

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE



UNIVERSITÉ SALAH BOUBNIDER, CONSTANTINE 03
FACULTÉ DE GÉNIE DES PROCÉDÉS
DÉPARTEMENT DE GÉNIE DE L'ENVIRONNEMENT

N° d'ordre :... ..

Série :... ..

Mémoire

PRESENTÉ POUR L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER
EN GÉNIE DES PROCÉDÉS
OPTION : GÉNIE DES PROCÉDÉS DE L'ENVIRONNEMENT

UTILISATION DU LACTOSERUM RECUPÉRÉ DES
EFFLUENTS DE L'INDUSTRIE LAITIÈRE POUR
CULTIVER DES MICROALGUES DANS DES
PHOTOBIOREACTEURS ET REVALORISATION DES
SOUS-PRODUITS

Présenté par :

M^{elle} **BOUZNADA** Maya Ouissem

M^{elle} **DEMMANE** Dalia

M^{elle} **MESSACI** Safa

Dirigé par :

Dr **ZAMOUCHE-ZERDAZI** Rania

Dr **ABDELAZIZ** Wided

Année universitaire

2021-2022

Session: Juin

Remerciement

On tient tout particulièrement à remercier ces personnes qui nous ont aidés de bon cœur et sans qui l'aboutissement de ce travail aurait été difficile.

Le staff de l'industrie laitière Numidia pour leur accueil et bienveillance.

Madame Krid de l'INATAA pour son temps et son savoir partager avec nous.

Monsieur Mouzai Abd el Ghani doctorant de l'INATAA d'avoir contribué à une étape essentielle de notre étude.

Monsieur Bahita de la faculté Génie des procédés de l'UC3, pour sa serviabilité.

A notre amie Nourhane étudiante en microbiologie à l'UMC pour son aide précieuse.

On remercie notre encadrante Dr. Zamouche-Zerdazi Rania, de nous avoir permis de mener à bien cette étude, ainsi que notre Co-encadrante Dr. Abdelaziz Wided du département de microbiologie de l'UMC pour sa contribution.

On remercie les ingénieurs du LIPE.

On remercie toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin, et tout particulièrement nos amis les plus proches pour leur soutien moral.

Dédicace

A nous trois... ♥

Sommaire

Remercîment

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Chapitre 1 : Revue bibliographique3

1.1	Le lactosérum	3
1.1.1	Introduction	3
1.1.2	L'industrie fromagère.....	3
1.1.3	Evolution de la transformation laitière en Algérie	3
1.1.4	Lactosérum	4
1.1.4.1	Définition	4
1.1.4.2	Compositions et variétés	5
1.1.5	Le pouvoir polluant du lactosérum.....	6
1.1.6	Production mondiale de lactosérum	6
1.1.7	Domaines d'utilisation du lactosérum.....	7
1.1.7.1	Usage agricole	7
a.	Nutrition animale.....	7
1.1.7.2	Usage alimentaire	8
a.	Lactose	8
b.	Protéines	8
1.1.7.3	Usage pharmaceutique	8
1.1.7.4	Usage biotechnologique	9
1.1.8	Procédés physiques de valorisation du lactosérum	9
1.1.8.1	Récupération des fines et séparation de gras.....	9
a.	Clarification ou filtration de fines	9
b.	Écrémage.....	9
1.1.8.2	La concentration de solides totaux	10
a.	L'osmose inverse.....	10
b.	L'évaporation	10
c.	Le séchage	10
1.1.9	Procédés biotechnologiques de valorisation du lactosérum.....	11
1.1.9.1	Production de biogaz.....	11
1.1.9.2	Production de bio hydrogène.....	12
1.1.9.3	Production de biomasse.....	12
1.1.9.4	Production d'acide lactique	12
1.1.9.5	Production d'alcool	12
1.2	Les micros algues	13
1.2.1	Introduction	13
1.2.2	Les micros algues	13
1.2.2.1	Définition	13
1.2.2.2	Composition	14
1.2.3	Principe de fonctionnement :.....	15
1.2.3.1	La photosynthèse.....	15

1.2.4	Types des micros algues	17
1.2.4.1	Diatomées	17
1.2.4.2	Algues vertes	18
1.2.4.3	Algues bleues	18
1.2.4.4	Algues dorées	18
1.2.5	Culture des micros algues	19
1.2.5.1	Les systèmes de cultures	19
a.	Systèmes ouverts	19
b.	Systèmes fermés	20
□	Les PBRs tubulaires	20
□	Les PBRs colonnes	21
□	Les airlifts	21
□	Les photobioréacteurs plans	22
□	Les Photobioréacteur « Plastic-bag » ou gaine	22
□	Les fermenteurs	23
1.2.6	Les phases de croissance des microalgues	23
1.2.7	Modes de nutrition	24
1.2.7.1	Autotrophie	24
1.2.7.2	Hétérotrophie	24
1.2.7.3	Mixotrophie	24
1.2.8	Les conditions influençant la culture	25
1.2.8.1	Source de lumière	25
1.2.8.2	La température	26
1.2.8.3	Le pH	26
1.2.8.4	Les nutriments	26
1.2.8.5	Le dioxygène dissous	27
1.2.9	Utilisation des microalgues	27
1.2.9.1	Traitement des eaux usées	27
1.2.9.2	Bioénergie	29
1.2.9.3	Alimentation humaine	29
1.2.9.4	Cosmétique	29
1.2.9.5	L'industrie pharmaceutique	29
1.2.10	Chlorella vulgaris	30

Chapitre 2 : Récupération et traitement du lactosérum 32

2.1	Introduction	32
2.2	Présentation de la laiterie Numidia	32
2.3	Produits de la laiterie	33
2.4	Procédés produisant du lactosérum et babeurre	33
2.4.1	Pâte molle -camembert	33
2.4.2	Pâte pressée-gouda et edam	34
2.4.3	Petit suisse	35
2.4.4	Beurre (babeurre)	36
2.5	Analyses physico chimique du lactosérum	37
2.5.1	Au niveau de l'industrie	37
2.5.1.1	Mesure du pH	37
2.5.1.2	L'acidité	37
2.5.1.3	L'extrait sec	38
2.5.1.4	La matière grasse	38
2.5.2	Au niveau du laboratoire	38

2.5.2.1	Demande chimique en oxygène.....	38
2.5.2.2	Conductivité et salinité	39
2.5.3	Caractérisation des échantillons	40
2.6	Impact du rejet sur l'environnement.....	40
2.7	Atomisation	41
2.7.1	Rendement d'atomisation.....	44
2.7.2	Analyse de l'échantillon atomisé	44
2.7.2.1	Au niveau du CRBT	44
2.7.2.2	Au niveau du labo LIPE	46
a.	Mesure de la DCO	46
b.	Mesure de la DBO	46
Chapitre 3 :Incubation et suivi des PBRs		48
3.1	Introduction	49
3.2	Incubation et suivi des réacteurs	49
□	Expérimentation réalisées et discussions des résultats.....	52
3.3	Premier essai (R1)	52
3.3.1	Discussion des résultats.....	57
3.4	Deuxième et Troisième essais (R2, R3)	58
3.4.1	Discussion des résultats.....	63
3.5	Quatrième Essai (R4)	64
3.5.1	Discussion des résultats.....	69
3.6	Cinquième et sixième essai R5, R6	70
3.6.1	Discussion des résultats.....	85
3.7	Septièmes essais (R7).....	87
3.7.1	Discussion des résultats.....	92
3.8	Huitième essais R8	93
3.8.1	Discussion des résultats.....	98
3.9	Neuvième essai R9	98
3.9.1	Discussion des résultats.....	102
3.10	La récolte des microalgues	103
3.10.1	La filtration.....	103
3.10.2	La centrifugation	103
3.10.3	Discussion des résultats.....	105
3.11	Conclusion.....	105
Chapitre 4 Caractérisation et valorisation de la biomasse algale.....		106
4.1	Introduction	106
4.2	Mise évidence des protéases.....	106
4.2.1	Discussions des résultats	109
4.3	Extraction des lipides.....	110
4.3.1	Discussion des résultats.....	111
4.4	Présence des expolysacharide.....	112
4.4.1	Discussion des résultats.....	113
4.5	Détermination de la teneur en pigments liposoluble	114
4.5.1	Discussions des résultats.....	117
Conclusion.....		118

Références bibliographiques
Annexe
Résumé

Liste des figures

Figure 1. 1. Typologie des laiteries conventionnées avec l’ONIL (données 2018).....	4
Figure 1. 2. Lactosérum généré du camembert (personnelle).....	4
Figure 1. 3. Production des différents types de lactosérum.....	5
Figure 1. 4 production mondiale de lactosérum	7
Figure 1. 5 schéma d'un atomiseur co-courant.....	11
Figure 1. 6 La chaîne photosynthétique.....	16
Figure 1. 7 Le cycle de Calvin.....	17
Figure 1. 8 Diatomées (bacillariophycées) - <i>Emilianahuxleyi</i>	17
Figure 1. 9 <i>Chlorella</i> visualisation personnelle	18
Figure 1. 10 Figure visualisation microscopique de la spiruline (visualisation personnelle).....	18
Figure 1. 11 Algues dorées (chrysophycées) <i>Uroglenopsis</i>	19
Figure 1. 12 Bassins naturels.....	20
Figure 1. 13 Culture de spiruline en raceway Californie.....	20
Figure 1. 14 PBRs tubulaires (Greenwell).....	21
Figure 1. 15 Les PBRs colonnes.....	21
Figure 1. 16 Les PBRs plans	22
Figure 1. 17 Système -plastic bag-	22
Figure 1. 18 Les Fermenteur de production d’Oméga-3 à partir de microalgues.....	23
Figure 1. 19 courbe de croissance d'une micro algue	24
Figure 1. 20 Les principales voies de valorisation des microalgues.....	28
Figure 1. 21 Traitement des eaux usées par les microalgues (Algae Control Thrive water – Alternative Wastewater Treatment Solutions.)	28
Figure 1. 22 Visualisations de <i>Chlorella vulgaris</i> (personnelle)	30
Figure 2. 1 Etape de réception du lait de vache.....	32
Figure 2. 2 Les différents produits issus de la laiterie	33
Figure 2. 3 Chaîne de fabrication du camembert.....	34
Figure 2. 4 Chaîne de fabrication de la pâte pressée	34
Figure 2. 5 Unité de production de l’edam.....	34
Figure 2. 6 procédé de fabrication du petit suisse	35
Figure 2. 7 ligne de production du petit suisse	35
Figure 2. 8 Chaîne de fabrication du beurre	36
Figure 2. 9 baratte à beurre.....	36
Figure 2. 10 pH mètre (CRISON)	37
Figure 2. 11 titrage par la soude	37
Figure 2. 12 dessiccateur (RADWAG).....	38
Figure 2. 13 butyromètre pour lait.....	38
Figure 2. 14 centrifugeuse utilisée pour la quantification de la matière grasse.....	38
Figure 2. 15 Tubes de digestion pour la mesure de la DCO.....	39
Figure 2. 16 spectrophotomètre.....	39
Figure 2. 17 bloc chauffant.....	39
Figure 2. 18 conductimètre WTW multi 3430	39
Figure 2. 19 DCO généré par la transformation du lait.	41
Figure 2. 20 lactosérum avant et après atomisation.....	42
Figure 2. 21 atomiseur utilisé se localisant dans la Faculté de Génie des procédés.	42
Figure 2. 22 Schéma de principe du procédé de séchage par atomisation.....	44
Figure 2. 23 Milko scan utilisé pour la caractérisation de la poudre atomisé.....	45
Figure 2. 24 échantillonnage et lecture du résultat dans le Milkoscan.	45
Figure 2. 25 OXITOP utilisés pour la mesure de la DBO5	47

Figure 3.1 Chlorella industrielle et naturelle.....	52
Figure 3.2 Flacons utilisés pour incubation.....	52
Figure 3.3 Programmateur et installation de l'éclairage artificiel dans l'enceinte thermique.....	53
Figure 3.4 Microscope OPTIKA utilisé durant le suivi.	54
Figure 3.5 Réacteurs en condition chimiotrophe pour les échantillons filtré et non filtré	56
Figure 3.6 Visualisation microscopique de la chlorella commerciale prélevée des PRB fonctionnant en mode chimiotrophe (agrandissement x10)	56
Figure 3.7 Variation du pH, O ₂ , T, et A de R1 F (0,2) à 8h	57
Figure 3.8 Variation du pH, O ₂ et T de R1 F (0,2) à 13h	57
Figure 3.9 variation du pH, O ₂ , T et A de NF 0,2 à 8h	58
Figure 3.10 variation du pH, O ₂ , T de NF 0,2 à 13h	58
Figure 3.11 variation du pH, O ₂ , T de F 0,4 à 8h	59
Figure 3.12 variation du pH, O ₂ , T de F 0,4 à 13h	59
Figure 3.13 variation du pH, O ₂ , T de NF 0,4 à 8h	60
Figure 3.14 variation du pH, O ₂ , T de NF 0,4 à 13h	60
Figure 3.15 réacteurs R2 et R3 avant incubation	62
Figure 3.16 réacteurs R2 et R3 après incubation.....	63
Figure 3.17 variation du pH, O ₂ , T et A de R3 (1) à 8h	63
Figure 3.18 variation du pH, O ₂ , T de R3 (1) à 13h	64
Figure 3.19 variation du pH, O ₂ , T et A de R3 (2) à 8h	65
Figure 3.20 variation du pH, O ₂ , T de R3 (2) à 13h	65
Figure 3.21 variation du pH, O ₂ , T et A de R3 (2) à 8h	66
Figure 3.22 variation du pH, O ₂ , T de R3 (6) à 13h	66
Figure 3.23 variation du pH, O ₂ , T et A de R3 (12) à 8h	67
Figure 3.24 variation du pH, O ₂ , T de R3 (12) à 13h	67
Figure 3.25 visualisation macroscopique des réacteurs R3 (agrandissement x10)	68
Figure 3.26 réacteurs en colonnes R4 en condition mixotrophe (éclairage naturel).	69
Figure 3.27 variation du pH, O ₂ , T et A de R4 (0,4) à 8h	70
Figure 3.28 variation du pH, O ₂ , T, de R4 (0,4) à 13h	70
Figure 3.29 variation du pH, O ₂ , T et A de R4 (1) à 8h	71
Figure 3.30 variation du pH, O ₂ , T de R4 (1) à 13h	71
Figure 3.31 Variation du pH, O ₂ , T et A de R4 (6) à 8h.....	70
Figure 3.32 variation du pH, O ₂ , T de R4 (6) à 13h	70
Figure 3.33 variation du pH, O ₂ , T et A de R4 (12) à 8h	73
Figure 3.34 variation du pH, O ₂ , T de R4 (12) à 13h	73
Figure 3.35 blanchiment des R4.....	74
Figure 3.36 visualisation microscopique des R4 agrandissement x10	75
Figure 3.37 UVX radiomètre UVP.....	75
Figure 3.38 réacteurs R5 avant et après incubation.....	77
Figure 3.39 réacteurs R6 avant et après incubation.....	77
Figure 3.40 variation du pH, O ₂ , T et A de R5 (0,2) à 8h	78

Figure 3.41 variation du pH, O ₂ , T de R5 (0,2) à 13h	78
Figure 3.42 variation du pH, O ₂ , T et A de R5 (0,4) à 8h	79
Figure 3.43 variation du pH, O ₂ , T de R5 (0,4) à 13h	79
Figure 3.44 variation du pH, O ₂ , T et A de R5 (1) à 8h	80
Figure 3.45 variation du pH, O ₂ , T de R5 (1) à 13h	80
Figure 3.46 variation du pH, O ₂ , T et A de R5 (2) à 08h	81
Figure 3.47 variation du pH, O ₂ , T de R5 (2) à 13h	81
Figure 3.48 variation du pH, O ₂ , T et A de R5 (6) à 8h	82
Figure 3.49 variation du pH, O ₂ , T de R5 (6) à 13h	82
Figure 3.50 variation du pH, O ₂ , T de R5 (12) à 8h.....	80
Figure 3.51 variation du pH, O ₂ , T de R5 (12) à 13h	83
Figure 3.52 variation du pH, O ₂ , T et A de R6 (0,2) à 8h	84
Figure 3.53 variation du pH, O ₂ , T et A de R6 (0,2) à 13h	85
Figure 3.54 variation du pH, O ₂ , T et A de R6 (0,4) à 8h	85
Figure 3.55 variation du pH, O ₂ , T de R6 (0,4) à 13h	85
Figure 3.56 variation du pH, O ₂ , T et A de R6 (1) à 8h	86
Figure 3.57 variation du pH, O ₂ , T de R6 (1) à 13h	86
Figure 3.58 variation du pH, O ₂ , T et A de R6 (2) à 8h	87
Figure 3.59 variation du pH, O ₂ , T et A de R6 (2) à 13h	87
Figure 3.60 variation du pH, O ₂ , T et A de R6 (6) à 8h	89
Figure 3.61 variation du pH, O ₂ , T de R6 (6) à 13h	89
Figure 3.62 variation du pH, O ₂ , T et A de R6 (12) à 8h	90
Figure 3.63 variation du pH, O ₂ , T de R6 (12) à 8h	90
Figure 3.64 visualisations microscopiques des réacteurs R6 (agrandissement x10).....	91
Figure 3.65 visualisations microscopiques des réacteurs R6 (agrandissement x10).....	91
Figure 3.66 réacteurs avec de l'eau de robinet après incubation.....	92
Figure 3.67 Bioréacteurs R7 avant et après incubation.....	93
Figure 3.68 Conditions d'incubation des PRB R7	93
Figure 3.69 variation du pH, O ₂ , T et A de R7 (0,2) à 8h	94
Figure 3.70 variation du pH, O ₂ , T de R7 (0,2) à 13h	94
Figure 3.71 variation du pH, O ₂ , T et A de R7 (0,4) à 8h	95
Figure 3.72 variation du pH, O ₂ , T de R7 (0,4) à 13h	95
Figure 3.73 variation du pH, O ₂ , T et A de R7 (2) à 8h	96
Figure 3.74 variation du pH, O ₂ , T de R7 (2) à 13h	96
Figure 3.75 variation du pH, O ₂ , T et A de R7 (6) à 8h	97
Figure 3.76 variation du pH, O ₂ , T de R7 (6) à 13h	97
Figure 3.77 visualisation macroscopique des réacteurs R7 (agrandissement x10)	98
Figure 3.78 réacteurs R8 avant et après incubation.....	99
Figure 3.79 variation du pH, O ₂ , T et A de R8 (1) (1/2) à 8h	100
Figure 3.80 variation du pH, O ₂ , T de R8 (1) (1/2) à 13h	101
Figure 3.81 variation du pH, O ₂ , T et A de R8 (1) à 8h	102

Figure 3.82 variation du pH, O ₂ , T de R8 (1) à 13h	102
Figure 3.83 variation du pH, O ₂ , T et A de R8 (4) (1/2) à 8h	103
Figure 3.84 variation du pH, O ₂ , T de R8 (4) (1/2) à 13h	104
Figure 3.87 visualisation macroscopique des réacteurs R8 (agrandissement x10)	107
Figure 3.88 visualisation microscopique de chlorella naturelle (agrandissement x10)	108
Figure 3.89 Incubation de chlorella naturelle et commerciale	108
Figure 3.90 Variation du pH, O ₂ , T, A de R9 (C.N) à 08h.....	109
Figure 3.91 Variation du pH, O ₂ , T de R9 (C.N) à 13h	109
Figure 3.92 Variation du pH, O ₂ , T, A de R9 (C.C) à 08h.....	110
Figure 3.93 Variation du pH, O ₂ , T de R9 (C.C) à 13h.....	110
Figure 3.94 Visualisation microscopique de C.C (agrandissement x10)	111
Figure 3.95 Visualisation microscopique de C.N (agrandissement x10)	111
Figure 3.96 Evolution de la couleur de C.C et C.N.....	111
Figure 3.97 filtration du contenu des PRB du premier essai.....	112
Figure 3.98 Centrifugeuse et tubes utilisés pour centrifugation.....	113
Figure 3.99 Culot sous forme de gelé et de biomasse compacte.....	113
Figure 4.1 autoclave et milieu de culture	107
Figure 4.2 préparation du milieu de culture	108
Figure 4.3 coulage des boites de pétri	108
Figure 4.4 Découpe des puits	108
Figure 4.5 remplissage des puits et micropipette utilisé.....	109
Figure 4.6 l'incubation des boites de pétri et étuve utilisée	110
Figure 4.7 comparaison des diamètres de plage de lyse.....	110
Figure 4.8 solution avant et après mélange	112
Figure 4.9 Deuxième décantation.....	112
Figure 4.10 séchage des lipides et phase récupérée avant et après séchage.....	113
Figure 4.11 Quantité de lipids récupérée dans chaque PBR	113
Figure 4.12 encre de chine et échantillon.....	114
Figure 4.13 préparation des lames en utilisant une coloration à l'encre de chine.....	115
Figure 4.14 Matériels de la mise en évidence des EPS	115
Figure 4.15 microscopique qui confirme la présence des EPS (agrandissement x100).....	116
Figure 4.16 Equipements utilisés et lipides avant et après l'ajout d'acétone.....	116
Figure 4.17 graphique en barres représentant les concentrations des Ca des différents réacteurs	117
Figure 4.18 graphique en barres représentant les concentrations des Cb des différents réacteurs	118
Figure 4.19 graphique en barres représentant les concentrations des Caroténoïdes des différents réacteurs	118

Liste des tableaux

Tableau 1. 1	Evolution du nombre d'industries laitières par année en Algérie	4
Tableau 1. 2	Composition des deux types de lactosérum	6
Tableau 1. 3	les différents modes trophiques des micros algues	25
Tableau 2. 1	Matières premières utilisées/ cadence de production et volume du lactosérum généralisé dans la fabrication du camembert.	34
Tableau 2. 2	Matières premières utilisées/ cadence de production et volume du lactosérum généralisé dans la fabrication du gouda et edam.	35
Tableau 2. 3	Matières premières utilisées/ cadence de production et volume du lactosérum généralisé dans la fabrication du petit suisse.	36
Tableau 2. 4	Matières premières utilisées/ cadence de production et volume du lactosérum généralisé dans la fabrication du beurre.....	36
Tableau 2. 5	caractérisation préliminaire des différents prélèvements du lactosérum et du babeurre.	40
Tableau 2. 6	comparaison des différents rejets.	41
Tableau 2. 7	paramètres caractérisant l'étape d'atomisation.	44
Tableau 2. 8	Résultats du Milko scan pour les échantillons liquides.....	46
Tableau 2. 9	Résultats de quantification de la DCO et la DBO5 des solutions de poudre des lactosérums reconstituées.....	48
Tableau 3.1	Conditions d'incubation des PBRs fonctionnant en différents modes.....	55
Tableau 3.2	Suivie de l'acidification de la solution du lactosérum doux	74
Tableau 3.3	Suivi de l'intensité de la lumière dans le laboratoire d'analyses	75
Tableau 3.4	Quantité de la biomasse algale récupérée des différents bioréacteurs	104
Tableau 4.1	Diamètres des plages de lyse substrat lacto/lait.....	111

ABREVIATION	SIGNIFICATION
A	Absorbance
ATP	Adénosine Triphosphate
C.C	Chlorella Commerciale
CHI	Chlorophylles
CIP	Clean In Place
C.N	Chlorella Naturelle
CRBT	Centre de Recherche en Biotechnologie
C.V	Chlorella Vulgaris
DBO	Demande Biologique en Oxygène
DBO₅	Demande Biologique en Oxygène durant 5 jours
DCO	Demande Chimique en Oxygène
ENS	Ensemencement
EPS	Exopolysacharides
ES	Extrait Sec
ESD	Extrait Sec Dégraissé
F	Filtré
FAO	Organisation des Nations unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
LACTO	Lactosérum
LED	Light Emitting Diol
LIPE	Laboratoire d'Ingénierie des procédés d'Environnement
MG	Matière Grasse
MP	Matière Protéique
NADPH	Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate

ND	Non Détecté
NF	Nanofiltration
NF	Non filtré
OD	Oxygène dissous
OI	Osmose Inverse
ONIL	Office National Interprofessionnel du Lait et des produits laitiers
PBR	Photo Bio Réacteur
PSI	Photo Synthèse I
PSII	Photo Synthèse II
R	Réacteur
SUR	Surnageant
S/X	Substrat/Biomasse
T	Température
TBT	Tributylétain
VR	Volume du Réacteur

Introduction

L'industrie laitière génère d'importants déchets liquides, dont l'élimination nécessite un important investissement en capital.

Environ 85 % du lait total utilisé pour la fabrication du fromage est rejeté sous forme de lactosérum.

La plupart des usines laitières ne disposent pas de systèmes de traitement appropriés pour l'élimination du lactosérum. Sa mise en décharge constitue une perte importante d'aliments, car le lactosérum conserve environ 55% des nutriments totaux du lait. Parmi les plus abondants le lactose, les protéines solubles, les lipides et les sels minéraux.

Bien que plusieurs possibilités d'utilisation du lactosérum de fromage ont été explorées, une grande partie de la production mondiale de lactosérum de fromage est rejetée.

Son élimination en tant que déchet pose de sérieux problèmes de pollution pour le milieu environnant, car il affecte la structure physique et chimique du sol, entraînant une diminution du rendement des cultures, et lorsqu'il est rejeté dans les masses d'eau, il réduit la vie aquatique en oxygène dissous. Ainsi, le lactosérum constitue une menace majeure pour l'environnement et la santé humaine, Une solution efficace et permanente est nécessaire de toute urgence.

La plupart des pays industriellement développés ont une législation stricte régissant l'élimination de ces effluents. Les technologies de traitement biologique des eaux usées peuvent contribuer à une élimination plus sûre du lactosérum dans le respect des spécifications environnementales, mais elles sont coûteuses.

Pour surmonter ce problème, une meilleure alternative consiste à soumettre le lactosérum à des processus qui permettent de fabriquer des produits à valeur ajoutée qui contribue à l'amélioration de l'environnement et qui peuvent contribuer entièrement ou partiellement à la diminution des coûts d'élimination.

La disponibilité du lactose dans le lactosérum et la présence d'autres nutriments essentiels à la croissance des micro-organismes font du lactosérum une matière première puissante pour la production de différents bioproduits par des moyens biotechnologiques.

Les micro algues sont apparues comme une solution dans une optique de durabilité environnementales. En effet, elles pourraient permettre de retirer efficacement les nutriments en fortes concentrations dans les rejets industriels, avec comme second avantage de produire une biomasse pouvant être utilisée comme matière première à la production de nombreuses

substances à haute valeur ajoutée. Dans ce cas, le lactosérum constituerait une source peu coûteuse de substrat de culture.

Les microalgues sont un groupe diversifié d'organismes avec un potentiel important pour les applications industrielles : comme matière première dans l'aquaculture ainsi que dans la production de bioproduits précieux tels que les lipides, les chlorophylles, les caroténoïdes et les enzymes. De plus, les variations des facteurs de biotransformation (c'est-à-dire la température, le pH, la lumière, la source de carbone, la salinité, les nutriments, etc.) ont été utilisées pour améliorer à la fois la biomasse et les productivités de bioproduits spécifiques.

Notre choix s'est porté sur la *Chlorella vulgaris*, car c'est une souche micro algale verte d'eau douce capable de survivre et s'adapter au milieu de culture.

La présente étude est constituée de quatre chapitres, le premier (bibliographie) composé de deux parties regroupant, la recherche bibliographique sur toutes les notions et phénomènes facilitant la compréhension des études expérimentales. Le deuxième chapitre présente le site d'étude et la caractérisation, quantification de l'effluent ciblé (le lactosérum). Dans le chapitre trois on a l'incubation et le suivie des différents bioréacteurs dans le but d'une optimisation des conditions opératoires. Et pour finir le chapitre quatre aborde la caractérisation et la valorisation des sous-produits à partir de la biomasse algale produite.

Chapitre 1 :

Revue

bibliographique

1.1 Le lactosérum

1.1.1 Introduction

Autrefois considéré comme un déchet dans la fabrication du fromage et donc comme un sous-produit, le lactosérum est désormais considéré comme un coproduit. Il représente la transformation d'au moins 85% du lait en fromage, et son recyclage est une préoccupation à la fois économique et écologique, car il a une demande chimique en oxygène (DCO) de 50 à 70g/L, ce qui en fait un produit polluant qui ne peut pas être rejeté dans la nature. L'intérêt relativement nouveau pour le produit est principalement dû à sa composition riche en protéines, lactose et vitamines hydrosolubles. Le lactosérum frais sous forme liquide n'est pas facilement valorisé pour la consommation humaine, il n'est donc presque jamais utilisé sous cette forme.

Cependant, depuis 1970, plusieurs produits à haute valeur ajoutée ont vu le jour sous la forme concentrée et fractionnée de ce lactosérum. C'est notamment le cas des protéines, grâce à leurs fonctions intéressantes dans l'industrie agro-alimentaire. Il serait également intéressant d'étudier différentes manières de valoriser tous les composants de ce sous-produit. C'est pourquoi cette étude comprendra l'étude du lactosérum dans sa globalité, et les différentes voies de sa valorisation.

1.1.2 L'industrie fromagère

La fromagerie est une technologie alimentaire qui conduit à la production d'une très grande variété de fromages frais ou affinés, solide ou semi-solide obtenu par coagulation du lait, lait écrémé, lait partiellement écrémé, grâce à l'action de la présure ou la chymosine (coagulation enzymatique dominante) ou d'autres agents coagulants appropriés tels que les levains ou ferments lactiques (coagulation fermentaire prépondérante), suivi d'un égouttage plus ou moins poussé selon le type de fromage qui permet de générer le lactosérum [1].

1.1.3 Evolution de la transformation laitière en Algérie

Actuellement, l'industrie laitière se distingue par un marché en croissance constante. Son activité a progressé de façon continue au rythme très élevé de 9,2 % / an [2].

Ce développement est dû essentiellement à une forte croissance de la demande interne qui s'explique par une croissance démographique relativement importante, une forte urbanisation et surtout une nette amélioration du pouvoir d'achat du consommateur. (**Tableau 1.1**)

Tableau 1. 1 Evolution du nombre d'industries laitières par année en Algérie[2] [3]

année	1967	1988	1992	2000	2004	2012	2018
Nombre d'industrie	3	11	17	40	139	177	210

Par conséquent de l'augmentation du nombre d'industrie laitière, la quantité de lactosérum générée augmente. (**Figure 1.1**)

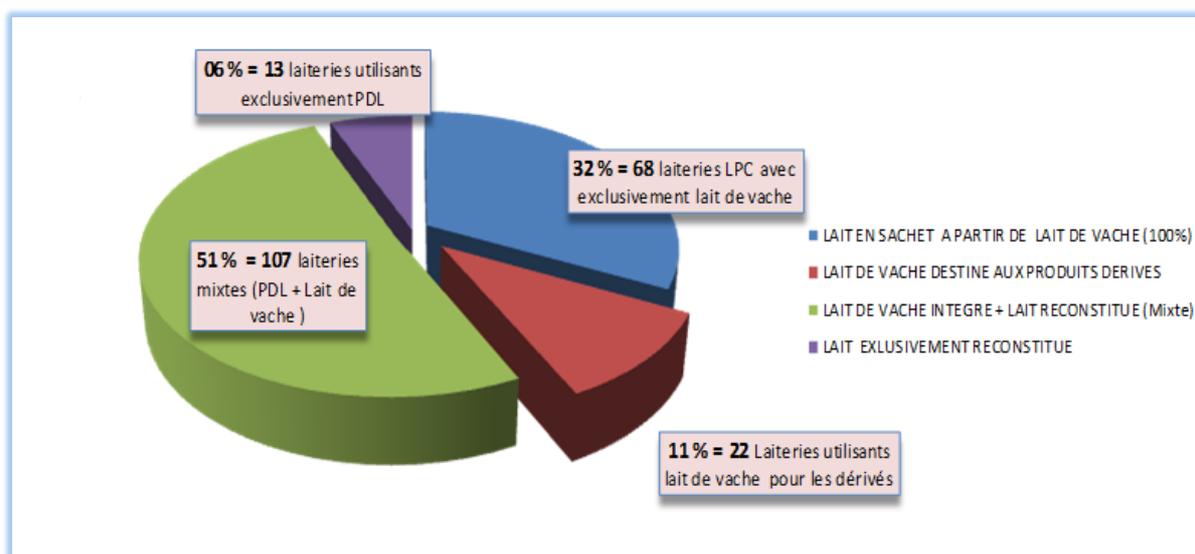


Figure 1. 1. Typologie des laiteries conventionnées avec l'ONIL (données 2018) [3]

1.1.4 Lactosérum

1.1.4.1 Définition

Le lactosérum est un sous-produit issu de la fabrication du fromage. En général, il est défini comme la partie du liquide ou du sérum de lait résiduel qui reste après la coagulation du lait et la séparation du caillé. En effet, le lactosérum représente environ entre 85% à 95% du volume du lait et conserve environ 55% des éléments nutritifs du lait[4] [5]. (**Figure 1.2**) (**Figure 1. 3**)



Figure 1. 2. Lactosérum généré du camembert (personnelle).

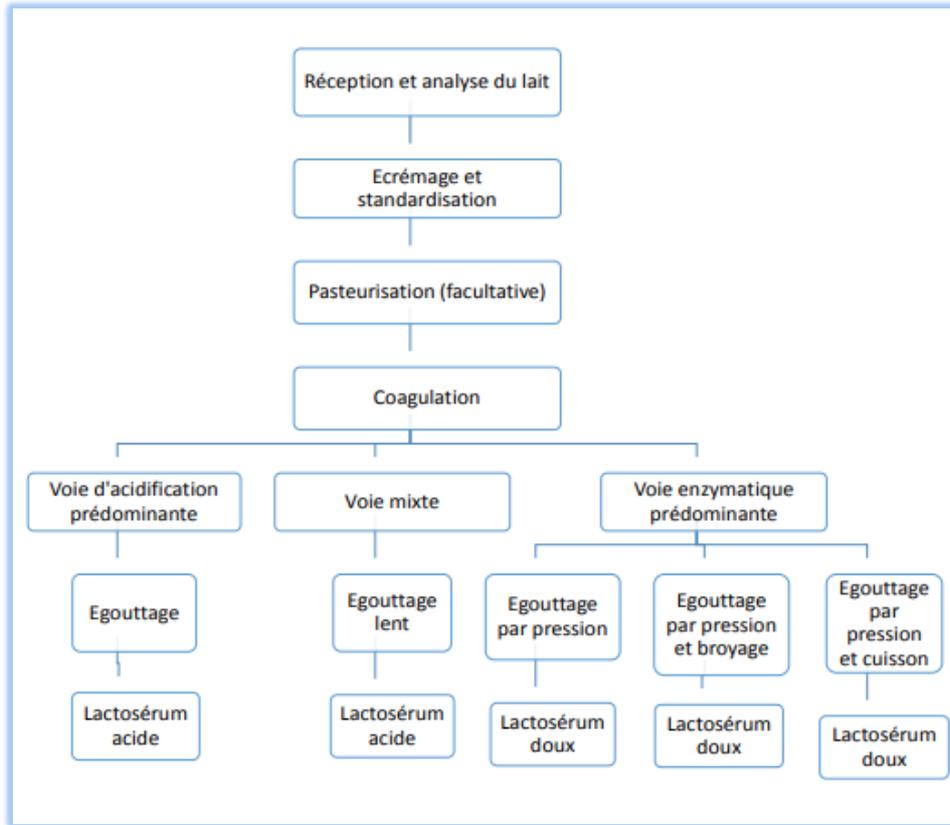


Figure 1. 3. Production des différents types de lactosérum [6]

1.1.4.2 Compositions et variétés

Le type et la composition du lactosérum dépendent principalement de la coagulation des caséines du lait. Les deux types de lactosérum sont le lactosérum doux et le lactosérum acide. (Tableau 1.2)

Le type le plus souvent connu de lactosérum provient de la fabrication de fromages où la transformation est basée sur la coagulation de la caséine par la présure. La présure induite par la coagulation de la caséine se produit à un pH d'environ 6,5, donc, le lait produit pendant le traitement enzymatique est désigné comme lactosérum doux [7][8].

Le second type de lactosérum est du lactosérum acide (pH inférieur à 5), qui est généré grâce à des acides organiques ou de chymosine afin de coaguler la caséine [7]. La principale différence entre les deux types de lactosérum réside dans leur contenu minéral (calcium et phosphates) et leur acidité (pH). Le lactose est le principal composant des deux lactosérums, il constitue approximativement 63 à 73% des solides totaux.

Tableau 1. 2 Composition des deux types de lactosérum [7]

Compositions (g/L)	Lactosérum doux	Lactosérum acide
Solides totaux	63-70	63-70
lactose	46-52	44-46
protéines	6-10	6-8
Acide lactique	2	6,40
Matières grasses	1	0,5
Calcium	0,4-0,6	1,2-1,6
phosphate	1-3	2-4,5
chlorure	1,10	1,10
pH	6,5	4,5

1.1.5 Le pouvoir polluant du lactosérum

L'industrie laitière doit faire sa part pour contribuer à la sécurité alimentaire mondiale de manière durable. Le lactosérum a une très grande importance dans l'industrie due au volume de production et sa composition nutritionnelle. De par les importantes quantités produites, le lactosérum est la substance la plus polluante issue de la fabrication de fromage dû à son haut contenu de matière organique [9]. En effet, la demande chimique en oxygène (DCO) du lactosérum est 100 000 mg O₂/L [10] et la demande biologique en oxygène (DBO) varie entre 40 000 et 60 000 mg de O₂/L alors que la limite de rejet pour une industrie traitant ses effluents de manière autonome est de 30 mg de O₂ /L[11].

Le rejet direct du lactosérum dans les cours d'eau (rivières, ruisseaux, etc.) provoque une baisse de la teneur en oxygène dissous, des problèmes d'eutrophisation et de toxicité qui modifient les propriétés physico-chimiques des écosystèmes aquatiques [1].

1.1.6 Production mondiale de lactosérum

Les industries laitières du monde entier génèrent de grandes quantités de lactosérum par litre de lait traité, en fonction des procédés employés et des produits fabriqués.

La production mondiale de lactosérum de fromage est de l'ordre de 145 millions de tonnes [12].

Sur ce total, 85 millions de tonnes peuvent être considérées comme étant utilisées industriellement et transformées en produits à valeur ajoutée.

Les quelques 60 millions de tonnes restantes sont utilisées directement dans les aliments liquides pour animaux, pulvérisées sur les champs comme engrais ou simplement jetées.

Sur la base de la répartition mondiale de l'utilisation du lactosérum, environ 60% est utilisé industriellement, ce chiffre passant de 80 à 90 % aux États-Unis et en Australie et seulement 60% d'utilisation en Europe.

La transformation industrielle du lactosérum provenant du reste du monde est encore à des niveaux comparativement faibles [13].

En Algérie, l'industrie fromagère rejette quotidiennement 6000 litres de lactosérum par jour, soit 4 à 12 kg pour 1 kg de fromage réalisé [14]. Depuis 2013, la production algérienne de fromage est de 1540 tonnes, ce qui se traduit par une production d'environ 14 millions de litres de lactosérum [15]. (Figure 1.4)

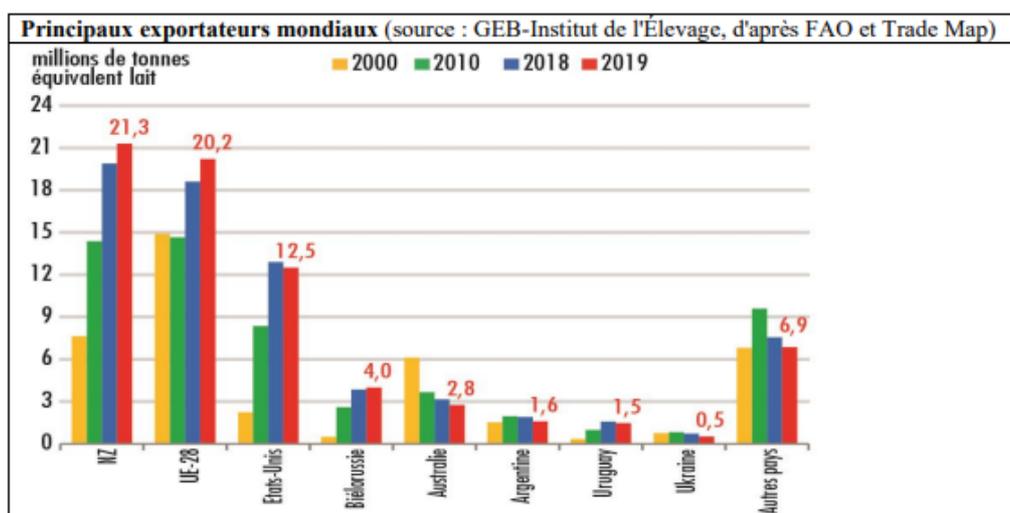


Figure 1.4 production mondiale de lactosérum [16]

1.1.7 Domaines d'utilisation du lactosérum

Le lactosérum peut être utilisé aussi bien sous sa forme la plus simple en tant qu'aliment, que sous sa forme la plus élaborée pour la pharmacie, pour la diététique ou pour l'alimentation humaine. Ces extrêmes sont économiquement possibles et encadrent toute une série de possibilités technologiquement faisables.

1.1.7.1 Usage agricole

a. Nutrition animale

Depuis de nombreuses années, le lactosérum fait partie de l'alimentation porcine. Ainsi que

70% des animaux en consomment. Certaines entreprises préfèrent récupérer le lactosérum dans les coopératives, puis elles le déshydratent avant de l'incorporer dans la composition de granulés pour les animaux. Entre quinze et vingt litres de petit-lait correspondent à la valeur nutritionnelle d'un kg d'aliment destiné à l'engraissement. L'intérêt de l'utilisation du lactosérum à des fins de nutrition dans le domaine animalier permet de valoriser un sous-produit de bonne valeur énergétique mais aussi de réduire la pollution organique [17].

1.1.7.2 Usage alimentaire

Le but est de récupérer les composés à haute valeur nutritive et fonctionnelle tels que les protéines et le lactose (environ 10g et 50g respectivement dans chaque litre de lactosérum) [18].

a. Lactose

Il est considéré comme étant un sucre pur soluble et de faible pouvoir sucrant, capable d'améliorer la texture des aliments. Le lactose récupéré peut être utilisé directement ou alors après sa transformation, ce qui présente un grand intérêt pour l'industrie alimentaire puisqu'il possède une forte valeur nutritive et de nombreuses propriétés il est utilisé dans les industries alimentaires, notamment en charcuterie, confiserie, boulangerie et biscuiterie[17].

b. Protéines

Les protéines du lactosérum sont un groupe de protéines globulaires qui représentent environ 20% des protéines totales du lait bovin. Elles possèdent une haute valeur nutritionnelle mais sont aussi utiles pour élaborer des produits diététiques et thérapeutiques. En effet, ces protéines laitières présentent plusieurs caractéristiques intéressantes, elles sont employées pour leurs bonnes solubilités, leurs propriétés moussantes et émulsifiantes. Elles sont aussi employées dans l'industrie agroalimentaire, telles que la fabrication des potages en poudre, des fromages fondus, des crèmes glacées, des mousses de foie et la panification[17].

1.1.7.3 Usage pharmaceutique

Elle utilise de grandes quantités de lactose raffiné comme charge dans la préparation de nombreux médicaments. En effet le lactose est considéré comme l'un des glucides les mieux adaptés à la préparation des milieux de fermentation destinés au développement des moisissures dans la fabrication des antibiotiques[19].

1.1.7.4 Usage biotechnologique

Le lactosérum par sa composition biochimique en particulier le lactose qui est principalement Utilisé comme source de carbone et d'énergie pour les milieux de fermentation par plusieurs microorganismes et microalgues ce qui permet sa valorisation pour des fins énergétiques[14].

1.1.8 Procédés physiques de valorisation du lactosérum

Le lactosérum doit être traité dès que possible, car sa composition favorise la croissance des bactéries. Ces dernières sont les responsables de la dégradation des protéines et de la formation d'acide lactique [20]. La récupération de fines, la séparation de gras, la concentration de solides totaux, le fractionnement de solides totaux sont quelques procédés physiques de valorisation du lactosérum [21].

1.1.8.1 Récupération des fines et séparation de gras

a. Clarification ou filtration de fines

Il consiste en l'étape de récupération de petites agglomérations des caséines connues aussi sur le nom de fines [21]. Ces dernières doivent être les premières à être enlevées afin de diminuer leur influence dans la séparation des graisses et de prévenir des problèmes de colmatage [5]. La teneur en fines séparables dans le lactosérum varie entre 0,05% et 0,20% pour les fromages à pâte ferme et semi-ferme tandis qu'elle est de 1% pour des fromages à pâte molle [22]. Différents dispositifs de séparation peuvent être utilisés, tels que des cyclones, des séparateurs centrifuges ou des tamis vibrants ou rotatifs [20].

b. Écrémage

C'est le processus de séparation de la matière grasse contenue dans le lactosérum. Cette étape utilise le principe de la centrifugation : la matière grasse de basse densité est dirigée à l'intérieur des canaux de l'équipement pendant que le lactosérum écrémé se déplace vers l'extérieur des canaux [5]. La teneur en matière grasse du lactosérum écrémé est de moins de 0,05%. La crème de lactosérum, souvent d'une teneur en matières grasses de 25 à 40%, peut être partiellement réutilisée dans la fabrication du fromage [22]. Dans certains cas, la crème de lactosérum est convertie en beurre de lactosérum [20].

1.1.8.2 La concentration de solides totaux

La concentration a comme but d'éliminer la quantité d'eau présente dans le lactosérum. Ce procédé permet de réduire le volume du lactosérum afin de faciliter le transport et de produire un produit de valeur ajoutée comme le lactosérum en poudre [21].

a. L'osmose inverse

Les technologies membranaires comme l'osmose inverse (OI) et la nanofiltration (NF) sont des technologies utilisées pour la concentration du lactosérum. Elles se distinguent par le diamètre de pores et la pression d'opération utilisée.

L'osmose inverse est un procédé baromembranaire qui permet de concentrer les solides totaux du lactosérum de 6 à 18% [23].

b. L'évaporation

C'est un procédé qui permet de retirer par ébullition l'eau présente dans le lactosérum. Normalement, le produit est chauffé avec de la vapeur dans un échangeur de chaleur qui a besoin d'une grande quantité d'énergie pour faire bouillir l'eau [5]. La chaudière pour faire bouillir l'eau est habituellement alimentée au mazout, au charbon ou au gaz [20]. L'évaporation permet la concentration de solides totaux entre 45 et 60%.

c. Le séchage

Le séchage consiste à chauffer le produit dans des conditions contrôlées afin d'évaporer la majorité de l'eau qu'il contient. Le séchage sur rouleaux, le séchage sur lit fluidisé et le séchage par atomisation sont quelques technologies utilisées. Cependant, le séchage par atomisation est le plus courant dans l'industrie laitière au Québec [5].

Le séchage par atomisation consiste à transformer un liquide en brouillard ou en gouttelettes. Les gouttelettes sont formées par un atomiseur, une roue rotative ou à haute pression. Ces gouttelettes sont mises en contact avec de l'air chaud et sec dans une chambre de séchage, la poudre produite en continu est évacuée de la chambre de séchage et récupérée en utilisant des cyclones, des filtres à manches ou une combinaison des deux [24].

En fonction des besoins du processus, des tailles de 10 à 500 microns peuvent être obtenues [20].

Grâce au séchage par atomisation, la production de lactosérum en poudre est possible. Le séchage doit être réalisé en deux phases. Dans la première phase, le lactosérum est évaporé jusqu'à une teneur en matière sèche comprise entre 58 - 62%. Dans la deuxième phase, le

concentré est transformé en poudre dans un séchoir à pulvérisation [20]. L'évaporation est nécessaire pour produire une poudre de haute qualité. La poudre de lactosérum est aussi utilisée dans plusieurs produits laitiers tels que la crème glacée, les desserts congelés et les préparations de fromage fondu. Ces solides du lactosérum pourraient remplacer la poudre de lait écrémé ou une partie de celle-ci. Cette substitution est très avantageuse due au coût inférieur du lactosérum en poudre. D'autres industries alimentaires telles les boulangeries, l'industrie de la confiserie et l'industrie de la viande utilisent aussi la poudre de lactosérum afin de développer de nouveaux produits [25]. **(Figure 1.5)**

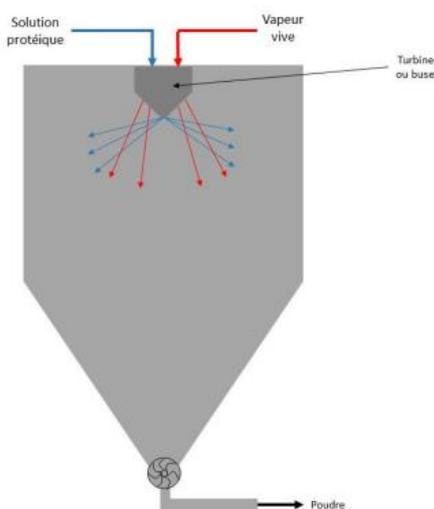


Figure 1. 5 schéma d'un atomiseur co-courant[17].

1.1.9 Procédés biotechnologiques de valorisation du lactosérum

Le lactose est la source de carbone ou nutriment principal pour les microorganismes à l'origine de la fermentation permettant la production de biogaz, de biomasse, d'alcools, d'acides organiques, d'acides aminés, d'enzymes ou de lipides [5].

1.1.9.1 Production de biogaz

La méthanisation est un procédé de traitement par digestion anaérobie qui transforme la matière organique en méthane et gaz carbonique. La méthanisation permet d'éliminer la pollution organique tout en consommant peu d'énergie et en générant une énergie renouvelable le biogaz ou CH_4 [26]. les microorganismes de l'espèce *Methanobacterium* fermentent le lactose afin de produire du biogaz avec 50-70% (v/v) de méthane, 30-40% (v/v) de dioxyde de carbone et 1-10% (v/v) d'hydrogène [27].

1.1.9.2 Production de bio hydrogène

L'hydrogène (H_2) est dérivé du traitement du combustible (la pyrolyse des hydrocarbures); ou de l'eau (l'hydrolyse), mais l' H_2 peut également être obtenu par fermentation anaérobie.

Actuellement, seulement 1% de la production mondiale de H_2 est produite par une fermentation anaérobie à l'aide de microorganismes tels que Clostridia [28][29]. La production a été largement étudiée en tant que source d'énergie pour remplacer les combustibles fossiles en raison de son pouvoir calorifique de 142 kJ/g [30].

1.1.9.3 Production de biomasse

Le lactosérum contient du lactose (source de carbone organique), des protéines solubles (source d'azote protéique) et des sels contenant l'azote (source d'azote non protéique) requis pour la croissance de certains microorganismes. Ils contiennent également des vitamines hydrosolubles et constituent donc un excellent milieu basal pour tout type de culture (bactéries, champignons, microalgues) [31].

1.1.9.4 Production d'acide lactique

Les microorganismes de l'espèce Lactobacillus sont les plus utilisés pour la conversion de lactose contenu dans le lactosérum en acide lactique [32].

L'acide lactique a plusieurs applications dans les industries alimentaires, pharmaceutiques et chimiques [27][26]. Au cours des dernières années l'intérêt de la production d'acide lactique a augmenté puisqu'il peut être utilisé pour la production d'acide polylactique. Ce dernier est un polymère utilisé pour la production de plastiques biodégradables [8].

1.1.9.5 Production d'alcool

Éthanol : La production d'éthanol à partir du lactosérum a été très étudiée dans le monde dû à la haute teneur en carbohydrates disponible dans ce résidu fromager [33][34]. Le lactose est fermenté en utilisant des conditions de levure et des conditions d'opération anaérobies afin de produire de l'éthanol et du CO_2 . Après la fermentation, l'éthanol produit est séparé par distillation puis déshydraté pour pouvoir être utilisé comme carburant.

Butanol: Le butanol (C_4H_9OH) présente plusieurs avantages par rapport à l'éthanol principalement par rapport à la facilité de mélange avec l'essence, un contenu énergétique élevé, une faible miscibilité avec l'eau et une faible volatilité [26]. Le butanol possède un pouvoir calorifique supérieur de 36,1 kJ/g, qui est plus élevé que celui de l'éthanol (29,8 kJ/g) et peut être utilisé comme biocarburant [35].

1.2 Les micros algues

1.2.1 Introduction

Les microalgues sont des microorganismes très anciens. Ils ont transformé et oxygéné l'atmosphère terrestre primitive et ils participent encore au maintien de son équilibre chimique. Il existerait au moins 100 000 espèces de microalgues, dont une cinquantaine seulement sont bien connues parmi les 40 000 déjà étudiées. Il reste donc encore un très grand potentiel à explorer. Ces microorganismes primitifs capturent, concentrent et fixent efficacement l'énergie diffuse de la lumière ou de sources organiques dans la biomasse algale. Cette biomasse peut alors générer divers biocarburants. De plus, les microalgues peuvent aussi produire des substances nutraceutiques rentables, de grandes quantités de protéines et des fertilisants. Les procédés de production de biomasse algale sont variés.

La production industrielle de microalgues se présente donc, de plus en plus, comme une solution durable intéressante pour faire face aux problématiques énergétiques, environnementales actuelles. Des facteurs de production, comme : le climat, la localisation, les souches de microalgues, la disponibilité des ressources de base et le marché des produits à valeur ajoutée, peuvent grandement influencer la productivité. Ainsi, ces facteurs influencent le niveau d'applicabilité des projets basés sur le concept algal.

1.2.2 Les micros algues

1.2.2.1 Définition

Les microalgues sont des micro-organismes végétaux photosynthétiques eucaryotes ou procaryotes, elles peuvent être unicellulaires ou multicellulaires. Ce sont des organismes microscopiques de l'ordre de quelques micromètres délimités par une membrane plasmique [36].

Elles ont la capacité de se développer rapidement et croître dans des conditions extrêmes (espèces halophiles dans les milieux très salés, et espèces thermophiles dans les milieux très chauds). Les microalgues sont présentes dans quasiment tous les écosystèmes terrestres. Il existe une biodiversité très vaste de microalgues (50000 à 1 million d'espèces estimées pour 30000 étudiées) [37].

Ces micro-organismes photosynthétiques sont considérés comme les premiers producteurs d'oxygène indispensable à la respiration de la majorité des êtres vivants. Ils présentent des caractéristiques similaires aux plantes, mais leur structure permettant une meilleure

accessibilité de l'eau, du dioxyde de carbone et d'autres nutriments, leur permet d'avoir une efficacité photosynthétique supérieure [38].

1.2.2.2 Composition

Les microalgues ont une composition biochimique naturelle. Elles sont constituées majoritairement de carbone [39].

La composition interne en métabolites varie selon les espèces, mais peut aussi varier énormément selon les conditions du milieu [40].

En effet, leur teneur en protéines présentes l'une des principales raisons pour les considérer comme une source non conventionnelle de protéines [41]. En outre, comme les cellules micro algales sont capables de synthétiser tous les acides aminés, elles peuvent fournir les acides aminés essentiels aux humains et aux animaux [42].

Les glucides peuvent être trouvés dans les microalgues sous forme d'amidon, de glucose, de saccharose et d'autres polysaccharides, sa capacité à auto-fermenter son amidon en fait un bon candidat pour la production d'éthanol. Leur digestibilité globale est élevée, c'est pourquoi il n'y a pas de limitation à l'utilisation de microalgues entières séchées dans l'alimentation animale et humaine [43].

La teneur moyenne en lipides des cellules micro algales varie entre 1% et 70%, et sous certaines conditions elle peut atteindre 90% de poids sec [44].

Les lipides des microalgues sont composés de glycérol et de bases estérifiées en acide gras saturés ou insaturés. D'une part, certains acides gras en famille Oméga-3 et Oméga-6 présentent un intérêt particulier. Ils peuvent être utilisés dans l'industrie cosmétique (pour la préparation de crème anti rides grâce à leurs grandes capacités de régénération de la peau).

D'autre part, la forte teneur en lipides neutres de la classe des triglycérides de certaines espèces de microalgues pourrait devenir une source de biodiesel intéressante [45].

Les microalgues sont également riches en pigment tel que la chlorophylle. Ce pigment leur permet d'avoir une couleur, et leur confère la capacité de synthétiser la matière organique nécessaire à leur développement à partir de molécules simples comme le gaz carbonique et l'eau [46].

Les microalgues représentent également une source possible de presque toutes les vitamines essentielles (A, B1, B2, B6, B12, C, E, le nicotinate, le biotine et l'acide folique) [43], en effet, les vitamines améliorent la valeur nutritionnelle des cellules d'algues, mais leur quantité peut

être effacée par plusieurs facteurs tels que l'environnement, le traitement de récolte et la méthode de séchage des cellules [47].

Les microalgues ont plusieurs avantages dans la synthèse industrielle des enzymes par rapport à d'autres cellules microbiennes en raison de leurs faibles besoins nutritionnels (lumière naturelle ou artificielle, CO₂, eau, source d'azote et quelques sels minéraux), ce qui réduit les coûts de production, les progrès les plus récents des techniques de lyse cellulaire ont fourni un rendement d'extraction élevé de plusieurs métabolites à partir de microalgues. Différentes classes d'enzymes ont été signalées, y compris les hydrolases, les oxydoréductases et les lyases [48].

Ainsi, cette composition donne des qualités intéressantes aux microalgues, qui peuvent être introduites dans la nutrition humaine et animale. Cependant, avant la commercialisation, l'innocuité des microalgues doit être testée afin de vérifier la présence ou non de composés toxiques [49].

1.2.3 Principe de fonctionnement :

1.2.3.1 La photosynthèse

C'est le processus biologique permettant aux organismes autotrophes, tels que les algues, les plantes, certaines bactéries et cyanobactéries, de convertir l'énergie lumineuse en énergie chimique. *Chlorella vulgaris* appartient à la famille des Chlorophytes, son unique chloroplaste contient les chlorophylles (Chi) a et b, ainsi que les caroténoïdes comme pigments accessoires. C'est au sein du chloroplaste que l'appareil photosynthétique, comprenant le photo système I (PSI) et le photo système II (PSII), est sollicité (**Figure 1.6**) Le PSII absorbe les photons dans une longueur d'onde maximale de 680 nm, générant un oxydant capable de séparer l'eau en proton (H⁺), en électrons et en oxygène (O₂) (**Figure 1.6**) Les électrons sont par la suite transférés par une série de transporteurs d'électrons vers le PSI, où des photons ont été absorbés sous une longueur d'onde maximale de 700 nm, afin de réduire la ferrédoxyne et la nicotinamide adénine dinucléotide phosphate (NADPH). Le NADPH, le CO₂, ainsi que l'adénosine triphosphate (ATP) sont ensuite utilisés dans le cycle de Calvin pour la réduction du carbone nécessaire à la croissance cellulaire. L'excès de carbone produit par la photosynthèse est conservé dans la cellule sous forme de glucides ou de lipide, selon la souche algale [50].

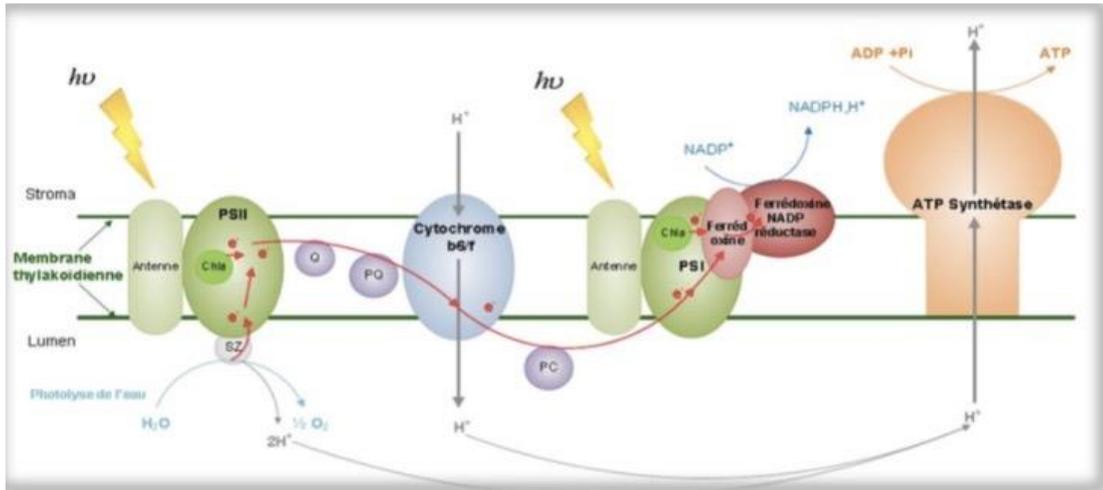


Figure 1. 6 La chaîne photosynthétique [51]

- **Phase d'assimilation du CO₂ ou phase obscure (cycle de Calvin)**

Cette phase se déroule dans le stroma et ne nécessite pas directement de la lumière. Cette phase va réduire le CO₂ en matières organiques (glucides, lipides et protéines)[52]. L'ATP et le NADPH, H⁺ formés lors de la phase photochimique sont nécessaires pour la fixation du carbone. Le CO₂ va interagir avec le ribulose 1-5, diphosphate dans une réaction catalysée par l'enzyme nommée RubisCo. Cette enzyme est donc responsable de la fixation catalytique du CO₂ dans la cellule [53]. La fixation de carbone est dépendante des produits créés pendant la phase éclairée mais ne dépend pas directement de l'énergie lumineuse. Par contre cette phase a besoin d'un apport continu en ribulose 1-5, diphosphate. Cette molécule est régénérée lors du cycle de Calvin. (Figure 1.7)

Le cycle de Calvin est composé de trois phases :

- la phase de carboxylation (intégration du CO₂)
- la phase de réduction
- la phase de régénération[51].

Pour une molécule de CO₂ fixée, trois molécules d'ATP et deux molécules de NADPH, H⁺ sont consommées.

Dans des conditions optimales, 10 à 16 moles de photons sont nécessaires pour fixer une mole de CO₂ [54]. En théorie huit moles de CO₂ sont nécessaires. Les moles en plus correspondent aux besoins minimums de la cellule en énergie [55].

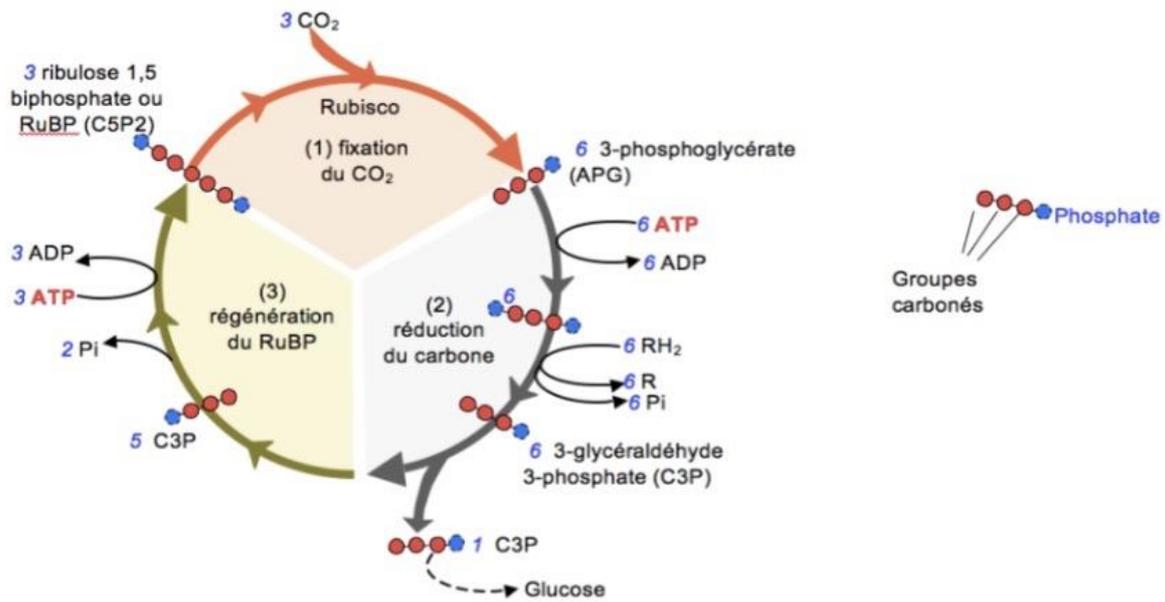


Figure 1. 7 Le cycle de Calvin [56]

1.2.4 Types des micros algues

1.2.4.1 Diatomées

Plus de 100 000 espèces de diatomées sont connues. Elles forment des colonies qui apparaissent généralement brunes ou jaunes [57]. Elles sont caractérisées par leurs armures de silice qui présentent des structures géométriques complexes et extrêmement variées. Les enveloppes de silice des diatomées sont très résistantes et persistantes. Elles ont fait l'objet de recherches intensives aux États- Unis parce qu'elles produisent des huiles et des protéines intéressantes [57]. (Figure 1.8)

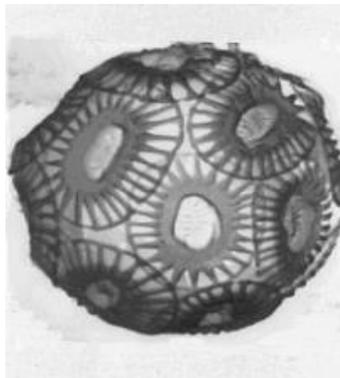


Figure 1. 8 Diatomées (bacillariophycées) - *Emilianahuxleyi* [58]

1.2.4.2 Algues vertes

Les chlorophycées sont très abondantes en eaux douces. Elles peuvent se développer en mode unicellulaire ou en colonies qui peuvent devenir très denses. Elles accumulent l'énergie qu'elles capturent, principalement par photosynthèse, sous la forme d'hydrates de carbone et d'huiles. Elles peuvent tolérer plusieurs types de conditions. Elles se sont d'ailleurs adaptées à des milieux étonnement variés [59]. **(Figure 1.9)**

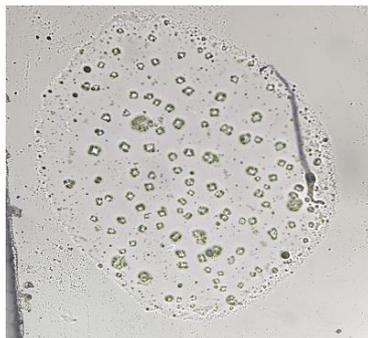


Figure 1. 9 chlorella visualisation personnelle

1.2.4.3 Algues bleues

Cette famille très ancienne de micro algues compte environ 2 000 espèces dans divers habitats. Elle absorbe et fixe l'azote directement à partir de l'atmosphère. Des espèces de cyanobactéries peuvent être aussi rouges, jaunes ou brunes. Mais leur couleur caractéristique bleue signale trop souvent des eaux polluées. Elles ne nécessitent essentiellement que de quatre sources vitales : eau, lumière, azote et on peut en trouver dans tous les habitats, aquatiques ou terrestres. Les spirulines (*Spirulina* sp.) sont parmi les plus produites dans le monde essentiellement pour la consommation humaine [60]. **(Figure 1.10)**

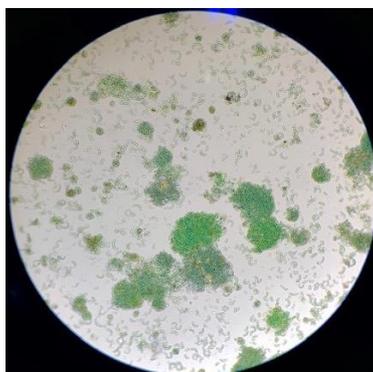


Figure 1. 10 Figure visualisation microscopique de la spiruline
(visualisation personnelle)

1.2.4.4 Algues dorées

Se trouvent surtout en eaux douces et on en compte environ 1 000 espèces. Elles ressemblent aux diatomées mais elles peuvent arborer plus de couleurs que ces dernières : du jaune au

brun en passant par l'orange. Chez plusieurs espèces d'algues dorées, l'enveloppe est principalement composée de silice et en plus faibles proportions de cellulose[57]. (**Figure 1.11**)

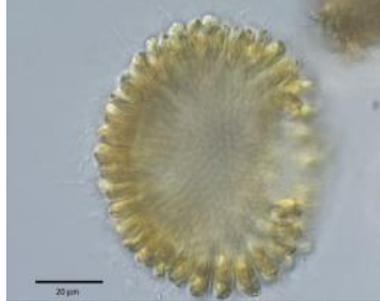


Figure 1. 11 Algues dorées (chrysophycées) Urogleopsis [61]

1.2.5 Culture des micros algues

1.2.5.1 Les systèmes de cultures

Deux moyens principaux de cultures de microalgues ont été développés, aussi bien à l'échelle laboratoire qu'à l'échelle industrielle. Les systèmes ouverts, où une partie importante de la culture est exposée à l'atmosphère, appelés bassins. Les systèmes fermés, où les cultures n'ont pas, ou peu, de contact direct avec l'atmosphère, ces systèmes sont appelés photobioréacteurs [62]. Le choix du système de production dépend du degré de contrôle nécessaire à la production du produit voulu et de sa valeur [63]. Au niveau industriel, les microalgues sont souvent cultivées en bassin mais la production de molécules à haute valeur ajoutée ne peut pas se faire en système ouvert [64].

a. Systèmes ouverts

Les systèmes ouverts sont les systèmes d'exploitation qui ont été majoritairement utilisés pour la culture industrielle des microalgues dans les dernières décennies. Les systèmes ouverts sont plus faciles et moins chers à construire et à exploiter que les réacteurs fermés. Les bassins varient par leur forme, le type de matériaux utilisés, le système de mélange du milieu [65].

Plusieurs familles de bassin existent :

- Les bassins naturels (**Figure 1.13**)
- Les bassins circulaires
- Les raceways (**Figure 1.12**)



Figure 1. 13 Culture de spiruline en raceway Californie [77]



Figure 1. 12 Bassins naturels[77]

b. Systèmes fermés

Les photobioréacteurs (PBR) sont des réacteurs fabriqués à partir de matériaux transparents. Leur conception est basée sur la surface éclairée, l'efficacité du mélange et le contrôle des paramètres de culture (température, teneur en dioxyde de carbone et en oxygène, pH), pour atteindre une productivité maximale. Les systèmes fermés ont été conçus pour pallier les problèmes des bassins [65]. Les PBRs offrent un contrôle des conditions de culture et des risques de contamination beaucoup plus étroit. Ils permettent ainsi une meilleure productivité pouvant atteindre $47 \text{ g.m}^{-2}.\text{jour}^{-1}$ [66][67].

Il existe différents types de PBRs qui peuvent être opérés en mode « batch », continu ou semi-continu, et la recherche se poursuit afin de développer de nouveaux systèmes permettant une production à grande échelle [68]. Cependant, la conception des photobioréacteurs doit être optimisée pour chaque espèce de microalgues, par rapport à ses caractéristiques physiologiques et à ses caractéristiques de croissance. De plus, les photobioréacteurs restent très chers à produire et à exploiter [69].

- **Les PBRs tubulaires**

Approprié pour la culture extérieure, ce système permet d'optimiser la surface exposée à la lumière. Les cultures microalgales sont pompées à travers de longs tubes transparents. Qu'ils soient horizontaux, verticaux, inclinés ou en hélice, la configuration dépend des spécifications du système et de l'espèce cultivée. Les systèmes verticaux offrent un meilleur transfert de masse et une économie d'énergie par rapport aux systèmes horizontaux, qui eux sont plus envisageables à grande échelle mais qui requièrent une plus grande superficie [70]. (**Figure 1.14**)



Figure 1. 14 PBRs tubulaires (Greenwell) [66]

- **Les PBRs colonnes**

Les PBRs colonnes peuvent être brassées mécaniquement mais plus souvent par bullage. Les colonnes sont placées verticalement, aérées par le bas et éclairées à travers leurs parois transparentes. Elles présentent plusieurs avantages dont un contrôle accru des conditions de culture, un brassage efficace et un taux de transfert gazeux supérieur. Plusieurs PBRs expérimentaux se présentent sous cette forme et ces systèmes peuvent être envisagés pour la culture de masse entre autres à cause de l'optimisation de l'utilisation des surfaces, qu'ils offrent [71]. (**Figure 1.15**)



Figure 1. 15 Les PBRs colonnes [71]

- **Les airlifts**

Les photobioréacteurs dits airlifts ou à circulation par air sont des systèmes gaz/liquide caractérisés par la circulation du fluide qui est cyclique [72].

Deux types d'airlifts existent : le photobioréacteur est désigné airlift interne à cause de la présence d'une chicane ou de deux cylindres concentriques, ou il peut être nommé airlift externe [72]. Ils sont caractérisés par leur efficacité de l'aération, l'excellent contact entre les phases gazeuses et liquides (permet l'enlèvement des gaz produits, le mélange du milieu, et la

diminution du stress lié au cisaillement sur les cellules), et Faible énergie de fonctionnement. Mais aussi des inconvénients tel qu'un grand coût de construction et une faible surface d'illumination[72].

- **Les photobioréacteurs plans**

Apparus dans les années 50, ces photobioréacteurs ont des avantages pour la culture de masse. Les photobioréacteurs plans sont des réacteurs de faibles épaisseurs, généralement inférieures à 10 cm cela permet de réduire le chemin lumineux [73]. Ils sont disposés verticalement ou horizontalement avec une certaine inclinaison pour maximiser l'intensité lumineuse incidente [45]. **(Figure 1.16)**



Figure 1. 16 Les PBRs plans [74]

- **Les Photobioréacteur « Plastic-bag » ou gaine**

Ces photobioréacteurs sont des gaines en plastiques, suspendues à chaque extrémité à une structure en métal et généralement éclairées par des néons. D'environ une centaine de litres de culture, le milieu est mélangé par aération. La culture peut se faire en continu ou en batch. Ce système a un faible ratio surface/volume et peut avoir des problèmes d'encrassement. Ce système est encore utilisé par certaines entreprises pour sa simplicité et sa facilité d'utilisation [75]. **(Figure 1.17)**



Figure 1. 17 Système -plastic bag- [76]

- **Les fermenteurs**

Un autre type de réacteur existe pour la culture de microalgues : les fermenteurs. Certaines espèces de microalgues peuvent croître en hétérotrophie, c'est à dire sans lumière et avec comme source de carbone des composés organiques comme du sucre. Le système des fermenteurs est une technologie bien connue, sophistiquée et qui existe à grande échelle (jusqu'à 500000 L). Tous les paramètres de la croissance sont facilement contrôlables [65].
(Figure 1.18)



Figure 1. 18 Les Fermenteur de production d'Oméga-3 à partir de microalgues

1.2.6 Les phases de croissance des microalgues

Dans un mode de culture batch, la biomasse et les nutriments sont incorporés au début et aucun ajout n'est effectué par la suite. Dans un tel cas, la croissance de la biomasse est donc ralentie lorsqu'un des éléments essentiels pour la division cellulaire n'est plus présent en quantité suffisante pour soutenir le métabolisme. Cette méthode de culture est particulièrement utile pour l'étude des conditions limitantes pour la croissance cellulaire.

En effet, lorsqu'il n'y a aucun ajout de nutriments, l'évolution théorique de la croissance se fait selon cinq phases : **(Figure 1.19)**

- Phase de latence : Les cellules ont besoin d'un certain temps d'acclimatation au nouvel environnement [77].
- Phase de croissance exponentielle : La croissance est exponentielle et est maintenue constante jusqu'à ce que la composition du milieu ne soit plus optimale [77].
- Phase stationnaire : Un des éléments du milieu devient limitant. Les quantités de cellules qui se divisent et qui meurent sont égales, ce qui produit un plateau de croissance. Les lipides et les glucides peuvent continuer à s'accumuler dans cette phase [77].

- Phase de décroissance : La plupart des cellules ont épuisé leurs réserves intracellulaires de composants et elles n'ont plus suffisamment d'énergie à leur disposition pour poursuivre la maintenance cellulaire et meurent [54].

1.2.7 Modes de nutrition

Le carbone inorganique disponible pour les cellules se présente principalement sous la forme de CO_2 ou de HCO_3^- . Le CO_2 est la seule forme de carbone qui peut traverser librement la membrane cellulaire ou l'enveloppe du chloroplaste par diffusion. Le CO_2 et le HCO_3^- peuvent être transférés dans la cellule via un mécanisme de transport actif dans la membrane. Les microalgues ont démontré une capacité à utiliser différentes formes de carbone, même celui présent sous forme de composés aromatiques [78]. (**Tableau 1.3**)

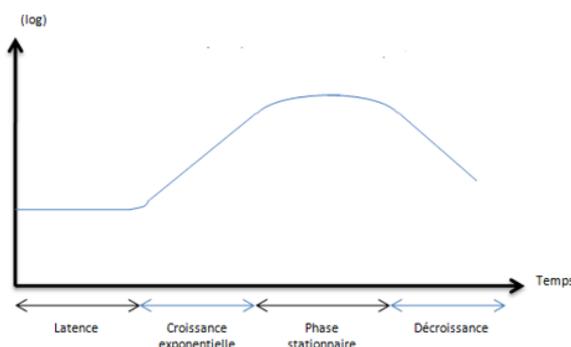


Figure 1.19 courbe de croissance d'une micro algue

1.2.7.1 Autotrophie

Les autotrophes utilisent la lumière comme source d'énergie et le CO_2 gazeux, ou carbone inorganique, comme source de carbone. Il s'agit du processus de photosynthèse [78].

1.2.7.2 Hétérotrophie

Les hétérotrophes sont des organismes qui peuvent fonctionner sans lumière en utilisant, pour se développer, l'énergie chimique et le carbone issus d'autres matières organiques. Plusieurs espèces produisent des lipides et d'autres composés recherchés. La production est effectuée en mode fermé dans des bioréacteurs semblables à des fermenteurs. Les niveaux élevés de productivité enregistrés sont prometteurs pour la production de biocarburants [78].

1.2.7.3 Mixotrophie

Il s'agit de la capacité à modifier sa source de carbone selon les besoins (autotrophe ou hétérotrophe). Certaines espèces de microalgues sont mixotrophe, ou également appelées photoautotrophes facultatives, puisqu'elles sont en mesure d'utiliser le CO_2 comme source de

carbone et la lumière comme source d'énergie. Cependant, elles peuvent également utiliser le carbone organique pour combler les besoins en carbone nécessaires à leur croissance [79].

Tableau 1. 3 les différents modes trophiques des micros algues

Modes trophiques	Nutriments	Molécules générées	Voies métaboliques
Autotrophe	H ₂ O, CO ₂ , et sels minéraux	O ₂ et composés organiques	Photosynthèse
Hétérotrophe	MO, O ₂	CO ₂ , H ₂ O et composés organiques	Respiration
Mixotrophe	H ₂ O, CO ₂ , O ₂ , MO, sels minéraux	O ₂ , CO ₂ , H ₂ O et composés organiques	Photosynthèse et Respiration

1.2.8 Les conditions influençant la culture

1.2.8.1 Source de lumière

La source de lumière utilisée pour éclairer le photobioréacteur peut être interne ou externe. La distance entre les cellules et la source de lumière influence grandement l'efficacité d'éclairement. En effet, une distance plus petite est théoriquement préférable puisqu'elle assure une utilisation maximale de la lumière par les algues et limite les effets d'ombrage entre les cellules. Une luminosité bien répartie permet donc d'atteindre des densités de biomasse plus importantes, puisque même les cellules se trouvant au centre peuvent avoir accès à la source de lumière. Toutefois, selon le type d'éclairage sélectionné, un éclairage interne peut être impossible dû à la production importante de chaleur par certaines sources de lumière conventionnelles [68]. Les diodes électroluminescentes (LED) deviennent populaires pour ce genre d'applications puisqu'elles ont l'avantage de produire peu de chaleur, de consommer peu d'énergie et peuvent avoir de petits diamètres qui permettent de les inclure à l'intérieur des photobioréacteurs étroits [68]. La lumière, bien qu'essentielle pour la croissance des algues en photoautotrophe et photohétérotrophe, ne doit pas être utilisée en excès. Dans la plupart des cas, les algues ont une cinétique de croissance en fonction de l'éclairement. Une augmentation linéaire de la croissance est observée initialement avec l'augmentation de l'éclairement jusqu'à un niveau de saturation qui est spécifique à chaque espèce. Dans le cas de l'algue *Porphyridium purpureum* par exemple, la saturation survient autour de 100 ($\mu\text{E}/\text{m}^2 \text{ s}$). La valeur de saturation lumineuse de l'espèce ciblée est donc

importante à connaître puisqu'elle permet de réduire les pertes d'énergie qui pourraient résulter d'un éclairage excessif. De plus, des phénomènes de photoinhibition peuvent survenir à des niveaux d'éclairage beaucoup trop importants[80].

1.2.8.2 La température

Une variation importante de la température peut affecter les diverses réactions biochimiques à l'intérieur de la cellule. Ces effets peuvent affecter les vitesses et les capacités d'acquisition des nutriments. De la même façon, la température peut modifier la composition chimique intracellulaire en modifiant la nature des composés présents dans le milieu. Elle affecte également la croissance algale. Le taux de croissance augmente avec la température, jusqu'à l'atteinte de la température optimum de croissance. Par la suite, l'effet s'inverse et la croissance peut alors être ralentie par une température trop élevée. Il a été démontré avec *Chlorella* que le métabolisme cellulaire est ralenti à de faibles températures, mais que la quantité de lumière reçue est la même. La cellule reçoit donc plus d'énergie qu'elle ne peut en transformer [81]. Les modifications du métabolisme sont alors semblables à celles utilisées pour contrer la photoinhibition. *Chlorella vulgaris* est une espèce mésophile qui a une température optimale de croissance autour de 25 °C [82].

1.2.8.3 Le pH

Comme pour la température, chacune des espèces a son propre pH idéal. Le pH joue un rôle important sur la forme des composés carbonés et des minéraux disponibles dans le milieu [83]. Il influence aussi la capacité de diffusion du CO₂ vers l'intérieur de la cellule [84] et permet de réguler l'activité enzymatique intra- et extracellulaire [85]. Le pH optimal de *C. vulgaris* est situé entre 7,5 et 8,0 [86].

Un pH élevé favorise la précipitation de certains sels du milieu, en particulier les ions calcium, magnésium ou phosphates lorsqu'ils sont présents en grande quantité, ce qui peut entraîner la floculation de la biomasse [87].

1.2.8.4 Les nutriments

La plupart des espèces de microalgues sont photoautotrophes. Leur énergie provient de la lumière et elles nécessitent seulement l'apport supplémentaire de minéraux pour se développer. Cependant certaines microalgues peuvent également avoir un métabolisme hétérotrophe en présence de composés organiques. Elles sont ainsi capables de les utiliser

pour produire leur énergie [88]. Certaines espèces, comme *C. vulgaris*, sont aussi capables d'utiliser simultanément l'énergie lumineuse et l'énergie provenant de carbone organique [89]. Ce métabolisme est appelé mixotrophie. Les principaux nutriments pour la croissance autotrophe sont le carbone, l'azote et le phosphore.

1.2.8.5 Le dioxygène dissous

En réalisant la photosynthèse, les microalgues produisent du dioxygène et augmentent la concentration en dioxygène dissous dans leur milieu. Or de fortes concentrations en dioxygène ont des impacts négatifs sur la productivité des microalgues. Chez *C. vulgaris*, une perte de productivité est observée à partir de 10 mg/L en dioxygène dissous et lorsque la concentration en dioxygène dissous est égale à 20 mg/L, la perte de productivité s'élève à 50 % [90]. En présence d'une forte concentration en dioxygène dissous, des mécanismes alternatifs à la photosynthèse se mettent en place. En effet, de nombreuses études montrent que dans ces conditions, le ratio CO_2/O_2 diminue ce qui favorise des phénomènes de photorespiration [91]. Chez *C. vulgaris*, la perte de productivité en présence d'une forte concentration en dioxygène dissous a aussi été expliquée par une augmentation de l'activité respiratoire [92]. Afin de diminuer la concentration en dioxygène dissous, il est possible d'augmenter l'aération de la culture à l'aide par exemple d'un bullage à l'azote. Cependant une trop forte aération n'a pas pour seule conséquence la diminution de la concentration en O_2 mais également la diminution de la concentration en CO_2 , nécessaire à la fois à la croissance des micro-algues et à la régulation du pH. C'est pourquoi des régulations combinées du pH et de l'oxygène dissous sont parfois mises en place [93].

1.2.9 Utilisation des microalgues

Les microalgues peuvent trouver des applications dans l'alimentation / nutrition humaine, l'alimentation animale, la chimie, l'énergie ou encore la fabrication de produits cosmétiques et pharmaceutiques. (**Figure 1.20**)

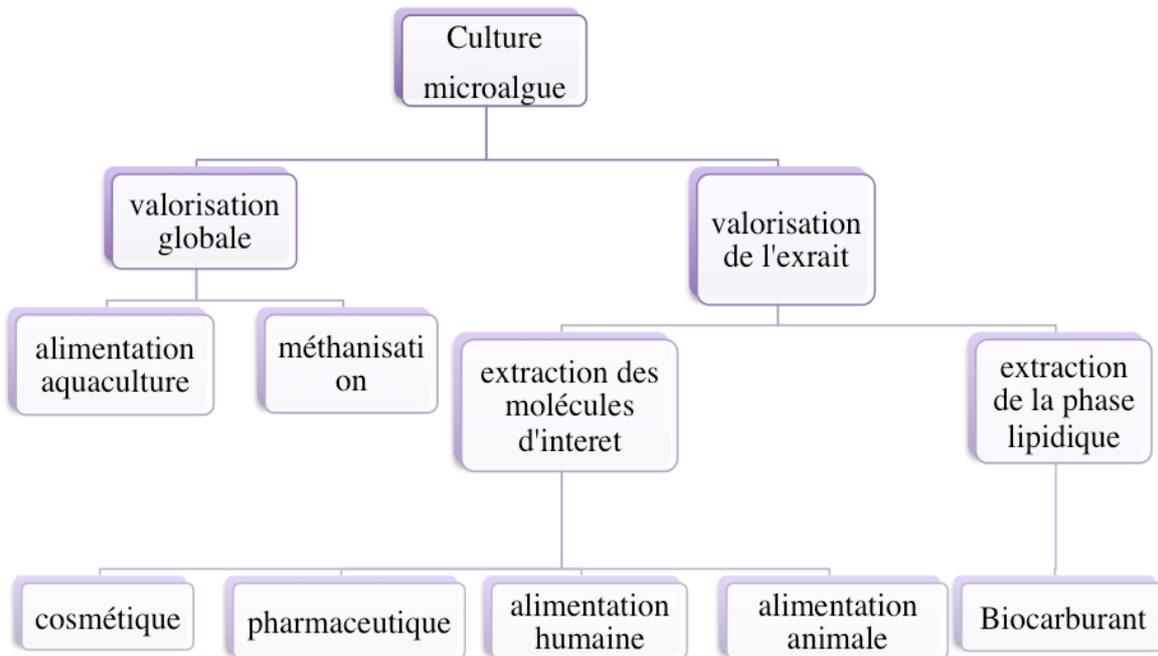


Figure 1. 20 Les principales voies de valorisation des microalgues [94]

1.2.9.1 Traitement des eaux usées

Les microalgues sont capables d'assimiler de nombreux nutriments nécessaires à leur croissance, elles peuvent donc éliminer certains éléments présents dans les eaux usées. Elles permettent ainsi de baisser les taux de phosphates et nitrates. Elles ont aussi une action détoxifiante et dépolluante et peuvent agir selon deux modes, soit directement grâce à leur capacité à fixer les métaux lourds, soit indirectement afin de fournir de l'oxygène dissous aux bactéries permettant donc la dépollution des eaux contaminées [95]. Des travaux ont déjà été menés sur l'élimination des métaux lourds présents dans les eaux usées et sur la dégradation de contaminants toxiques comme le tributylétain « TBT » par *Chlorella vulgaris* [96]. (Figure 1.21)



Figure 1. 21 Traitement des eaux usées par les microalgues (Algae Control Thrive water – Alternative Wastewater Treatment Solutions,) [96]

1.2.9.2 Bioénergie

Les microalgues peuvent être une source d'énergie non négligeable. Comme toute biomasse, celles-ci peuvent produire du biogaz par méthanisation. Certaines microalgues sont riches en sucre et peuvent produire alors du bioéthanol. D'autres riches en lipides permettront la production de biodiesel[94]. La biomasse produite peut être valorisée par d'autres façons que par la production de biodiesel. Selon la composition du contenu intracellulaire, les voies de valorisation peuvent être la méthanisation, la fermentation alcoolique, la combustion ou la gazéification. Si la biomasse est riche en glucides, elle peut être utilisée comme substrat à la fermentation alcoolique afin de produire de l'éthanol, par exemple. La biomasse riche en carbone peut également être transformée en méthane. Ces deux voies ont l'avantage de diminuer les coûts de séparation et d'éliminer le besoin de séchage de la biomasse. La combustion et la gazéification sont des processus difficilement applicables à cause du contenu en eau important et ils ne permettent pas de mettre en valeur les divers sous-produits potentiels de la biomasse. Finalement, si la biomasse est plutôt riche en lipides, leur extraction reste possible pour en faire la valorisation en biodiesel.

1.2.9.3 Alimentation humaine

Les microalgues sont utilisées pour la nutrition humaine sous différentes formes telles que des comprimés, des capsules et des liquides. Elles peuvent également être incorporés dans des pâtes, des bonbons ou des gommes et des boissons [97]. En raison de leurs diverses propriétés biochimiques, elles peuvent agir comme additif alimentaire ou comme source de colorants alimentaires naturels [47].

1.2.9.4 Cosmétique

Les extraits des microalgues sont fréquemment utilisés dans le cosmétique comme agents épaississants, agents liants ou antioxydants. Certaines espèces, notamment *Chlorella Vulgaris* sont actuellement utilisées dans le marché des soins de la peau dans les crèmes anti-âge, les produits de soins rafraîchissants ou régénérant et les anti-irritants [98].

1.2.9.5 L'industrie pharmaceutique

Les microalgues représentent une source riche de métabolites primaires et secondaires. Ces métabolites peuvent être des composés potentiellement bioactifs très utiles dans l'industrie pharmaceutique [99].

1.2.10 *Chlorella vulgaris*

De manière générale, les microalgues sont appréciées pour leur croissance rapide, leur grande efficacité photosynthétique, et leur production de biomasse comparée aux autres sources de biocombustible. *Chlorella vulgaris* est une micro-algue vertes, unicellulaire, eucaryote, qui se développant dans les eaux douces, elle fait partie de la classe des chlorophytes. Cette algue sphérique mesure entre 2 et 8 μm et possède un noyau bien spécifique et une membrane cellulosique. Grâce à la photosynthèse, elle se reproduit très rapidement : une fois par jour, chaque cellule se divise en quatre [100]. Cette espèce a des propriétés proches de la spiruline dans ses utilisations. La *Chlorella vulgaris* est déjà utilisées au Japon et en Europe comme compléments alimentaire. Plus de 2000 tonnes de différentes espèces ont été produites en 2009 principalement en Allemagne, à Taiwan et au Japon. Elle a une croissance optimale entre 25 et 30°C, et s'adaptent également aux changements de température mais sont incapables de se développer au-delà de 38°C. Elles sont aussi les plus productrices de lipides[101]. **(Figure 1.22)**

Les microalgues, notamment la *Chlorella vulgaris*, semble être la meilleure solution dans la production de biomasse et donc la création de biocarburants. Avec un rendement bien supérieur aux autres sources disponibles. Avec 80% de biomasse dans sa masse sèche, une croissance rapide, une capacité mixotrophe permettant l'utilisation de la photosynthèse [102].

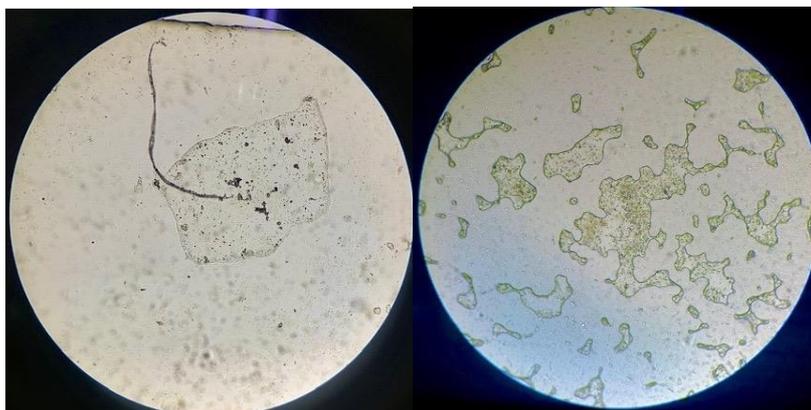


Figure 1. 22 Visualisations de *chlorella vulgaris* (personnelle)

La biomasse algale de *chlorella* se compose de :

- 50 à 60% de protéines, Les protéines issues des microalgues constituent une fraction importante de la biomasse, et sont une source importante d'acides aminés[103].

- de nombreux minéraux (cuivre, fer, magnésium...) d'acides gras dont certain oméga-3 et de pigments tels que la chlorophylle qui représente de 2 à 4% de son poids sec, ce qui lui permet une bonne photosynthèse [103].
- Les lipides constituent un groupe hétérogène de composés qui sont définis non pas par leur structure mais plutôt par le fait qu'ils sont solubles dans les solvants non polaires et relativement insolubles dans l'eau [104]. Dans des conditions de croissance optimales, *Chlorella Vulgaris* peut atteindre 5-40% de lipides par poids sec de biomasse [83]. qui sont principalement composés de glycolipides, de cires, d'hydrocarbures, de phospholipides et de petites quantités d'acides gras libres [105]. Néanmoins, lors de conditions de croissance défavorables, la teneur en lipides (principalement composée de triac glycérols) peut atteindre 58% [106]. Contrairement aux autres lipides, les triacylglycérols ne jouent pas un rôle structurel mais s'accumulent sous forme de gouttelettes lipidiques denses de stockage dans le cytoplasme.

Il est constaté dans plusieurs recherches que l'augmentation de la teneur en lipides des microalgues pouvait être induite par divers stress comme la réduction en nutriments mais aussi que ces stress sont accompagnés par une diminution du taux de division cellulaire. En fait, la moyenne de rendement de la production de lipides diminue lors des périodes de restriction nutritive ce qui annulerait les gains atteints [57].

- **Rendement**

Des expériences d'optimisation effectuées avec l'espèce *Chlorella* ont rapporté des rendements maximums de 116,2 g de biomasse sèche par litre par semaine pour environ 50 g en lipides / litre / semaine, représentant ainsi une productivité de 1,02 g / litre / heure [107]. Le mode hétérotrophe permet généralement d'atteindre des teneurs élevées en lipides. Ainsi, avec un m³ ou 1 000 litres de solution de culture on produirait aux environs de 6 042 kg / m³ / an de biomasse sèche contenant 2 920 litres d'huile (ou 2 600 kg selon une densité des lipides de 0,89 kg / litre). Un rendement moyen en lipides de 50 g par litre est possiblement atteint en une semaine, ce qui se compare avantageusement avec les 30 à 50 g / litre, mesurés dans les fermenteurs éthyliques conventionnels. [107].

Chapitre 2 : Récupération et traitement du lactosérum

2.1 Introduction

Dans ce chapitre, nous allons entamer la partie pratique de notre étude, on parlera du stage effectué à l'industrie Numidia, de la quantification des différents rejets de lactosérum et de leur caractérisation ce qui nous a orienter vers un traitement par atomisation afin de faciliter l'étape suivante.

2.2 Présentation de la laiterie Numidia

La laiterie NUMIDIA est la deuxième unité de production laitière de l'Est algérien après celle de Annaba.

Les bâtiments de la laiterie sont aménagés sur un terrain d'environ 5,4 hectares et se répartissent comme suit :

- La laiterie, la fromagerie et la yaourterie
- Locaux de conditionnement
- Locaux de stockage des produits finis
- Locaux abritant les services généraux
- Locaux de stockage et de liquéfaction des matières premières
- Bâtiments administratifs
- Atelier de camembert
- Atelier pâte pressée

Par ailleurs, l'unité est équipée de deux laboratoires d'analyse et de contrôle de la qualité

- Un pour analyses physico-chimiques
- L'autre pour analyses microbiologiques.
- Une installation automatique de nettoyage et de désinfection (C.I.P)
- Une centrale de traitement des eaux.

Chaque jour, environ 26 000 litres de lait de vache sont collectés pour la laiterie par différents fermiers où ils sont d'abord analysés avant d'être stocker.

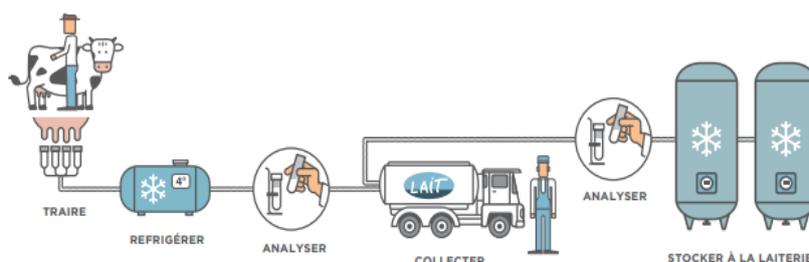


Figure 2. 1 Etape de réception du lait de vache.

2.3 Produits de la laiterie

Plusieurs produits sont fabriqués au niveau de la laiterie Numidia à citer, le lait avec sa variance, le yaourt, le petit suisse, le flan, charbet et fromages.

Parmi leurs nombreux produits, seul quatre process de fabrication génèrent du lactosérum et un seul le babeurre qui peut être considéré comme un lactosérum à cause de sa richesse en élément nutritifs (Figure 2.2).

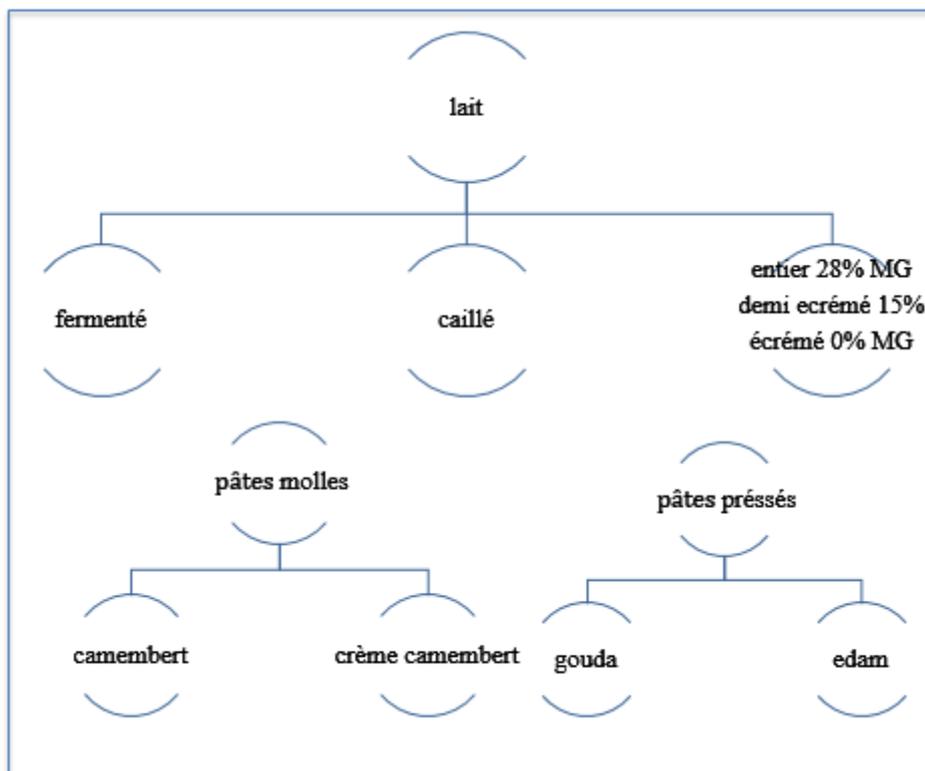


Figure 2. 2 Les différents produits issus de la laiterie

2.4 Procédés produisant du lactosérum et babeurre

Comme cité précédemment quatre procédés génèrent des quantités assez importantes du lactosérum et du babeurre, un suivi de ces différents procédés a été nécessaire afin de déchiffrer la composition de ces effluents et d'orienter leurs utilisations (Figures 2.3, 2.4, 2.6 et 2.8) Les matières premières utilisées, la cadence de production ainsi que les volumes générés sont regroupés dans les Tableaux 2.1, 2.2, 2.3 et 2.4. Une production journalière de lactosérum d'environ 6500 L sans la fraction rejetée du babeurre.

2.4.1 Pâte molle -camembert

Récupération et traitement du lactosérum

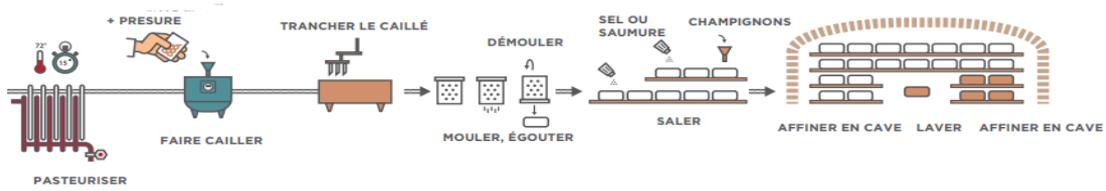


Figure 2. 3 Chaîne de fabrication du camembert

Tableau 2. 1 Matières premières utilisées/ cadence de production et volume du lactosérum généré dans la fabrication du camembert.

Produits finis	Camembert
Matière première utilisée	Lait de vache pasteurisé Présure
Fréquence de production /semaine	3-4 fois par semaine
Volume de lactosérum / quantité de produit fini	Pour produire 500 camemberts de 250g, 600L de lactosérum sont rejetés

2.4.2 Pâte pressée-gouda et edam

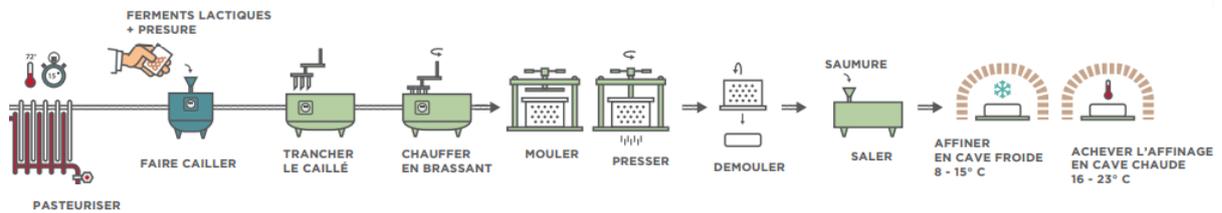


Figure 2. 4 Chaîne de fabrication de la pâte pressée



Figure 2. 5 Unité de production de l’edam

Tableau 2. 2 Matières premières utilisées/ cadence de production et volume du lactosérum généré dans la fabrication du gouda et edam.

Produits finis	Gouda et edam
Matière première utilisée	Lait de vache Ferments (Flora, R707, STI12, Filak) Présure colorant
Fréquence de production /semaine	2 fois par semaine pour chacun
Volume de lactosérum / quantité de produit fini	Pour produire 550 à 580 boules de 1kg et 150 boules de 0,5 g ,6400L de lait sont utilisés. 2600L de lactosérums sont rejetés.

2.4.3 Petit suisse

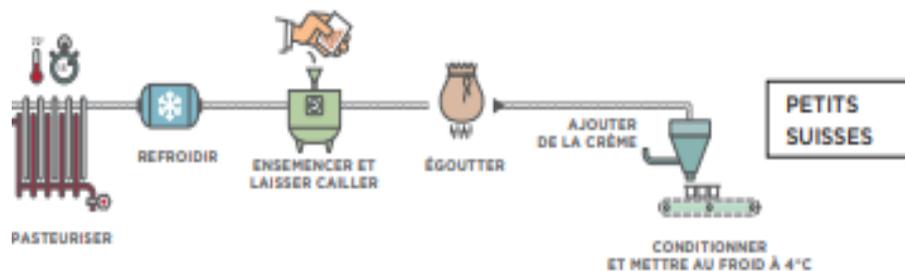


Figure 2. 6 procédé de fabrication du petit suisse



Figure 2. 7 ligne de production du petit suisse

Tableau 2. 3 Matières premières utilisées/ cadence de production et volume du lactosérum généré dans la fabrication du petit suisse.

Produits finis	Petit suisse
Matière première utilisée	Lait de vache Présure Crème fraîche
Fréquence de production /semaine	1 fois par semaine
Volume de lactosérum / quantité de produit fini	Une barquette de 180g consomme 0,72L de lait, 20% de lactosérum sont rejetés initialement

2.4.4 Beurre (babeurre)

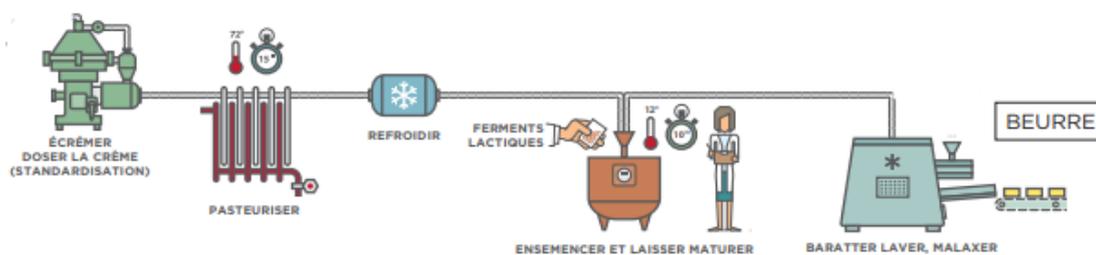


Figure 2. 8 Chaîne de fabrication du beurre



Figure 2. 9 baratte à beurre

Tableau 2. 4 Matières premières utilisées/ cadence de production et volume du lactosérum généré dans la fabrication du beurre

Produits finis	beurre
Matière première utilisée	Lait de vache Ferments lactiques et de l'eau glacée pour le lavage
Fréquence de production /semaine	4 a 5 fois par semaine
Volume Du babeurre/ quantité de produit fini	500L de crème + 200L d'eau glacée pour produire 220kg de beurre

2.5 Analyses physico chimique du lactosérum

Plusieurs paramètres ont permis de caractériser ces effluents, certains ont été accomplis in situ et d'autres dans les laboratoires universitaires, une conservation par congélation a été utilisée afin de protéger les échantillons de toute détérioration possible puisque les effluents sont très riches en nutriments et donc favorables à une croissance microbienne.

2.5.1 Au niveau de l'industrie

2.5.1.1 Mesure du pH

Les mesures sont effectuées par un pH mètre de marque CRISON. L'expression des résultats est directe, il suffit juste de lire sur l'écran du pH mètre.



Figure 2. 10 pH mètre (CRISON)

2.5.1.2 L'acidité

L'acidité du lactosérum est déterminée par dosage de l'acide lactique à l'aide de l'hydroxyde de sodium (NaOH) en présence de quelques gouttes d'un indicateur coloré Phénol phtaléine. Ce dosage s'effectue par introduction de 10 mL de lactosérum et des gouttes de phénol dans un bécher, et titrer jusqu'au virage (l'obtention d'une couleur rose). Lorsque le virage est fait on lit le volume, on le multiplie fois 10 pour avoir la valeur en degré Dorlic (°D).



Figure 2. 11 titrage par la soude

2.5.1.3 L'extrait sec

L'extrait sec ou la matière sèche est obtenue par dessiccation de 2g de lactosérum. Le dessiccateur permet de connaître l'humidité et l'extrait sec.



Figure 2. 12 dessiccateur (RADWAG)

2.5.1.4 La matière grasse

Pour ce dosage on a utilisé la méthode de GERBER. C'est une dissolution de MG par acide sulfurique et d'alcool iso amylique. Sous l'influence de force centrifuge la MG se sépare en couche claire.

Dans un butyromètre on introduit 10mL d'acide sulfurique, 1mL d'alcool iso amylique, et on équilibre avec 11mL de lactosérum. La centrifugation est effectuée à une vitesse de 1200tours/min pendant 2 à 3 min à une température de 70 °C.



Figure 2. 13 butyromètre pour lait



Figure 2. 14 centrifugeuse utilisée pour la quantification de la matière grasse.

2.5.2 Au niveau du laboratoire

2.5.2.1 Demande chimique en oxygène

Elle représente la concentration d'oxygène nécessaire pour oxyder la totalité de la matière organique présente dans l'échantillon. Pour sa mesure on utilise des tubes propres et secs, on y introduit 2mL de l'échantillon à analyser et 4mL de la solution de digestion (acide

sulfurique, dichromate de potassium, sulfate d'argent et sulfate de mercure) qu'on fait chauffer dans un bloc chauffant pendant 2h à 150 °C. ensuite on les place dans l'obscurité jusqu'à refroidissement. La lecture de la DCO se fait par spectrophotométrie à 420 nm et les concentrations de la matière organique exprimée en DCO seront calculées selon une courbe d'étalonnage près établie ($DCO (mg/l) = 477,68113(A \text{ blanc} - A \text{ échantillon})$) [108].

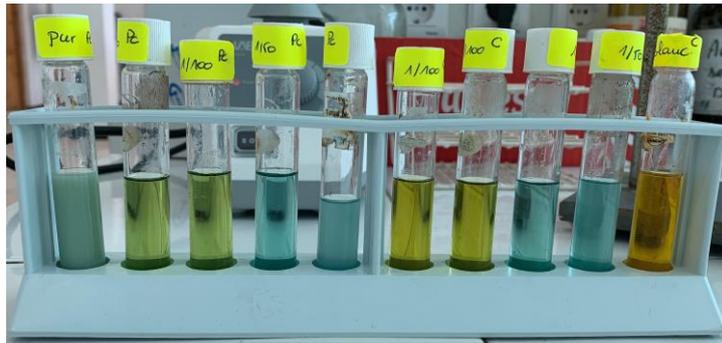


Figure 2. 15 Tubes de digestion pour la mesure de la DCO



Figure 2. 16 spectrophotomètre



Figure 2. 17 bloc chauffant

2.5.2.2 Conductivité et salinité

Les mesures sont effectuées directement par un conductimètre (WTW multi 3430). La sonde est plongée dans l'échantillon, la valeur est directement affichée sur l'écran.



Figure 2. 18 conductimètre WTW multi 3430

2.5.3 Caractérisation des échantillons

Pour chaque effluent 1 à 3 prélèvements ont été effectués, la totalité des lactosérums sont caractérisés par une charge organique très élevée avec une valeur moyenne de 79.25 g/L, en revanche le babeurre a présenté une charge plus importante variant entre 142.769 et 174 g/L.

Tableau 2. 5 caractérisation préliminaire des différents prélèvements du lactosérum et du babeurre.

		pH	MG (%)	Extrait sec (%)	Acidité (°C)	DCO (mg/l)	salinité	Conductivité (ms/cm)
Gouda	1	6,5	0,6	6,429	12	78650,20	3,2	6,05
	2	6,72	0,6	5,981	12,5	80302,97	3,7	6,91
Camembert	1	6,41	0,6	5,309	12	72521,55	3,2	6,01
	2	6,40	0,3	6,33	12	83302,81	3,3	6,20
	3	6,46	0,8	4,385	12,5	83106,96	3,3	6,13
Babeurre	1	4,75	0	14,08	65,2	142769,3 4	3,3	6,01
	2	5	0,1	8,178	55,5	174000,1 2	3,2	6,2
	3	4,99	3,3	9,382	55,5	171153,1 4	3,3	6,1
edam	1	6,53	0,3	9,848	12	71484,98	3,2	5,94
Petit suisse	1	4,98	0,15	7,108	55,5	85452,38	4,8	8,94

Le lactosérum issu des procédés de fabrication du Gouda, Camembert et Edam ont présenté un pH doux, par contre le lactosérum issu du procédé de fabrication du petit suisse est acide, même constatations pour le babeurre. La totalité de ces effluents ont présenté une conductivité et une salinité assez importante, les concentrations en extrait sec sont assez faibles et plus faibles en matière grasse, en revanche ces concentrations sont plus importantes dans le babeurre pour certains échantillons.

2.6 Impact du rejet sur l'environnement

Les industries laitières produisent annuellement des centaines des millions de kilogrammes de lait et de ses dérivants. Cette transformation entraîne le rejet d'énormes quantités de résidus qui présentent un problème environnemental considérable [14]. Les principaux rejets sont les eaux blanches, le lactosérum et le babeurre. La forte charge en DBO de ces rejets, supérieure

à 50 g/L, constitue un sérieux problème puisque son déversement direct dans les stations d'épuration est non seulement coûteux mais surcharge les installations de traitement [109].

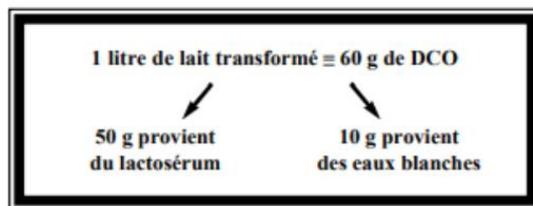


Figure 2. 19 DCO généré par la transformation du lait [110].

Ainsi, les rejets d'un atelier fromager ne doivent pas être négligés en terme de pollution. Si seules les eaux blanches sont rejetées, on obtient l'équivalent des rejets de 15 personnes. En revanche, si le lactosérum est rejeté avec les eaux blanches, on passe à une équivalence de 120 personnes.

Tableau 2. 6 comparaison des différents rejets [110].

Type d'effluent	pH	Volume par litre de lait (litre)	DCO (g/l)	DCO/DBO
Eaux blanches	5,5- 6,2	3 -4	2-3	1,3-1,4
lactosérum	4,3-6,4	0,75	50-70	1,5
Mélange	4-6	4-5	10-12	1,7-1,8
Eaux domestiques	7-8	150 litres par personne	0,8	1,9

Ainsi, si le lactosérum est rejeté ou non, l'impact en terme de pollution de l'activité fromagère est très différent, et les modes de gestion devront être adaptés à la nature des rejets.

De ce fait, le contenu de matière organique du lactosérum pourrait générer des problèmes d'eutrophisation et de toxicité qui modifient les propriétés physico-chimiques de l'écosystème en faisant de lui un polluant majeur. La revalorisation de ces effluents contribuera certainement à une préservation environnementale sur tous les plans

2.7 Atomisation

Après avoir prélever plusieurs échantillons de lactosérum de différentes concentration et d'extrait sec, on a eu recours à une atomisation du lactosérum de camembert au niveau de notre faculté pour pouvoir contrôler le rapport S/X et mieux préserver nos échantillons et garder leurs propriétés. Pour le lactosérum acide avec un extrait sec assez faible on a dû lui

ajouter un coagulant (maltodextrine) qui est un mélange de plusieurs sucres (glucose, maltose, maltotriose, oligosides et polysides) afin d'augmenter le rendement et pour éviter le dépôt sur les parois à l'intérieur de l'atomiseur.

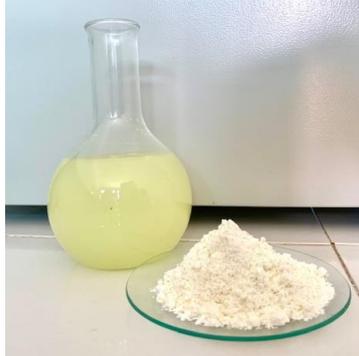


Figure 2. 20 lactosérum avant et après atomisation

Pour la production en continu d'une poudre fine à partir de suspensions colloïdales, le procédé le plus utilisé et le plus performant est le séchage par atomisation (spraydrying en anglais).



Figure 2. 21 atomiseur utilisé se localisant dans la Faculté de Génie des procédés.

L'atomisation permet de retirer l'eau ou d'autres volatiles de matériaux pâteux, ou bien de sécher des solutions ou des suspensions liquides[111]. Les paramètres qui influent sur la pulvérisation sont les caractéristiques du fluide (masse volumique, viscosité, tension de surface), les propriétés de la buse (angle de spray, forme de spray, taille de l'orifice) et les paramètres opératoires (pression et débit du fluide, température) Le séchage par pulvérisation est un processus continu qui se fait en une seule étape. Une fois produites par le système d'atomisation, les gouttes sont séchées par mise en contact avec de l'air chaud à une hygrométrie relative bien définie. La capacité d'une unité de séchage peut varier de quelques kilogrammes à plus de 50 tonnes par heure. Le processus complet peut être résumé ainsi :

- Le liquide d'alimentation est pompé depuis le réservoir et dirigé vers le dispositif de pulvérisation (disque rotatif, buse sous pression, buse pneumatique, voir buse ultrasonique).
- L'air de séchage est conduit depuis l'atmosphère à travers un ventilateur, un réchauffeur puis un distributeur.
- Les gouttes sont mises en contact avec l'air chaud dans la chambre de séchage ; une partie des grains séchés est entraînée par l'air et dirigée vers le cyclone ; - la séparation est ensuite effectuée au niveau du cyclone.

Il ressort clairement de la littérature que le choix du système d'atomisation est crucial dans une opération unitaire de séchage et qu'il doit être sélectionné avec la plus grande attention. En pratique, selon la nature du produit à sécher et le produit final recherché, les industriels s'orientent vers une technique plutôt qu'une autre[112].

Parmi les nombreux autres facteurs à prendre en compte pour dimensionner un séchoir, il faut tenir compte de la sensibilité des matériaux aux changements de température mais aussi minimiser la tortuosité des trajectoires des gouttes. Dans ce dernier cas, le but est de minimiser les collisions goutte-goutte et goutte-paroi (qui modifient la granulométrie finale et engendrent des dépôts qui perturbent le fonctionnement du séchoir à moyen terme) [113].

Le design d'un atomiseur est réalisé en fixant un certain nombre de paramètres (débit de production de solide, température de l'air de séchage...), puis en choisissant le système de pulvérisation, en fixant les conditions opératoires et les besoins énergétiques de l'opération, en dimensionnant la chambre de séchage (pour obtenir le produit désiré en termes de granulométrie, densité, homogénéité, régularité de forme ...). Le volume de l'installation et le régime de fonctionnement choisis doivent être en adéquation avec des facteurs qui influencent la cinétique de séchage : la nature des produits à sécher, l'importance de l'eau présente dans les produits et la granulométrie des gouttelettes produites lors de la pulvérisation. L'équilibre thermodynamique du système étudié doit permettre le changement de phase de l'eau présente dans le fluide pulvérisé. Il dépend notamment des débits fluides (mélange liquide à sécher, gaz de séchage) [114].

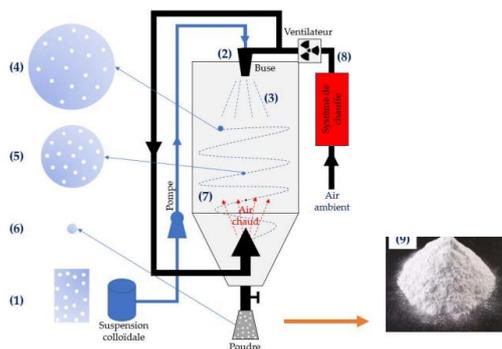


Figure 2. 22 Schéma de principe du procédé de séchage par atomisation[114].

(1) suspension, (2) système d’atomisation, (3) séchoir ; zoom sur les étapes clés du séchage d’une (4) goutte colloïdale, (5) goutte de gel et (6) grain sec, (7) air chaud, (8) cyclone et autres systèmes de filtration ; (9) poudre.

2.7.1 Rendement d’atomisation

Une caractérisation de l’échantillon atomisé a été effectuée en estimant le rendement d’atomisation suivant le pH et l’extrait sec initial. Deux échantillons ont été atomisés présentant des pH différents et une quantité en extrait sec très faible, les rendements d’atomisation n’ont pas dépassé les 25.92 %, même en ajoutant le coagulant.

Tableau 2. 7 paramètres caractérisant l’étape d’atomisation.

	pH	Extrait sec (%)	Quantité initiale (Litre)	Quantité obtenue (g)	Taux d’humidité (%)	Rendement (%)
Lactosérum doux	6,41	6,59	4,5	76,88	3,56	25,92
Lactosérum acide	5,35	4,61	4,5	30,32	2,66	14,62

2.7.2 Analyse de l’échantillon atomisé

2.7.2.1 Au niveau du CRBT

Le Milko scan est un analyseur de lait (et ses dérivés) qui permet de ne pas recourir aux méthodes d’analyse traditionnelles et lentes et d’optimiser l’utilisation des matières premières pour l’analyse [115].

C'est un spectrophotomètre à FTIR (Fourier Transformed Infrared Spectroscopy) automatique de grande capacité (120 échantillons analysés par heure). Il utilise la technologie d'absorption spectroscopique en moyen infrarouge à transformée de Fourier [115].

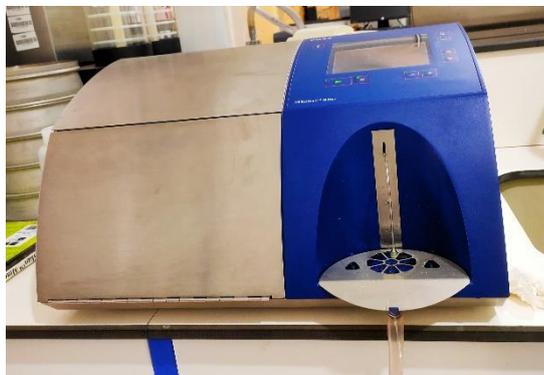


Figure 2. 23 Milko scan utilisé pour la caractérisation de la poudre atomisé

Il est simple à utiliser et fournit six paramètres en l'espace d'une minute (MP, MG, Lactose, ES, ESD en % et le point de congélation en °C), il suffit de :

1. Positionner l'échantillon sous la pipette.
2. Cliquer sur démarrer.
3. Lire le résultat sur l'écran.

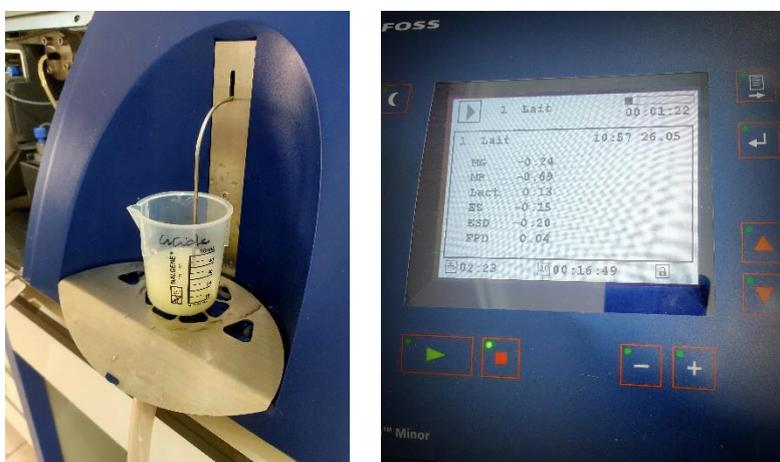


Figure 2. 24 échantillonnage et lecture du résultat dans le Milkoscan.

L'échantillon doit être homogène et a une température de 40 °C, pour chaque analyse, l'appareil utilise 6mL de l'échantillon dont seulement 0,2 mL passe dans la cuve et le reste sert au rinçage du circuit pour éviter toute contamination entre les échantillons.

Notre analyse a été menée au niveau du CRBT (centre de recherche en biotechnologie) de Constantine, on l'a effectué pour les échantillons à l'état initial puis pour une solution préparée à partir de la poudre atomisée (en utilisant deux concentration).

On a réalisé l'opération deux fois pour chaque échantillon pour vérifier les résultats [115].

Tableau 2. 8 Résultats du Milko scan pour les échantillons liquides

Paramètres	Acide (initial)		Doux (initial)	
MG %	0,31	0,33	0	0,01
MP %	0,43	0,44	0,20	0,20
Lactose %	3,01	3,00	3,04	3,05
ES %	4,30	4,32	3,77	3,77
ESD %	3,94	3,94	3,74	3,73
Point de congélation °C	0,35	0,35	0,35	0,35

Une bonne reproductibilité a été constatée dans les mesures effectuées. Concernant les solutions préparées de concentration 0,5 g/L et 1 g/L, les résultats affichés sur l'écran du Milko scan était des valeurs négatives, qu'on considère étant un Zéro.

On peut donc déduire que le Milko scan ne peut pas détecter les faibles concentrations.

En comparant les valeurs de l'extrait sec obtenues par Milko scan et par le dessiccateur pour le même échantillon, on peut dire que le Milko scan n'est pas fiable à 100% pour le lactosérum.

2.7.2.2 Au niveau du labo LIPE

a. Mesure de la DCO

De la même méthode détaillée précédemment, on fait une mesure de la DCO pour des solutions moins concentrées préparées à partir de la poudre de lactosérum (acide et doux). [108].

b. Mesure de la DBO

La DBO est la quantité d'O₂ nécessaire pour la destruction des matières organiques décomposables par des processus biochimiques [108].

Dans le cas des eaux usées industrielles, qui est le nôtre, il faudra passer par un ensemencement de μO , l'ensemencement utilisé doit présenter une densité optique de 0,57-2,1 à 620 nm, on a récupéré un échantillon d'eaux usées d'un des réacteurs du labo, et après quelques dilutions, on a obtenu une absorbance de 0,82 [108].

Avant tout, on commence par fixer la gamme de DBO de chacune des 3 solutions à analyser, cela se fait en calculant les 80% de la DCO de cette solution.

Ensuite, une fois la gamme et le volume choisi on passe à l'ensemencement, on a réalisé 2 essais de ce dernier, une fois avec 10% du volume et une autre 20%.

L'échantillon est versé dans des bouteilles d'incubation de 300 mL fermé avec un bouchon muni d'un capteur de pression qui traduit la consommation d'O₂ [108].



Figure 2. 25 OXITOP utilisés pour la mesure de la DBO₅

On a aussi incubé une bouteille pour connaître la DBO₅ de l'ensemencement avec une gamme de 0-800 préalablement fixée.

L'oxydation de la matière organique provoque une formation de CO₂, qui risque de fausser la mesure, on a ajouté 2 pastilles de KOH dans chaque bouteille pour le piéger.

On a aussi, en fonction de la gamme, ajouté des gouttes d'inhibiteur pour arrêter la nitrification qui absorbe aussi l'O₂.

L'appareil de mesure est enfin placé dans un réfrigérateur à 20°C, et la consommation d'O₂ est suivie en fonction du temps puis corrigée par un facteur correctif qui dépend de la gamme choisie.

Après un écoulement de 5 jours, le calcul de la DBO₅ se fait comme suit :

$$\text{DBO}_5 (\text{ens}) = \text{facteur de dilution} \times \text{DBO} (\text{du 5ème jr})$$

$$\text{DBO}_5 (\text{échantillon}) = \text{facteur de dilution} \times \text{DBO} (\text{du 5ème jr}) - \%d'ens \times \text{DBO}_5 (\text{ens})$$

Après comparaison des DBO₅ des deux ensemencements, on choisit la plus grande valeur

Tableau 2. 9 Résultats de quantification de la DCO et la DBO5 des solutions de poudre des lactosérums reconstituées.

	Acide 0,5g/L		Doux 0,5g/L		Doux 1g/L		Ensemence -ment
DCO (mg/L)	323,5334		354,1050		824,8598		800
80% de DCO (mg/L)	258,82672		283,284		659,88784		640
Gamme de DBO (mg/L)	0-400		0-400		0-800		0-800
Volume (mL)	164		164		97		97
Volume d'ens (mL)	16,4	32,8	16,4	32,8	9,7	19,4	97
Gouttes d'inhibiteur	3		3		2		2
Facteur de dilution	10		10		20		20
% d'ensemencement	10%	20%	10%	20%	10%	20%	/
Suivi de la DBO pendant 5 jours	08	08	07	06	06	03	04
	13	12	12	10	11	09	07
	17	15	15	13	14	13	09
	20	17	18	15	17	16	11
	23	20	21	18	21	18	12
DBO₅ (mg/L)	206	152	186	132	396	312	240
DBO₅ (mg/L) choisie	206		186		396		240
DCO/DBO₅	1,57		1,90		2,08		/

Les valeurs de DBO₅ obtenue sont comprises dans l'intervalle de la gamme initialement fixée, ce qui valide nos résultats.

Le rapport de DCO/DBO₅ des trois échantillons est entre 1 et 2, indiquant une bonne biodégradabilité ce qui fait de lui un bon substrat de culture en plus de sa richesse en protéines et lactose.

Chapitre 3 :

Incubation et suivi des réacteurs

3.1 Introduction

Dans ce chapitre nous allons aborder l'incubation des réacteurs dans différents modes de culture en suivant l'évolution par la mesure de plusieurs paramètres (pH, A, T, O₂) en variant le rapport (substrat / biomasse).

3.2 Incubation et suivi des réacteurs

Notre étude consiste sur la culture des microalgues *Chlorella Vulgaris* (industrielle et naturelle), la souche naturelle provient de l'école supérieure de biotechnologie tandis que l'industrielle provient des pharmacies (souche déshydratée).



Figure 3.1 Chlorella industrielle et naturelle.

Les microalgues ont été cultivées en mode batch. 36 photobioréacteurs (PBR) sont incubés pour réaliser l'étude. Les PBR sont sous formes de flacons en verre de 250 mL et 500 mL stérilisés préalablement avec de l'éthanol.



Figure 3.2 Flacons utilisés pour incubation.

Quelques PBR sont équipés dans des conditions stériles avec un aérateur afin d'assurer l'évacuation du CO₂ à travers un tube d'échappement vers l'extérieur et un tube stérile pour les prélèvements.

Certains PRB sont soumis à un éclairage artificiel. Pour ce système de culture, les Réacteurs ont été placés dans un incubateur à 30 °C, équipé d'un éclairage à l'aide de lumière LED à une intensité de 3,3 $\mu\text{watt}/\text{cm}^2$ (tout autour de l'incubateur), l'intérieur de la porte a été couvert d'aluminium afin que la lumière soit homogène toute autour des PBR. L'éclairage a été réglé à l'aide d'un programmateur afin d'assurer une illumination de 18h et 6h d'obscurité [80]. Une agitation douce a été assurée par une plaque à 6 postes en utilisant des barreaux magnétiques identiques pour une bonne reproductibilité des résultats.



Figure 3.3 Programmateur et installation de l'éclairage artificiel dans l'enceinte thermique.

D'autres PBR sont soumis directement à un éclairage naturel. L'évolution des réacteurs est suivie en mesurant matin (8h) et soir (13h) l'absorbance à longueur d'onde de 673 nm, le pH, l'oxygène dissous, la température (Annexe 1), une visualisation microscopique à l'aide d'un microscope OPTIKA en utilisant l'agrandissement x10 et en faisant varier le rapport S/X.



Figure 3.4 Microscope OPTIKA utilisé durant le suivi.

Toutes les conditions d'incubation dans les bioréacteurs sont résumées dans le **Tableau 3.1**, rappelant que deux modes d'incubation ont été testés, un mode chimiotrophe et un mode mixotrophe puisque la souche utilisée *Chlorella Vulgaris* peut utiliser le carbone minérale ou organique comme source de carbone et la source d'énergie soit celle récupérée des réactions d'oxydo- réaction ou d'une source lumineuse (radiation solaire ou éclairage artificiel).

Tableau 3.1 Conditions d'incubation des bioréacteurs fonctionnant en différents modes

Abréviation	Eclairage	Rapport appliqué	Mode de cultivation	Type de substrat
R1	Obscurité	0.2 et 0.4 (filtré et non filtré)	Chimiotrophe	Acide
R2	Obscurité	0.2 et 0.4	Chimiotrophe	doux
R3	Obscurité	1, 2, 6, 12	Chimiotrophe	doux
R4	Eclairage naturel	0.4, 1, 6, 12	Mixotrophe	doux
R5	Eclairage naturel Avec une aération externe VR 250 mL	0.2, 0.4, 1, 6, 12	Mixotrophe	doux
R6	Eclairage naturel Avec une aération externe VR 500 mL	0.2, 0.4, 1, 6, 12	Mixotrophe	doux
R7	Eclairage artificiel chronométré	0.2, 0.4, 2, 6	Mixotrophe	doux
R8	Eclairage naturel	0.4 et 1 plein et à moitié	Mixotrophe	doux
R9	Eclairage artificiel chronométré	CC et CN	Mixotrophe	doux

- **Expérimentation réalisées et discussions des résultats**

3.3 Premier essai (R1)

On a effectué cet essai en mode chimiotrophe (obscurité), dans de petits réacteurs de 250 mL de volume, avec une agitation continue et en maintenant une température constante à 30°C.

On a préparé 4 réacteurs partant d'une solution de 0,5 g/L de lactosérum acide et de chlorella commerciale, en faisant varier le rapport S/X une fois avec un lactosérum filtré et une autre non filtré. L'incubation a été réalisée pour un temps de séjour de 8 jours.



Figure 3.5 Réacteurs en condition chimiotrophe pour les échantillons filtré et non filtré



Figure 3.6 Visualisation microscopique de la chlorella commerciale prélevée des PRB fonctionnant en mode chimiotrophe (agrandissement x10)

Incubation et suivi des réacteurs

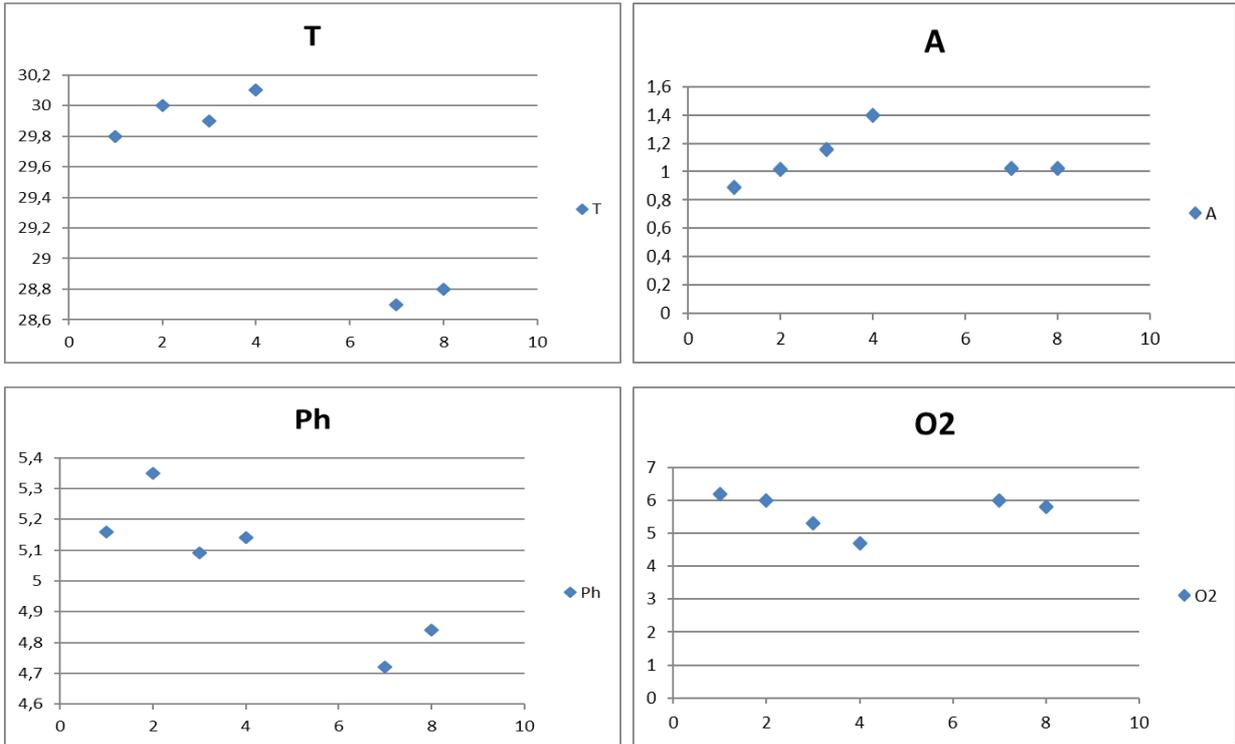


Figure 3.7 Variation du pH, O2, T, et A de R1 F (0,2) à 8h

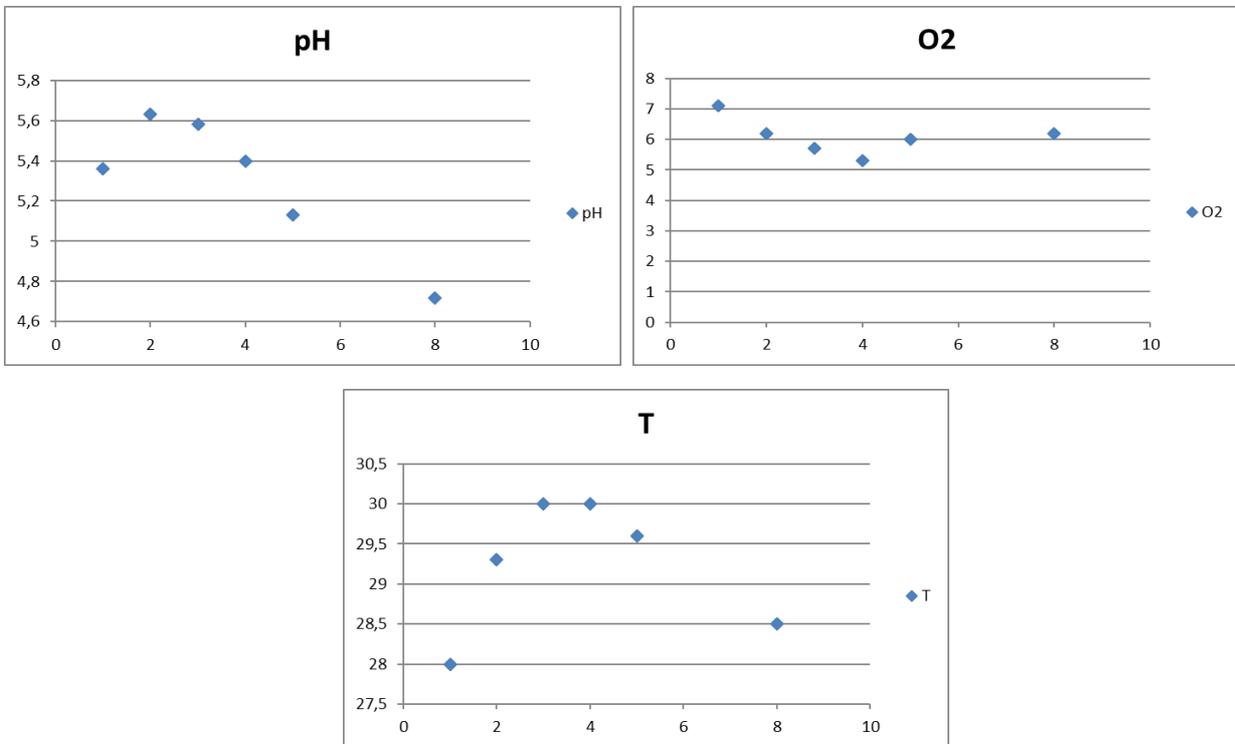


Figure 3.8 Variation du pH, O2 et T de R1 F (0,2) à 13h

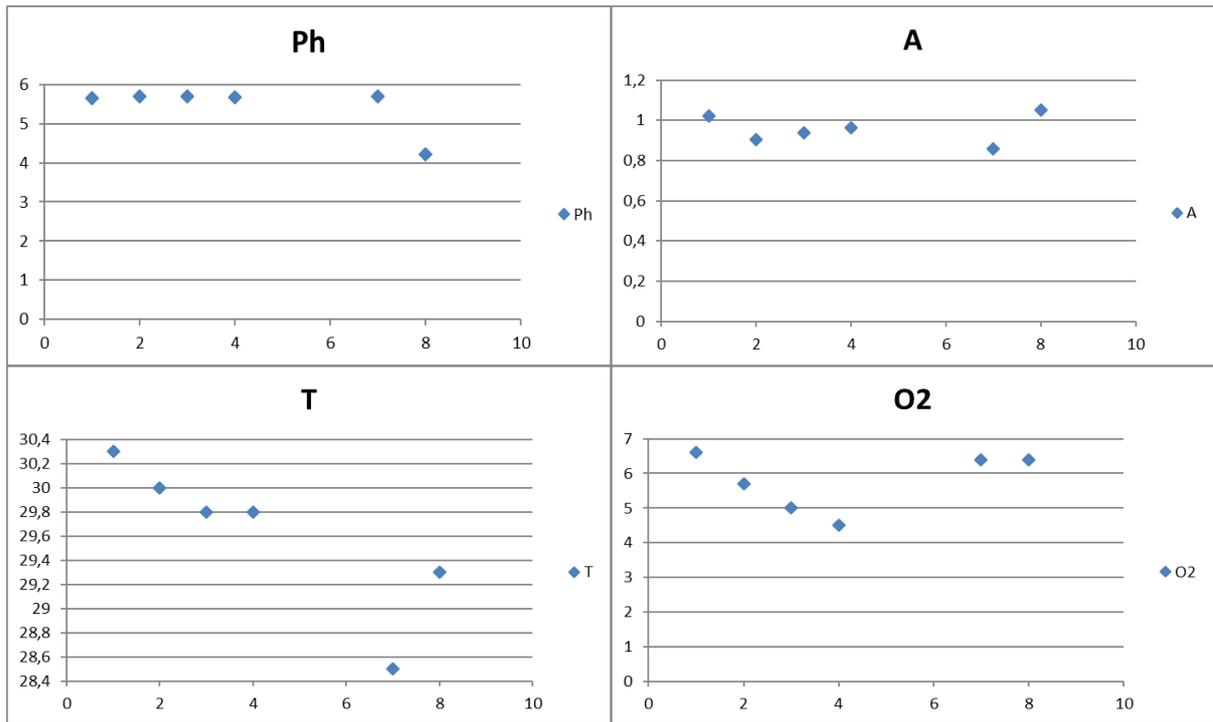


Figure 3.9 variation du pH, O₂, T et A de NF 0,2 à 8h

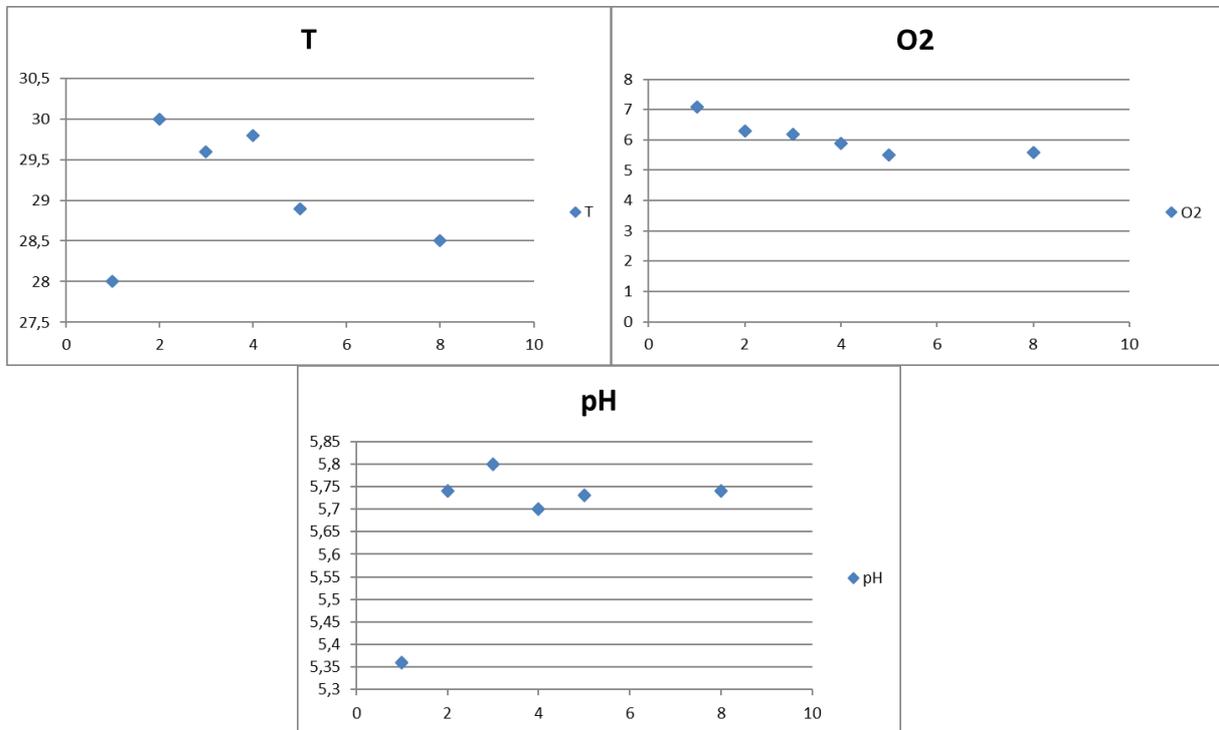


Figure 3.10 variation du pH, O₂, T de NF 0,2 à 13h

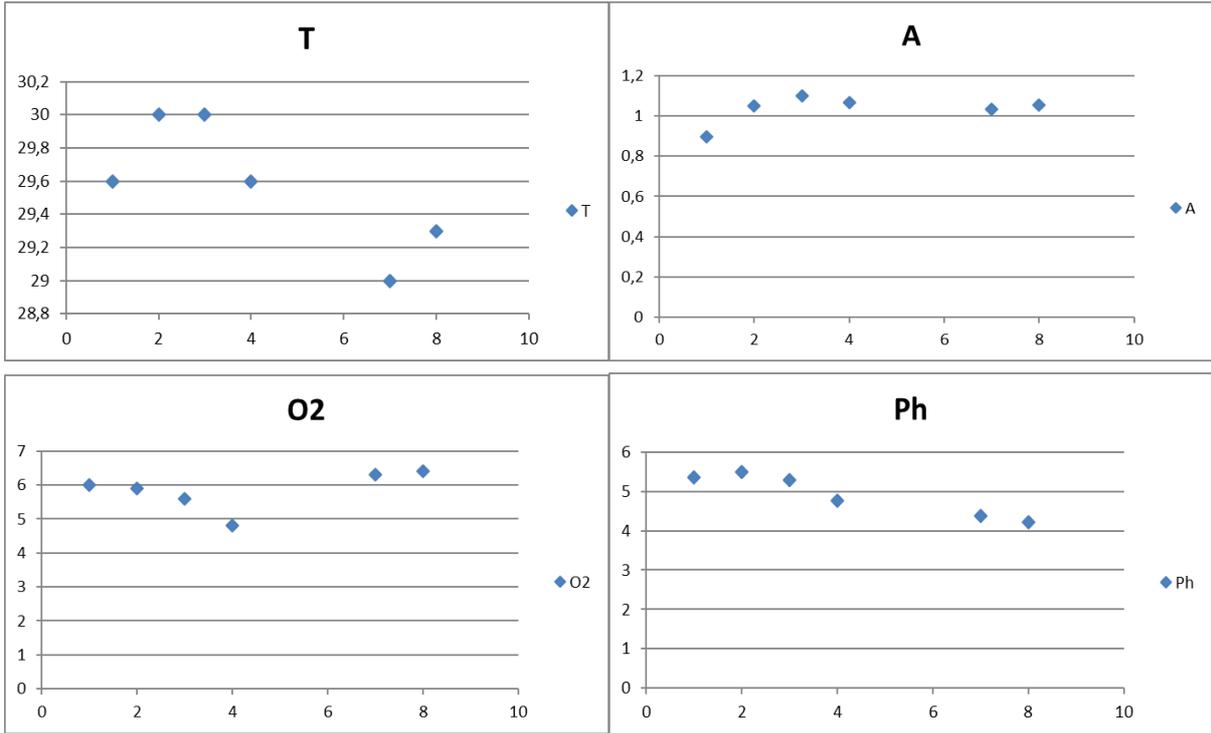


Figure 3.11 variation du pH, O₂, T et A de F 0,4 à 8h

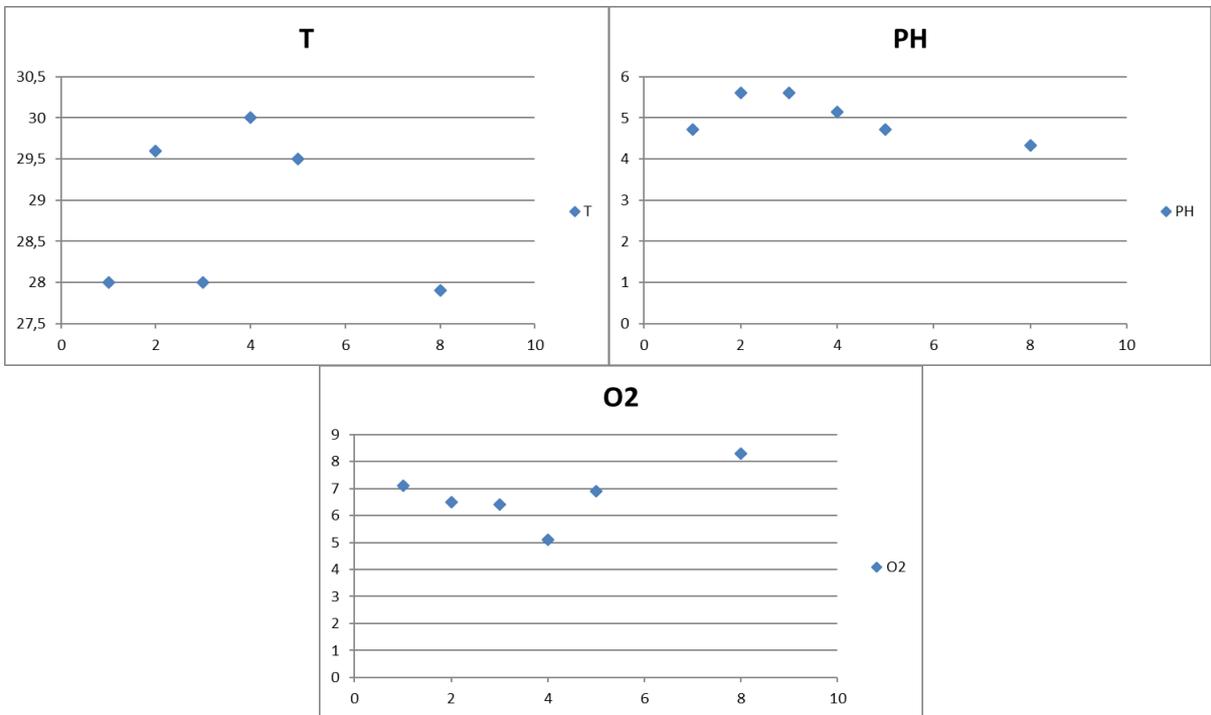


Figure 3.12 variation du pH, O₂, T de F 0,4 à 13h

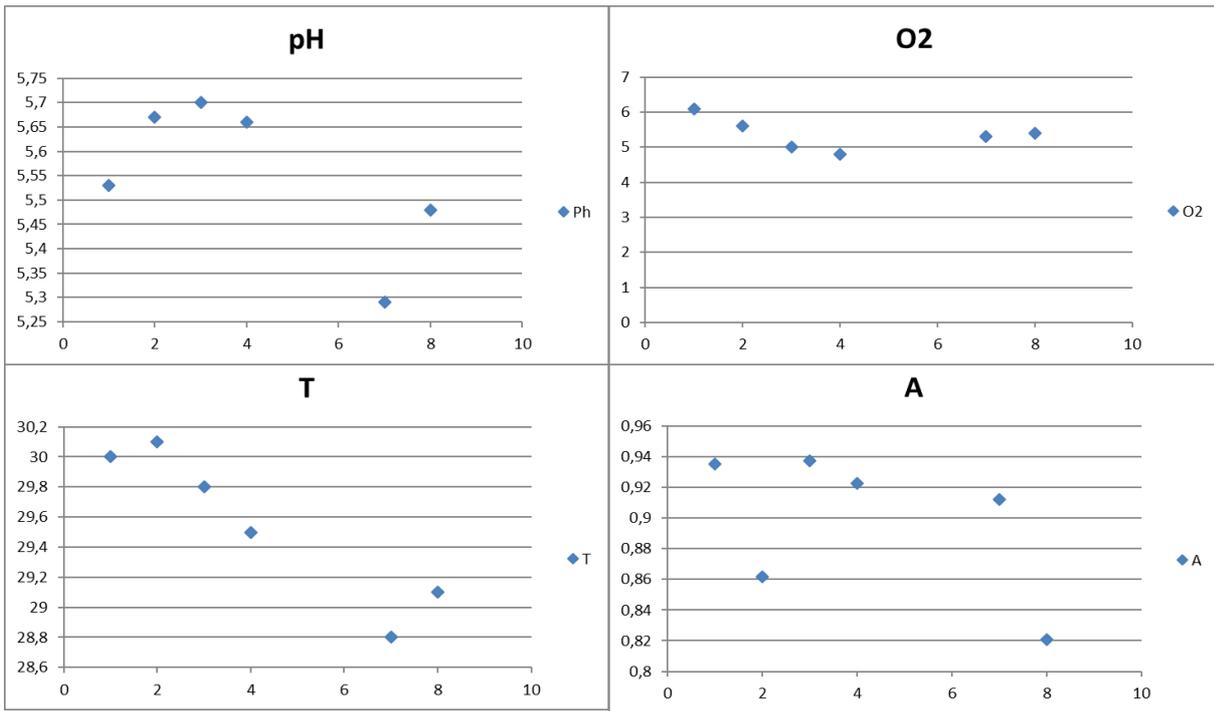


Figure 313 variation du pH, O₂, T et A de NF 0,4 à 8h

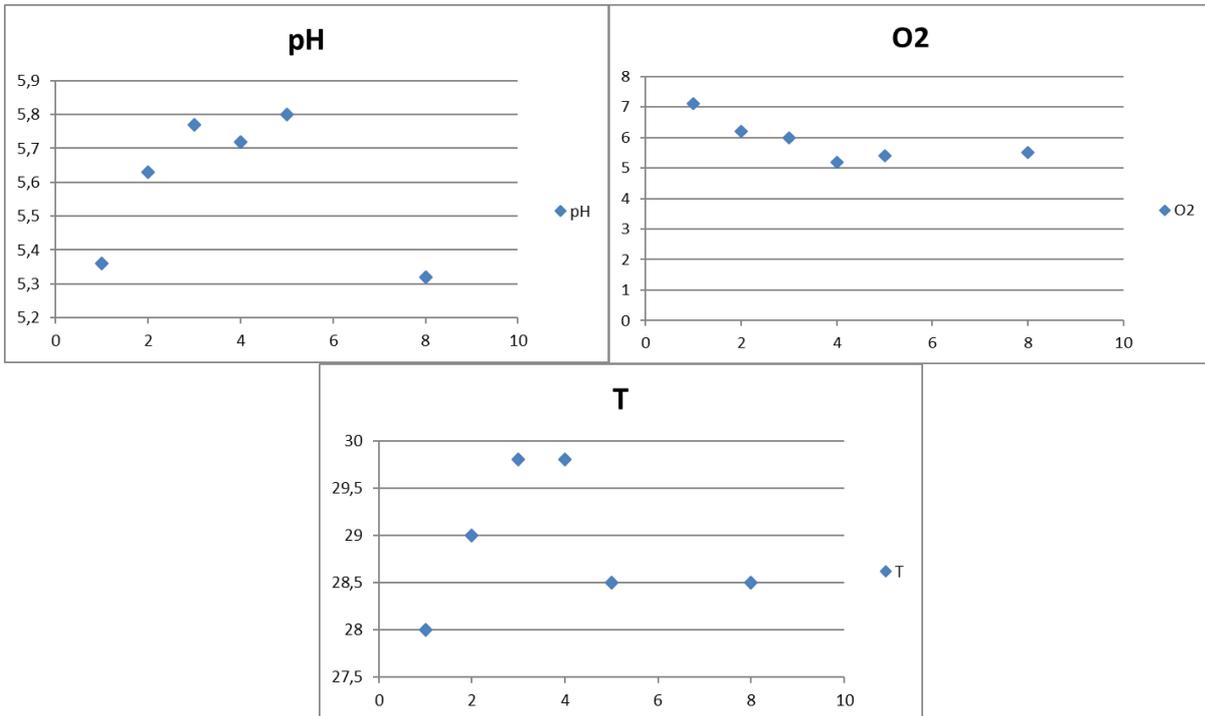


Figure 3.14 variation du pH, O₂, T de NF 0,4 à 13h

3.3.1 Discussion des résultats

On a préparé pour le même rapport un réacteur avec un lactosérum filtré et un autre non filtré. L'ultrafiltration est une des techniques de stérilisation pour assurer l'absence des micro-organismes dans notre solution afin d'éviter qu'il y ait une compétition avec les microalgues.

En comparant les résultats du suivi entre les réacteurs filtrés et non filtrés, on a observé aucune différence considérable.

On constate qu'il y a des fluctuations dans les mesures journalières de chaque paramètre qu'on a expliqué par :

- La chute du pH peut être lié à l'accumulation du CO₂ au sein du réacteur malgré que *Chlorella* est de nature mixotrophe pouvant utiliser le carbone minérale et organique simultanément, il y a eu une chute de pH, le carbone organique est plus consommé que le carbone minéral.
- La concentration de l'oxygène dissous (OD) a connu une hausse à partir du 4^{ème} jour d'incubation.
- L'instabilité de l'OD est probablement causée par une compétition entre les microalgues et micro-organisme (bactéries et levures), soit la filtration n'a pas été efficace pour stériliser, ou une contamination a eu lieu pendant la prise des mesures chaque jour, les visualisations microscopiques effectuées démontrent une légère contamination (**Figure 3.6**), sinon l'OD aurait diminué à des seuils très inférieurs, qui n'est pas le cas car la concentration en oxygène dissous dans tous les PBR n'a pas diminué au deçà de 4 mg/L.
- La quantité de biomasse produite a été suivie par la mesure de l'absorbance, une croissance nette, exponentielle est observée dans la majorité des réacteurs sans marquer aucune phase de latence et l'abaissement de l'absorbance peut être expliqué par l'agglomération des microalgues en grosses particules et leur dépôt sur les parois du réacteur.
- Il est important de noter que la concentration de *chlorella* dans les PBR n'a pas pu être quantifiée malgré que l'absorbance a été suivie durant les 8 jours d'expérimentation, suite à la non linéarité de la courbe d'étalonnage établie (annexe3). causé par la non solubilité de *chlorella* dans la fraction liquide.
- La température d'incubation n'a pas très fluctué.

3.4 Deuxième et Troisième essais (R2, R3)

Dans cet essai on a réalisé 6 réacteurs batch en mode chimiotrophe avec une agitation continue à une température constante de 30 °C et à partir d'une solution de 0,5 g/L de substrat (lactosérum doux et filtré) et de biomasse (chlorella commerciale). L'incubation a été réalisée pour un temps de séjours de 12 jours.

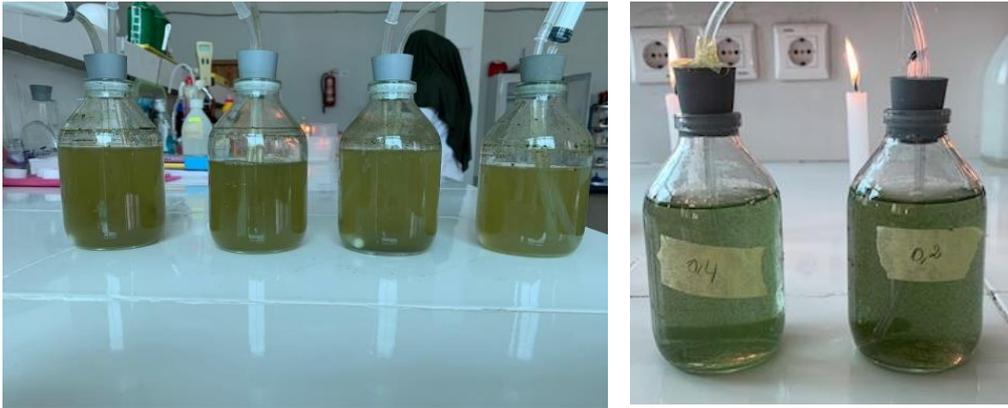


Figure 3.15 réacteurs R2 et R3 avant incubation



Figure 3.16 réacteurs R2 et R3 après incubation

Les résultats des mesures effectuées sont illustrés dans les figures **Figure 3.17 - Figure 3.24**.

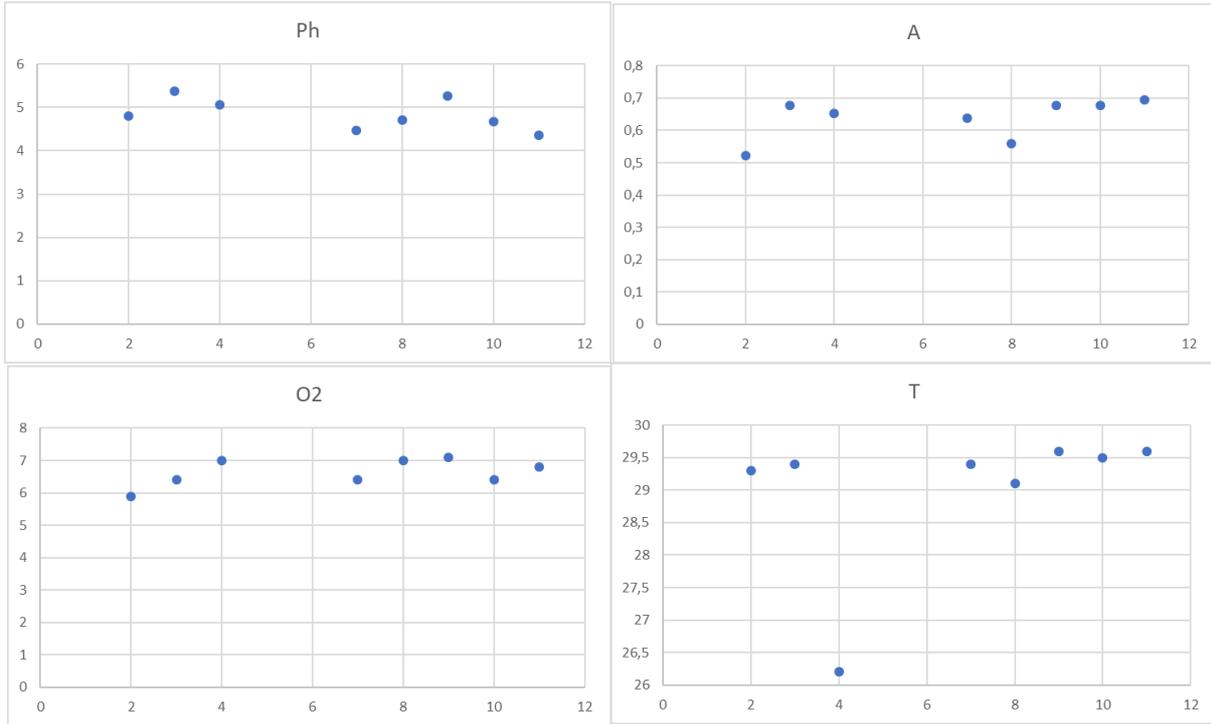


Figure 3.17 variation du pH, O₂, T et A de R3 (1) à 8h

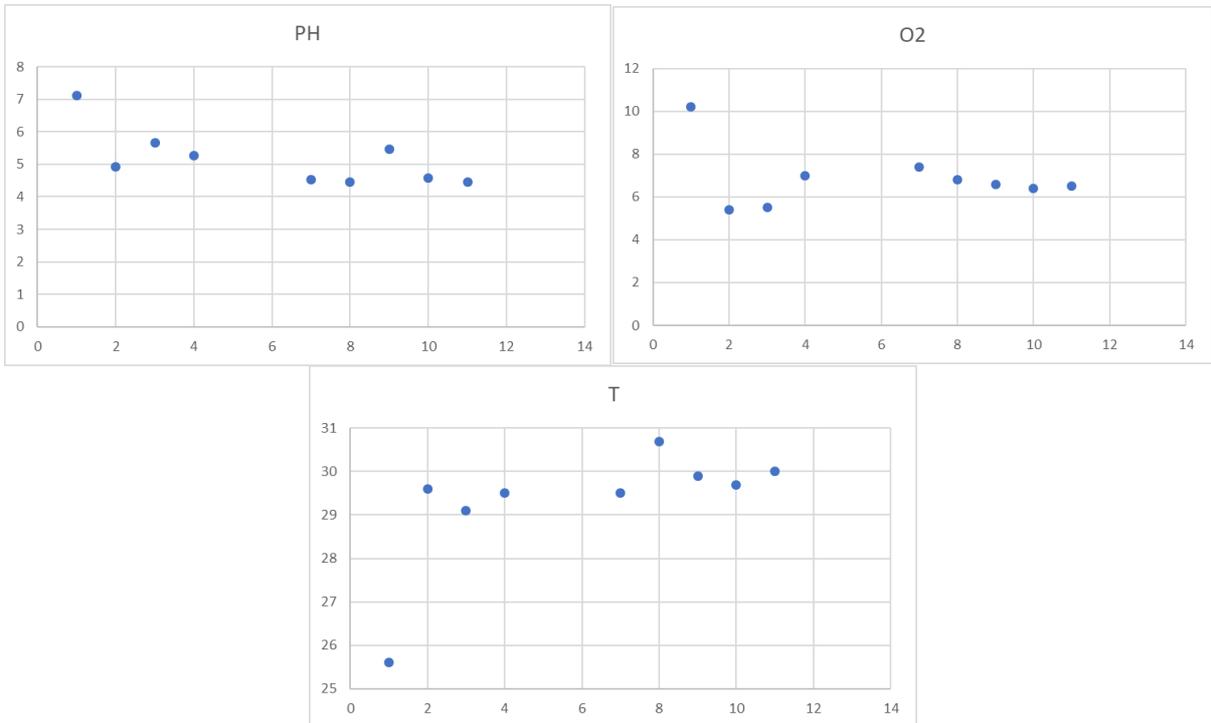


Figure 3.18 variation du pH, O₂, T de R3 (1) à 13h

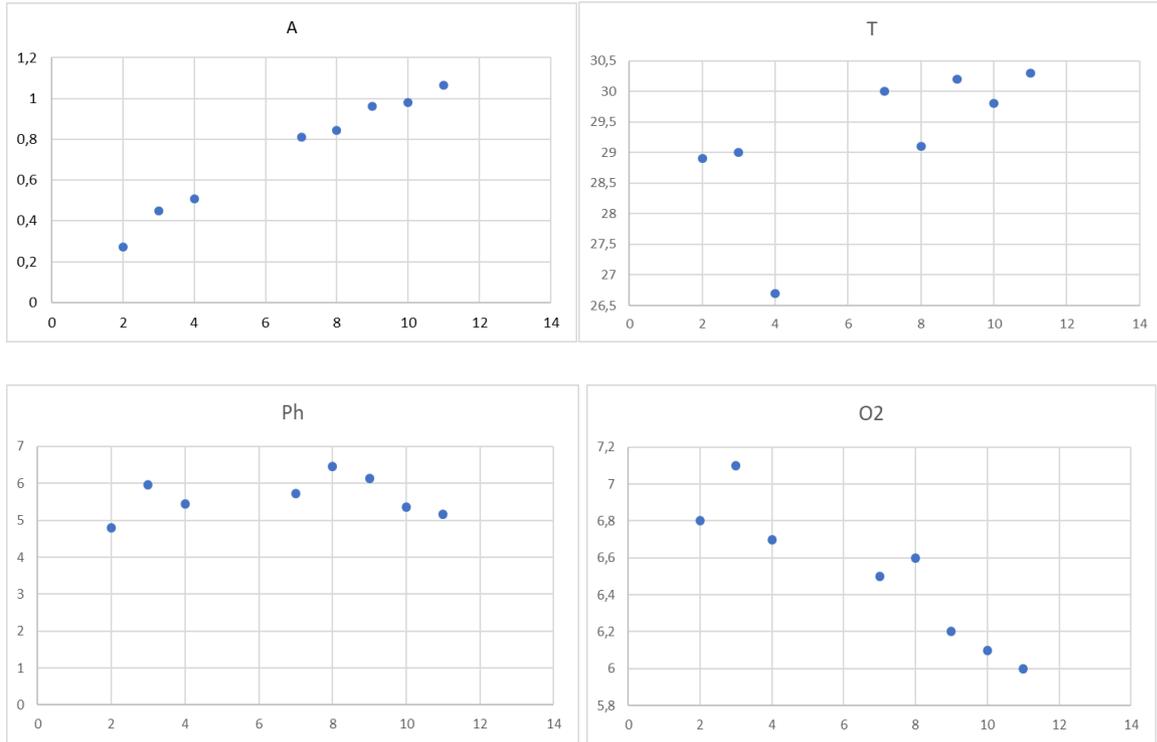


Figure 3.19 variation du pH, O₂, T et A de R3 (2) à 8h

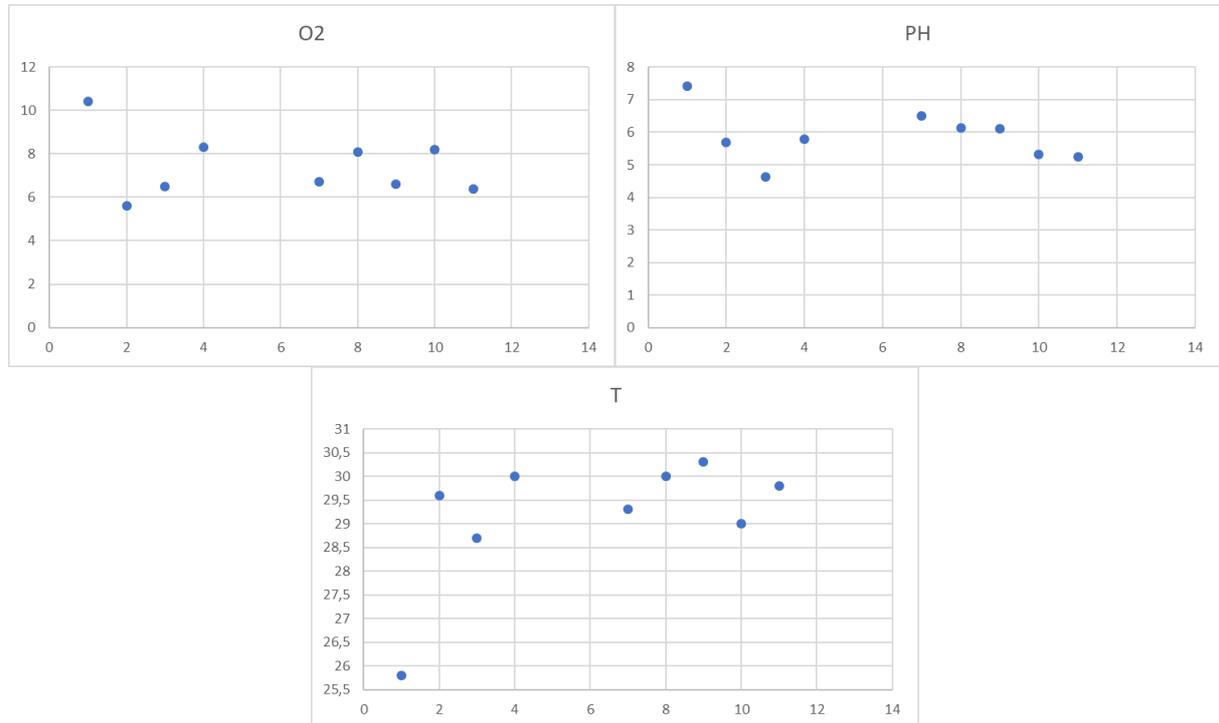


Figure 3.20 variation du pH, O₂, T de R3 (2) à 13h

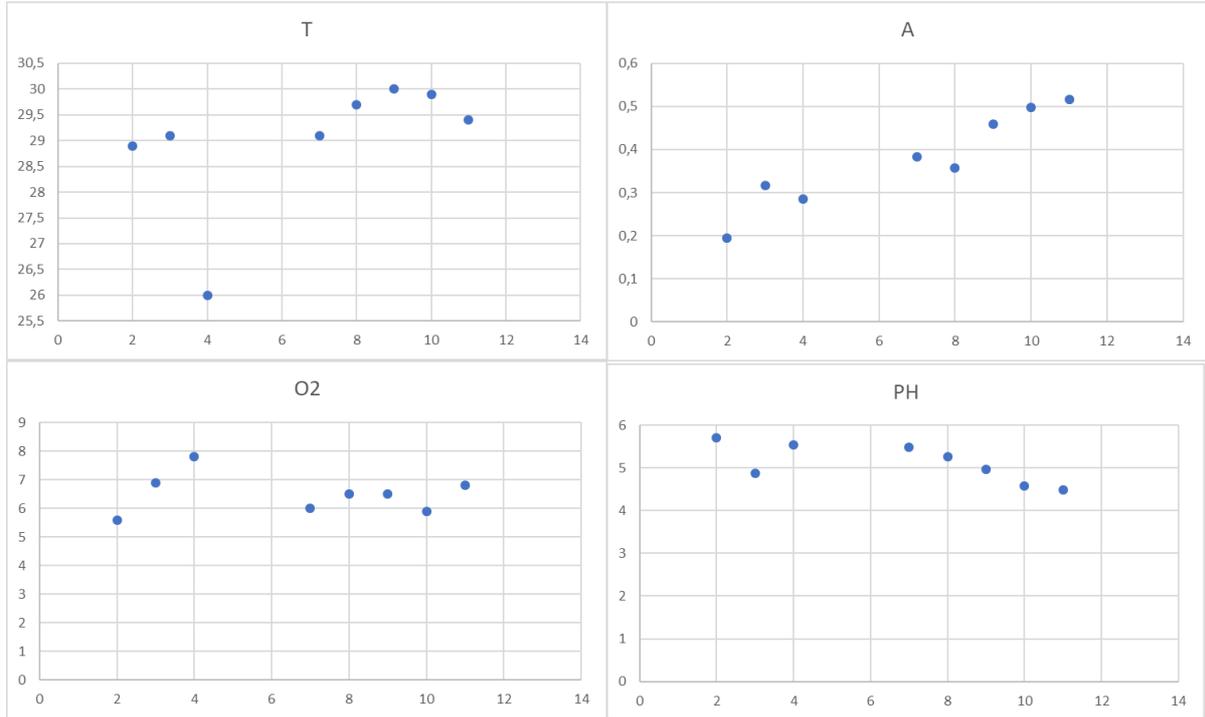


Figure 3.21 variation du pH, O₂, T et A de R3 (2) à 8h

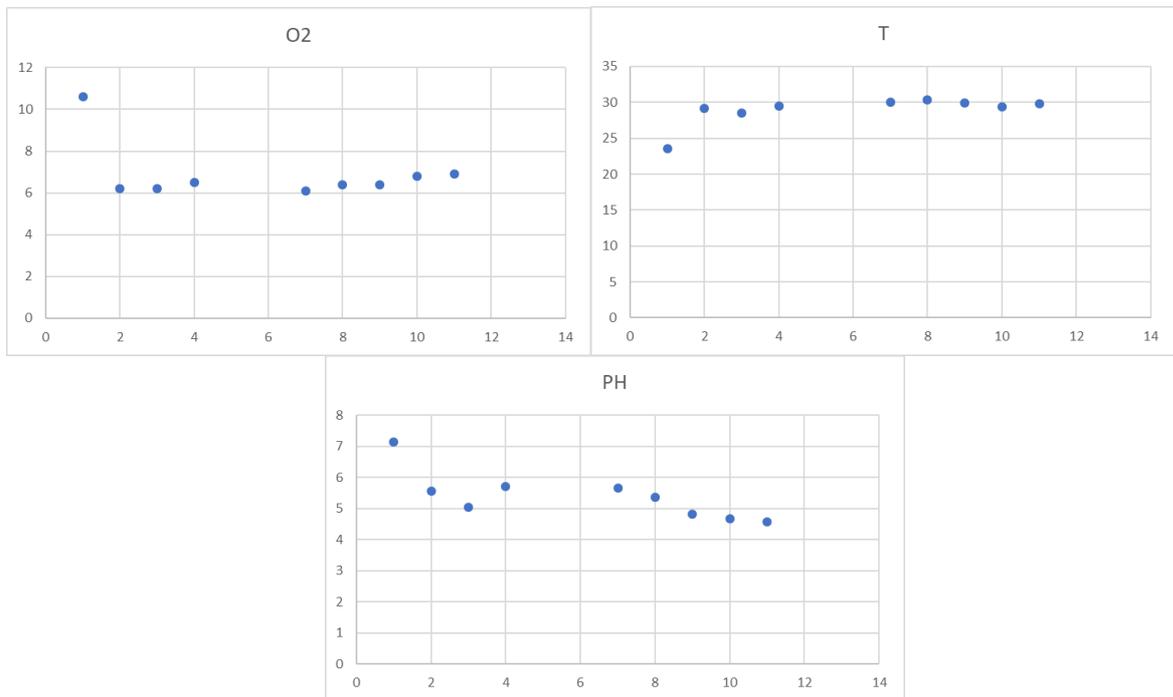


Figure 3.22 variation du pH, O₂, T de R3 (6) à 13h

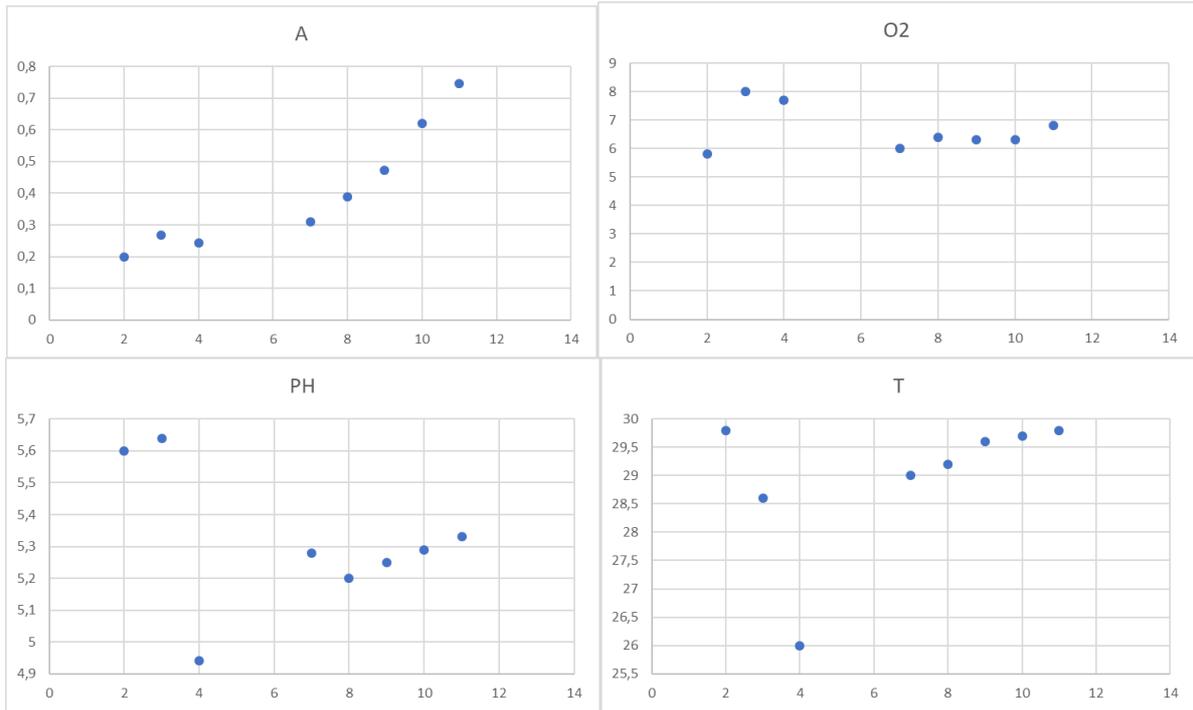


Figure 3.23 variation du pH, O₂, T et A de R3 (12) à 8h

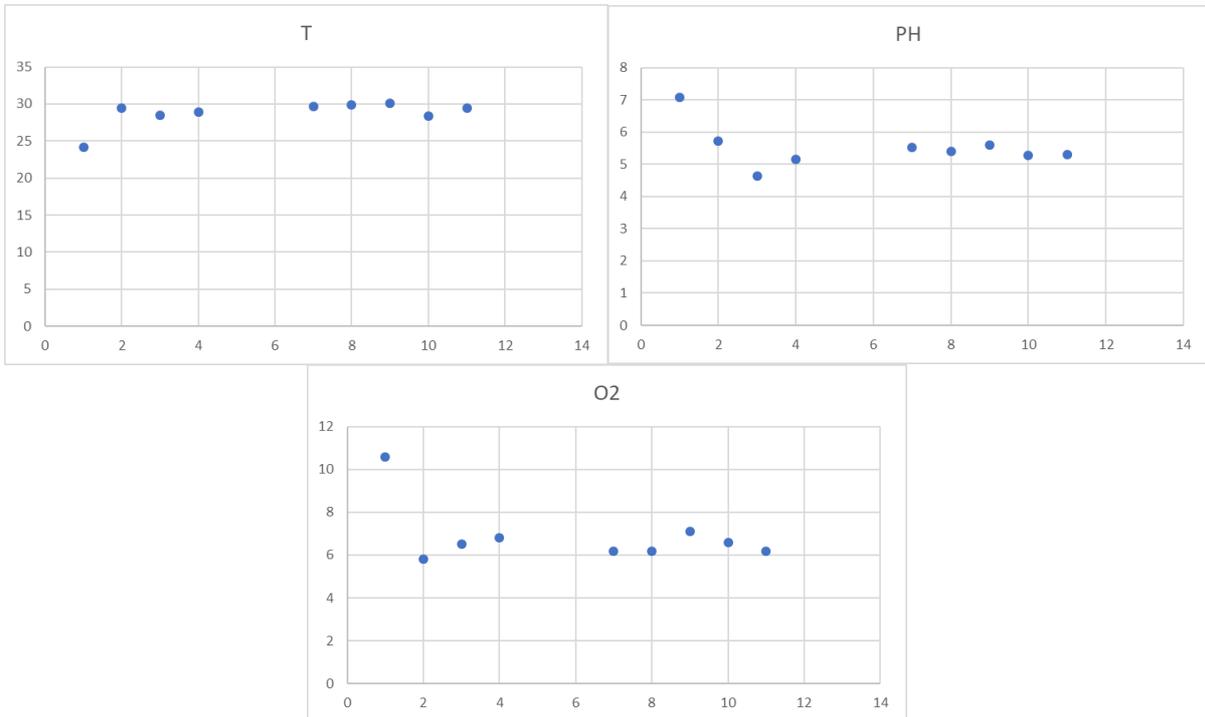


Figure 3.24 variation du pH, O₂, T de R3 (12) à 13h

3.4.1 Discussion des résultats

Les réacteurs utilisés sont des flacons de 250 mL couverts pour assurer une obscurité totale, le suivi de leur évolution est mené pendant 12 jours. On a effectué une visualisation microscopique pour l'observation de la croissance des microalgues et l'interprétation des résultats obtenus.

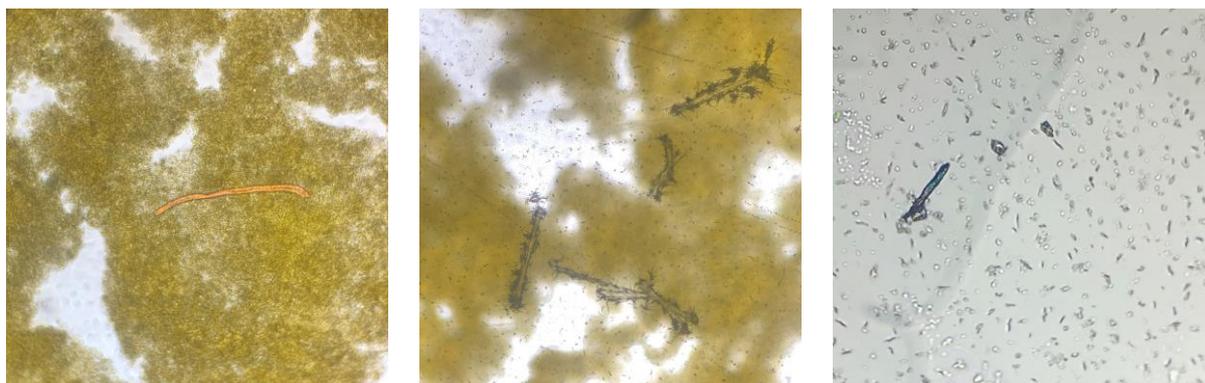


Figure 3.25 visualisation macroscopique des réacteurs R3 (agrandissement x10)

On a pu observer :

- La présence de micro-organismes qui peut être due a une contamination externe.
- Le pH baisse considérablement dans les deux premiers jours, et pendant les jours qui suivent une variation entre [4-5]. Ce qui signifie une accumulation du CO₂ dans les réacteurs.
- La fluctuation de l'O₂ est probablement due à une compétition entre les micro-organismes et les microalgues. la concentration d'OD n'a pas diminué dans la majorité des bioréacteurs au dessous de 6 mg/L car la croissance algale est plus dominante.
- Une croissance exponentielle de l'absorbance dans les bioréacteurs fonctionnant avec les rapports S/X de 2, 6 et 12 a été enregistrée.
- Un dépôt de résidus dans les parois des réacteurs et d'autres en suspension dans la solution et aussi la diminution du volume dans tous les réacteurs.

3.5 Quatrième Essai (R4)

On a effectué cet essai en mode phototrophe sous une intensité de lumière de $3-3,2 \mu\text{watt}/\text{cm}^2$, dans des réacteurs en forme de colonne, sans agitation et à une température ambiante.

On a préparé nos 4 réacteurs partant d'une solution de 0,5 g/l de lactosérum doux et de chlorella commerciale, (sans filtration du lactosérum). Tout en testant les rapports S/X 0,4, 1,6 et 12.

Les résultats des mesures effectuées sont illustrés dans les figures **Figure 3.27 - Figure 3.34**



Figure 3.26 réacteurs en colonnes R4 en condition mixotrophe (éclairage naturel).

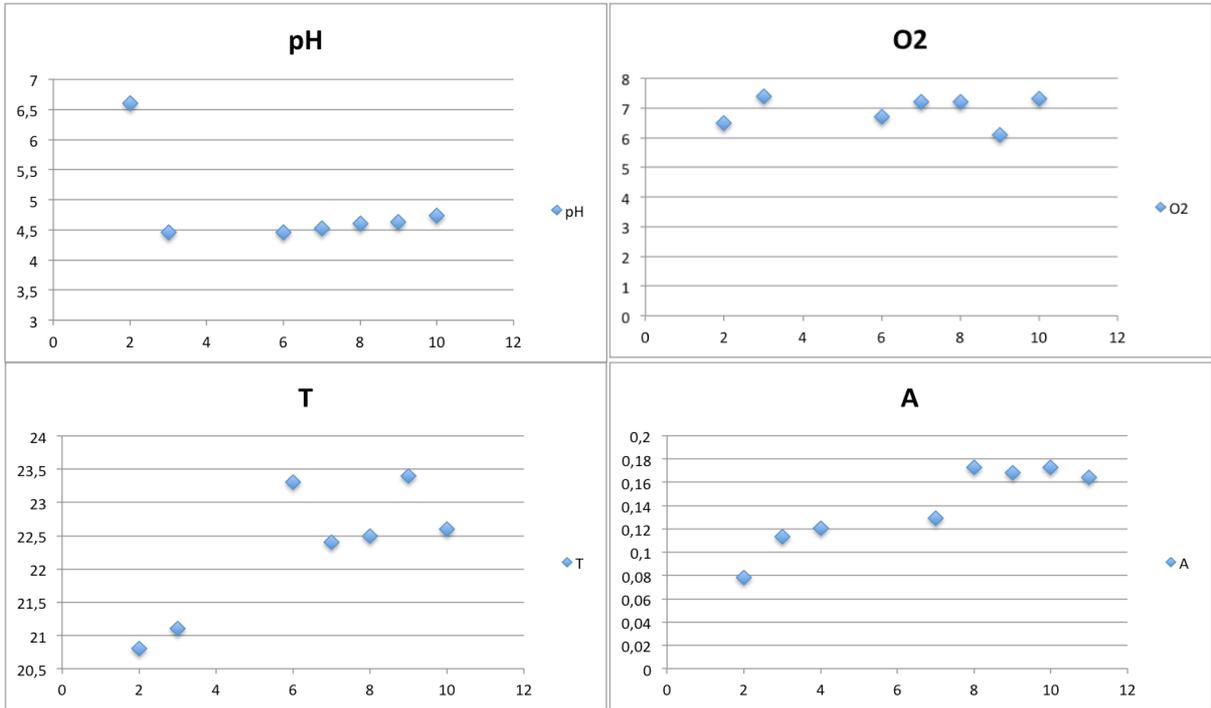


Figure 3.27 variation du pH, O₂, T et A de R4 (0,4) à 8h

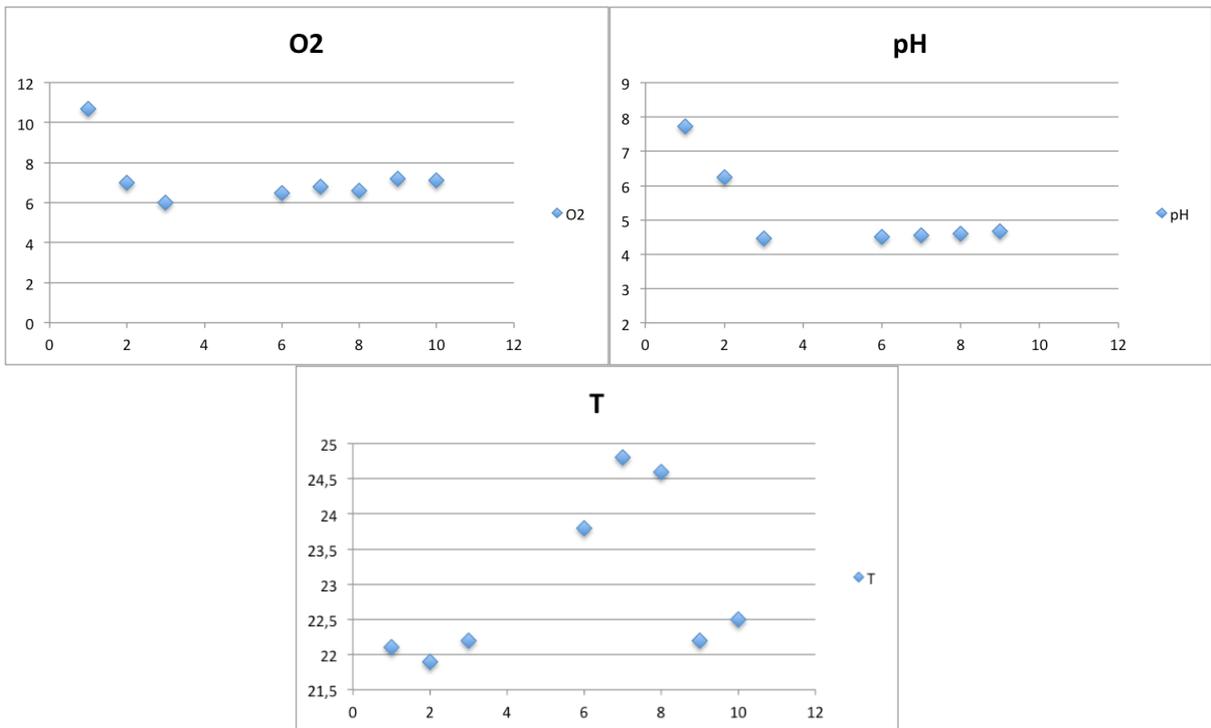


Figure 3.28 variation du pH, O₂, T, de R4 (0,4) à 13h

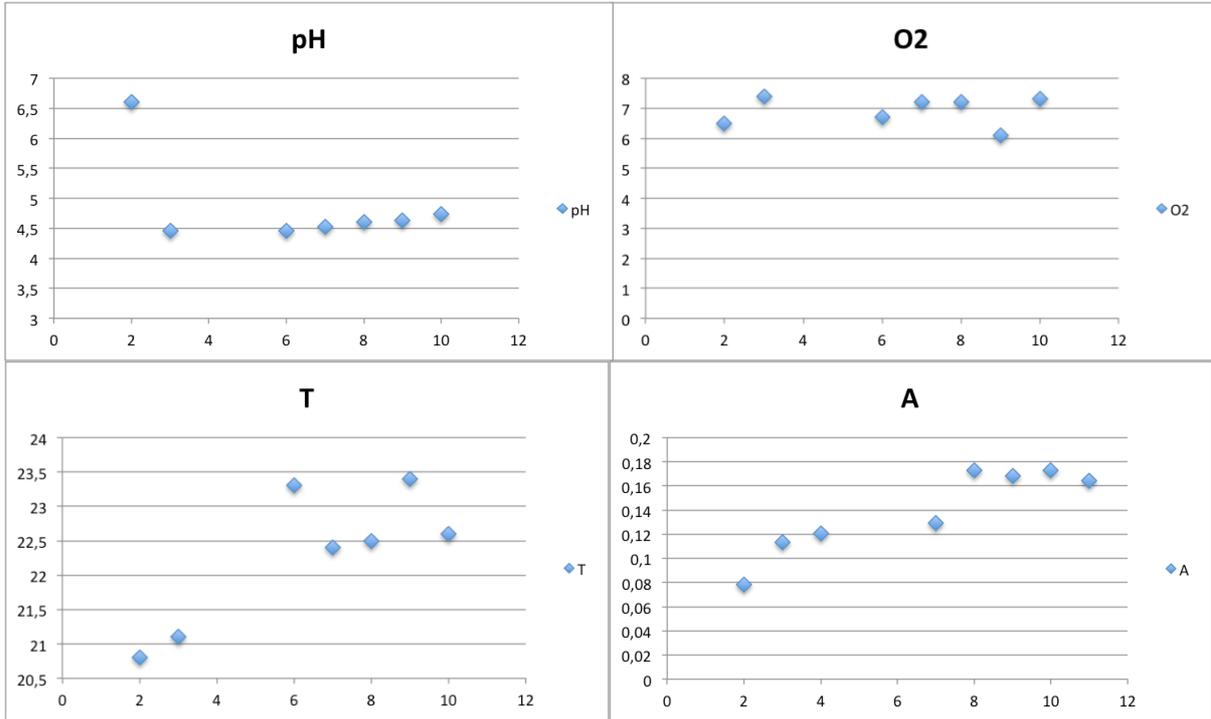


Figure 3.29 variation du pH, O₂, T et A de R4 (1) à 8h

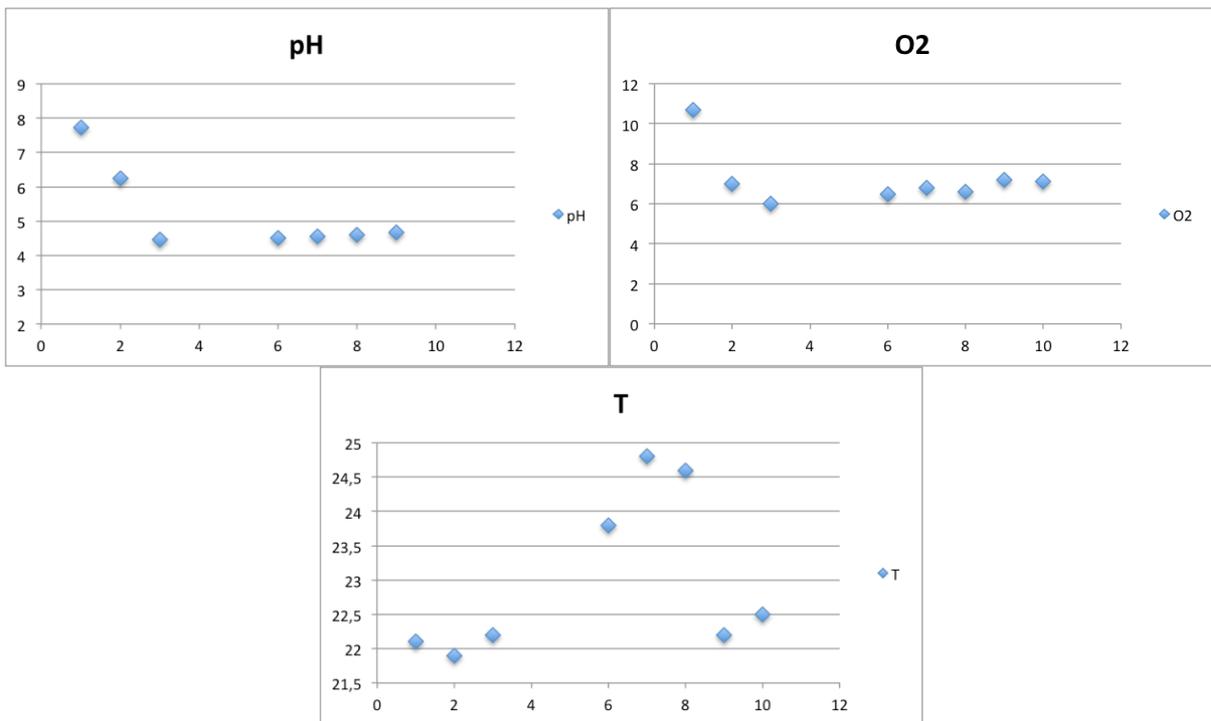


Figure 3.30 variation du pH, O₂, T de R4 (1) à 13h

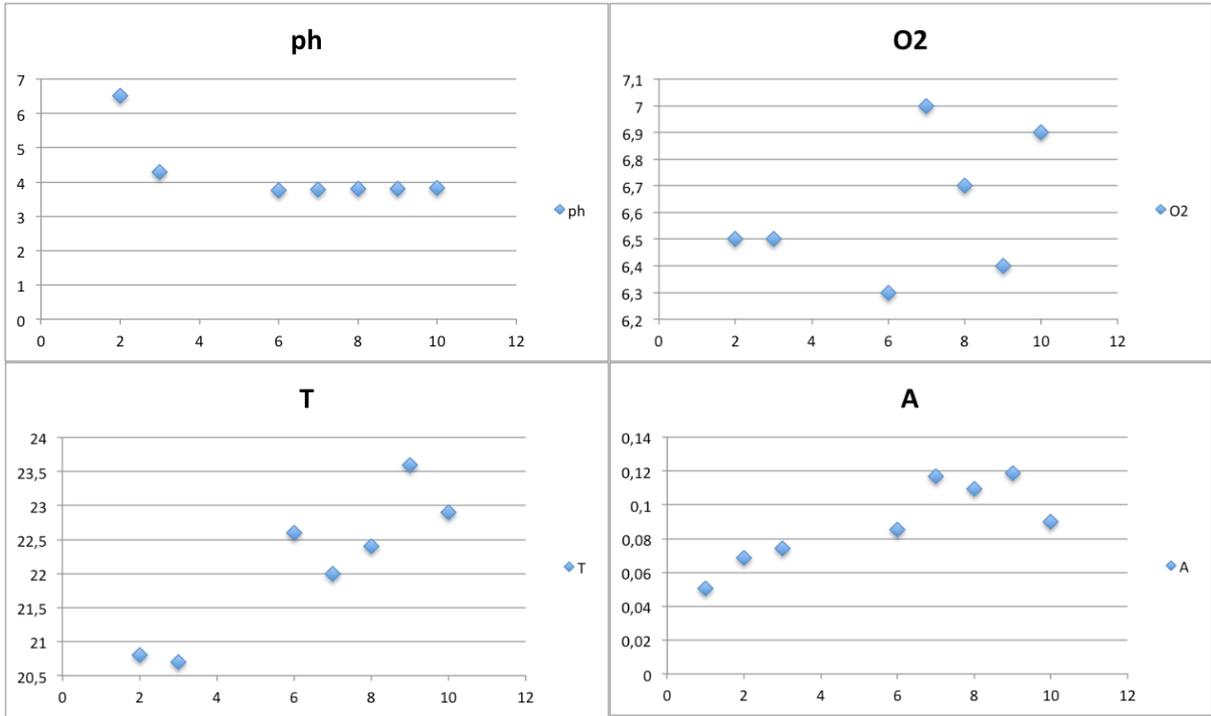


Figure 3.32 variation du pH, O₂, T et A de R4 (6) à 8h

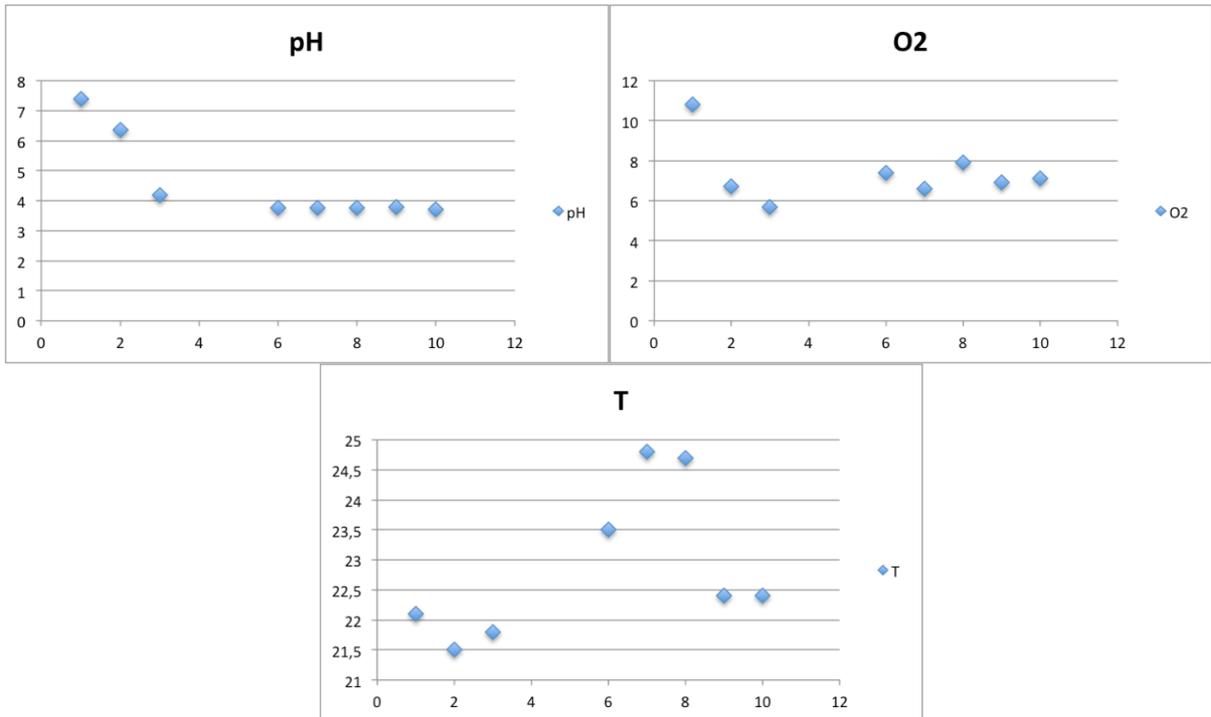


Figure 3.31 variation du pH, O₂, T de R4 (6) à 13h

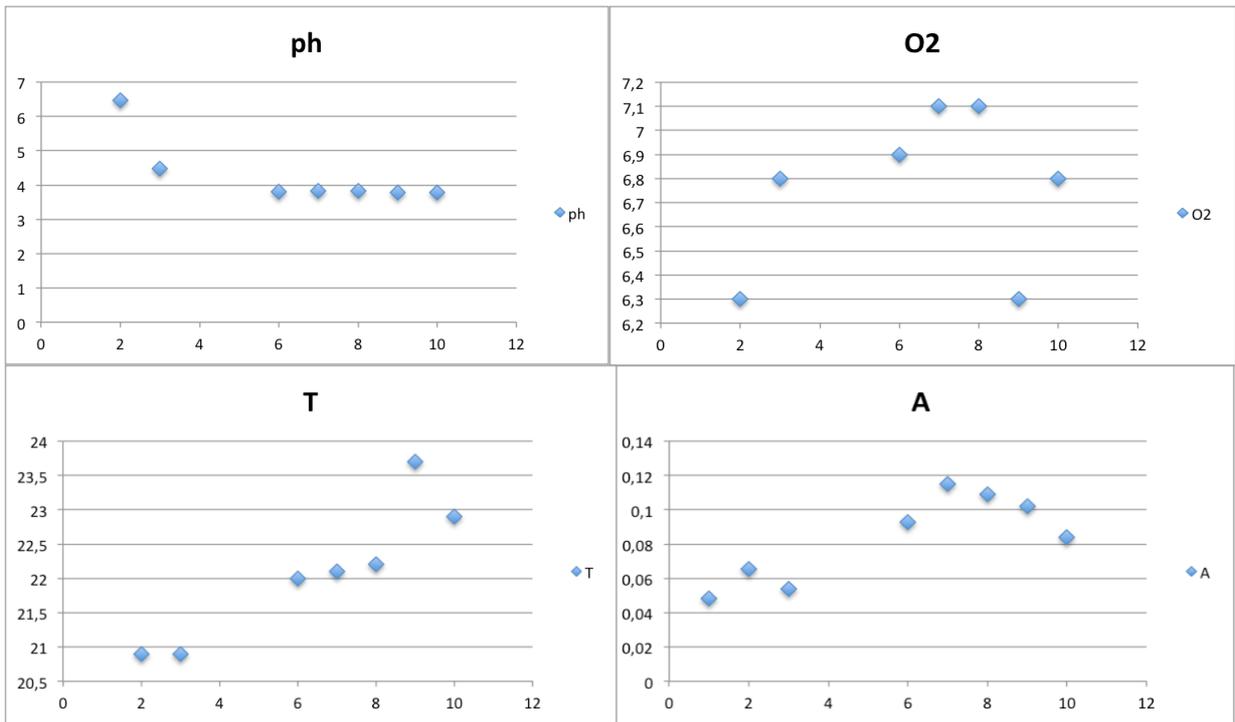


Figure 3.33 variation du pH, O₂, T et A de R4 (12) à 8h

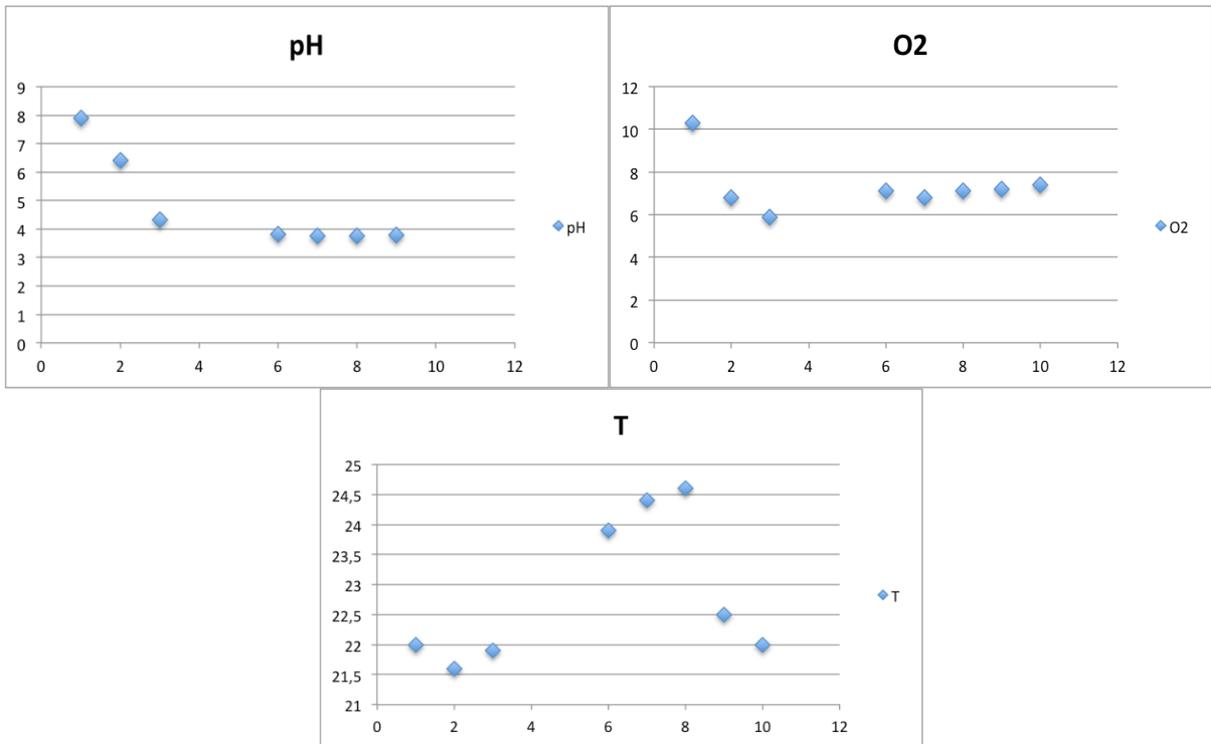


Figure 3.34 variation du pH, O₂, T de R4 (12) à 13h

3.5.1 Discussion des résultats

- Pour des réacteurs en mode phototrophe, on a utilisé des colonnes qu'on a rempli jusqu'à 90cm de hauteur, avec 1,5 L en volume pour avoir une grande surface de contact avec la lumière.
- On a étudié l'évolution de ces réacteurs pendant 10 jours sans agitation pour pouvoir évaluer son influence sur la culture des microalgues.
- Toute la quantité de chlorella qu'on avait mise au départ se dépose toujours au fond des réacteurs et on a remarqué aucun changement visible au cours de ces 10 jours.
- Durant ces 10 jours on a observé une chute consécutive du pH qu'on a lié à l'acidification du lactosérum, et pour cela on a effectué un suivi sur ce dernier, en utilisant la même concentration. Notre hypothèse a été confirmée.

Tableau 3.2 Suivi de l'acidification de la solution du lactosérum doux

jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
pH	6,64	5,87	4,31	4,34	4,33	4,31	4,34	4,38	4,35	4,35	4,29

- Les fluctuations de l'absorbance sont les conséquences de notre mauvaise agitation manuelle lors de la prise d'échantillon et peut être aussi le blanchiment d'une partie des microalgues.



Figure 3.35 blanchiment des R4

- L'instabilité de l'oxygène dissous est causée par la présence des microorganismes.



Figure 3.36 visualisation microscopique des R4 agrandissement x10

3.6 Cinquième et sixième essai R5, R6

On a incubé plusieurs réacteurs différents, à partir d'une solution de lactosérum doux et non filtré de 1g/L et de chlorella commerciale de 1g/L, en mode mixotrophie (éclairage naturel), avec une agitation et une aération continue et en assurant l'évacuation de l'air, à une température ambiante (24°C). L'intensité de lumière naturelle a été mesurée a partir d'un radiomètre.

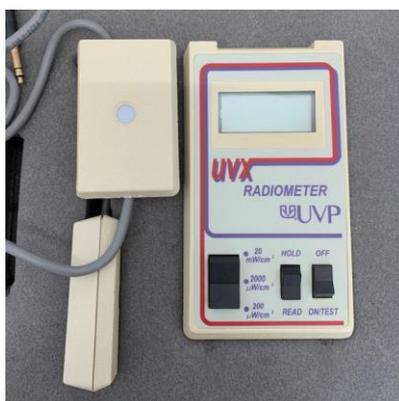


Figure 3.37 UVX radiomètre UVP

Tableau 3.3 suivi de l'intensité de la lumière dans le laboratoire d'analyses

Dates	Intensité de lumière ($\mu\text{watt}/\text{cm}^2$)					
29/03 /2022	9 h:30mn			10h : 30min		
	Lumières allumées	Lumières éteintes	50 % du labo allumé	Lumières allumées	Lumières éteintes	50% du labo allumé
	3,1	3,0	3	3,1	3,1	3
	12 h:00min			14h : 00min		
	Lumières allumées	Lumières éteintes	50 % du labo allumé	Lumières allumées	Lumières éteintes	50% du labo allumé
	3,1	3	3,1	3	3	3
30/03 /2022	Intensité de lumière ($\mu\text{watt}/\text{cm}^2$)					
	10h : 26min			12h30min		
	Lumières allumées	Lumières éteintes	50% du labo allumé	Lumières allumées	Lumières éteintes	50% du labo allumé
	3,2	3,1	3,1	3,3	3,1	3,1

- Remarque : l'intensité de lumière reste presque la même pendant les temps nuageux et ensoleillés.

Deux formes de réacteurs ont été préparées :

- Six réacteurs (R5) de 250 mL remplis, deux des réacteurs (rapport 1 et 12) n'été pas aérés.

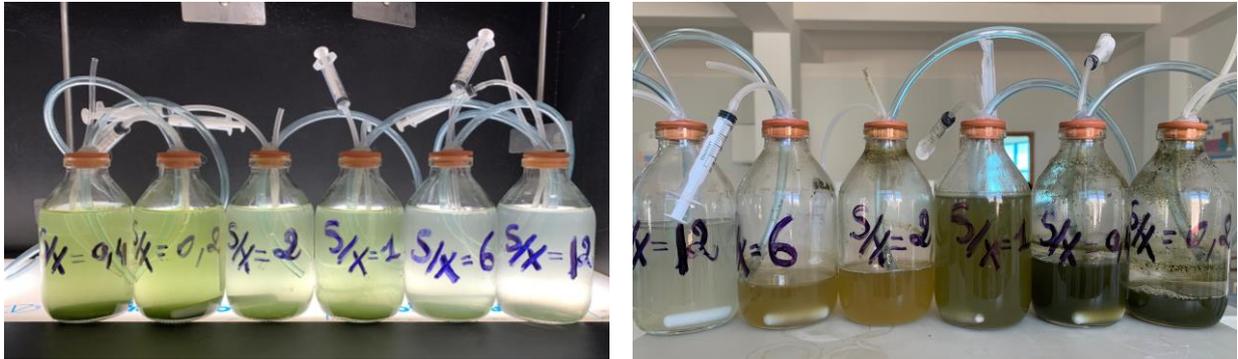


Figure 3.38 réacteurs R5 avant et après incubation

- Six réacteurs (R6) de 500 mL rempli à moitié.



Figure 3.39 réacteurs R6 avant et après incubation

Les résultats des mesures effectuées sont illustrés dans les **Figure 3.40 - Figure 3.50** pour les R5 et les **Figure 3.51- Figure 3.63** pour les R6.

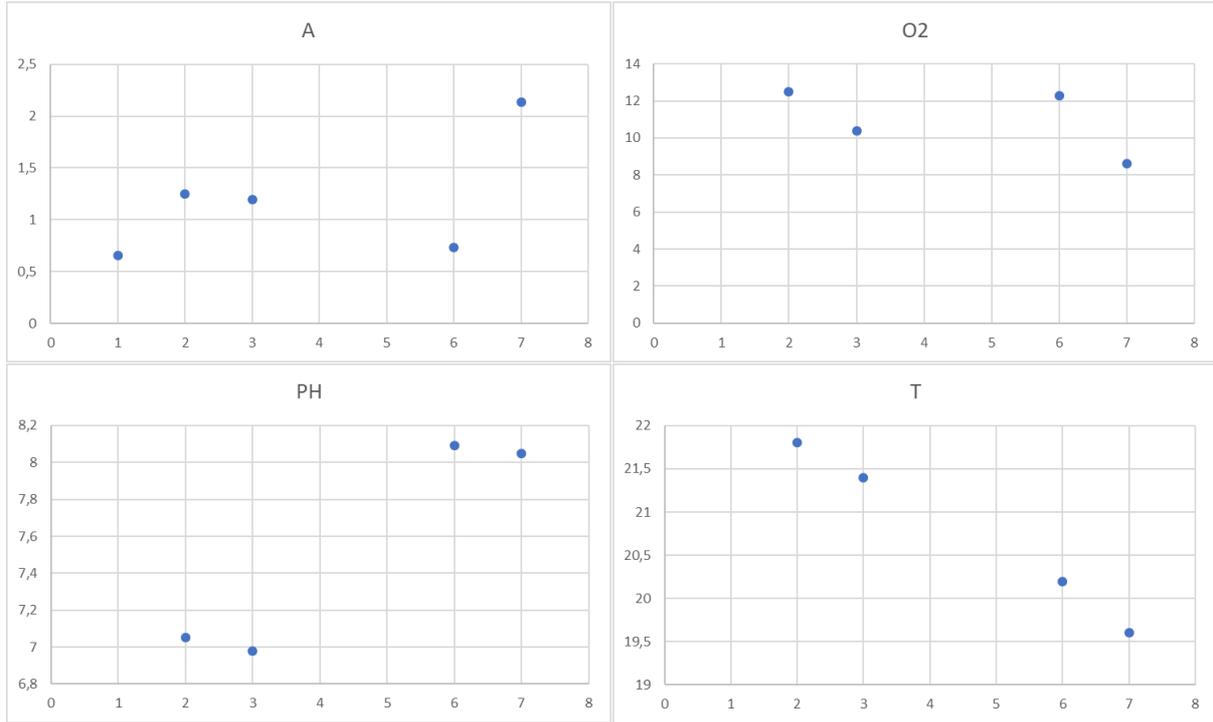


Figure 3.40 variation du pH, O₂, T et A de R5 (0,2) à 8h

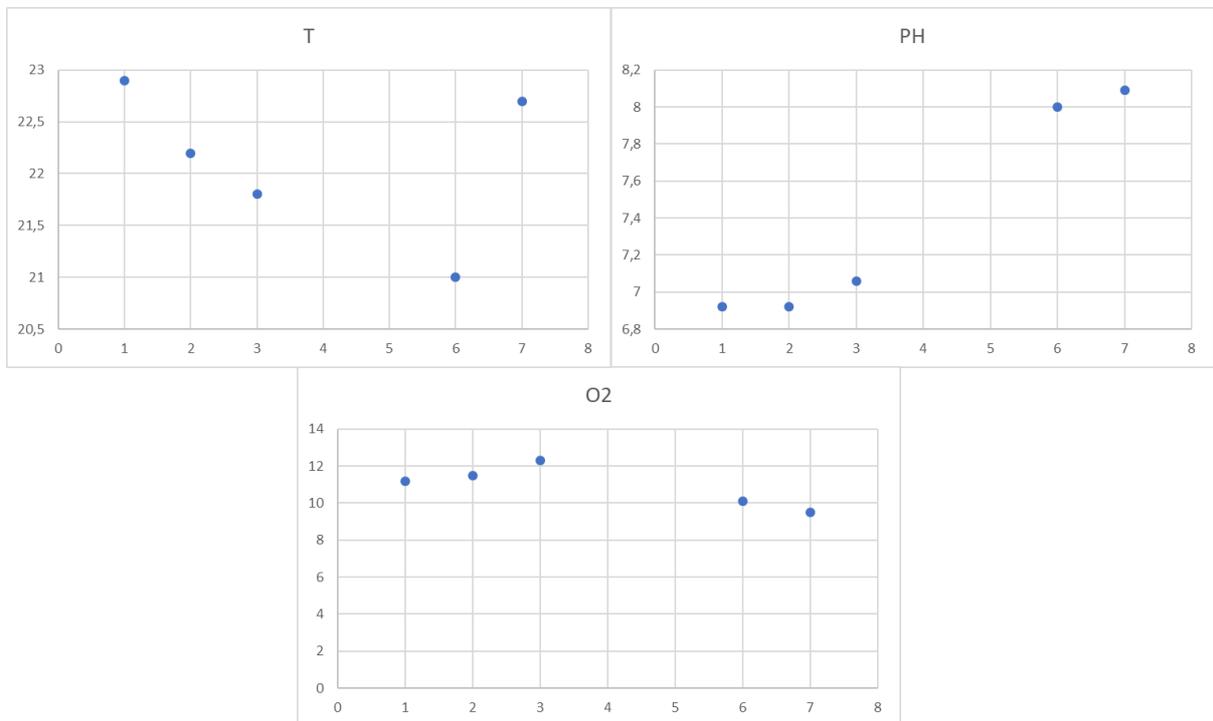


Figure 3.41 variation du pH, O₂, T de R5 (0,2) à 13h

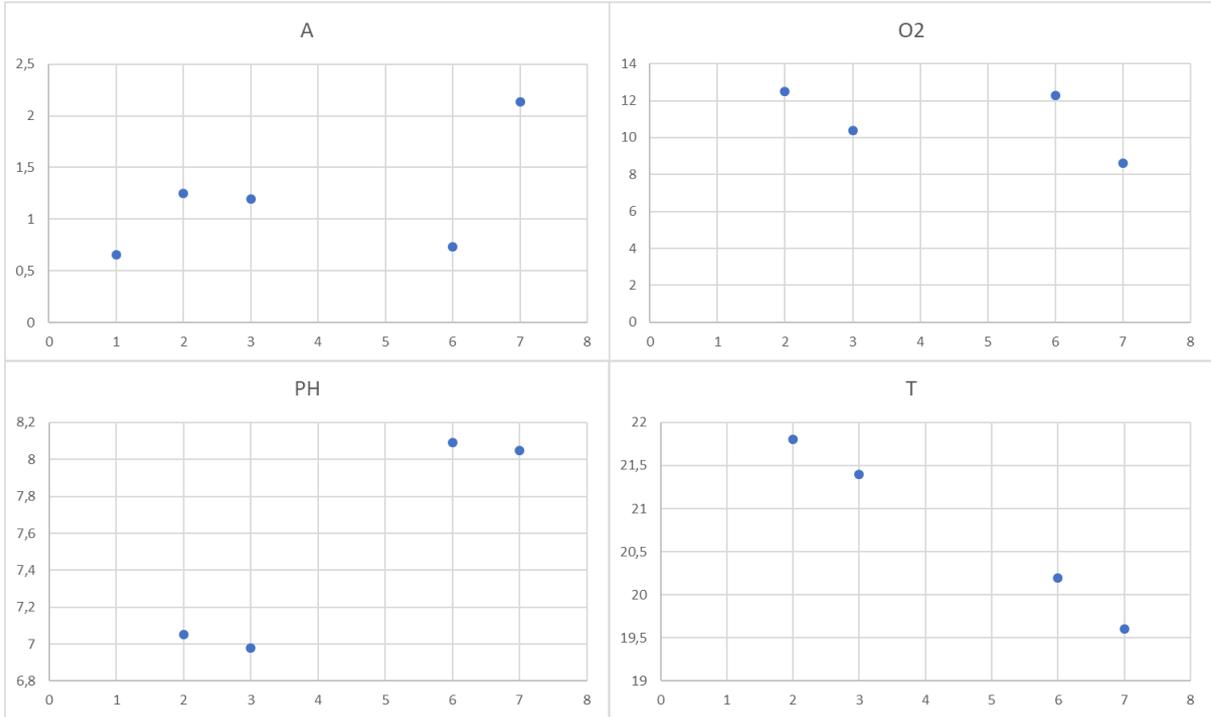


Figure 3.42 variation du pH, O₂, T et A de R5 (0,4) à 8h

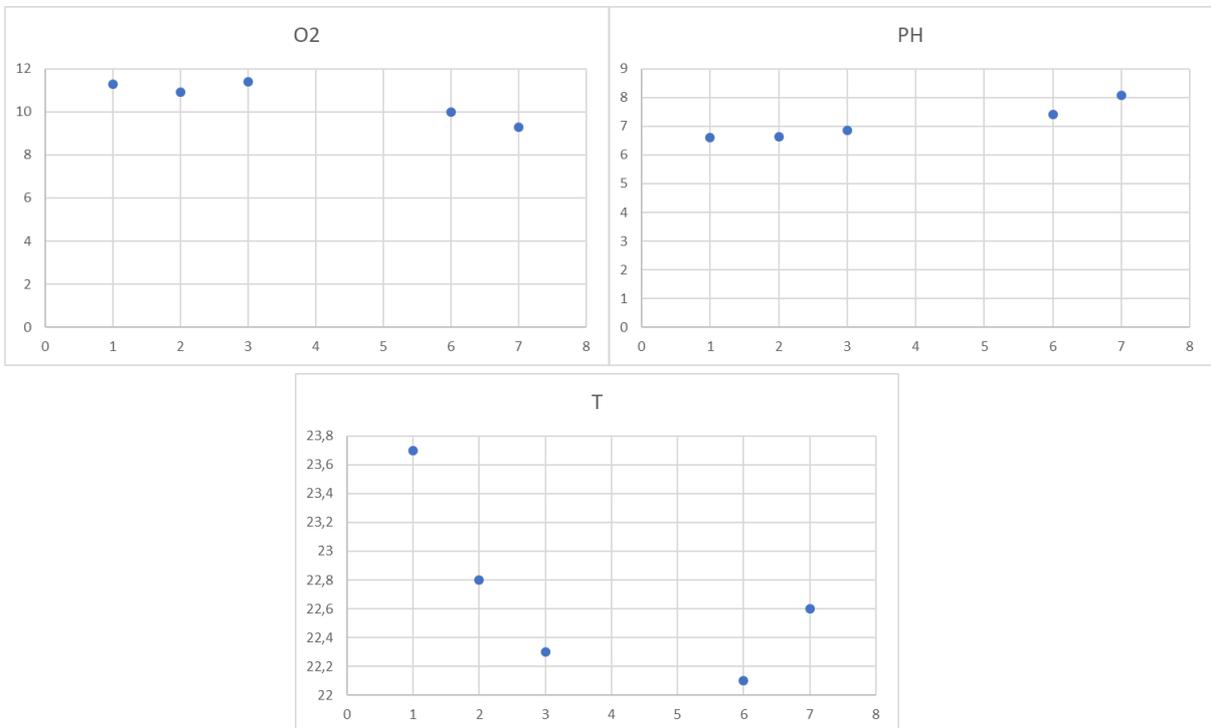


Figure 3.43 variation du pH, O₂, T de R5 (0,4) à 13h

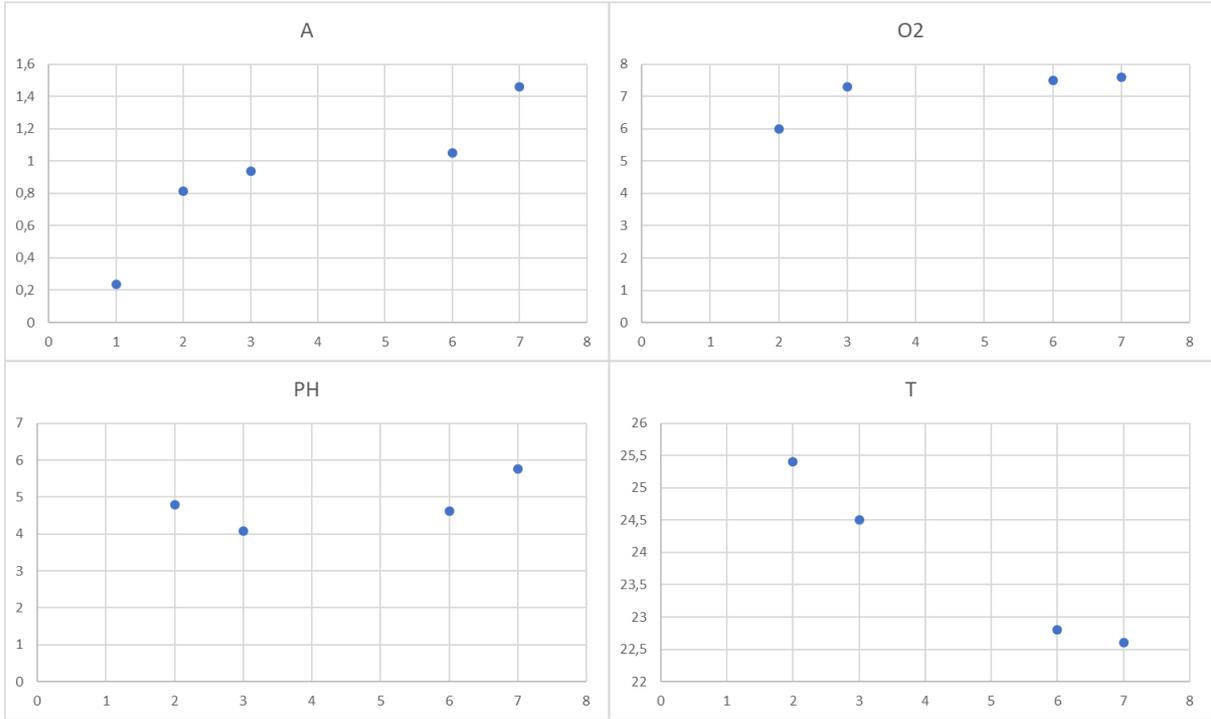


Figure 3.44 variation du pH, O₂, T et A de R5 (1) à 8h

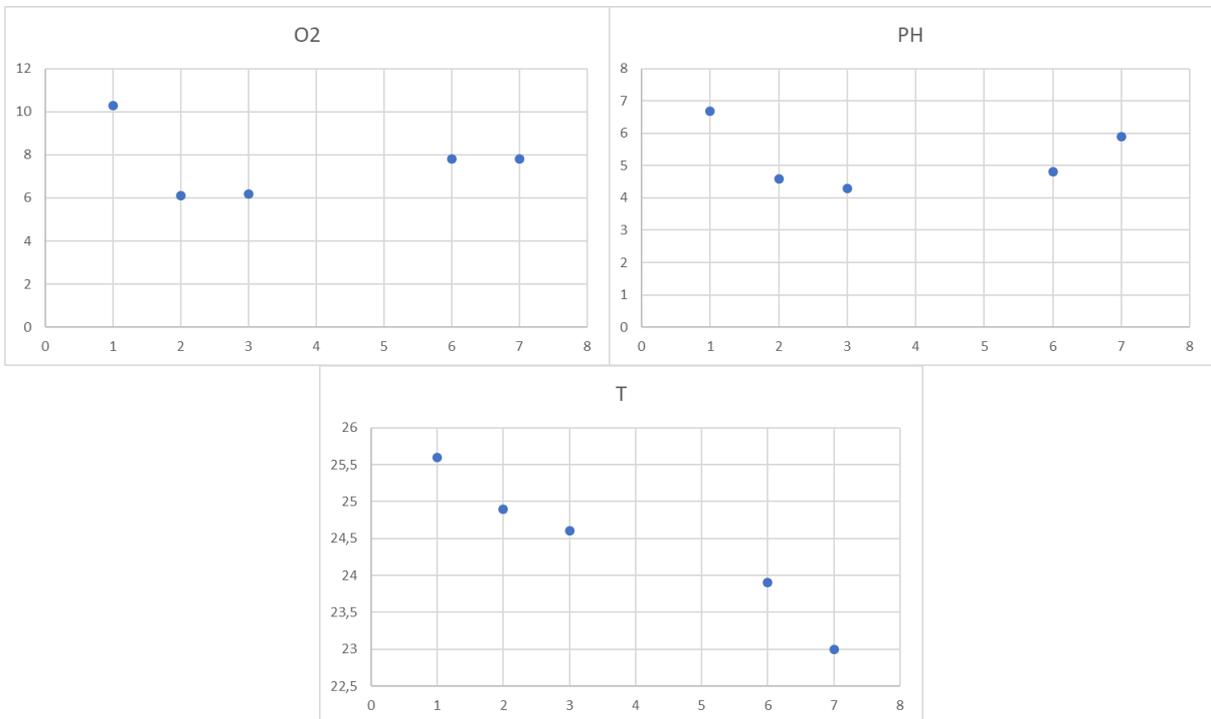


Figure 3.45 variation du pH, O₂, T de R5 (1) à 13h

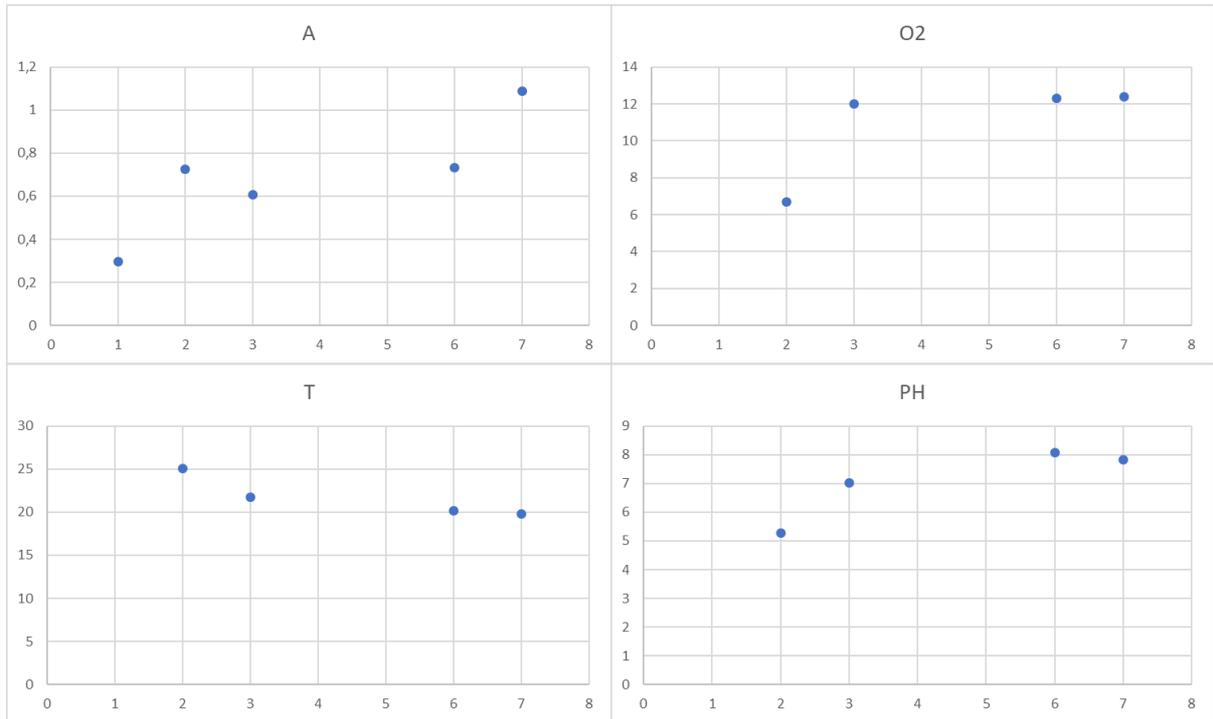


Figure 3.46 variation du pH, O₂, T et A de R5 (2) à 08h

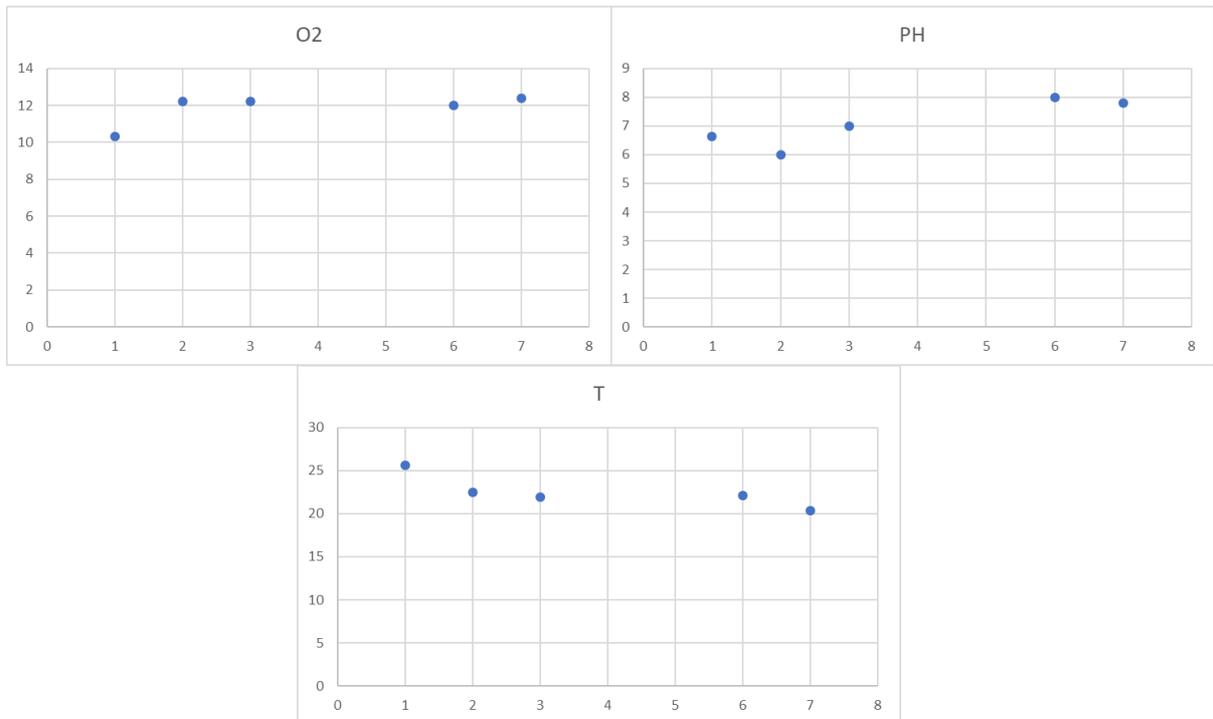


Figure 3.47 variation du pH, O₂, T de R5 (2) à 13h

Chapitre 3

Incubation et suivi des réacteurs

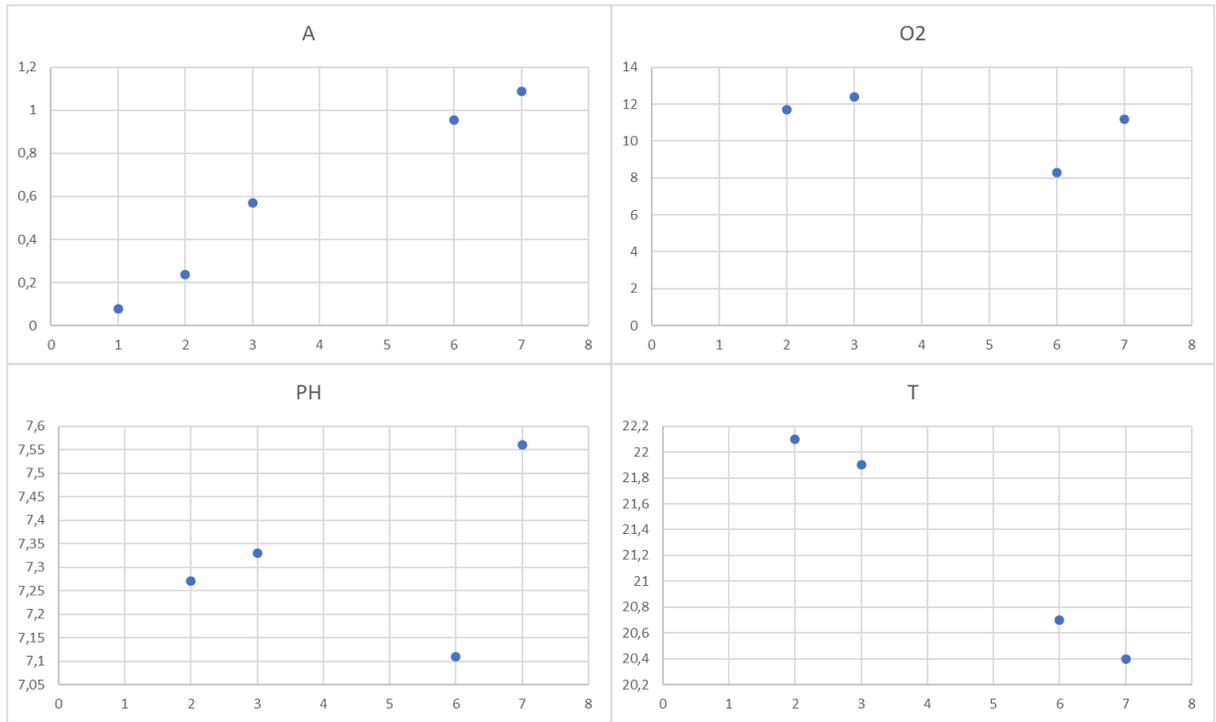


Figure 3.48 variation du pH, O₂, T et A de R5 (6) à 8h

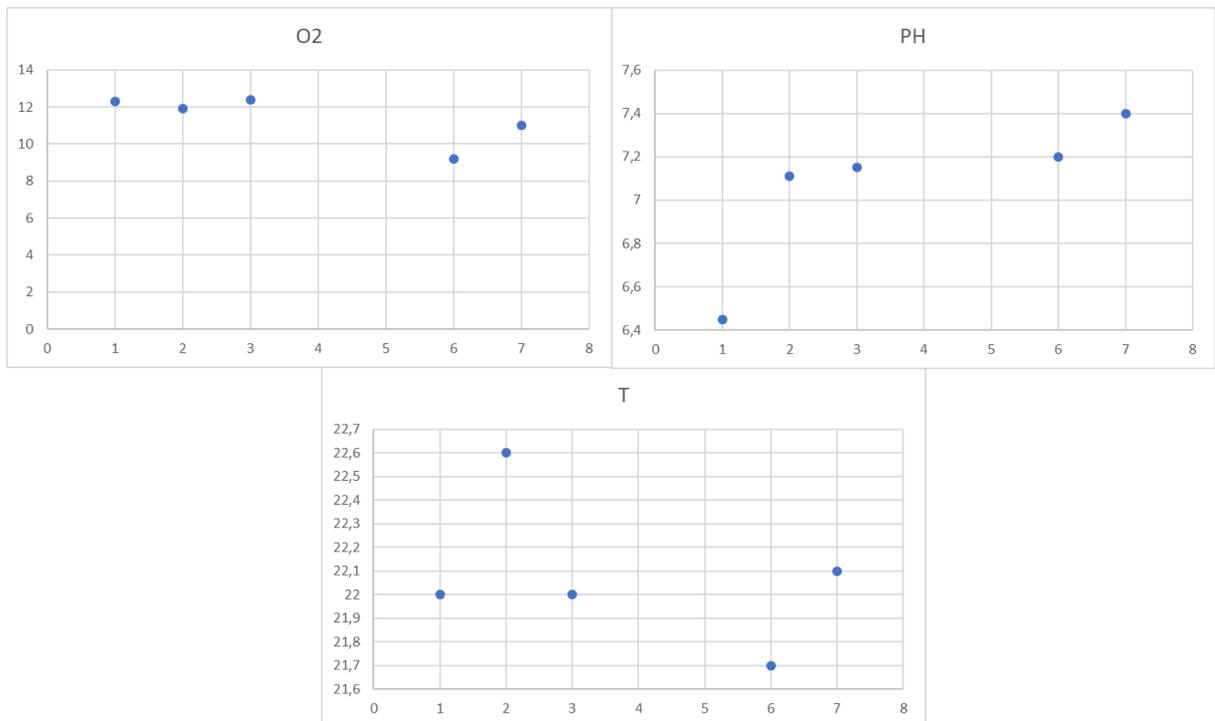


Figure 3.49 variation du pH, O₂, T de R5 (6) à 13h

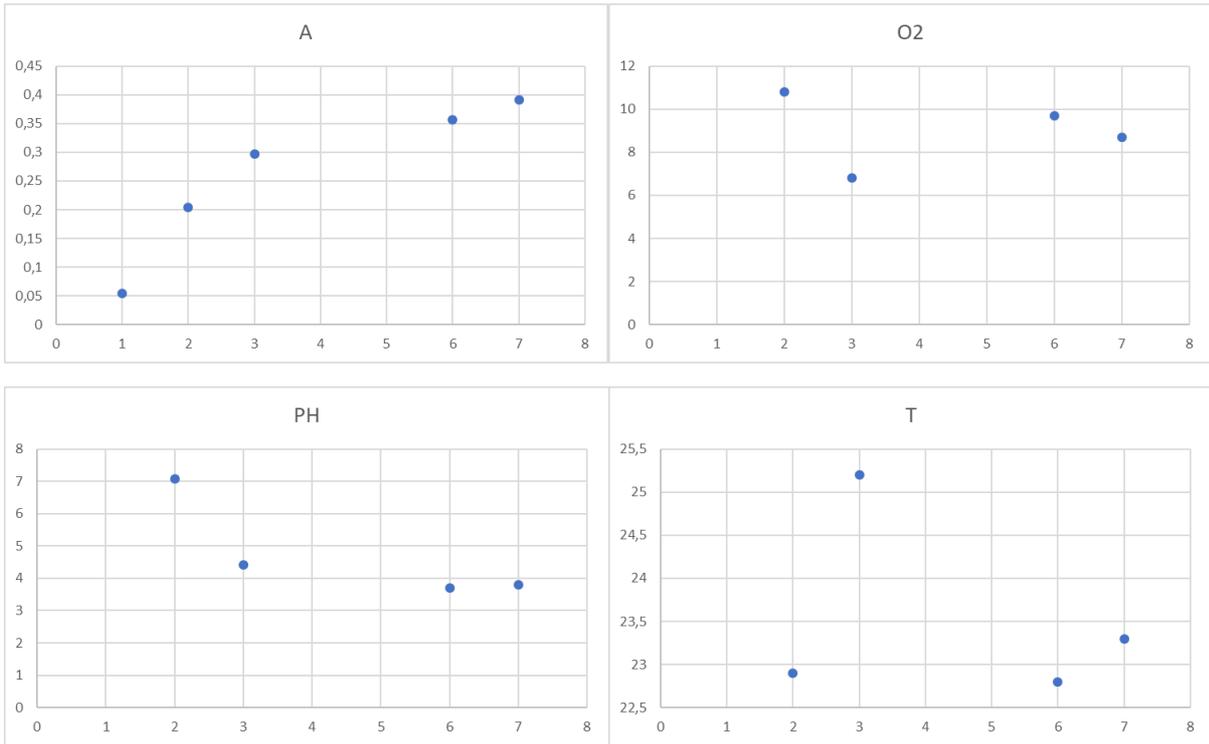


Figure 3.50 variation du pH, O₂, T et A de R5 (12) à 8h

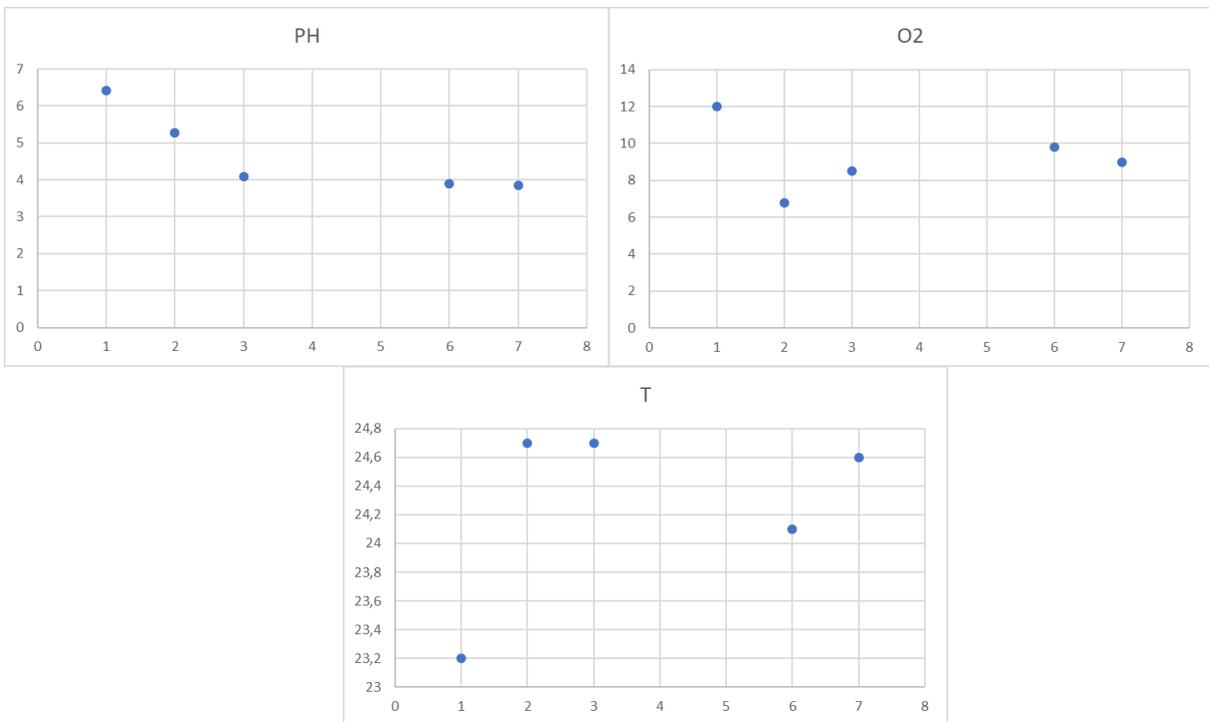


Figure 3.51 variation du pH, O₂, T de R5 (12) à 13h

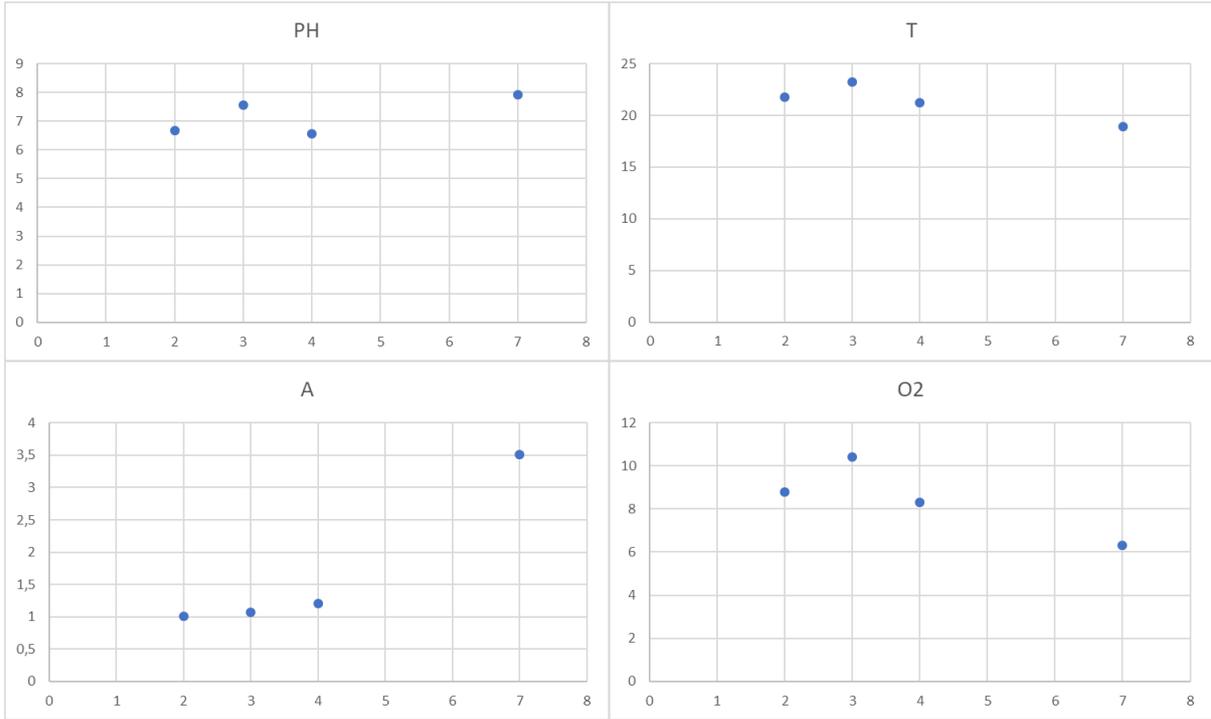


Figure 3.52 variation du pH, O₂, T et A de R6 (0,2) à 8h

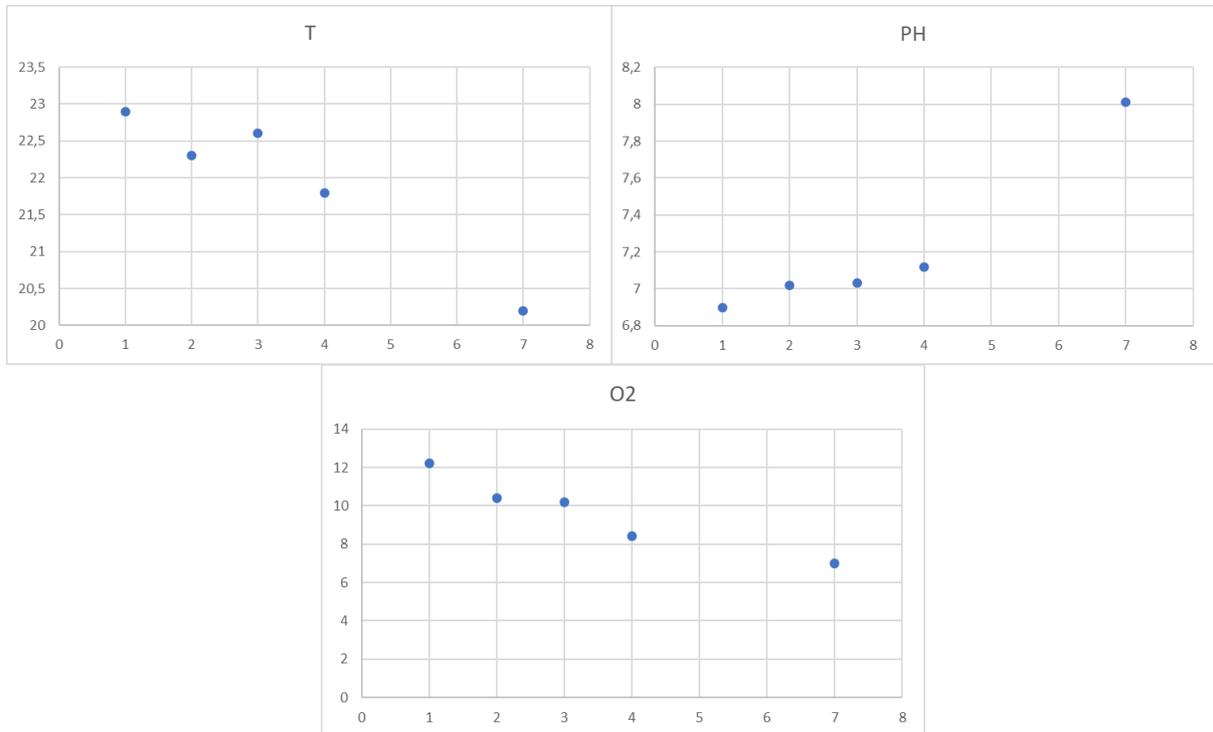


Figure 3.53 variation du pH, O₂, T de R6 (0,2) à 13h

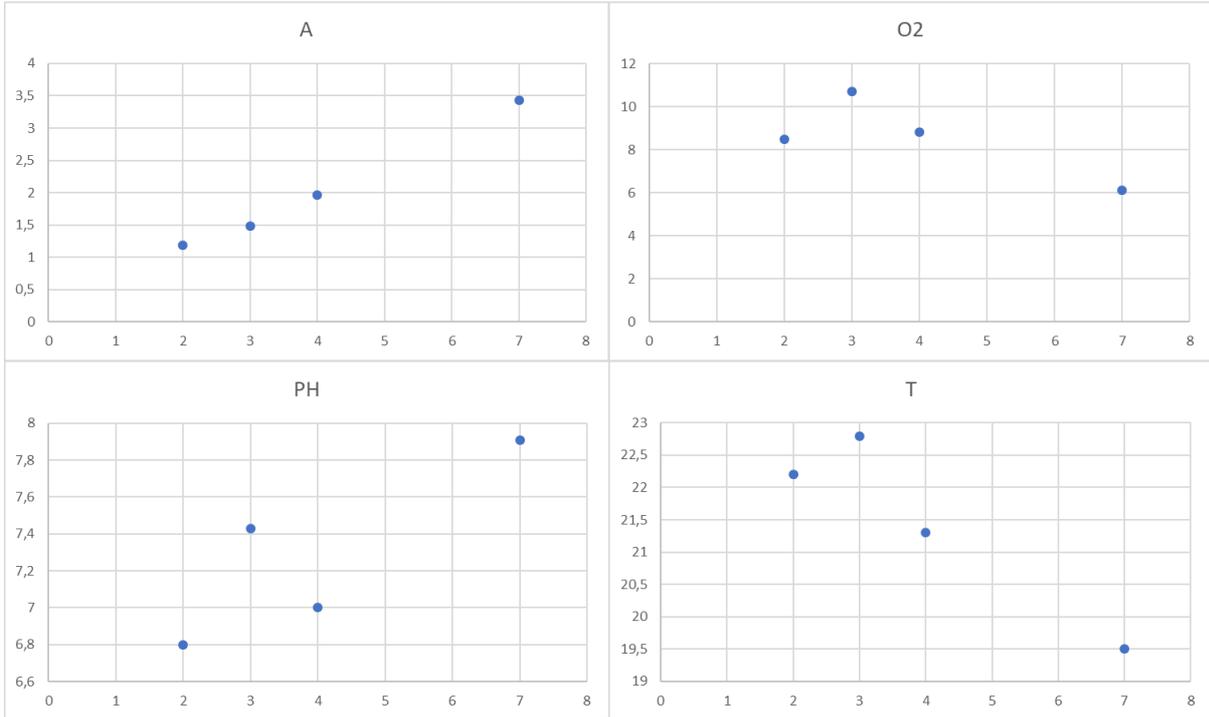


Figure 3.54 variation du pH, O₂, T et A de R6 (0,4) à 8h

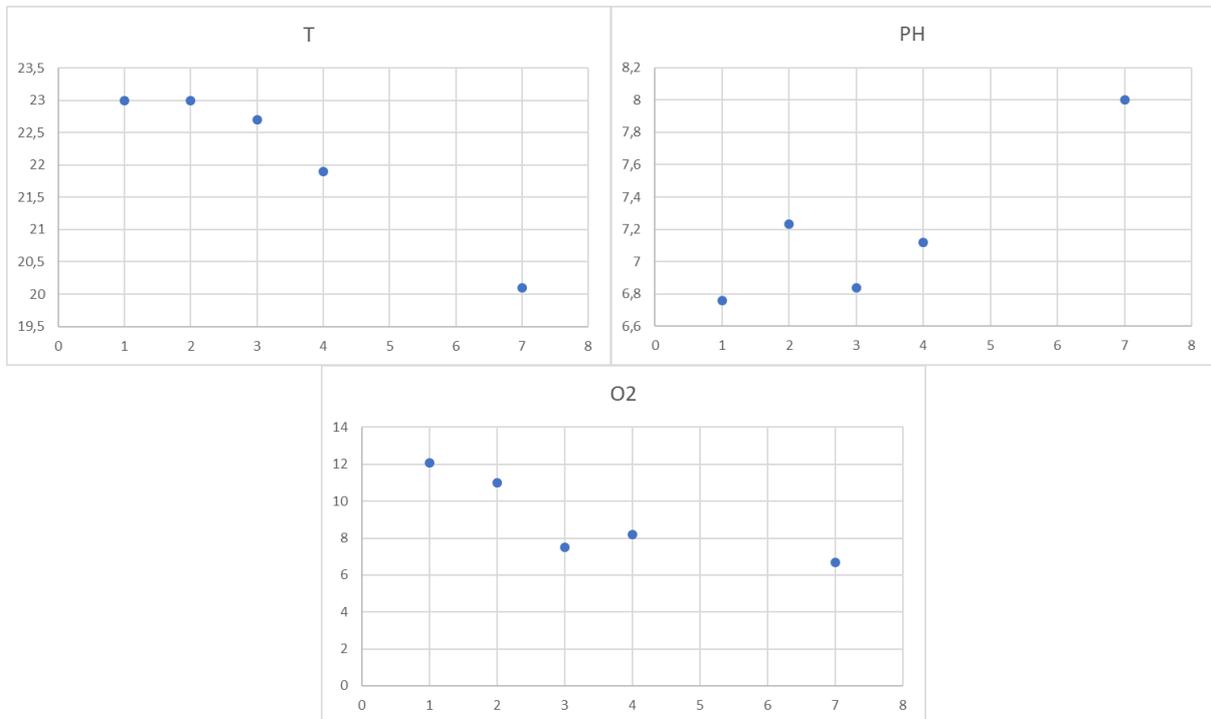


Figure 3.55 variation du pH, O₂, T de R6 (0,4) à 13h

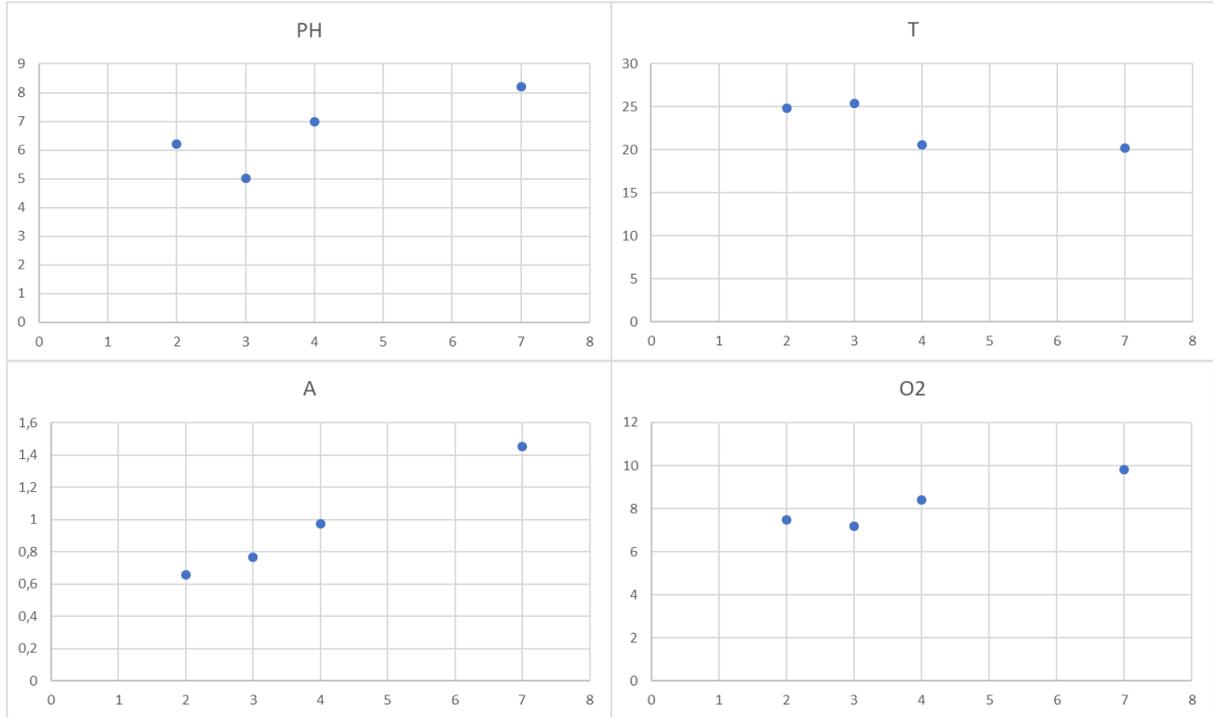


Figure 3.56 variation du pH, O₂, T et A de R6 (1) à 8h

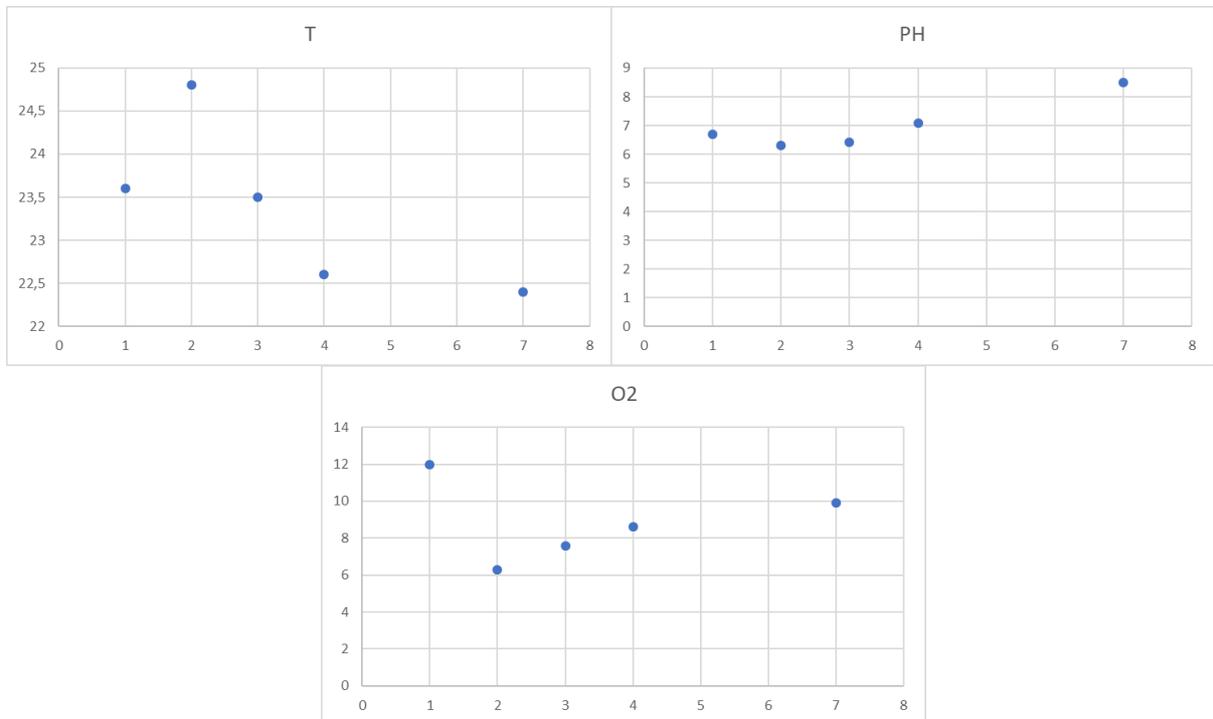


Figure 3.57 variation du pH, O₂, T de R6 (1) à 13h

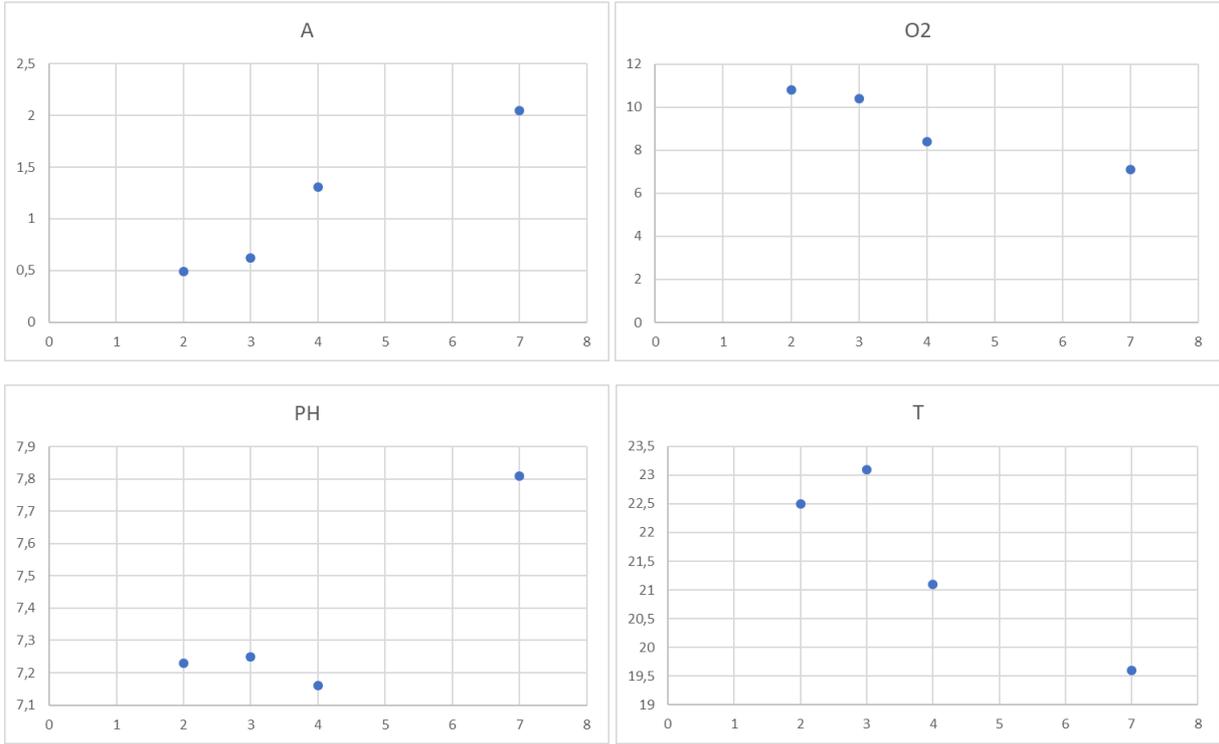


Figure 3.58 variation du pH, O₂, T et A de R6 (2) à 8h

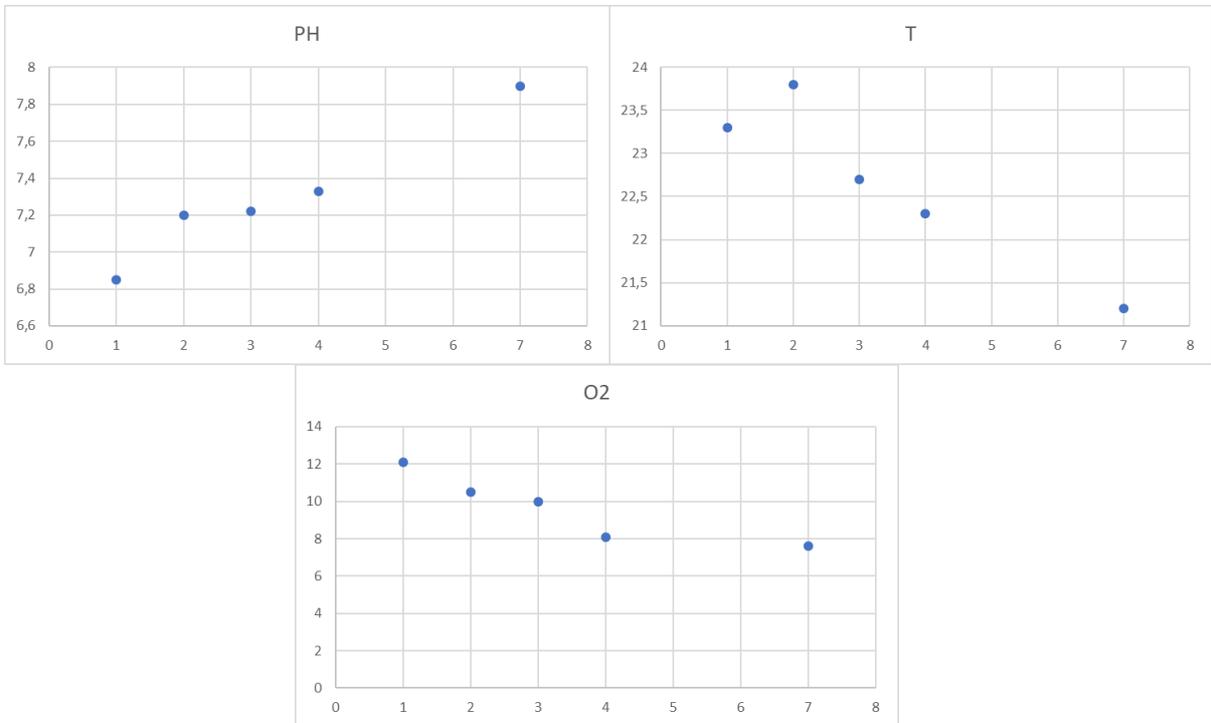


Figure 3.59 variation du pH, O₂, T de R6 (2) à 13h

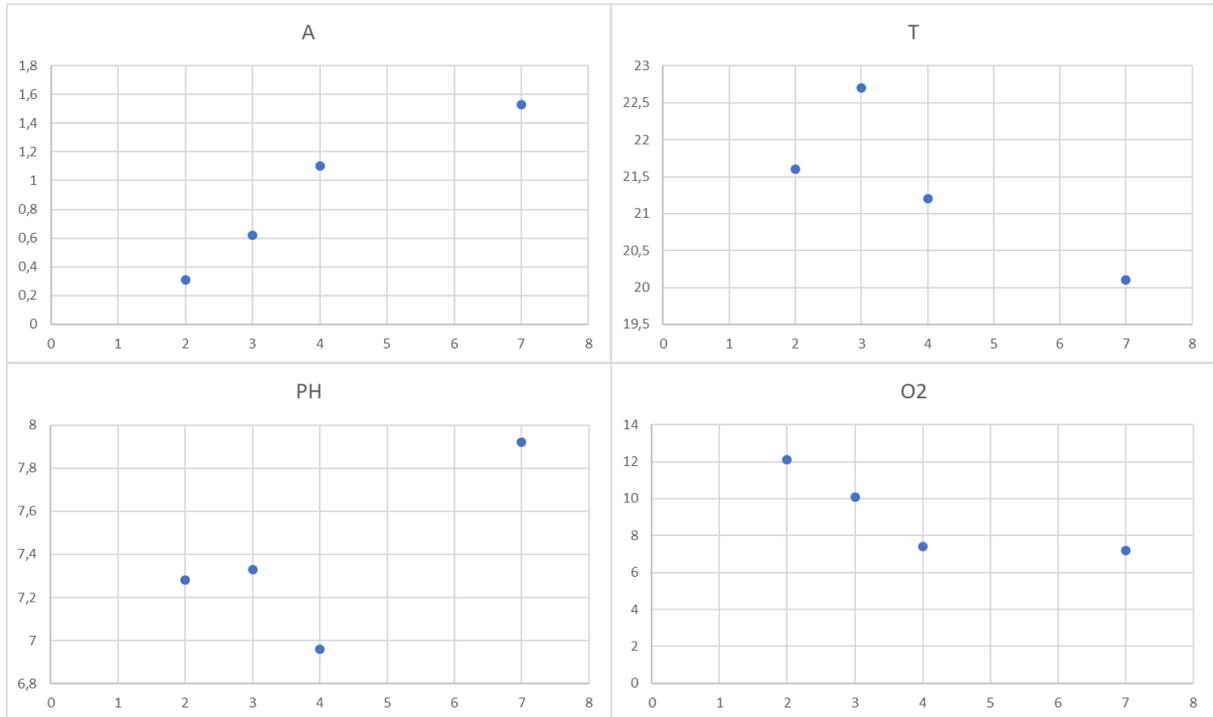


Figure 3.60 variation du pH, O₂, T et A de R6 (6) à 8h

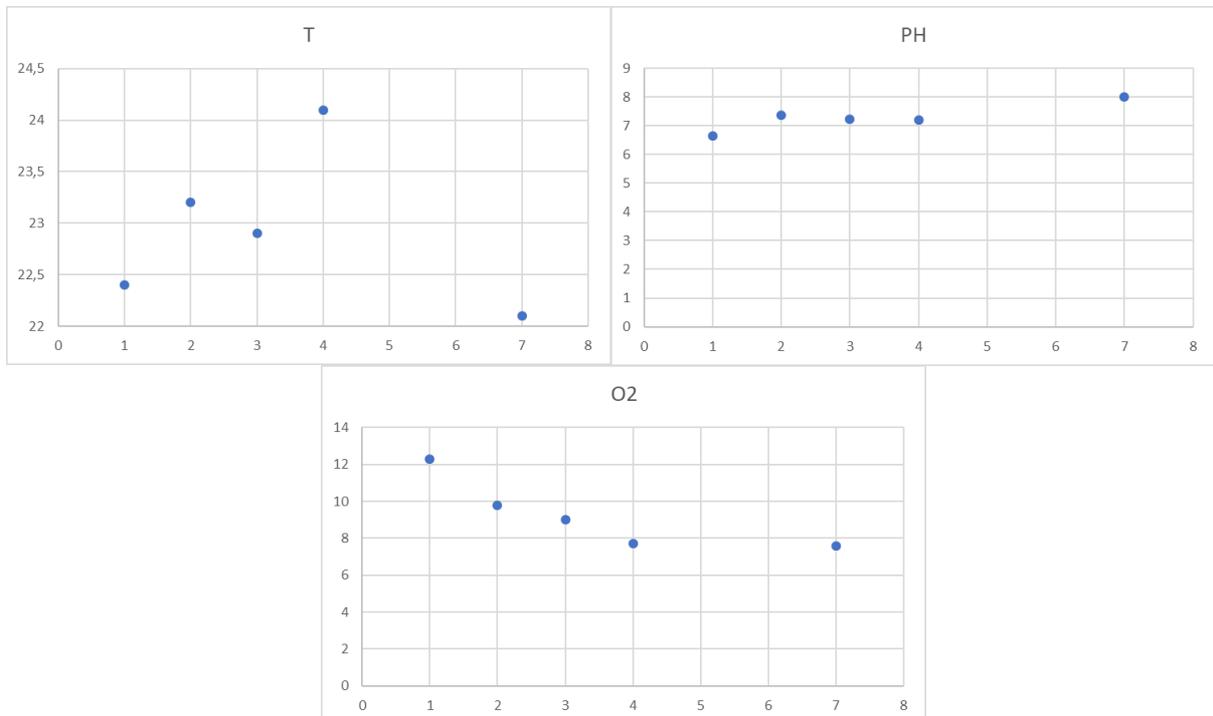


Figure 3.61 variation du pH, O₂, T de R6 (6) à 13h

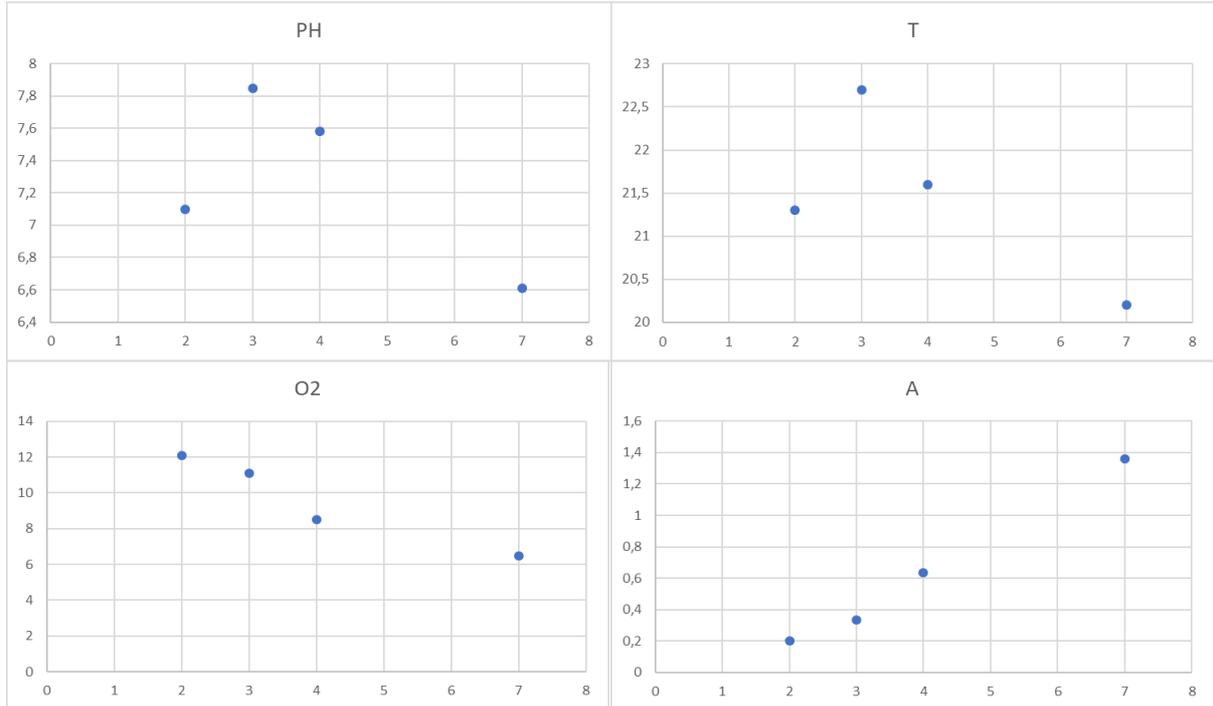


Figure 3.62 variation du pH, O₂, T et A de R6 (12) à 8h

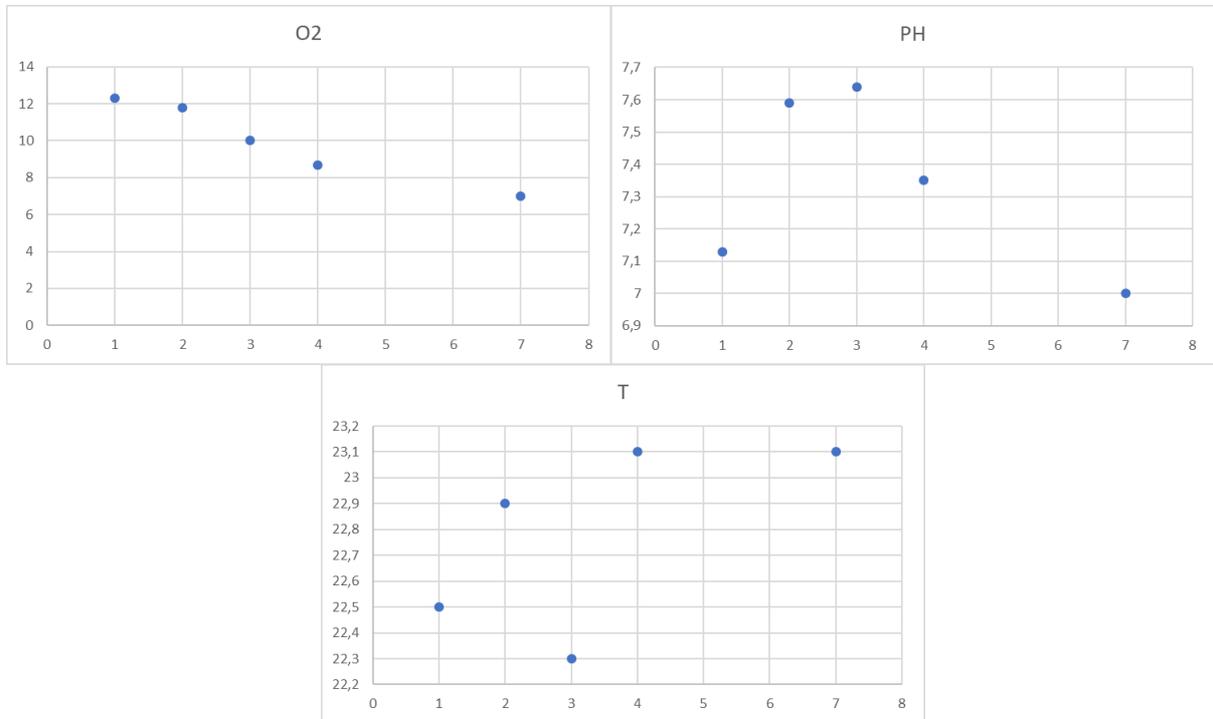


Figure 3.63 variation du pH, O₂, T de R6 (12) à 8h

3.6.1 Discussion des résultats

Le suivi a été effectué pendant sept jours, les réacteurs ont été soumis à une visualisation microscopique.

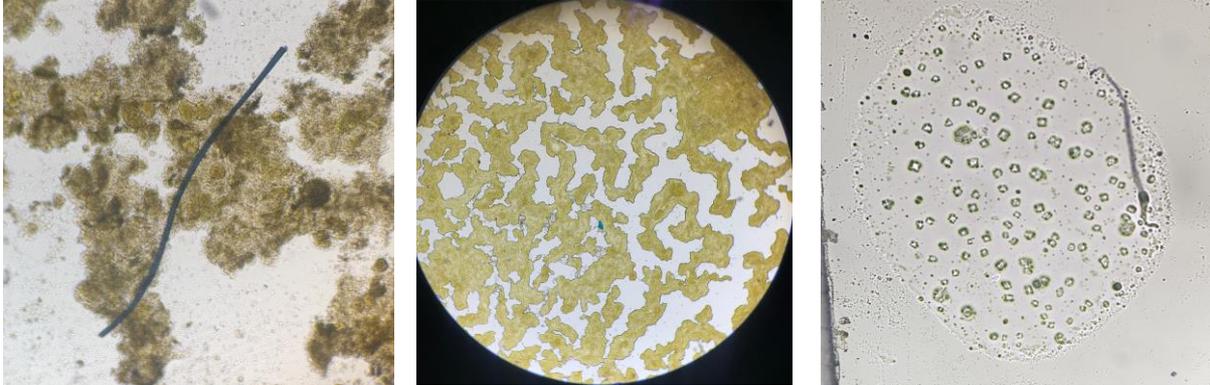


Figure 3.64 visualisations microscopiques des réacteurs R6 (agrandissement x10)

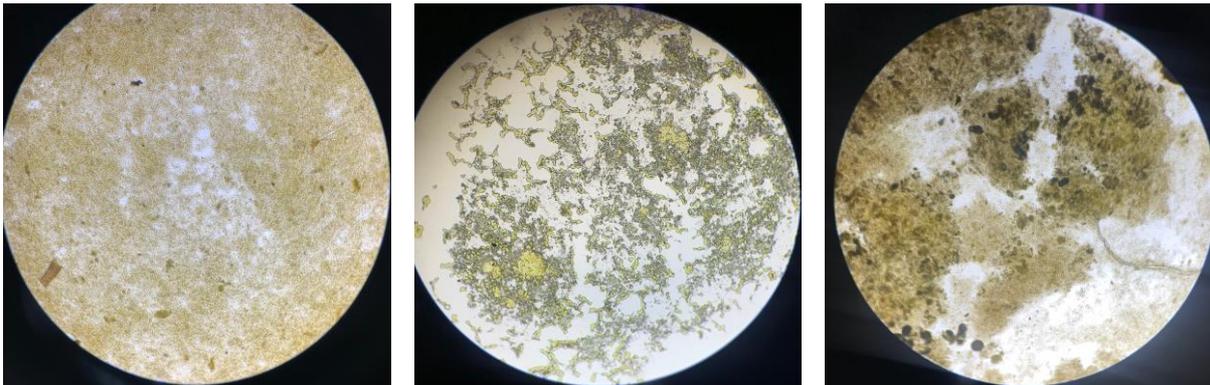


Figure 3.65 visualisations microscopiques des réacteurs R6 (agrandissement x10)

Concernant les réacteurs de (R5) remplis, on a remarqué pour le cas des réacteurs munis d'aérateurs :

- Une diminution importante des volumes, qu'on explique par l'évaporation de l'eau due à une forte aération et probablement une consommation par les bactéries et levures présentes dans le milieu. Pour confirmer notre théorie, on a refait l'essai avec les mêmes conditions mais en utilisant seulement l'eau du robinet.
- La concentration d' O_2 est assez élevée et fluctue entre [8 ; 12] mg/L.

- Le pH est neutre allant vers le basique étant donné que le CO₂ est bien dégagé grâce de l'aération.
- L'augmentation de l'A est proportionnelle à l'augmentation de la concentration suivant une allure exponentielle.

Pour les deux Réacteurs sans aération (S/X=1, S/X=12) :

- La concentration de l'O₂ augmente, mais se limite à 8 mg/l.
- Pas de diminution considérable du volume.
- Le pH baisse jusqu'à [5-6] à cause de l'accumulation du CO₂ au sein des réacteurs.
- L'accroissement de l'A, signifie une production micro algale importante (Le milieu réactionnel est plus concentré en microalgues à cause de l'évaporation de la fraction liquide).

Concernant les réacteurs (R6) :

- On a laissé la moitié des réacteurs vides afin d'éviter le problème précédant, on a trouvé que notre hypothèse n'est pas fondée (évaporation du milieu réactionnel), car on a eu le même soucis et résultat donc la mise en œuvre appliquée est à revoir.
- L'apport d'O₂ par aération a certainement un effet très bénéfique par rapport à l'activité microalgales, mais son apport direct dans le milieu réactionnel peut créer d'autres dysfonctionnements au niveau des PBR, d'autres mises en œuvres peuvent être appliquées à titre d'exemple les air lifts.
- Une fluctuation de T de 20 à 24 °C, ceci s'explique par la météorologie, mais quand même une croissance remarquable a été enregistrée, c'est l'une des caractéristiques de C.V qui a la capacité de s'adapter à une variété de conditions opératoires.



Figure 3.66 réacteurs avec de l'eau de robinet après incubation

3.7 Septièmes essais (R7)

L'incubation de quatre réacteurs batch en mode mixotrophie en utilisant cette fois de l'éclairage artificiel, à partir d'une même solution non filtrée de chlorella industrielle 1g/L, et de lactosérum doux 1g/L, avec une agitation continue, et à une température de 30 °C.

On a mesuré l'intensité de lumière afin de pouvoir étudier son influence sur la culture, et la comparer à la lumière naturelle.

Les résultats des mesures effectuées sont illustrés dans les **Figure 3.69 - Figure 3.76**.

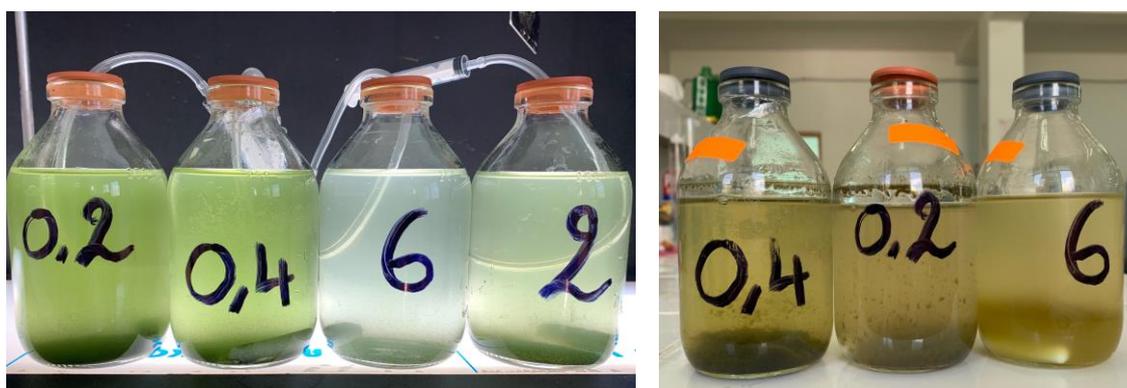


Figure 3.67 Bioréacteurs R7 avant et après incubation



Figure 3.68 Conditions d'incubation des PRB R7

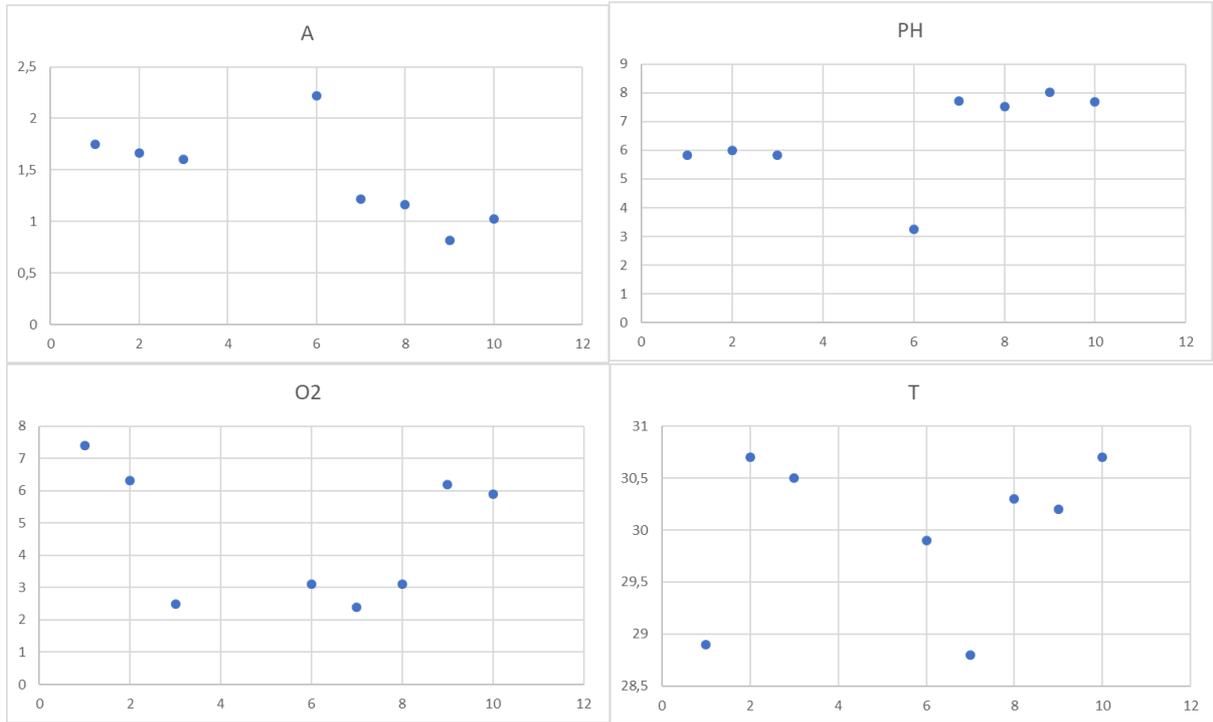


Figure 3.69 variation du pH, O₂, T et A de R7 (0,2) à 8h

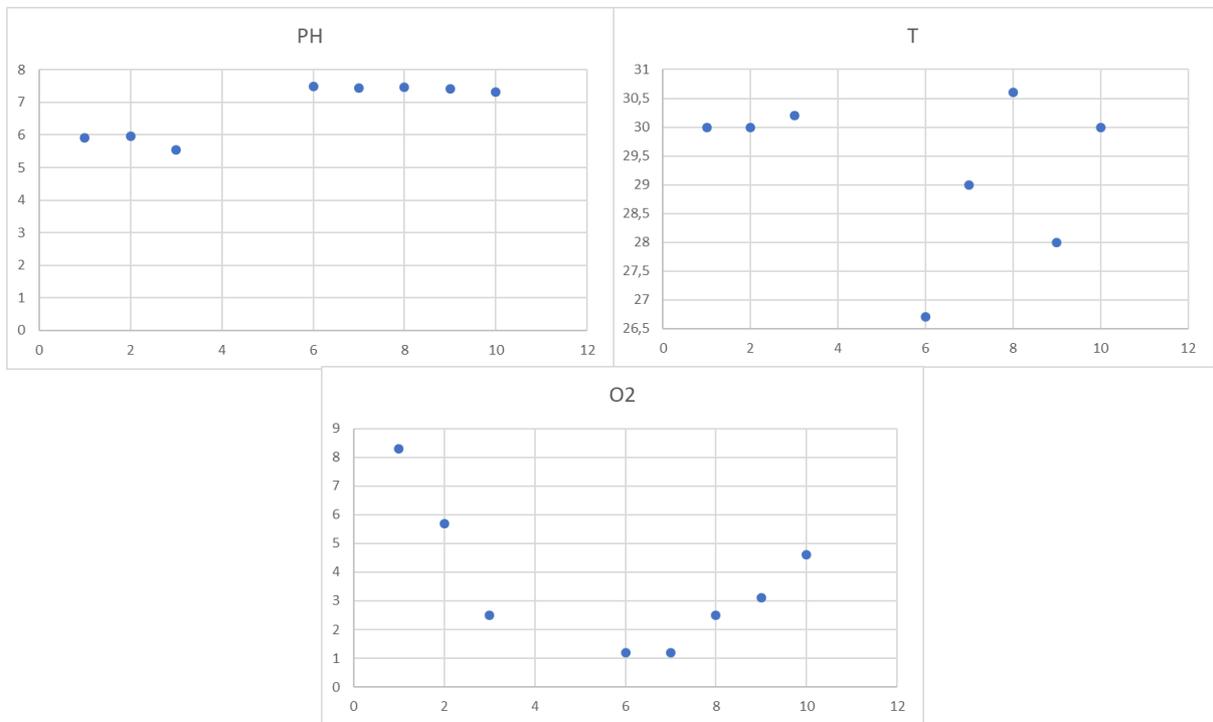


Figure 3.70 variation du pH, O₂, T de R7 (0,2) à 13h

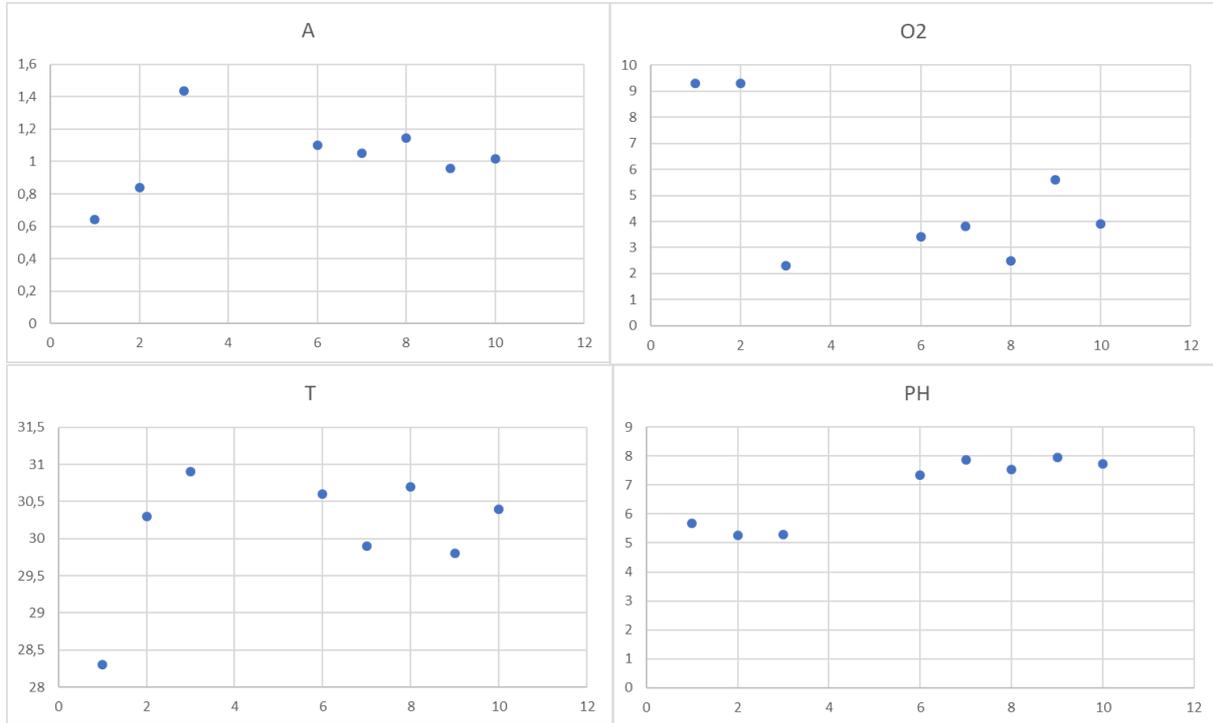


Figure 3.71 variation du pH, O₂, T et A de R7 (0,4) à 8h

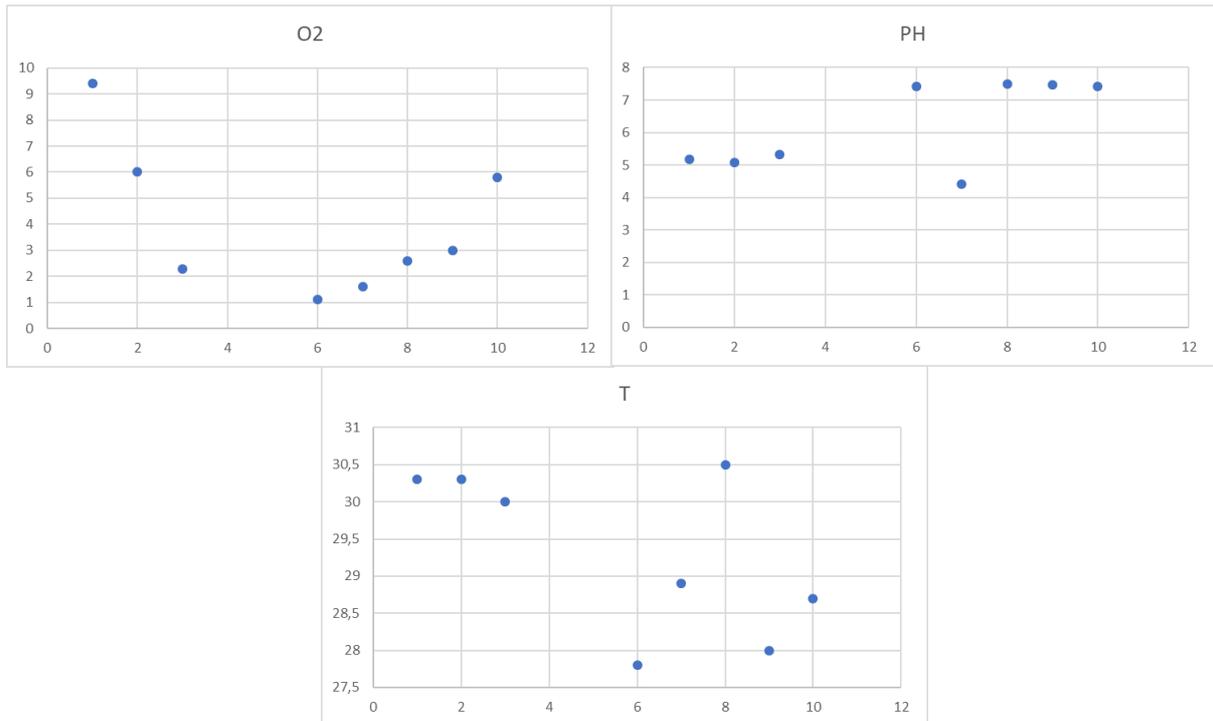


Figure 3.72 variation du pH, O₂, T de R7 (0,4) à 13h

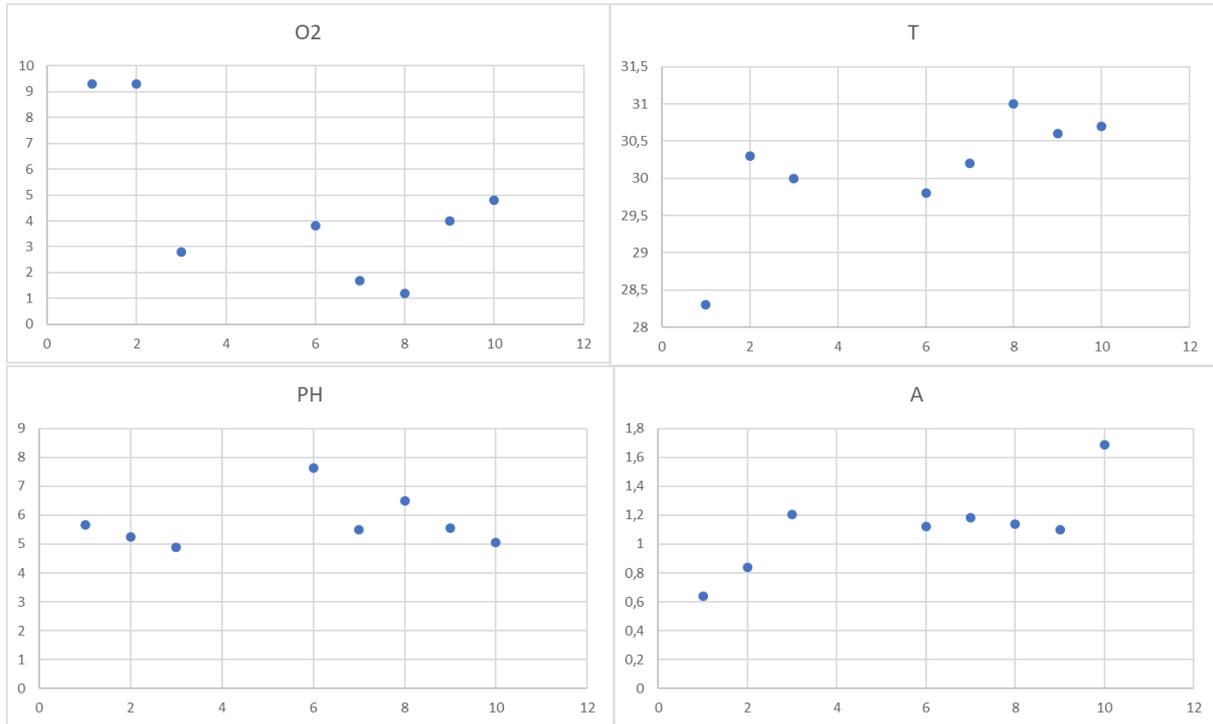


Figure 3.73 variation du pH, O₂, T et A de R7 (2) à 8h

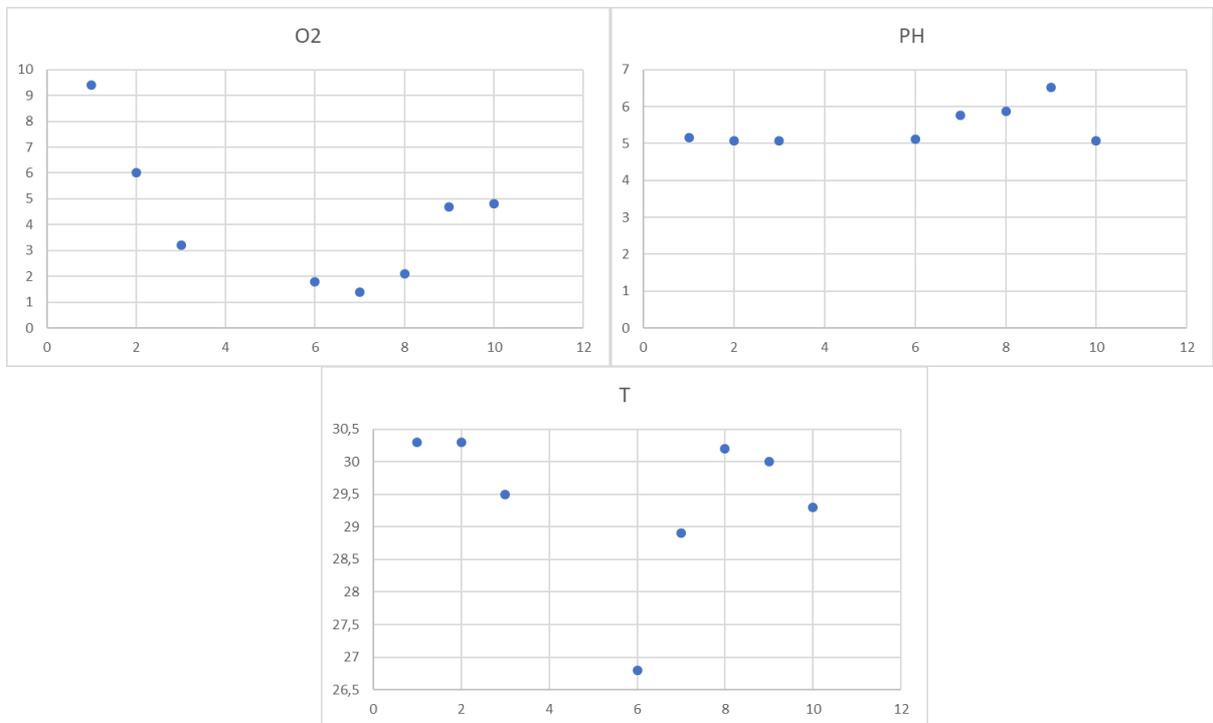


Figure 3.74 variation du pH, O₂, T de R7 (2) à 13h

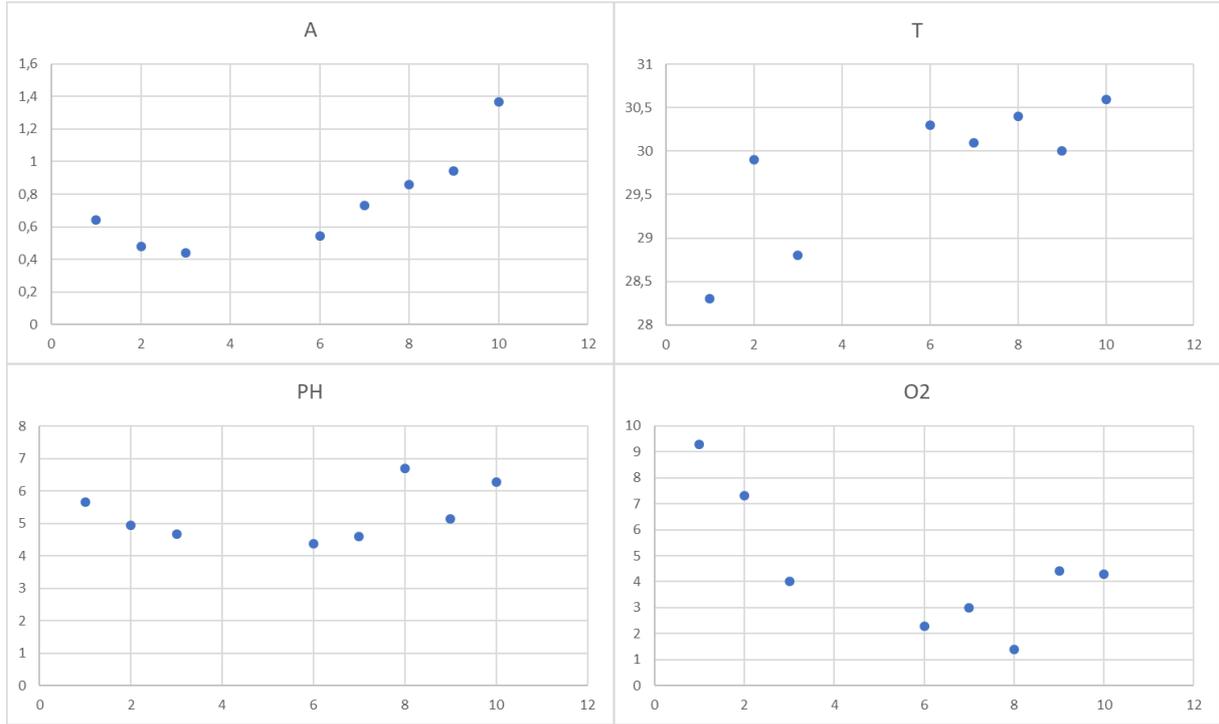


Figure 3.75 variation du pH, O₂, T et A de R7 (6) à 8h

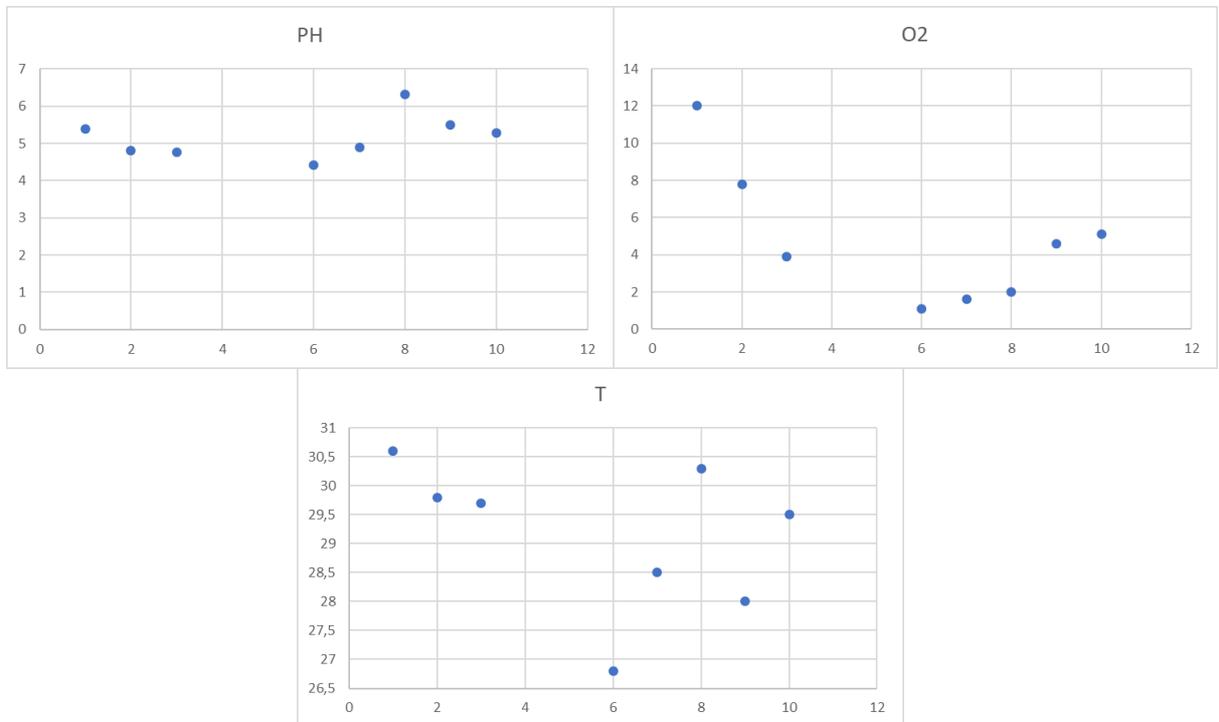


Figure 3.76 variation du pH, O₂, T de R7 (6) à 13h

3.7.1 Discussion des résultats

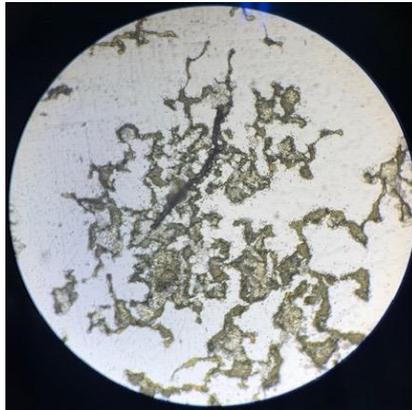


Figure 3.77 visualisation macroscopique des réacteurs R7 (agrandissement x10)

- Le suivi a été effectué pendant dix jours.
- La visualisation montre une contamination pas très importante (présence de micro organismes, bactéries et levures) avec une nette agglomération de la biomasse algale.
- L'abaissement soudain de l' O_2 jusqu'à 1 mg/L est soit due à sa consommation par les bactéries et levures présentes dans le milieu, soit à sa forte consommation par les microalgues durant la phase d'obscurité (consommation > production), la concentration de l'OD a connu une augmentation progressive à partir du 6^{ème} jour.
- A cause des problèmes de réglage du programmeur, la durée de lumière artificielle n'a pas été correctement respectée, par conséquent, la durée d'obscurité qui est la durée de consommation d' O_2 a légèrement augmentée.
- Le pH n'a pas diminué au dessous de 4 et une augmentation est enregistrée à partir du 6^{ème} jour, plus la production d'oxygène augmente plus la concentration du CO_2 diminue.

3.8 Huitième essais R8

On a effectué des essais avec deux rapports (0,4 et 1) avec la même concentration pour la chlorella naturelle et le lactosérum 1g/L. Pour chaque rapport deux flacons de 250 mL ont été remplis et complètement fermés, une fois pleins et une fois a moitié dans les mêmes conditions de culture tel que R5 et R6 afin d'évaluer l'importance du volume de la phase gazeuse présente dans les flacons sans apport externe de l'O₂ [116].

Les résultats des mesures effectuées sont illustrés dans les **Figure 3.79 - Figure 3.85**

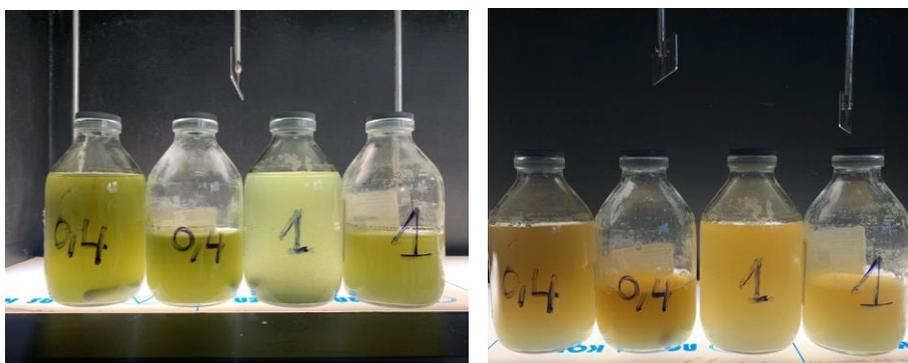


Figure 3.78 réacteurs R8 avant et après incubation

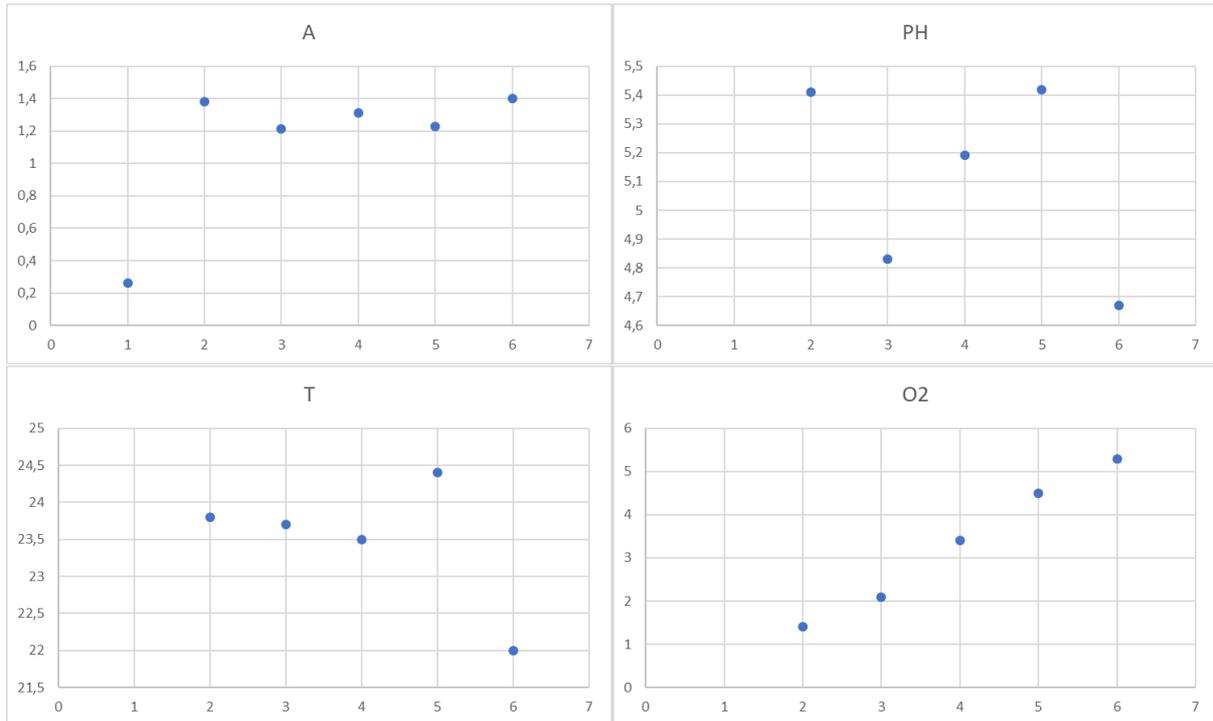


Figure 3.79 variation du pH, O₂, T et A de R8 (1) (1/2) à 8h

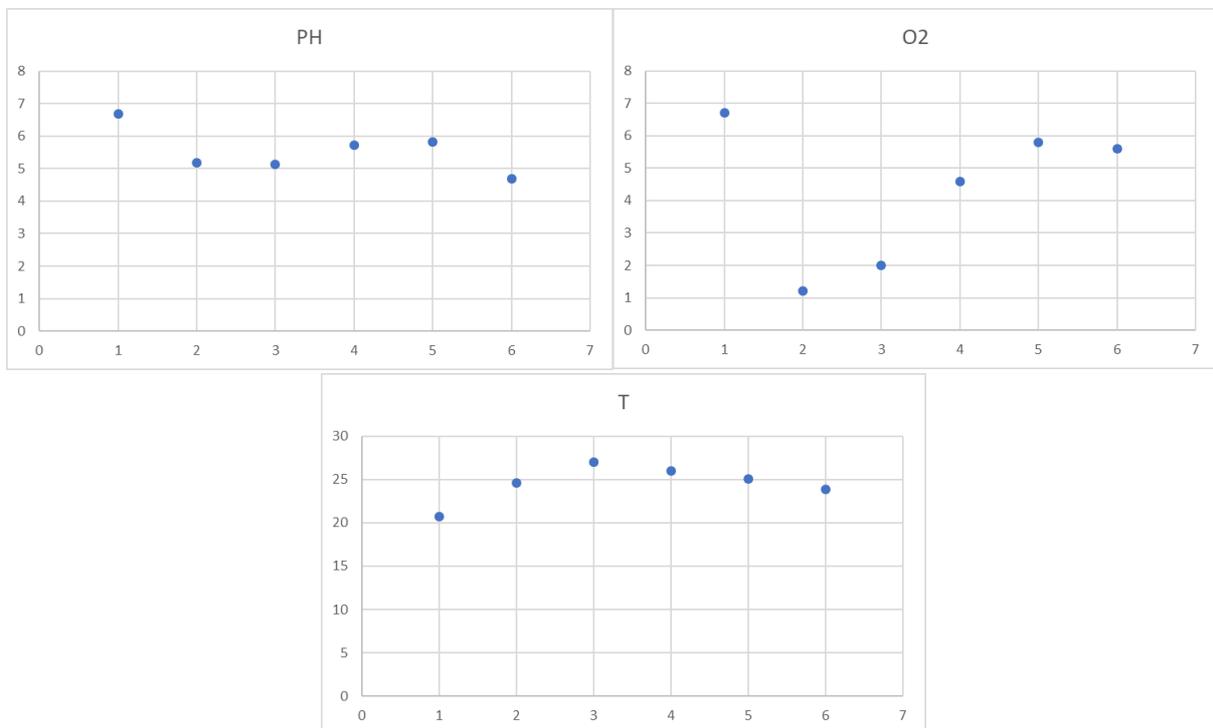


Figure 3.80 variation du pH, O₂, T de R8 (1) (1/2) à 13h

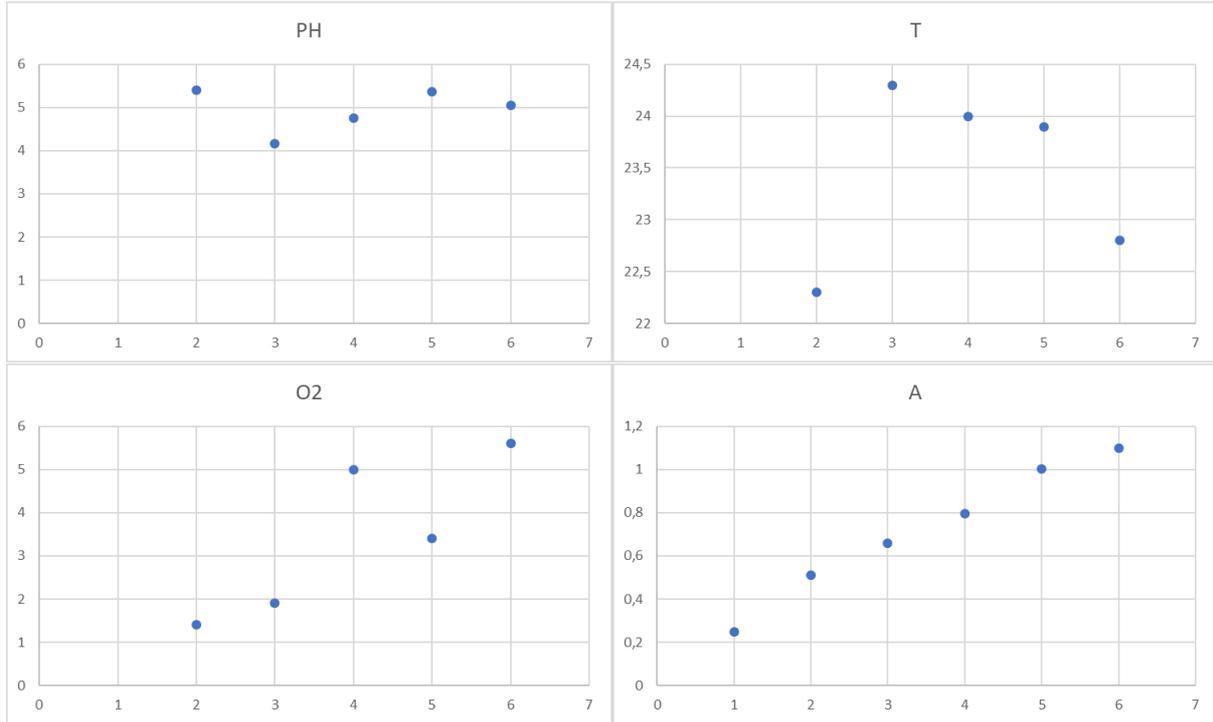


Figure 3.81 variation du pH, O₂, T et A de R8 (1) à 8h

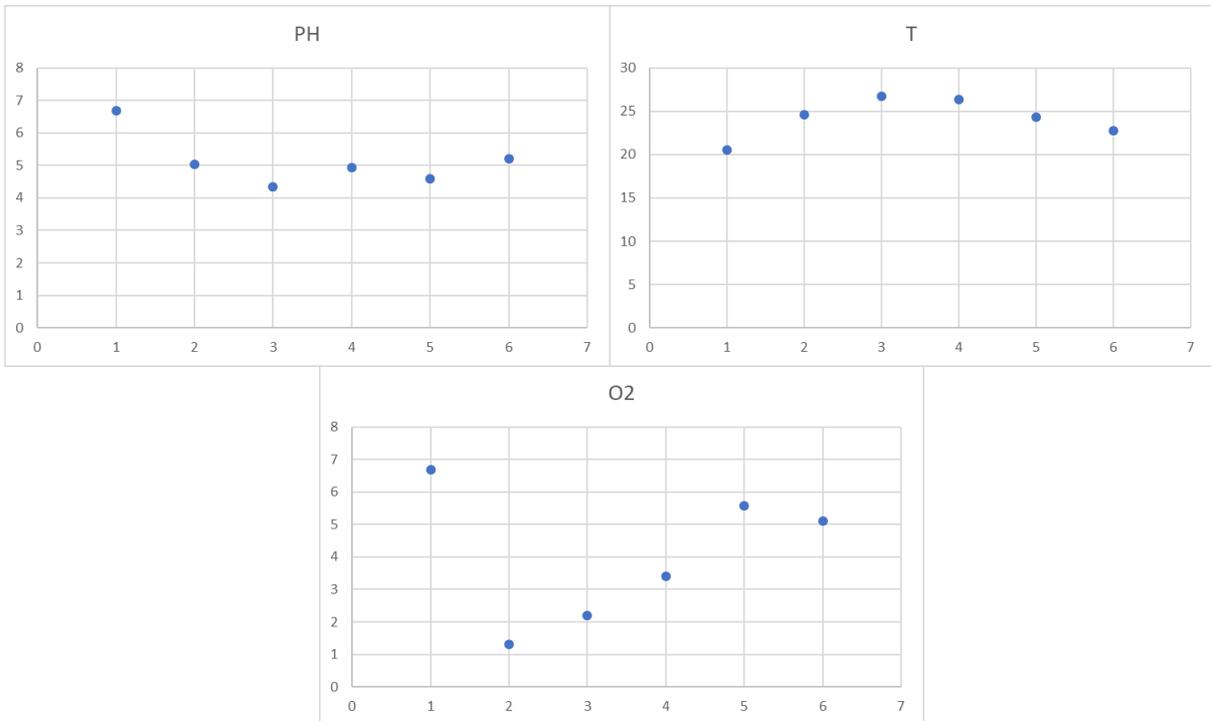


Figure 3.82 variation du pH, O₂, T de R8 (1) à 13h

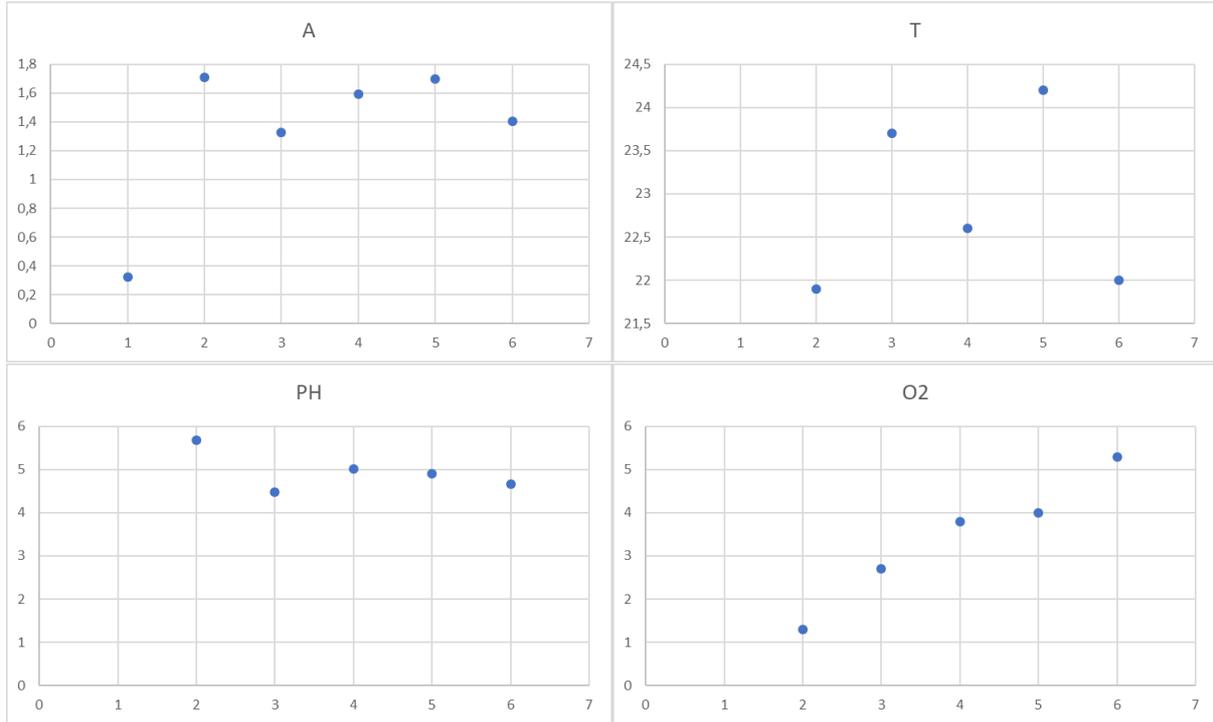


Figure 3.83 variation du pH, O₂, T et A de R8 (4) (1/2) à 8h

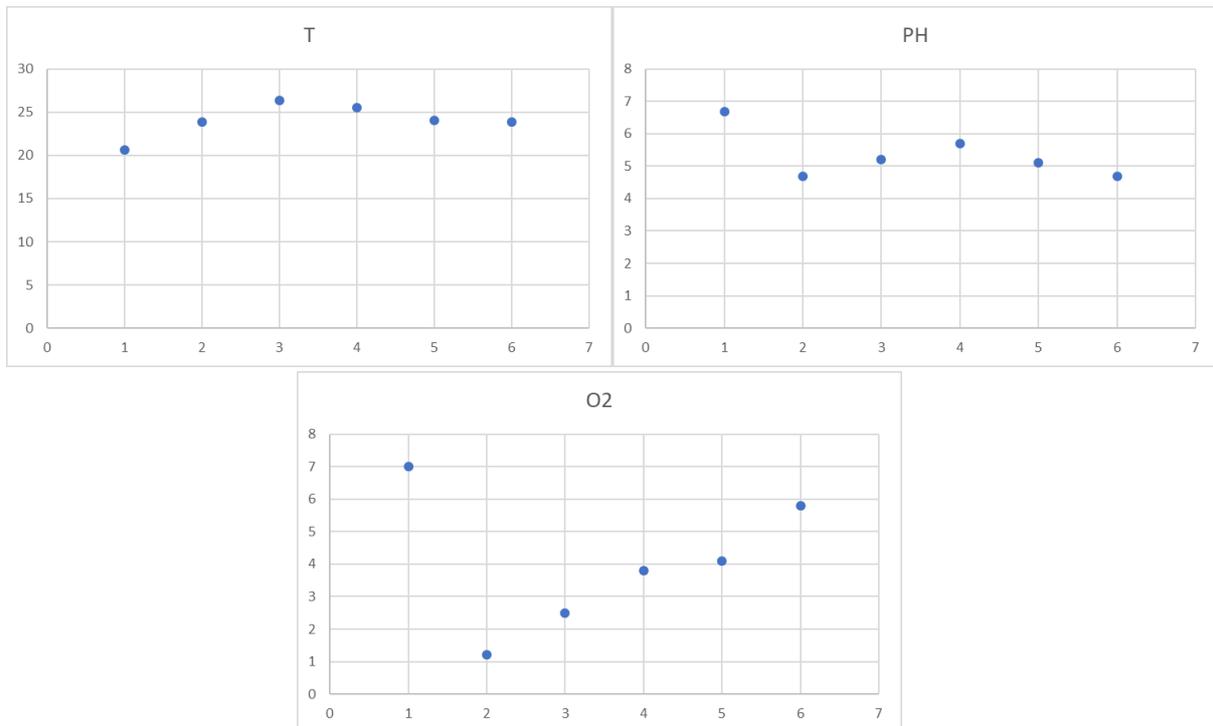


Figure 3.84 variation du pH, O₂, T de R8 (4) (1/2) à 13h

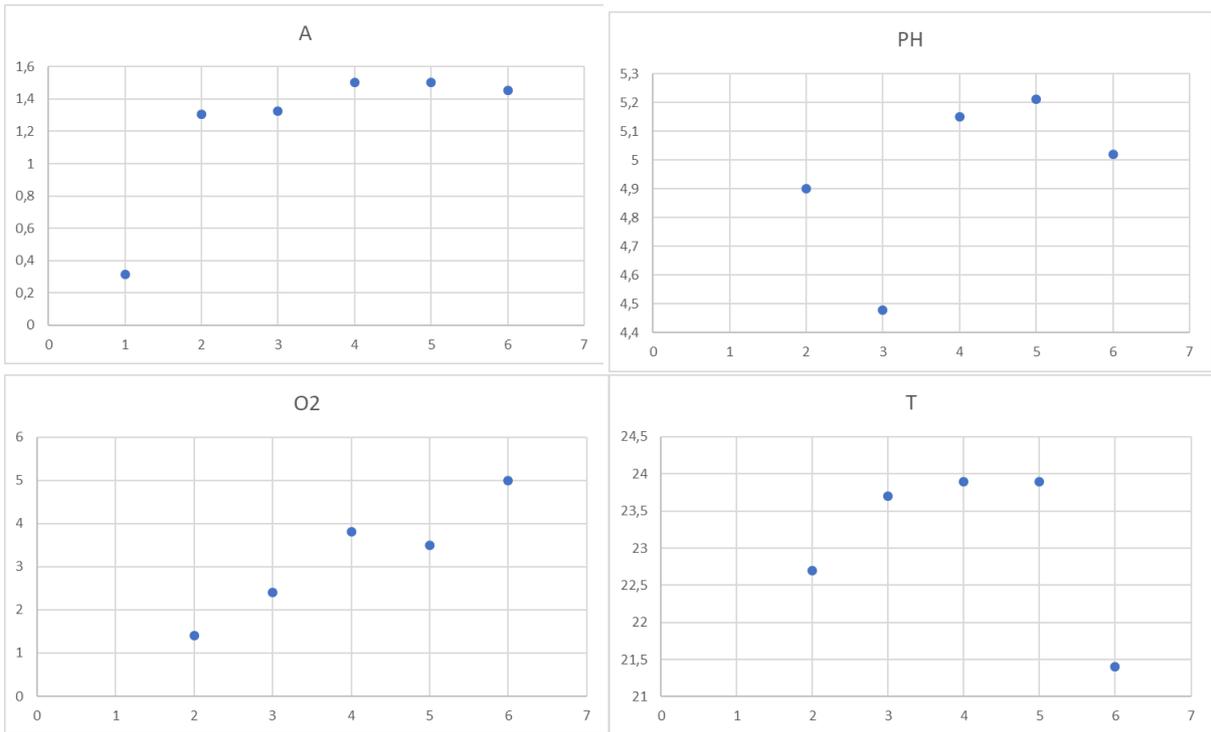


Figure 3.85 variation du pH, O₂, T et A de R8 (4) à 8 h

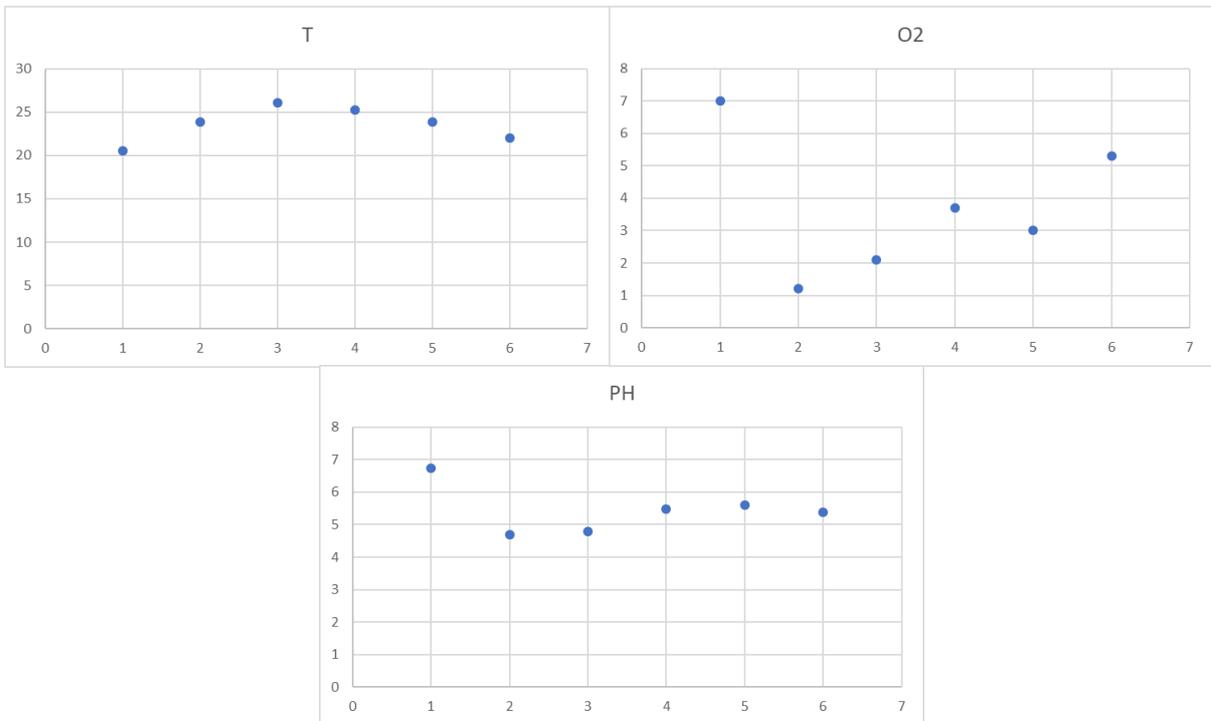


Figure 3.86 variation du pH, O₂, T de R8 (4) à 13h

3.8.1 Discussion des résultats

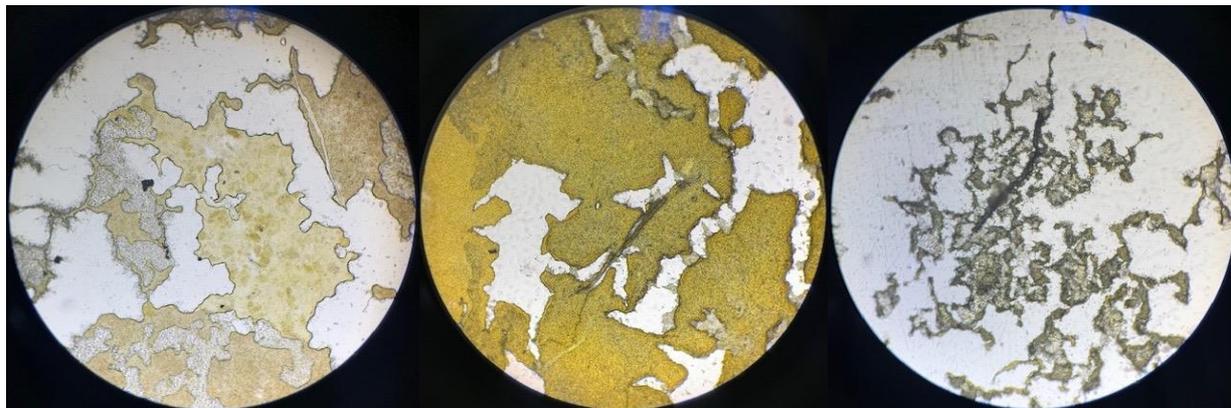


Figure 3.87 visualisation macroscopique des réacteurs R8 (agrandissement x10)

On remarque :

- Une légère contamination dans le milieu.
- Une augmentation remarquable de l'O₂ de 1 mg/L à 6 mg/L pendant les six jours d'incubation.
- Une baisse de pH atteignant 4 mg/L.
- Comme les réacteurs sont complètement fermés, on a remarqué aucune diminution du volume
- L'A des réacteurs à moitié remplis est supérieur à celle des réacteurs pleins et donc une production supérieure de biomasse.

3.9 Neuvième essai R9

Après avoir déduit à partir des essais précédents que le rapport optimal est de (0,4), et que le mode de culture à une température constante et un éclairage artificiel était le plus favorable. On a incubé deux réacteurs, un avec chlorella industrielle et le deuxième avec chlorella naturelle afin de pouvoir établir une comparaison entre elles.

Pour respecter ce rapport, à cause de la quantité de chlorella naturelle limitée, on a démontré à partir de nos calculs que la concentration du lactosérum est de **0,108 g/L**.

La chlorella naturelle a été récupérée de l'école supérieure de biotechnologie. Afin de connaître sa concentration, la dessiccation a montré qu'elle contient 0,15% de matière sèche, donc une concentration de **1,5 g/L**.

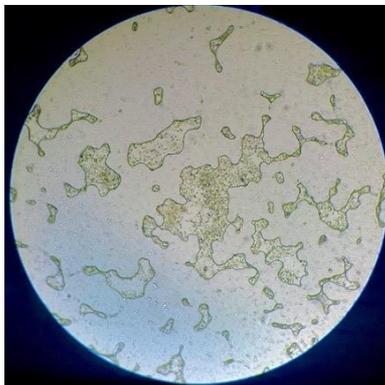


Figure 3.88 visualisation microscopique de chlorella naturelle (agrandissement x10)

Pour la chlorella industrielle, on a utilisé la même concentration que pour la chlorella naturelle.

L'incubation a été effectuée en mode mixotrophe avec un éclairage artificiel pendant 18 heures et 6 heures d'obscurité, une température maintenue à 30°C, et une agitation continue.

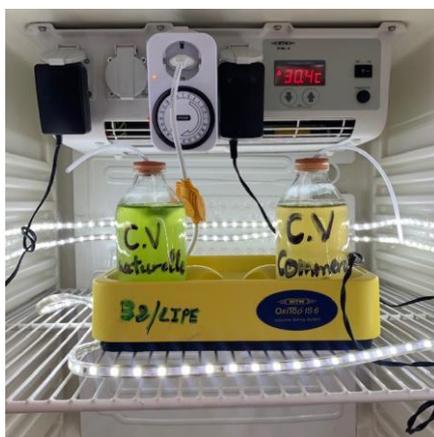


Figure 3.89 incubation de chlorella naturelle et commerciale

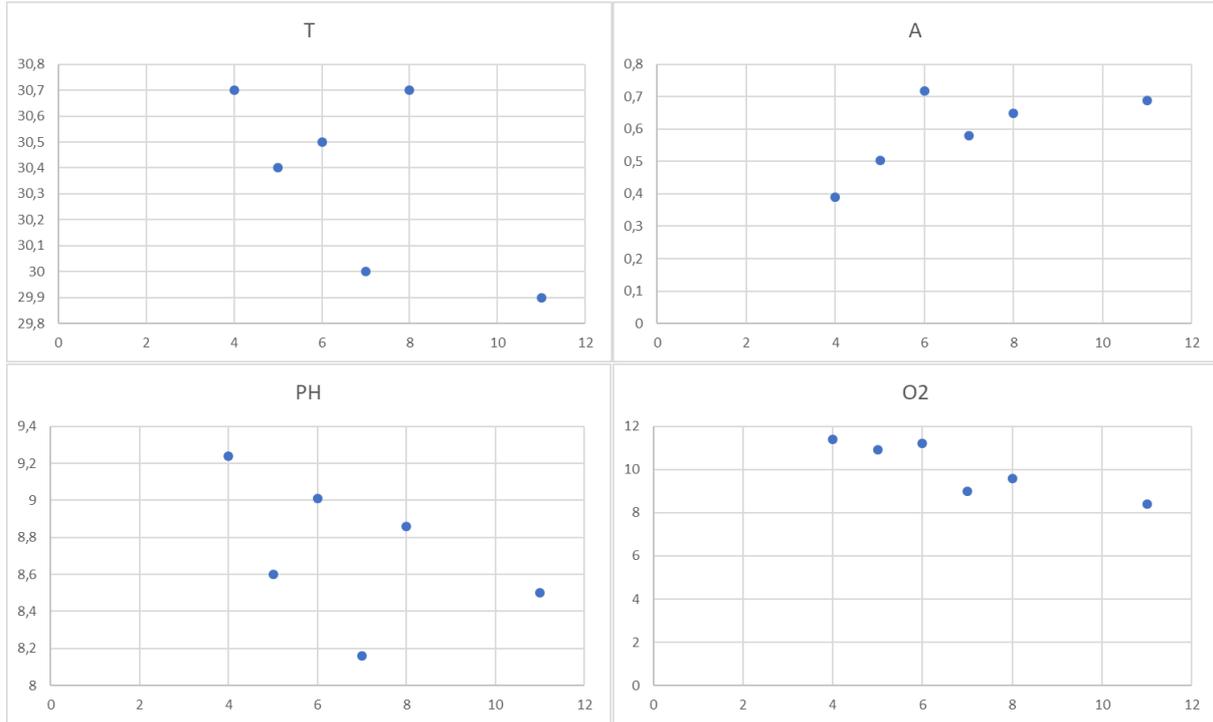


Figure 3.90 variation du pH, O₂, T, A de R9 (C.N) à 08h

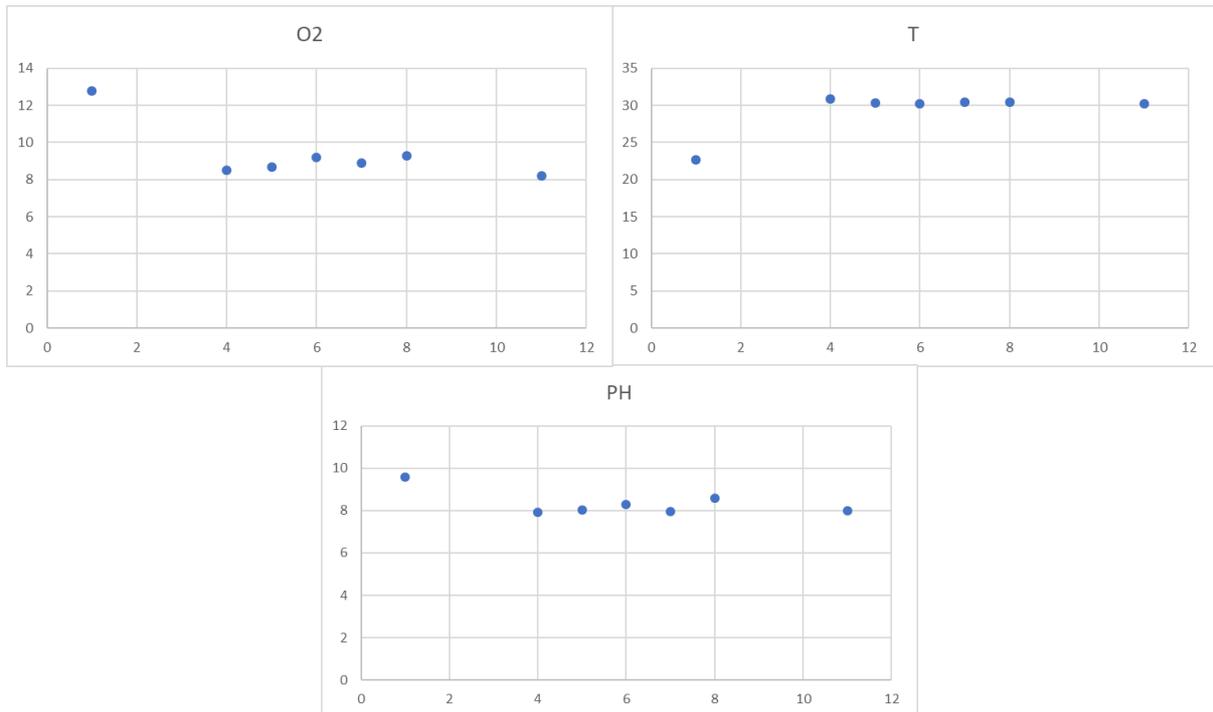


Figure 3.91 variation du pH, O₂, T de R9 (C.N) à 13h

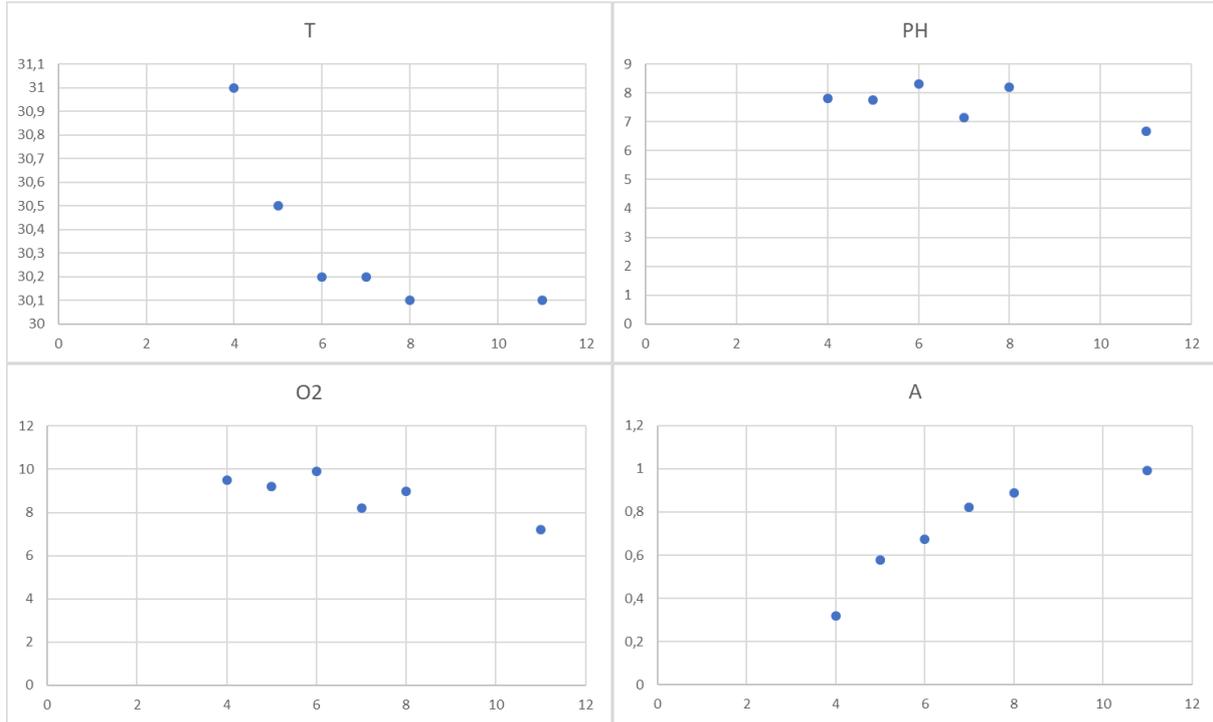


Figure 3.92 variation du pH, O₂, T, A de R9 (C.C) à 08h

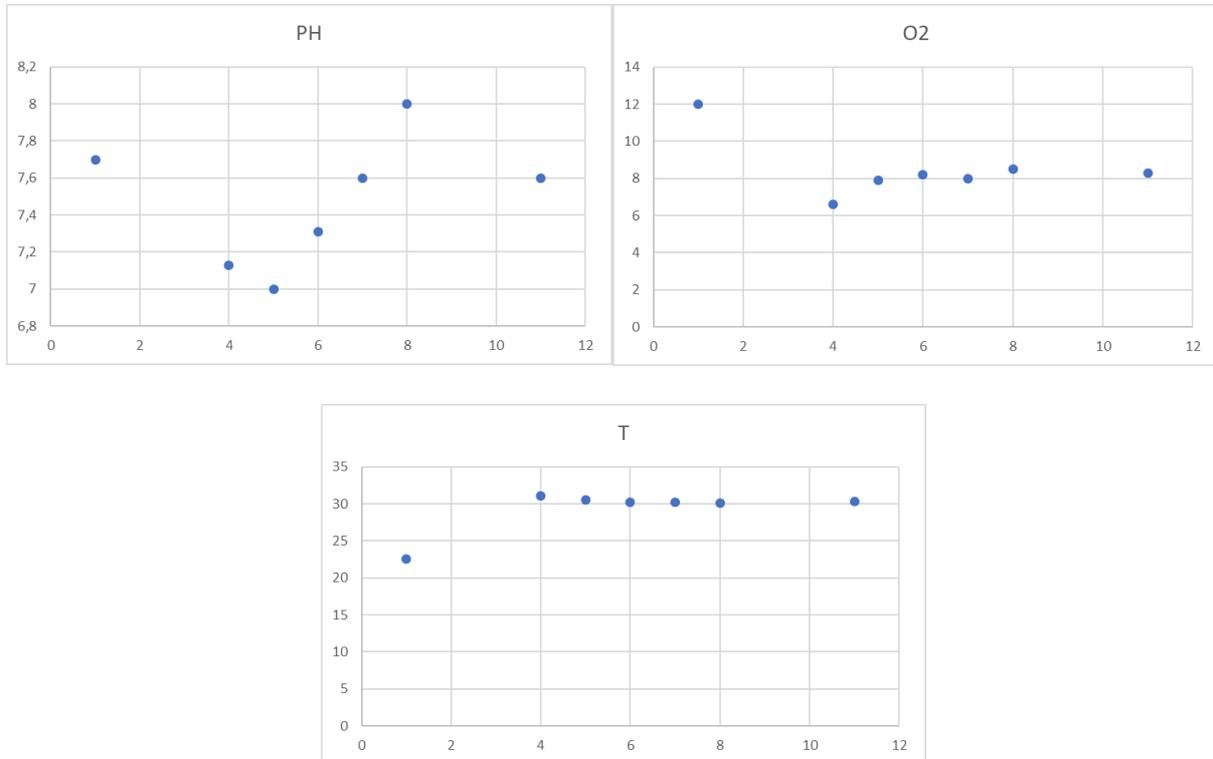


Figure 3.93 variation du pH, O₂, T de R9 (C.C) à 13h

3.9.1 Discussion des résultats

- Comme on a incubé nos réacteurs dans des conditions optimales, on a obtenu de bons résultats durant le suivi que ce soit pour la Chlorella naturelle ou industrielle (pH neutre, stabilité de l'O₂ a des valeurs élevée).
- On ne remarque aucune différence entre la C.C et C.N à part la couleur.



Figure 3.94 visualisation microscopique de C.C (agrandissement x10)

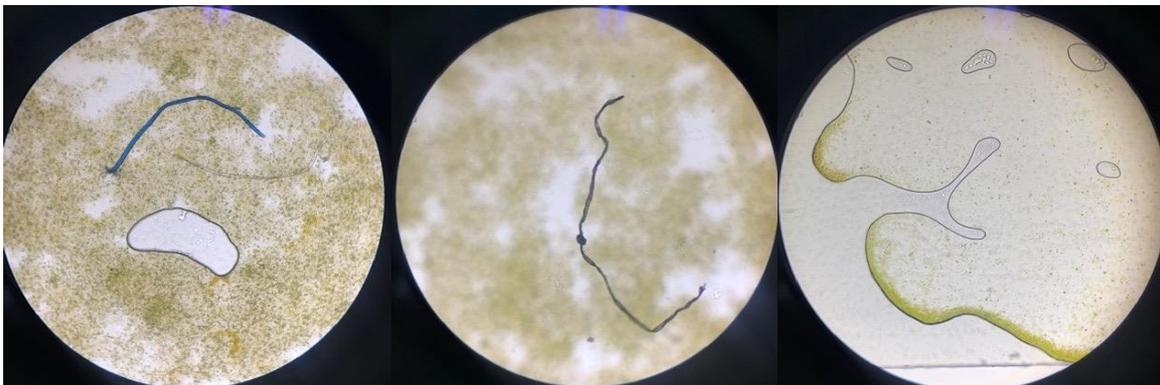


Figure 3.95 Visualisation microscopique de C.N (agrandissement x10)



Figure 3.96 évolution de la couleur de C.C et C.N

3.10 La récolte des microalgues

La récolte est une étape limitante de nombreuses voies de valorisation des microalgues. En effet, les microalgues ont une taille le plus souvent de l'ordre du micron et leur récolte n'est pas aisée. Cette étape peut s'avérer coûteuse et représente une part économique importante dans le coût d'un procédé à échelle industrielle [106].

La récolte peut se faire par centrifugation, filtration, floculation, sédimentation ou flottation.

Dans notre étude, on a essayé deux méthodes différentes :

3.10.1 La filtration

Dans cette méthode, la suspension micro-algale passe au travers d'un filtre, en ne retenant que les cellules. Il existe différentes formes de filtration ; la microfiltration, la filtration sous vide, sous pression, l'ultrafiltration et la filtration à flux tangentiel. Le choix du type de filtration sera dépendant de la taille de l'espèce à récolter.

Afin de récupérer la biomasse produite lors du premier essai, on a utilisé la méthode de filtration sur un papier filtre à une porosité 1,2 μm .



Figure 3.97 filtration du contenu des PRB du premier essai

La filtration s'est avérée très lente et inefficace et nécessite de répéter l'opération sur plusieurs filtres car il sera difficile voir impossible de récupérer toute la biomasse des papiers filtre.

3.10.2 La centrifugation

Cette technique de concentration utilise la force centripète afin de permettre la séparation des microalgues avec le milieu de culture par simple différence de densité [115]. La centrifugation est efficace à 90% et le taux de récupération est directement lié au débit fixé en amont. Cette méthode est rapide et efficace, et représente une des méthodes les plus utilisées à

l'échelle industrielle. Cependant, cette méthode est coûteuse en énergie ce qui la rend difficilement réalisable économiquement [117]. De plus, l'exposition des cellules à cette force centripète peut également les endommager [52].

La centrifugation des micro algues peut être réalisé à une vitesse de 1000 à 5000 RPM pendant 5 à 30 min [118].

Pour notre cas, on a utilisé une centrifugeuse hettich rototfix 32 et des tubes en plastique de 5ml, à une vitesse de 4000 RPM pendant 20 min.



Figure 3.98 centrifugeuse et tubes utilisés pour centrifugation



Figure 3.99 culot sous forme de gelé et de biomasse compacte

Tableau 3.4 Quantité de la biomasse algale récupérée des différents bioréacteurs

Rapport S/X	Poids du tube vide (g)	Poids du tube avec le culot (g)	Quantité de la biomasse produite (g)	Volume exact centrifugé (mL)	Quantité initiale introduite dans les R (g)
R2 et R3					
0.2	10,3800	11,1514	0,7714	192	0,1040
0.4	10,2299	10,7976	0,5677	168	0,0890
1	8,4462	9,0091	0,5629	215	0,0625
2	9,1621	10,5002	1,3381	215	0,0420
6	8,5175	9,0852	0,5677	219	0,0180
12	59,1830	86,0989	26,9156	132	0,0100
R5					
0.2	17,1365	17,6841	0,5476	40	0,2080
0.4	10,5400	12,4582	1,9182	95	0,1780
1	18,4764	18,7966	0,3202	224	0,1250
2	29,8225	31,7459	1,9234	78	0,0840
6	22,3844	28,1618	5,7774	52	0,0360
12	8,1546	8,2842	0,1296	151	0,0200
R6					
0.2	17,1366	17,3765	0,2399	25	0,2080
0.4	29,8153	30,9790	1,1637	25	0,1780
1	30,2092	32,2618	2,0526	117	0,1250
2	29,8986	34,2004	4,3018	40	0,0840
6	29,9834	34,0096	4,0262	40	0,0360
12	29,9934	33,9542	3,9608	47	0,0200
R7					
0.2	29,9420	32,5177	2,5757	200	0,2080
0.4	17,6383	19,9841	2,3458	210	0,1780
2	10,3648	13,1753	2,8105	215	0,0840
6	29,8621	35,8290	5,9671	200	0,0360
R8					
0.4 moitié	29,8009	35,4136	5,6127	107	0,0890
0.4	29,8572	31,4322	1,575	215	0,1780
1 moitié	29,9107	35,8718	5,9611	104	0,0625
1	30,0294	32,7681	2,7387	210	0,1250
R9					
C.C	3,3687	11,8335	8,4648	210	0,0667
C.N	3,4597	9,8136	6,3539	215	0,0667

3.10.3 Discussion des résultats

- La filtration s'est avérée très lente et inefficace car il sera difficile voir impossible de récupérer toute la biomasse des papiers filtre.
- Concernant la centrifugation, le résultat diffère d'un réacteur à l'autre suivant le rapport choisi.
- Pour les rapports 0,2 et 0,4, on a obtenu une biomasse algale compacte et bien verte où la quantité optimale était pour R7 (0,4) de plus de 2g.
- Le culot récupéré des grands rapports s'est présenté sous forme de grandes quantités de gelé dont la quantité varie d'un rapport à l'autre, la plus grande quantité était pour le R3 (12).

3.11 Conclusion

D'après nos neuf essais on a pu conclure que :

- La filtration du substrat n'est pas nécessaire.
- Le lacto acide et doux donnent le même résultat.
- L'agitation est primordiale.
- L'aération influence positivement la culture (couleur, pH, O₂) mais il vaut mieux utiliser des airlifts que des aérateurs pour éviter l'évaporation.
- Fournir une quantité initiale d'O₂ est bénéfique à la croissance de la biomasse algale.
- L'éclairage artificiel a donné de meilleurs rendements que l'éclairage naturel.
- La centrifugation est plus efficace que la filtration.
- Le rapport S/X optimal est 0,4.
- Le suivi a été effectué à 8h et 13h afin de pouvoir comparer les mesures et détecter toutes anomalies durant le séjour de culture. Seulement pour les R en éclairage artificiel les mesures qui suivent la phase d'éclairage sont supérieures à celles qui suivent la phase d'obscurité.

Chapitre 4
Caractérisation et
valorisation de la
biomasse algale

4.1 Introduction

Les microalgues présentent une composition biochimique complexe (protéines, lipides, pigments, enzymes, vitamines, poly- et oligosaccharides). En raison de sa valeur nutritionnelle ($\approx 60\%$ protéines), la *C. vulgaris* est utilisée intensivement depuis les années 60 en tant que complément alimentaire. Cependant en dehors de cet aspect nutritionnel, elle peut avoir d'autres applications comme agents fonctionnels dans les industries alimentaires, cosmétiques, voir pharmaceutiques, ou même pour la production de biocarburant.

Parmi ces nombreuses voies de valorisation, on a essayé de mettre en évidence la présence de quelques composants et l'extraction d'autres.

4.2 Mise évidence des protéases

Afin de mettre en évidence l'activité enzymatique de *C.V.*, on a préparé un milieu de culture solide à base de gélose et lait (milieu nutritive).

Pour la préparation on a utilisé 6 flacons de 250 mL, chacun remplie jusqu'à 180 mL (180 mL d'eau distillée + 4g d'agar), puis les stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant une heure et demi [119].



Figure 4.1 autoclave et milieu de culture

Après stérilisation, 20 mL de lait sont ajoutés au milieu et bien agité.



Figure 4.2 préparation du milieu de culture

Après un léger refroidissement du milieu de culture, on a coulé les boîtes pétri en versant environ 15 mL dans chaque boîtes, toute cette procédure se fait devant un bec bunsen (pour stérilisation) [119].

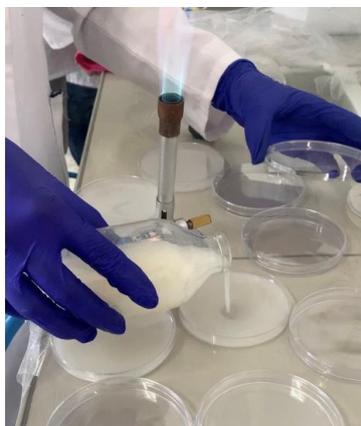


Figure 4.3 coulage des boîtes de pétri

Lorsque le milieu de culture est bien gélifié, un puits a été découpé au milieu de la boîte à l'aide d'une pipette pasteur (5 mm de diamètre), concernant les échantillons filtrés leur boîtes reste sans puits [119].

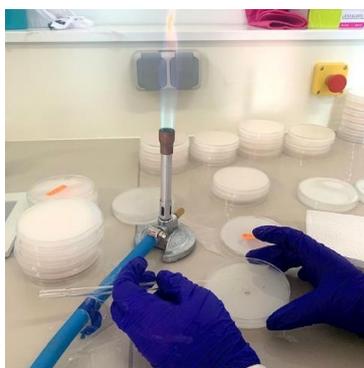


Figure 4.4 Découpe des puits

Ces puits sont ensuite remplis par le culot préalablement centrifugé, le prélèvement de l'échantillon se fait avec une micro pipette réglée à 10 μ L. Pour les culots filtrés un morceau du papier filtre a été découpé et inséré au milieu du trou [119].



Figure 4.5 remplissage des puits et micropipette utilisé

Les cultures sont incubées dans une étuve à 30 °C pendant 3 jours. Afin de connaître l'existence ou pas de l'activité enzymatique, un suivi se fait en mesurant à l'aide d'une règle le diamètre de zone claire autour des puits.



Figure 4.6 l'incubation des boîtes de pétri et étuve utilisée

Après mesure, une comparaison a eu lieu afin de définir l'échantillon qui présente le plus grand diamètre et donc la plus grande activité enzymatique.

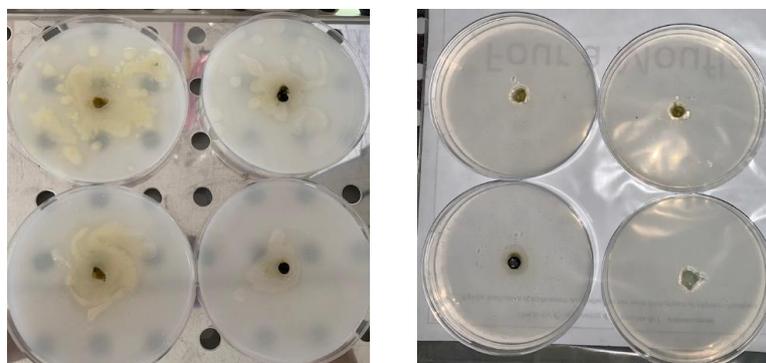


Figure 4.7 comparaison des diamètres de plage de lyse

On a refait la même opération avec du lactosérum à la place du lait, avec exactement les mêmes quantités mais avec une concentration différente, une solution de 1g/L a été préalablement préparée et les mêmes étapes précédentes en été suivies.

Cette opération est réalisée afin d'identifier l'existence des protéines dans le lactosérum.

4.2.1 Discussions des résultats

Tableau 4.1 Diamètres des plages de lyse substrat lacto/lait

échantillons	lacto	lait	échantillons	lacto	lait
R1 (0,4 F)	ND	3	R6 (0,2)	ND	3
R1 (0,4 NF)	1,8	4,6	R6 (0,4)	3,5	3,2
R1 (0,2 F)	1,7	6,5	R6 (1)	1,6	3
R1 (0,2 NF)	ND	1,1	R6 (2)	1,9	5,4
R2 (0,2)	ND	4	R6 (6)	1,5	4,3
R2 (0,4)	ND	2	R6 (12)	1,3	3,9
R3 (1)	2,1	3,2	R7 (0,2)	ND	2,2
R3 (2)	2,5	4	R7 (0,4)	1,1	6
R3 (6)	ND	3	R7 (2)	1,7	5,1
R3 (12)	ND	1,7	R7 (6)	ND	2
R4 (0,4)	ND	1,6	R8 0,4 (1/2)	ND	1,3
R5 (0,2)	ND	3,5	R8 0,4 plein	ND	5,7
R5 (0,4)	1,8	3	R8 (1) (1/2)	1,1	8,5
R5 (1)	2,5	5	R8 (1) plein	ND	2
R5 (2)	1,8	5,5	R9 C.C	ND	5
R5 (6)	ND	5	R9 C.N	ND	5,2
R5 (12)	ND	3,5	R7 (2) (sur)	ND	4,3

- La production des protéases était maximale R8 1 (1/2) (condition mixotrophe et éclairage naturel) et elle est moins intense pour les PBR R1 (F 0,2), R5 (2), R5 (6), R6 (2), R7 (0,4), R7 (2), R8 (0,4 plein), R9 (C.N) en utilisant le lait comme substrat de référence.
- Concernant le lacto, la solution préparée à partir de la poudre était très diluée et donc pauvre en protéines, ce qui explique la non détection de la plage de lyse.

- Les conditions ayant une production maximale de la biomasse n'ont pas présenté le meilleur rendement pour les protéases

4.3 Extraction des lipides

Les lipides totaux ont été extraits en mélangeant du chloroforme-méthanol (2:1 v/v) avec les échantillons dans une proportion de 1:1 en utilisant une version légèrement modifiée de la méthode de Bligh et Dyer (1959) [120].

La solution est préparée dans une éprouvette ensuite les mélanges sont transférés dans une ampoule à décanter et secoués manuellement pendant 5 minutes.



Figure 4.8 solution avant et après mélange

La fraction organique est ensuite séparée dans une ampoule à décanter, puis l'opération est répétée une deuxième fois avec les mêmes proportions.



Figure 4.9 Deuxième décantation

Après la deuxième décantation, la phase inférieure (chloroforme + lipide) est évaporée à l'aide d'une étuve à 40°C pendant + 24h jusqu'à stabilisation du poids.



Figure 4.10 séchage des lipides et phase récupérée avant et après séchage

Le poids des lipides bruts obtenu à partir de chaque échantillon a été mesuré à l'aide d'une balance électronique [121].

4.3.1 Discussion des résultats

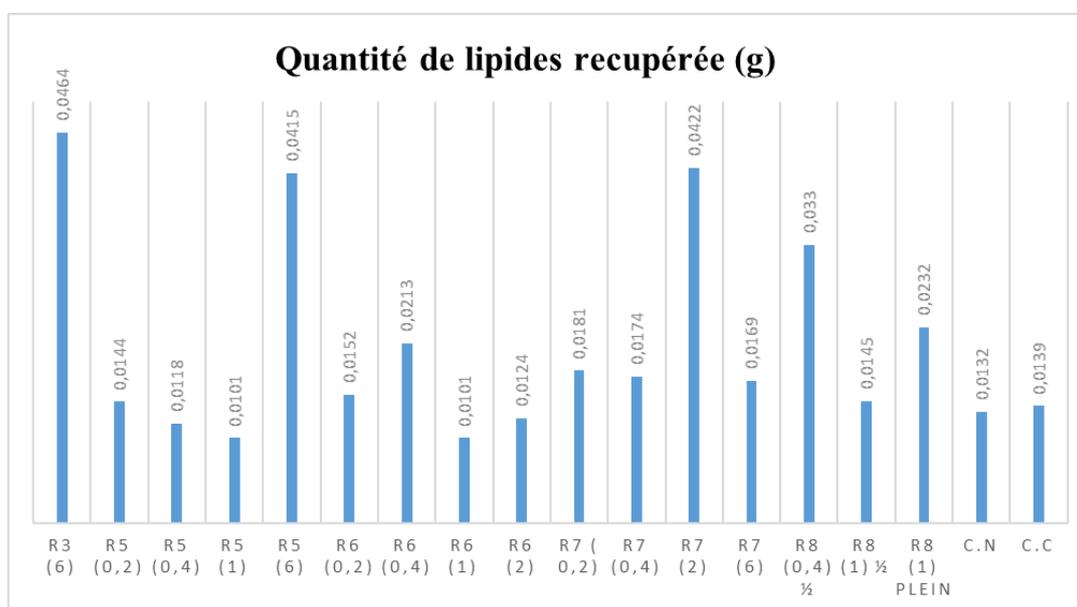


Figure 4.11 Quantité de lipides récupérés dans chaque PBR

Après quantification, on peut clairement voir que la figure 4.11 quantité de lipide récupérée est très faible par rapport à la biomasse initialement introduite, ce qui donne une idée sur le rendement (Annexe 3).

Parmi les différents paramètres influençant le rendement d'extraction, on cite :

- La teneur en eau, pour notre cas l'échantillon était liquide [122].
- La méthode et le solvant utilisé : Bligh et Dyer (1959) (chloroforme et méthanol) [120].
- La taille des particules / broyage : on n'a procédé à aucun broyage [123].
- Le temps et la vitesse d'agitation : agitation manuelle pendant 5 min.
- Le temps d'extraction 20 min [124].
- La conservation de l'échantillon, en poudre, la conservation peut aller jusqu'à 3 mois, nos échantillons ont été conservés à l'état humide pendant plus de 15 jours, la mauvaise odeur dégagée indique la dégradation de la biomasse algale.

4.4 Présence des expolysaccharide

Pour certains rapports, dont le culot après centrifugation s'est présenté sous forme de gelée ; et en grande quantité, on a pensé à une production extracellulaire par la chlorella. Parmi les produits extracellulaires de la C.V, on trouve les expolysaccharide (EPS).

Afin de confirmer notre hypothèse et identifier la présence des EPS, on a opté pour une coloration à l'encre de chine.



Figure 4.12 encre de chine et échantillon

La coloration à l'encre de chine est une méthode assez simple qui permet de mettre en évidence la présence de substances extracellulaires (exopolysaccharides) autour des cellules, ces substances en freinant la pénétration de l'encre dans les floccs, laissent apparaître des zones non colorées [125].

Cette technique consiste à piéger une goutte de la culture cellulaire entre la lame et lamelle et d'ajouter au coin de la lamelle une goutte d'encre de chine qui est majoritairement constituée de noir de carbone stabilisé par une gomme (gélatine), elle forme donc une suspension stable de colloïdes chargés négativement.

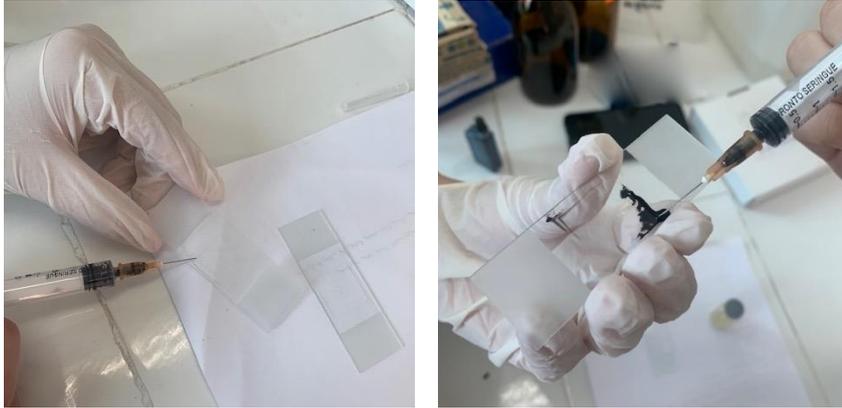


Figure 4.13 préparation des lames en utilisant une coloration à l'encre de chine

Lorsque l'encre de chine se diffuse sous la lamelle, les interactions entre les colloïdes de l'encre et les cellules sont révélatrices des présences ou non d'EPS [126].

Ensuite, une visualisation a lieu afin d'observer si l'encre pénétré à l'intérieur des cellules ou pas, pour pouvoir connaître l'existence des EPS.



Figure 4.14 Matériels de la mise en évidence des EPS

4.4.1 Discussion des résultats

Beaucoup d'espèces de microalgues vertes dont la C.V produisent une grande quantité d'EPS, ces produits à valeur ajoutée, ayant des propriétés uniques et différentes, sont utilisées dans nombreuses applications parmi lesquels :

- **Applications pharmaceutiques**
 - Activité antivirale [127].
 - Activité anti-inflammatoire[128].
- **Applications alimentaires**

Ils ont de plus en plus un intérêt en tant que produit industriel et commercial. Ils peuvent être appliqués dans l'industrie alimentaire comme émulsifiants, agents gélifiants (ce qui explique la formation de gelé), agents d'hydrations, stabilisateurs et agents d'épaississement [129].

Selon les visualisations microscopiques effectuées, la production extracellulaire des EPS a été confirmée.

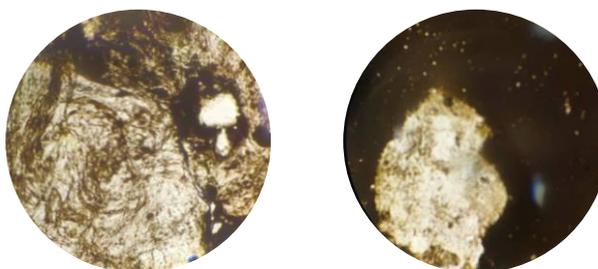


Figure 4.15 microscopique qui confirme la présence des EPS (agrandissement x100)

4.5 Détermination de la teneur en pigments liposoluble

Les teneurs en pigments liposolubles sont déterminées à partir de la fraction lipidique extraite selon le protocole décrit ci-dessus. En effet, les lipides récupérés ont été dissous dans 1 mL d'acétone pure.



Figure 4.16 Equipements utilisés et lipides avant et après l'ajout d'acétone

Ensuite l'absorbance a été mesurée à 400-700 nm sur un Spectrophotomètre UV-Visible. La chlorophylle a, la chlorophylle b et les caroténoïdes totaux présentent une absorbance (A) maximale à 661,6, 644,8 et 470nm, respectivement.

Les concentrations de ces pigments peuvent ensuite être calculées selon les formules suivantes:

$$Ca (\mu\text{g/ml}) = 11,24A_{661,6} - 2,04A_{644,8}$$

$$Cb (\mu\text{g/ml}) = 20,13A_{644,8} - 4,19A_{661,6}$$

$$\text{Caroténoïdes } (\mu\text{g/ml}) = (1000A_{470} - 1,9Ca - 63,14Cb) / 214$$

Où Ca est la chlorophylle a, Cb est la chlorophylle b [130] [131].

Après la lecture des absorbances et les calculs des concentrations a l'aide des équations ci-dessus, on a représenté les résultats obtenus dans les graphiques qui suivent :

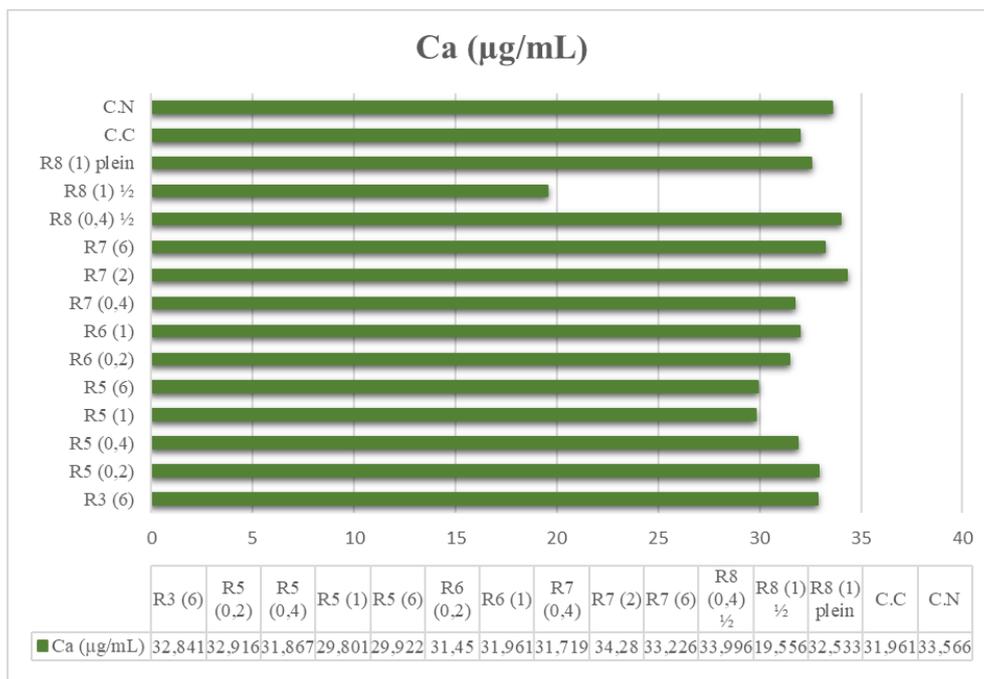


Figure 4.17 graphique en barres représentant les concentrations des Ca des différents réacteurs

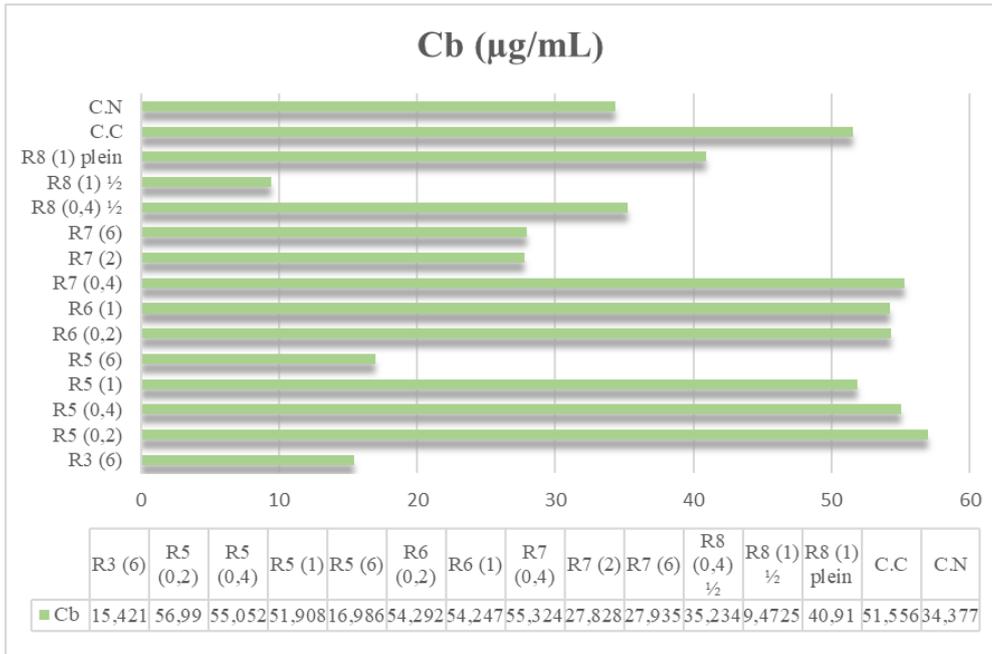


Figure 4.18 graphique en barres représentant les concentrations des Cb des différents réacteurs

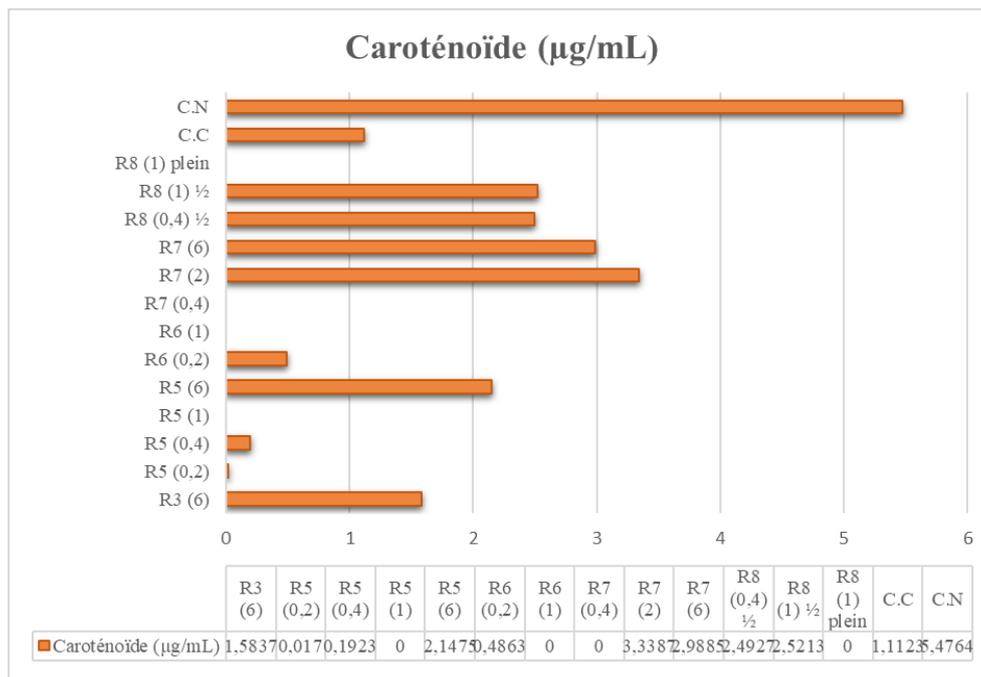


Figure 4.19 graphique en barres représentant les concentrations des Caroténoïdes des différents réacteurs

4.5.1 Discussions des résultats

Une des voies de valorisations intéressantes à partir de microalgues est celle de la production de pigments. Ces pigments peuvent servir dans le domaine alimentaire en tant que colorants ou bien dans le domaine pharmaceutique en tant que pigments fluorescents. Les microalgues renferment une grande variété de pigments dédiés à de nombreuses applications et la *Chlorella vulgaris* se distingue par sa concentration exceptionnelle en chlorophylle a et b [132], ce qu'on a confirmé par notre quantification.

Certains réacteurs ont présenté des concentrations très élevées dont l'optimum a été enregistré pour la chlorophylle a dans le R7 (2) et la chlorophylle b dans le R5 (0,2) et les caroténoïdes totaux dans le C.N

Le réacteur avec le meilleur rendement en biomasse n'a pas donné l'optimum des pigments.

Conclusion générale

Le présent travail entre dans le cadre d'un projet de recherche étudiant la possibilité de la réutilisation des effluents des industries agroalimentaires pour la production d'une biomasse algale pour une éventuelle revalorisation des sous - produits.

Le but de ce travail est la réutilisation du lactosérum (rejet de l'industrie laitière) et son intégration dans un procédé de culture des microalgues comme substrat. Le stage effectué au sein de l'industrie laitière Numidia nous a permis d'approfondir nos connaissances sur la production laitière et le rejet lactosérum à partir de la caractérisation effectuée sur différents rejets on peut dire que le lactosérum constitue un danger pour l'environnement en raison de sa charge organique importante et son pH très variable, il peut être très souvent la cause d'eutrophisation et de toxicité qui modifie les propriétés physico chimiques de l'écosystème. Par ailleurs c'est un rejet connu pour sa richesse nutritionnelle (protéines, vitamines, lactose et faible teneur en matière grasse) ce qui fait de lui une source de carbone organique idéal pour la culture des microalgues.

La *Chlorella vulgaris* fait partie des microalgues vertes qui a comme avantage l'adaptation à tous milieux et conditions de culture et sa richesse en substances appréciables ce qui fait la diversité de son utilisation dans plusieurs domaines (pharmaceutique, alimentaire...etc).

Afin de préserver les propriétés nutritionnelles du lactosérum nous avons procédé à une étape d'atomisation qui consiste à sa transformation en poudre, mais nous avons obtenu un rendement très faible inférieur à 30% pour les deux types de lactosérum utilisés. Pour améliorer ce dernier un prétraitement est recommandé, par exemple une évaporation et une concentration des solides totaux.

Après incubation et avoir effectué les essais à l'échelle du laboratoire, cela nous a permis de fixer certains paramètres optimaux pour la production de biomasse algale, un rapport optimal $S/X = 0,4$, une agitation continue avec une lumière artificielle.

Pour la récupération de la biomasse on a établi une centrifugation (4000tr/min pendant 20min), cette dernière nous a permis d'obtenir un culot. Afin d'étudier les différentes possibilités de valorisation de la biomasse algale. Trois différents composants ont été mis en évidence à savoir, les protéases, les EPS et les pigments, ainsi que la quantification des lipides, le rendement de ces derniers est indépendant de la quantité de biomasse produites.

Pour améliorer cette étude on propose de :

- Prétraitement du lactosérum avant atomisation.
- Refaire les essais avec d'autres types de lactosérums.
- Incubation et suivi des PBRs dans des conditions de travail stérile et sous haute.
- Essayer l'aération avec des airlifts.
- Utiliser des PBRs avec des volumes plus importants pour une valorisation possible.

Références bibliographiques

- [1] Angela Trivino Arevalo, Étude environnementale comparative des procédés de valorisation du lactosérum, université LAVAL, Québec, Canada, (2017).
- [2] Kaci M., Sassi Y. Rapport sur les industries laitières et des corps gras. Recueil des fiches sous sectorielles, EDPme, (2007).
- [3] ONIL
- [4] Guimarães, P. M. R., Teixeira, J. A., & Domingues, L. Fermentation of lactose to bioethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. *Biotechnology Advances*, 28(3), 375–384. (2010).
- [5] Lapointe-Vignola, C. Science et technologie du lait : transformation du lait. (Presses inter Polytechnique, Ed.) (2e ed.). Montréal, Qc : Fondation de technologie laitière du Québec, (2002).
- [6] Sarah Bardy, Mathilde Bentz, Thalys Bussiere, Jeremy Chatras, Louise Fontaine, Maelle Gaugler, Audrey Lechat, Ombeline Lengronne. Rapport de projet valorisation du lactosérum université de lorraine, 2016.
- [7] Chatzipaschali, A. A., & Stamatis, A. G. Biotechnological utilization with a focus on anaerobic treatment of cheese whey: Current status and prospects. *Energies*, 5(9), 3492–3525. (2012).
- [8] Panesar, P. S., Kennedy, J. F., Gandhi, D. N., & Bunko, K. Bio utilization of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*, 105(1), 1–14. (2007)
- [9] Prazeres, A. R., Carvalho, F., & Rivas, J. Cheese whey management: A review. *Journal of Environmental Management*, 110, 48–68(2012).
- [10] Yorgun, M. S., Akmehmet Balcioglu, I., & Saygin, O. Performance comparison of ultrafiltration, nanofiltration and reverse osmosis on whey treatment. *Desalination*, 229, 204– 216, (2008).
- [11] Poirier, M. Industrie de transformation du lait et environnement. Guide technique sectoriel. Gouvernement de Québec, (1996).
- [12] Affertsholt T. Nielsen W.K., Global marketing and production of whey products. Focus on high-value added products and derivatives, rapport, business consulting, WKN consults, silkeborg, danemark, (2003).
- [13] Khamrui, K., & Rajorhia, G.S. FORMULATION OF READY-TO-SERVE WHEY BASED KINNOW JUICE BEVERAGE. *Indian journal of dairy science*, 51, 413-419, (1998).
- [14] Kebbouche-Gana, S., & Touzi, A. Valorisation du lactosérum par la production de levures lactiques avec les procédés de fermentation continue et discontinue, (2001).
- [15] FAO-ONU (Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture Organisation des Nations Unies). Production alimentaire : fromage (Algérie), (2017).

- [16] GEB institut de l'élevage, d'après FAO et Trade map, (2019).
- [17] ABIDI NABIL. Valorisation du lactose et du lactosérum en acide succinique par fermentation bactérienne (2008).
- [18] Jihed Bentahar, Utilisation et valorisation du perméat de lactosérum acide par la microalgue *Scenedesmus obliquus* pour la production d'enzyme de type β -galactosidase, UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI, (Avril 2018).
- [19] Harper, W.-J. Lactose and lactose derivatives in: *Whey and lactose processing*/ed. by Zadow J.G., London: Elsevier Appl. Sci. 317-360. (1992).
- [20] Tetra pack. *Dairy processing handbook*. (L. Grafiska, Ed.) (2nd ed.). Lund, Sweden: Tetra Pak Processing Systems AB. (2003).
- [21] Sprees, E. Marcel Dekker, *Milk and Dairy product technology*. (A. Mixa, Ed.) (1st ed.). New York, États Unis: INC. (1998).
- [22] IDF. *Whey. Proceedings of the second International Whey Conference*. (I. D. Federation, Ed.) (1st ed.). Chicago, États Unis: International Dairy Federation, Brussels, Belgique. (1997).
- [23] Rodem, P. E.-T. Dairy separation range for sound performance Tetra Centri AirTight. Tetrapack, 1–8. Retrieved from, (2010, March).
- [24] Westergaard, V. *Milk Powder Technology: Evaporation and Spray Drying*. (G. Niro, Ed.). Copenhagen, Danemark: GEA Process Engineering. (2010).
- [25] Vuilleumard, J.-C. Chapitre 7- Les ingrédients laitiers. Québec : Université Laval. (2015).
- [26] Pescuma, M., de Valdez, G. F., & Mozzi, F. Whey-derived valuable products obtained by microbial fermentation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 99(15), 6183–6196. (2015).
- [27] Fernández-Gutiérrez, D., Veillette, M., Giroir-Fendler, A., Ramirez, A. A., Fauchoux, N., & Heitz, M. Biovalorization of saccharides derived from industrial wastes. such as whey: a review. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 16, 1–28. (2017).
- [28] Carrillo-Reyes, J., Celis, L. B., Alatrisme-Mondragón, F., & Razo-Flores, E. Decreasing methane production in hydrogenogenic UASB reactors fed with cheese whey. *Biomass and Bioenergy*, 63, 101–108, (2014).
- [29] Venetsaneas, N., Antonopoulou, G., Stamatelatou, K., & Kornaros, M. Using cheese whey for hydrogen and methane generation in a two-stage continuous process with alternative pH controlling approaches. *Bioresource Technology*, 100(15), 3713–3717. (2009).

- [30] Fernandez, C., Carracedo, B., Martinez, E. J., Gomez, X., & Moran, A. Application of a packed bed reactor for the production of hydrogen from cheese whey permeate: Effect of organic loading rate. *Journal of Environmental Science and Health*, 49(2), 210–217(2014).
- [31] Siso, M. I. G. The biotechnological utilization of cheese whey: A review. *Bioresource Technology*, 57(1), 1–11. (1996).
- [32] Spalatelu, C. Biotechnological valorisation of cheese whey. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, 1–8. (10 March 2012).
- [33] Hadiyanto, Ariyanti, D., Aini, A. P., & Pinundi, D. S. Optimization of ethanol production from whey through fed-batch fermentation using *kluveromyces marxianus*. *Energy Procedia*, 47, 108–112. (2014).
- [34] Koushki, M., Jafari, M., & Azizi, M. Comparison of ethanol production from cheese whey permeate by two yeast strains. *Journal of Food Science and Technology*, 49(5), 614–619. (2012).
- [35] United States Department of Education (USDE). US Department of Energy—lower and higher heating values of fuels. (2016).
- [36] Suali, E. and Sarbatly, R. Conversion of microalgae to biofuel. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(6) :4316–4342. (2012).
- [37] T. M. Mata, A. A. Martins, and N. S. Caetano, "Microalgae for biodiesel production and other applications: A review," *Renew. Sustain. Energy Rev.* vol. 14, no. 1, pp. 217-232,(Jan 2010).
- [38] Carlsson A.S., van Beilen J.B., Möller R., Clayton D. *Micro-and macro-algae: utility for industrial applications*. UK : CPL Press, pp.82, (2007).
- [39] Van Den Hende et al., (2012)
- [40] Falkowski, P. G. et Raven, J. A. *Aquatic photosynthesis*, Second edition édition. Pinceton University Press, United Kingdom, (2007).
- [41] Soletto, D., Binaghi, L., Lodi, A., Carvalho, J.C.M., Converti, A. Batch and fed- batch cultivations of *Spirulina platensis* using ammonium sulphate and urea as nitrogen sources. *Aquaculture* 243 : 217–224 (2005).
- [42] Guil-Guerrero, J.L., Navarro-Juarez, R., Lopez-Martinez, J.C., Campra-Madrid, P., Reboloso-Fuentes, M.M. Functional properties of the biomass of three microalgal species. *Journal of Food Engineering* (2004).
- [43] Becker, W. Microalgae in human and animal nutrition. In Richmond, A. (ed.), *Handbook of microalgal culture*. Blackwell, Oxford. (2004).
- [44] Metting, F.B. Biodiversity and application of microalgae. *J. Ind. Microbiol.* 17: 477–

489. (1996).
- [45] Chisti, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. (2007).
- [46] JEAN-CHARLES MICHAUD, STRATÉGIE DE CULTURE ALGALE EN DEUX ÉTAPES AFIN DE PRODUIRE DES BIOCARBURANTS, Université du Québec à Trois-Rivières Service de la bibliothèque (mars 2016).
- [47] Borowitzka, M.A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. *Journal of Biotechnology*, (1999).
- [48] Brasil, B.S.A.F., De Siqueira, F.G., Salum, T.F.C., Zanette, C.M., Spier, M.R. Microalgae and cyanobacteria as enzyme biofactories. *Algal Research* (2017).
- [49] Reboloso Fuentes, M.M., Acien Fernández, G.G., Sánchez Pérez, J.A., Guil-Guerrero, J.L. Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*. *Food Chem*, (2000).
- [50] Zhab, H., Naderi, G., Ang, H.M. and Tade, M.O. CO₂ biomitigation and biofuel production using microalgae: photobioreactors developments and future directions. In Z. Nawaz (dirr) *Advances in Chemical Engineering*. (2012).
- [51] Burlew, J. S. Algal culture from laboratory to pilot plant Carnegie Institution of Washington, 357, (1953).
- [52] Zeng, X.; Danquah, M. K.; Chen, X. D. & Lu, Y. Microalgae bioengineering: from CO₂ fixation to biofuel production *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, (2011).
- [53] Langley, N.; Harrison, S. & van Hille, R. A critical evaluation of CO₂ supplementation to algal systems by direct injection *Biochemical Engineering Journal*, (2012).
- [54] Richmond, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. (2004).
- [55] Cadoret, J. & Bernard, O. La production de biocarburant lipidique avec des microalgues : promesses et défis *Journal de la Société de Biologie*, (2008).
- [56] OLIVIER PROBST Optimization of heterotrophic (dark) growth condition of *Chlorella vulgaris* using CO₂ as sole carbon source UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES AND WESTERN SWITZERLAND (2019).
- [57] (Laboratoire de recherche naval des Etats-Unis) (NREL, 1998)
- [58] Benemann, J.-R., NREL-AFOSR. Overview: Algal oil to Biofuel. In Benemann Associates (réd.), *Algal oil for Jet Fuel Production*, Arlington, VA, USA, NREL-AFOSR Workshop (2008).

- [59] Lindblad, P. Bio Hydrogen Nordic Energy Research Program, In Uppsala University, Suede. Site de HFP Europe, (2006).
- [60] Alain Guillou, Étude d'opportunité des biotechnologies marines sur la production et l'utilisation des microalgues, CRBM (Centre de recherche sur les biotechnologies marines de Rimouski), (2006).
- [61] Oyadomary, J. Algal images. In Keweenawalgae.mtu.edu [En ligne] (2005).
- [62] Grobbelaar J. U. & Kurano N. Use of photoacclimation in the design of a novel photobioreactor to achieve high yields in algal mass cultivation. *Journal of Applied Phycology*, (2003).
- [63] Apt K.E., Behrens P.W. Commercial developments in microalgal biotechnology. *J Phycol* (1999).
- [64] Camacho Rubio F., Acien Fernandez F.G., Sanchez Perez J.A., Garcia Camacho F., Molina Grima E. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. *Biotechnol. Bioeng.* (1999).
- [65] Brennan L. & Owende P. Biofuels from microalgae - A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* (2010).
- [66] Greenwell, H.C., Laurens, L.M.L., Shields, R.J., Lovitt, R.W., Flynn, K.J. Placing microalgae on the biofuels priority list: a review of the technological challenges. *Journal of the Royal Society Interface*, 2010.
- [67] Schenk, P.M., Thomas-Hall, S.R., Stephens, E., Marx, U.C., Mussgnug, J.H., Posten, C., Kruse, O., Hankamer, B. Second Generation Biofuels: High-Efficiency Microalgae for Biodiesel Production. *Bioenergy Research*, (2008).
- [68] Chen C., Yeh K., Aisyah R., Lee D. & Chang J. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production. *Bioresource technology*, (2011).
- [69] Sierra E., Acien F.G., Fernandez J.M., Garcia J.L., Gonzalez C., Molina E. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal.* (2008).
- [70] Harun, R., Singh, M., Forde, G., Danquah, M. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* (2010).
- [71] Zittelli, G.C., Rodolfi, L., Biondi, N., Tredici, M.R. Productivity and photosynthetic efficiency of outdoor cultures of *Tetraselmis suecica* in annular columns. *Aquaculture.* (2006).

- [72] Merchuk, J.C. & Gluz, M. Bioreactors, Air-lift reactors in: Flekinger, M. C. & Drew, S. W. (Eds.) Encyclopedia of Bioprocess technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation John Wiley & Sons, Inc, (1999).
- [73] Degen J., Uebele A., Retze A., Schmid-Staiger U. & Trösch W. A novel airlift photobioreactor with baffles for improved light utilization through the flashing light effect. Journal of Biotechnology, (2001).
- [74] Bitog J., Lee I.B., Lee C.G., Kim K.S., Hwang H.S., Hong S.W., Seo I.H., Kwon K.S., Mostafa E. Application of computational fluid dynamics for modeling and designing photobioreactors for microalgae production. Computers and Electronics in Agriculture, (2011).
- [75] Rengel A. Conception et analyses énergétique et environnementale d'un bioréacteur à microalgues pour la production d'énergie. Thèse énergétique. Paris : Ecole nationale supérieure des mines de Paris, (2010).
- [76] Pulz, O. Performance Summary Report. Evaluation of GreenFuel's 3D Matrix Algae Growth. Engineering Scale Unit. APS Red Hawk Power Plant. [En Ligne]
- [77] Andersen, R. A. Algal culturing techniques. Elsevier Academic Press, (2005)
- [78] Xu, K., Lavaud, J., Perkins, R., Austen, E., Bonnanfant, M. and Campbell, D. A. Phytoplankton σ_{PSII} and Excitation Dissipation; Implications for Estimates of Primary Productivity, Frontiers in Marine Science, (2018).
- [79] Falkowski, P. G., Raven, J. A. Aquatic photosynthesis. Second Edition. Princeton University Press, (2007).
- [80] Dedi Edwin Satriaji, Muhammad Zainuri, Ita Widowati, STUDY OF GROWTH AND N, P CONTENT OF MICROALGAE *Chlorella vulgaris* CULTIVATED IN DIFFERENT CULTURE MEDIA AND LIGHT INTENSITY, Department of Marine Science, Diponegoro University, Indonesia, (2016).
- [81] Huner, N. P. A., Öquist, G., Sarhan, F. Energy balance and acclimation to light and cold. trends in plant science. (1998).
- [82] Serra-Maia, R., Bernard, O., Gonçalves, A., Bensalem, S. and Lopes, F. Influence of temperature on *Chlorella vulgaris* growth and mortality rates in a photobioreactor, Algal Research, (2016).
- [83] Becker, E. W. Microalgae biotechnology and microbiology. Cambridge University Press. (1994).
- [84] Balkos, K. D., Colman, B. Mechanism of CO₂ acquisition in an acid-tolerant chlamydomonas. Plant, Cell & Environment. (Jun. 2007)
- [85] Bartual, A., Gálvez, J. A. Growth and biochemical composition of the diatom *Phaeodactylum tricornutum* at different pH and inorganic carbon levels under saturating and subsaturating light regimes. Botanica Marina (2002).

- [86] John Wiley & Sons. Hu, Q. Industrial Production of Microalgal Cell-Mass and Secondary Products - Major Industrial Species: *Arthrospira (Spirulina) Platensis*. In *Handbook of Microalgal Culture*. (2007b).
- [87] Vandamme, D., Foubert, I., Fraeye, I., Meesschaert, B. and Muylaert, K. Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: role of magnesium and calcium and practical implications, *Bioresource Technology*, (2012).
- [88] Grobbelaar, J. U. John Wiley & Sons. *Algal Nutrition – Mineral Nutrition*. In *Handbook of Microalgal Culture*. (2007).
- [89] Pagnanelli, F., Altimari, P., Trabucco, F. and Toro, L. Mixotrophic growth of *Chlorella vulgaris* 181 and *Nannochloropsis oculata*: interaction between glucose and nitrate, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. (2014).
- [90] Todisco, É. *Microalgae Growth Optimization in Biofaçade Photobioreactors*. (2019, April 10).
- [91] Kliphuis, A. M. J., Janssen, M., van den End, E. J., Martens, D. E. and Wijffels, R. H. Light respiration in *Chlorella sorokiniana*, *Journal of Applied Phycology*, (2011)
- [92] Kazbar, A., Marec, H., Takache, H., Ismail, A. and Pruvost, J. Effect of design dark fraction on the loss of biomass productivities in photobioreactors, *Bioprocess and Biosystems Engineering*. (2019).
- [93] Titica, M., Kazbar, A., Marec, H., Pruvost, J., Ifrim, G, Barbu, M and Caraman, S. Simultaneous control of pH and dissolved oxygen in closed photobioreactor. In 2018 22nd International Conference on System Theory, Control and Computing (ICSTCC). (2018).
- [94] Céline Dejoye, *Eco-Extraction et analyse de lipide de micro-algues pour la production d'algocarburant* thèse de doctorat, université D'AVIGNON ET DES PAYS DE VAUCLUSE. (2013)
- [95] Perales-Vela, H.V., Peña-Castro, J.M., Cañizares-Villanueva, R.O. Heavy metal detoxification in eukaryotic microalgae. *Chemosphere*, (2006).
- [96] Luan, T.G., Jin, J., Chan, S.M.N., Wong, Y.S., Tam, N.F.Y., 2006. Biosorption and biodegradation of tributyltin (TBT) by alginate immobilized *Chlorella vulgaris* beads in several treatment cycles. *Process Biochemistry*.
- [97] Liang, S., Xueming, L., Chen, F., and Chen, Z. Current microalgal health food R&D activities in China. *Hydrobiologia* (2004).
- [98] Stolz, P., Obermayer, B. Manufacturing microalgae for skin care. *Cosmetics Toiletries*. (2005).
- [99] Rania, M.A. et Hala, M.T. Antibacterial and antifungal activity of Cyanobacteria and green Microalgae evaluation of medium components by Plackett-Burman design for antimicrobial activity of *Spirulina platensis*. *Global Journal of Biotechnology and Biochemistry*. (2008).

- [100] DABBADIE L. Cultures intensives de microalgues sur lisier de PORC : Performances, contraintes, utilisation des biomasses. Diplôme d'agronomie approfondie. Ecole nationale supérieure agronomique de montpellier. France. (1992).
- [101] Lucchetti A., Modélisation et conception d'un système de culture de microalgues, HAL, (2014).
- [102] Romane Pellerin, Hammad Qureshi, François Thiriez, Van de Catsij Mathieu. Etude de conditions idéales pour le développement de *Chlorella vulgaris*, et la fabrication d'éthanol. Institut Villebon Georges Charpak Paris Saclay et Paris Sud Promotion 2020 (27 janvier 2019).
- [103] Pignolet O., Jubeau S., Vaca-Garcia C., Michaud P. Highly valuable microalgae: biochemical and topological aspects. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. (2013).
- [104] Bajguz A. Effect of brassinosteroids on nucleic acids and protein content in cultured cells of *Chlorella vulgaris*. *Plant Physiol Biochem* (2000).
- [105] (Lee RE. *Phycology*. 4th ed. Cambridge, England; New York: Cambridge University Press; 2008)
- [106] (Mata TM, Martins AA, Caetano NS. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. *Renew Sustain Energy Rev* 2010;14:217-32).
- [107] Xiong, W., Li, X., Xiang, J., Wu, Q., Feb. 2008. High-density fermentation of microalga *Chlorella protothecoides* in bioreactor for microbio-diesel production. *Applied microbiology and biotechnology*.
- [108] Jean Rodier, C. Bazin, J.P. Broutin, P. Chamban, H. Chambsaun, L. Rodi. L'ANALYSE DE L'EAU EAU NATUREL EAU RESIDUERE EAU DE MER 8ed DUNOD, Belgique. (1996).
- [109] S.Jinjarak* A.Olabi R.Jiménez-Flores J.H.Walker, Sensory, Functional, and Analytical Comparisons of Whey Butter with Other Butters, *Journal of Dairy Science* Volume 89, Issue 7, (July 2006).
- [110] PÔLE EXPÉRIMENTATION ET DE PROGRÈS CAPRIN, LA GESTION DES EFFLUENTS DE FROMAGERIES FERMIERES
- [111] Daubersies, L.S.V., Séchage de fluides complexes en géométrie confinée, Bordeaux 1. (2012).
- [112] (APV, APV Dryer Handbook. UMBC)
- [113] Quentin Gaubert Marseille Thèse Caractérisation et modélisation des phénomènes gouvernant le séchage par atomisation de suspensions colloïdales, (le 06 Octobre 2017).

- [114] R. Grappin, R. Jeunet. Essais de l'appareil Milko-Scan 300 utilisé pour le dosage en série de la matière grasse et des protéines du lait. *Le Lait*, INRA Editions, 1976, 56 (558).
- [115] Park, J.B.K., Craggs, R.J., Shilton, A.N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* 102, 35–42 (2011).
- [116] Michelin, Marie Mixotrophie de microalgues vertes en milieu fermé : synergie entre assimilation du carbone organique et photosynthèse Diplôme : Master en biochimie et biologie moléculaire et cellulaire, à finalité approfondie faculté de Liège, France (2019)
- [117] Rawat, I., Ranjith Kumar, R., Mutanda, T., Bux, F., Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy* 88, 3411–3424. (2011).
- [118] Anyanwu, R., Rodriguez, C., Durrant, A., & Olabi, A-G. Development of effective approach for dewatering microalgae. In 12th Conference on Sustainable Development of Energy, Water and Environment Systems, SDEWES [0997] University of Zagreb. (2017).
- [119] Ouided Abdelaziz pathogenicity of three enthomopatogenic fungi to the afid spieces metoplophium, dirhodum (walker) and their alkaline protease activity, (2018).
- [120] Bligh, E.G., Dyer, W.M. A rapid method of lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Physiol.* 37, 911–917. (1959).
- [121] Yon Lee, Chan Yoo, So-Young Jun, Chi-Yong Ahn, Hee-Mock Oh Jae- * Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae Environmental Biotechnology Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB), Republic of Korea
- [122] Ryckebosch, E., Muylaert, K. & Foubert, I. Optimization of an Analytical Procedure for Extraction of Lipids from Microalgae. *J Am Oil Chem Soc* 89, 189–198 (2012). <https://doi.org/10.1007/s11746-011-1903-z>
- [123] Djillali Ghobrini, Tomáš Brányik, Saliha Yakoub-Bougdal, Kamal Aïboud, LeilaKebbab, Djamel Daoud, Nacéra Lahouel Rachid Bouarab, Mohammed Oumsalem, and Lyes Zanoun. Production of biodiesel from locally isolated yellowstrainof *Chlorella* sp. using wastewater from dairy effluents as a growth medium. *AIP Conference Proceedings* 2190, 020097 (2019)
- [124] Halim R, Danquah MK, Webley PA: Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnol Adv* 2012, 30: 709–732. 10.1016/j.biotechadv.2012.01.001
- [125] Rossi, F., & De Philippis, R. Exocellular polysaccharides in microalgae and cyanobacteria: chemical features, role and enzymes and genes involved in their

- biosynthesis. In *The physiology of microalgae* (pp. 565-590). Springer, Cham. (2016).
- [126] Zeyons, O. Etudes des interactions physicochimiques et biologiques entre des nanoparticules manufacturées et des bactéries de l'environnement (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI). (2008).
- [127] Raposo, M.F.J., Morais, R.M.S., Morais, A.M.B. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. *Marine Drugs* 11, 233–252. (2013)
- [128] Guzman, S.; Gato, A.; Lamela, M.; Freire-Garabal, M.; Calleja, J.M. AntiInflammatory and immunomodulatory activities of polysaccharide from *Chlorella stigmatophora* and *Phaeodactylum tricornutum*. *Phytother. Res.*, 17, 665–670. (2003).
- [129] Bernal P, Llamas MA Promising biotechnological applications of antibiofilm exopolysaccharides. *Microb Biotechnol* 5(6) :670–673. (2012)
- [130] Lichtenthaler H., Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 350–382/148 (1987).
- [131] Nesrine Gargouch. Caractérisation de la microalgue rouge *Porphyridium marinum* sous différentes conditions de culture et valorisation de ces métabolites. *Biochimie [q-bio.BM]*. Université Clermont Auvergne Université de Sfax (Tunisie), 2018.

Annexe

Annexes

Annexe 1 : Tableaux des incubations et suivis des réacteurs

F 0.2 :		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
27/03/2022	13 :00	5,36	28	7,1	0,7743
28/03/2022	08 :00	5,16	29,8	6,2	0,8899
	13 :00	5,63	29,3	6,2	
29/03/2022	08 :00	5,35	30	6	1,0171
	13 :00	5,58	30	5,7	
30/03/2022	08 :00	5,09	29,9	5,3	1,1557
	13 :00	5,4	30	5,3	
31/03/2022	08 :00	5,14	30,1	4,7	1,3979
	13 :00	5,13	29,6	6	
03/04/2022	08 :00	4,72	28,7	6	1,0247
	13 :00	4,72	28,5	6,2	
04/04/2022	08 :00	4,84	28,8	5,8	1,024

F 0.4 :		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
27/03/2022	13 :00	4,71	28	7,1	0,8246
28/03/2022	08 :00	5,36	29,6	6	0,8979
	13 :00	5,6	29,6	6,5	
29/03/2022	08 :00	5,5	30	5,9	1,0483
	13 :00	5,6	28	6,4	
30/03/2022	08 :00	5,276	30	5,6	1,0987
	13 :00	5,14	30	5,1	
31/03/2022	08 :00	4,77	29,6	4,8	1,0666
	13 :00	4,71	29,5	6,9	
03/04/2022	08 :00	4,37	29	6,3	1,0326
	13 :00	4,33	27,9	8,3	
04/04/2022	08 :00	4,22	29,3	6,4	1,0522

NF 0.2 :		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
27/03/2022	13 :00	5,36	28	7,1	0,9990
28/03/2022	08 :00	5,66	30,3	6,6	1,0230
	13 :00	5,74	30	6,3	
29/03/2022	08 :00	5,69	30	5,7	0,9040
	13 :00	5,8	29,6	6,2	
30/03/2022	08 :00	5,7	29,8	5	0,9375
	13 :00	5,7	29,8	5,9	
31/03/2022	08 :00	5,68	29,8	4,5	0,9643
	13 :00	5,73	28,9	5,5	
03/04/2022	08 :00	5,7	28,5	6,4	0,8588
	13 :00	5,74	28,5	5,6	
04/04/2022	08 :00	4,22	29,3	6,4	1,0522

NF 0.4		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
27/03/2022	13 :00	5,36	28	7,1	0,8779
28/03/2022	08 :00	5,53	30	6,1	0,9354
	13 :00	5,63	29	6,2	
29/03/2022	08 :00	5,67	30,1	5,6	0,8615
	13 :00	5,77	29,8	6	
30/03/2022	08 :00	5,7	29,8	5	0,9375
	13 :00	5,72	29,8	5,2	
31/03/2022	08 :00	5,66	29,5	4,8	0,9227
	13 :00	5,8	28,5	5,4	
03/04/2022	08 :00	5,29	28,8	5,3	0,9122
	13 :00	5,32	28,5	5,5	
04/04/2022	08 :00	5,48	29,1	5,4	0,8207

Annexes

R2 0,2		pH	T (°c)	O2 (mg/l)	A
30/03/2022	13 :00	7,4	25	10,5	
31/03/2022	08 :00	5,35	29,6	5,3	0,6644
	13 :00	5,77	29,1	5,7	
03/04/2022	08 :00	5,63	28,5	5,3	0,9527
	13 :00	5,65	28,5	5,5	
04/04/2022	08 :00	5,64	29	5,4	0,9819
	13 :00	5,74	29,6	5,2	
05/04/2022	08 :00	5,66	29,7	5,6	0,9170
	13 :00	5,73	28,5	5,5	
06/04/2022	08 :00	5,72	29,2	6,3	0,9187
	13 :00	5,82	29,1	5,2	
07/04/2022	08 :00	5,57	26,3	6,45	0,9355
	13 :00	5,73	29,6	6,3	
10/04/2022	08 :00	5,45	30,2	5,9	1,0241
	13 :00	5,50	30,1	5,8	
11/04/2022	08 :00	5,04	22,7	6,4	0,8167
	13 :00	5,44	29,8	6,3	

R2 0,4 :		pH	T (°c)	O2 (mg/l)	A
30/03/2022	13 :00	7,007	25	10,4	
31/03/2022	08 :00	5,14	29,7	4,8	0,7587
	13 :00	5,58	29	6	
03/04/2022	08 :00	5	28,5	5,1	0,8748
	13 :00	5,40	29	5,5	
04/04/2022	08 :00	5,3	28,9	5,7	0,8856
	13 :00	5,58	29,7	5,6	
05/04/2022	08 :00	5,26	30	6,1	0,8859
	13 :00	5,53	29,5	6,7	
06/04/2022	08 :00	5,34	29,2	6,3	0,9187
	13 :00	5,67	29	7,2	
07/04/2022	08 :00	5,0	26,3	7,0	0,7839
	13 :00	5,04	29,2	6,3	
10/04/2022	08 :00	5,62	29,6	6,3	0,8213
	13 :00	5,70	29,7	8,1	
11/04/2022	08 :00	5,13	29,5	6,3	0,7996
	13 :00	5,27	29,9	8,5	

R3 (1)		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
04/04/2022	13 :00	7,12	25,6	10,2	0,1271
05/04/2022	08 :00	4,8	29,3	5,9	0,5216
	13 :00	4,92	29,6	5,4	
06/04/2022	08 :00	5,37	29,4	6,4	0,6763
	13 :00	5,67	29,1	5,5	
07/04/2022	08 :00	5,07	26,2	7,0	0,6519
	13 :00	5,28	29,5	7,0	
10/04/2022	08 :00	4,48	29,4	6,4	0,6370
	13 :00	4,54	29,5	7,4	
11/04/2022	08 :00	4,72	29,1	7,0	0,5591
	13 :00	4,46	30,7	6,8	
12/04/2022	08 :00	5,26	29,6	7,1	0,6781
	13 :00	5,46	29,9	6,6	
13/04/2022	08 :00	4,67	29,5	6,4	0,6772
	13 :00	4,59	29,7	6,4	
14/04/2022	08 :00	4,36	29,6	6,8	0,6950
	13 :00	4,30	30	6,5	

R3 (6):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
04/04/2022	13 :00	7,13	23,6	10,6	0,0485
05/04/2022	08 :00	5,71	28,9	5,6	0,1941
	13 :00	5,56	29,2	6,2	
06/04/2022	08 :00	4,88	29,1	6,9	0,3166
	13 :00	5,05	28,5	6,2	
07/04/2022	08 :00	5,55	26,0	7,8	0,2856
	13 :00	5,70	29,5	6,5	
10/04/2022	08 :00	5,49	29,1	6,0	0,3832
	13 :00	5,67	30	6,1	
11/04/2022	08 :00	5,26	29,7	6,5	0,3570
	13 :00	5,37	30,4	6,4	
12/04/2022	08 :00	4,97	30	6,5	0,4582
	13 :00	4,83	29,2	6,4	
13/04/2022	08 :00	4,57	29,9	5,9	0,4986
	13 :00	4,66	29,4	6,8	
14/04/2022	08 :00	4,48	29,4	6,8	0,5158
	13 :00	4,40	29,8	6,9	

Annexes

R3 (12)		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
04/04/2022	13 :00	7,07	24,2	10,6	0,0478
05/04/2022	08 :00	5,6	29,8	5,8	0,1995
	13 :00	5,72	29,4	5,8	
06/04/2022	08 :00	5,64	28,6	8	0,2670
	13 :00	4,64	28,5	6,5	
07/04/2022	08 :00	4,94	26,0	7,7	0,2422
	13 :00	5,15	28,9	6,8	
10/04/2022	08 :00	5,28	29	6	0,3101
	13 :00	5,53	29,7	6,2	
11/04/2022	08 :00	5,2	29,2	6,4	0,3887
	13 :00	5,41	29,9	6,2	
12/04/2022	08 :00	5,25	29,6	6,3	0,4732
	13 :00	5,59	30,1	7,1	
13/04/2022	08 :00	5,29	29,7	6,3	0,6207
	13 :00	5,29	28,4	6,6	
14/04/2022	08 :00	5,33	29,8	6,8	0,7476
	13 :00	5,30	29,4	6,2	

R3 (2)		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
04/04/2022	13 :00	7,42	25,8	10,4	0,0935
05/04/2022	08 :00	4,8	28,9	6,8	0,2731
	13 :00	5,70	29,6	5,6	
06/04/2022	08 :00	5,97	29	7,1	0,4497
	13 :00	4,64	28,7	6,5	
07/04/2022	08 :00	5,45	26,7	6,7	0,5071
	13 :00	5,78	30	8,3	
10/04/2022	08 :00	5,76	30	6,5	0,8122
	13 :00	6,51	29,3	6,7	
11/04/2022	08 :00	6,46	29,1	6,6	0,8427
	13 :00	6,14	30	8,1	
12/04/2022	08 :00	6,14	30,2	6,2	0,9632
	13 :00	6,1	30,3	6,6	
13/04/2022	08 :00	5,36	29,8	6,1	0,9791
	13 :00	5,31	29,0	8,2	
14/04/2022	08 :00	5,16	30,3	6	1,0642
	13 :00	5	29,8	6,4	

R4 (0,4)		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
05/04/2022	13 :00	7,72	22,1	10,7	0,0781
06/04/2022	08 :00	6,6	20,8	6,5	0,1131
	13 :00	6,25	21,9	7	
07/04/2022	08 :00	4,46	21,1	7,4	0,1205
	13 :00	4,47	22,2	6	
10/04/2022	08 :00	4,46	23,3	6,7	0,1292
	13 :00	4,5	23,8	6,5	
11/04/2022	08 :00	4,52	22,4	7,2	0,1727
	13 :00	4,55	24,8	6,8	
12/04/2022	08 :00	4,6	22,5	7,2	0,1685
	13 :00	4,60	24,6	6,6	
13/04/2022	08 :00	4,63	23,4	6,1	0,1728
	13 :00	4,66	22,2	7,2	
14/04/2022	08 :00	4,74	22,6	7,3	0,1642
	13 :00	4,60	22,5	7,1	

R4 (1)		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
05/04/2022	13 :00	7,56	22,3	10,5	0,0899
06/04/2022	08 :00	6,60	20,9	6,6	0,0964
	13 :00	6,47	21,5	7,1	
07/04/2022	08 :00	4,39	21,0	7,00	0,0911
	13 :00	4,31	22	6,5	
10/04/2022	08 :00	3,97	22,9	6,9	0,1206
	13 :00	4,01	22,6	6,2	
11/04/2022	08 :00	4,05	29,1	6,9	0,1390
	13 :00	4,04	24,8	6,7	
12/04/2022	08 :00	4,07	22,4	6,7	0,1348
	13 :00	4,06	24,6	6,8	
13/04/2022	08 :00	4,09	23,4	6,3	0,1488
	13 :00	4,09	22,3	6,7	
14/04/2022	08 :00	4,13	22,7	7,2	0,1495
	13 :00	4,10	22,3	6,8	

Annexes

R4 (6)		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
05/04/2022	13 :00	7,40	22,1	10,8	0,0505
06/04/2022	08 :00	6,51	20,8	6,5	0,0687
	13 :00	6,37	21,5	6,7	/
07/04/2022	08 :00	4,30	20,7	6,5	0,0743
	13 :00	4,20	21,8	5,7	/
10/04/2022	08 :00	3,75	22,6	6,3	0,0855
	13 :00	3,77	23,5	7,4	/
11/04/2022	08 :00	3,79	22	7	0,1167
	13 :00	3,77	24,8	6,6	/
12/04/2022	08 :00	3,8	22,4	6,7	0,1092
	13 :00	3,77	24,7	7,9	/
13/04/2022	08 :00	3,8	23,6	6,4	0,1186
	13 :00	3,79	22,4	6,9	/
14/04/2022	08 :00	3,82	22,9	6,9	0,0899
	13 :00	3,80	22,4	7,1	/

R4 (12)		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
05/04/2022	13 :00	7,9	22	10,3	0,0484
06/04/2022	08 :00	6,46	20,9	6,3	0,0655
	13 :00	6,40	21,6	6,8	/
07/04/2022	08 :00	4,47	20,9	6,8	0,0537
	13 :00	4,33	21,9	5,9	/
10/04/2022	08 :00	3,81	22	6,9	0,0929
	13 :00	3,82	23,9	6,1	/
11/04/2022	08 :00	3,82	22,1	7,1	0,1149
	13 :00	3,77	24,4	6,8	/
12/04/2022	08 :00	3,82	22,2	7,1	0,1089
	13 :00	3,76	24,6	7,1	/
13/04/2022	08 :00	3,78	23,7	6,3	0,1019
	13 :00	3,8	22,5	7,2	/
14/04/2022	08 :00	3,79	22,9	6,8	0,0841
	13 :00	3,80	22,0	7,4	/

R5 (0,2):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
12/04/2022	13 :00	6,92	22,9	11,2	0,6555
13/04/2022	08 :00	7,05	21,8	12,5	1,2476
	13 :00	6,92	22,2	11,5	/
14/04/2022	08 :00	6,98	21,4	10,4	1,1935
	13 :00	7,06	21,8	12,3	/
17/04/2022	08 :00	8,09	20,2	12,3	0,7323
	13 :00	8,00	21	10,1	/
18/04/2022	08 :00	8,05	19,6	8,6	2,1387
	13 :00	8,09	22,5	9,5	/

R5 (0,4):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
12/04/2022	13 :00	6,60	23,7	11,3	0,2563
13/04/2022	08 :00	6,63	22,4	11,1	0,4184
	13 :00	6,64	22,8	10,9	/
14/04/2022	08 :00	6,64	22,3	9,6	1,1858
	13 :00	6,86	22,3	11,4	/
17/04/2022	08 :00	7,36	20,9	8,1	1,4453
	13 :00	7,40	22,1	10	/
18/04/2022	08 :00	8,07	20,2	8	1,8782
	13 :00	8,09	22,6	9,3	/

Annexes

R5 (1):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
12/04/2022	13 :00	6,69	25,6	10,3	0,2366
13/04/2022	08 :00	4,8	25,4	6	0,8118
	13 :00	4,58	24,9	6,1	
14/04/2022	08 :00	4,08	24,5	7,3	0,9350
	13 :00	4,30	24,6	6,2	
17/04/2022	08 :00	4,61	22,8	7,5	1,0528
	13 :00	4,80	23,9	7,8	
18/04/2022	08 :00	5,77	22,6	7,6	1,4583
	13 :00	5,9	23	7,8	

R5 (6):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
12/04/2022	13 :00	6,45	23	12,3	0,0774
13/04/2022	08 :00	7,27	22,1	11,7	0,2379
	13 :00	7,11	22,6	11,9	
14/04/2022	08 :00	7,33	21,9	12,4	0,5710
	13 :00	7,15	22	12,4	
17/04/2022	08 :00	7,11	20,7	8,3	0,9558
	13 :00	7,20	21,7	9,2	
18/04/2022	08 :00	7,56	20,4	11,2	1,0866
	13 :00	7,40	22,1	11	

R5 (2):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
12/04/2022	13 :00	6,63	25,6	10,3	0,2963
13/04/2022	08 :00	5,28	25,1	6,7	0,7272
	13 :00	6,01	22,5	12,2	
14/04/2022	08 :00	7,01	21,7	12	0,6073
	13 :00	7	21,9	12,2	
17/04/2022	08 :00	8,09	20,2	12,3	0,7323
	13 :00	8	22,1	12	
18/04/2022	08 :00	7,83	19,8	12,4	1,0866
	13 :00	7,8	20,4	12,4	

R5 (12):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
12/04/2022	13 :00	6,42	23,2	12	0,0546
13/04/2022	08 :00	7,09	22,9	10,8	0,2047
	13 :00	5,27	24,7	6,8	
14/04/2022	08 :00	4,42	25,2	6,8	0,2976
	13 :00	4,1	24,7	8,5	
17/04/2022	08 :00	3,71	22,8	9,7	0,3568
	13 :00	3,90	24,1	9,8	
18/04/2022	08 :00	3,80	23,3	8,7	0,3912
	13 :00	3,85	24,6	9	

R6 (0.2):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
18/04/2022	13 :00	6,9	22,9	12,2	
19/04/2022	08 :00	6,68	21,8	8,8	1,0111
	13 :00	7,02	22,3	10,4	
20/04/2022	08 :00	7,57	23,2	10,4	1,0680
	13 :00	7,03	22,6	10,2	
21/04/2022	08 :00	6,57	21,2	8,3	1,2012
	13 :00	7,12	21,8	8,4	
24/04/2022	08 :00	7,93	18,9	6,3	3,5157
	13 :00	8,01	20,2	7	

R6 (0.4):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
18/04/2022	13 :00	6,76	23	12,1	
19/04/2022	08 :00	6,8	22,2	8,5	1,1903
	13 :00	7,23	23	11	
20/04/2022	08 :00	7,43	22,8	10,7	1,4835
	13 :00	6,84	22,7	7,5	
21/04/2022	08 :00	7	21,3	8,8	1,9687
	13 :00	7,12	21,9	8,2	
24/04/2022	08 :00	7,91	19,5	6,1	3,4323
	13 :00	8	20,1	6,7	

Annexes

R6 (1):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
18/04/2022	13 :00	6,69	23,6	12	
19/04/2022	08 :00	6,22	24,8	7,5	0,6595
	13 :00	6,30	24,8	6,30	
20/04/2022	08 :00	5,02	25,4	7,2	0,7644
	13 :00	6,41	23,5	7,6	
21/04/2022	08 :00	6,98	20,6	8,4	0,9731
	13 :00	7,07	22,6	8,6	
24/04/2022	08 :00	8,2	20,2	9,8	1,4532
	13 :00	8,5	22,4	9,9	

R6 (2):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
18/04/2022	13 :00	6,85	23,3	12,1	
19/04/2022	08 :00	7,23	22,5	10,8	0,4829
	13 :00	7,2	23,8	10,5	
20/04/2022	08 :00	7,25	23,1	10,4	0,6186
	13 :00	7,22	22,7	10	
21/04/2022	08 :00	7,16	21,1	8,4	1,3109
	13 :00	7,33	22,3	8,1	
24/04/2022	08 :00	7,81	19,6	7,1	2,0476
	13 :00	7,90	21,2	7,6	

R6 (6):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
18/04/2022	13 :00	6,66	22,4	12,3	
19/04/2022	08 :00	7,28	21,6	12,1	0,3070
	13 :00	7,38	23,2	9,8	
20/04/2022	08 :00	7,33	22,7	10,1	0,6186
	13 :00	7,23	22,9	9	
21/04/2022	08 :00	6,96	21,2	7,4	1,1021
	13 :00	7,21	24,1	7,7	
24/04/2022	08 :00	7,92	20,1	7,2	1,5308
	13 :00	8	22,1	7,6	

R6 (12):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
18/04/2022	13 :00	7,13	22,5	12,3	
19/04/2022	08 :00	7,10	21,3	12,1	0,2022
	13 :00	7,59	22,9	11,8	
20/04/2022	08 :00	7,85	22,7	11,1	0,3320
	13 :00	7,64	22,3	10	
21/04/2022	08 :00	7,58	21,6	8,5	0,6357
	13 :00	7,35	23,1	8,7	
24/04/2022	08 :00	6,61	20,2	6,5	1,3619
	13 :00	7	23,1	7	

Annexes

R7 (0,2):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
19/04/ 2022	08 :00	5,82	28,9	7,4	1,7469
	13 :00	7,59	30	8,3	
20/04/ 2022	08 :00	6	30,7	6,3	1,6642
	13 :00	5,97	30	5,7	
21/04/ 2022	08 :00	6,57	21,2	8,3	1,9012
	13 :00	5,55	30,2	2,5	
24/04/ 2022	08 :00	5,25	29,9	3,1	2,2208
	13 :00	7,48	1,2	26,7	
25/04/2 022	08 :00	7,72	28,8	2,4	1,2166
	13 :00	7,43	29	1,2	
26/04/2 022	08 :00	7,51	30,3	3,1	1,1605
	13 :00	7,47	30,6	2,5	
27/04/2 022	08 :00	8,02	30,2	6,2	0,8140
	13 :00	7,41	28	3,1	
28/04/2 022	08 :00	7,68	30,7	5,9	1,0263
	13 :00	7,33	30	4,6	

R7 (0,4):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
19/04/ 2022	08 :00	5,67	28,3	9,3	0,6401
	13 :00	5,17	30,3	9,4	
20/04/ 2022	08 :00	5,25	30,3	9,3	0,8389
	13 :00	5,08	30,3	6	
21/04/ 2022	08 :00	5,30	30,9	2,3	1,4359
	13 :00	5,33	30	2,3	
24/04/ 2022	08 :00	7,35	30,6	3,4	1,1003
	13 :00	7,42	27,8	1,1	
25/04/2 022	08 :00	7,87	29,9	3,8	1,0522
	13 :00	7,41	28,9	1,6	
26/04/2 022	08 :00	7,55	30,7	2,5	1,1453
	13 :00	7,49	30,5	2,6	
27/04/2 022	08 :00	7,95	29,8	5,6	0,9570
	13 :00	7,48	28	3	
28/04/2 022	08 :00	7,74	30,4	3,9	1,0149
	13 :00	7,43	28,7	5,8	

R7 (2):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
19/04/ 2022	08 :00	5,67	28,3	9,3	0,641
	13 :00	5,17	30,3	9,4	
20/04/ 2022	08 :00	5,25	30,3	9,3	0,8389
	13 :00	5,08	30,3	6	
21/04/ 2022	08 :00	4,90	30	2,8	1,2031
	13 :00	5,08	29,5	3,2	
24/04/ 2022	08 :00	7,62	29,8	3,8	1,1189
	13 :00	5,11	26,8	1,8	
25/04/2 022	08 :00	5,5	30,2	1,7	1,1825
	13 :00	5,76	28,9	1,4	
26/04/2 022	08 :00	6,49	31	1,2	1,1395
	13 :00	5,88	30,2	2,1	
27/04/2 022	08 :00	5,56	30,6	4	1,0993
	13 :00	6,52	30	4,7	
28/04/2 022	08 :00	5,05	30,7	4,7	0,6863
	13 :00	5,08	29,3	4,8	

R7 (6):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
19/04/ 2022	08 :00	5,67	28,3	9,3	0,6401
	13 :00	5,38	30,6	12	
20/04/ 2022	08 :00	4,95	29,9	7,3	0,4819
	13 :00	4,80	29,8	7,8	
21/04/ 2022	08 :00	4,66	28,8	4,0	0,4384
	13 :00	4,76	29,7	3,9	
24/04/ 2022	08 :00	4,38	30,3	2,3	0,5440
	13 :00	4,41	26,8	1,1	
25/04/2 022	08 :00	4,6	30,1	3,0	0,7289
	13 :00	4,90	28,5	1,6	
26/04/2 022	08 :00	6,70	30,4	1,4	0,8530
	13 :00	6,32	30,3	2	
27/04/2 022	08 :00	5,14	30	4,4	0,9417
	13 :00	5,49	28	4,6	
28/04/2 022	08 :00	6,28	30,6	4,3	1,3660
	13 :00	5,27	29,5	5,1	

Annexes

R8 (1) 1/2:		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
24/04/2022	13 :00	6,68	20,7	6,7	0,2621
25/04/2022	08 :00	5,41	23,8	1,4	1,3822
	13 :00	5,19	24,6	1,2	/
26/04/2022	08 :00	4,83	23,7	2,1	1,2152
	13 :00	5,14	27	2	/
27/04/2022	08 :00	5,19	23,5	3,4	1,3104
	13 :00	5,73	26	4,6	/
28/04/2022	08 :00	5,42	24,4	4,5	1,2269
	13 :00	5,83	25,1	5,8	/
08/05/2022	08 :00	4,67	22	5,3	1,4020
	13 :00	4,68	23,9	5,6	/

R8 (1):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
24/04/2022	13 :00	6,68	20,5	6,68	0,2467
25/04/2022	08 :00	5,41	22,3	1,4	0,5122
	13 :00	5,04	24,6	1,3	/
26/04/2022	08 :00	4,17	24,3	1,9	0,6572
	13 :00	4,34	26,7	2,2	/
27/04/2022	08 :00	4,75	24	5	0,7950
	13 :00	4,93	26,4	3,4	/
28/04/2022	08 :00	5,37	23,9	3,4	1,0020
	13 :00	4,6	24,3	5,58	/
08/05/2022	08:00	5,06	22,8	5,6	1,0987
	13:00	5,20	22,8	5,1	/

R8 (0,4) 1/2:		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
24/04/2022	13 :00	6,69	20,6	7	0,3252
25/04/2022	08 :00	5,68	21,9	1,3	1,7103
	13 :00	4,69	23,9	1,2	/
26/04/2022	08 :00	4,48	23,7	2,7	1,3249
	13 :00	5,21	26,4	2,5	/
27/04/2022	08 :00	5,02	22,6	3,8	1,5954
	13 :00	5,71	25,5	3,8	/
28/04/2022	08 :00	4,9	24,2	4	1,6985
	13 :00	5,1	24,1	4,1	/
08/05/2022	08 :00	4,67	22	5,3	1,4020
	13 :00	4,68	23,9	5,8	/

R8 (0,4):		pH	T (°c)	O ₂ (mg/l)	A
24/04/2022	13 :00	6,73	20,5	7	0,3152
25/04/2022	08 :00	4,9	22,7	1,4	1,7231
	13 :00	4,69	23,9	1,2	/
26/04/2022	08 :00	4,48	23,7	2,4	1,3249
	13 :00	4,78	26,1	2,1	/
27/04/2022	08 :00	5,15	23,9	3,8	1,5034
	13 :00	5,48	25,3	3,7	/
28/04/2022	08 :00	5,21	23,9	3,5	1,5039
	13 :00	5,60	23,9	3	/
08/05/2022	08 :00	5,02	21,4	5	1,4523
	13 :00	5,38	22	5,3	/

Annexe 2 : Tableau quantification des lipides

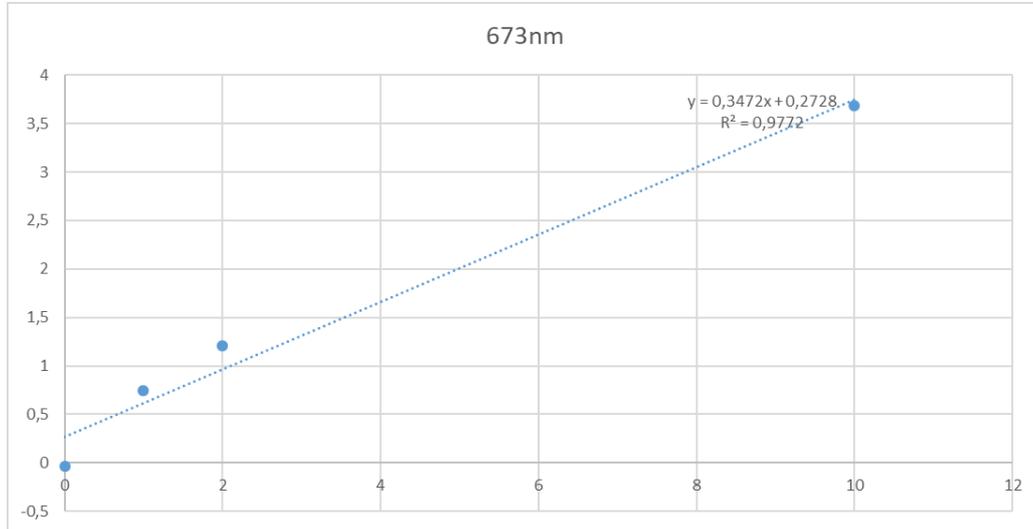
réacteur	Poids du flacon vide	Avant séchage	Après séchage	Quantité de lipide récupérée
R3 (6)	29,6679	57,8386	29,7143	0,0464
R5 (0,2)	29,6355	42,9409	29,6499	0,0144
R5 (0,4)	59,1846	98,3388	59,1964	0,0118
R5 (1)	29,8192	54,1633	29,8293	0,0101
R5 (6)	29,5954	52,9331	29,6369	0,0415
R6 (0,2)	29,7791	56,7306	29,7943	0,0152
R6 (0,4)	29,3224	42,3900	29,3437	0,0213
R6 (1)	59,4212	86,0514	59,4313	0,0101
R6 (2)	29,7692	59,0763	29,7816	0,0124
R7 (0,2)	29,7464	54,7291	29,7645	0,0181
R7 (0,4)	29,7290	54,5002	29,7464	0,0174
R7 (2)	29,5774	52,2070	29,6196	0,0422
R7 (6)	29,6010	56,0466	29,6179	0,0169
R8 (0,4) ½	29,7842	53,0866	29,8172	0,033
R8 (1) ½	30,0099	56,6764	30,0244	0,0145
R8 (1) plein	29,7460	45,2013	29,7692	0,0232
C.N	29,8034	56,0578	29,8173	0,0132
C.C	59,3621	87,6638	59,3729	0,0139

Tableau quantification des pigments :

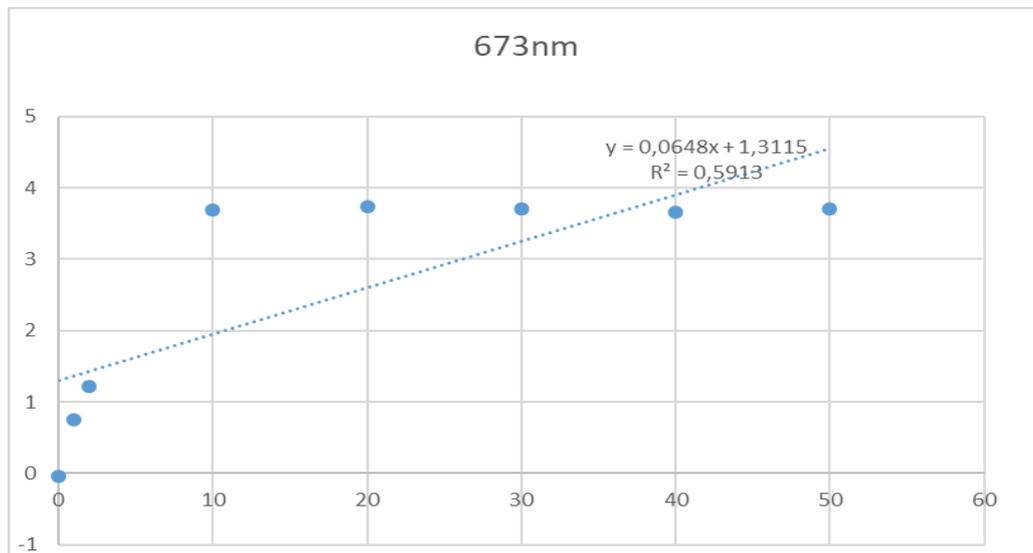
Réacteur	Ca (µg/l)	Cb (µg/l)	Caroténoïde (µg/l)
R3 (6)	32,8409	15,4213	1,5837
R5 (0,2)	32,9155	56,9895	0,0170
R5 (0,4)	31,8670	55,0522	0,1923
R5 (1)	29,8006	51,9081	0
R5 (6)	29,9223	16,9858	2,1475
R6 (0,2)	31,4498	54,2915	0,4863
R6 (1)	31,9607	54,2472	0
R7 (0,4)	31,7194	55,3241	0
R7 (2)	34,2799	27,8276	3,3387
R7 (6)	33,22589	27,9351	2,9885
R8 (0,4) ½	33,9955	35,2339	2,4927
R8 (1) ½	19,5557	9,4725	2,5213
R8 (1) plein	32,5334	40,91	0
C.C	31,9607	51,5559	1,1123
C.N	33,5664	34,3770	5,4764

Annexe 3 :

Courbe d'étalonnage pour de faible concentration de CV.



Courbe d'étalonnage pour de forte concentration de CV.



RESUME

Ce présent travail a pour principal objectif la réutilisation du lactosérum, un rejet de l'industrie laitière et son intégration dans un procédé de production de *Chlorella vulgaris*, une micro algue connue pour sa flexibilité et son adaptation à plusieurs milieux. Durant un stage pratique à Numidia, on a suivi de près les différents procédés générant du lactosérum, ou on a pu le quantifier et le caractériser pour déterminer sa charge polluante et son impact environnemental, ainsi que démontrer sa richesse nutritionnelle en tant que substrat de culture, sa composition très variable nous a incité à passer par une étape d'atomisation afin de contrôler sa concentration. Après obtention de la poudre, on a incubé 36 réacteurs en variant plusieurs paramètres de culture, le rendement optimal fut obtenu dans les conditions suivantes : éclairage LED contrôlé 18h/6h d'obscurité, $T=30^{\circ}\text{C}$, $S/X=0,4$ et en maintenant une agitation continue. Enfin, après la récolte de la biomasse algale, on l'a caractérisé pour identifier les différents composants à valeur ajoutée qu'une micro algue peut regrouper et montrer son champ de valorisation (protéase, lipide, pigment et expolyssacharide).

Mots clés : *Chlorella vulgaris*, lactosérum, algue, culture, atomisation, valorisation.

ABSTRACT

Our research aims to study the reuse of lactoserum, a dairy production waste, and its integration in a production process of *Chlorella vulgaris*, a micro algae known for its flexibility and its adaptation to several culture media. During an internship at Numidia, we followed closely the different processes that generate lactoserum, quantified and characterized it in order to determine its pollutant load and environmental impact, as well as, demonstrate its nutritional richness as a culture substrate. Its highly variable composition prompted us to go through an atomization stage in order to control its concentration. After obtaining the powder, we incubated 36 reactors by varying several culture parameters. The optimal yield is obtained under the following conditions: controlled LED lighting 18h/6h of darkness, $T=30^{\circ}\text{C}$, $S/X=0,4$ and maintaining continuous agitation. At last, after harvesting the algal biomass, we characterized it in order to identify the different value-added components that a micro-alga can contain and to demonstrate its spectrum of valuation (protease, lipid, pigment and expolyssacharide).

Key words : *Chlorella vulgaris*, lactoserum, algae, culture, atomization, valorisation.

Sommaire

Remercîment

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction.....1

Chapitre 1 : Revue bibliographique3

1.1	Le lactosérum	3
1.1.1	Introduction	3
1.1.2	L'industrie fromagère.....	3
1.1.3	Evolution de la transformation laitière en Algérie	3
1.1.4	Lactosérum	4
1.1.4.1	Définition	4
1.1.4.2	Compositions et variétés	5
1.1.5	Le pouvoir polluant du lactosérum.....	6
1.1.6	Production mondiale de lactosérum	6
1.1.7	Domaines d'utilisation du lactosérum.....	7
1.1.7.1	Usage agricole	7
a.	Nutrition animale.....	7
1.1.7.2	Usage alimentaire	8
a.	Lactose	8
b.	Protéines	8
1.1.7.3	Usage pharmaceutique	8
1.1.7.4	Usage biotechnologique	9
1.1.8	Procédés physiques de valorisation du lactosérum	9
1.1.8.1	Récupération des fines et séparation de gras.....	9
a.	Clarification ou filtration de fines	9
b.	Écrémage.....	9
1.1.8.2	La concentration de solides totaux	10
a.	L'osmose inverse.....	10
b.	L'évaporation	10
c.	Le séchage	10
1.1.9	Procédés biotechnologiques de valorisation du lactosérum.....	11
1.1.9.1	Production de biogaz.....	11
1.1.9.2	Production de bio hydrogène.....	12
1.1.9.3	Production de biomasse.....	12
1.1.9.4	Production d'acide lactique	12
1.1.9.5	Production d'alcool	12
1.2	Les micros algues	13
1.2.1	Introduction	13
1.2.2	Les micros algues	13
1.2.2.1	Définition	13
1.2.2.2	Composition	14
1.2.3	Principe de fonctionnement :.....	15
1.2.3.1	La photosynthèse.....	15

1.2.4	Types des micros algues	17
1.2.4.1	Diatomées	17
1.2.4.2	Algues vertes	18
1.2.4.3	Algues bleues	18
1.2.4.4	Algues dorées	18
1.2.5	Culture des micros algues	19
1.2.5.1	Les systèmes de cultures	19
a.	Systèmes ouverts	19
b.	Systèmes fermés	20
□	Les PBRs tubulaires	20
□	Les PBRs colonnes	21
□	Les airlifts	21
□	Les photobioréacteurs plans	22
□	Les Photobioréacteur « Plastic-bag » ou gaine	22
□	Les fermenteurs	23
1.2.6	Les phases de croissance des microalgues	23
1.2.7	Modes de nutrition	24
1.2.7.1	Autotrophie	24
1.2.7.2	Hétérotrophie	24
1.2.7.3	Mixotrophie	24
1.2.8	Les conditions influençant la culture	25
1.2.8.1	Source de lumière	25
1.2.8.2	La température	26
1.2.8.3	Le pH	26
1.2.8.4	Les nutriments	26
1.2.8.5	Le dioxygène dissous	27
1.2.9	Utilisation des microalgues	27
1.2.9.1	Traitement des eaux usées	27
1.2.9.2	Bioénergie	29
1.2.9.3	Alimentation humaine	29
1.2.9.4	Cosmétique	29
1.2.9.5	L'industrie pharmaceutique	29
1.2.10	Chlorella vulgaris	30

Chapitre 2 : Récupération et traitement du lactosérum 32

2.1	Introduction	32
2.2	Présentation de la laiterie Numidia	32
2.3	Produits de la laiterie	33
2.4	Procédés produisant du lactosérum et babeurre	33
2.4.1	Pâte molle -camembert	33
2.4.2	Pâte pressée-gouda et edam	34
2.4.3	Petit suisse	35
2.4.4	Beurre (babeurre)	36
2.5	Analyses physico chimique du lactosérum	37
2.5.1	Au niveau de l'industrie	37
2.5.1.1	Mesure du pH	37
2.5.1.2	L'acidité	37
2.5.1.3	L'extrait sec	38
2.5.1.4	La matière grasse	38
2.5.2	Au niveau du laboratoire	38

2.5.2.1	Demande chimique en oxygène.....	38
2.5.2.2	Conductivité et salinité	39
2.5.3	Caractérisation des échantillons	40
2.6	Impact du rejet sur l'environnement.....	40
2.7	Atomisation	41
2.7.1	Rendement d'atomisation.....	44
2.7.2	Analyse de l'échantillon atomisé	44
2.7.2.1	Au niveau du CRBT	44
2.7.2.2	Au niveau du labo LIPE	46
a.	Mesure de la DCO.....	46
b.	Mesure de la DBO.....	46
Chapitre 3 :Incubation et suivi des PBRs		48
3.1	Introduction	49
3.2	Incubation et suivi des réacteurs	49
□	Expérimentation réalisées et discussions des résultats.....	52
3.3	Premier essai (R1)	52
3.3.1	Discussion des résultats.....	57
3.4	Deuxième et Troisième essais (R2, R3).....	58
3.4.1	Discussion des résultats.....	63
3.5	Quatrième Essai (R4)	64
3.5.1	Discussion des résultats.....	69
3.6	Cinquième et sixième essai R5, R6.....	70
3.6.1	Discussion des résultats.....	85
3.7	Septièmes essais (R7).....	87
3.7.1	Discussion des résultats.....	92
3.8	Huitième essais R8	93
3.8.1	Discussion des résultats.....	98
3.9	Neuvième essai R9	98
3.9.1	Discussion des résultats.....	102
3.10	La récolte des microalgues	103
3.10.1	La filtration.....	103
3.10.2	La centrifugation	103
3.10.3	Discussion des résultats.....	105
3.11	Conclusion.....	105
Chapitre 4 Caractérisation et valorisation de la biomasse algale.....		106
4.1	Introduction	106
4.2	Mise évidence des protéases.....	106
4.2.1	Discussions des résultats	109
4.3	Extraction des lipides.....	110
4.3.1	Discussion des résultats.....	111
4.4	Présence des expolysacharide.....	112
4.4.1	Discussion des résultats.....	113
4.5	Détermination de la teneur en pigments liposoluble	114
4.5.1	Discussions des résultats.....	117
Conclusion.....		118

RESUME

Ce présent travail a pour principal objectif la réutilisation du lactosérum, un rejet de l'industrie laitière et son intégration dans un procédé de production de *Chlorella vulgaris*, une micro algue connue pour sa flexibilité et son adaptation à plusieurs milieux. Durant un stage pratique à Numidia, on a suivi de près les différents procédés générant du lactosérum, ou on a pu le quantifier et le caractériser pour déterminer sa charge polluante et son impact environnemental, ainsi que démontrer sa richesse nutritionnelle en tant que substrat de culture, sa composition très variable nous a incité à passer par une étape d'atomisation afin de contrôler sa concentration. Après obtention de la poudre, on a incubé 36 réacteurs en variant plusieurs paramètres de culture, le rendement optimal fut obtenu dans les conditions suivantes : éclairage LED contrôlé 18h/6h d'obscurité, $T=30^{\circ}\text{C}$, $S/X=0,4$ et en maintenant une agitation continue. Enfin, après la récolte de la biomasse algale, on l'a caractérisé pour identifier les différents composants à valeur ajoutée qu'une micro algue peut regrouper et montrer son champ de valorisation (protéase, lipide, pigment et expolyssacharide).

Mots clés : *Chlorella vulgaris*, lactosérum, algue, culture, atomisation, valorisation.

ABSTRACT

Our research aims to study the reuse of lactoserum, a dairy production waste, and its integration in a production process of *Chlorella vulgaris*, a micro algae known for its flexibility and its adaptation to several culture media. During an internship at Numidia, we followed closely the different processes that generate lactoserum, quantified and characterized it in order to determine its pollutant load and environmental impact, as well as, demonstrate its nutritional richness as a culture substrate. Its highly variable composition prompted us to go through an atomization stage in order to control its concentration. After obtaining the powder, we incubated 36 reactors by varying several culture parameters. The optimal yield is obtained under the following conditions: controlled LED lighting 18h/6h of darkness, $T=30^{\circ}\text{C}$, $S/X=0,4$ and maintaining continuous agitation. At last, after harvesting the algal biomass, we characterized it in order to identify the different value-added components that a micro-alga can contain and to demonstrate its spectrum of valuation (protease, lipid, pigment and expolyssacharide).

Key words : *Chlorella vulgaris*, lactoserum, algae, culture, atomization, valorisation.