-45
26. Chisti, Y. Biodiesel from microalgae *Biotechnology Advances*, 2007, 25, 294-306
27. Chisti, Y. Pneumatically Agitated Bioreactors in Industrial and Environmental Bioprocessing: Hydrodynamics, Hydraulics, and Transport Phenomena *Applied Mechanics Reviews*, 1998, 51, 33-112
28. Christenson, L. & Sims, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts *Biotechnology Advances*, 2011, 29, 686-702
29. Contreras, A.; García, F.; Molina, E. & Merchuk, J. C. Interaction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *Phaeodactylum tricornutum* in a concentric tube airlift photobioreactor *Biotechnology and Bioengineering*, 1998a, 60, 317-325

30. Coste, S. (2008). III. Les algues, In CIRAD.
31. CRBM (Centre de recherche sur les biotechnologies marines de Rimouski) (2006). Étude d'opportunité des biotechnologies marines sur la production et l'utilisation des microalgues. Alain Guillou, 292 p.,
32. Csögör, Z.; Herrenbauer, M.; Perner, I.; Schmidt, K. & Posten, C. Design of a photobioreactor for modelling purposes *Chemical Engineering and Processing*, 1999, 38, 517-523.
33. DABBADIE L, 1992. Cultures intensives de microalgues sur lisier de PORC: Performances, contraintes, utilisation des biomasses. Diplome d'agronomie approfondie. école nationale supérieure agronomique de montpellier. France. 123p.
34. Degen, J.; Uebele, A.; Retze, A.; Schmid-Stalger, U. & Trösch, W. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. *Journal of Biotechnology*, 2001, 92, 89-94.
35. Demirbas, A. & Demirbas, M. F. *Algae Energy Algae as a new source of biodiesel* Springer, 2010, 199
36. Desmorieux, H., Decaen, N., 2005. Convective drying of spirulina in thin layer. *Journal of Food Engineering* 66, 497-503.
37. DGCIS - Trimatec - Adébiotech, "Algues, fillières du futur Livre Turquoise," 2010.
38. El Hattab- Bouzidi, D., 2003. Détermination des stérols de l'algue rouge *Asparogopsis armata* par spectrométrie infrarouge à transformée de Fourier en employant l'extraction en phase solide : Etude comparative avec la chromatographie liquide à haute performance. Mémoire de magistère. Département de chimie industrielle, Univ Saad Dehleb blida 87p.
39. ENEA Consulting, 2011 Le potentiel des microalgues , *Bioenergy International* Ed ., Paris
40. FAO Lavens, P. & Sorgeloos, P. (Eds.) *Manual on the production and use of live food for aquaculture* FAO Fisheries Technical Paper, 1996, 295
41. Gorecki, M., Beck, Y., Hartman, J.R., Fischer, M., Weiss, L., Tochner, Z., Slavin, S., Nimrod, A., 1991. Recombinant human superoxide dismutases: production and potential therapeutical uses. *Free Radic. Res. Commun.* 12-13 Pt 1, 401-410.
42. Grima, E. M.; Sevilla, J. M. F.; Pérez, J. A. S. & Camacho, F. G. A study on simultaneous photolimitation and photoinhibition in dense microalgal cultures taking into account incident and averaged irradiances *Journal of Biotechnology*, 1996, 45, 59-69
43. Grobbelaar, J. Turbulence in mass algal cultures and the role of light/dark fluctuations *Journal of Applied Phycology*, Springer Netherlands, 1994, 6, 331-335
44. Grobbelaar, J. U. Physiological and technological considerations for optimising mass alga! cultures *Journal of Applied Phycology*, Springer Netherlands, 2000, 12, 201-206

45. Heijnen, J. J.; Hols, J.; van der Lans, R. G. J. M.; van Leeuwen, H. L. J. M.; Mulder, A. & Weltevrede, R. A simple hydrodynamic model for the liquid circulation velocity in a full-scale two- and three-phase internal airlift reactor operating in the gas recirculation regime *Chemical Engineering Science*, 1997, 52, 2527-2540
46. Herman Weiss, 2008. Method for growing photosynthetic organisms.
47. Hernández-Corona, A., Nieves, I., Meckes, M., Chamorro, G., Barron, B.L., 2002. Antiviral activity of *Spirulina maxima* against herpes simplex virus type 2. *Antiviral Res.* 56, 279–285.
48. Hoff, F. H. et T W. Snell (2008). *Plankton Culture Manual*. Dade City: Aqua Farms Inc, 183 P.
49. Hu, Q. Environmental effects on cell composition In : Richmond, A. *Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology* Blackwell Publishing Ltd, 2004, 566
50. Kerlero de Rosbo G., Bernard O., 2014,2015,Ressources algales pour l'énergie et la chimie en France à l'horizon 2030, ENEA Consulting, INRIA ,ADEME, Paris : 122 p.+Annexes 49p .
51. Khozin-Goldberg, I., Cohen, Z., Pimenta-Leibowitz, M., Nechev, J., Zilberg, D., 2006. Feeding with arachidonic acid-rich triacylglycerols from the microalga *Parietochloris incisa* improved recovery of guppies from infection with *Tetrahymena* sp. *Aquaculture* 255, 142-150.
52. Koning, R. E. (1994). *Cyanobacteria Slides*. In University of Texas. *Plant Physiology Information* .
53. Lee, Y.-K. Microalgal mass culture systems and methods: Their limitation and potential *Journal of Applied Phycology*, Springer Netherlands, 2001, 13, 307-315
54. León, R., Martín, M., Vígara, J., Vilchez, C., Vega, J.M., 2003. Microalgae mediated photoproduction of beta-carotene in aqueous-organic two phase systems. *Biomol. Eng.* 20, 177-182.
55. Lindblad, P. (2005). Bio Hydrogen Nordic Energy Research Program, In Uppsala University, Suède. Site de HFP Europe, # 28-02, 20 p.,
56. Lívanský, K. & Doucha, J. CO₂ and O₂ gas exchange in outdoor thin-layer high density microalgal cultures *Journal of Applied Phycology*, Springer Netherlands, 1996, 8, 353-358
57. Lu, W.-J.; Hwang, S.-J. & Chang, C.-M. Liquid velocity and gas holdup in three-phase internal loop airlift reactors with low-density particles *Chemical Engineering Science*, 1995, 50, 1301-1310
58. Luan, T.G., Jin, J., Chan, S.M.N., Wong, Y.S., Tam, N.F.Y., 2006. Biosorption and biodegradation of tributyltin (TBT) by alginate immobilized *Chlorella vulgaris* beads in several treatment cycles. *Process Biochemistry* 41, 1560–1565.

59. Martek (2008). Martek Biosciences corporation. In Martek. Aboutmartek.martek.com, .
60. Masojidek, J.; Koblizek, M. & Torzillo, G. Photosynthesis in microalgae In : Richmond, A. Handbook of Microalgal Culture Biotechnology and Applied Phycology Blackwell Publishing Ltd, 2004, 566
61. Melis, A., Happe, T., 2001. Hydrogen Production. Green Algae as a Source of Energy. Plant Physiol. 127, 740–748.
62. Merchuk, J.C. & Gluz, M. Bioreactors, Air-lift reactors In: Flekinger, M. C. & Drew, S. W. (Eds.) Encyclopedia of Bioprocess technology : Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation John Wiley & Sons, Inc., 1999, 1-5, 2855
63. Mirón, A. S.; Gómez, A. C.; Camacho, F. G.; Grima, E. M. & Chisti, Y. Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae Journal of Biotechnology, 1999, 70, 249-270
64. Mirón, S. A.; García Camacho, F.; Contreras Gómez, A.; Grima, E. M. & Chisti, Y. Bubble-column and airlift photobioreactors for algal culture AIChE Journal, Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company, 2000, 46, 1872-1887
65. Moradi, S.; Rajabi, Z.; Mohammadi, M.; Salimi, M.; Homami, S.; Sey dei, M. & Shirazian, S. 3 dimensional hydrodynamic analysis of concentric draft tube airlift reactors with different tube diameters Mathematical and Computer Modelling, 2013, 57, 1184-1189
66. Muller-Feuga A., 2000. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. Journal of Applied Phycology 12, 527-534.
67. NREL, 2012.
68. Olaizola, M. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace Biomolecular Engineering, 2003, 20, 459-466
69. Oyadomary, J. (2005). Algal images. In Keweenawalgae.mtu.edu
70. Park, J.; Craggs, R. & Shilton, A. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production Bioresource Technology, 2011, 102, 35-42
71. Perales-Vela, H.V., Peña-Castro, J.M., Cañizares-Villanueva, R.O., 2006. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. Chemosphere 64, 1–10.
72. PERSON J., 2011. Algues, filières du futur. Edition: Adebitech Romainville. France. 182p
73. Pulz, O. Performance Summary Report. Evaluation of GreenFuel's 3D Matrix Algae Growth. Engineering Scale Unit. APS. Red Hawk Power Plant., 2007
74. Pulz, O. Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms Applied Microbiology and Biotechnology, Springer Berlin / Heidelberg, 2001, 57, 287-293

75. Rangel-Yagui, C. de O., Danesi, E.D.G., de Carvalho, J.C.M., Sato, S., 2004. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed- batch process. *Bioresource Technology* 92, 133-141.
76. Razzak, S. A.; Hossain, M. M.; Lucky, R. A.; Bassi, A. S. & de Lasa, H. Integrated CO₂ capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing-A review *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2013, 27, 622-653
77. Rechter, S., König, T., Auerochs, S., Thulke, S., Walter, H., Dörnenburg, H., Walter, C., Marschall, M., 2006. Antiviral activity of *Arthrospira*-derived spirulan-like substances. *Antiviral Res.* 72, 197-206.
78. Rengel A. Conception et analyses énergétique et environnementale d'un bioréacteur à microalgues pour la production d'énergie. Thèse énergétique. Paris : Ecole nationale supérieur des mines de Paris, 2010, 183
79. Richmond, A. Biological principles of mass cultivation In : Richmond, A. *Handbook of Microalgal Culture - Biotechnology and Applied Phycology* Blackwell Publishing Ltd, 2004, 566
80. Richmond, A. Principles for attaining maximal microalgal productivity in photobioreactors: an over view *Hydrobiologia*, Springer Netherlands, 2004a, 512, 33-37
81. Robert, R., Chretiennot-Dinet, M.-J., Kaas, R., Martin-Jezequels", Moal, J., Le Coz, J.-R., Nicolas, J.-L., Bernard, E., Connan, J.-P., Le Dean, L., Le Gourrierec, G., Leroy, B., Quere, C., 2004. Amélioration des productions phytoplanctoniques en éclosérie de mollusques : caractérisation des micro-algues fourrage.
82. Sierra, E.; Ación, F.; Fernández, J.; García, J.; González, C. & Molina, E. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae *Chemical Engineering Journal*, 2008, 138, 136-147
83. Singh, R. & Sharma, S. Development of suitable photobioreactor for algae production - A review *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2012, 16, 2347-2353
84. sögör, Z.; Herrenbauer, M.; Perner, L; Schmidt, K. & Posten, C. Design of a photobioreactor for modelling purposes *Chemical Engineering and Processing*, 1999, 38, 517-523
85. Soletto, D., Binaghi, L., Lodi, A., Carvalho, J.C.M., Converti, A., 2005. Batch and fed-batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. *Aquaculture* 243, 217-224.
86. Suali, E. & Sarbatly, R. Conversion of microalgae to biofuel *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2012, 16, 4316-4342
87. Suzuki, I., Dular, U., Kwok, S.C., 1974. Ammonia or ammonium ions as substrates for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *Journal of Bacteriology* 120, 556-558.

88. Tebbal, A., 2011. Composition chimique et minérale de quatre algues benthiques de la région de Kouali (Tipaza). Mémoire de magister. Ecole nationale supérieure des sciences de la mer et de l'aménagement du littoral.

89. T. M. Mata, A. A. Martins, and N. S. Caetano, "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review," *Renew. Sustain. Energy Rev.*, vol. 14, no. 1, pp. 217–232, Jan. 2010.

90. Tredici, M. R., Mass production of microalgae: Photobioreactors. In: Richmond, A. Handbook of Microalgal Culture Biotechnology and Applied Phycology Blackwell Publishing Ltd, 2004, 566

91. Van Baalen, C., Hoare D. S., Brandt, E. (1970). Heterotrophic Growth of Blue-Green Algae in DimLight, In University of Texas, Marine Science Institute Port Aransas, Texas. NIH Pubmedcentral,

92. Vial, C.; Poncin, S.; Wild, G. & Midoux, N. Experimental and theoretical analysis of the hydrodynamics in the riser of an external loop airlift reactor *Chemical Engineering Science*, 2002, 57, 4745-4762

93. Yun, Y.-S. & Park, J. M. Kinetic modeling of the light-dependent photosynthetic activity of the green microalga *Chlorella vulgaris* *Biotechnology and Bioengineering*, 2003, 83, 303-311

94. Zeng, X.; Danquah, M. K.; Chen, X. D. & Lu, Y. Microalgae bioengineering: from CO₂ fixation to biofuel production *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2011, 15, 3252- 3260

95. Zhang, T.; Wang, T. & Wang, J. Analysis and Measurement of Mass Transfer in Airlift Loop Reactors *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 2006a, 14, 604-610

96. Stanier RY, Kunisawa R, Mandel M & Cohen-Bazire G (1971) Purification and properties of unicellular blue-green algae (Order Chroococcales). *Bacteriol. Rev.* 35: 171-205.

Résumé

L'objectif de cette étude est d'identifier des microalgues au niveau de barrage fontaine des gazelles l'Outaya de la wilaya de Biskra

Pour produire de la biomasse algale on utilise une méthode basée sur l'isolement puis la purification des souches par repiquage répété sur boîtes de pétri contenant 2 milieu de culture : Blue-Green Medium (BG11) et l'autre milieu Bold's Basal Medium (BBM).

Après une bonne stratégie d'échantillonnage, l'identification phénotypique par le microscope optique les résultats d'identification nous ont montré que trois souches: *Chlorella sp*, *Euglena sp*, *Scenedesmus sp*

Mot clés: Micralgues, *Chlorella sp*, *Euglena sp*, *Scenedesmus sp*, biomasse, production, identification phénotypique

Abstract

The objective of this study is to identify green microalgae at the level of the barrage fountain of Gazelles l'Outaya

To produce algal biomass, a method based on the isolation and then purification of the strains by repeated subculturing on petri dishes containing 2 culture mediums: Blue-Green Medium (BG11) and the other Bold's Basal (BBM) medium is used.

After a good sampling strategy, the phenotypic identification by the optical microscope the identification results showed us that three strains: *Chlorella sp*, *Euglena sp*, and *Scenedesmus sp*

Keywords: Micralgues, *Chlorella sp*, *Euglena sp*, *Scenedesmus sp*, biomass, production, phenotypic identification

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو التعرف على الطحالب الدقيقة الخضراء على مستوى نافورة قناطر الغزلان لوطاية ولاية بسكرة . لإنتاج الكتلة الحيوية الطحلبية ، يتم استخدام طريقة تعتمد على عزل السلالات ثم تنقيتها عن طريق تكرار الثقافة الفرعية على أطباق بتري تحتوي على وسطي استزراع Blue-Green Medium (BG11) ووسيط Bold's Basal (BBM) الآخر . بعد إستراتيجية جيدة لأخذ العينات، فإن التعرف على النمط الظاهري بواسطة المجهر الضوئي، أظهرت لنا نتائج التحديد أن

ثلاث سلالات *Chlorella sp* و *Euglena sp* و *Scenedesmus sp*

الكلمات المفتاحية: Micralgues، *Chlorella sp*، *Euglena sp*، *Scenedesmus sp*

، الكتلة الحيوية، الإنتاج، تحديد النمط الظاهري