



Le 2^{ème} Séminaire International sur les Energies Nouvelles et
Renouvelables

The 2nd International Seminar on New and Renewable
Energies

Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables,

Ghardaïa - Algérie 15, 16 et 17 Octobre 2012



Caractérisation des Acides Gras de la *Chlorelle* en Vue d'une Application Bioénergétique

Afaf KORD ^{#1}, Zahra DEBBARI ^{#2}, Merieme GHOBRINI ^{#3}, Samira CHADER ^{*1}

[#] Centre National de Recherche et de Développement de la Pêche et de l'Aquaculture (CNRDPA)

11 Rue Colonel Amirouche. Bousmail. Algérie

¹kordafaf@yahoo.fr

^{2,3}debbari-ghobrini@yahoo.fr

^{*} Centre de Développement des Energies Renouvelables (CDER)

BP 62 Route de l'observatoire Bouzaréah. Algérie.

¹chader.samira@yahoo.fr

Résumé— Le présent travail a pour but de caractériser les acides gras de la chlorelle, isolée à partir du lac El-Goléa de Méniâa, après avoir effectué un isolement et une purification des souches par repiquage répété sur boîte de pétri sur milieu solide BG11 suivi de leur culture sur milieu BBM. La croissance d'une culture de microalgue a été contrôlée par de nombreux paramètres physico-chimiques qui sont : la lumière (intensité et photobio-période), le pH, les nutriments, les concentrations en nitrate et en glucose. Les lipides extraits à partir de la biomasse obtenue ont été convertis en esters méthylique d'acide gras, sous l'effet du méthanol, utilisables en biodiesel. La caractérisation des acides gras a été effectuée par CGMS et CPG-FID.

Mots clés— microalgues, chlorelle, culture, acides gras, biodiesel

I. INTRODUCTION :

La Chlorelle est une microalgue verte d'eau douce qui suscite une attention particulière à travers le monde du fait de son exploitation dans le domaine de l'énergie renouvelable. C'est une source d'éléments essentiels dont les lipides constituent la majeure partie, sont principalement sous forme de triglycérides. Ces derniers peuvent être utilisés pour produire du biodiesel via une réaction appelée transestérification. Cette

étude a pour but principal, l'évaluation du potentiel de production biologique chez une microalgue verte *chlorella sp.*, ou *chlorelle*, prélevée du lac d'El Goléa d'acide gras susceptibles d'être utilisés pour la production du biodiesel.

II. MATERIALS ET METHODES :

A. Isolement et purification des souches de Chlorelle:

Le prélèvement du phytoplancton a été réalisé au niveau du lac El-Goléa situé à EL-Menia en octobre 2011. Il a été adopté la méthode d'isolement sur milieu solide BG11 [1,2]. La composition chimique du milieu est représentée dans le tableau I.

La purification des souches de la *chlorella* est basée sur le principe des repiquages répétés sur boîtes [3]. Les colonies correspondantes aux chlorelles ont été prélevées et étalées sur de nouvelles boîtes de pétri. Cette opération sera répétée plusieurs fois pour s'assurer de l'isolement d'une colonie correspondant à une souche de *chlorella*.



Le 2^{ème} Séminaire International sur les Energies Nouvelles et
Renouvelables

The 2nd International Seminar on New and Renewable
Energies

Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables,

Ghardaïa - Algérie 15, 16 et 17 Octobre 2012



TABLEAU I

COMPOSITION CHIMIQUE DU MILIEU BG11 (pH=7.4)

Elément	Concentration (g/l)
NaNO ₃	1.5
KH ₂ PO ₄ .3H ₂ O	0.04
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.075
CaCl ₂ .2H ₂ O	0.036
acide citrique	0.006
citrate ferrico-ammoniaque	0.006
EDTA	0.001
Na ₂ CO ₃	0.02

1ml d'une solution A5 a été introduit dans le milieu.

Solution A5 (g/l):

H₃BO₃ (2.86), MnCl₂.4H₂O (1.81), ZnSO₄.7H₂O (0.222),
CuSO₄.5H₂O (0.079), (NH₄)₆Mo₇O₂₄.4 H₂O (0.39),
Cl₂Co.6H₂O (0.049).

B. Culture des Chlorelles:

Deux cultures en batch de *Chlorella sp.* ont été réalisées dans le milieu Bold Basal (BB) [4]-[5], composition tableau II, initialement supplémenté de 10 g.l⁻¹ de glucose, avec éclairage continu. La deuxième culture été moins concentré en nitrate de sodium, afin d'engendrer un stress qui pourrait favoriser l'accumulation d'acide gras.

C. Extraction des lipides:

La biomasse obtenue a été séchée par lyophilisation. L'extraction des lipides a suivi celle décrite par Zhu et al. [9]

qui est la méthode de Bligh et Dyer [7]. Pour environ un gramme de culot cellulaire, un mélange de méthanol/chloroforme (2/1 ; v/v) a été introduit.

TABLEAU II

COMPOSITION CHIMIQUE DU MILIEU BB (pH=6.6)

Elément	Concentration (g/l)
NaNO ₃	25
KH ₂ PO ₄ .3H ₂ O	17.5
K ₂ HPO ₄	7.5
MgSO ₄ .7H ₂ O	7.5
CaCl ₂ .2H ₂ O	2.5
NaCl	2.5
EDTA	50
KOH	31
FeSO ₄ .7H ₂ O	4.98
H ₂ SO ₄ (1ml)	
H ₃ BO ₃	11.42
ZnSO ₄ .7H ₂ O	8.82
MnCl ₂ .4H ₂ O	1.44
MoO ₃	0.71
CuSO ₄ .5H ₂ O	1.57
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0.49

D. Trans-estérification :

Pour hydrolyser les liaisons esters, libérer les acides gras et former des esters méthylés des acides gras, un mélange du



Le 2^{ème} Séminaire International sur les Energies Nouvelles et Renouvelables

The 2nd International Seminar on New and Renewable Energies

Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables,

Ghardaïa - Algérie 15, 16 et 17 Octobre 2012



méthanol acidifié par environ 1% d'acide sulfurique a été utilisé. Les esters méthyliques d'acides gras sont extraits par l'hexane puis concentré sous pression réduite à 60°C à l'aide d'un évaporateur rotatif.

L'identification des acides gras est réalisée par chromatographie CPG-FID et GC-MS.

III. RESULTATS :



Fig 1. Purification des souches de *Chlorella* sur milieu BG11.

Le suivi des deux cultures pendant 20 jours a permis de déterminer le taux de croissance maximum de *Chlorella sp.*

Le milieu de culture Bold Basal carencé en azote a produit un taux d'acides gras supérieur à celui du milieu Bold Basal.

L'analyse par CPG-FID a montré que la majorité des acides gras produits dans les deux cultures sont le C16:2, C18:0, C18:1, C18:2, C18:3.

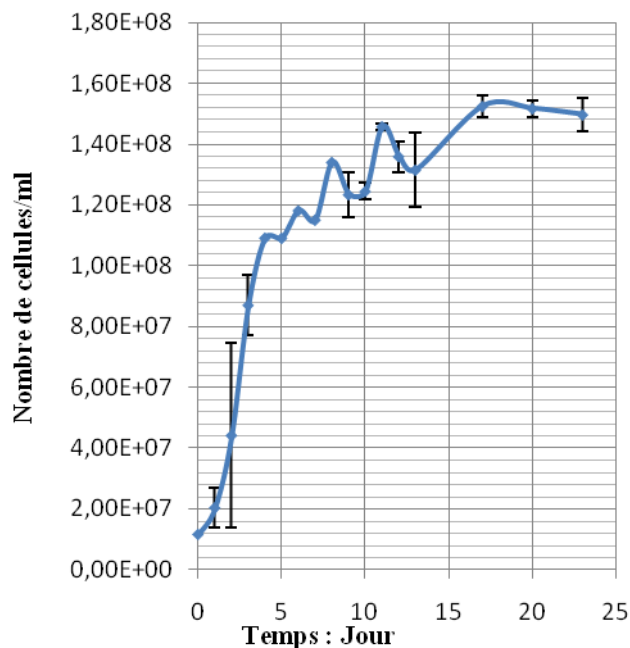


Fig 2. Cinétique de croissance de *Chlorella sp* en milieu BBM

IV. CONCLUSION

La méthode adoptée pour l'isolement et la purification de la *chlorella* a permis d'obtenir des souches purifiées de chlorelles valorisables pour la production de biodiesel.

L'étude d'impact des paramètres physico-chimiques et biologiques a permis d'optimiser les conditions de culture de la chlorelle pour une production sélective des lipides.

La quantité d'acide gras méthyliques obtenues en condition de carence en azote n'est pas significative par rapport aux conditions où le nitrate était en quantité plus importante.

REFERENCES

- [1] H. Frank, Hoff and Terry. W. Snell, Plankton Culture Manuel, Fifth ed., 2001.
- [2] R. Rippka, "Isolation and purification of cyanobacteria. In: Methods in Enzymology". Eds. A.N. Glazer and L. Packer. Academic press, San Diego, 167: 1-7, California, 1988.



**Le 2^{ème} Séminaire International sur les Energies Nouvelles et
Renouvelables**

**The 2nd International Seminar on New and Renewable
Energies**

Unité de Recherche Appliquée en Energies Renouvelables,

Ghardaïa – Algérie 15, 16 et 17 Octobre 2012



- [3] R. Rippka, J. Deruelles, J.B. Waterbury, M. Herdman and R.Y. Stainer, "Generic assignments, strain histories", 1979
- [4] H.C. Bold, "The morphology of *Chlamydomonas chlamydogama* sp". nov. Bull. Torrey Bot. Club. 76: 101-8. 1949
- [5] H.W. Bischoff, and H.C. Bold, "Phycological Studies IV. Some soil algae from Enchanted Rock and related algal species". Univ. Texas Publ. 6318: 1-95. 1963
- [6] J. Quessada, J.M. Pionetti, "methodes de preparation et d'analyse en chromatographie en phase gazeuse d'esters méthyliques d'acides gras issus de matériel biologique", Oceanis, , 12 (4), 277-284. 1986
- [7] E.G. Bligh, W.J. Dyer, "A rapid method of total lipid extraction and purification", Can.J. Biochem. Physio, , 37 (8), 911-917,1959.
- [8] J. Folch, M. Less, G.H. Sloane Stanley, "A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues", J. Biol. Chem., , 226 (1), 497-509, 1957.
- [9] M. Zhu, P.P. Zhou., L.J.Yu., "Extraction of lipids from *Mortierella alpine* and Enrichment of Arachidonic acid from the Fungal Lipids. In Widjadja A. Chien Chao-Chang., Ju Yi-Hsu., 2009. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*". Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers 40 13-20, 2002.