REPUBLIQUEALGERIENNEDEMOCRATIQUEET POPULAIRE

MINISTEREDEL'ENSEIGNEMENTSUPERIEUREETDELARECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITEDE YAHIA FARES MEDEA

FACULTEDES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour l'obtention du diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Par :

Yahiaoui Fatna

Benkali Rawnek

Thème :

Optimisation de composition du milieu sur production des lipides chez les microalgues autochtones

Soutenue publiquement le : 30 /06/2025, Devant les jurys composé de :

Touzout Nabil	**MCA**	U.Médéa	Examinateur
Kirdi Bilal	**MCA**	U. Médéa	Président
Ainas Mahfoud	**MCA**	U.Médéa	Encadreur
Houatis Cherif		U. Médéa	Co-Encadreur

Année universitaire 2024/2025

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Dieu pour m'avoir permis de mener à bien ce travail. Nous exprimons notre profonde reconnaissance à Monsieur le Directeur de l'Université Yahia Fares de Médéa pour son soutien à la recherche et aux étudiants.

Nous remercions sincèrement notre encadrant Monsieur ***Ainas Mahfoud*** *pour son accompagnement et ses précieux conseils tout au long de ce mémoire. Notre gratitude va aussi à Monsieur* ***Houatis Cherif****, Co-encadrant, pour son soutien et ses orientations. Je remercie Monsieur* ***Kirdi Bilal*** *président du jury, ainsi que Monsieur* ***Touzout Nabil****, l'examinateur, pour leur implication dans l'évaluation de ce travail.*

Nous n'oublions pas de remercier les ingénieurs du laboratoire pour leur aide technique et leur disponibilité.

Enfin, un grand merci à tous ceux qui m'ont soutenue de près ou de loin dans la réalisation de ce projet : collègues, amis, enseignants.

Rawnek

Fatma

Dédicace

Et enfin, nous y sommes arrivés... Après un chemin rempli

De patience, de veilles et d'espérance, Je dédie ce travail, avec un cœur reconnaissant et des larmes de joie, à :

L'âme pure de **mon père** رَحِمَهُ الله, dont les traits vivent encore dans ma mémoire, et la voix résonne dans mon cœur.

Et que le Paradis éternel soit sa demeure.

À **ma chère mère**, symbole de tendresse et de patience, je prie Dieu de lui accorder la guérison, et que son visage demeure une lumière qui éclaire ma vie.

À mes **chères sœurs** : Zahra, Moubarka, Dalila, Salma, Hafida, Malika et Souad, et à mes **chers frères** : Yahia, Amer, Omar et Khair-Eddine, à leurs enfants respectifs, et à toute ma grande famille « Yahiaoui », je vous porte un amour sans mesure, et des prières qui ne cessent jamais.

À celles et ceux qui ont partagé le chemin et allégé les lourdeurs du cœur : Rawnek, mon binôme et moitié de ce parcours,Rabia Ouassila, et Amira², vous êtes la lumière dans l'obscurité, et la présence inoubliable.

Fatma

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

À ma **chère maman**, source d'amour, de sagesse et de tendresse infinie, A mon **cher père**, pour sa force, ses sacrifices et sa confiance inébranlable,

À mon A mon compagnon de route, et mon soutien dans la vie

Mon cher mari, Kheirddine et mon ange Abdelmalek, mon bonheur et ma motivation quotidienne,

À mes **deux frères** : Akram et Abderrahmane et à ma sœur Touba, pour leur affection, leur soutien et leur présence réconfortante,

À ma belle-famille : Beau-père, Belle-mère et mes belles-sœurs Chaima Sarah et Kaouthar pour leur bienveillance et leur encouragement,

À mes cousins et cousines, et tous la famille Benkali et Guessaymi, À mon encadreur Mr.Ainas, pour son accompagnement, sa patience et ses conseils avisés,

À tous mes enseignants, pour leur savoir transmis avec passion et dévouement, Et à ma chère amie Fatma, pour son amitié sincère,

Et encouragements tout au long de ce parcours.

Merci à chacun d'avoir contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail. Ce mémoire est aussi le vôtre.

Rawnek

Résumé

Résumé :

La production de lipides par les microalgues représente un enjeu majeur pour le développement de biocarburants et de produits à haute valeur ajoutée. Cette étude s'inscrit dans une perspective de valorisation durable, où le biodiesel issu des microalgues pourrait se substituer au diesel fossile, l'objectif de notre travail expérimental a porté sur l'évaluation de l'effet de l'intensité lumineuse, la température et la composition du milieu de culture sur l'accumulation lipidique chez deux souches autochtones : Chlorella et Planktothrix, isolées de la wilaya de Médéa et mises en culture. Les microalgues ont été cultivées dans un milieu BBM appauvri en azote, enrichi en différentes sources de carbone (glucose, $NaHCO_3$), sous diverses conditions de température et d'éclairement. Les expériences réalisées ont permis de d'obtenir la teneur de 49% et 28% en lipides pour chlorella et planchtotrix respectivement. Les résultats révèlent que la voie phototrophe est plus favorable que la méxotrophie, la phototrophie contribuant ainsi à la réduction de l'empreinte carbone et à la préservation de l'environnement.

Mot clé : *chlorella*, *Planktothrix*, Lipide, Glucose, NaHCO3, température, lumière, biodiesel.

Résumé

Abstract:

Lipid production by microalgae represents a major challenge for the development of biofuels and high-value-added products. This study is part of a sustainable development approach, where biodiesel derived from microalgae could replace fossil diesel. The aime of this experimental work was to evaluate the effect of light intensity, temperature, and culture medium composition on lipid accumulation in two native strains: *Chlorella* and *Planktothrix*, isolated from the Médéa region and cultured in the lab. The microalgae were grown in a nitrogen-depleted BBM medium enriched with different carbon sources (glucose, $NaHCO_3$), under various temperature and lighting conditions. The experiments yielded lipid contents of 49 % for Chlorella and 28 % for *Planktothrix*. The results reveal that the phototrophic mode is more favorable than mixotrophy, with phototrophy contributing to carbon footprint reduction and environmental preservation.

Keywords: *chlorella, Planktothrix,* Lipids, Glucose, $NaHCO_3$, Temperature, Light intensity, Biodiesel.

Résumé

الملخص:

تمثّل إنتاجية الليبيدات (الدهون) من الطحالب المجهرية تحديًا رئيسيًا في مجال تطوير الوقود الحيوي والمنتجات ذات القيمة العالية. وتندرج هذه الدراسة في إطار نهج التنمية المستدامة، حيث يمكن لوقود الديزل الحيوي المستخرج من الطحالب أن يكون بديلاً محتملاً للديزل الأحفوري. هدف عملنا التجريبي تمثّل في تقييم تأثير شدة الإضاءة ودرجة الحرارة وتركيب وسط الزرع على تراكم الليبيدات لدى سلالتين محليتين: الكلوريلا وبلانكتوتريكس، المعزولتين من ولاية المدية وتمت زراعتهما مخبريًا. نُميت الطحالب في وسط BBM فقير بالنيتروجين ومُدعّم بمصادر كربون مختلفة)الغلوكوز، ($NaHCO_3$، تحت ظروف مختلفة من درجات الحرارة والإضاءة. أسفرت التجارب عن نسب ليبيدات بلغت 49%للكلوريلا و28% للبلانكتوتريكس. وأظهرت النتائج أن النمط الضوئي أكثر ملاءمة من النمط المختلط، حيث يُسهم في تقليل البصمة الكربونية والحفاظ على البيئة.

الكلمات المفتاحية: كلوريلا، بلانكتوتريكس, ليبيدات ، غلوكوز، درجة الحرارة، شدة الإضاءة، ديزل حيوي ,بيكاربونات الصوديوم

Liste des abréviations :

ADP : Adénosine diphosphate

AG : acide gras

ACCase : Acétyl-CoA carboxyle

AGPI-LC : Acide gras polyinsaturés à longue chaîne

ALA : Acide alpha-linolénique

ATP : Adénosine triphosphate

BBM : Bold's Basal Medium

BL : Les bétaïne lipides (lipides de bétaïne)

C : Carbone DHA : Acide docosahexaénoïque

C2H5OH: Ethanol

C6H12O6: Glucose

CaCl2, **2H2O** : Chlorure de calcium dihydraté

CCAP : Collection de microorganismes spécifiques

CH2O:Methanol (formaldehyde)

CH3OH: Methanol

Chl(a) : Chlorophyll (a)

CO(NO3)2, 6H2O: Nitrated cobalt hexahydraté

CO2 : Dioxyde de carbone

CoCl2, 2H2O : Chlorure de cobalt dihydraté

CuSO4, 5H2O : Sulfate de cuivre pentahydraté

DO : Densité optique

EDTA : Acide éthylènediamineétraacétique

FeCl3, **6H2O** : Chlorure de ferhexahydraté

g. m-2. j-1 : Gramme par mètre carré par jour

g/l : Gramme par litre

GL : Glycolipides

H2O : L'eau

H3BO3 : Acide borique

H2SO4 : Acide sulfurique

H3PO4 : Acide o-phosphorique

HCO3 : Bicarbonate

IUPAC : Union internationale de chimie pure et appliquée

Liste des abréviations

K2HPO4 : Phosphate dipotassique (sel de phosphate dipotassique)

LC-PUFA : Acide gras polyinsaturés à longue chaîne

M : Mole

Mg+2 : Ion magnésium

MgCl2, 6H2O : Chlorure de magnésium hexahydraté

MgSO4, 7H2O : Sulfate de magnésium hepahydraté

MnCl2, 4H2O : Chlorure de maganèsetétrahydraté

N : Azote

NaCl : Chlorure de Sodium

NaCO3 : Carbonate de sodium

NADPH : Nicotinamide adénine dinucleotide phosphate

NaHCO3 : Bicarbonate de sodium

NaMoO4, **2H2O** : Molybdate de sodium dihydraté

NaNO3 : Nitrate de sodium (sel de nitrate de sodium)

NaOH : Hydroxyde de sodium

O2 : Dioxygène

PBR : Photobioréacteur

PSII : Photosystème II

rpm : Tour par minute

TAG : Triacylglycérol

ZnSO4, **7H2O** : Sulfate de zinc heptahydraté

µ m : Micromètre

Liste des Figures

Figure I.1 les micro-algues 5
Figure I.2 Schéma de fonctionnement d'une micro-algue, intrants, produits, applications 8
Figure I.3 STRUCTURES cellulaires d'une algue eucaryote (BOILEAU, 2015) ont démontré une certaine capacité à accumuler rapidement les lipides, ce qui leur a permis de se profiler dans le domaine des biocarburants de 3éme génération. (BOILEAU, 2015) 9
Figure I.4 Cyanobactérie Anabaena, micrographie optique 10
Figure I.5 micro-algue unicellulaire 11
Figure I.6 Photographie d'une Bacillariophycée Navicula 11
Figure I.7 : mécanisme de photosynthèse chez les microalgues 13
Figure I.8 diagramme de processus de la photosynthèse : réaction dépendante de la lumière et réaction sombres (cycle Calvin , Benson)(d après Van Den Hende ,2014) 14
Figure I.9 Récolte des micro-algues 22
Figure II.1 Représentation schématique des membranes cellulaires : Modèle de la mosaïque fluide D'après (Singer & Nicolson, 1972) 27
Figure II.2 Représentation schématique de la structure des différents phospholipides 28
Figure II.3 Structure chimique de quelques glycolipides 28
Figure II.4 Représentation schématique de quelques bétaïne lipides. 30
Figure II-5 Principales filières et matières premières des biocarburants de 1ère génération. 31
Figure II-6 Les biocarburants de deuxième génération 32
Figure II-7 processus de production de bio carburant a partir de biomasse provenant de microalgues (3eme génération 32
Figure II.8 . Évolution de la production du biodiesel en Europe depuis 1992 (Matallah, 2006) 33
Figure II.9 morphologie de chlorella sous microscope 35
Figure II.10 morphologie de planktothrix 36

Figure III.1 Situation géographique de la région de Mfatha 39

Figure III.2 Situation géographique de la région de Médéa 45
Figure III.3 les souches avant l'isolement 47
Figure III.4 : méthode de Centrifugation 47
Figure III.5 méthode de Filtration 48
Figure III.6 Les cultures des microalgues dans les conditions expérimentales après l'isolement. 48
Figure III.7 Répartition des flacons selon la température et l'intensité lumineuse 49
Figure III.8 les échantillons dans les conditions expérimentales. Les microalgues dans le milieu de production 49
Figure III.9 les microalgaes dans le milieu de production. Les échantillons dans les conditions expérimentales 50
Figure III.10 : les étapes d'analyse des lipides 51
Figure III.11 les étapes d'analyses de Chlorophylle et de Caroténoïdes 53
Figure III.12 les étapes d'analyses des sucres totaux 55
Figure IV.1 Taux de lipide cher chlorilla 62
Figure IV.2 Les teneur en glucide dans la biomasse chez chlorilla est illustré dans 64
Figure IV.3 Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent température et intensité lumineuse 65
Figure IV.4 Taux de lipide chez planchtotrix 67
Figure IV.5 % en Glu chez planchtotrix 68
Figure IV.6 Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent température et intensité lumineuse 70
Figure IV.7 les taux des lipides obtenus dans différent sources de carbone 71
Figure IV.8 Les taux des lipides obtenus dans différent sources de carbone 73
Figure IV.9 Les taux des glucides obtenus dans différent sources de carbone 75
Figure IV.10 Les taux des glucides obtenus dans différent sources de carbone 77
Figure IV.11 Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent sources de carbone 79

Liste des Figures

Figure IV.12 Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent sources de carbone 81

Liste des Tableaux

Tableau I-1 Classification des micro-algues selon Lee et al., (2008) ..... **Error! Bookmark not defined.**
Tableau II-1- Rendement en biomasse de différentes cultures (adapté de Chisti, 2007).....32
Tableau II-2 les avantages et les inconvénients des biocarburants……34

Tableau III-1 Composition chimique de Milieu BBM 46
Tableau III.2 : Répartition des flacons selon la température et l'intensité lumineuse……50

Tableau IV.1 : Évolution de la densité optique de la culture Chlorella……59

Tableau IV.2 : Évolution de la densité optique de la culture *Planktothrix*……60

Table de matières

Contents

Abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale……1

Première partie : Partie théorique……4

I.1. Les micro algues : ……5

I.2. L'origine des micro-algues : ……5

I.3. Caractéristiques des micro-algues……6

I.4. La composition biochimique des micro-algues : ……6

I.5. Structure et physiologie ……7

I.7. Mécanisme de photosynthèse des micro-algues : ……12

I.8. Les paramètre de croissance : ……14

I.9. Eclairage et intensité lumineuse :……14

I.10. Conditions opérationnelles : ……15

I.11.1. Reproduction asexuée :……17

I.11.2. Reproduction sexuée :……17

I.12. Application des micro-algues : ……17

I.12.1.Application alimentaire : ……17

I.12.2. Application pharmaceutique :……18

I.12.3. Application cosmétique :……18

I.12.4. Application environnementale……18

I.12.5. Application industriel : ……19

I.13. Culture des micro-algues :……20

I.13.1. Culture en milieu ouvert :……20

I.14. Toxicité des micro-algues : ……21

I.15. Récolte des micro-algues :……21

Chapitre II : Optimisation de l'accumulation lipidique chez les micro- algues pour la production de Biodiesel 23

II.1.Métabolisme des microalgues :……24

II.2. Les lipides chez les microalgues : ……25

II.3. Stockage de carbone de réserve : des lipides aux carbohydrates :……30

II.4.Métabolisme des lipides chez les microalgues :……31

Table de matières

II.5. L'utilisation des microalgues pour la synthèse de biocarburant : des potentiels de production et de durabilité : 32

II .6. La teneur des lipides chez les microalgues : 33

II.7. Les facteurs stimulant l'accumulation de lipides : 33

II .8. Les biocarburants : 34

II.8.1 Définition : 34

II .8.2 Les types de biocarburants : 34

II.9. Le biodiesel : 37

II.9.1. Historique : 38

II.9.2. Les différentes étapes de production de biodiesel : 38

II.10.Présentation du modèle d'étude : 40

II.10.1.Morphologie d'une *Chlorella* : 40

II.10.2. présentation structurale de *Planktothrix* : 41

II.10.3. Classification scientifique : 41

Chapitre III: Matériels et méthode 43

III.1. Matériels : 44

III.1.1. Matériels biologiques : 44

III.1.2. Appareillages et matériels: 44

III.2. La région d'isolement des souches de microalgues : 44

III.3 Méthodes de travail : 45

III.3.1 Préparation de milieu de culture : 45

III.3.2 Isolement des souches : 46

III.3.3 Dispositif expérimental : 48

III.3.4. Effet de lumière et de température sur les microalgues ; 49

III.3.5 Effet de sources de carbone (glucose ; $NaHCO_3$) sur la production des lipides : 50

III.3.6 Analyse de la composition biochimique : 50

VI.3. L'effet de la température et la lumière : 62

VI.3.1 Chez la Chlorelle 62

VI.3.1.3. les pigments : 65

VI.3.2. Chez les planktotrix 66

VI.3.2.1 Les lipides : 66

VI.3.2.2 Les glucides : 68

VI.3.2.3 Les pigments : 70

VI.4. Effet de source de carbone sur la production des lipides : 71

VI.4.1 Chez *chlorella* : 71

VI.5. Effet de source de carbone sur la teneur en glucides : 75

Table de matières

VI.5.1 Chez chlorella : 75
VI.6 Effet de sourc e de carbone sur les pigments photosynthétique : 78
VI. 6 .1 Chez chlorella : 78

Introduction Générale

Introduction :

Les microalgues, comprenant à la fois les eucaryotes et les cyanobactéries, constituent un groupe très diversifié d'organismes capables de s'adapter à une large gamme de conditions environnementales. Grâce à leurs modes de nutrition variés – photoautotrophie, hétérotrophie, mixotrophie ou photo-hétérotrophie **(Xiao et al., 2020 et Park et al., 2021)** et leur capacité à produire une biomasse riche en composés bioactifs, elles sont aujourd'hui considérées comme des candidates prometteuses pour des applications dans les domaines de l'alimentation, de la santé, de la cosmétique, et surtout de l'énergie **(Maltsev et al., 2017 et Levasseur et al., 2020**) Parmi leurs métabolites d'intérêt figurent les caroténoïdes (bêta-carotène, astaxanthine, lutéine) ainsi que les acides gras polyinsaturés de types oméga-3 et oméga-6 (**Maltsev et al., 2018 et Wan et al., 2021**).

Au cours des dernières décennies, les microalgues ont attiré une attention croissante en tant que source potentielle de biodiesel, en raison de leur forte teneur en lipides, de leur croissance rapide et de leur aptitude à se développer dans des milieux non conventionnels (eaux usées, sols pauvres, eaux salines) **(Mata et al. 2010 ; Rawat et al. 2013 ; Wijffels et al. 2008)**. Cependant, plusieurs verrous technologiques et économiques limitent encore leur exploitation à grande échelle, notamment la nécessité d'optimiser les conditions de culture afin d'augmenter à la fois la densité cellulaire et la teneur en lipides (**Abedini Najafabadi et al. 2015 ; Huerlimann et al. 2010)**

Des stratégies telles que la culture mixotrophe ou hétérotrophe permettent d'améliorer considérablement la productivité, mais restent limitées par le coût élevé des sources de carbone organique. Des substrats alternatifs comme la mélasse, sous-produit de l'industrie sucrière, apparaissent alors comme des solutions intéressantes **(Andrade and Costa, 2007)**. Par ailleurs, la privation d'azote est fréquemment utilisée pour induire l'accumulation de triglycérides, bien qu'elle puisse nuire à la croissance cellulaire **(Sheehan et al. 1998 ; Ho et al. 2012**). Pour surmonter ce compromis, des approches en deux étapes ont été proposées, combinant une phase de croissance optimale suivie d'un stress nutritionnel contrôlé (**Mujtaba et al. 2012**).

Sur le plan évolutif, les microalgues jouent depuis plus de trois milliards d'années un rôle central dans l'évolution de la biosphère, en contribuant notamment à l'oxygénation de l'atmosphère primitive **(Hu et al. 2008)**. Leur métabolisme photoautotrophe leur permet de convertir l'énergie lumineuse en composés énergétiques comme les lipides et les glucides, avec une accumulation lipidique pouvant atteindre jusqu'à 70 % du poids sec dans certaines conditions de stress **(Rodolfi et al. 2009).**

Introduction

Face aux défis environnementaux actuels, notamment ceux liés à la dépendance aux combustibles fossiles (pollution, gaz à effet de serre), il devient impératif de développer des alternatives durables. Le biodiesel d'origine microalgale représente une solution prometteuse. Cependant, sa viabilité dépend fortement de l'optimisation du milieu de culture, qui influence non seulement la production lipidique, mais aussi d'autres biomolécules importantes comme les glucides et la chlorophylle.

Problématique :

Dans un contexte mondial marqué par la nécessité de développer des sources d'énergie renouvelables, les microalgues apparaissent comme des candidates de choix pour la production de biodiesel, grâce à leur forte capacité de biosynthèse lipidique. Toutefois, leur rendement dépend fortement des conditions du milieu de culture. Afin d'évaluer ce potentiel dans un cadre local, la présente étude s'appuie sur des souches de microalgues autochtones isolées à partir d'échantillons collectés dans deux zones de la wilaya de Médéa (Algérie) : la région centrale de Médéa et la localité d'El-Mefatha située à Ksar El Boukhari.

Cette étude vise à comprendre comment la composition du milieu de culture (notamment les sources de carbone et les paramètres lumineux) influence la production des lipides, des glucides et des pigments photosynthétiques chez ces souches locales.

Question de recherche :

Dans quelle mesure l'optimisation des paramètres du milieu de culture peut-elle améliorer la biosynthèse des lipides chez les microalgues autochtones de la région de Médéa, et favoriser ainsi leur valorisation pour la production durable de biodiesel ?

Objectifs de l'étude :

Cette recherche vise à valoriser les microalgues locales en tant que ressource durable pour la production de biocarburants, à travers :

- L'isolement de souches autochtones à haut rendement lipidique,
- L'optimisation des conditions de culture (notamment la lumière et les sources de carbone),
- L'analyse des performances environnementales du procédé,
- Et la proposition d'un modèle de production intégré conciliant efficacité énergétique et impact environnemental réduit.

Afin de répondre de manière rigoureuse à la problématique de recherche, nous avons adopté la structure suivante :

Partie théorique

Chapitre 1 : Généralités sur les microalgues

Présentation des caractéristiques biologiques, de la classification, des modes de nutrition ainsi que des applications biotechnologiques des microalgues.

Chapitre 2 : Optimisation de l'accumulation lipidique chez les microalgues pour la production de biodiesel

Métabolisme, conditions de stress, les sources de biocarburant et des informations sur le biodiesel.

Partie expérimentale

Chapitre 1: Matériel et méthodes

Description des souches utilisées, des milieux de culture, des paramètres expérimentaux ainsi que des méthodes analytiques mises en œuvre.

Chapitre 2 : Résultats et discussion

Présentation, interprétation et analyse critique des résultats obtenus, en les confrontant aux données de la littérature.

Première partie : partie théorique

Chapitre I : Généralité sur les micro-algues

I.1. Les micro algues :

Les micro-algues sont des micro-organismes unicellulaires photosynthétiques qui exploitent l'énergie solaire pour capturer le dioxyde de carbone, tout en contenant de la chlorophylle (**PERSON, 2010)**. Elles forment un groupe polyphylétique très varié, englobant des procaryotes, tels que les cyanobactéries (algues bleues), ainsi que des eucaryotes, incluant les algues vertes, rouges et brunes. Leur classification en différentes divisions repose sur divers critères, notamment la pigmentation, la composition chimique des substances de réserve issues de la photosynthèse, l'organisation des membranes photosynthétiques et d'autres caractéristiques morphologiques **(PERSON, 2010**).



Figure I.1. Les micro-algues

I.2. L'origine des micro-algues :

Les micro-algues sont des organismes unicellulaires microscopiques capables de photosynthèse. Elles se développent principalement en milieu aquatique et transforment l'énergie lumineuse ainsi que le dioxyde de carbone (CO_2 en divers composés organiques. Le terme micro fait référence à leur taille, qui varie de quelques micromètres à une centaine de micromètres. Présentes depuis plus de trois milliards d'années, les micro-algues, en particulier les cyanobactéries, ont joué un rôle clé dans l'évolution de l'atmosphère terrestre. En utilisant l'énergie solaire, elles ont généré de l'oxygène, contribuant progressivement à son accumulation dans une atmosphère primitive dominée par le dioxyde de carbone et le méthane. Cette augmentation de l'oxygène a favorisé la formation de la couche d'ozone,

essentielle pour filtrer les rayons ultraviolets du Soleil. Ces transformations ont entraîné des changements climatiques et altéré la composition de la croûte terrestre, ouvrant ainsi la voie à l'expansion des formes de vie végétale et animale sur les continents

I.3. Caractéristiques des micro-algues

La majorité des micro-algues sont qualifiées de photo-autotrophes ou autotrophes, car elles tirent leur énergie de la lumière grâce à la photosynthèse et utilisent le dioxyde de carbone (CO_2) dissous dans l'eau comme principale source nutritive. Leur petite taille et leur structure relativement simple leur confèrent une grande efficacité photosynthétique. Ainsi, elles transforment l'énergie lumineuse en lipides et en hydrates de carbone, des formes d'énergie plus condensées et stables.

Comme les végétaux terrestres, certaines espèces de micro-algues ont la capacité d'accumuler le carbone fixé sous forme de lipides, notamment des triglycérides, dans des conditions de culture spécifiques. Ces lipides stockés servent alors de réserve de carbone pour la cellule. En conditions normales, la concentration de ces lipides reste relativement faible, se limitant principalement aux phospholipides et glycolipides, qui sont des constituants des membranes cellulaires. Cependant, certaines espèces peuvent accumuler jusqu'à 80 % de leur poids sec en lipides **(Chisti, 2007**). Ce phénomène résulte d'un déséquilibre temporaire entre le flux de carbone issu de la photosynthèse et celui d'autres éléments essentiels à la croissance, tels que le phosphore ou l'azote. Lorsqu'un de ces éléments vient à manquer, la cellule continue d'absorber du CO_2 pour la photosynthèse, mais ne peut l'utiliser pour la synthèse de protéines en raison du déficit en azote, par exemple. Elle est alors contrainte de stocker ce carbone sous forme de lipides, un processus particulièrement marqué chez certaines espèces.

Par ailleurs, certaines micro-algues peuvent se développer en l'absence de lumière ; elles sont dites hétérotrophes. Dans ce mode de croissance, elles sont cultivées en système fermé, au sein de bioréacteurs similaires à des fermenteurs, et se nourrissent d'une source de carbone organique (**Perez-Garcia et al. 2011).**

I.4. La composition biochimique des micro-algues :

L'intérêt pour les micro-algues se manifeste dans leur variété de composition biochimique. La principale disparité entre cette biomasse et les autres plantes est la richesse en lipides, protéines, polysaccharides, vitamines, pigments et antioxydants.

Elles sont une source excellente de presque toutes les vitamines essentielles: B1, B6, B12, C, E, K1, une grande diversité de pigments, fluorescent soupas, agit de même comme antioxydant. Aussi Chlorophylle (0.5% à 1% de matière sèche), pigment photosynthétique dominant parmi toutes les algues photosynthétiques, il existe un ensemble complet de colorants Caroténoïde additionnels (0.1 à 0.2% de matière sèche) et phycobili protéines (phycoérythrine et phycocyanine). Les pigments ont principalement été exploités la phycocyanine (colorant bleu) issue de *la spiruline*, la phycoerythrine (Rouge) de *Porphyridiumpurpureum*, astaxanthine de *Haematococcuspluvialis* ou Carotène de *Dunaliella salina*. Teneur élevéeen protéines, peptides et acidesaminés (12% à 65% du corps humain la matière sèche de plusieurs micro-algues) est responsable de considérer ces dernières comme une source non conventionnelle de protéines dans votrealimentation humains et animaux (pisciculture). Certaines espèces sont également riches en oligosaccharides et Polysaccharides avec une variété de structures et de molécules (Unités d'acide glucuronique) et fonctions connexes (sulfate). Hydrolysat et de grandes fractions de polysaccharides peuvent présenter une activité biologique (activité antiviral, antibiotique ou antiprolifératif) chez l'homme **(Dejoye, 2013).** Et les micro-algues peuvent accumuler plus de 80% de leur poids sec en lipides **(Z.-Y. Liu et al, 2008**).

I.5. Structure et physiologie

Les micro-algues peuvent mesurer de quelques micromètres à plusieurs centaines de micromètres, selon les espèces **(BOILEAU, 2015**). Elles présentent une très grande diversité de molécules au sein de leurs cellules (**Figure 0.2**). Cette biomasse se différencie principalement des autres végétaux par sa richesse en lipides qui pouvant atteindre jusqu'à 80 % de leur poids sec, et ils sont principalement sous forme des triglycérides (Cantin, juillet 2010), en protéines, en vitamines (B1, B6, B12, C, E, K1), en pigments tels que les caroténoïdes (1% à 2%) et en antioxydants **(PERSON, 2010**)

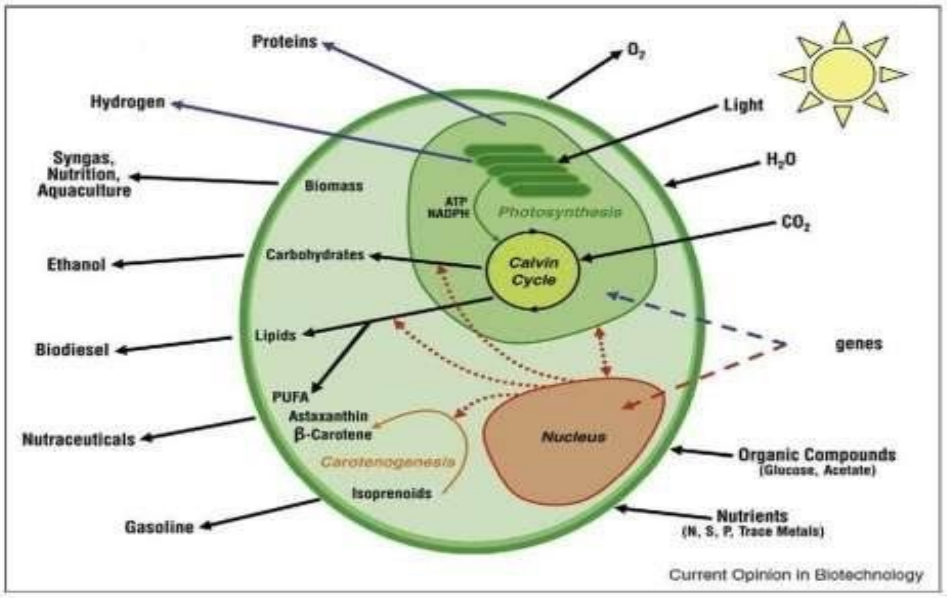


Figure I.3. Schéma de fonctionnement d'une micro-algue, intrants, produits, applications

Dans les chloroplastes, et plus précisément au niveau des membranes thylacoïdales, se déroule la réaction d'oxydoréduction essentielle à la photosynthèse. Ce processus permet la réduction du dioxyde de carbone grâce à l'hydrogène issu de l'eau, aboutissant ainsi à la formation de sucres simples et à la libération d'oxygène. La (**Figure I.3)** illustre les principales structures des cellules algales eucaryotes.

La membrane plasmique est constituée d'un assemblage de polysaccharides et de protéines, dont la complexité et la proportion varient selon les espèces. Sa charge négative résulte de la présence de groupes fonctionnels spécifiques, ce qui lui confère une certaine résistance aux ions métalliques potentiellement toxiques. Cette propriété explique notamment l'intérêt des micro-algues dans le domaine du traitement des eaux. De plus, elles possèdent une capacité remarquable à accumuler rapidement des lipides, ce qui leur a permis d'émerger comme un acteur clé dans le développement des biocarburants de troisième génération **(BOILEAU, 2015).**

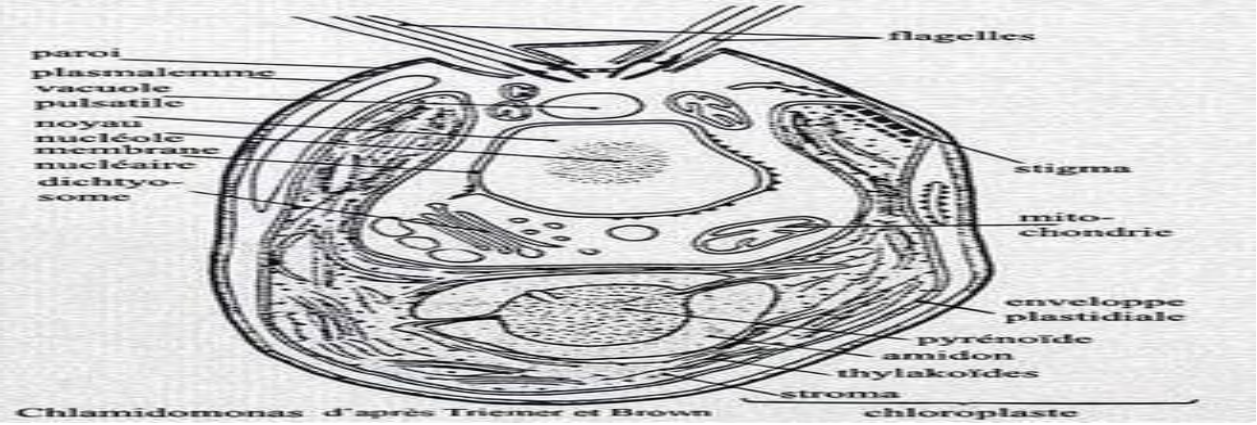


Figure I.4.STRUCTURES cellulaires d'une algue eucaryote **(BOILEAU, 2015**)

I.6. La diversité de familles et d'espèces :

Les micro-algues présentent une grande diversité, avec environ 30 000 espèces caractérisées à ce jour. Cependant, ce chiffre ne représente que moins de 10 % du nombre total estimé. En l'an 2000, seulement une cinquantaine d'espèces avaient été étudiées en profondeur (**Michel Cavalla, 2000**), et à peine une dizaine étaient exploitées à des fins industrielles et commerciales. Les scientifiques ont entrepris l'analyse de ces micro-algues afin de les classer en différentes catégories en fonction de critères généraux tels que leur pigmentation, leur structure biologique et leur métabolisme.

Ce groupe de micro-organismes est extrêmement varié et comprend à la fois des espèces procaryotes (cyanobactéries ou micro-algues bleues) et eucaryotes (micro-algues vertes, rouges et brunes). Les micro-algues eucaryotes possèdent une structure cellulaire végétale compartimentée, pouvant inclure une paroi cellulosique, ainsi que des pigments photosynthétiques situés dans les chloroplastes. En revanche, les micro-algues procaryotes sont une structure bactérienne dépourvue de compartiments internes, et leurs pigments photosynthétiques sont localisés dans des membranes lamellaires.

D'un point de vue taxonomique, la classification des microalgues repose sur la diversité de leurs propriétés, notamment leurs caractéristiques morphologiques, leur pigmentation et l'organisation de leurs membranes (**G. E. Fogg, 1953**). Toutefois, il est souvent plus simple de les regrouper en deux grandes catégories selon ces critères.

- **Les procaryotes** : ce sont des organismes unicellulaires qui sont dépourvus de noyau et ne présentent que très rarement des organites cellulaires. · Les Cyanophycées : appelées

également cyanobactéries, sont des micro-algues procaryotes de coloration bleue-verte de petites tailles (10 µm) qui peuvent se développer dans quasiment tous les habitats : eaux douces, salées, saumâtres et également dans les sols grâce à leur capacité à résister aux conditions climatiques extrêmes. Malgré ses aptitudes à se développer dans des milieux extrêmes, les Cyanophycées possèdent des températures de croissance optimales aux alentours de 30-35°C. La seule exigence des Cyanophycées est la présence obligatoire de lumière c'est pourquoi on les considère comme des organismes autotrophes obligatoires. En cas d'absence de lumière, certaines espèces de Cyanophycées sont en mesure d'oxyder certains sucres présents dans leur composition. De façon générale, elles emmagasinent principalement leur énergie sous forme d'amidon ou encore sous forme de lipides. Elles sont environ 2000 espèces dans ce groupe pouvant être divisées en 150 genres. Les espèces les plus connues sont *Spirulina*, Nostoc commune et *Aphanizomenomflos-aquae* (**Pulz and Gross, 2004***)*.

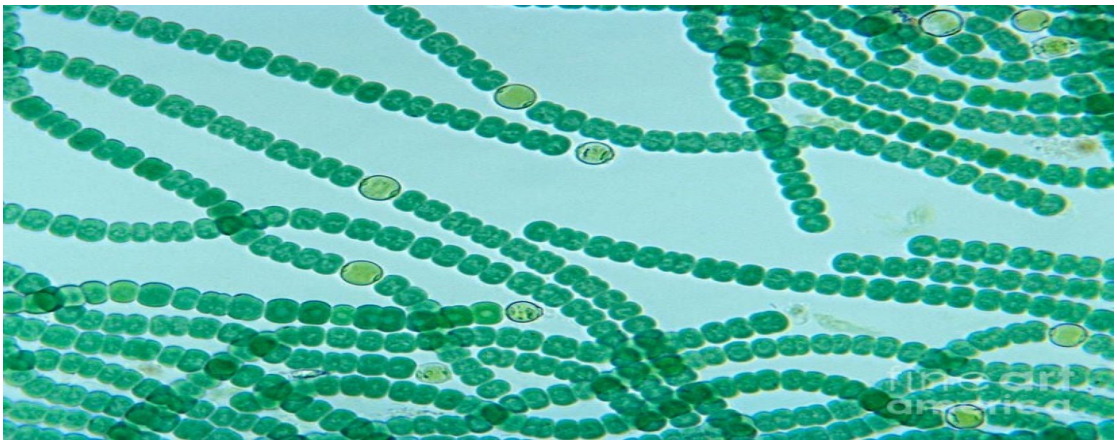


Figure* I.*5.Cyanobactérie *Anabaena*, micrographie optique

- **<u>Les Eucaryotes</u>**: Ce sont des organismes uni ou pluricellulaires qui présentent une structure complexe contenant un noyau entouré d'une membrane ainsi que plusieurs organites intracellulaires : chloroplastes, amyloplastes, oléoplastes

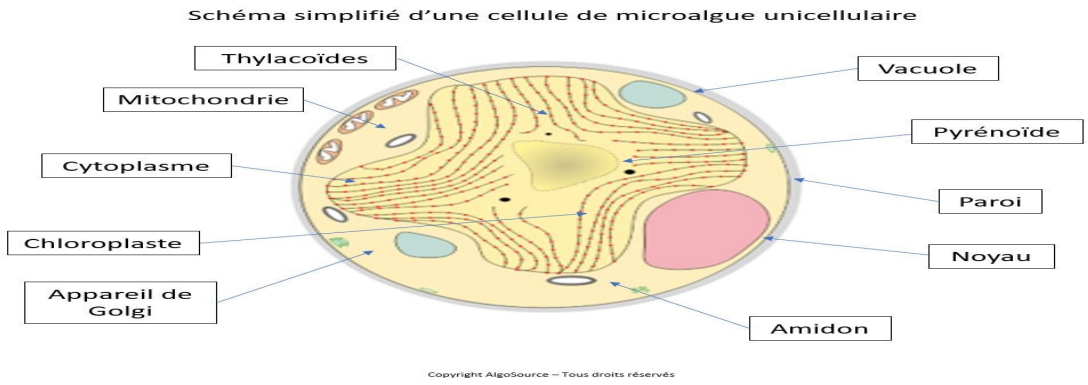


Figure I.6. Micro-algue unicellulaire

- **Les Diatomées :** appelées également les Bacillariophycées qui représentent le groupe majoritaire des diatomées et sont très répandues dans tous les types d'habitats. Plus de 100 000 espèces sont connues et il en existerait plus d'un million. Les Bacillariophycées sont unicellulaires et mesurent de 2µm à 1mm. Ils emmagasinent leurs réserves sous forme de chrysolaminaran, un polysaccharide, ainsi qu'en lipides. Ces espèces sont d'ailleurs reconnues pour leur contenu en acides gras et pendant plusieurs années, les scientifiques croyaient que les lipides représentaient leurs seuls composés de réserve. Les composants majeurs de ces lipides sont les triglycérides. Les micro-algues telles que *Nitschiasp*. et *Navicula pelliculosa* (**Figure I-6**) sont intéressantes pour la production de biocarburant en mode hétérotrophe grâce à leur taux élevé en acides gras (**Chinnasamy et al, 2010).**



Figure I.7. Photographie d'une *Bacillariophycée Navicula*

Tableau I .1. Classification des micro-algues selon **Lee et al, (2008)**

Régne	**Division**	**Embranchement -classe**
Procaryote	Cyanophyta	Cyanophytes
	Prochlophyta	Cyanophytes
Eucaryote	Rhodophta	Rhydophytess
	Chlorophyta	Micromonadophytes
		Charophytes
		Ulvophytes
		Chlorophytes
	Dinophyta	Dinophytes
	Chrysophyta	Chrysophytes
		Synurophytes
	Prymnesiophyta	Prymnesiophytes
	Bacillariophyta	Bacillariophytes
	Xanthophyta	Xanthophytes
	Eustigmatophyta	Eustigmatophytes
	Rhaphidophyta	Rhaphidophytes
	Phaeophyta	Phaeaphytes

I.7. Mécanisme de photosynthèse des micro-algues :

Les organismes photosynthétiques possèdent la capacité d'absorber la lumière grâce aux photons captés par leurs unités photosynthétiques (PSU). Cette énergie lumineuse est ensuite convertie en énergie chimique à l'aide de leurs pigments principaux, notamment la

chlorophylle (a), la chlorophylle (b), le carotène et les xanthophylles **(Yadav et al, 2017**). Le processus de photosynthèse se déroule en deux étapes : une phase dépendante de la lumière et une phase obscure, comme illustré dans la figure suivante.

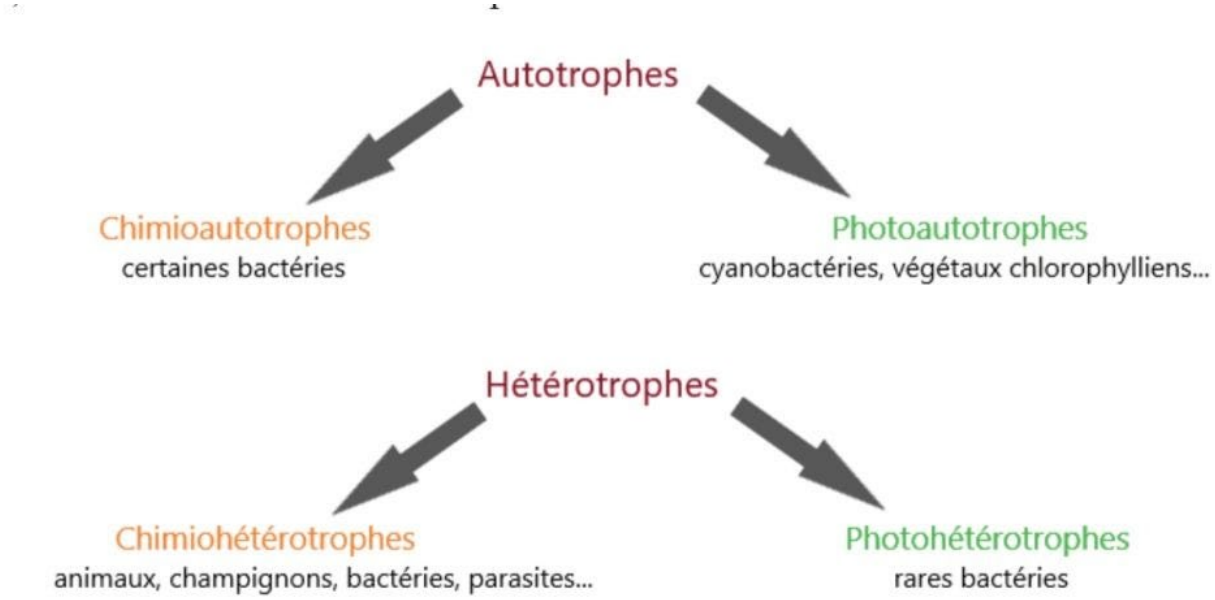


Figure I.8. Mécanisme de photosynthèse chez les microalgues

Ainsi, pendant la journée, les réactions photo-dépendantes jouent un rôle essentiel dans la production de molécules riches en énergie, telles que l'adénosine triphosphate (ATP) et le nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH), qui se forment au niveau des thylakoïdes. L'équation globale de ces réactions dépendantes de la lumière est la suivante (**Razzak et al, 2013)** :

$$2H_2O + 2NADP^+ + 3ADP + 3P_i + lumière \rightarrow 2NADPH + 2H^+ + 3ATP + O_2 \ (1)$$

(Eq.1)

D'autre part, la fixation du CO_2 a lieu dans le stroma des chloroplastes pendant la phase obscure, où se trouvent toutes les enzymes et les intermédiaires du cycle de Calvin. Au cours de cette réaction, le CO_2 provenant de l'atmosphère ou d'autres sources de gaz de combustion est converti en sucre grâce à l'ATP, sous l'action de l'enzyme ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygénase (Rubisco), qui catalyse cette transformation par son activité carboxylase. L'équation globale de la photosynthèse peut être représentée par l'équation empirique suivante (**Zhao et al. 2014**) :

$$6CO_2 + 6H_2O \rightarrow (lumière) \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \ (2) \ \text{(Eq.2)}$$

Chez *Chlamydomonas reinhardtii*, un organisme modèle parmi les microalgues, le mode d'absorption le plus courant du carbone inorganique (Ci) se fait soit par transport actif, soit par diffusion passive du CO_2 à travers la membrane plasmique et l'enveloppe du chloroplaste (**Yadav et al. 2017**).

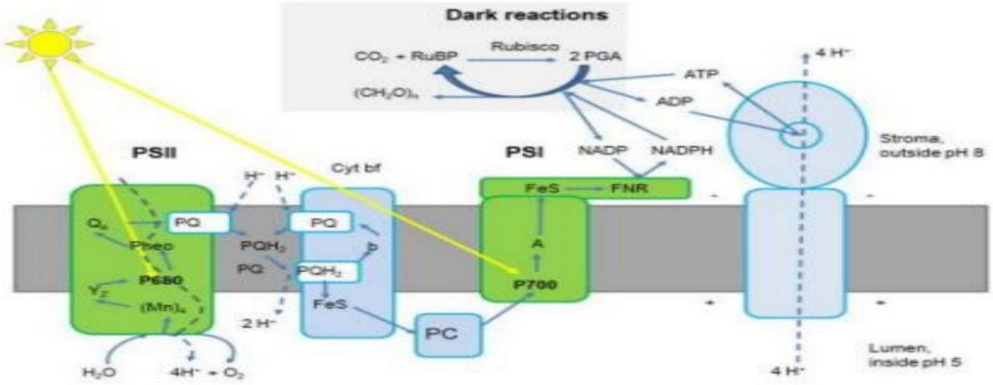


Figure I.9. Diagramme de processus de la photosynthèse : réaction dépendante de la lumière et réaction sombres (cycle Calvin, Benson) (d' après **Van Den Hende ,2014)**

I.8. Les paramètre de croissance :

La croissance des micro-algues est régulée par divers paramètres et besoins, qui peuvent être classés en facteurs biotiques et abiotiques (**Yadav et al, 2017**). Les facteurs biotiques englobent la présence d'agents pathogènes tels que les bactéries, les champignons et les virus, ainsi que la concurrence avec d'autres micro-algues. En revanche, les facteurs abiotiques incluent des éléments tels que l'intensité lumineuse (en termes de qualité et de quantité), la température, le pH, la salinité, la concentration de CO_2 dissous et la présence de substances toxiques (**Gonçalves et al, 2017**). La figure illustre de manière schématique les divers facteurs et conditions influençant la croissance et la productivité de la biomasse des micro-algues (**Razzak et al, 2017**).

I.9. Eclairage et intensité lumineuse :

La croissance photo-autotrophe des micro-algues se déroule en présence de lumière, qui constitue la source d'énergie nécessaire à la conversion du carbone inorganique (CO_2) en carbone organique (**Gonçalves et al, 2017**).La qualité, la quantité et la durée de l'exposition à la lumière (photopériode) jouent un rôle essentiel dans le processus de photosynthèse (**Yadav et al, 2017**). Plusieurs recherches, notamment celle de (**Posadas et al, 2013**), ont mis en évidence une performance élevée des systèmes de traitement des eaux intégrant la biomasse

algale, en appliquant des cycles alternés lumière/obscurité de 16 heures de lumière suivies de 8 heures d'obscurité.

I.10. Conditions opérationnelles :

- **Température :**

La plupart des espèces de micro-algues peuvent survivre dans une plage de température comprise entre 16 et 27 °C (60 à 80 °F), avec un optimum autour de 24 °C. De légères variations ne provoquent généralement pas de problèmes majeurs. Si des températures plus basses ne sont pas létales, elles ralentissent néanmoins la croissance des micro-algues. En revanche, des températures supérieures à 35 °C (94 °F) sont fatales pour la majorité des espèces **(Hoff et al, 2001**).

L'optimum thermique peut varier en fonction de la composition du milieu de culture, de l'espèce et de la souche cultivée (**Lavens et al, 1996**). De manière générale, la température idéale pour la croissance des microalgues est propre à chaque espèce et se situe entre 15 et 30 °C **(Yadav et al, 2017**)

- **Salinité :**

La plupart des espèces se développent plus favorablement à des salinités inférieures à celles de leurs milieux d'origine. Le phytoplancton marin montre une grande tolérance aux conditions de salinité, l'optimum de salinité pour la plupart des micro-algues se situe généralement entre 20 et 24 g/l (**Lavens et al, 1996**).

- **Turbulence :**

L'homogénéisation de la culture est importante pour éviter la sédimentation des micro-algues et pour permettre une alimentation en lumière et en nutriments pour optimiser l'échange gazeux entre le milieu de culture et l'air, et en fin pour assurer une bonne répartition de la température (**Lavens et al, 1996**).

- **Besoins en élément nutritifs :**
- **Macronutriments incluant :**

La croissance des micro-algues repose sur d'autres nutriments, comme l'azote et le phosphore. Ces derniers sont indispensables à la synthèse des acides nucléiques et des protéines (**Gonçalves et al, 2017**). Leur présence en quantités limitées peut entraîner une réduction des taux de croissance ainsi qu'une faible productivité en biomasse (**Gonçalves et al, 2017**).

- **La silice** :

Requis seulement pour les diatomées

- **Les nitrates :**

Une source d'azote, le plus souvent fournis sous forme de nitrate de sodium(NaNO3) ou de potassium (KNO3). On l'assimile également sous forme d'azote uréique (NNH4). Le phosphore : couramment utilisé sous forme de dihydrogénophosphate de sodium (NaH, PO4).

- **Le Carbone :**

Les micro-algues peuvent assimiler le carbone inorganique par la photosynthèse. L'énergie solaire est utilisée pour assimiler le CO2 et le transformer en sucre selon la réaction Les suivante **(Chen, 2011**)

- **La lumière** :

La lumière est un des facteurs indispensables au métabolisme photosynthétique des micro-algues. L'apport de l'énergie lumineuse peut se produire de manière naturelle grâce l'énergie solaire ou bien artificielle grâce à des tubes fluorescents émettant de la lumière à de longueur d'onde bien spécifique

- **Le pH :**

La plupart des micro-algues sont alcalophiles et se développent dans des milieux de culture de pH compris entre 7 et 10.5 et peut atteindre 11 ou plus. Ces pH fortement basique, on assiste à un phénomène d'auto-floculation (formation d'agrégation par les cellules).

Le pH n'a pas d'influence notable sur la composition et production des métabolites tels que les lipides (**vidyashankar et al, 2013**). A l'opposé il existe des micro-algues qui se développent à PH acide.

Réseau d'air et gaz carbonique (l'aération) :

L'un des rôles essentiels de l'air dans la culture des microalgues est l'apport en dioxyde de carbone (CO_2), une source indispensable de carbone pour la photosynthèse. En effet, le carbone inorganique constitue le principal nutriment nécessaire à la croissance des micro-algues autotrophes, puisqu'il intervient directement dans les réactions photosynthétiques (**Gonçalves et al, 2017**).

L'air ambiant contient environ 0,03 % de CO_2, un taux insuffisant pour les cultures denses, car il limite leur croissance (**Lavens et al, 1996**). Ainsi, un apport supplémentaire en CO_2, généralement compris entre 2 et 3 %, est nécessaire pour atteindre des concentrations cellulaires élevées. En plus de favoriser la croissance, cet ajout de CO_2 contribue à la régulation du pH. Une fois dissous dans l'eau, le dioxyde de carbone forme de l'acide

carbonique, qui se dissocie ensuite en bicarbonate et en ions hydrogène, permettant ainsi de stabiliser le pH du milieu (**Audineau, 1986**).

I.11.Reproduction :

I.11.1. Reproduction asexuée :

La reproduction asexuée des micro-algues se décline en trois principaux types :

Fragmentation : Le thalle se divise en deux parties, chacune donnant naissance à un nouveau thalle.

Sporulation : Des spores se forment soit directement dans les cellules végétatives ordinaires, soit dans des structures spécialisées appelées sporanges.

Scission binaire : Ce processus implique la division du noyau suivie de celle du cytoplasme. Chez *Scenedesmusquadricauda*, la structure caractéristique du cœnobe résulte de deux divisions successives par scission binaire. Les divisions ultérieures entraînent la fragmentation de cette forme coloniale. Quant aux cyanobactéries, comme *Oscillatoria*, elles possèdent des zones de fragilité favorisant ce mode de reproduction asexuée (**Cavalla, 2000**).

I.11.2. Reproduction sexuée :

La reproduction sexuée repose sur la fusion de gamètes mâles et femelles aboutissant à la formation d'un zygote diploïde. Dans certaines espèces, comme *Spirogyra*, des œufs se forment directement dans des cellules réceptrices similaires aux cellules somatiques. Chez d'autres, comme *Fucus*, ces cellules réceptrices, appelées oogones, sont légèrement modifiées. Par ailleurs, les spermatozoïdes sont produits au sein de structures mâles spécialisées appelées anthéridies (**Cavalla, 2000**).

I.12. Application des micro-algues :

I.12.1.Application alimentaire :

Les algues marines sont largement consommées dans le monde, notamment en Asie et en Europe, où elles entrent dans la préparation de plats tels que les soupes, les salades et les produits de boulangerie. Au Japon, des espèces comme *Porphyra tenera, Monostroma sp.*, et Enteromorpha sp. sont couramment utilisées, tandis que d'autres, comme *Glocopeltis sp*., *Alaria sp*., *Laminaria sp*., et *Undaria sp*., sont également populaires. En Amérique du Sud, les algues *Ulva* et *Durvillaea sp*. sont consommées localement, et en Scandinavie, *Porphyra sp., Chondrus sp*., et *Gelidium sp*. Sont appréciées. En Afrique, notamment au lac Tchad, la

spiruline (*Spirulina platensis)* est commercialisée et consommée. La culture de ces algues pour l'alimentation humaine est répandue dans plusieurs pays **(Tao, 2019).**

I.12.2. Application pharmaceutique :

Les microalgues représentent une source précieuse de composés bioactifs, renfermant une diversité de pigments tels que la chlorophylle, les caroténoïdes (incluant le bêta-carotène, la lutéine et la zéaxanthine) et les phycobiliprotéines. Ces pigments trouvent des applications étendues dans les industries alimentaire et pharmaceutique : le bêta-carotène sert de précurseur à la vitamine A, tandis que la lutéine et la zéaxanthine jouent un rôle protecteur pour les yeux contre la dégénérescence maculaire. Certaines microalgues comme Haematococcus produisent de l'astaxanthine, l'un des antioxydants naturels les plus puissants, utilisés dans les compléments alimentaires pour protéger la peau des UV et pour ses propriétés anti-inflammatoires (**Faller, 2011**). Par ailleurs, ces microorganismes constituent une source importante d'acides gras polyinsaturés (oméga-3 et 6). La spiruline se distingue par sa teneur élevée en acide linolénique. Ces acides gras essentiels offrent de multiples bienfaits santé : réduction des risques cardiovasculaires, amélioration du métabolisme cellulaire et régulation pondérale (**Mahajan & Kamat, 1995**). Ainsi, les microalgues, par leur richesse en pigments et en AGPI, représentent une ressource prometteuse pour les applications nutraceutiques et thérapeutiques.

I.12.3. Application cosmétique :

Les produits de soins de la peau dérivés de microalgues ont été développés sous forme d'anti-âges crèmes, soin rafraîchissant ou régénérant produits, émollients et anti-irritants dans les éplucheurs, crèmes solaires et produits de soins capillaires. Au début des années 2000, de nombreuses entreprises cosmétiques en Europe et aux États-Unis ont commencé à lancer des cosmétiques utilisant des extractions de microalgues telles que *la spiruline*, *Chlorella*, *Anacystis, Halymenia, Nannochloropsis* et *Dunaliella* qui agissent sur l'épiderme pour effacer les imperfections vasculaires en stimulant la synthèse de collagène et donc peuvent empêcher la formation de rides (**Stolz et Obermayer, 2005**). Les acides aminés de type mycosporine de *Spiruline*, *Chlorelle* et *Dunaliella* sont connus pour agir comme écrans solaires pour réduire les dommages induits par les ultraviolets (UV) (**Kim, 2015**).

I.12.4. Applications environnementales :

- **Traitements des eaux usées :**

  Les microalgues jouent un rôle essentiel dans le traitement des eaux usées en éliminant les nutriments, les métaux et la matière organique **(Tao, 2019**). Elles sont particulièrement efficaces dans les systèmes de traitement tertiaire, grâce à leur capacité à absorber l'azote et le phosphore, limitant ainsi l'eutrophisation des milieux aquatiques.

  Une étude sur *Chlorella vulgaris* a démontré son efficacité dans l'élimination de ces nutriments **(Aslan et Kapdan, 2006**). De plus, par la photosynthèse, elle produit de l'oxygène, réduisant le besoin en aération externe et limitant la libération de composés organiques volatils dans l'air (**Filali, 2012**).

- **Consommation de CO_2 :**

Les micro-algues possèdent une capacité notable à séquestrer le CO_2 issu des gaz de combustion (**de Morais et Costa, 2007 ; Ho et al, 2010**). Elles se distinguent par une croissance plus rapide que celle des plantes terrestres (**Borowitzka, 1999 ; Clusti, 2007 ; Li et al, 2008**) et une activité photosynthétique 10 à 50 fois plus élevée (**Costa et al, 2000**). Elles peuvent ainsi fixer le CO_2 provenant de l'atmosphère, des gaz industriels ou des hydrogénocarbonates solubles. Cette fixation repose sur la culture de microalgues photosynthétiques dans des systèmes ouverts (bassins) ou fermés (bioréacteurs), approvisionnés en nutriments, CO_2 et eau (saumâtre, salée ou hypersalée), avec une source lumineuse solaire ou artificielle. La biomasse produite est ensuite récoltée, une étape encore coûteuse à cause de la faible concentration cellulaire dans les cultures **(Filali, 2012**)

I.12.5. Application industriel :

I.12.5.1. La production de biocarburant :

Les micro-algues sont une source énergétique prometteuse pour l'avenir, en raison de leur capacité à produire de la biomasse de manière efficace et rapide (**Miao et al, 2004**). Les micro-algues contiennent des protéines, des glucides et des lipides, qui peuvent être transformés en divers produits énergétiques, tels que le biodiesel, l'éthanol et l'hydrogène (**Raja et al, 2013**).

- **Le biocarburant** : un substitut aux carburants fossiles

Le biocarburant est un produit de la biomasse qui peut être utilisé comme substitut aux carburants à base de pétrole (**Drapcho et al, 2008**). La production de biocarburant à partir de micro-algues peut être réalisée par conversion thermochimique ou biochimique.

- **Les processus de conversion :**

La conversion thermochimique comprend la gazéification, la liquéfaction, la pyrolyse et la combustion directe, tandis que la conversion biochimique comprend la digestion anaérobie, la fermentation et les processus photobiologiques.

- La gazéification produit du méthane, de l'hydrogène, du dioxyde de carbone et de l'ammoniac.
- La liquéfaction permet de produire des combustibles liquides.
- La pyrolyse convertit la biomasse en biocarburant, charbon de bois et fraction gazeuse.
- La digestion anaérobie produit du méthane et de l'hydrogène.
- La fermentation produit de l'éthanol.
- Les processus photobiologiques produisent de l'hydrogène.

I.13. Culture des micro-algues :

Les micro-algues sont cultivées comme d'autres microorganismes, notamment les bactéries. Leur culture repose sur la photosynthèse, ce qui exige une source d'énergie lumineuse suffisante. Trois modes de production sont employés : discontinu, semi-continu et continu. En mode discontinu, les nutriments sont introduits au début ; la récolte s'effectue en fin de culture. Le mode semi-continu implique des récoltes partielles à intervalles réguliers, accompagnées d'un apport supplémentaire en nutriments. Le mode continu assure une extraction constante de la biomasse avec un renouvellement du milieu **(Monaco & Prouzet, 2014**).

I.13.1. Culture en milieu ouvert :

Le système ouvert correspond à un bassin circulaire de faible profondeur. Des roues à aubes assurent le brassage et la circulation du liquide, selon leur vitesse de rotation. Le dioxyde de carbone est introduit par bullage. Toutefois, la faible profondeur rend difficile le transfert dans la phase liquide. La température varie selon le moment de la journée et la saison. Ce système présente un coût de fabrication peu élevé (**Posten& Walter, 2012**). Peu d'espèces de micro-algues y prospèrent, en raison des risques de contamination par d'autres micro-algues ou microorganismes, comme les bactéries (**Dejoye, 2013**). Le système ne permet pas de contrôler l'évaporation, causant une perte importante de milieu (**Rochatte, 2016**).

Actuellement, les cultures à l'air libre concernent surtout des espèces adaptées à des milieux très sélectifs, comme *Dunaliella salina* dans les environnements salins. Le contrôle

des paramètres environnementaux reste difficile, ce qui réduit les rendements. Le brassage limité entraîne une faible concentration en biomasse, certaines zones du bassin restant peu agitées **(Dejoye, 2013**)

I.14. Toxicité des micro-algues :

Tout d'abord, très peu d'algues sont toxiques pour l'homme. Ce sont principalement des algues microscopiques qui peuvent être dangereuses. Parmi le phytoplancton, à peine 2% peuvent produire des substances nocives. Elles produisent naturellement des molécules capables de perturber l'action d'autres organismes, ajustant la synthèse de ces molécules en fonction de leurs besoins **(Leclerc et Floc'h, 2010**).

Les toxines peuvent être libérées dans l'eau (exotoxines) ou rester dans les cellules (endotoxines).Les exotoxines agissent directement sur les animaux et les végétaux. À l'inverse, les endotoxines n'expriment leur toxicité qu'après ingestion des algues. Elles s'accumulent dans la chaîne alimentaire et parviennent jusqu'à l'homme via les produits marins consommés. Elles représentent finalement un risque pour la santé et un fléau pour l'économie aquacole. Parfois, les endotoxines peuvent être directement libérées dans l'eau lorsque les algues se brisent dans les vagues ou lors du passage d'un banc de poissons (**Leclerc et Floc'h, 2010).**

I.15. Récolte des micro-algues :

La récolte des micro-algues représente entre 20 et 40 % du coût énergétique et économique global de la filière de production de biomasse, selon la technologie utilisée (**Pah**l **et al, 2013 ; Mata et al, 2010 ; Muylaert et al, 2017 ; Singh & Patidar, 2018)**. Plusieurs méthodes techniques sont employées pour réaliser cette étape cruciale.

- **Centrifugation :** La centrifugation utilise la différence de densité entre les cellules algales et leur milieu de culture pour favoriser la sédimentation. Ce procédé, bien qu'énergivore, peut être optimisé. Différents types de centrifugeuses existent, et le choix dépend des coûts, de la consommation d'énergie et de la croissance de la biomasse. (**Pahl et al, 2013 ; Szepessy&Thorwid, 2018**) (**Milledge& Heaven, 2011).**
- **Sédimentation :** La sédimentation utilise la gravité pour faire déposer des cellules en suspension au fond d'un récipient, formant une phase solide. Elle est efficace pour les microalgues comme la spiruline, surtout avec des floculants. (**Chen et al, 2011 ; Uduman et al, 2010**).

- **Filtration :** La filtration passe la suspension algale à travers un filtre pour retenir les cellules. Différentes méthodes existent, mais elles peuvent être coûteuses en énergie et nécessitent des remplacements fréquents. (**Dejoye, 2013**).
- **Floculation :** La floculation est un procédé physico-chimique dans lequel les particules en suspension forment des agrégats appelés "flocs" (**Uduman et al, 2010**). Lorsqu'elle est combinée à des techniques de décantation ou de filtration, son rendement s'en trouve significativement augmenté (**Rawat et al, 2011).**
- **Flottation :** La flottation utilise des bulles d'air pour faire remonter les cellules de micro-algues à la surface. Il existe deux types : la flottation à air dissous, avec des bulles de 10 à 100 µm, et à air dispersé, avec des bulles de 700 à 1500 µm. L'ajout de tensioactifs cationiques peut améliorer l'adhésion des bulles aux cellules. **(J. B. K. Park et al, 2011**). (**Rawat et al, 2011 ; Chen et al, 2011).**



Figure I.10.Récolte des micro-algues

Chapitre II :*Optimisation de l'accumulation lipidique chez les micro-algues pour la production de Biodiesel*

II.1.Métabolisme des microalgues :

Les microalgues de métabolisme hétérotrophe et mixotrophe doivent être en présence d'un substrat organique pour assurer leur croissance. Il serait possible de croire que celles-ci peuvent utiliser n'importe quelle source d'hydrates de carbone pour remplacer le rayonnement solaire en tant que source d'énergie pour leur métabolisme, alors que tel n'est pas le cas. En effet, certains substrats sont en mesure de supporter la croissance de certaines espèces alors que ces mêmes substrats sont inefficaces pour d'autres espèces. De plus, certains composés chimiquement similaires ne favorisent pas nécessairement la croissance d'une espèce microalgale donnée (**Lewin, 1962**). De façon générale, les hydrates de carbone pouvant être assimilés par la plupart des microalgues sont principalement des monosaccharides tel le glucose (**Lewin, 1962**). Certaines espèces sont aussi en mesure d'assurer leur croissance à partir de disaccharides, d'acétate, de glycérol et de certains acides intermédiaires du cycle de Krebs (**Wageningen University, 2009**). Dans la littérature consultée, certaines espèces utiliseraient aussi pour leur croissance des polysaccharides comme l'amidon (**Wen et Chen. 2003).**

Les microalgues, pour pouvoir assimiler les hydrates de carbone, doivent posséder un système de transport à haute affinité. Certains travaux réalisés à cet effet permettent de croire qu'il existe différents systèmes de transport :

- la diffusion passive qui n'exige aucune dépense énergétique;
- le transport actif via la présence d'un gradient de concentration à travers la membrane;
- le transport ainsi que la fixation par une enzyme transmembranaire (**Lewin ,1962**).

Les microalgues ont aussi besoin, pour leur croissance, d'une source d'azote qui peut être utilisée sous forme de nitrate, d'ammoniac, d'urée ou encore d'extrait de levure (**Wolfgang, 1994**). Cependant, des conditions de carence en azote sont connues pour stimuler la synthèse de lipides tout comme une carence en silice induit le même phénomène chez les diatomées (**Cadoret et Bernard, 2008**). Ces conditions de carence ne doivent toutefois pas être maintenues trop longtemps puisqu'elles peuvent éventuellement entraîner une consommation des lipides synthétisés.

Le phosphore représente aussi un nutriment majeur pour la croissance des microalgues étant donné son implication dans plusieurs processus cellulaires comme les transferts d'énergie et la synthèse d'acides nucléiques et de phospholipides. Ce phosphore est principalement

assimilé sous forme inorganique (H2PO4 - ou HPO4 2-) (**Barsanti et Gualtieri, 2006**). Des limitations en phosphore seraient responsables d'une augmentation de la synthèse de triacylglycérols chez certaines espèces tout comme des limitations en soufre permettraient une telle augmentation chez *Chlorella sp*. (**Qiang Hu et al, 2008**). Le soufre ainsi que le potassium sont aussi des éléments vitaux pour les microalgues, alors que d'autres comme le fer, le manganèse et le molybdène ne doivent être présents qu'en très infime concentration.

II.2. Les lipides chez les microalgues :

Les lipides issus des microalgues représentent des éléments d'intérêt dans les domaines de la biotechnologie, de l'aquaculture et de l'écologie, en raison de leur large variété moléculaire (**Kumari et al, 2013**). Ils forment un ensemble très variés des molécules ; caractérisé par une faible voire inexistante solubilités dans l'eau mais une solubilité élevée dans des solvants organique non polaire. En conséquence ; ces molécules organiques peuvent être totalement apolaire (lipides neutres) ou amphipathiques (lipides polaires) ; affichant une structure globalement hydrophobe avec des secteurs hydrophiles. Ces lipides sont essentiels pour tous les organismes vivants : ils servent des réserves ; d'énergie ; participent à la structure et au fonctionnement des membranes cellulaires ; et sont impliqués dans de nombreuses autres fonctions biologique dont la signalisation cellulaire.

Il existe plusieurs types de classifications des lipides. D'après la définition de l'IUPAC, les lipides sont regroupés en 8 catégories en fonction de leur structure ou de leur composition chimique (**Fahy et al. 2009**). En général, on fait une différence entre les lipides neutres et les lipides polaires.

- **Lipide neutre :** Les lipides neutres comprennent principalement les triacylglycérols (TAG), qui sont des réserves lipidiques. TAG est une glycéride où trois groupes hydroxyle du glycérol sont estérifiés avec des acides gras linéaires. Ils peuvent être homogènes ou hétérogènes avec différents acides gras. Les microalgues peuvent produire jusqu'à 50% de leur masse en TAG lors de stress (**Hu et al. 2008**). TAG est une source importante pour la production de biodiesel (**Klok et al. 2014**) ;(**Y. Liu et al. 2013**). Le TAG se compose d'une molécule de glycérol estérifiée avec trois acides gras. Ces derniers sont des acides carboxyliques dotés de chaînes aliphatiques d'hydrocarbures.

Ils se distinguent par la longueur de leurs chaînes ainsi que par le degré d'instauration des doubles liaisons, lesquelles sont principalement en configuration cis et en position non

conjuguée (position malonate). Les acides gras libres (FFA) sont généralement considérés comme issus de la dégradation ou de l'hydrolyse des lipides durant le traitement ou le stockage (**Raynal-L jutovac et al, 2011**). La composition des acides gras varie en fonction des espèces de microalgues et des conditions environnementales (**Upchurch, 2008**). Les microalgues sont riches en acides gras polyinsaturés à longue chaîne (LC-PUFA) de la série n-3 ou oméga-3, tels que l'acide alpha-linolénique (ALA ; 18 :3n-3), et l'acide eicosapentaénoïque (EPA ; 20 :5n -3) et l'acide docosahexaénoïque (DHA ; 22 : 6n-3), (**Khozin-Goldberg & Cohen, 2011**).

Comme ils sont riches en LC-PUFA de la série ω3, les microalgues constituent une source significative d'AGP-LC dans la chaîne trophique océanique. Elles peuvent également servir de compléments alimentaires et sont bénéfiques pour la santé humaine, en particulier pour la prévention de certaines maladies (**Doughman et al, 2007); (Mimouni et al, 2012**). Par exemple, l'EPA contribue à protéger les artères et le cœur (**Din et al, 2008**). Le DHA joue un rôle crucial dans le développement du cerveau et de la rétine (**Guesnet et al, 2005**).

Les lipides neutres incluent également des stérols, qui possèdent un noyau stérane et un groupe hydroxyle situé au carbone 3. La majorité des organismes eucaryotes renferment des stérols qui jouent un rôle essentiel en tant que composants structurels des membranes cellulaires. Les diatomées renferment une multitude de stérols avec plus de quarante espèces identifiées. En revanche, les cataptophytes présentent souvent des stérols principalement dominés par le 24-méthylcholesta-5,22E diène-3β-ol, également retrouvé dans les diatomées (**Volkman, 2016**). En outre, les phytostérols partagent une similitude structurelle avec le cholestérol, contribuant à la réduction du cholestérol LDL **(Katan et al, 2003).**

- **Lipides polaires :**

Les lipides polaires sont des molécules amphiphiles qui s'organisent souvent spontanément en bicouche lipidique. Ils se composent généralement de têtes hydrophiles dirigées vers les milieux extracellulaire ou intracellulaire et de queues hydrophobes pointées vers le centre de la bicouche lipidique.

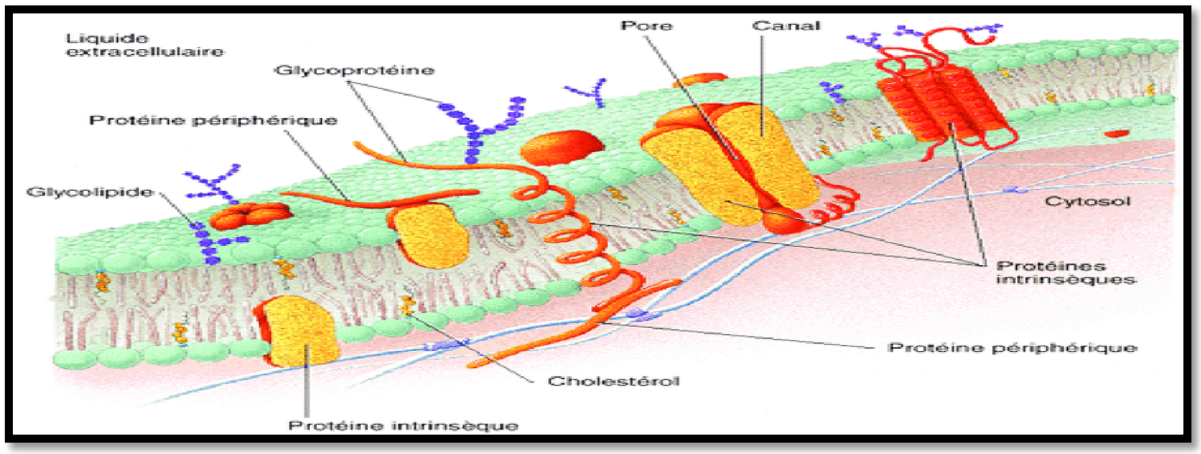


Figure II.1. Représentation schématique des membranes cellulaires : Modèle de la mosaïque fluide D'après (**Singer &Nicolson, 1972)**

Parmi les lipides polaires, les microalgues se caractérisent principalement par la présence de phospholipides (PL) et de glycolipides (GL) .La composition de lipides au sein des membranes varie selon les différentes espèces des microalgues, et cela se trouve également à l'intérieur des cellules, dans divers organites. En règle générale, le PL constitue le principal élément lipidique des membranes plasmiques. D'autre part, le GL est en quantité plus importante au niveau des membranes thylacoïdes.en outre, on trouve d'autres composés moins connus comme les lipides de bétaïne (BL), les chlorothiolipides ou divers autres sulfolipides qui peuvent faire partie de certaines membranes cellulaires d'espèces spécifiques (**Harwood,1998**).

- **Phospholipides (PL) :**

Le PL représente le principal élément de la membrane plasmique. La majorité des PL est un phosphoglycéride de molecule de glycérol, dont les groupes hydroxyles aux positions 1 et 2 sont estérifiés par deux molécules d'acides gras. Le troisième groupe, c'est-à-dire le groupe hydroxyle du glycérol, est connecté au groupe phosphate. De petites molécules polaires ou celles qui possèdent une charge peuvent se lier à ce groupe phosphate pour créer différents phosphoglycérides (**Berg et al, 2002**).

Les phospholipides les plus répandus (**Figure 0.2**) incluent la phosphatidylcholine (PC), la phosphatidyléthanolamine (PE), la phosphatidylinositol (PI) et la phosphatidylsérine (PS) (**Berg et al, 2002**). Le phosphatidylglycérol (PG) constitue le phospholipide prédominant des chloroplastes et représente un élément crucial du centre du photosystème II (PSII) (**Boudière et al, 2014) (Li-Beisson et al, 2016).**

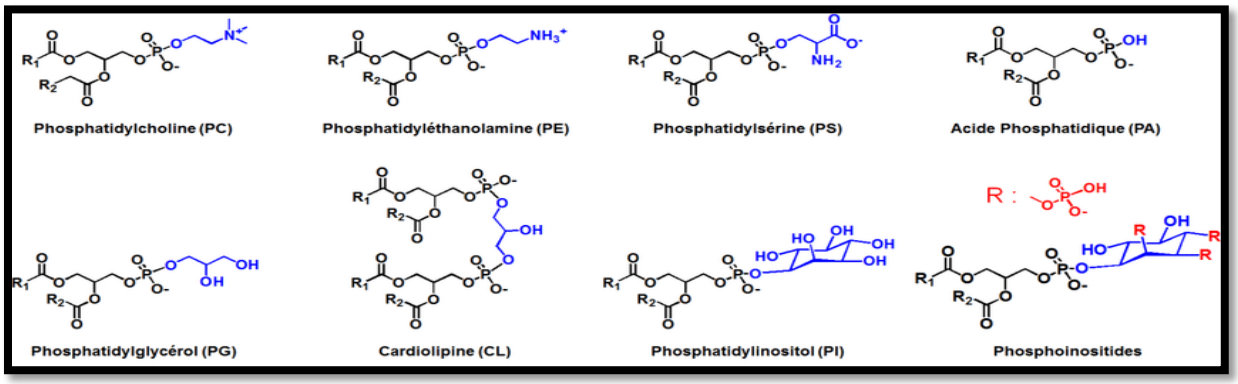


Figure II.3. Représentation schématique de la structure des différents phospholipides (https://www.researchgate.net/)

- **Glycolipides (GL) :**

La composition en GL de la membrane photosynthétique (lipidome thylakoïde) est très conservée au cours de l'évolution, des cyanobactéries aux eucaryotes contiennent Chloroplastes (**Boudière et al, 2014**). Ce sont des glycérides de sucre composés de deux AG Estérification avec du glycérol et une ou plusieurs têtes polaire Ces GL (FigureII-6) sont Monogalactosyldiacylglycérol (MGDG), Digalactosyldiacylglycérol (DGDG) et le sulfoquinovosyldiacylglycérol (SQDG), qui représente 80 % des lipides thylacoïdes (**Block etal, 1983).**

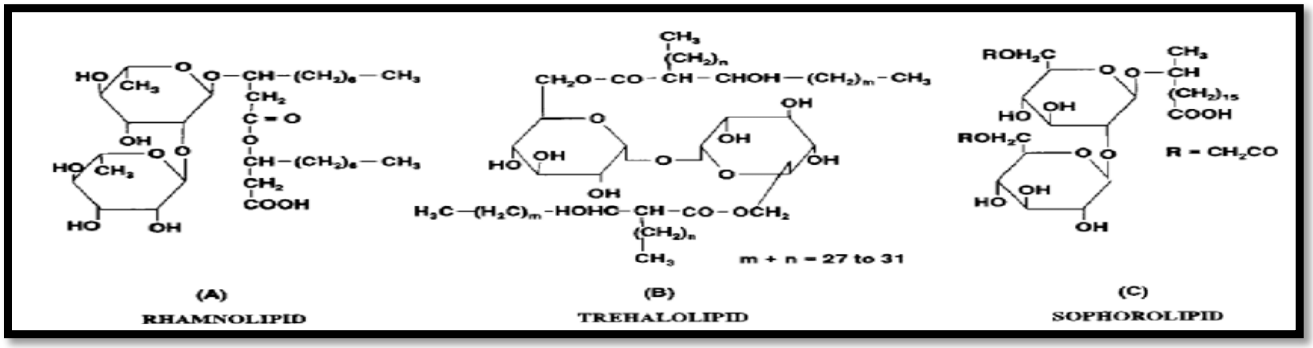


Figure *II* .4.Structure chimique de quelques glycolipides(https://www.researchgate.net/)

Les caractéristiques de ces GL sont clés pour l'activité optique. MGDG et DGDG, qui sont des GL neutres, forment une grande partie des bicouches lipidiques de la capsule. Ce MGDG/DGDG un rôle crucial dans la structure et la stabilité de la membrane Capyar (**Demé et al, 2014)** de plus, L'étude doit montrer que MGDG peut jouer un rôle vital dans la protection optique de la photosynthèse, et SQDG peut être lié à la charge sur la surface de la membrane kystique (**Kobayashi et al, 2016)**

- **Bétaïne lipides (BL) :**

Les lipides bétaine (BL) constituent des glycérides non phosphorylés qui possèdent un groupe triméthylammonium qui a une charge positive ainsi qu'un groupe carboxyle portant une charge négative, et ces lipides engendrent des zwitterions en ph neutre (Dembitsky, 1996).

Parmi les trois types les plus connus de BL (Figure II.4) on trouve la diacylglycéroltriméthylhomosérine (DGTS), la diacylglycérolhydroxyméthyltriméthyl- β – alanine (DGTA) et la diacyleglycérolcarboxyhydroxyméthylcholine(DGCC). Les BLsont observés chez un nombre restreint d'espèces, notamment certaines algues, bryophytes, champignons, protozoaire et bactéries photosynthétiques **(Dembitsky, 1996**). Ils n'ont pas été mis en avant dans les plantes à fleurs, mais ont été identifiés chez certains monogalactosyldiacyglycérol, digalactosyldiacylglycérol, sulfoquinovosyldiacylglycérol, dans les plantes produisant des spores, telles que les fougères, y compris des especes des *Equisetophyta* et *polypodiophyta* (**Rozentsvet et al, 2000**). La DGTS est la plus courante dans le monde biologique **(Rozentsvet et al, 2000**) ; des recherches taxonomiques indiquent qu'elle pourrait avoir été le premier lipide de cette catégorie à apparaitre durant l'evolution (**Künzler&Eichenberger, 1997**). Selon les études la DGTA est principalement présent dans les microalgues qui possèdent des chlorophylles a et c, comme les espèces des Chrysophyceae et Cryptophyceae (Dembitsky, 1996). Les resultats suggèrent que la DGTA est également le principal BL chez la diatomée *Bacillariophyceae P. tricornutum* (**Abida et al, 2015); (Cañavate et al, 2016).**

En ce qui concerne la DGCC, initialement isolée chez *Diacronemalutheri*, elle est liée aux Haptophyceae **(Kato et al, 1996**). Elle est egalement retrouvée chez les diatomées Mediophyceae comme *Thalassiosirapseudonana* et *Chaetoceros gracilis* (**Martin et al, 2011); (Van Mooy et al, 2009**), ainsi que chez les Dinophyceae **(Cañavate et al, 2016**) **;(Kato et al, 1996)**. Les recherches sur la distribution cellulaire des BL indiquent que ces lipides sont surtout connectés à des structures non plastidiales (**Künzler &Eichenberger, 1997).**

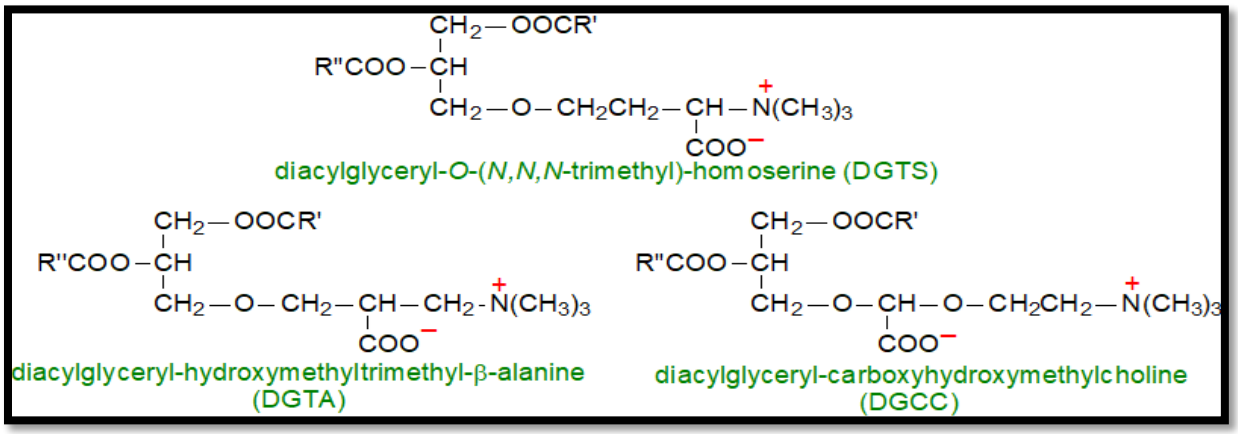


Figure II .5 Représentation schématique de quelques bétaïne lipides. (https://www.lipidmaps.org/)

II.3. Stockage de carbone de réserve : des lipides aux carbohydrates :

La majorité des algues peuvent stocker de l'énergie et du carbone à la fois sous forme d'amidon (ou d'autres polyglucanes) et de lipides (triglycérides), avec

des proportions variant en fonction des conditions de croissance. L'accumulation de ces molécules énergétiques robustes est essentielle pour prospérer dans un environnement instable, en particulier pour garantir la survie lors des périodes de manque de lumière énergétique nocturne ou dans des zones peu éclairées. Ces deux substances représentent des réserves d'énergie et de carbone cruciales pour les processus de division cellulaire, tels que la réplication de l'ADN, la division du noyau, la cytocinèse, et la formation de cellules filles. L'amidon est généralement le principal composé de stockage énergétique dérivé de la photosynthèse. Il provient directement des glucides à 3 carbones (3C) tels que le 3-phosphoglycérate (3PG) et le glycéraldéhyde 3-phosphate (GAP). Toutefois, sous certaines conditions encore peu comprises, cette synthèse peut basculer vers celle des lipides via une méthode de stockage d'énergie et de carbone très compacte, car elle ne nécessite pas la présence d'eau (38 kJ. g-1 contre 17 kJ. g-1 pour les glucides). Les lipides de réserve (TAG) fonctionnent souvent comme une source d'énergie secondaire, agissant comme un puits d'électrons dans les situations où leur production est plus avantageuse pour la cellule que celle de l'amidon (habituellement lors de limitations en nutriments). La surproduction d'amidon ou de lipides n'est pas restreinte à des groupes taxonomiques spécifiques, mais est largement répandue parmi les espèces. Lorsqu'il s'agit d'une exagération dans la production de lipides, l'amidon est souvent généré en premier, alors que l'accumulation des lipides se produit bien plus tard. Même dans les cellules qui contiennent beaucoup de lipides, l'amidon demeure présent

en petites quantités, mais tout de même notables, surtout sous forme de grains autour des pyrénoïdes. Les algues riches en lipides *Nannochloropsis et Trachydiscus* représentent le seul groupe connu d'algues apparemment incapables de synthétiser des polyglucanes **(Hildebrand et al, 2013**). Les diatomées créent des quantités significatives de lipides, particulièrement lorsque les éléments nutritifs sont limités. La diatomée marine *Odontella aurita* est particulièrement exploitée sur le plan industriel pour la production d'acides gras oméga-3 ainsi que de chrysolaminarine, un β-polyglucane.

II.4.Métabolisme des lipides chez les microalgues :

La biosynthèse des lipides représente un processus complexe débutant par la création d'acides gras. Cette synthese de novo se produit au sain du chloroplaste. La réaction initiale, qui convertit l'acétyl-Coa carboxylase (ACCase). Par la suite, le malonyl-CoA est rapiement transformé en malonyl-ACP. A la suite de sa condensation avec un acétyl-CoA et d'une série de réduction et de déshydratations, le précurseur de l'acide gras, le butyryl-ACP, est généré. Les condensations successives de malonyl-ACP prolongent progressivement la chaine de deux atomes de carbone par cycle. Cela aboutit à la production d'un acide gras saturé, toujours de taille paire, avec un nombre de carbone variant entre 16 et 22. Pour engendrer un acide insaturé, une double liaison est introduite par une enzyme spécifique, la stéaroyl ACP désaturase. Le contrôle de différents enzymes impliquées dans cette synthèse est très mal connu. Des expériences sur *Cyclotellacryptica* ont montré que l'activité de l'ACCase augmente de 2 à 4 fois, après 4 et 15 heures de carence en silice respectivement, probablement à cause de modifications de la covalence de l'enzyme (**Hu et al, 2008).**

La synthèse des lipides complexes utilise probablement la voie métabolique du glycérol (glycolyse). Les acides gras produits sont transférés séquentiellement par une acyltransférase du groupement acyle de l'acide gras jusqu'à la position 1 et 2 du glycérol-3-phosphate (G3P), formant ainsi un acide phosphatidique (PA) précurseur de nombreux phospholipides.Cet acide peut également être déphosphorylé, produisant un diglycéride, qui est essentiel pour la synthèse de la phosphatidylcholine ainsi que des glycolipides.

Finalement, le diglycéride peut subir une dernière trans-estérification avec un troisième acyle gras, formant un triglycéride. Une voie indépendante de la synthèse d'acide gras a également été rapportée pour la synthèse des triglycérides. Elle consiste à utiliser les acides gras des phospholipides (donneur) pour les transférer à un diglycéride (accepteur), Cette voie pourrait

devenir prédominante en cas de stress, et expliquer la dégradation des membranes observée au profit des triglycérides de réserve **(Hu et al, 2008).**

II.5. L'utilisation des microalgues pour la synthèse de biocarburant : des potentiels de production et de durabilité :

Les microalgues présentent, d'une part, des propriétés intéressantes en termes de potentiel de production. Ce sont en effet des végétaux à fort taux de croissance et leur teneur en lipides peut monter à plus de 50%. Les chercheurs estiment que les microalgues ont un potentiel de productivité 2 à 10 fois plus élevé que les cultures classiques telles que celle du palmier à huile (Tableau II. 1). Leur exploitation pourrait, qui plus est, avoir de nombreux débouchés annexes tels que l'alimentation humaine/animale, la cosmétique, la santé, la chimie et l'aquaculture, avec pour certains une très haute valeur ajoutée.

Tableau II-1- Rendement en biomasse de différentes cultures (adapté de **Chisti, 2007**)

Culture	Rendement (L/ha/an)
Soja	73
Camelina	94
Tournesol	155
Jatropha	307
Palmier à huile	970
Microalgues	1500-1000

D'autre part, plusieurs propriétés en faveur de la durabilité ont attiré l'attention des chercheurs et des entrepreneurs :

- l'utilisation de matières premières non alimentaires

- la valorisation de terres non-arables - l'utilisation d'une grande variété de sources en eaux, en particulier les eaux usées et l'eau salée

- le couplage de cette filière au recyclage de CO_2 et à l'épuration d'eaux usées

- la production simultanée de biocarburants et des co-produits à haute valeur ajoutée.

Cette filière pourrait donc éviter les conflits d'usage auxquels doivent faire face les cultures destinées à la production des biocarburants actuels.

II .6. La teneur des lipides chez les microalgues :

Certaines espèces de microalgues accumulent, naturellement ou en condition de stress (déficience en azote notamment), d'importantes quantité de lipides, notamment les acides gras et les triacylglycérols (TAGs) qui sont des précurseurs potentiels de biodiesel. Bien que des teneurs en lipide excédant 70% aient été obtenues en laboratoire, les concentrations lipidiques avoisinent plus souvent 8 à 40% **(Hu, 2008**) **(Rodolphi et al, 2008**). Le produit de la croissance cellulaire par la teneur lipidique permet d'estimer la productivité lipidique. La teneur lipidique est cependant un paramètre clé à part entière puisque c'est un facteur conditionnant l'efficacité de l'extraction. Bien qu'il soit assez communément affirmé qu'il existe un compromis entre croissance cellulaire et teneur en lipide.

II.7. Les facteurs stimulant l'accumulation de lipides :

Bien que certaines variétés de microalgues présentent des aptitudes variables pour la production et l'accumulation de lipides, leur teneur en lipides peut être nettement augmentée en réponse à des conditions de stress, qu'il s'agisse de facteurs chimiques ou physiques. L'accumulation lipidique représente une stratégie de préparation dans laquelle l'énergie est conservée pour affronter une période défavorable. **La limitation en azote :** exerce généralement un impact significatif sur le métabolisme lipidique. Une accumulation de lipides en réaction à ce stress a été observée chez de nombreuses especes. Toutefois un compromis existe entre la concentration en lipides et le taux de croissance.

Une limitation en azote entrave considérablement la croissance de la biomasse, et le bilan final de la quantité de lipides produits n'est donc pas forcément avantageux. Une stratégie en deux étapes a initialement été développée par Tredici pour remédier à ce dilemme : une première phase de production de biomasse en conditions d'apport optimal en nutriments suivie d'une phase d'induction de l'accumulation des lipides par la limitation en azote **(Rodolfi, 2008)**. Cette carence en azote a aussi un impact sur les proportions relatives des différents types de lipides.

La température semble avoir un effet majeur sur la composition lipidique. Une augmentation de température tend généralement à augmenter la proportion d'acides gras saturés et inversement **(Hu, 2008**).

L'intensité lumineuse a un effet considérable sur l'activité photosynthétique, la teneur en lipides et leur saturation. De fortes intensités lumineuses induisent la synthèse et le stockage de lipides neutres (la synthèse des acides gras jouerait le rôle d'un puits à électrons en cas de stress photo-oxydatif) ainsi qu'une augmentation de la proportion d'acides gras saturés et mono-insaturés (**Hu, 2008**).

II .8. Les biocarburants :

II.8.1 Définition :

L'expression "biocarburant" désigne un carburant fabriqué à partir de matières organiques telles que la biomasse (**INRA ; 2012**), qui peut provenir de sources végétales, animales ou de déchets. Ils existent trois types principaux de biocarburants, qui se distinguent par leur méthode de production et les matériaux utilisés pour les extraire. Les types sont : Le biogaz ; Le bio-alcool ; Le biodiesel.

II .8.2 Les types de biocarburants :

- **Première génération** :

Les biocarburants de 1ere génération correspondent à ceux obtenus à partir de cultures végétales **(Knothe, 2010**).Ils correspondent principalement à des combustibles à base d'éthanol obtenus à partir de la fermentation des sucres (maïs, betterave, canne à sucre, etc.), à des carburants à base d'huile (huile brute, biodiesel et diesel renouvelable produit à partir de l'hydrodéoxygénation catalytique des huiles) (**Naik et al, 2010**), aux plantes oléagineuses (colza, palme, etc.). Les biogaz émis par les matières premières ou par les décharges (**Demirbas, 2009**) font également partie des biocarburants de 1ere génération. Les biocarburants de première génération constituent une solution au changement climatique, mais leur production est un inconvénient qui peut entraîner une concurrence à la production alimentaire, ce qui soulève des préoccupations quant à l'augmentation des prix des denrées alimentaires, l'exploitation intensive des terres, et la consommation de l'eau et l'énergie.

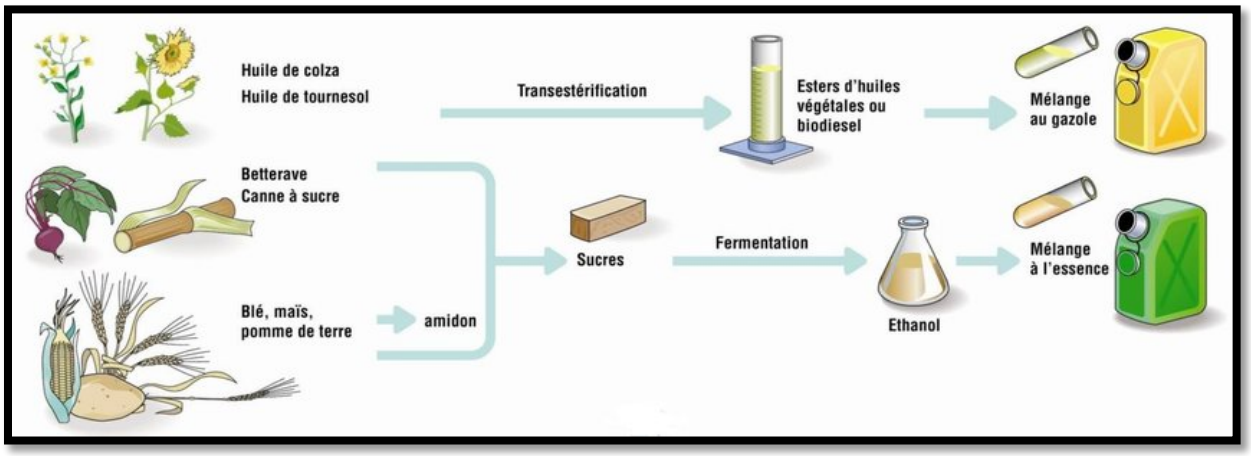


Figure II.6 Principales filières et matières premières des biocarburants de 1ère génération (source : IFPEN). (https://www.researchgate.net/)

- **Deuxième génération :**

Les biocarburants de 2ème génération sont les biocarburants cellulosiques à base de matériaux obtenus à partir de cultures non alimentaires (bois, feuilles, paille, etc.). Ces biocarburants comprennent le bio alcool, le bio-huile, le 2,5-diméthylfurane (BioDMF), le bio hydrogène, le diesel Fischer-Tropsch, le diesel de bois (**Naik et al, 2010**).

Les biocarburants de deuxième génération sont conçus pour résoudre le dilemme de la concurrence avec la production alimentaire, contrairement à leurs prédécesseurs de première génération qui se basent sur des cultures destinées à l'alimentation. Des efforts de recherche sont actuellement déployés pour trouver des solutions plus respectueuses de l'environnement dans le développement de ces biocarburants avancés. Leur adoption devrait contribuer à diminuer la dépendance aux combustibles fossiles et à atteindre les objectifs du développement durable. Malgré les obstacles économiques et technologiques, les biocarburants avancés tels que le biodiesel et le bioéthanol connaissent une croissance, avec une augmentation du nombre d'installations de production commerciale à l'échelle mondiale Il existe deux voies de productions :

- La méthode thermochimique, qui permet d'obtenir du biogazole de synthèse (également dénommée filière BtL, Biomass to Liquid)
- La méthode biochimique, qui permet d'obtenir de l'éthanol

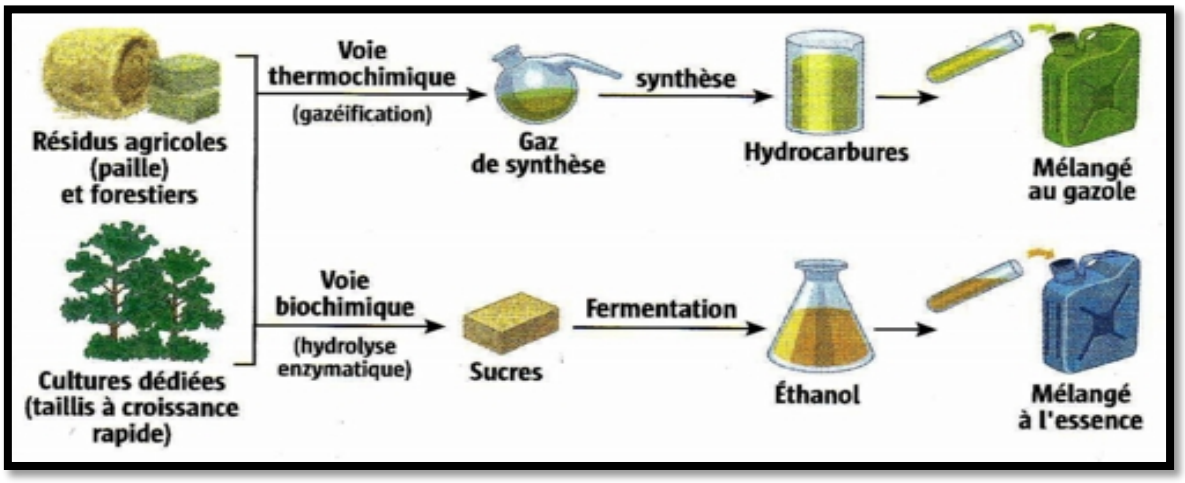


Figure II .7 Les biocarburants de deuxième génération (https://www.biocarburant.com/deuxieme-generation.html)

- **Troisième génération :**

Les biocarburants de 3ème génération représentent une perspective future dans le domaine des carburants renouvelables. Sont des biocarburants produits avec des microorganismes par la photosynthèse (microalgues) à partir de CO2 et de lumière ou par voie fermentaire (levures, bactéries, champignons) à partir de substrats organiques variés. Ces organismes microscopiques sont naturellement riches en huiles, offrant ainsi une source de biocarburants qui n'entre pas en compétition avec l'utilisation des terres agricoles. Sont meilleurs que ceux de l'ère génération pour te développement durable car ils sont neutres en carbone et ils réduisent la concentration de CO2 atmosphérique (**NGUYEN VAN CUONG, 2010**). (Figure II.7) montre le processus de production de biocarburants à partir de biomasse provenant de microalgues.

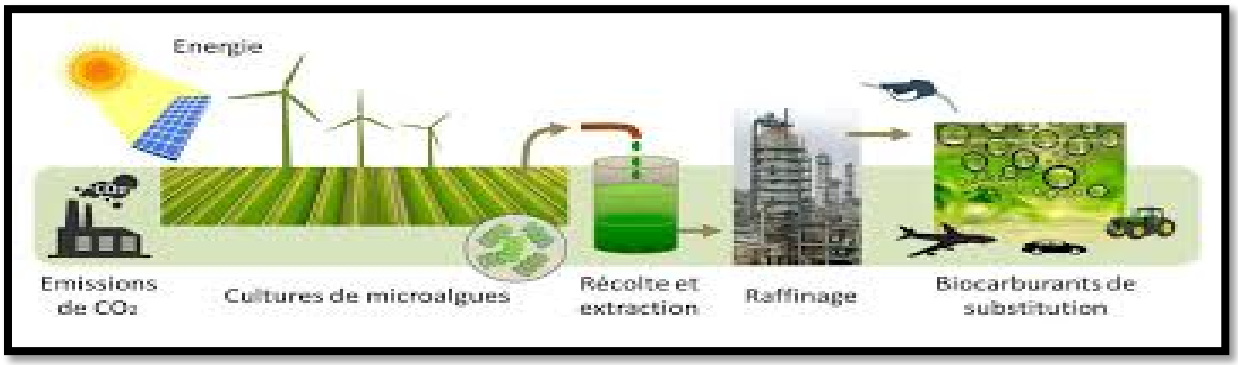


Figure II.8 Processus de production de biocarburants à partir de biomasse provenant de microalgues

Les avantages et inconvénients de biocarburants : Tableau II .2. : Les avantages et les inconvénients des biocarburants

Les avantages	Les inconvénients
-La production de combustibles fossiles nécessite des milliers d'années pour se former, alors que la matière première des biocarburants se renouvelle beaucoup plus rapidement. - En diminuant leur dépendance sur les sources d'énergie étrangères, les pays peuvent protéger l'intégrité de leurs ressources énergétiques et se soustraire aux influences extérieures. - Réduire les émissions de gaz à effet de serre (GES) et la consommation d'énergie non renouvelable.	- L'expansion des biocarburants provenant de cultures énergétiques pourrait constituer une menace pour les écosystèmes et les réservoirs de carbone. - Leur production nécessite une grande quantité d'énergie et entraîne des coûts élevés pour leur culture, leur récolte et leur transformation. - La hausse de la demande de biocarburants a entraîné une augmentation des prix mondiaux des céréales et des oléagineux. - Ils créent une concurrence féroce entre les cultures

II.9. Le biodiesel :

Le biodiesel fait référence aux esters d'alkyle issus d'acides gras, obtenus par la réaction de transestérification entre les triglycérides et un alcool alkylé. Il est largement reconnu dans le secteur des carburants alternatifs, et son utilisation est soutenue par des entités de renom telles que le département de l'énergie (DOE), la société américaine des essais et matériaux (ASTM) ainsi que l'agence de protection de l'environnement (EPA) (**Kiran shinde, 2017**)

Le biodiesel peut être élaboré à partir d'une variété de sources, incluant des huiles vierges comme le colza ou le soja, des graisses animales, du suif et des huiles de cuisson usagées. Le Conseil national du soja diesel, aujourd'hui désigné comme le Conseil national du biodiesel, est un acteur clé dans la commercialisation de cette ressource aux États-Unis depuis 1992.

La transestérification désigne une réaction chimique au cours de laquelle de l'huile végétale est combinée avec un alcool en présence d'un catalyseur pour produire des esters méthyliques d'acides gras, souvent appelés biodiesel.

II.9.1. Historique :

La première transestérification d'une huile végétale a été effectuée par E. Duffy et J. Patrick en1853. Cela s'est produit quarante ans avant que le moteur de Rudolf Diesel n'opère de manière autonome à Augsbourg, en Allemagne, le 10 août 1893.

(**Abdalla BK et al,2013).**

Depuis ses débuts, le moteur diesel a été capable de fonctionner avec divers types de carburants, y compris les huiles végétales. Lors de l'Exposition de Paris en 1900, la société française Otto a fait fonctionner un petit moteur diesel avec de l'huile d'arachide, représentant l'une des premières applications publiques du biodiesel dans un moteur diesel.

En plus des recherches françaises sur l'huile d'arachide, des expérimentations ont eu lieu à Saint-Pétersbourg utilisant de l'huile de ricin et de l'huile de train (une huile dérivée de la graisse de mammifères marins) avec des résultats prometteurs, selon les études de Rudolf Diesel publiées en 1912 et 1913(**Kumar Gupta Vetal,2019**). Au cours des premières décennies du XXe siècle la France, la Belgique, l'Allemagne, l'Italie et le Royaume-Uni ont manifesté divers intérêts pour les carburants dérivés d'huiles végétales (**KnotheG, 2010**). Les triglycérides issus de matières premières huileuses couramment accessibles étaient envisagés comme la principale source de carburant pour les moteurs diesel à leurs débuts. Cependant, les huiles d'origine naturelle présentent une viscosité élevée avec des indices de cétane relativement progressif par le pétrole (**Taher H et al, 2017**).

Pour remédier aux problèmes de viscosité des huiles végétales, des méthodes telles que le craquage thermique, la pyrolyse, la transestérification, la formation de macroémulsions et la dilution avec des solvants ont donc été explorées. La transestérification utilisant des alcools de chaine courte, comme le méthanol et l'éthanol, est devenue le procédé privilégié et le plus couramment employé pour transformer les huiles biodégradables en biodiesel, grâce à l'avancée de catalyseurs appropriés. **(Taher H et al, 2017**).

II.9.2. Les différentes étapes de production de biodiesel :

- **Méthode traditionnelle de trans-estérification :**

C'est une méthode en deux phases qui inclut l'extraction de lipides de la biomasse algale avant la phase de transformation **(Lee & Lee, 2016**). Dans cette technique, une phase cruciale de traitement est effectuée pour isoler les lipides de la biomasse algale et élimination des

algues par l'utilisation de solvants inactifs, à l'instar de l'hexane (**F. M. Hossain et al, 2018**). Ces techniques additionnelles donnent la possibilité d'obtenir un biodiesel fortement purifié qui pourrait être utilisé directement dans les moteurs à grande vitesse (**Salam et al, 2016**). L'incorporation de ces phases accroît le coût total de production (**MartinezGuerra&Gude, 2018**).Ces procédures ne font pas uniquement grimper le coût de fabrication en améliorant la consommation d'énergie, elles prolongent également le laps de temps nécessaire à la production. (**Jazzar et al, 2015**).

- **Transestérification directe :**

C'est un procédé d'extraction du contenu lipidique de la biomasse algale (**Lee & Lee, 2016), (Ehimen et al, 2010)**. La biomasse algale humide et non rincée est insérée directement dans le schéma de réaction pour générer une Transestérification directe **(Jazzar et al, 2015).** Un surplus de méthane est introduit dans la chambre d'action, supprimant ainsi la nécessité de procédés comme le prétraitement, l'extraction des gommes et l'extraction des lipides. C'est pour cette raison qu'il offre une meilleure performance par rapport à la méthode traditionnelle (**Al-lwayzy et al, 2014**).

On a mis en évidence que le rendement du biodiesel produit par la transestérification directe de la biomasse algale sèche est supérieur à celui de la biomasse humide. Cela met en évidence l'importance de déshydrater la biomasse. Selon Johnson & Wen (**2009**),

Le biodiesel produit une quantité similaire de diesel, qu'il soit issu de biomasse sèche ou non, par rapport à l'utilisation de la méthode traditionnelle pour sa production. Toutefois, le rendement total et la quantité de lipides obtenus par le séchage des biomasses restent encore inconnus (**Lardon et al, 2009**).Afin de diminuer le coût de production lié au processus de séchage, le prétraitement permet d'abaisser la consommation énergétique nécessaire à la fabrication de biodiesel à partir des algues à grande échelle. Un nouveau procédé bien établi est indispensable. **(R. Levine et al, 2009**), (**Sialve et al, 2009**).

Pour optimiser la production de biodiesel à l'échelle mondiale en intensifiant la concentration lipidique de la biomasse algale, il est nécessaire d'élever des algues dans un environnement nutritif abondant. Il a été précédemment indiqué que le recours au génie génétique est une méthode privilégiée pour augmenter la concentration en lipides des algues. Cependant, les premières tentatives dans ce secteur n'ont pas toujours eu de succès (**Sheehan et al, 1998**).

C'est la raison pour laquelle de nombreuses études sont indispensables pour manipuler les gènes des algues afin d'atteindre une production élevée de biodiesel **(Hu et al, 2008**).

II.10.Présentation du modèle d'étude :

Présentation structurale de *Chlorella* :

Chlorella (**Beijerinck, 1890**) appartient à la lignée des Chlorophytes. Le genre *Chlorella* se retrouve dans tous les habitats aquatiques, marins ou d'eau douce.

Chlorella est une algue verte unicellulaire eucaryote d'eau douce (Figure). Elle est de forme ronde ou ellipsoïde, d'un diamètre moyen de 5 µm.

Elle possède un chloroplaste pariétal contenant de la chlorophylle a et b ainsi que des caroténoïdes comme pigments accessoires, un pyrénoïde, des thylakoïdes, des grains d'amidons et du matériel génétique (Figure). L'amidon est la réserve majeure de glucides de la cellule. D'autres organites sont également présents dans la cellule : un noyau, des mitochondries, de petites vacuoles, des gouttelettes lipidiques, des ribosomes (**Van Den Hoek et al, 1995**). La membrane cellulaire externe est composée de trois membranes contenant de la glucosamine (**Takeda, 1993 ; Allard et al, 2000**).

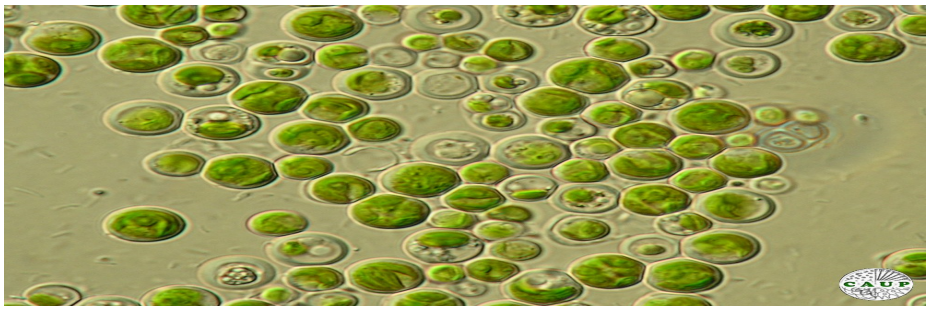


Figure II .9. Morphologie de ***Chlorella*** sous microscope

II.10.1.Morphologie d'une *Chlorella* :

- Membrane plasmique : Enferme la cellule et régule les échanges entre l'intérieur et l'extérieur de la cellule.
- Cytoplasme : Il contient des organites et des structures nécessaires à la survie des cellules.
- Chloroplastes : Ce sont les organites responsables de la photosynthèse. Ils contiennent de la chlorophylle, qui capte l'énergie lumineuse pour produire de la matière organique.

- Stigmate : Il s'agit d'une petite tache rouge à la surface du chloroplaste. Il est sensible à la lumière, permettant aux cellules de détecter la direction des sources lumineuses, maximisant ainsi l'efficacité de la photosynthèse.
- Noyau : Est le centre de contrôle de la cellule. Il contient le matériel génétique de la *Chlorella.*
- Mitochondries : Elles sont responsables de la production d'énergie dans la cellule.
- Vacuoles : Elles stockent les déchets et les nutriments dans la cellule.

La présence de stigmates est une particularité de *Chlorella* par rapport aux autres algues unicellulaires. Il s'agit d'un organe sensoriel spécialisé qui permet à *Chlorella* de détecter la lumière et de l'utiliser efficacement pour la photosynthèse.

II.10.2. présentation structurale de *Planktothrix* :

Planktothrix est un genre de cyanobactéries (algues bleu-vert) qui vit dans les eaux douces, notamment dans les lacs et les étangs. Elle est connue pour former des efflorescences algales (blooms) parfois nuisibles. **(Kormayer et al ,2002**)



Figure II.10. *Morphologie de* **Planktothrix**

II.10.3. Classification scientifique :

Règne : Bacteria Embranchement : *Cyanobacteria* Classe : *Oscillatoriophycideae* Ordre : *Oscillatoriales* Famille : *Microcoleacea*e Genre : *Planktothrix* .(kormayer et al .2002)

- **Morphologie** :

  Forme filamenteuse sans cellules spécialisées (pas d'hétérocystes ni d'akinètes). Les cellules sont allongées et disposées en chaînes ou filaments. Absence de membranes internes vraies ; déplacement par glissement. Certaines espèces contiennent des

vésicules gazeuses leur permettant de flotter et de se déplacer verticalement dans la colonne d'eau. **(komark et al. 2004)**

- **Espèces courantes :***Planktothrix agardhii* : l'espèce la plus répandue, présente dans les eaux peu profondes riches en nutriments. **(kormayer et al. 2002**)
- *Planktothrix rubescens* : préfère les eaux plus profondes, froides et tempérées.
- **Habitat et distribution** : Principalement dans les eaux douces (rarement salées). Répandue en Europe, Amérique du Nord et Asie. Capable de survivre à de faibles intensités lumineuses grâce à la phycoérythrine chez certaines espèces. Forme des efflorescences surtout en été et au printemps.
- **Toxicité et risques environnementaux** : Produit des toxines appelées microcystines et anatoxines, nocives pour le foie et le système nerveux. Risques pour : L'humain : lors de la consommation ou du contact avec de l'eau contaminée. Les animaux : poissons, bétail, animaux domestiques. Les écosystèmes : perturbation de l'équilibre écologique. **(carmichael et al.2001). (chorus et al .1999)**
- **Facteurs favorisant sa croissance :** Forte concentration en nutriments (azote et phosphore). Faible brassage de l'eau. Températures modérées à chaudes. Présence de lumière, même faible (surtout pour *P. rubescens*). **(Shatwell et al. 2019)**
- **Importance scientifique :**

  - modèle d'étude des efflorescences nuisibles.

  - Source d'étude sur les toxines algales.

  - Intérêt dans les recherches sur le changement climatique et la pollution des eaux.

  Applications et recherches futures : Études sur ses composés bioactifs pour la pharmaceutique et l'environnement. Recherches pour limiter sa prolifération via des approches écologiques. Développement de systèmes d'alerte précoce par satellites ou capteurs aquatiques. (**Zilliges et al.2011**).

Deuxième partie : Expérimentation

Chapitre III: *Matériels et Méthodes*

III.1. Matériels :

III.1.1. Matériels biologiques :

Dans notre travail nous utilisons plusieurs souches : les microalgues de genre ***Chlorella*** et **cyanobactérie filamenteuse *Planktothrix*** isolées dans la région de Médéa, elles ont été développées en culture liquide dans le laboratoire de biologie (faculté des sciences et de nature). Université de YAHIA Farés. Notre travail a été réalisé dans la période de pendant (janvier au mai).

III.1.2. Appareillages et matériels:

L'instrument et appareillage utilise dans le laboratoire de microbiologie sont présenté en annexe I. Et des verreries de type pyrex tels que Béchers (50 ml, 1000 ml) ; Spatule, pissette ; Pipettes graduées ; Erlenmeyer ; Tubes à essais ; Flacons ; Micropipette ; Eppendorfs.

III.2. La région d'isolement des souches de microalgues :

La souche filamentaux «***Planktothrix*** » a été isole dans la région de **Mefatha**, cette dernière est située dans l'extrême nord des hautes plaines centrales algériennes à environ 152 km au sud d'Alger et à 76 km au sud-est de Médéa et à 20 km à l'est de Ksar el Boukhari. La région de Mefatha, se distingue parclimat semi-aride un cadre naturel riche, modelé par des reliefs montagneux tels que le Djebel KafAmouch et le Djebel Faïja. Les échantillons prélevés dans les milieux aquatiques de Meftaha révèlent une richesse en espèces algales, notamment les algues vertes (Chlorophyta) et les cyanobactéries (algues bleu-vert). Leur répartition varie selon les caractéristiques physico-chimiques du milieu. Cette diversité microbienne présente un potentiel scientifique et économique considérable, notamment dans la production de biomasse et l'extraction de composés bioactifs comme les huiles et les acides gras.



Figure III.5. Situation géographique de la région de Mfatha.
(https://maps.app.goo.gl/xj7hBSnjhLWMcLN26)

La souche ***Chlorella*** à été isolée dans la commune de **Médéa**, La commune se trouve au nord-ouest de la wilaya. La ville est située à 90 km au sud-ouest d'Alger, à 48 km à l'est de Khemis Miliana, à 24 km au sud de Blida et à 42 km au nord de Ksar el Boukhari Médéa, à 981 m d'altitude, est une ville de montagne de l'Atlas tellien. Caractérisée par un climat d'étés sont courts, très chaud, sec et dégagé dans l'ensemble et les hivers sont long, frisquet et partiellement nuageux.

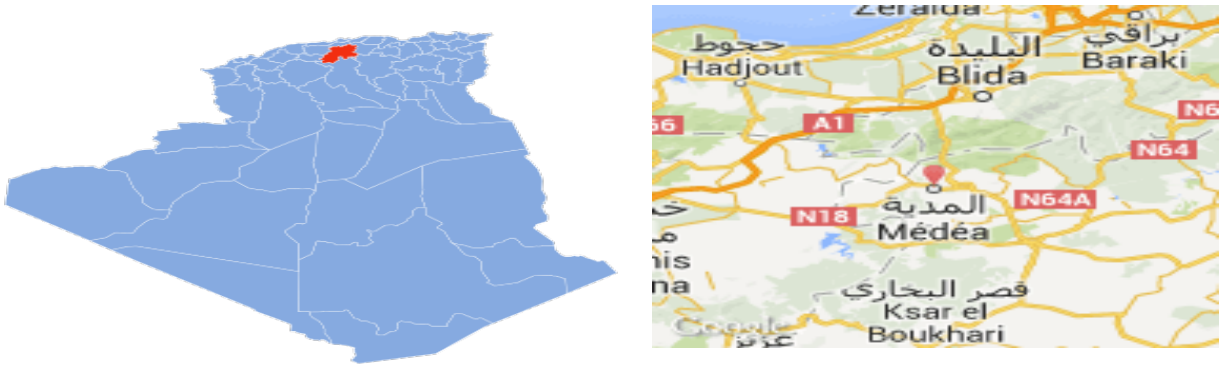


Figure III.6 Situation géographique de la région de Médéa.
(https://maps.app.goo.gl/MPY5aen8bBU3rH526)

La wilaya de Médéa est riche en écologie et en biodiversité, avec des montagnes et des eaux variées qui favorisent le développement des microalgues, surtout des algues vertes. Son climat modérément humide soutient cette diversité microbienne, qui est importante à la fois écologiquement et biotechnologiquement.

III.3 Méthodes de travail :

III.3.1 Préparation de milieu de culture :

- **Le milieu BBM :**

Description de milieu : le milieu BBM est un milieu courant pour la culture des microalgues telles que « Chlorella » et « Planktothrix ». Ce milieu de culture apportée des nutriments qui sont essentiels pour la croissance des microalgues on trouve une source d'azote, de phosphate et de magnésium. (**Anderson, 2005)**

Préparation de milieu :

Les composants de milieu sont pesés et mélangés avec l'eau distillé, puis le mélange est agité pendant 20 min avec et il est conservé à l'abri de lumière, Sa composition est donnée dans le tableau suivant : **(Anderson, 2005).**

Tableau III-2 Composition chimique de Milieu BBM

Eléments	**Solution de stokes g/l d'H2O pour 200ml**	**Quantité utilisée pour 1l**
Macronutriments		10ml
$NaNO_3$	5	10ml
$CaCl_2 7H_2O$	0.5	10ml
$MgSO_4.7H_2O$	1.4	10ml
K_2HPO_4	1.5	10ml
KH_2PO_4	3.5	10ml
NaCl	0.5	1ml
Solution alcaline d'EDTA		
EDTA	10	
KOH	6.2	
Solution acidifiée de fer		1ml
$FeSO_4 7H_2O$	0.996	
H_2SO_4		1ml
Solution de Bore		1ml
H_3BO_3	2.284	
Solution D'oligo métaux		1ml
$ZnSO_4 7H_2O$	1.764	
$MnCl_2.4H_2O$	0.288	
MoO_3	0.142	
$CuSO_4.5H_2O$	0.314	
$Co(NO_3)_2.6H_2O$	**0.098**	

III.3.2 Isolement des souches :

Après la collecte, la séparation des microalgues filamenteuses et unicellulaires est réalisée en utilisant deux méthodes physiques couramment employées : la filtration et la sédimentation (centrifugation).

Dans le cas de la centrifugation, l'échantillon est placé dans une centrifugeuse et soumis à une vitesse de rotation élevée. Cette opération permet la sédimentation des cellules unicellulaires au

fond du tube en raison de leur petite taille et de leur densité plus élevée, tandis que les cellules filamenteuses ont tendance à rester en surface ou en suspension, en raison de leur structure allongée et entrelacée.

En parallèle, la filtration à l'aide de papiers filtre de type Whatman permet également une séparation efficace. Les cellules unicellulaires, plus petites, traversent facilement les pores du filtre pour se retrouver dans le filtrat, tandis que les algues filamenteuses sont retenues à la surface du filtre.

Ces deux techniques permettent d'obtenir des fractions relativement pures de chaque type d'algue, ce qui est essentiel pour les analyses ultérieures portant sur la croissance, la biosynthèse lipidique ou la réponse aux facteurs environnementaux.



Figure III.7 les souches avant l'isolement

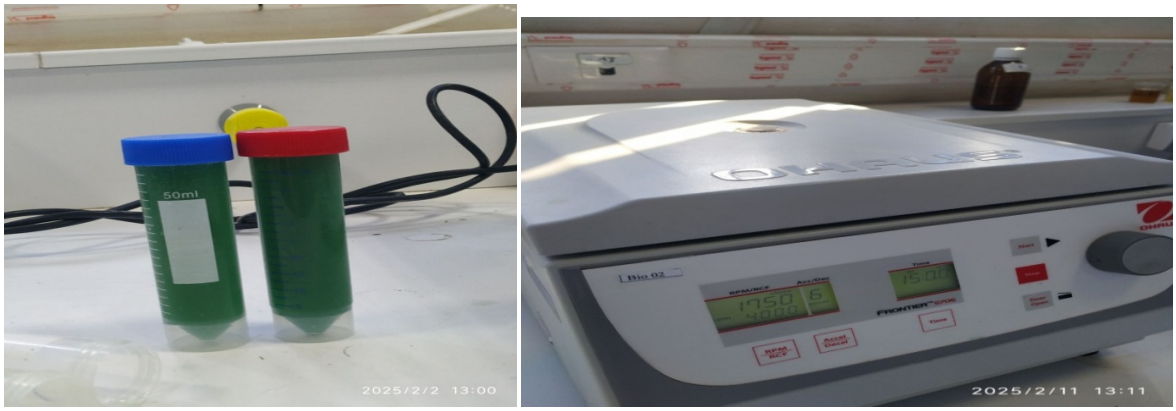


Figure III.8. Méthode de Centrifugation

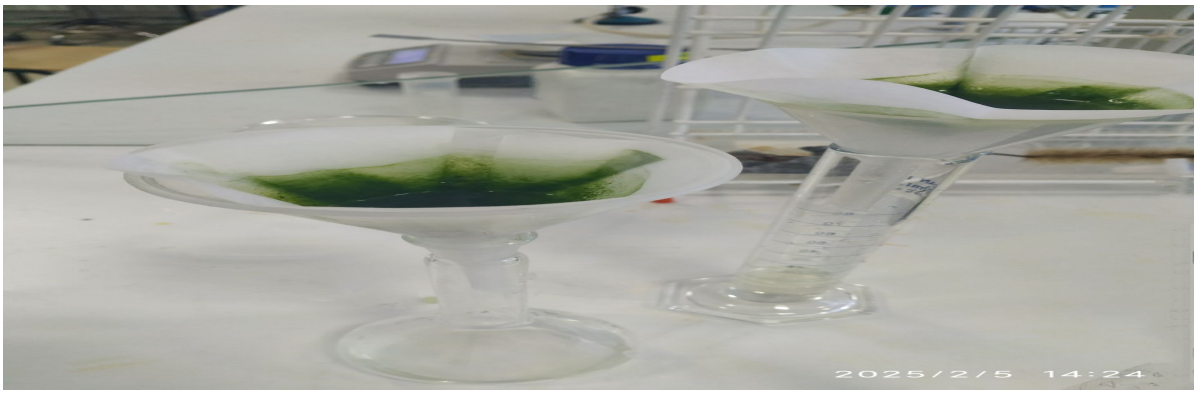


Figure III.9. *Méthode de Filtration*

III.3.3 Dispositif expérimental :

Le protocole expérimental a été méticuleusement conçu pour favoriser la croissance des souches algales dans un environnement nutritif soigneusement formulé, enrichi en éléments minéraux essentiels.

Les cultures ont été menées dans des photo bioréacteurs cylindriques, de 6.35 cm de diamètre et de 12 cm de hauteur, maintenus dans des conditions rigoureusement contrôlées :

- Éclairement : Une illumination constante a été assurée par une source lumineuse blanche (lampe de 25 W), garantissant un apport énergétique en continue.
- Température : Le milieu de culture a été maintenu à une température stable de 25 ± 1 °C à l'aide de thermostats de précision.
- Aération et homogénéisation : L'agitation des cultures est assurée par une pompe àd'air à travers un système de barbotage, avec un débit calibré de 15 L/min, assurant une oxygénation et un brassage homogène.
- Des échantillons ont été prélevés quotidiennement afin de suivre l'évolution de la densité optique (DO), d'estimer la productivité biomasse et de déterminer le taux spécifique de croissance.

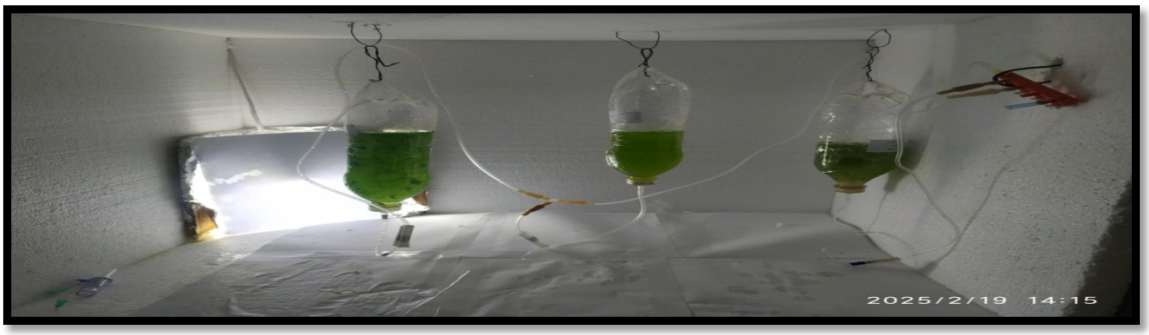


Figure III.10 Les cultures des microalgues dans les conditions expérimentales après l'isolement.

III.3.4. Effet de lumière et de température sur les microalgues :

Une quantité d'algues préalablement cultivées a été transférée dans des tubes, de centrifugation puis soumise à une centrifugation à 4500 tr/min pendant 10 minutes afin de séparer la biomasse fraîche et d'éliminer le milieu de culture précédent (BBM).Le culot obtenu a été remis en suspension dans un milieu BBM modifié (milieu de production), qui contient les même compostions indiqué sur le tableau avec une modification : La quantité de $NaNO_3$ est 0.025(la quantité d'azote a été réduite). L'inoculum de départ est préparé pour une DOO de 0,7. La suspension algale a ensuite été répartie dans des flacons en verre de 200 ml, chacun contenant 45 ml de suspension. Les flacons ont été divisés en trois groupes selon la température d'incubation : Groupe 1 : incubé à 22°C ; - Groupe 2 : incubé à 25°C et Groupe 3 : incube à 30°C, et chaque groupe contient trois flacons exposés à différentes intensités lumineuses : Flacon 1 : 7000 lux, Flacon 2 à 5000 lux et Flacon 3 : 2000 lux. L'incubation a duré huit jours sous ces conditions contrôlées (température et lumière), après les échantillons ont été soumis aux analyses prévues.

température / l'intensité	7000lux	5000lux	2000lux
22 C°	Flacon 1	Flacon 2	Flacon 3
25 C°	Flacon 4	Flacon 5	Flacon 6
30 C°	Flacon 7	Flacon 8	Flacon 9

Tableau III .2 Répartition des flacons selon la température et l'intensité lumineuse



Figure III.11 les échantillons dans les conditions expérimentales. Les microalgues dans le milieu

III.3.5 Effet de sources de carbone (glucose ; $NaHCO_3$) sur la production des lipides :

Une quantité d'algues préalablement préparées a été placée dans des tubes de centrifugeuse et soumise à une centrifugation à 4500 tours/min pendant 10 minutes afin d'obtenir une biomasse fraîche et d'éliminer le milieu BBM (de croissance) utilisé précédemment. Le culot a ensuite été transféré dans un bécher et remis en suspension dans un milieu BBM modifié (de production) additionné de Glucose et/ou de bicarbonate, puis réparti dans des flacons en verre (100 ml par flacon), les quel sont été placés dans l'incubateur.

Remarque : En se basant sur l'expérience précédente d'analyse des lipides, le point de la densité optique maximale (DO) a été identifié. À ce stade, deux flacons ont été préparés :
- Un flacon avec ajout de 0,2 g de glucose.

- Un flacon avec ajout de 0,2 gde $NaHCO_3$.

L'évolution des cultures a été suivie pendant 8 huit jours.

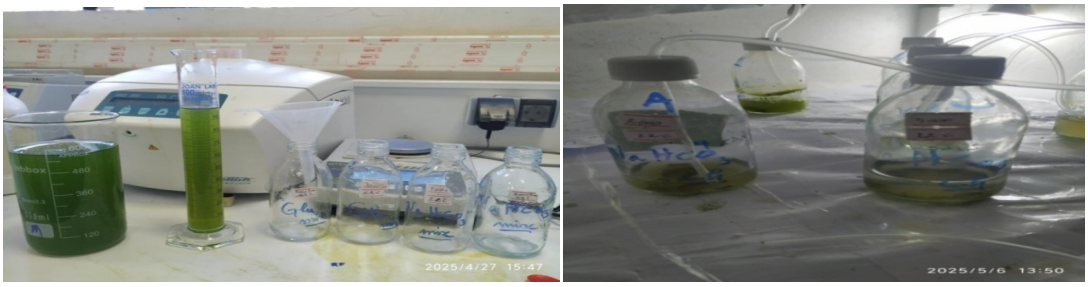


Figure III.12. les microalgues dans le milieu de production. Les échantillons dans les conditions expérimentales

III.3.6 Analyse de la composition biochimique :

III.3.6.1 Dosage des lipides totaux :

Afin d'évaluer avec précision la teneur totale en lipides des échantillons d'algues, un protocole analytique rigoureux a été appliqué.

- Les tubes contenant les cultures de microalgues ont été d'abord soumis à une centrifugation afin de séparer la biomasse du milieu de culture. Le culot obtenu a été soigneusement pesé, puis remis en suspension dans de l'eau distillée à raison de (1 ml pour 10 mg de biomasse,) assurant ainsi une homogénéité optimale de l'échantillon.

- Un volume de 0,5 ml de ce mélange a été prélevé, puis additionné de 4 ml d'acide sulfurique concentré (H_2SO_4). Le mélange a ensuite été incubé dans un bain-marie à 95 °C pendant une heure, permettant la dégradation thermique des structures complexes et la libération des composés lipidiques.
- À la fin de l'incubation, 1 ml de l'échantillon a été transféré dans un nouveau tube, puis mélangé à 5 ml de réactif phospho-vanilline.
- Ce dernier est préparé en dissolvant 60 mg de vanilline dans un mélange de 1 ml d'éthanol, 9 ml d'eau distillée, et 40 ml d'acide phosphorique, en veillant à ce que le volume final de l'éthanol et de l'eau soit de 10 ml.
- Les échantillons ont ensuite été incubés à nouveau dans un bain-marie, cette fois à 37 °C pendant 15 minutes, afin de favoriser le développement de la coloration résultant de la réaction du réactif avec les lipides.
- Finalement, la densité optique (DO) a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm, permettant une quantification fiable et précise des lipides totaux présents dans les échantillons étudiés.

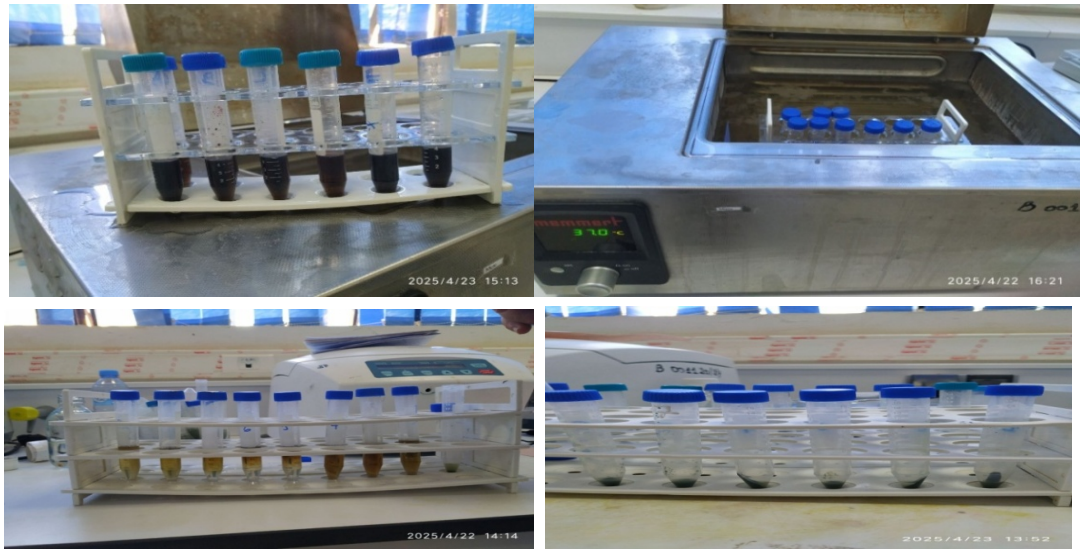


Figure III.13 : *Quelques étapes d'analyse des lipides*

Cette Protocol résumé dans le schéma suivant :

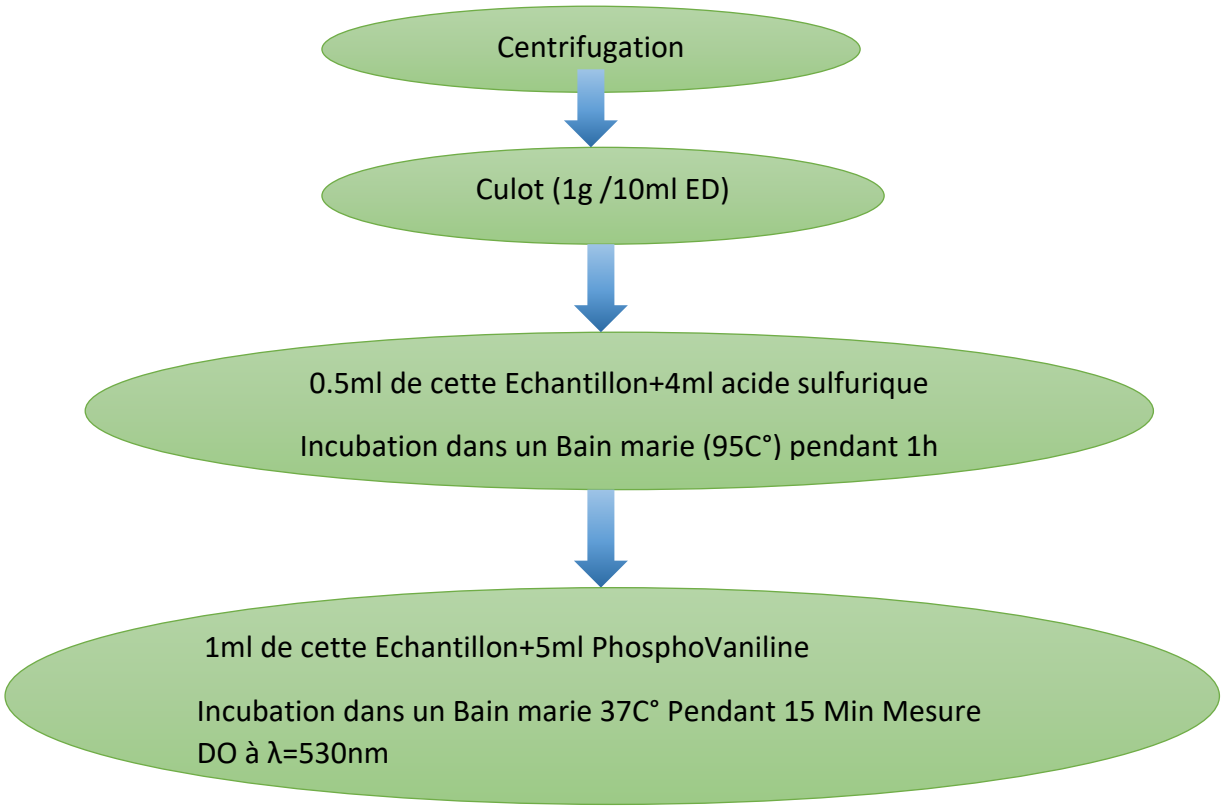


Figure III.10. Protocole d'extraction et analyse des lipides.

III.3.6.2 Dosage des chlorophylles et des Caroténoïdes :

Afin d'estimer avec précision les concentrations en chlorophylles (a et b) ainsi qu'en caroténoïdes, un protocole d'extraction a été suivi.

- Un volume de 1 ml de culture algale a été centrifugé à 12 000 rpm pendant 5 minutes. Le surnageant a été éliminé, 1 ml de méthanol pur a été ajouté aux culots.
- Cette suspension a ensuite été incubée dans un bain-marie thermostatique à 60 °C pendant 50 minutes, favorisant ainsi la lyse des cellules et l'extraction efficace des pigments photosynthétiques. Après incubation, les lysats ont été clarifiés par une seconde centrifugation à 10 000 rpm durant 3 minutes.
- Les absorbances des extraits ont été mesurées à l'aide d'un spectrophotomètre aux longueurs d'onde spécifiques de 470 nm, 653 nm, et 666. Ces mesures spectrales ont permis une quantification fiable des pigments extraits, reflétant l'état physiologique et photosynthétique des algues cultivées.

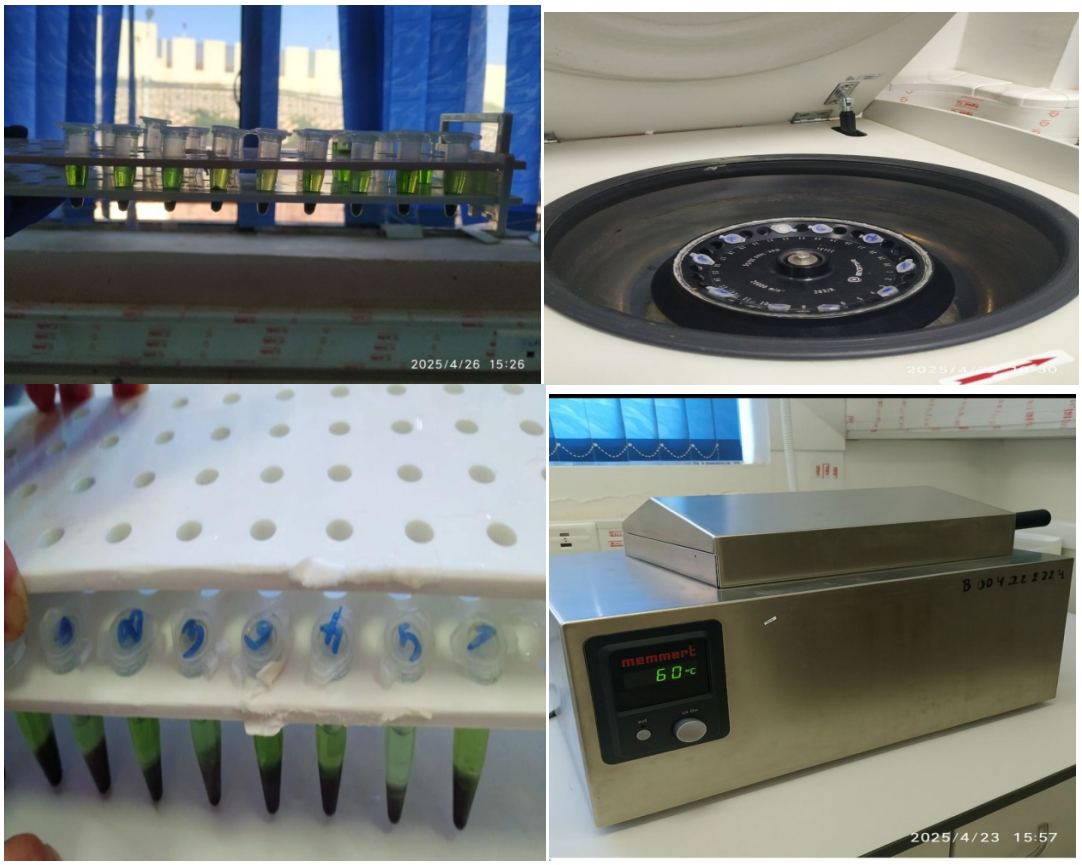


Figure III.11 quelques étapes d'analyses de Chlorophylle et de Caroténoïdes

Les teneurs en pigment photosynthétique sont calculées selon les équations ci-dessous (**LICHTENTHALER,et al,2001)**

Chlorophyll- a= 12.25 A663.2 – 2.79 A646.8 (µg per ml solution)

Chlorophyll-b = 21.50 A646.8 – 5.10 A663.2 (µg per ml solution)

Total carotenoids = (1000 A470 – 1.82 Ca – 85.02 Cb) / 198 (µg per ml solution)

Cette Protocol résumé dans le schéma suivant :

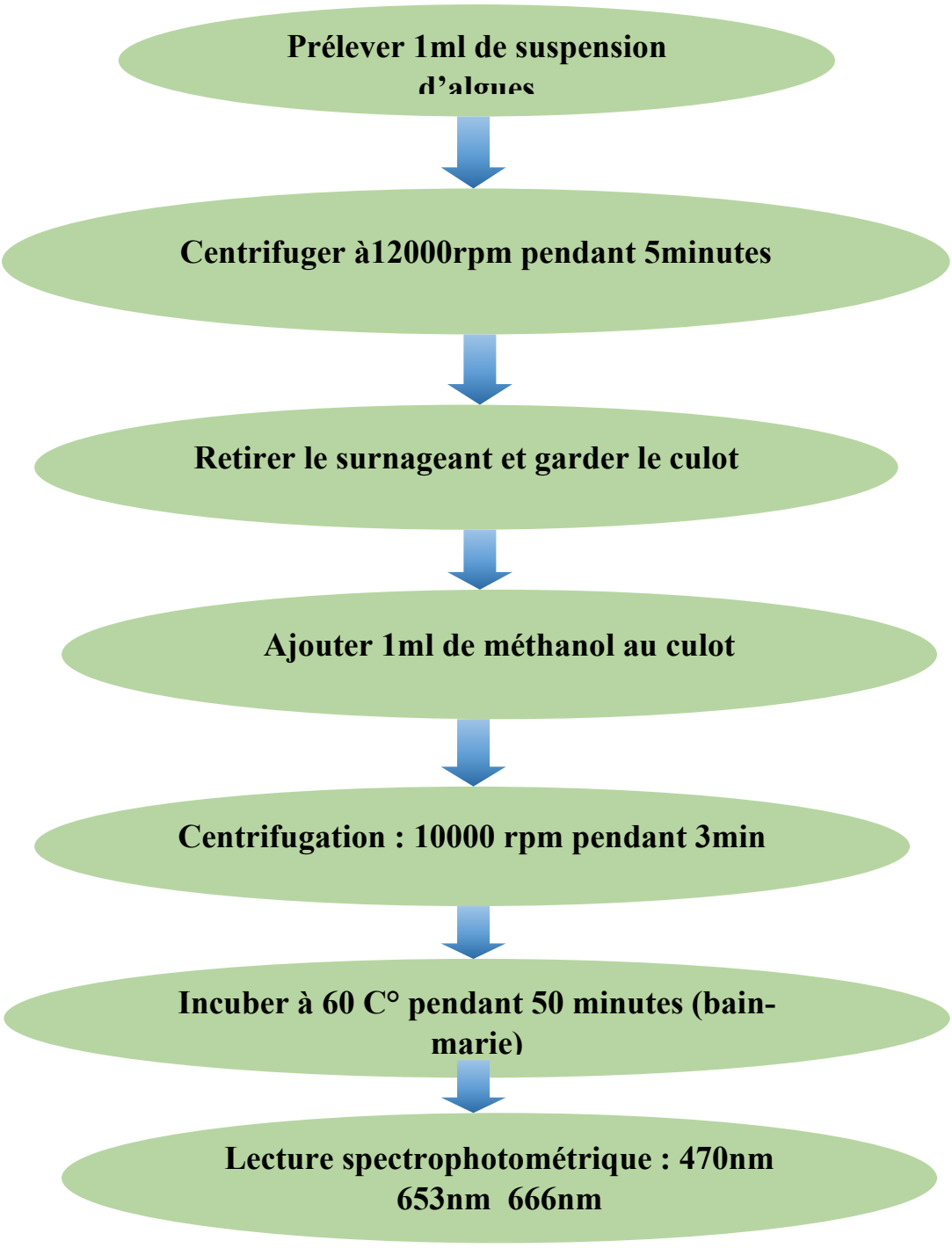


Figure III.*12* : procédés extraction et analyse de Chlorophylle et de Caroténoïdes

III.3.6.3 Dosage des sucres totaux :

La teneur totale des sucres a été mesurée à l'aide de la méthode de **DUBOIS et AL. (1956)**

Après une centrifugation des suspensions micro algale ; un séchage et un broyage.

Pour l'extraction une pesée de 0.001g de biomasse de chaque échantillon a été ajouté dans 1ml de tampon PBS qui ont été chauffé dans un bain marie 95°C pendant 2 heures ; Après les échantillons ont été centrifugés à 3500 rpm pendant 10mn ; les surnageant obtenus sont dilué une fois pour obtenir une solution diluée de 10^{-1} et une solution mère ; la méthode de Dubois a été appliquée comme suivant :

- 0.2ml de surnagent sont mis dans un tube à essai avec 0.2ml de phénol (à 5% dans l'eau).
- 1ml d'acide sulfurique (H2SO4) sont ajoutés rapidement et le mélange est agité immédiatement ; une coloration jaune se développe.
- Les tubes sont placés au bain-marie à 100°C pendant 5minutes puis conservé à l'obscurité pendant 30 minutes
- L'absorbance est mesurée à 492nm

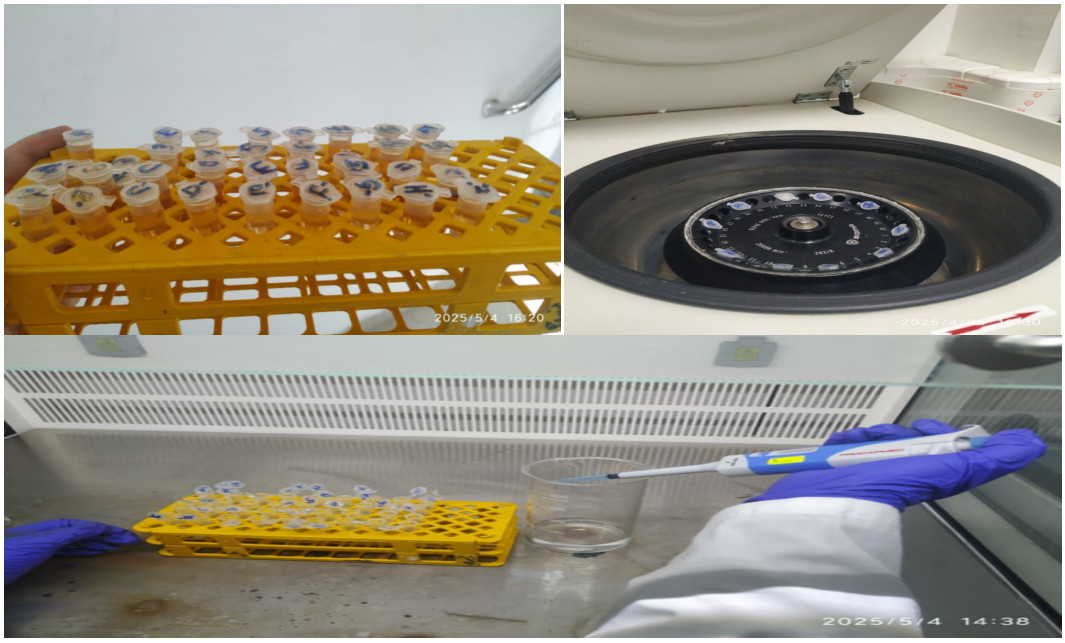


Figure III.13. Quelques étapes d'analyses des sucres totaux

Cette Protocol résumé dans le schéma suivant :

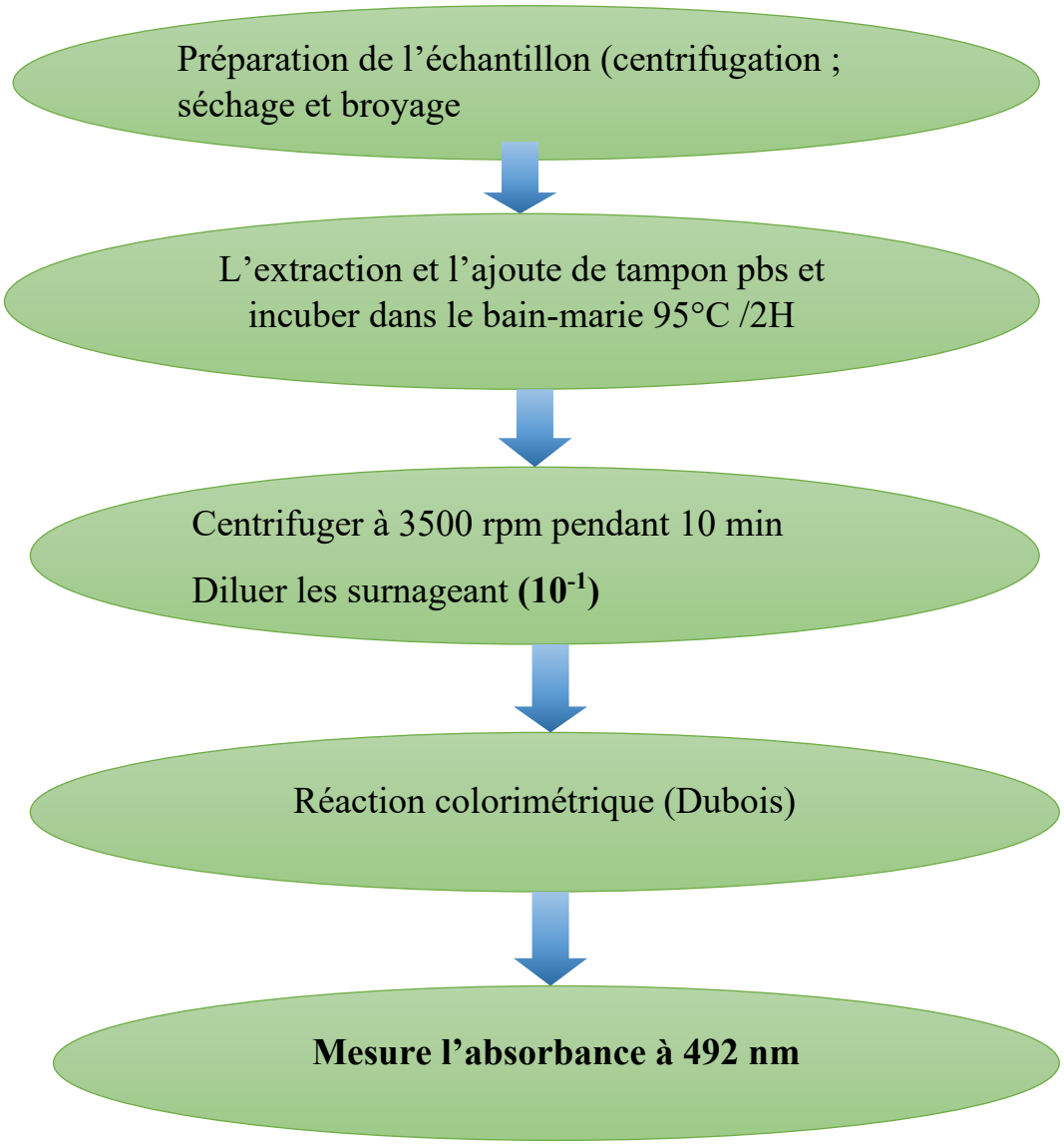


Figure III.14. Protocole d'analyse des sucres totaux

Remarque : Les tests ont été réalisés sur *Chlorella* et *Planctothrix* avant et après l'ajout de glucose et de $NaHCO_3$

Chapitre IV :

Résultats et Discussion

Chapitre IV : Résultats et discussion :

IV.1. Caractérisation morphologique des micros algues étudiée :

IV.1.1. Etude microscopique :

- ***Chlorella* :**

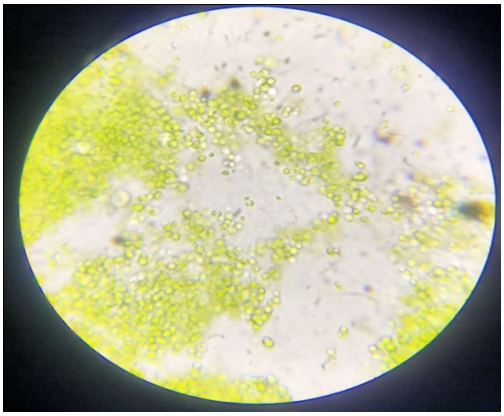


Figure IV.1 : Observation microscopique de *Chlorella* G100x

L'observation microscopique de *Chlorella* à l'état frais montre une forme sphérique à légèrement ovales, une taille relativement homogène avec un diamètre estimée entre 3 et 8 µm ; les cellules présentent une coloration verte, indiquant la présence de chloroplastes riches en chlorophylles.

- ***Planktothrix :***

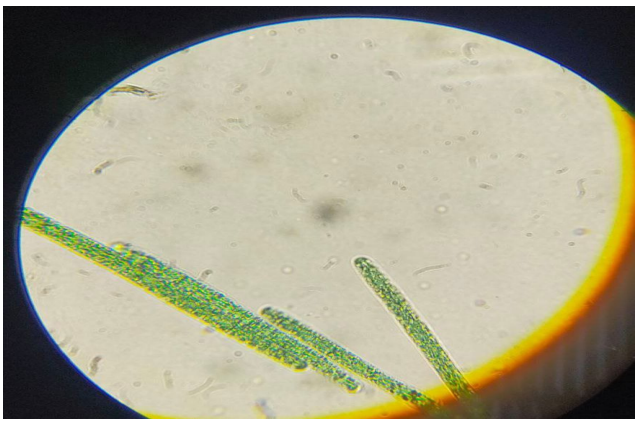


Figure IV.2 : observation microscopique de *planchtotrix* G100x

L'observation microscopique de *planchtothrix* montre une forme filamenteuse verte allongés ; chaque filament contient des cellules segmentées pigmentées en vert.

IV.2 : Cinétique de croissance :

IV 2.1. Densité optique et mesure de croissance dans la culture :

On a effectué des mesures d'absorbances (DO) afin d'estimer la concentration de biomasse. Cela a été réalisé en utilisant une lecture spectrophotométrique de la densité optique de la culture (EPA /APP et BJ-11) à une longueur d'onde à 600 nm.

- **Chez *Chlorella* :**

Tableau IV.1: Evolution de la densité optique de la culture *Chlorella*

Le temps(Jours)	DO
Jour 1	0.6
Jour 2	0.62
Jour 3	0.68
Jour 4	0.702
Jour 5	0.745
Jour 6	0.79
Jour 7	0.801
Jour 8	0.95
Jour 9	1
Jour 10	1.09

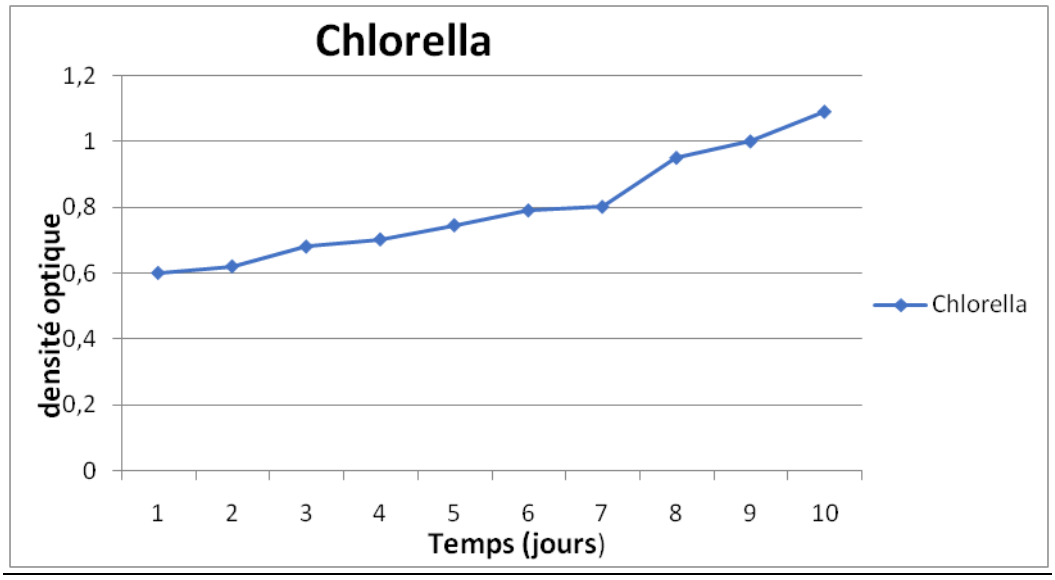


Figure IV.3: Courbe des valeurs de la densité optique en fonction de temps de la culture

Le tableau **IV.1**et la figure **IV.3** Représente l'augmentation de *Chlorella* sur une période de 10 jours, évaluée par la densité optique. On note une progression modérée jusqu'au septième jour, puis une accélération marquée jusqu'au dixième jour où la DO atteint approximativement 1.1. Cette progression indique une adaptation graduelle suivie d'une stimulation métabolique plus efficace à la fin de la culture, signalant que les conditions deviennent propices à la reproduction cellulaire.

Calcul du Taux de Croissance Maximal (Umax) pour *Chlorella :*

- **Formule utilisée :** $\boldsymbol{Umax = \frac{\ln(B) - \ln(A)}{J(B) - J(A) \times ln2}}$

$$Umax = \frac{\ln(1.09) - \ln(0.801)}{3 \times 0.693}$$

$$Umax\ chl = 0.1481\ jour^{-1}$$

Sur une période de 10 jours, la croissance de *Chlorella* est globalement lente, avec un taux de croissance maximal (μmax) évalué à 0,148 jour^{-1}, illustrant une vitesse limitée de division cellulaire. Cela implique une phase exponentielle lente, avec un temps de doublement de près de 5 jours

- **Chez *planktothrix* :**

  Tableau IV.2: Evolution de la densité optique de la culture *Planktothrix*

Le temps (jours)	DO
Jour 1	0.53
Jour 2	0.98
Jour 3	0.995
Jour 4	1.01
Jour 5	1.26
Jour 6	1.92
Jour 7	2
Jour 8	2.2
Jour 9	2.6
Jour 10	3

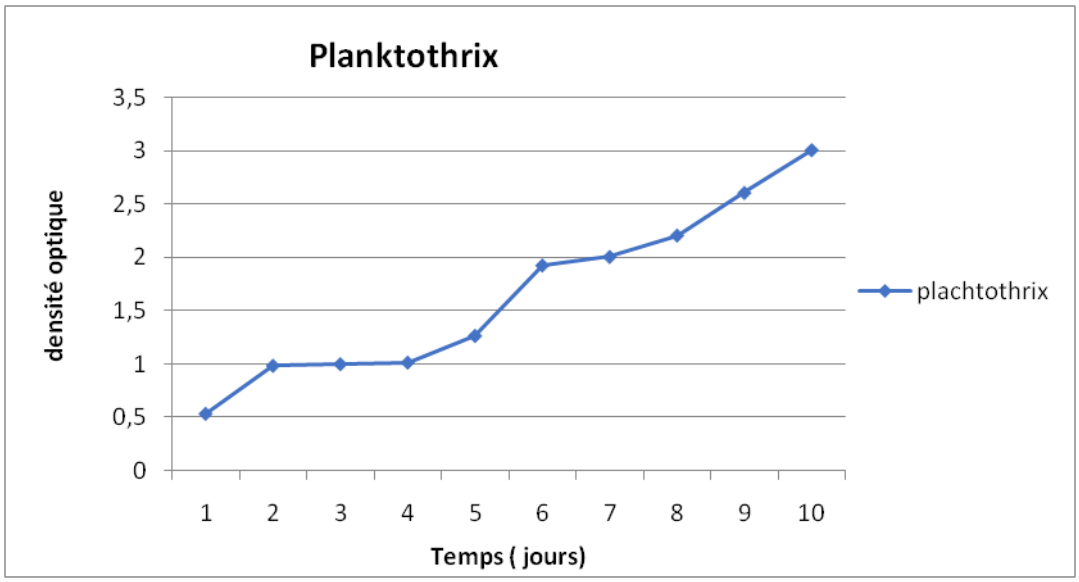


Figure IV.4: Courbe des valeurs de la densité optique en fonction de temps de la culture

Le tableau **IV.2** et la figure **IV.4** montre une évolution en trois temps de la croissance de **Planktothrix** sur une période de 10 jours. Une phase d'adaptation rapide est observée dès le premier jour, suivie d'un léger ralentissement entre les Jours 2 et 4, indiquant une période de transition. À partir du Jour 5, la microalgue entre dans une phase de croissance exponentielle marquée, avec une hausse continue de la densité optique jusqu'à un pic de 3,0 au Jour 10. Cette progression témoigne d'une croissance active et d'une bonne acclimatation aux conditions expérimentales.

Calcul du Taux de Croissance Maximal (Umax) pour *Planktothrix :*

- **Formule utilisée :** $\boldsymbol{Umax = \frac{\ln(B) - \ln(A)}{J(B) - J(A) \times ln2}}$

$$Umax = \frac{\ln(3) - \ln(2)}{3 \times 0.693}$$

$$Umax\ plnct = 0.1949\ jour^{-1}$$

Un µmax de 0,1949 jour⁻¹ pour *Planktothrix* indique une bonne capacité de croissance en conditions optimales**,** avec un temps de doublement de ~3,5 jour

VI.3. L'effet de la température et la lumière :

VI.3.1 Chez la Chlorelle

VI.3.1.1 Les lipides

Les résultats obtenus sur le taux des lipides chez Chlorelle sous l'effet de l'intensité lumineuse et la température sont présente dans la figure **IV.5**, les résultats montrent une accumulation maximale des lipides à 22°C et 5000lux**.**

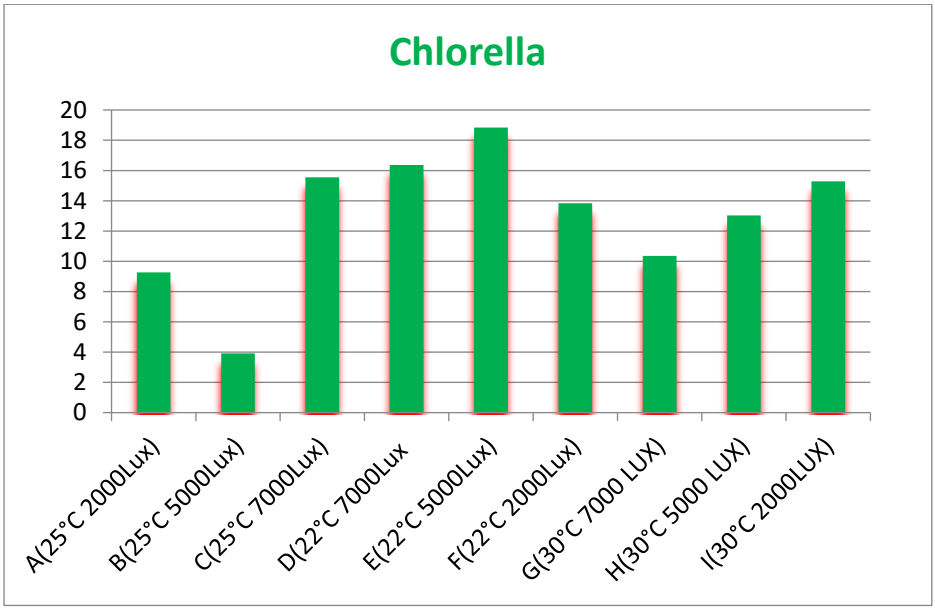


Figure IV.5 Taux de lipide chez *chlorella*

L'analyse des données révèle une relation dynamique complexe entre les conditions environnementales et l'accumulation des lipides chez la microalgue *Chlorella*. L'interaction entre différentes températures (22°C, 25°C, 30°C) et divers niveaux d'éclairement (2000, 5000, 7000 Lux) influence fondamentalement sur le métabolisme et la production lipidique. Les principaux résultats montrent que les conditions optimales d'accumulation lipidique se situent à 22°C avec un éclairement (5000 Lux), où l'échantillon a présente le taux de production maximal de 18.5%. Ceci suggère que ces conditions équilibrent photosynthèse et synthèse lipidique. À cette même température mais avec un éclairement plus intense, on observe une diminution progressive de la production lipidique (13.7% à 2000 Lux), probablement due à une réorientation de l'énergie vers la croissance plutôt que le stockage lipidique. L'étude de l'effet de l'intensité lumineuse sur la synthèse des lipides à température constante (25°C) a révélé des variations significatives. La teneur en lipides complexes a

atteint 9,5% à une intensité lumineuse de 2000 lux, puis a diminué à 3,7% lorsque l'intensité a été augmentée à 5000 lux. En revanche, la teneur la plus élevée (15,7%) a été enregistrée à 7000 lux. Ces résultats mettent en évidence une relation non linéaire et complexe entre l'intensité lumineuse et l'efficacité des voies métaboliques responsables de la production de lipides à cette température, démontrant ainsi la sensibilité du système biologique aux variations de l'intensité lumineuse.

Les résultats mettent en évidence une sensibilité marquée de Chlorella aux variations de température ou d'éclairement, induisant des changements métaboliques significatifs. Ces observations soulignent l'importance d'un équilibre précis entre ces facteurs pour maximiser la production lipidique, avec des implications majeures pour les applications industrielles de culture microalgale destinée à la production de biocarburants et autres produits à valeur ajoutée. L'accumulation lipidique maximale chez Chlorella a été observée à 25°C sous une intensité lumineuse élevée de 7000 lux, atteignant environ 18,6 % de la biomasse sèche. Cette réponse positive à une lumière intense mais à une température modérée suggère une bonne tolérance de Chlorella aux niveaux lumineux élevés dans certaines limites thermiques. À l'inverse, un éclairement plus faible (2000 lux) ou une température élevée (30°C) a entraîné une diminution significative de la teneur en lipides, indiquant que des conditions trop limitantes ou stressantes peuvent inhiber la biosynthèse lipidique.

Ces résultats concordent partiellement avec ceux rapportés par **Kurpan Nogueira et al. (2014**), qui ont montré que l'augmentation de l'intensité lumineuse (50 à 300 µmol photons m^{-2} s^{-1}, équivalent à environ 2700–16000 lux) stimule l'accumulation de triacylglycérols (TAG), notamment chez Isochrysis galbana (jusqu'à 31,7 %). Cependant, Chlorella semble plus sensible aux températures élevées qu'I. Isochrysis galbana, qui y répond favorablement. Cela suggère que Chlorella nécessite un équilibre délicat entre lumière et température pour optimiser sa productivité lipidique

VI.3.1.2 Les glucides :

Le graphique (Figure **IV.6)** illustre l'effet de l'interaction entre la température et l'intensité lumineuse sur le pourcentage de glucides chez la microalgue *Chlorella*. Trois températures (22°C, 25°C, 30°C) et trois niveaux d'éclairement (2000, 5000, 7000 Lux) ont été testés.

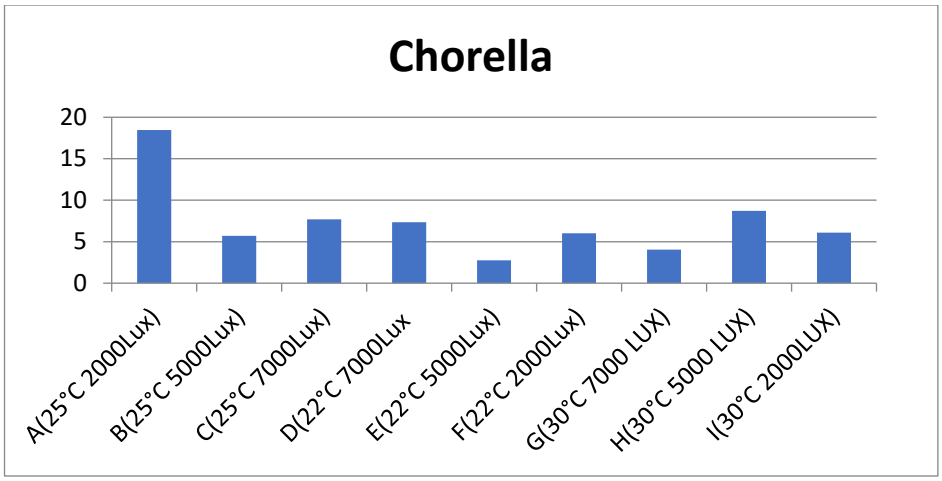


Figure IV.6. Les teneur en glucide chez *chlorella*

Dans notre expérience, *Chlorella* a montré une réponse significative aux variations de température et d'intensité lumineuse. La concentration maximale en glucides a été enregistrée à 25°C sous une lumière modérée (2000 Lux), atteignant environ 18%. En revanche, une augmentation de la température à 30°C ou de l'intensité lumineuse à 7000 Lux a entraîné une diminution notable de la teneur en glucides, qui est tombée en dessous de 8% dans la plupart des milieux. Ces résultats suggèrent que des conditions modérées de température et de lumière favorisent la biosynthèse des glucides chez *Chlorella* dans notre configuration expérimentale. Cette sensibilité pourrait être liée à la phase stationnaire de croissance ou à un stress environnemental dû à des conditions extrêmes.

L'accumulation ou la réduction des glucides chez les plantes dépend de l'équilibre entre la photosynthèse (production) et la respiration (consommation), influencé par la température et l'intensité lumineuse. **À 25°C et 2000 lux** : Conditions favorables à la photosynthèse. La température est proche de l'optimum, et la lumière, bien que modérée, suffit pour permettre une accumulation de glucides, car leur production dépasse leur utilisation.

À 30°C et 7000 lux : Température élevée et lumière intense provoquent un stress chez la souche de *Chlorella*. La respiration augmente, la photosynthèse peut être inhibée, et la photo - respiration devient plus importante. Cela entraîne une consommation des glucides supérieure à leur production, donc une réduction de leur stock**. (A recent update, 2025**)

En comparaison, l'étude de référence sur *Chlorellasorokiniana* menée par **Belkoura, Pierre et Dubacq (1997)** a montré que la teneur en glucides augmentait considérablement sous des températures élevées (30–35°C) et une lumière intense (140 $\mu E.m^{-2}.s^{-1}$ ≈ 7000 Lux), atteignant 31% de la matière sèche. L'étude a conclu que la combinaison de haute température

et de forte intensité lumineuse stimule fortement l'accumulation de glucides par activation du métabolisme photosynthétique. Le contraste avec nos résultats peut s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment la phase physiologique des cellules (phase stationnaire dans notre cas contre phase exponentielle dans l'étude) ou la composition du milieu de culture. Ainsi, *Chlorella* montre une flexibilité environnementale, mais une productivité maximale en glucides dépend de l'équilibre entre les facteurs de culture et le moment de récolte **(Belkoura et al, 1997).**

VI.3.1.3. les pigments :

Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent température et intensité lumineuse sont présentés dans la **Figure IV.7**

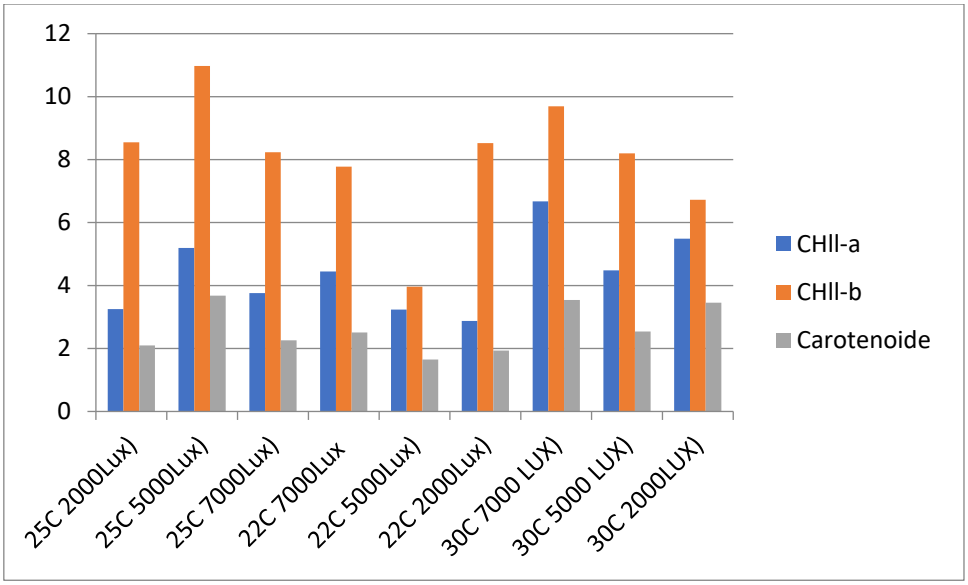


Figure IV.7 Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent température et intensité lumineuse

L'étude a permis d'évaluer l'effet combiné de la lumière blanche (2000, 5000 et 7000 lux) et de la température (22°C, 25°C et 30°C) sur la teneur en pigments photosynthétiques chez *Chlorella*. Les résultats montrent que les valeurs maximales des pigments (chlorophylle a, chlorophylle b et caroténoïdes) sont obtenues sous les conditions de 5000 lux à 25°C, ainsi que 7000 lux à 30°C. Ces conditions élevées d'intensité lumineuse et de température semblent favoriser l'activité photosynthétique et la biosynthèse des pigments (**Choi et al, 2012**), traduisant une adaptation positive de *Chlorella* à un environnement lumineux intense.

En effet, l'exposition à 5000 lux et 25°C a généré les plus fortes teneurs en chlorophylle b, ainsi qu'un bon niveau de chlorophylle a et de caroténoïdes, indiquant un bon équilibre entre

la capture de lumière et la protection contre les stress environnementaux (**Converti et al., 2009)**. D'autre part, une forte intensité lumineuse (7000 lux) combinée à une température de 30°C a également montré une bonne capacité de production pigmentaire, suggérant une tolérance thermique relativement élevée.

Cependant, lorsque la température diminue à 22°C, une baisse significative des pigments est observée, atteignant environ 60 % pour la chlorophylle a, 50 % pour la chlorophylle b, et 50 % pour les caroténoïdes. Cette réduction est accentuée en condition de photolimitation (2000 lux), où la faible intensité lumineuse couplée à une basse température induit une chute notable de l'activité photosynthétique. Ces observations reflètent une interaction négative entre température et lumière, ce qui peut être interprété comme un mécanisme de régulation ou de protection contre un stress environnemental **(Ras et al, 2013**).

En résumé, les conditions modérées (25°C, 5000 lux) sont les plus favorables pour la synthèse de pigments chez *Chlorella*, tandis que des conditions extrêmes (faible lumière ou basse température) limitent fortement la production pigmentaire. Ces résultats mettent en évidence l'importance d'une optimisation des facteurs abiotiques pour améliorer la croissance et la productivité des microalgues dans des systèmes de culture contrôlés.

VI.3.2. Chez les planktotrix

VI.3.2.1 Les lipides :

Les taux des lipides obtenus dans différent température et intensité lumineuse sont présentés dans la figure **IV.8** ci-dessous :

Les résultats d'expériences ont montré que la température influence fortement l'accumulation lipidique chez les algues filamenteuses.

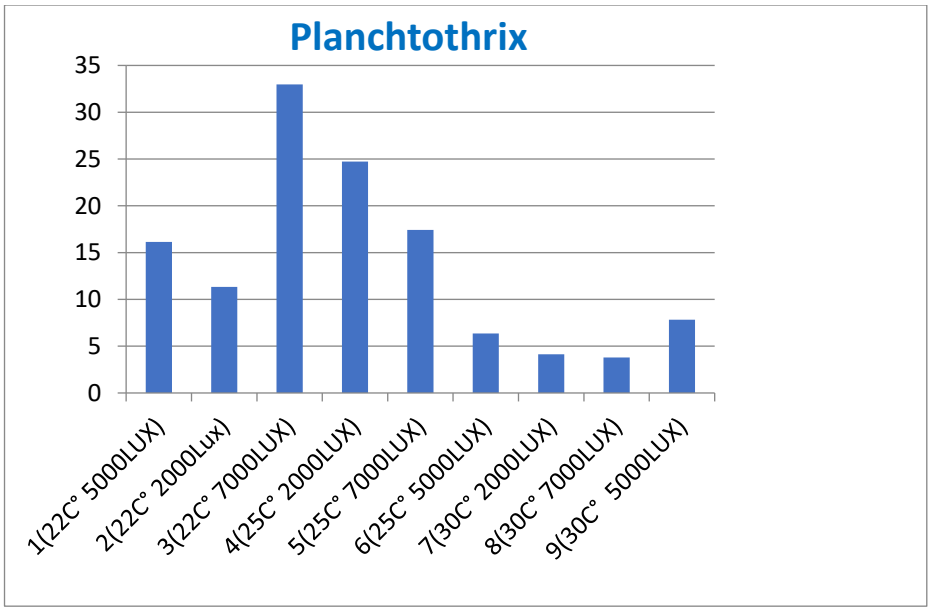


Figure IV.8 : Taux de lipide chez planchtothrix

On observe une augmentation du taux de production lipidique à 22°C avec une intensité lumineuse de 7000 lux, atteignant environ 33%. Cependant, ce taux diminue à 5000 lux et 2000 lux avec respectivement 16% et 11%.

On note également une augmentation moyenne, ou plus précisément significative, à 25°C et 2000 lux où la productivité lipidique atteint 24.6%, suivie par la même température à 7000 lux avec 16%, et seulement 6% à 5000 lux. Enfin, à 30°C, on constate une baisse des pourcentages dans toutes les conditions, avec des valeurs oscillant seulement entre 4 et 8%.La teneur lipidique la plus élevée a été enregistrée chez la cyanobactérie *Planktothrix* à 22°C avec une intensité lumineuse modérée de 7000 lux, atteignant environ 33%. Ce résultat met en évidence la capacité de *Planktothrix* à accumuler efficacement des lipides dans des conditions de stress modéré, faisant de cette combinaison température/lumière une condition idéale pour l'induction lipidique. À l'inverse, comme pour *Chlorella,* une faible intensité lumineuse (2000 lux) ou une température élevée (30°C) ont entraîné une diminution notable de la teneur en lipides. Ce qui suggère qu'un stress environnemental trop intense agit comme inhibiteur du métabolisme lipidique chez cette espèce de microalgue.

Les observations obtenues concordent avec les données de **Kurpan Nogueira et al. (2014),** qui ont montré une stimulation de la synthèse lipidique sous une lumière croissante, notamment chez *Phaeodactylum tricornutum*, bien que cette dernière ait montré une sensibilité accrue à la température élevée. Nos résultats confirment ainsi que *Planktothrix*, tout comme certaines espèces de microalgues étudiées précédemment, requièrent des

conditions de culture bien ajustées pour maximiser l'accumulation lipidique sans induire un stress métabolique excessif.

La production maximale de lipides chez la souche *planchtotrix* est observée à 25°C et 7000 Lux, des conditions idéales qui favorisent la photosynthèse et l'efficacité enzymatique, surtout en présence d'un stress nutritif en azote. Cette intensité lumineuse élevée permet une fixation importante du carbone, redirigé vers la lipogenèse. En revanche, à 30°C et 2000 Lux, la production lipidique diminue nettement. La faible intensité lumineuse limite la photosynthèse, réduisant les précurseurs carbonés nécessaires. La température plus élevée accroît la respiration cellulaire, consommant davantage d'énergie. Ce déséquilibre entre apport et consommation énergétique freine la biosynthèse lipidique. Ainsi, l'accumulation de lipides dépend d'un compromis optimal entre lumière, température et stress nutritif**. (Kurpan Nogueira et al. (2014),**

VI.3.2.2 Les glucides :

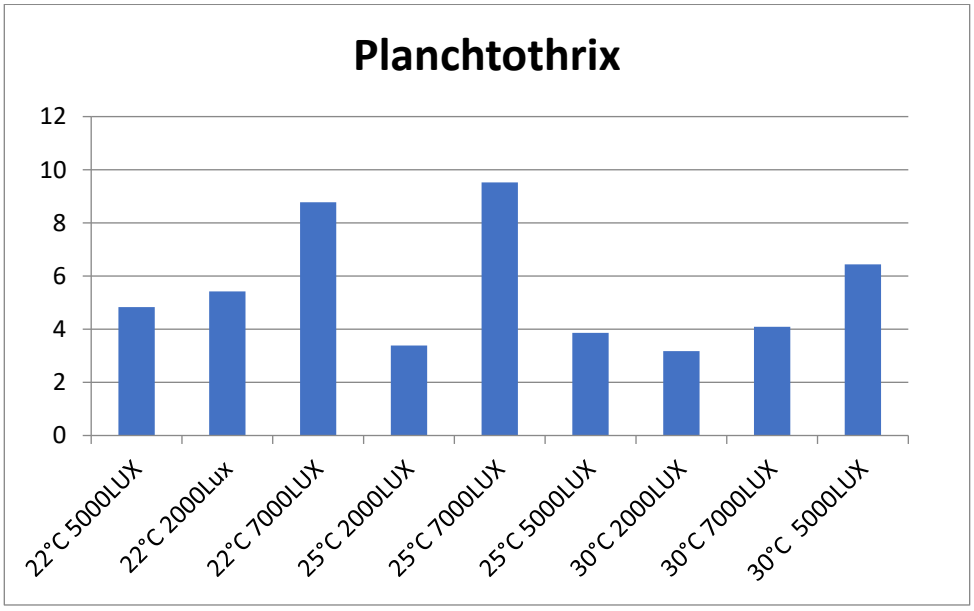


Figure IV.9. Taux de Glucides chez planchtothrix en%

À 22 °C : Les résultats ont révélé une variation nette des taux de glucides. La valeur la plus basse (4,5%) a été enregistrée sous un éclairage intense de 5000 lux, tandis qu'une augmentation à 5,5% a été observée lorsque l'éclairement était réduit à 2000 lux. La valeur maximale (8,7%) a été atteinte sous une intensité lumineuse plus élevée (7000 lux) combinée à une température optimale de 22°C.

À 25 °C : L'expérience atteint son maximum à la température précise de 25°C sous une intensité lumineuse de 7000 lux, atteignant environ 9,5%.

4% à 5000 lux et 2,7% à 2000 lux.

À 30 °C : On observe à une température de 30°C des taux variables de glucides atteignant 2.8% à 2000 lux, 4% à 7000 lux et environ 6.2% à 5000 lux.

Dans le cas de la cyanobactérie *Planktothrix*, il a été démontré que la température optimale se situe entre 22-25°C sous un éclairage de 7000 lux, avec une production maximale de glucides atteignant 9,5%. En comparaison, sous la même intensité lumineuse (7000 lux) mais à des températures en dehors de cette plage (30°C ou <22°C), le taux chutait considérablement à seulement 4%

Bien que l'étude de **Belkoura et al. (1997)** ne traite pas directement de *Planktothrix*, la comparaison avec les résultats de *Chlorella* dans la même étude révèle des différences physiologiques marquées. Alors que *Chlorella* tire profit de températures élevées et d'une lumière intense, *Planktothrix* montre une meilleure productivité dans des conditions plus modérées. Cette divergence peut être attribuée à des différences structurelles et métabolismes entre les algues vertes et les cyanobactéries. Ainsi, l'optimisation de la production des glucides nécessite une adaptation spécifique des paramètres de culture à chaque type d'organisme.

Production maximale à 25°C et 5000 Lux, Température optimale (25°C) : favorise les réactions enzymatiques impliquées dans la photosynthèse et la lipogenèse. Lumière élevée (5000 Lux) : stimule fortement la photosynthèse, fournissant beaucoup d'énergie et de carbone. Stress nutritif : redirige le métabolisme vers la synthèse de lipides plutôt que la croissance, cela conduit à conditions idéales pour une forte accumulation de lipides.

Production réduite à 30°C et 2000 Lux, température élevée (30°C) augmente la respiration, ce qui consomme les réserves énergétiques. Lumière faible (2000 Lux**)** limite la photosynthèse, donc moins de carbone est disponible. Donc effet combiné : moins de production et plus de consommation de carbone conduit à une production moins de lipides.

VI.3.2.3 Les pigments :

Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent température et intensité lumineuse sont présentés dans la figure ***IV.9***

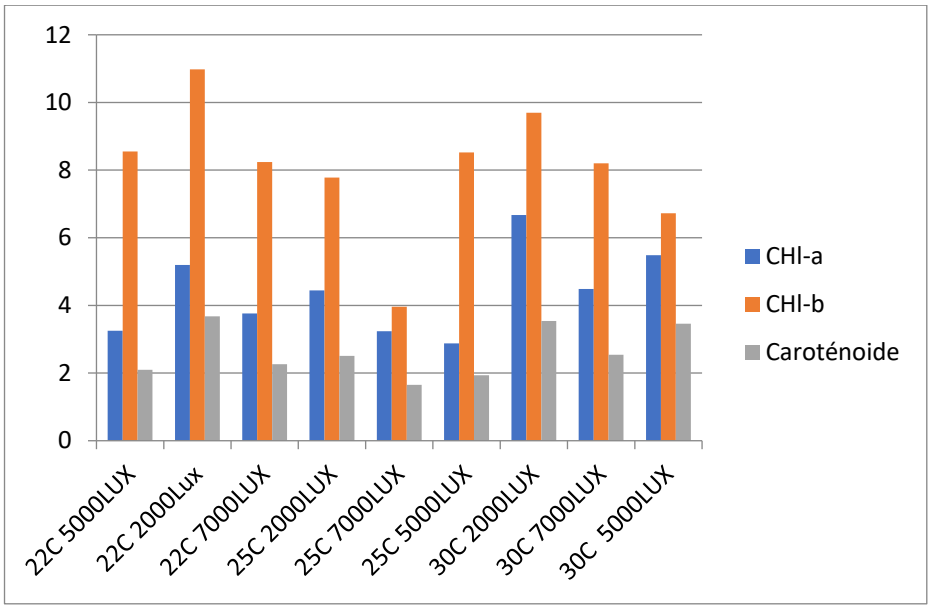


Figure IV.10 . Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent température et intensité lumineuse

Les résultats obtenus mettent en évidence l'influence cruciale des facteurs abiotiques, notamment la température et l'intensité lumineuse, sur la production des pigments photosynthétiques chez *Planktothrix*. L'augmentation de la concentration de la chlorophylle a à 30°C et 2000 lux suggèrent une optimisation de l'activité photosynthétique sous des conditions thermiques et lumineuses faible, ce qui rejoint les observations de **(Pereira et al, 2016),** qui ont démontré que de telles conditions stimulent la biosynthèse des pigments primaires chez plusieurs microalgues.

La réponse différenciée de la chlorophylle b, avec une concentration maximale à 25°C et 5000 lux, souligne une adaptation spécifique à des conditions moins stressantes. Ce comportement confirme que les pigments accessoires jouent un rôle stratégique dans l'élargissement du spectre de capture lumineuse à des intensités modérées **(Taroncher-Oldenburg et al, 2000)**, agissant comme régulateurs pour optimiser l'efficacité photosynthétique sans induire de surcharge énergétique.

Quant aux caroténoïdes, leur augmentation à 30°C et 2000 lux indique clairement leur fonction de protection contre le stress oxydatif provoqué par des conditions environnementales extrêmes (**Chokshi et al, 2017**). Ces pigments secondaires contribuent

non seulement à la photoprotection, mais également à l'adaptation des cellules algales à la lumière excessive.L' augmentation globale des teneurs en pigments observée à 22°C, en particulier sous une faible intensité lumineuse, suggère une stimulation physiologique et métabolique due à des conditions optimales. Cela concorde avec les résultats de (**Vonshak, 1997**), qui ont montré que des températures 25°C inférieures à l'optimum ralentissent l'activité métabolique chez les cyanobactéries. Ainsi, la synergie entre température élevée (30°C) et intensité lumineuse modérée à faible (5000– 2000Lux) se révèle favorable à l'accumulation des pigments et à l'activation des mécanismes adaptatifs chez Planktothrix. Ces observations témoignent de la capacité remarquable de cette cyanobactérie à ajuster son métabolisme pigmentaire en fonction des variations de son environnement (**Becker, 1994**).

VI.4. Effet de source de carbone sur la production des lipides :

VI.4.1 Chez *chlorella* :

Les taux des lipides obtenus dans différent sources de carbone sont présentés dans la figure ci-dessous :

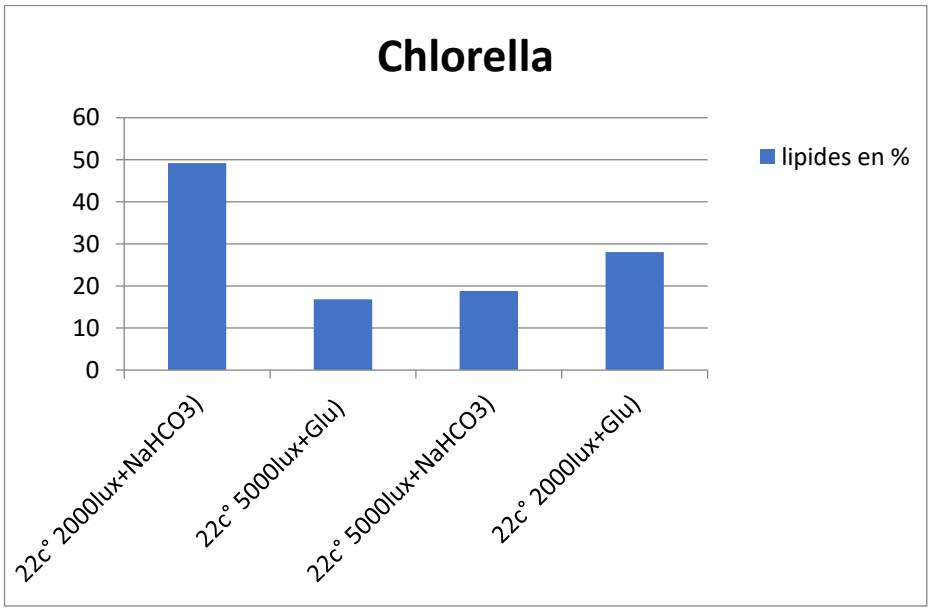


Figure IV.11. Les taux des lipides obtenus dans différent sources de carbone

Selon les résultats obtenus, la condition combinant 22 °C, 2000 lux et l'ajout de $NaHCO_3$ favorise fortement l'accumulation de lipides chez *Chlorella*, atteignant un taux maximal de 49 %. En revanche, la combinaison 22 °C, 5000 lux et ajout de glucose conduit à la plus faible production lipidique, avec environ 17 %. Ces observations suggèrent que des conditions de faible intensité lumineuse associées à la présence de $NaHCO_3$ stimulent davantage la synthèse lipidique chez *Chlorella* que l'augmentation de la lumière combinée au glucose.L'éclairage

modéré (2000 lux) stimule plus la synthèse lipidique par rapport à l'éclairage extrêmement fort (5000 lux).

À une intensité lumineuse de 5000 lux, l'accumulation de lipides peut être freinée par le stress lumineux. Le bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$) semble plus performant que le glucose pour activer la biosynthèse des lipides, particulièrement à une luminosité de 2000 lux.

Bien que le glucose soit utilisé comme source organique de carbone, son ajout entraîne une moindre accumulation de lipides chez *Chlorella*. Cela suggère que cette microalgue produit davantage de lipides lorsqu'elle est soumise à une photolimitation modérée. En présence de glucose, la teneur en lipides diminue, oscillant entre 18 % et 28 %) 5000lux et 2000 lux respectivement. Ce phénomène pourrait indiquer que les conditions de croissance mixotrophe favorisent davantage la prolifération cellulaire que le stockage lipidique **(Kong, W et al.2020).**

Dans des conditions de faible luminosité, que ce soit en utilisant du Glucose ou du $NaHCO_3$, la production de lipides demeure modeste (~18-19%), indiquant que la lumière joue un rôle essentiel dans l'initiation de la biosynthèse lipidique.

En peut interpréter ces résultats par le fau que en solution, le $NaHCO_3$ augmente le pH du milieu (généralement à 9 ou plus), générant ainsi un stress au niveau de la cellule, surtout en condition e stress azoté, elle doit déployer de l'énergie pour conserver son équilibre intérieur. En réaction, la cellule freine sa croissance et oriente plutôt son métabolisme vers les voies de stockage, principalement par la production de lipides. Cela stimule des enzymes cruciales pour l'accumulation lipidique. (**White et al.2013**).

Ces conclusions suggèrent que le bicarbonate joue non seulement le rôle de substrat pour la croissance, mais également comme stimulateur de la biosynthèse des lipides, potentiellement en orientant le métabolisme du carbone vers les voies de production des graisses. L'augmentation de l'accumulation de lipides en présence de $NaHCO_3$ est particulièrement notable en situation de carence azotée, un contexte qui est reconnu pour favoriser la conversion préférentielle du flux de carbone vers les lipides au détriment des protéines (**Kumari K et al.2019) (Abedini et al.2014**)

Sous stress (comme un pH élevé provoqué par le $NaHCO_3$), la multiplication cellulaire diminue Normalement, l'énergie utilisée pour la division cellulaire est redirigée vers la biosynthèse de composés de réserve, principalement : Triglycérides (TAGs), Acides gras non

polaires. Cela augmente le contenu en lipides par cellule. Comme l'a démontré **White et al.2013).**

Le taux de lipides aux conditions (22 C°, 2000lux et Glu) qui est proche de 30% est une valeur acceptable et montre que *Chlorella* est particulièrement peut adaptée la culture mixotrophe avec un apport en glucose (source organique) Le glucose favorise la croissance, tandis qu'une lumière modérée permet une biosynthèse partielle des lipides. Cette condition représente un équilibre entre une expansion rapide et la capacité de stockage d'énergie **(Yeh et.2012)**

VI.4.2. Chez planktothrix :

Les taux des lipides obtenus dans différent sources de carbone sont présentés dans la figure ci-dessous :

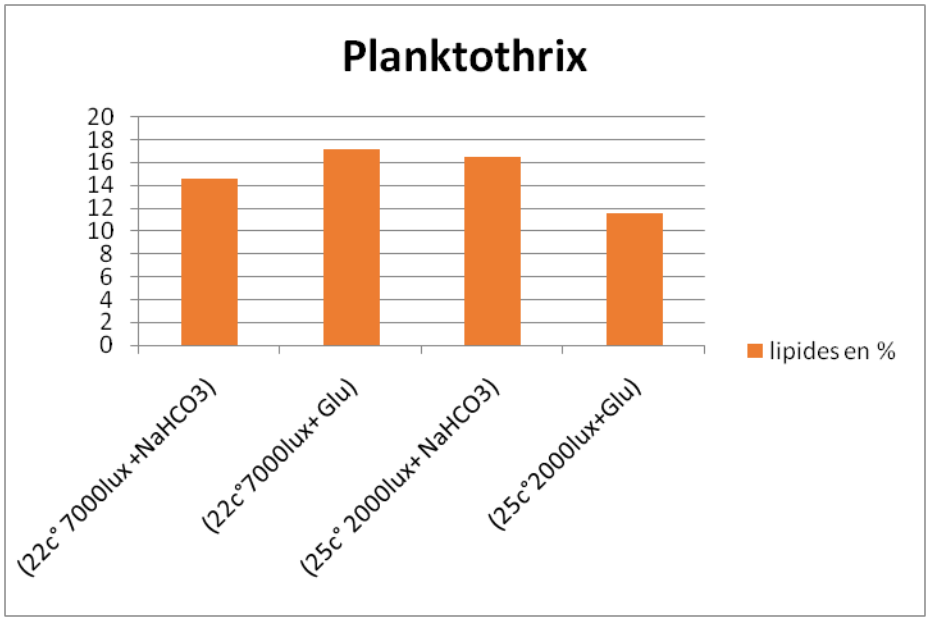


Figure IV.12. Les taux des lipides obtenus dans différent sources de carbone chez planktothrix

La condition (22°C, 7000 lux + Glucose). Stimule la synthèse lipidique la plus importante (~17.5 %), Cela indique que la présence de glucose à une luminosité intense favorise la biosynthèse des lipides, probablement en offrant une source additionnelle de carbone.

Alors que la condition 25°C & 2000 lux+ $NaHCO_3$) provoque la production la plus modeste (~15-16.5%). Cela indique que l'augmentation de la luminosité et l'intégration de $NaHCO_3$ stimulent l'accumulation des lipides chez *planktothrix*.

Dans la condition (25°C, 2000 lux, glucose). Il semblerait que la combinaison de lumière modéré

Le Glucose semble mieux supporté que le $NaHCO_3$ sous lumière intense, ce qui suggère une préférence mixotrophie. En peut dire que Dans le cas de *Planktothrix*, l'apport de glucose en mixotrophie (22 °C, 7000 lux) stimule une synthèse lipidique optimale (~17,5 %), mettant en évidence que le carbone organique et la lumière intense encouragent les voies synthétiques de lipides, probablement par une augmentation du flux d'acétyl-CoA et de NADPH indispensable à la biosynthèse des acides gras. (**Krzemińska I et al. 2016).** Notamment, des recherches sur les microalgues comme *l'Auxenochlorella protothecoides* et la *Parachlorella kessleri* démontrent que l'incorporation de glucose accroît de manière significative le taux de lipides et privilégie la présence d'acides gras saturés ou mono-insaturés, préférables pour la production de biodiesel**. (Gao, Y et al. 2023)**

Sous des conditions autotrophes précises (25°C, 2000 lux, $NaHCO_3$), on constate une accumulation en lipides notable (~15-16,5 %), démontrant ainsi l'habileté exceptionnelle de *Planktothrix* à utiliser efficacement le $NaHCO_3$ en présence d'une lumière faible. Cette réponse évoque l'impact de la photolimitation sur la conversion du carbone en lipides, observé notamment chez *Chlorella sp* et d'autres microalgues, où une intensification d'éclairage favorise la production de TAG (triacylglycérols).

D'autre part, l'association d'une faible luminosité et du glucose entraîne une réduction de la synthèse lipidique, laissant supposer un impact négatif potentiel ce la peut explique par **:** Une faible production de lipides en condition de faible lumière 2000 lux, même avec une source de carbone organique, s'explique par un manque d'énergie disponible. Chez les microalgues, la lumière est essentielle à la photosynthèse, qui produit l'ATP et le NADPH nécessaires à la synthèse des lipides. Lorsque la lumière est insuffisante, la production de cette énergie diminue, ce qui freine la lipogenèse. Même si du carbone organique est présent (en mode mixotrophe ou hétérotrophe), sa transformation en lipides reste dépendante de l'énergie. En situation de stress lumineux, l'organisme priorise les fonctions vitales plutôt que l'accumulation de lipides. De plus, la faible lumière peut désactiver l'expression des gènes et enzymes liés à la lipogenèse. Ainsi, malgré la disponibilité en carbone, la carence énergétique due à la faible lumière freine la production lipidique. **(Chen, T et al.2015) (Wu et al.2015).**

VI.5. Effet de source de carbone sur la teneur en glucides :

VI.5.1 Chez chlorella :

Les taux des glucides obtenus dans différent sources de carbone sont présentés dans la figure ci-dessous :

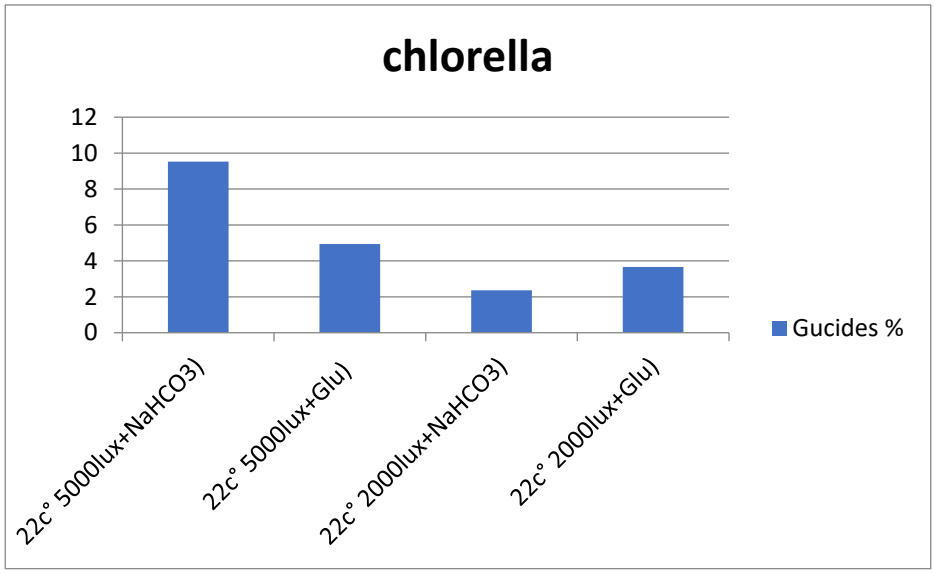


Figure IV.13. Les taux des glucides obtenus dans différent sources de carbone chez chlorella

Production maximale approximative (~9,5) Acquise dans des conditions de photoautotrophie ($NaHCO_3$ + 5000 lux). Cela signifie que *Chlorella* stimule la biosynthèse des sucres lorsqu'elle est exposée à une lumière modérée et en présence d'une source de carbone inorganique. Dans des conditions de $NaHCO_3$ et 2000 lux, la production baisse à environ (~2,5). Cela indique une probable inhibition de la synthèse des glucides due à une faible luminosité 2000 lux, possiblement induite par une limite d'énergie lumineuse ou une redirection du métabolisme vers d'autres voies (comme la production de pigments)

Il est évident que la production de sucres chez *Chlorella* est stimulée par une intensité lumineuse modérée (5000) et une source de carbone inorganique ($NaHCO_3$).L'intensité lumineuse élevée constitue un facteur limitant, malgré la présence de glucose.

Cela indique que la voie photoautotrophe ($NaHCO_3$) est privilégiée par le métabolisme de *Chlorella* pour la production des sucres, tandis que l'importance du glucose est secondaire ou adaptative en fonction des conditions d'éclairage. Cependant, en présence d'une lumière intense 2000 lux la production diminuent.

D'après ces résultats en peut conclure que Pour la *Chlorella*, la teneur en glucides est significativement influencée par l'intensité de la lumière et l'existence de $NaHCO_3$. Sous des

conditions modérées de photo-autotrophie ($NaHCO_3$ + environ 5000–12 000 lux), la production de glucides culmine grâce à une absorption idéale du CO_2 inorganique stimulée par la Rubisco et un bon équilibre énergétique. (**Gao P et al.2021)**

En condition de lumière intense avec du bicarbonate ($NaHCO_3$)

Une lumière élevée stimule fortement la photosynthèse, générant des quantités importantes d'ATP et de NADPH. Le bicarbonate (HCO_3^-), une source de carbone inorganique, est converti en CO_2 via l'action de la carbonic anhydrase, puis assimilé par le cycle de Calvin pour la synthèse des glucides. Lorsque la production de sucres dépasse les besoins énergétiques immédiats de la cellule, ces glucides sont stockés sous forme de macromolécules de réserve, telles que l'amidon (chez les chlorophycées comme *Chlorella*) ou le glycogène**.**

En condition de lumière faible avec une source de carbone organique (glucose) : Une faible intensité lumineuse limite la photosynthèse, réduisant ainsi la production d'ATP et de NADPH. Pour compenser ce déficit énergétique, les microalgues adoptent un métabolisme de type hétérotrophe, utilisant directement le carbone organique disponible (comme le glucose) pour leur métabolisme via la respiration cellulaire. Ce carbone organique est principalement mobilisé pour couvrir les besoins immédiats en énergie et en biosynthèse, sans formation notable de réserves glucidiques par photosynthèse. (**Peltier, G et al.2017**) **(Ruiz-Sola et al.2023)(Arend, M et al.2023**).

Cette recherche est validée par des études démontrant que, sous une lumière intense, la détérioration de la chlorophylle coïncide avec une diminution des glucides et des protéines, au bénéfice d'une élévation notable des lipides neutres. L'étude cinétique de la mixotrophie montre aussi que l'intensité lumineuse idéale se trouve entre 8000 et 12000 lux pour optimiser la production de glucides grâce au $NaHCO_3$, en stimulant davantage la Rubisco et en facilitant une absorption performante du CO_2(**Gao P et al.2021)**.

Sous une lumière intense, même en présence de glucose, le métabolisme s'oriente vers la voie hétérotrophe ou lipidique, diminuant ainsi la production de réserve en glucides. Ces résultats valident que la méthode photoautotrophe utilisant $NaHCO_3$ est favorisée pour la synthèse de glucides chez Chlorella

VI.5.2 Chez planktothrix :

Les taux des glucides obtenus dans différent sources de carbone sont présentés dans la figure ***IV.13*** ci-dessous :

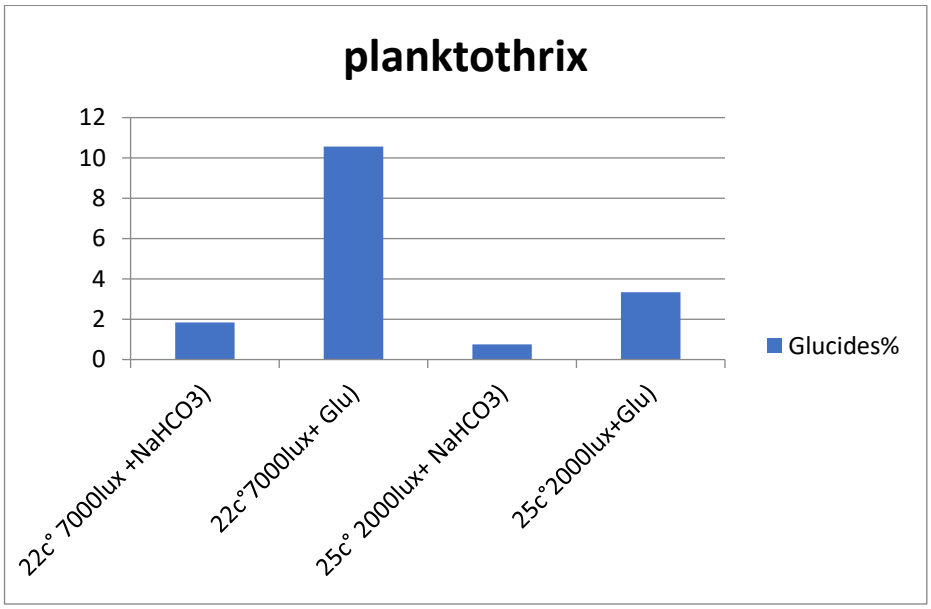


Figure IV.14. Les taux des glucides obtenus dans différent sources de carbone chez planktothrix

La Production de sucres est maximale approximative (~10,5) sous les conditions de (22C° 7000lux) en utilisant le glucose comme source de carbone. Toutefois, à 25 °C et 2000 lux avec $NaHCO_3$, la production est très faible (approximativement 0,5).

Une luminosité réduite (2000 lux) diminue significativement l'activité ou la croissance, même sous une température légèrement supérieure (25°C).La synthèse des sucres est fortement influencée par la provenance du carbone. Le glucose, en tant que source organique, stimule une augmentation de la production, surtout lorsqu'il est combiné à une température modérée et une luminosité intense. Par contre, le $NaHCO_3$, qui est une source inorganique, se montre moins performant dans ces circonstances.

Chez Planktothrix, la synthèse des glucides est fortement influencée par la provenance du carbone. Le glucose, en tant que source organique, stimule une augmentation de la production, surtout lorsqu'il est combiné à une température modérée et une luminosité intense. Par contre, le $NaHCO_3$, qui est une source inorganique, se montre moins performant dans ces circonstances.

Interprétation des résultats : Dans des conditions modérées (≈22 °C, 7000 lux), l'apport de glucose stimule fortement la production de sucres chez *Planktothrix* (~10,5), illustrant une

croissance mixotrophe optimale. Ce résultat confirme que certaines microalgues mixtrophes surpassent le mode autotrophe en combinant lumière modérée et carbone organique (**Schwarzenberger et al. 2020).** En revanche, sous faible lumière (2000 lux) avec du $NaHCO_3$, la production chute (~0,5), montrant l'inefficacité de l'autotrophie en lumière réduite. La disponibilité énergétique y limite la photosynthèse, entravant l'activité enzymatique (comme celle de la rubisco) et le cycle de Calvin. Ainsi, l'origine du carbone influence fortement le métabolisme : le glucose favorise l'accumulation de glucides, surtout en lumière suffisante, tandis que le bicarbonate échoue en conditions faibles. Ce comportement témoigne de la plasticité métabolique de genre *Planktothrix* et de son potentiel d'adaptation**. (Selmeczy et al.2025)**

On compare les modes trophiques, tel que la p**hototrophie (autotrophie pure)** permet une **é**nergie : lumière ; Carbone : CO_2/HCO_3^-, une bonne accumulation en lumière optimale mais présente une limites : fixation coûteuse du CO_2, demande élevée en ATP/NADPH, biosynthèse complexe. Cependant en **mixotrophie** l'énergie est d'origine photonique et de respiration à partir de du carbone organique, et inorganique en $NaHCO_3$. Pour ma molécules organiques est moins de dépenses énergétiques pour fixer le carbone, le carbone organique est déjà sous forme utilisable.

De ce fait, il ya une synergie entre les deux sources de carbones, moins d'énergie pour fixer le carbone inorganique, production d'ATP plus rapide par respiration cellulaire du carbone organique, Plus d'énergie, ce qui conduit au surplus de glucide unitulisable destiné vers le stockage en réserves glucidiques**.** (**Muñoz-Marín et al.2024)**

VI.6 Effet de source de carbone sur les pigments photosynthétique :

VI. 6 .1 Chez chlorella :

Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent sources de carbone sont présentés dans la figure ***IV.14*** ci-dessous :

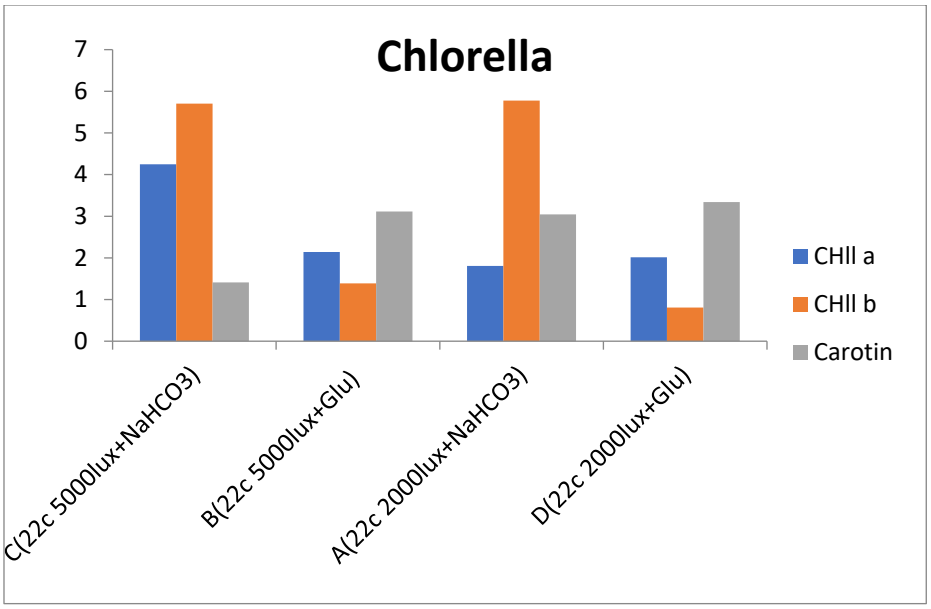


Figure IV.15 . Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent sources de carbone

Chlorophylle a : La condition C (lumière intense+ $NaHCO_3$) montre la concentration la plus importante, cela indique une photosynthèse efficace sous lumiere modéré en culture autotrophe. En faible lumière (Aet D), son activité diminue, réduisant la synthèse. L'ajout de glucose(B) diminue aussi l'expression des gènes photosynthétiques.

Chlorophylle b : Très élevée dans les conditions C et A, où l'utilisation de $NaHCO_3$ est prévue. Cela indique que le $NaHCO_3$ favorise spécifiquement la production de chlorophylle b. stimulant la croissance autotrophe. En effet, la production de Chl b semble être inhibée ou non favorisée par la croissance mixotrophe, comme en témoignent les conditions glucidiques (B et D) où elle est très faible.

Caroténoïdes : Leur concentration est plus constante entre les différentes conditions, bien qu'un peu plus élevée dans les cas à 2000 lux (A et D) pour optimiser la capture des photons.

Le $NaHCO_3$ semble stimuler la voie autotrophe traditionnelle, ce qui justifie les niveaux supérieurs de chlorophylles. Les conditions contenant du glucose (B et D) présentent une diminution des pigments, ce qui pourrait suggérer un passage à une croissance davantage hétérotrophe où la photosynthèse devient moins productive.

Interprétation des résultats :

La sensibilité de la *Chlorella* aux paramètres lumineux et à la source de carbone est mise en évidence par les variations des pigments photosynthétiques en fonction des conditions de culture. La condition A (lumière faible + $NaHCO_3$) démontre la plus haute concentration de

chlorophylle a, suggérant une production optimisée dans un contexte autotrophe modéré. De nombreuses recherches indiquent que la lumière modérée stimule la l'accumulation de pigments chlorophylliens tout en réduisant le stress provoqué par la photo-oxydation, ce qui soutient cette tendance (**Converti et al. 2009**) ; (**Cheirsilp & Torpee, 2012**). Chlorophylle b, généralement associée à la surface antennaire du PSII, est aussi fortement exprimée dans des conditions C et A. Cela suggère une intensification des structures collectrices de lumière, particulièrement en présence de $NaHCO_3$, un stimulateur de la photosynthèse chez les microalgues vertes (**Markou & Nerantzis.2013**).

Cependant, les conditions comportant du glucose (B et D) entraînent une réduction significative des niveaux de chlorophylle b, signalant un glissement progressif vers une hétérotrophie, diminuant donc l'engagement cellulaire dans les structures photosynthétiques (**Heredia-Arroyo et al. 2010**). Cette constatation est appuyée par les recherches de **Liang et al. (2009**), qui ont démontré que l'ajout de glucose entrave la biosynthèse des pigments chlorophylliens tout en favorisant la prolifération cellulaire, ce qui indique une transition vers une absorption organique du carbone. Ces études démontrent que *Chlorella* se développe de manière optimale dans un environnement photoautotrophe modéré, où le $NaHCO_3$ favorise efficacement la production des pigments, Cependant, bien que la croissance mixotrophe améliore la productivité en lipides (**Liang et al. 2009**), elle paraît diminuer l'importance du métabolisme photosynthétique, ce qui est en accord avec la réduction des pigments observée dans ces conditions.

VI.6.2 Chez planktothrix :

Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent sources de carbone sont présentés dans la figure ci-dessous :

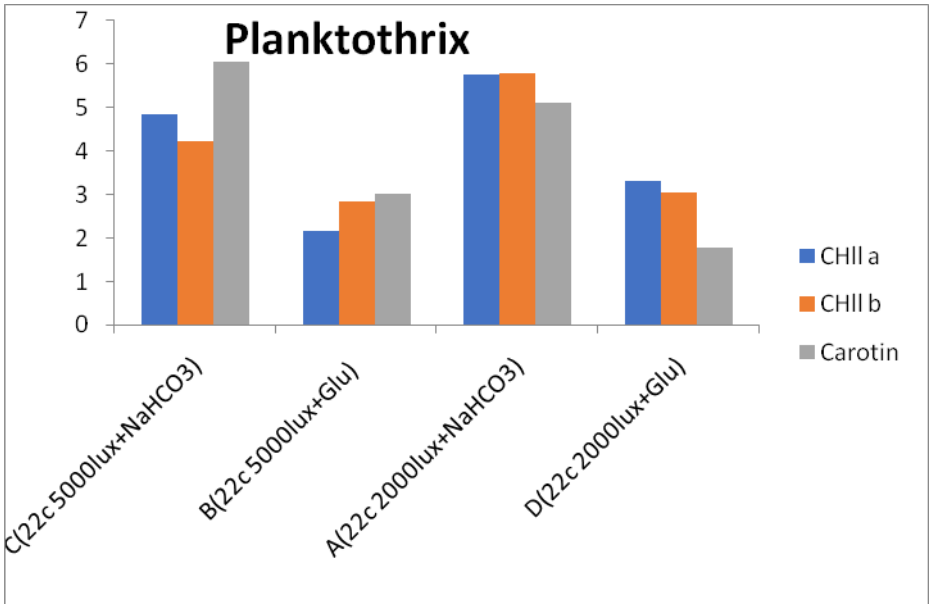


Figure IV.16. Les taux des pigments photosynthétiques obtenus dans différent sources de carbone chez planktothrix

Chlorophylle a : Exprime un maximum sous la condition A (lumière intense + $NaHCO_3$), Cela indique que Planktothrix est plus tolérante ou bénéficie davantage d'une forte intensité lumineuse.

Chlorophylle b : Adopte globalement la même direction que la chlorophylle a.Elle atteint aussi un pic dans A, ce qui indique une activité photosynthétique optimale dans ces conditions.

Caroténoïdes : Extrêmement élevés dans la condition A et dans les conditions C ; (Lumière faible + $NaHCO_3$) (lumière intense + $NaHCO_3$) respectivement .Dans D (lumière faible + Glucose), leur concentration baisse, ce qui indique une activité photosynthétique réduite ou un ralentissement du métabolisme.

- *Planktothrix* paraît mieux se prêter à des conditions lumineuses intenses, spécialement lorsqu'un carbone inorganique ($NaHCO_3$) est présent.

- Le fait que la faible concentration en pigments sous condition D indique que la croissance mixotrophe à une faible luminosité est défavorable pour la photosynthèse chez cette souche.

Pour interpréter ces résultats : L'analyse des teneurs en pigments (chlorophylle a, chlorophylle b et carotènes) chez *Planktothrix* révèle une influence marquée des conditions lumineuses et de la source de carbone sur l'activité photosynthétique et les mécanismes de photoprotection. Les résultats obtenus montrent que la condition A (22 °C, 2000 lux, $NaHCO_3$) induit les plus fortes concentrations en chlorophylle a et b), suggérant que *Planktothrix* est bien adaptée à une phototrophie modérée avec du bicarbonate comme seule source de carbone. Cette situation reflète une activité photosynthétique optimale, soutenue par une lumière suffisante sans excès, permettant une synthèse équilibrée des pigments nécessaires à la capture lumineuse. En revanche, sous lumière intense (condition C, 22 °C, 5000 lux, $NaHCO_3$), bien que les taux de chlorophylles diminuent légèrement, on observe une augmentation marquée des caroténoïdes .Ce phénomène est caractéristique d'une réponse photoprotectrice, dans laquelle les carotènes jouent un rôle clé pour protéger les complexes photosynthétiques du stress oxydatif induit par la lumière excessive. Ce comportement est conforme aux observations de **Djediat et al. (2019)**, qui ont montré que *Planktothrix* régule ses caroténoïdes via l'orange carotenoid protein (OCP) pour atténuer les dommages photochimiques. Les conditions mixotrophes, en particulier avec glucose, induisent une réduction significative de la biosynthèse pigmentaire. En condition D (22 °C, 2000 lux, glucose), les taux de pigments chutent (carotènes ~1,8 mg/g), traduisant une activité photosynthétique restreinte. Cette baisse est encore plus marquée en condition B (22 °C, 5000 lux, glucose), où l'on enregistre les plus faibles concentrations pigmentaires. Cela suggère que Planktothrix adopte un métabolisme moins dépendant de la photosynthèse en présence de glucose, probablement orienté vers la respiration du carbone organique. Cette stratégie permet de maintenir la croissance tout en minimisant la synthèse de pigments coûteux, comme observé dans plusieurs études sur la mixotrophie cyanobactérienne (**Schwarzenberger et al., 2020).**

Conclusion Générale

Conclusion :

La présente étude met en lumière l'influence déterminante des facteurs environnementaux, Et de maîtriser les conditions lumineuses, thermiques et nutritionnelles pour orienter le métabolisme microalgal vers la production ciblée de lipides et de pigments, et valoriser ainsi les souches locales adaptées aux environnements algériens dans des applications biotechnologiques durables

Deux souches isolées; la microalgue verte *Chlorella* et la cyanobactérie *Planktothrix*. Ces deux espèces, bien que partageant certains mécanismes physiologiques, présentent des réponses différenciées face aux variations de ces paramètres abiotiques, soulignant la complexité et la spécificité des adaptations métaboliques dans les systèmes de culture microalgale.

La souche *Chlorella* montre une bioaccumulation de lipidique maximale obtenue à 22°C avec une lumière modérée (2000 lux), avec une teneur de proche de 49% en phototrophie, Une lumière trop forte ou une température élevée réduisent la production. La synthèse glucidique est optimale à 25°C et 2000 lux (~18,5%), mais diminue à 30°C et en forte lumière, en raison d'un stress photo-oxydatif. Les pigments sont majoritairement produits à 25°C, 5000 lux, et en présence de $NaHCO_3$tandis que le glucose, en condition mixotrophe, réduit leur biosynthèse.

Chez *Planktothrix*, les lipides atteignent 27% à 25°C et 5000 lux en phototrophie et cependant en en mixotrophie à 22°C, 7000 lux) a également synthétiser un taux lipidique (~17,5%). Pour les glucides, la production maximale (~10,5%) est observée dans les mêmes conditions. Contrairement à *Chlorella*, *Planktothrix* tolère bien une lumière intense, notamment en présence de $NaHCO_3$ ce qui stimule la production de chlorophylle a et b. Toutefois, en mixotrophie sous forte lumière, la biosynthèse pigmentaire chute, ce qui suggère un ralentissement photosynthétique. En résumé, *Chlorella* excelle en conditions autotrophes modérées avec $NaHCO_3$, alors que *Planktothrix* montre de meilleures performances en lumière forte et en condition mixotrophe avec glucose. Ces différences influencent le choix de l'espèce selon l'objectif : production de lipides, de sucres ou de pigments.

En conclusion, les deux souches isolées, *Chlorella* et *Planktothrix* requiert une maîtrise rigoureuse des conditions environnementales pour des applications biotechnologiques. Un compromis optimal entre température modérée et intensité lumineuse adaptée permet de stimuler la photosynthèse, d'optimiser la synthèse des pigments et d'induire une accumulation maximale de lipides et glucides. Ces résultats ouvrent la voie à des stratégies de culture contrôlée visant à améliorer la rentabilité et la durabilité des procédés industriels basés sur la biomasse microalgale, en tenant compte des spécificités physiologiques propres à chaque espèce.

Références Bibliographiques

.

- Abdalla, B. K., & Oshaik, F. O. A. (2013). Base-transesterification process for biodiesel fuel production from spent frying oils. *Agricultural Sciences*, 4(2), 85–88. https://doi.org/10.4236/as.2013.42013
- Abedini Najafabadi, H., Malekzadeh, M., Jalilian, F., Vossoughi, M., & Pazuki, G. (2015). Effect of various carbon sources on biomass and lipid production of *Chlorella vulgaris* during nutrient sufficient and nitrogen starvation conditions. *Bioresource Technology*, 180, 311–317. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.12.081
- Abida, H., Dolch, L.-J., Meï, C., Villanova, V., Conte, M., Block, M. A., Finazzi, G., Bastien, O., Tirichine, L., & Bowler, C. (2015). Membrane glycerolipid remodeling triggered by nitrogen and phosphorus starvation in *Phaeodactylum tricornutum*. *Plant Physiology*, 167(1), 118–136. https://doi.org/10.1104/pp.114.253336
- Allard, B., & Templier, J. (2000). Comparison of neutral lipid profile of various trilaminar outer cell wall (TLS)-containing microalgae with emphasis on algaenan occurrence. *Phytochemistry*, 54(4), 369–380. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00145-9
- Al-lwayzy, S. H., Yusaf, T., & Al-Juboori, R. A. (2014). Biofuels from the freshwater microalgae *Chlorella vulgaris* (FWM-CV) for diesel engines. *Energies*, 7(3), 1829–1851. https://doi.org/10.3390/en7031829
- Arend, M., Yuan, Y., Ruiz Sola, M. Á., Omranian, N., Nikoloski, Z., & Petroutsos, D. (2023). Widening the landscape of transcriptional regulation of green algal photoprotection. *Nature Communications*, 14, Article 2687. https://doi.org/10.1038/s41467-023-38279-9
- Aslan, S., & Kapdan, I. K. (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*, 28(1), 64–70. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2006.04.003
- Barsanti, L., & Gualtieri, P. (2006). *Algae: Anatomy, biochemistry, and biotechnology*. CRC Press. https://books.google.fr/books?id=t4ZQRWvr510C
- Becker, E. W. (1994). *Microalgae: Biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press.
- Beijerinck, M. W. (1890). Culturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und anderen niederen Algen. *Botanische Zeitung*, 48, 725–785.
- Belkoura, M., Pierre, G., & Dubacq, J. P. (1997). Carbohydrate content of *Chlorella sorokiniana* grown in continuous culture under different light and temperature conditions. *Biology of the Cell*, 89(1), 65–71. https://doi.org/10.1016/S0248-4900(97)89011-1
- Berg, J. M., Tymoczko, J. L., & Stryer, L. (2002). There are three common types of membrane lipids. In *Biochemistry* (5e éd.). W.H. Freeman.
- Block, M. A., Dorne, A. J., Joyard, J., & Douce, R. (1983). Preparation and characterization of membrane fractions enriched in outer and inner envelope membranes from spinach chloroplasts. II. Biochemical characterization. *Journal of Biological Chemistry*, 258(21), 13281–13286.
- Boileau, M.-E. (2015). *Évaluation du potentiel d'utilisation d'une eau usée industrielle comme substrat de culture pour des microalgues d'eau douce dans une optique de production de biocarburants de 3e génération* (Mémoire de maîtrise, Université de Sherbrooke). Centre universitaire de formation en environnement et développement durable.
- Butaeva, G., et al. (n.d.). Description of a new species of soil algae, *Parietochloris grandis* sp. nov., and study of its fatty acid profiles.

- Cadoret, J.-P., & Bernard, O. (2008). La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis. *Journal de la Société Biologique*, 202(3), 201–211.
- Cañavate, J. P., Armada, I., Ríos, J. L., & Hachero-Cruzado, I. (2016). Exploring occurrence and molecular diversity of betaine lipids across taxonomy of marine microalgae. *Phytochemistry*, 124, 68–78. https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.02.007
- Cantin, I. (2010, juillet). *La production de biodiesel à partir des microalgues ayant un métabolisme hétérotrophe* (Mémoire de maîtrise, Université de Sherbrooke). Centre universitaire de formation en environnement.
- Carmichael, W. W. (2001). Health effects of toxin-producing cyanobacteria: "The CyanoHABs". *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*, 7(5), 1393–1407. https://doi.org/10.1080/20018091095087
- Cavalla, M. (2000). *Les algues, les micro-algues*. http://mcavalla.free.fr/rsr/Algues_operon.pdf

- Cheirsilp, B., & Torpee, S. (2012). Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresource Technology*, 110, 510–516. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.125

- Chen, C.-S., Anaya, J. M., Zhang, S., Spurgin, J., Chuang, C.-Y., Xu, C., Miao, A.-J., Chen, E. Y.-T., Schwehr, K. A., Jiang, Y., et al. (2011). Effects of engineered nanoparticles on the assembly of exopolymeric substances from phytoplankton. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 84, 196–203. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2012.06.004
- Chen, T., Liu, J., Guo, B., Ma, X., Sun, P., Liu, B., & Chen, F. (2015). Light attenuates lipid accumulation while enhancing cell proliferation and starch synthesis in the glucose-fed oleaginous microalga *Chlorella zofingiensis*. *Scientific Reports*, 5, Article 14936. https://doi.org/10.1038/srep14936
- Chinnasamy, S., Bhatnagar, A., Hunt, R. W., & Das, K. C. (2010). Microalgae cultivation in a wastewater dominated by carpet mill effluents for biofuel applications. *Bioresource Technology*, 101(9), 3097–3105. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.026
- Chisti, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, 25(3), 294–306. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001
- Choi, H. G., Kim, M. S., Lee, C. G., & Lee, Y. K. (2012). Effects of light and temperature on the growth and photosynthetic activity of green algae. *Journal of Applied Phycology*, 24(5), 1153–1160. https://doi.org/10.1007/s10811-011-9731-4
- Chokshi, K., Pancha, I., Ghosh, A., & Mishra, S. (2017). Carotenoid production by microalgae under stress conditions: Recent advances. *Biotechnology Reports*, 13, 84–92. https://doi.org/10.1016/j.btre.2016.12.010
- Chorus, I., & Bartram, J. (Eds.). (1999). *Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management*. World Health Organization. https://www.who.int/publications/i/item/9241545138
- Coêlho, D. de F., Tundisi, L. L., Cerqueira, K. S., Rodrigues, J. R. da S., Mazzola, P. G., Tambourgi, E. B., & Souza, R. R. de. (2019). Microalgae: Cultivation aspects and bioactive compounds. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 62, e19180352. https://doi.org/10.1590/1678-4324-2019180352

- Converti, A., Casazza, A. A., Ortiz, E. Y., Perego, P., & Del Borghi, M. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Chlorella vulgaris*. *Bioresource Technology*, 100(23), 5494–5500. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.029
- Converti, A., et al. (2009). Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris*. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 48(6), 1146–1151. https://doi.org/10.1016/j.cep.2009.05.004
- Dembitsky, V. M. (1996). Betaine ether-linked glycerolipids: Chemistry and biology. *Progress in Lipid Research*, 35(1), 1–51. https://doi.org/10.1016/S0163-7827(96)00006-3
- Demé, B., Cataye, C., Block, M. A., Maréchal, E., & Jouhet, J. (2014). Contribution of galactoglycerolipids to the 3-dimensional architecture of thylakoids. *The FASEB Journal*, 28(8), 3373–3383. https://doi.org/10.1096/fj.14-250456
- Demirbas, A. (2009). Production of biodiesel from algae oils. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 31(2), 163–168. https://doi.org/10.1080/15567030701712627
- Djediat, C., Feilke, K., Brochard, A., Caramelle, L., Kim Tiam, S., Sétif, P., Gauvrit, T., Yéprémian, C., Wilson, A., Talbot, L., Marie, B., Kirilovsky, D., & Bernard, C. (2020). Light stress in green and red *Planktothrix* strains: The orange carotenoid protein and its related photoprotective mechanism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1861(4), 148037. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2019.06.009
- Doughman, S. D., Krupanidhi, S., & Sanjeevi, C. B. (2007). Omega-3 fatty acids for nutrition and medicine: Considering microalgae oil as a vegetarian source of EPA and DHA. *Current Diabetes Reviews*, 3(3), 198–203. https://doi.org/10.2174/1573399810703030198
- Ehimen, E. A., Sun, Z. F., & Carrington, C. G. (2010). Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids. *Fuel*, 89(3), 677–684. https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.08.022
- Fahy, E., Subramaniam, S., Murphy, R. C., Nishijima, M., Raetz, C. R. H., Shimizu, T., Spener, F., van Meer, G., Wakelam, M. J. O., & Dennis, E. A. (2009). Update of the LIPID MAPS comprehensive classification system for lipids. *Journal of Lipid Research*, 50(Suppl.), S9–S14. https://doi.org/10.1194/jlr.R800095-JLR200
- Faller, H. (2011). *Les applications et la toxicité des algues marines* (Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges). https://theses.fr/2011LIMO334T
- Filali, R. (2012). *Estimation et commande robustes de culture de microalgues pour la valorisation biologique de CO_2* (Thèse de doctorat, Supélec). NNT: 2012SUPL0007. https://theses.hal.science/tel-00765421
- Fogg, G. E. (1953). *The metabolism of algae*. Oxford: Clarendon Press.
- Gao, P., Guo, L., Gao, M., Zhao, Y., Jin, C., & She, Z. (2022). Regulation of carbon source metabolism in mixotrophic microalgae cultivation in response to light intensity variation. *Journal of Environmental Management*, 302(Pt B), 114095. https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.114095
- Gao, Y., Li, Y., Yang, Y., Feng, J., Ji, L., & Xie, S. (2023). Effects of trophic modes on the lipid accumulation of *Parachlorella kessleri* TY. *Fermentation*, 9(10), 891. https://doi.org/10.3390/fermentation9100891

- Guesnet, P., Alessandri, J.-M., Astorg, P., Pifferi, F., & Lavialle, M. (2005). Les rôles physiologiques majeurs exercés par les acides gras polyinsaturés (AGPI). *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 12(5–6), 333–343. https://doi.org/10.1051/ocl.2005.0333
- Harwood, J. L. (1998). Membrane lipids in algae. In P. A. Siegenthaler & N. Murata (Eds.), *Lipids in photosynthesis: Structure, function and genetics* (pp. 53–64). Springer. https://doi.org/10.1007/0-306-48087-5_4
- He, Q., Yang, H., Wu, L., & Hu, C. (2015). Effect of light intensity on physiological changes, carbon allocation and neutral lipid accumulation in oleaginous microalgae. *Bioresource Technology*, 191, 219–228. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2015.05.021
- Heredia-Arroyo, T., Wei, W., Ruan, R., & Hu, B. (2011). Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* and its potential application for the oil accumulation from non-sugar materials. *Biomass and Bioenergy, 35*(5), 2245–2253
- Hernandez, E. R., & Garcia-Gonzalez, M. (2016). Mixotrophic growth of microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 60, 1–10. https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.12.086
- Hildebrand, M., Abbriano, R. M., Polle, J. E., et al. (2013). Metabolic and cellular organization in evolutionarily diverse microalgae as related to biofuels production. *Current Opinion in Chemical Biology*, 17(3), 506–514. https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2013.03.003
- Hossain, F. M., Rainey, T. J., Ristovski, Z., & Brown, R. J. (2018). Performance and exhaust emissions of diesel engines using microalgae FAME and the prospects for microalgae HTL biocrude. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 82, 4269–4278. https://doi.org/10.1016/j.rser.2017.05.264

(https://www.researchgate.net/)

- Hu, Q., Sommerfeld, M., Jarvis, E., Ghirardi, M., Posewitz, M., Seibert, M., & Darzins, A. (2008). Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: Perspectives and advances. *The Plant Journal*, 54(4), 621–639. https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03433.x

- INRA Sciences Sociales. (2012, mars). *Les biocarburants de première génération*. AgEconSearch. [En ligne]. https://ageconsearch.umn.edu/record/203770
- Jazzar, S., Quesada-Medina, J., Olivares-Carrillo, P., Marzouki, M. N., Acién Fernández, F. G., Fernández-Sevilla, J. M., Molina-Grima, E., & Smaali, I. (2015). A whole biodiesel conversion process combining isolation, cultivation and in situ supercritical methanol transesterification of native microalgae. *Bioresource Technology*, 190, 281–288. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.105
- Johnson, M. B., & Wen, Z. (2009). Production of biodiesel fuel from the microalga *Schizochytrium limacinum* by direct transesterification of algal biomass. *Energy & Fuels*, 23(10), 5179–5183. https://doi.org/10.1021/ef900704h
- Katan, M. B., Grundy, S. M., Jones, P., Law, M., Miettinen, T., Paoletti, R., & Participants, S. W. (2003). Efficacy and safety of plant stanols and sterols in the management of blood cholesterol levels. *Mayo Clinic Proceedings*, 78(8), 965–978. https://doi.org/10.4065/78.8.965

- Kato, M., Sakai, M., Adachi, K., Ikemoto, H., & Sano, H. (1996). Distribution of betaine lipids in marine algae. *Phytochemistry*, 42(5), 1341–1345. https://doi.org/10.1016/0031-9422(96)00148-2
- Khiari, K., Awad, S., Loubar, K., et al. (2016). Experimental investigation of *Pistacia lentiscus* biodiesel as a fuel for direct injection diesel engine. *Energy Conversion and Management*, 108, 392–399. https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.11.040
- Khozin-Goldberg, I., & Cohen, Z. (2011). Unraveling algal lipid metabolism: Recent advances in gene identification. *Biochimie*, 93(1), 91–100. https://doi.org/10.1016/j.biochi.2010.07.020
- Kim, S.-K. (Ed.). (2015). *Handbook of marine microalgae: Biotechnology advances*. Academic Press.
- Kiran, S. (2017). *Biodiesel production under ultrasound and homogeneous catalysts* [Thèse de doctorat].
- Knothe, G. (2010). Biodiesel and renewable diesel: A comparison. *Progress in Energy and Combustion Science*, 36(3), 364–373. https://doi.org/10.1016/j.pecs.2009.11.004
- Kobayashi, K., Endo, K., & Wada, H. (2016). Roles of lipids in photosynthesis. In H. Wada & N. Murata (Eds.), *Lipids in Plant and Algae Development* (pp. 21–49). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25979-6_2
- Komárek, J., & Anagnostidis, K. (2005). *Cyanoprokaryota, 2. Teil: Oscillatoriales*. In: *Süßwasserflora von Mitteleuropa* (Vol. 19/2). Spektrum Akademischer Verlag.
- Kong, W., Yang, S., Wang, H., Huo, H., Guo, B., Liu, N., Zhang, A., & Niu, S. (2020). Regulation of biomass, pigments, and lipid production by *Chlorella vulgaris* 31 through controlling trophic modes and carbon sources. *Journal of Applied Phycology*, 32(3), 1569–1579. https://doi.org/10.1007/s10811-019-01970-7
- Krzemińska, I., & Oleszek, M. (2016). Glucose supplementation-induced changes in the *Auxenochlorella protothecoides* fatty acid composition suitable for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 218, 1294–1297. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.07.104
- Kumar Gupta, V., & Tuohy, M. G. (Eds.). (2019). *Biofuel and biorefinery technologies* (Vol. 8). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-030-11705-0
- Kumari, K., Sahoo, D., & Tripathy, B. C. (2019). Modulation of biodiesel production by sodium bicarbonate and nitrogen deficiency in the microalga *Chlorella vulgaris*. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 12(3), 765–772.
- Kumari, P., Kumar, M., Reddy, C. R. K., & Jha, B. (2013). Algal lipids, fatty acids and sterols. In I. Domínguez (Ed.), *Functional ingredients from algae for foods and nutraceuticals* (pp. 87–134). Elsevier. https://doi.org/10.1533/9780857098689.87
- Künzler, K., & Eichenberger, W. (1997). Betaine lipids and zwitterionic phospholipids in plants and fungi. *Phytochemistry*, 46(5), 883–892. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00329-6
- Kurmayer, R., Dittmann, E., Fastner, J., & Chorus, I. (2002). Diversity of microcystin genes within a population of the toxic cyanobacterium *Planktothrix rubescens*. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(2), 762–770. https://doi.org/10.1128/AEM.68.2.762-770.2002
- Kurpan Nogueira, D. P., Silva, D. F., Vieira Costa, J. A., & Kalil, S. J. (2014). Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production: A review. *Bioresource Technology*, 166, 479–485. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.05.105

- Lardon, L., Hélias, A., Sialve, B., Steyer, J.-P., & Bernard, O. (2009). Life-cycle assessment of biodiesel production from microalgae. *Environmental Science & Technology*, 43(17), 6475–6481. https://doi.org/10.1021/es900705j
- Lau, P. S., Tam, N. F. Y., & Wong, Y. S. (1996). Wastewater nutrients removal by *Chlorella vulgaris*: Optimization through acclimation. *Environmental Technology*, 17(2), 183–189. https://doi.org/10.1080/09593331708616367
- Leclerc, V., & Floc'h, J.-Y. (2010). *Les secrets des algues*. Éditions Quae.
- Lee, O. K., & Lee, E. Y. (2016). Sustainable production of bioethanol from renewable brown algae biomass. *Biomass and Bioenergy*, 92, 70–75. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.06.002
- Lee, R. E. (2018). *Phycology* (5e éd.). Cambridge University Press. https://doi.org/10.1017/9781108233054
- Levasseur, W., Perré, P., & Pozzobon, V. (2020). A review of high value-added molecules production by microalgae in light of the biorefinery concept. *Biomass and Bioenergy*, 129, 105354. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2019.105354

- Levine, R. B., Oberlin, A. R., & Adriaens, P. (2009). A value chain and life-cycle assessment approach to identify technological innovation opportunities in algae biodiesel. *Nanotech*, 3, 1–6.
- Lewin, R. A. (1962). *Physiology and biochemistry of algae*. Academic Press.
- Li, Y., Horsman, M., Wu, N., Lan, C. Q., & Dubois-Calero, N. (2008). Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*, 24(4), 815–820. https://doi.org/10.1002/btpr.55
- Li-Beisson, Y., Nakamura, Y., & Harwood, J. (2016). Lipids: From chemical structures, biosynthesis and analyses to industrial applications. In H. Wada & N. Murata (Eds.), *Lipids in plant and algae development* (pp. 1–18). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-25979-6_1
- Lichtenthaler, H. K., & Buschmann, C. (2001). Chlorophylls and carotenoids: Measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. In *Current Protocols in Food Analytical Chemistry* (Supplement 1, pp. F4.3.1–F4.3.8). John Wiley & Sons. https://doi.org/10.1002/0471142913.faf0403s01
- Mahajan, G., & Kamat, M. Y. (1995). γ-Linolenic acid production from *Spirulina platensis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 43(3), 466–469. https://doi.org/10.1007/BF00218455
- Maltsev, Y. I., Gusev, E., Maltseva, I. A., Kulikovskiy, M., Namsaraev, Z., Petrushkina, M., Filimonova, A., Sorokin, B., & Golubeva, A. (2020). Biotechnological potential of algae for biofuel production: Modern trends and prospects. *Biomass and Bioenergy*, 138, 105553. https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2020.105553

- Markou, G., & Nerantzis, E. (2013). Microalgae for high-value compounds and biofuels production: A review with focus on cultivation under stress conditions. *Biotechnology Advances*, 31(8), 1532–1542. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.07.011
- Martin, P., Van Mooy, B. A. S., Heithoff, A., & Dyhrman, S. T. (2011). Phosphorus supply drives rapid turnover of membrane phospholipids in the diatom *Thalassiosira pseudonana*. *The ISME Journal*, 5(6), 1057–1060. https://doi.org/10.1038/ismej.2010.192
- Martinez-Guerra, E., & Gude, V. G. (2018). Energy analysis of extractive transesterification of algal lipids for biocrude production. *Biofuels*, 9(2), 139–146. https://doi.org/10.1080/17597269.2017.1336350

- Miao, X., Wu, Q., & Yang, C. (2004). Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 71(2), 855–863. https://doi.org/10.1016/j.jaap.2003.11.006
- Mimouni, V., Ulmann, L., Pasquet, V., Mathieu, M., Picot, L., Bougaran, G., Cadoret, J.-P., Morant-Manceau, A., & Schoefs, B. (2012). The potential of microalgae for the production of bioactive molecules of pharmaceutical interest. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(15), 2733–2750. https://doi.org/10.2174/138920112803341880
- Mizusawa, N., & Wada, H. (2012). The role of lipids in photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1817(1), 194–208. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2011.04.005
- Muñoz Marín, M. del C., López Lozano, A., Moreno Cabezuelo, J. Á., Díez, J., & García Fernández, J. M. (2024). Mixotrophy in cyanobacteria. *Current Opinion in Microbiology*, 78, 102432. https://doi.org/10.1016/j.mib.2024.102432
- Naik, S. N., Goud, V. V., Rout, P. K., & Dalai, A. K. (2010). Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 14(2), 578–597. https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.10.003
- Nguyen Van Cuong. (2010). *Maîtrise de l'aptitude technologique des oléagineux par modification structurelle : Applications aux opérations d'extraction et de transestérification in situ* [Thèse de doctorat]. pp. 8–50.
- oudière, L., Michaud, M., Petroutsos, D., Rébeillé, F., Falconet, D., Bastien, O., Roy, S., Finazzi, G., Rolland, N., & Jouhet, J. (2014). Glycerolipids in photosynthesis: Composition, synthesis and trafficking. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1837(4), 470–480. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2013.09.004
- Park, J. E., Zhang, S., Han, T. H., & Hwang, S. J. (2021). The contribution ratio of autotrophic and heterotrophic metabolism during a mixotrophic culture of *Chlorella sorokiniana*. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 1353. https://doi.org/10.3390/ijerph18041353
- Peltier, G., & collaborateurs. (2022, 17 mai). Décryptage du mécanisme pour booster la photosynthèse des microalgues. *Techniques de l'Ingénieur*. Récupéré de https://www.techniques-ingenieur.fr
- Pereira, H., Barreira, L., Figueiredo, F., Custódio, L., Vizetto-Duarte, C., Polo, C., Rego, A., Silva, J., & Varela, J. (2016). Effect of light and temperature on growth and biochemical composition of microalgae. *Bioresource Technology*, 219, 689–696. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2016.08.064
- Person, J. (2010). *Algues, filières du futur* (Livre turquoise). Adebiotech.
- Raja, A., Vipin, C., & Aiyappan, A. (2013). Biological importance of marine algae: An overview. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2(5), 222–227.
- Ras, M., Steyer, J.-P., & Bernard, O. (2013). Temperature effect on microalgae: A crucial factor for outdoor production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 12(2), 153–164. https://doi.org/10.1007/s11157-012-9281-1
- Raynal-Ljutovac, K., Bouvier, J., Gayet, C., Simon, N., Joffre, F., Fine, F., Vendeuvre, J.-L., Lopez, C., Chardigny, J.-M., & Michalski, M.-C. (2011). Organisation structurale et moléculaire des lipides dans les aliments: Impacts possibles sur leur digestion et leur

assimilation par l'Homme. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 18(6), 324–351. https://doi.org/10.1051/ocl.2011.0421

- Razzak, S. A., Hossain, M. M., Lucky, R. A., Bassi, A. S., & de Lasa, H. (2013). Integrated CO_2 capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 27, 622–653. https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.06.040
- Ressources naturelles Canada. (2011B).
- Rodolfi, L., Chini Zittelli, G., Bassi, N., Padovani, G., Biondi, N., Bonini, G., & Tredici, M. R. (2009). Microalgae for oil: Strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1), 100–112. https://doi.org/10.1002/bit.22033
- Rodolphi, L., et al. (2008). Microalgae for Oil: Strain Selection, Induction of Lipid Synthesis and Outdoor Mass Cultivation in a Low-Cost Photobioreactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(1), 100–113.

- Roman-Leshkov, Y., Barrett, C. J., Liu, Z. Y., & Dumesic, J. A. (2007). Production of dimethylfuran for liquid fuels from biomass-derived carbohydrates. *Nature*, 447, 982–985. https://doi.org/10.1038/nature05923

- Rozentsvet, O. A., Dembitsky, V. M., & Saksonov, S. V. (2000). Occurrence of diacylglyceryltrimethylhomoserines and major phospholipids in some plants. *Phytochemistry*, 54(4), 401–407. https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00134-6

- Ruiz-Sola, M. Á., Flori, S., Yuan, Y., Arend, M., Petroutsos, D., & Alboresi, A. (2023). Light-independent regulation of algal photoprotection by CO_2 availability. *Nature Communications, 14*, Article 1977. https://doi.org/10.1038/s41467-023-37800-6
- Salam, K. A., Velasquez-Orta, S. B., & Harvey, A. P. (2016). A sustainable integrated in situ transesterification of microalgae for biodiesel production and associated co-product: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews, 65*, 1179–1198. https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.07.059
- Schwarz, A., Walther, J., Geib, D., Witthohn, M., Strieth, D., Ulber, R., & Muffler, K. (2020). Influence of heterotrophic and mixotrophic cultivation on growth behaviour of terrestrial cyanobacteria. *Algal Research, 52*, 102125. https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102125
- Schwarzenberger, A., Kurmayer, R., & Martin-Creuzburg, D. (2020). Toward disentangling the multiple nutritional constraints imposed by *Planktothrix*: The significance of harmful secondary metabolites and sterol limitation. *Frontiers in Microbiology, 11*, 586120. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.586120
- Selmeczy, G. B., Costa, M., Padisák, J., & Kós, P. (2025). Biogeography, life strategy and ecology of *Planktothrix rubescens*: A review. *Hydrobiologia, 852*, 3231–3256. https://doi.org/10.1007/s10750-025-05818-0
- Shatwell, T., Köhler, J., & Nicklisch, A. (2019). Temperature and photoperiod effects on bloom formation of the cyanobacterium *Planktothrix rubescens*. *Harmful Algae, 84*, 30–38. https://doi.org/10.1016/j.hal.2019.02.003
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., & Roessler, P. (1998). *A look back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from algae* (NREL Report No.

TP-580-24190). National Renewable Energy Laboratory. https://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf

- Sialve, B., Bernet, N., & Bernard, O. (2009). Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. *Biotechnology Advances, 27*(4), 409–416. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2009.03.001
- Singer, S. J., & Nicolson, G. L. (1972). The fluid mosaic model of the structure of cell membranes. *Science, 175*(4023), 720–731. https://doi.org/10.1126/science.175.4023.720
- Srinivasan, R., Mageswari, A., Subramanian, P., Suganthi, C., Chaitanyakumar, A., Aswini, V., & Gothandam, K. M. (2018). Bicarbonate supplementation enhances growth and biochemical composition of *Dunaliella salina* V-101 by reducing oxidative stress induced during macronutrient deficit conditions. *Scientific Reports, 8*, Article 6972. https://doi.org/10.1038/s41598-018-25417-5
- Stolz, P., & Obermayer, B. (2005). Manufacturing microalgae for skin care. *Cosmetics and Toiletries, 120*(3), 99–106.

- Taher, H., Nashef, E., Anvar, N., & Al-Zuhair, S. (2017). Enzymatic production of biodiesel from waste oil in ionic liquid medium. *Biofuels, 10*(4), 463–472. https://doi.org/10.1080/17597269.2017.1307257
- Takeda, H. (1993). Chemical composition of cell walls as a taxonomical marker. *Journal of Plant Research, 106*(3), 195–200. https://doi.org/10.1007/BF02344043
- Tanzi, A. (2013). *Eco-extraction et analyse de lipides de micro-algues pour la production* [Mémoire de Master, Université non précisée].
- Taroncher-Oldenburg, G., Anderson, D. M., & Keafer, B. A. (2000). Influence of light intensity and quality on pigment composition in cyanobacteria. *Journal of Applied Phycology, 12*(5), 553–563. https://doi.org/10.1023/A:1008172510291
- Van Den Hende, S., Carré, E., Cocaud, E., Beelen, V., Boon, N., & Vervaeren, H. (2014). Treatment of industrial wastewaters by microalgal-bacterial flocs in sequencing batch reactors. *Bioresource Technology, 161*, 245–254. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.03.060
- van den Hoek, C., Mann, D. G., & Jahns, H. M. (1995). *Algae: An introduction to phycology*. Cambridge University Press.
- Van Mooy, B. A. S., Fredricks, H. F., Pedler, B. E., Dyhrman, S. T., Karl, D. M., Koblížek, M., ... & Moutin, T. (2009). Phytoplankton in the ocean use non-phosphorus lipids in response to phosphorus scarcity. *Nature, 458*(7234), 69–72. https://doi.org/10.1038/nature07659

- Volkman, J. K. (2016). Sterols in microalgae. In E. B. Borowitzka, J. Beardall, & J. A. Raven (Eds.), *The Physiology of Microalgae* (pp. 485–505). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-319-24945-2_18

- Vonshak, A. (1997). *Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, cell biology and biotechnology*. Taylor & Francis.

- Wageningen University. (2009). Heterotrophic organisms. http://www.algae.wur.nl/UK/technologies/production/heterotrophic_organisms/

- Walsby, A. E., Hayes, P. K., Boje, R., & Stal, L. J. (2005). The selective advantage of buoyancy provided by gas vesicles for planktonic cyanobacteria in the Baltic Sea. *New Phytologist, 166*(3), 841–848. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2005.01373.x

- Wan, X., Zhou, X. R., Moncalian, G., Su, L., Chen, W. C., Zhu, H. Z., ... & Deng, Q. C. (2018). Reprogramming of lipid metabolism in microalgae. *Algal Research, 33*, 358–368. https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.06.019
- Wen, Z.-H., & Chen, F. (2003). Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnology Advances, 21*(4), 273–294. https://doi.org/10.1016/S0734-9750(03)00033-2
- White, D. A., Pagarette, A., Rooks, P., & Ali, S. T. (2013). The effect of sodium bicarbonate supplementation on growth and biochemical composition of marine microalgae cultures. *Journal of Applied Phycology, 25*(1), 153–165. https://doi.org/10.1007/s10811-012-9849-6
- Wilson, A., Andreeva, E. A., Niziński, S., Talbot, L., Hartmann, E., Schlichting, I., ... & Colletier, J. P. (2022). Structure-function-dynamics relationships in the peculiar Planktothrix PCC7805 OCP1: Impact of his-tagging and carotenoid type. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics, 1863*(7), 148584. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2022.148584
- Wolfgang, E. B. (1994). *Microalgae: Biotechnology and microbiology* [Google Books version]. https://books.google.fr/books?id=KAKx4I7NWEYC
- Wu, S., Huang, A., Zhang, B., Huan, L., Zhao, P., Lin, A., & Wang, G. (2015). Enzyme activity highlights the importance of the oxidative pentose phosphate pathway in lipid accumulation and growth of *Phaeodactylum tricornutum* under CO_2 concentration. *Biotechnology for Biofuels, 8*, Article 78. https://doi.org/10.1186/s13068-015-0262-7
- Xiao, Y., Guo, J., Zhu, H., Muhammad, A., Deng, H., Hu, Z., & Wu, Q. (2020). Inhibition of glucose assimilation in *Auxenochlorella protothecoides* by light. *Biotechnology for Biofuels, 13*, 146. https://doi.org/10.1186/s13068-020-01767-8
- Yeh, K. L., & Chang, J. S. (2012). Effects of cultivation conditions and media composition on cell growth and lipid productivity of indigenous microalga *Chlorella vulgaris* ESP-31. *Bioresource Technology, 105*, 120–127. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.11.103
- Zhao, X., Xue, C. H., & Li, B. F. (2008). Study of antioxidant activities of sulfated polysaccharides from *Laminaria japonica*. *Journal of Applied Phycology, 20*(4), 431–436. https://doi.org/10.1007/s10811-007-9263-5
- Zilliges, Y., & Dittmann, E. (2011). Cyanobacterial toxins: Biosynthesis, regulation and evolution. In B. A. Whitton (Ed.), *Ecology of Cyanobacteria II* (pp. 931–956). Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0380-1_36

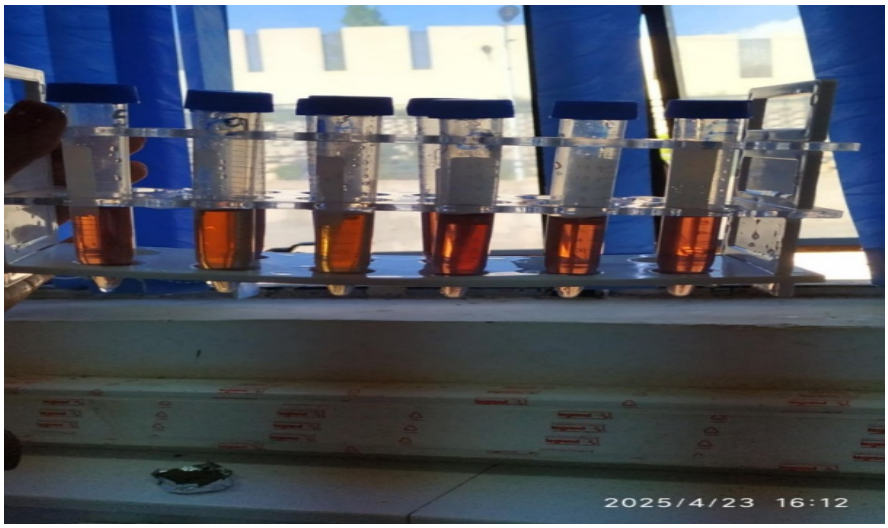
Annexe 1 :

Tableau : Appareillage d'analyse physico – chimique

Spectrophotomètre SELECTA UV 3100	Centrifugeuses FC5706 230V	Centrifugeuse HETTICH EBA 20	Centrifugeuse SIGMA4-16KS
			
Etuve Memmert UF30	Bain marie Memmert WNB45	Agitateur magnétique JP SELECTA	PH mètre HI2316
			
Balance	Luxmètre	Microscope optique OPTIKA B-190	Pompe air aquarium
			
Programmateur journalier a curseurs			
			

Annexe 2 :

Quelques résultats de l'analyse des lipides :



Quelques résultats de l'analyse des Glucides :





Quelques résultats de l'analyse des chlorophylles :

