REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIREMINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Biologie

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par:

BOUFATEH Asmaa

AOUAR Soumia

Thème

Optimisation de croissance d'une biomasse algale(Arthrospira platensis) par voie mixotrophie et utilisation de carbone organique.

Soutenue publiquement le : 20/06/2018. Devant le jury composé de :

Président :	**ATSAMNIA Djamel**	**M.C.B**	**Université de Médéa**
Examinateur 1 :	**BOUBAKRI Kamal**	**M.A.A**	**Université de Médéa**
Examinateur 2 :	**KAIRAOUNI Mohamed**	**M.A.A**	**Université de Médéa**
Encadreur :	**AINASS Mahfoud**	**M.C.B**	**Université de Médéa**

Année universitaire : 2017/2018.

REMERCIEMENTS

«Il est bon qu'une personne aime son travail et le plus beau qu'elle le respecte»

Avant tout

-Nous remercions Allah, le grand Dieu, le tout puissant, de nous avoir données la force et la patience pour achever ce travail et nos parents pour tous ce qu'ils ont fait pour nous.

-Je tiens à exprimer ma gratitude à Monsieur Ainas Mahfoud, pour avoir accepté de diriger ce mémoire tout on ayant l'obligeance de consacrer de son temps précieux pour donner des conseils très utiles qui mon permis d'enrichir et de mener à bien ce travail.

- mes vifs remerciements s'adressent également à tous les membres du jury qui ont bien voulu juger ce travail

-Nous témoignons de notre gratitude à l'ensemble des Enseignants d'université Dr. YAHIA-FARAS de Médéa, et particulièrement les enseignantes du département de science de la nature et de vie

-Toute personne ayant aidé de près ou de loin ou contribué à l'élaboration de ce mémoire



DEDICACE

Je dédie ce mémoire

A tous ceux grâce à qui je suis femme que je suis……

A mon très cher père et à ma très chère mère qui ont tant souffert pour moi. Que dieu le garde et le Protège.

A mes frères et sœurs Sofiane, Chaima, Ramdan,zahra et Hassan

A mes grands-mères, oncles, tantes, cousins et cousines

Aux les petits-enfants de la famille : Abrar, Aadm, Yones,Abd elghani ,Rahaf ,Nouha et Monsif

A mon intime Fella

A la famille BOUFATEH et la famille DJELLALI

A mes professeurs de la mosquée Wahiba et Ahlam

A tous mes chères amies: Imen ,khawla ,Aicha, Amani,Samia ,Faiza,Nora ,Ibtissem ,Nasrin,Karima et Mariem

A mon binôme AOUAR Soumia

A tous mes collègues de section microbiologie (promotion 2018)

BOUFATEH Asmaa

DEDICACE

Avec une énorme plaisir, un cœur ouvert et une immense joie que je dédie mon travail à mes chers et magnifiques parents qui m'ont soutenus tout au long de ma vie en particulier et à toute la famille ,mes frères : Ahmed et Abd aldjalil, ainsi mon adorable sœur Chahrazed.

A:

Mon ami intime : Meriem.

La famille : BOUDINE.

Mon oncle : Amara.

Mr Ainas . M.

Ainsi à toutes personnes qui m'ont encouragé ou aidé au long mes études.

AOUAR Soumia.

Résumé :

Le présent travail dans ce mémoire concerne le développement des conditions de croissance d'une cyanobactérie non fixatrice d'azote , appelée *Arthrospira platensis* par optimisation des paramètres de croissance , la souche Spiruline a été cultivée dans le milieu Zarrouk, au premier lieu , On a utilisé trois sources de carbone et d'énergie: le glucose, l'amidon et la mélasse pour déterminer la meilleure source de carbone. A travers les résultats , on a constaté que le glucose à la concentration de 2.5 g/l est le mieux adapté pour la croissance de spiruline qui donne une production de biomasse plus optimale, également on a trouvé une productivité très proche de celle du glucose qui est spécifique de la mélasse, dès ce résultat on a orienté le reste du travail avec la mélasse comme source de carbone en mixotrophie (le glucose est un composé très coûteux), donc nous avons déterminé la productivité de biomasse, son rendement et évalué les paramètres de croissance de spiruline tel que le taux de croissance, les teneurs en chlorophylle en utilisant des différentes concentrations du substrat carbonique (la mélasse) sous différentes intensités lumineuses. A travers les résultats, on peut constater que l'intensité lumineuse optimale de production est de l'ordre de 2500 lux, et le meilleur taux de production de biomasse est obtenu pour une concentration de 0.6g/l de la culture Pour ces deux conditions la productivité est 0.071g/l/j et la teneur en chlorophylle est égale à 7.797 mg/g**.**

Mots clés : *Arthrospira platensis*, Mélasse, Mixotrophie, Intensité lumineuse, Productivité.

Abstract:

the presented work in this thesis deals with the development of growth conditions of non-nitrogen-fixing cyanobacteria; which fixes the CO2 called *Arthrospira platensis* by, optimization of the parameters of growth of the latter, the *Arthrospira* strain was cultivated in Zarrouk medium, in the first place. Three sources of carbon and energy were used: glucose, starch and molasses to determine the best source of carbon. It has been found in the results obtained that glucose at a concentration of 2.5 g / l is the best suited for the growth of *Arthrospira* which gives a more optimal biomass production, also a productivity very close to that of glucose which is molasses, which makes us realize the rest of the parameters with molasses as a carbon source, so we have determined the biomass productivity, yield and evaluate *Arthrospira* growth parameters such as growth rate, chlorophyll contents using different concentrations of the carbonic substrate (molasses) under different light intensities. Through the results, it can be seen that the optimal light intensity of production is of the order of 2500 lux and the best rate of biomass production is obtained for a concentration of 0.6 g / l of cultur. For both conditions productivity is 0.071g/l/j and the chlorophyll content equal to 7.797mg/g.

Key words: *Arthrospira platensis*, Molasses , Mixotrophie , Light intensity , Productivity

ملخص:

العمل المقدم في هذه المذكرة يتناول تطوير ظروف نمو البكتيريا الزرقاء غير المثبتة للنيتروجين ألا و هي أرتروسبيرا بلاتونسيس من خلال تحسين النمو لهذه الأخيرة ، وقد زرعت سلالة سبيرولينا في وسط زروق ، في المقام الأول. تم استخدام ثلاثة مصادر للكربون والطاقة: الغلوكوز ,النشاء والعسل الأسود لتحديد أفضل مصدر للكربون. وقد وجد في النتائج التي تم الحصول عليها أن الجلوكوز بتركيز 2.5 غم / لتر هو الأنسب لنمو السبيرولينا الذي يعطي إنتاج الكتلة الحيوية الأمثل ، وكذلك وجدنا إنتاجية قريبة جدا من الغلوكوز خاصة بالعسل الأسود ، مما جعلنا نواصل بقية العمل مع العسل الأسود كمصدر للكربون في الميكسوتروفي (كون الغلوكوز مركبا باهض الثمن)، لذلك حددنا إنتاجية الكتلة الحيوية ، العائد وتقييم عوامل نمو السبيرولينا مثل معدل النمو ، محتويات الكلوروفيل باستخدام تركيزات مختلفة من الركيزة الكربونية (العسل الأسود) تحت شدة ضوء مختلفة. من خلال النتائج ، يمكن ملاحظة أن كثافة الإضاءة المثلى للإنتاج هي من أجل 2500 لوكس ويتم الحصول على أفضل معدل لإنتاج الكتلة الحيوية لتركيز 0.6غم / لترمن وسط زروق. لهذه الشروط تكون القيمة المثالية للإنتاجية هي 0.071غ/ل/يوم ومحتوى الكلوروفيل يساوي 7.797 مغ/غ

الكلمات المفتاحية : أرتروسبيرا بلاتونسيس , العسل الاسود, الميكسوتروفي , شدة الضوء , الانتاجية .

Liste des abréviations

ADP : adénosine di-phosphate

ATP : adénosine triphosphate

AOCS: Americain Oïl Chemist's Society

PRB : photobioréacteur

PSI : photosystèmes I

PSII : photosystèmes II

DO : densité optique

Ps : poids sec

Pv : productivité volumique

G : temps de génération

R : rendement

μ_{max}:vitesse de croissance

µm : micro mètre

SLP : phosphorylation au niveau du substrat

Nomenclature

$CaCl_2$: chlorure de calcium

Co $(NO_3)_2$, $_{(6\ H2O)}$: nitrate de cobalt

$CuSO_4$, $_{(5\ H2O)}$:sulfate de cuivre

DMSO :Diméthylsulfoxyde

EDTA : acide éthylène diamino-tétra-acétique

$FeSO_4$, $_{(7H2O)}$: sulfate ferreux monohydrate

H_3BO_3: acideborique

HMF :hydroxy-méthylfurfural

H_2S : sulfure d'hydrogène

K_2Cr_2 $(SO4)_4$, $_{(24H2O)}$: chromium potassium sulfate

K_2HPO_4 : phosphate d'hydrogène de potassium

K_2SO_4:sulfate de potassium

$MgSO_4$, $_{(7H2O)}$: Heptahyrate de sulfate

MnCl2, $_{(4H2O)}$: chlorure de magnésium

MOO_3 : trioxyde de molybdène

Na_2WO_4, $_{(2H2O)}$: tungstate de sodium

NaCl : chlorure de sodium

NADPH : Nicotinamide adénosine diphosphate

NADPH;H+ : Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate

NADP+ :nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate

Na_2CO_3 : carbonate de sodium

$NaHCO_3$: bicarbonate de sodium

$NaNO_3$: nitrate de potassium

NH_4VO_3: vanadate d'ammonium

NiSO4, $_{(7H2O)}$: sulfate de nickel

Ti2$(SO_4)_3$:sulfate de thallium

TMAO :Triméthylamine N-oxyde

$ZnSO_4$, $_{(7H2O)}$: sulfate de zinc

Sommaire

Introduction .....…….**.....** 1

PREMIERE PARTIE : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I: Généralité

I-1-Cyanobactéries…….. 3

I-1-1-Historique…… 3

I-1-2-Définition…….… 3

I-2-Spiruline……..... 4

I-2-1-Définition……... 5

I-2-2-Distribution géographique…….**.....** 5

I-2-3-Composition chimique…….. **7**

I-2-4-Taxonomie…….. 8

I-2-5-Cycle biologique…… 9

I-2-6-Morphologie…….. 10

I .2.7. Les caractérisations physiologie**.....** 11

I .2.7.1. Température…… 11

I .2.7.2. Lumière…….**.....** 11

I.2.7.3.PH…….. 12

I.2.7.4.Salinité……. 12

I.2.8. Bienfaits de la spiruline…….. 12

I.2.8.1. Pour l'être humain …….. 12

I.2.8.1.1.Bienfaits thérapeutiques…… 12

I.2.8.1.2. Bienfaits cosmétiques……... 13

I.2.8.2.Pour les animaux…….. 13

Chapitre II: Mixotrophie

II.1.Photosynthèse…….. 15

II.1.1.Organismes photosynthétiques……..... 16

II.1.2.Pigments photosynthétiques…… 16

II.1.2.1.La chlorophylle……. 16

II.1.2.2.Les caroténoïdes…… 17

II.1.2.3.Les phycobilines…… 17

II.1.3.Eléments de la photosynthèse…….. 18

II.1.4.La chaine photosynthétique……..... 19

II.2.Généralités sur les photobioréacteurs……. 20

II.2.1.Qu'est-ce que c'est un photobioréacteur…… 21

II.2.2.Caractéristiques des principaux types de photobioréacteurs…….. 21

II.2.3.Géométrie des systèmes de culture……..... 22

II.2.3.1 .Les photobioréacteurs plats……. 22

II.2.3.2.Les photobioréacteurs cylindriques…….. 23

II.2.3.3Les photobioréacteurs tubulaires…… 23

II.2.4.Avantages et inconvénients…….. 24

II.2.4.1.Avantages……... 24

II.2.4.2.Inconvénients……. 25

II.3.Les modes trophiques…….. 25

II.3.1.La mixotrophie…… 27

II.3.1.1.Mécanismes d'assimilation en mixotrophie……...……... 28

II.3.1.2.Effets de la mixotrophie sur la fixation de CO2 …….. 29

II.3.1.3.Facteurs influençant la mixotrophie…….. 29

II.4.Métabolisme et mécanisme respiratoire et fermentaire…….. 30

II.4.1.Métabolisme…….. 30

II.4.2.La membrane cytoplasmique…… 31

II.4.3.La fermentation…… 31

DEUXIEME PARTIE: ETUDE EXPIRIMENTALE

Chapitre III: Matériels et méthodes

III .1.Matériels…… 32

III.1.1.MatérielsBiologiques…….... 32

III.1.2.Matériels non biologiques…… 32

III.1.2.1.Milieu de culture…….... 32

III.1.2.2.Appareillage…….... 32

III.1.2.3.Verreries et petits…….. 33

III.2.Les méthodes…….. 33

III.2.1.Conditions de culture…….... 33

III.2.1.1. Agitation…….... 33

III .2.1.2. Eclairement……. 34

III.2.3.Examen à l'état frais……..... 35

III.2.4. Mesure la concentration de cultures…… 35

III 2.4.1. La courbe d'étalonnage……..... 36

III.2.5. Cinétique de croissance de spiruline…….. 37

III.2.6.Mesure des paramètres cinétique de croissance ……..... 37

III.2.6.1. La vitesse de croissance…… 37

III.2.6.2.La productivité volumique…… 37

III.2.6.3.Rendement…….... 38

III.2.7.Effet de source de carbone sur la croissance de spiruline ……..... 39

III.2.7.1.Effet de la concentration des glucides……..... 39

- Effet du glucose
- Effet de la mélasse
- Effet de l'amidon

III.2.8.Etude de la composition chimique de filtrat de culture..... 41

III.2.8.1.Dosage des bicarbonates……..... 41

III .2.8.2. Dosage des sucres totaux……... 41

III.2.8.3.Détermination du taux de cendres…… 42

III.2.9.Effet de la lumière et de X_0..... 43

III.2.10. Détermination de chlorophylle…… 44

Chapitre IV: Résultat et discussion

IV.1.Observation microscopique…… 47

IV.2.Etude de la croissance de la spiruline…… 47

IV .3. Cinétique de croissance de spiruline…… 48

IV.4.Effet de concentration de différente source de carbone sur la croissance de spiruline…… 49

IV.4.1. Effet du glucose…….. 49

IV.4.2 .Effet de la mélasse…….. 49

IV.4.3.Effet de l'amidon. …….... 50

IV.4.4. Comparaison de la cinétique de croissance sur les trois sources de carbone…… 51

IV.5.Effet de la nature de source de carbone sur la productivité et µmax……. 52

IV.5.1.Comparaison entre la productivité pour les trois sources de carbone…….. 53

IV.6.Etude de la composition chimique de filtrat de culture……... 54

IV.6.1.Dosage des bicarbonates résiduel……. 54

IV.6.2 Dosage des sucres totaux……..….. 55

IV.7 .Effet de substrat sur le rendement……... 56

IV.8.effet de la concentration ce l'inoculum X0 et intensité lumineuse I sur la croissance de spiruline…… 57

IV.8.1.Effet de lumière sur la croissance des cultures de faible densité (0.15g/l et 0.3g/l)…… 57

IV.8.2.Effet de lumière sur la croissance des cultures denses (0.6g/l et 1g/l)…….. 58

IV.9.L'effet de lumière et la concentration sur la productivité……..... 59

IV.10.Détermination de chlorophylle…….. 60

Comparaison de production de la spiruline à différentes conditions trophiques (mixotrophie et hétérotrophie)…… 61

Conclusion ……. 63

Références Bibliographiques

Annexes

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cycle biologique de la Spiruline selon (Balloni et al. 1980 in Charpy, (2008)……. 9

Figure 2: Morphologies typiques de la Spiruline (Jarisoa, 2005)…… 11

Figure 3: deux phases de photosynthèse…….. 12

Figure 4: Formules des chlorophylles a et b. Les chlorophylles a et b diffèrent par les substituants des groupements pyrroles. I, II, III, IV : groupements pyrroles. V : cycle supplémentaire…… 13

Figure 5: Formule d'un caroténoïde. Le β carotène est un exemple de carotène. A droite est représentée une unité isoprène…… 13

Figure 6: Formule de deux phycobilines : phycocyanobiline et phycoérythrobiline…….. 14

Figure 7: Spectres d'absorption des pigments de la photosynthèse (d'après http://www.whfreeman.com/life/update/, modifié)……..... 15

Figure 8: les deux types réactions de photosynthèse……. 16

Figure 9: Schéma des processus photosynthétiques dans une cyanobactérie

(http://www.genome.jp/dbget-bin/show_pathway?map00195)..... 17

Figure 10: Géométrie du photobioréacteur plat…… 20

Figure 11: Exemples de PBR cylindrique……..... 20

Figure 12: photobioréacteurs tubulaires…….. 21

Figure 13: agitation des flacons…… 33

Figure 14: la cuve (largeur 1cm)……... 34

Figure 15: culture de spiruline sur milieu Zarrouk à différentes concentration de glucose…… 38

Figure 16: culture de spiruline sur milieu Zarrouk + différentes concentration de mélasse……... 39

Figure 17: culture de spiruline sur milieu Zarrouk à différentes concentration de l'amidon…….. 39

Figure 18: culture de spiruline sur milieu Zarrouk + 0.75g/l de mélasse…… 42

Figure 19: l'extraction et purification de chlorophylle…… 44

Figure 20: observation microscopique de la spiruline…… 46

Figure 21: Courbe étalonnage mettant en relief la relation entre la densité optique et le poids sec de la souche……. 46

Figure 22: courbe de croissance de la souche spiruline…….... 47

Figure23: effet de concentrations du glucose sur la croissance avec 1000 lux…….... 48

Figure 24: effet de la concentration de la mélasse sur la croissance à 1000 lux…….. 49

Figure 25: effet de concentrations de l'amidon sur la croissance à 1000 lux…….. 49

Figure 26: cinétique de croissance maximale de spiruline obtenue pour (Glucose [2.5g/l], amidon [0.75g/l], mélasse [0.75g/l])…… 50

Figure 27: effet de la concentration sur la productivité (pour le glucose)……. 51

Figure 28: effet de la concentration la mélasse sur la productivité……... 51

Figure 29: effet de la concentration d'amidon sur la productivité…….. 52

Figure 30: Comparaison entre la productivité et le taux de croissance obtenue pour les trois de carbone…….. 52

Figure 31: Dosage des bicarbonates dans le filtrat de la culture par virage de la couleur……..... 53

Figure 32: Courbe d'étalonnage de sucres, λ=492 nm…….. 54

Figure 33: Comparaison entre le rendement obtenue pour les différents substrats…….. 55

Figure 34: Effet de lumière sur la croissance de la spiruline avec concentration 0.15 g/l…… 56

Figure 35: Effet de lumière sur la croissance de la spiruline avec concentration 0.3 g/l……..... 56

Figure 36: Effet de lumière sur la croissance de la spiruline avec concentration 0.6 g/l……..... 57

Figure 37: Effet de lumière sur la croissance de la spiruline avec concentration 1 g/l……..... 57

Figure 38: effet de l'intensité lumineuse et de la concentration sur productivité…… 58

Figure 39: Effet de l'intensité sur la teneur en chlorophylle…… 59

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Sites géographiques où se trouve naturellement le genre Arthrospira (Scheldeman et al. 1999)……. 6
Tableau 2: Taxonomie récapitulative (Fox, 1999)……... 9
Tableau 3: Composition chimique du milieu Zarrouk……. 32
Tableau 4: Composition chimique de la solution A5……... 33
Tableau 5: Composition chimique de la solution B6……..... 33
Tableau 6: les différentes concentrations des trois sucres……... 39
Tableau 7: concentration initiale et finale des trois sources de carbone…….. 54
Tableau 8: comparaison de production de la spiruline à différentes conditions trophiques (mixotrophie et hétérotrophie)…….. 61

Introduction

La Spiruline est un des premiers organismes primitifs unicellulaires apparus sur Terre il y a 3,5 milliards d'années. Faisant partie de la famille des cyanobactéries, ces organismes sont à l'origine de la vie et de l'apparition de l'atmosphère oxygénée. Celle-ci a développé une aptitude à capter le dioxyde de carbone atmosphérique dissous dans les océans comme source de nutriments pour leur reproduction. Arthrospira est une cyanophycée photosynthétique de couleur bleu-verdâtre. les deux plus connues et les plus utilisées étant *Arthrospira* (platensis et maxima), qui se développe naturellement dans les zones fortement ensoleillé, dans des milieux saumâtres et à fort taux d'alcalinité (pH>9).(Charpy, L et al ., 2008).

En fonction des conditions physico-chimiques du milieu dans lequel est cultivée la spiruline, celle-ci sera intérieurement composée d'un vaste panel de molécules chimiques de grande importance nutritive. La spiruline possède la particularité d'être très riche en protéines (environ 55 à 70 % de son poids net) ce qui constitue une alternative intéressante aux produits issus de la production animale. De plus, la microalgue est très riche en fer, une cuillère à café de spiruline suffit à combler la quasi-totalité des apports journaliers recommandés. Une grande variété de pigments et de vitamines sont également présents dans ses cellules.. (Escarfail. L, 2017).

Les deux principales méthodes de production des micro-algues sont les systèmes ouverts de type bassins ou ORP (open raceway pond) ou les photobioréacteurs (PBR) fermés (en configuration tubulaire, cylindrique ou plate) . Le choix entre les procédés dépend des conditions d'opération et de l'utilisation finale de la biomasse, ce qui détermine l'économie du procédé. Les PBR fermés présentent une production plus élevée et une meilleure maîtrise des conditions d'opération. Ils sont donc conçus de façon à optimiser les conditions de culture et leur contrôle tout en maximisant la surface d'exposition à la lumière.

La croissance se termine le plus souvent par une phase limitante où les facteurs environnementaux influencent beaucoup le taux de croissance et la production de biomasse. Lorsque la concentration de biomasse atteint un seuil supérieur qui dépasse 1 g/L, la diffusion de la lumière est atténuée. Dans le cas des cultures de biomasse plus denses 1- 4 g/L, la distribution de la lumière présente une limite dans tous les types de photobioréacteur. (Vonshak, 1982).

Dans ce cas, quelle sont les concentrations du substrat et les intensités de lumière d'éclairage de PBR qui permettent d'avoir une meilleure production de biomasse en mixotrophie ?

Donc le but est de trouver les conditions physiologiques et physicochimiques du milieu permettant d'améliorer l'efficacité des systèmes et d'optimiser la production de biomasse.

Les objectifs spécifiques de ce travail est de participer à l'optimisation de condition de croissance par étude de l'effet de la nature et de concentration de carbone et également l'effet de la lumière sur la croissance d'un microorganisme photosynthétique procaryote particulièrement (spiruline). La première partie de ce mémoire sera consacrée sur la biologie des cyanobactéries et particulièrement la spiruline, position taxonomique, composition biochimique, intérêts nutritionnels et thérapeutiques. La deuxième partie s'attachera la photosynthèse, les différents types de photobioréacteurs et la mixotrophie. La troisième partie regroupe l'ensemble du matériel et méthodes utilisées dans ce travail. Il s'agit entre autre de la production et l'optimisation. . L'ensemble des résultats sera décrite dans la quatrième partie qui s'articule autour de l'effet de lumière et de concentration du substrat sur la croissance de spiruline, la productivité, taux de croissance et le temps de génération. Et en fin on a terminé par une conclusion.

Premère partie

Synthèse bibliographique

I.1.Cyanobactéries

I-1-1-Historique:

Apparues il y a environ 3,5 milliards d'années durant le précambrien, les cyanobactéries sont, avec les bactéries, les êtres vivants les plus anciens connus sur Terre. Il en existe au moins 2000 espèces réparties dans plus de 150 genres. Elles représentent une sous-classe bactérienne majeure tant par leur diversité morphologique et physiologique que par le rôle qu'elles ont joué en créant l'atmosphère aérobie nécessaire au développement de la vie. En effet, ces organismes procaryotes partagent avec les plantes la capacité d'effectuer la photosynthèse en utilisant la lumière et l'eau pour la réduction du gaz carbonique, processus qui s'accompagne d'un dégagement d'oxygène (Chorus et al. 2006). Encore de nos jours, les cyanobactéries jouent un rôle dans l'équilibre des proportions entre le gaz carbonique et l'oxygène. L'apogée des cyanobactéries a duré de 2,5 à 1,5 milliards d'années quand les cellules eucaryotes apparurent. Selon la théorie endosymbiotique, les organismes eucaryotes photosynthétiques comme les algues et les plantes proviendraient d'une endosymbiose de plastes par des cyanobactéries. Cette théorie est soutenue par diverses similitudes structurelles et génétiques. Ainsi, des plastes issus d'une endosymbiose primaire contenant de la chlorophylle a et b et pas de pigments accessoires ont été retrouvés dans des algues vertes et des plantes. D'autres plastes, contenant de la chlorophylle a et des phycobiliprotéines, ont été retrouvés dans des algues rouges et des glaucophytes. Ces plastes ont probablement eu une origine commune. En effet, chez les algues rouges (Rhodophycées), on constate que les thylacoïdes possèdent des pigments accessoires, les phycobilines (phycocyanine et phycoérythrine), ce qui laisse penser que la bactérie symbiotique devait être une Cyanobactérie qui possédait ces mêmes pigments. D'autres algues, ont acquis leurs plastes à partir de ces formes par endosymbiose secondaire.

I-1-2-Définition:

Les cyanophycées ou algues bleues-vertes sont des algues procaryotes très répandues ne possédant aucun noyau dont environ 7 500 espèces sont connues à ce genre . Elles sont habituellement de petites tailles, soit 10 µm ou moins, et peuvent être retrouvées dans pratiquement tous les habitats (eaux fraîches, eaux salées, eaux saumâtres et sols) étant donné leur aptitude à résister à des températures extrêmes et leur résistance à la dessiccation (Lechevalier et al., 1977). Cependant, la majorité des algues bleues-vertes ont des températures optimales de croissance de 32 à 350C (Lechevalier et al., 1977). La principale restriction des cyanophycées provient du fait que ces dernières nécessitent la présence de

lumière pour leur croissance et sont donc principalement des organismes autotrophes obligatoires. Certaines espèces seraient toutefois en mesure d'oxyder certains sucres en absence de lumière Les cyanophycées emmagasinent principalement leur énergie sous forme d'amidon (amylose et amylopectine) ou encore sous forme d'huiles (Lechevalier et al, 1977).

I.1.1.Définition:

Les cyanophycées ou algues bleues-vertes sont des algues procaryotes très répandues ne possédant aucun noyau dont environ 7 500 espèces sont connues à ce genre. Elles sont habituellement de petites tailles, soit 10 µm ou moins, et peuvent être retrouvées dans pratiquement tous les habitats (eaux fraîches, eaux salées, eaux saumâtres et sols) étant donné leur aptitude à résister à des températures extrêmes et leur résistance à la dessiccation (Lechevalier et al.,1977). Cependant, la majorité des algues bleues-vertes ont des températures optimales de croissance de 32 à 35^0C (Lechevalier et al., 1977). La principale restriction des cyanophycées provient du fait que ces dernières nécessitent la présence de lumière pour leur croissance et sont donc principalement des organismes autotrophes obligatoires. Certaines espèces seraient toutefois en mesure d'oxyder certains sucres en absence de lumière. Les cyanophycées emmagasinent principalement leur énergie sous forme d'amidon (amylose et amylopectine) ou encore sous forme d'huiles (Lechevalier et al., 1977).

I.2.Spiruline

I.2.1.Définition:

La Spiruline est un micro-organisme appartenant au groupe des cyanobactéries groupe comprend l'ensemble des bactéries autotrophes, c'est-à-dire capables d'utiliser l'énergie de la lumière pour la photosynthèse (Roger.,2006). Contrairement aux algues et aux plantes également dotées de ce pouvoir photosynthétique, elle appartient à l'embranchement des procaryotes, car elle n'a pas de noyau bien individualisé. La spiruline a été longtemps classée parmi les « algues bleu-vert », pour ces raisons:

-sa morphologie proche de celle des algues,

- sa couleur liée à sa teneur en pigments bleu (phycocyanine) et vert (chlorophylle).

I.2.2.Distribution géographique:

A l'état naturel, la spiruline est donc retrouvée dans des lacs de la ceinture intertropicale du globe terrestre, dont les eaux sont riches en carbonate de sodium (Na_2CO_3), bicarbonate de sodium ($NaHCO_3$), divers minéraux et une source d'azote fixé. Ces lacs sont situés

approximativement entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud; ils sont peu profonds et agités par des vents légers.

Ce qui distingue le genre *Arthrospira* des autres cyanobactéries, c'est le milieu naturel où elles vivent. En effet, les spirulines prolifèrent dans des eaux très minéralisées, extrêmement alcalines et chaudes. Ces conditions environnementales très contraignantes excluent la plupart des autres êtres vivants. De plus, le développement des spirulines dans ces milieux contribue à renforcer l'effet d'exclusion, par trois phénomènes (Doumenge et al.,1993) (Scheldeman et al., 1999):

- La consommation des carbonates et bicarbonates du milieu tend à augmenter l'alcalinité de celui-ci.
- Ses filaments pigmentés et flottants forment un écran qui prive les rares algues qui pourraient s'accommoder du milieu de culture de la lumière du soleil (exemple de la chlorelle, micro algue comestible pouvant proliférer dans des cultures de spirulines trop peu concentrées) .
- La sécrétion de molécules qui s'avèrent actives contre une vaste gamme de bactéries.

D'autre part, le flamant rose nain, Phoeniconaias minor, a joué dans le passé un rôle de vecteur aérien pour la spiruline, laquelle a ainsi pu coloniser progressivement de nouveaux habitats. Les flamants ont pour habitude de voler sur de longues distances pour rechercher de la nourriture, la spiruline accrocher aux écailles de leurs pattes et à leurs plumes, se trouve transportée dans d'autres lacs alcalins où elle a pu proliférer, donc notamment partout où vivent le flamant nain (Afrique et Asie) et le flamant de James, Phoenicoparrus jamesi (Amérique du sud). (Lee., 2001).

Tableau 1 : Sites géographiques où se trouve naturellement le genre *Arthrospira* (Scheldeman et al.,1999)

Afrique	
Algérie	Tamanrasset (Boileau.,1988)
Tchad	La région du Kanem : les lacs Latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan, Leyla, Bodou, Rombou, Moro, Mombolo, Liwa, Iseirom, Ounianga kebir
Soudan	Cratère du Djebel Marra
Djibouti	Lac Abber
Ethiopie	Lacs Aranguadi, Lesougouta, Nakourou, Chiltu, Navasha, Rodolphe
Congo	Mougounga

Tanzanie	Lac Natron
Kenya	Lacs Nakuru, Elmenteita, Cratère, Natron
Tunisie	Lac Tunis (Belkir.,1978), Chott el Jend (Belkir.,1997)
Zambie	Lac Bangweulu
Madagascar	Beaucoup de petits lacs près de Toliara (Nguyen Kim Ngam.,1994)
Asie	
Inde	Lac Lonar (Damle.,1978), un réservoir près de Madurai (Bai.,1984), un réservoir près de Calcutta (Biswas), Lac Nagpur (Pargaonkar.,1981)
Myanmar	Lacs Twyn Taung, Twyn Ma et Taung Pyank (Min Thein.,1984)
Sri Lanka	Lac Beira
Pakistan	Mares près de Lahore (Ghose.,1924) (Fox.,1980)
Thaïlande	Lacs d'effluents d'une usine de tapioca, province de Radburi, 80 km au S.O. de Bangkok (Tanticharoen.,1985)
Azerbaïdjan	(Woronichin.,1924)
Amérique du sud	
Pérou	Lac Huacachina, près d'ica, maintenant rempli d'eau douce, il ne contient plus de spiruline. Lac Orovilca (Lopez.,1980), maintenant asséché. Lac Ventanilla, sur la côte près de Lima (Figueroa.,1987) : on n'en trouve plus actuellement. Réservoir d'eau près de Paracas (Fuentes et al.,1993)
Mexique	Lac Texcoco (David.,1976), Lac Cratère (Durand-Chastel.,1990)
Uruguay	Montevideo, 1884, signalé par Arechavaleta in Wittrock, Nordstedt
Pérou	trouvé en association avec Cladophora près de l'Ile d'Amantani dans le lac Titicaca (Fox.,1993), spécimen de Cladophora de Gilles Planchon & Rosario Fuentes
Equateur	Lac Quiliotoa : cratère diamètre 1 kilomètre (Leroux Y.,1998)
Amérique du nord	
Californie	Oakland, Key Route Power House (Gardner.,1917) ; Del Mar Beach (Lewin.,1969) Un moulin à huile (Knutsen.,1994)
Haïti	Lac Gonâve (Pierre.,1986)
République Dominicaine	Lac Enriquillo (Durand Chastel.,1993)
Europe	

France	Camargue (Planchon et al.,1994)
Hongrie	(Kiss.,1957)

I.2.3.Composition chimique:

Il est bien établi que les variations de conditions de culture provoquent facilement de forts changements dans la composition biochimique des spirulines. Cependant en moyenne, la spiruline contient en poids sec jusqu'à 70 % de protéines, 15 à 25 % de glucides, jusqu'à 11 % de lipides ainsi que des vitamines, des minéraux (principalement des oligoéléments), de la chlorophylle et des phycobiliprotéines.

- **Composition en protéines et acides aminés:**

La biomasse de la spiruline contient une teneur en protéines élevée. Elle représente 10à 11% de la masse humide, soit 60 à 70% de sa matière sèche (Clément G.,1975).

- **Composition en lipides:**

Les lipides représentent généralement de 6 à 8% du poids sec de la Spiruline mais ce Pourcentage peut atteindre 11% (Hudson BJF et al.,1974).

- **Les acides gras:**

La fraction saponifiable, représentant 4,9 à 5,7% de la matière sèche de la Spiruline, (Pierlovisi C.,2007) est essentiellement composée de monogalactosyl diglycéride et de digalactosyldiglycéride (23%), de sulfoquinovosyl diglycéride (5%) et de phosphatidyl glycérol (25,9%). Les triglycérides ne sont présents qu'à de très faibles taux (0,3%)(Fox RD., 1999)

- **Composition en glucides:**

Les glucides représentent 13,6 à 25% de la matière sèche des Spirulines. La paroi des Spirulines comme les bactéries Gram-négatives, est formée de glucosamine et d'acide muramique associés à des peptides (Falquet J et al., 2006).

- **Vitamines:**

La Spiruline est une algue vitaminée, elle est la deuxième source de vitamine B1 derrière la levure de bière. Il contient aussi une concentration relativement élevée en pro-vitamine A, vitamine B 12 et β-carotène (Belay A.,2007).

- **Composition en acides nucléiques:**

La Spiruline renferme 4,2 à 6% d'acides nucléiques totaux (30% ADN et 70% ARN) dans sa-matière sèche (Santillan C., 1974).

I.2.4.Taxonomie :

Apparue sur la terre il y a environ trois milliards et demi d'années les spirulines sont donc une des plus anciennes formes de vie «photosynthétique». La Spiruline est considérée souvent comme une algue planctonique microscopique. En réalité elle est une bactérie appartenant aux cyanobactéries filamenteuses du genre *Arthrospira*, le plus souvent enroulée en spires d'où son nom commercial (Girardin et al., 2005). La terminologie de la Spiruline est assez confuse. La confusion entre les deux noms *Arthrospira* et *Spirulina* est due à la décision d'unifier les deux genres *Arthrospira* stizenberger et *Spirulina* turpin sur la base de leurs trichomes en spirale (Geitler.,1932). Néanmoins la "vraie" *Spirulina* n'est pas affiliée au genre *Arthrospira* (Nelissen, 1994). Les organismes du genre *Arthrospira* se trouvent communément dans des eaux saumâtres, ainsi que dans des lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales (Castenholz et al. 2001). Le mot Spirulina est le nom commercial anglophone de la spiruline, mais il désigne également un genre de cyanobactérie assez éloigné de *Arthrospira* et surtout non comestible, par exemple : *Spirulina major, Spirulina subtilissima, Spirulina princeps, Spirulina gigantea ou Spirulina subsalsa* (Fox.,1999). *Spirulina subsalsa* se classe parmi les espèces de cyanobactéries potentiellement toxiques puisque une toxine à était révélée présente mais non identifiée (Levi et al., 2006).

Les deux espèces les mieux connues sont *Arthrospira platensis*, originaire d'Afrique et *Arthrospira maxima* originaire d'Amérique centrale

Tableau 2 : Taxonomie récapitulative (Fox.,1999)

Règne	Monera ou Bacteria
Sous-règne	Prokaryota
Phylum ou Division	Cyanophyta ou Cyanobacteria
Classe	Cyanophyceae
Ordre	Oscillatoriales
Famille	Oscillatoriaceae
Genre	*Arthrospira*
Espèce	*Arthrospira platensis*

I.2.5.Cycle biologique:

Le filament de Spiruline à maturité forme des cellules spéciales appelées Nécridies. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le trichome se fragmente pour donner de nouveaux

filaments de 2 à 4 cellules appelés Hormogonies. Les Hormogonies vont croître en longueur par division binaire (chacune des cellules va donner deux cellules par scissiparité) et prendre la forme typique hélicoïdale (Balloni et al.,1980) (Charpy., 2008)

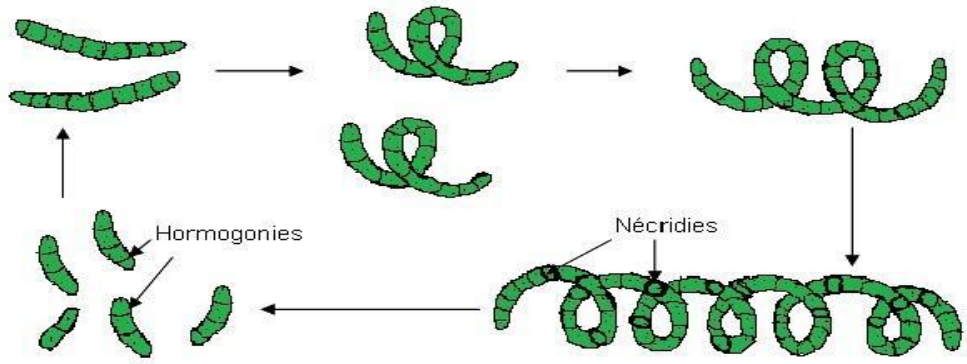


Figure 1 : Cycle biologique de la Spiruline selon (Balloni et al.,1980) (Charpy., 2008).

I.2.6.Morphologie:

La Spiruline a une longueur moyenne de 250 µm quand elle possède 7 spires. Elle est composée de filaments mobiles (de 10 à 12 µm de diamètre) non ramifiés et enroulés en spirales, généralement en 6 ou 7 spires, qui ressemble à un minuscule ressort à boudin, d'où le nom de «Spiruline» (Geitler.,1932) (Jarisoa, 2005). On trouve cependant des Spirulines ondulées et parfois droites.

Plus précisément, la Spiruline est constituée de cellules transparentes empilées bout à bout formant ainsi un filament ou trichome. L'enroulement du trichome sur lui-même s'effectue suivant le sens des aiguilles d'une montre lorsqu'on regarde au-dessus de la spirale. Les facteurs environnementaux tels que la température auraient cependant une influence sur l'orientation de l'hélice, (Muhling et al.,2003) (Jarisoa.,2005). Les filaments d'*Arthrospira* sont motiles, se déplaçant souvent par des mouvements en vrilles à plus de 5µ par seconde, sa motilité lui sert à se protéger des expositions trop fortes au soleil (Fox.,1999).

L'analyse des caractéristiques génétiques de l'espèce *Arthaospira platensis* effectuées par Scheldeman et al en (1999), basées sur l'ARDRA (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis) montre une grande plasticité morphologique. Sachant que certaines souches initialement spiralées peuvent devenir ondulées ou droites (Cruchot.,2008), ceci est peut-être dû aux facteurs physicochimiques exogènes tels que la température, ou d'autres facteurs probablement lier aux changements génétiques (Belay.,2007). Les scientifiques étudiant la spiruline ont donc d'abord pensé qu'il existait de nombreuses espèces d'*Arthrospira* ; en fait, l'analyse de leurs caractéristiques génétiques, effectuées par Scheldeman et al en (1999), fait apparaître deux espèces presque identiques d'*Arthrospira*. Ils supposent alors que de ces deux

espèces (*platensis* et *maxima*) dérivent plusieurs souches. La question du nombre de variétés de spiruline fait encore débat entre les scientifiques.

On distingue plusieurs morphologies "spiralées", "ondulées", et "droites" (figure 2) :

-les "spiralées", désigne les souches dont les filaments ont la forme d'une queue de cochon, telle la "Lonar" (variété présente en Inde)

-les "ondulées" désigne les souches dont les filaments sont en spirale étirée, telle la "Paracas" (variété présente au Pérou)

- les "droites" désigne les souches dont les filaments sont tellement étirés qu'ils donnent l'impression d'être presque rectilignes telle le la variété M2 (Jarisoia.,2005)



Forme spiralée (type « Lonar »)



Forme ondulée (type « Paracas ») Forme droite (type « M2 »)

Figure 2: Morphologies typiques de la Spiruline (Jarisoa.,2005).

I .2.7. Les caractérisations physicochimiques:

I .2.7.1. Température:

La température de l'environnement d'un organisme est un paramètre important puisque l'état physiologique en dépend. Aussi, chaque microorganisme a une température de culture optimale, pour la quelle son taux de croissance (ou sa productivité) sera maximale (Alexandrov G. A et al.,2007).

Le taux de croissance à 18^0C n'atteint que 46 % de celui à 20^0C .Le taux de croissance à 20^0C atteint 55% de celui à 22^0C. Le taux de croissance double entre 22^0Cet32 ^{0}C, puis reste stable jusqu' à 40^0C, au de la de quoi il baisse brusquement .Les basses températures augmentent la quantité d'acide gras non saturés. L'optimum de température est à 35^0C-37^0C (Fox.,1986).

I .2.7.2. Lumière:

La lumière est la source d'énergie primaire des organismes réalisant la photosynthèse. Pour les microalgues les durées et les périodes d'ensoleillement seront déterminantes. Les régions les plus ensoleillées seront les plus favorisées pour la culture de micro-algues y compris la spiruline.

Une très forte lumière (plein soleil) peut être dangereuse dans les cas suivants:

- une brusque illumination d'une culture froide (moins de 14°C à 15°C).
- une culture très chaude, (réchauffement).
- une culture très diluée (Secchi de plus de 6 cm).

On réduit volontairement la luminosité par ombrage si l'on désire freiner la croissance de la spiruline, ou si l'on se trouve dans l'un des trois cas précédents. (Jourdan.,2006).

I.8.2.3.pH:

Le matin, le pH sera le plus bas que le soir à cause du CO_2 libéré la nuit par la respiration.la photosynthèse augment le pH pendant le jour, car chaque mole de carbone (12grammes) fixée par les algues libère 1.196 moles (20.332 grammes) d'ions hydroxyles (OH-) dans le milieu de culture.

La spiruline croit pour un pH de 8 à 11, avec un optimum à environ 9.5. Dans les lacs naturels le pH se stabilise à 10.5 grâce à la vitesse modérée d'absorbation du CO_2 atmosphérique. Comme nous l'avons vu, la photosynthèse libére des ions OH-, ce qui augmente l'alcalinité et donc le pH en fin de journée. Dans une culture non enrichie artificiellement en CO_2 se combinent pour donner un pH autour de 10.5. Un avantage de ce pH élevé est d'inhiber la croissance d'autres algues ou de protozoaires dans ce milieu.

Inconvénient: la croissance de la spiruline ralentit quand le pH mont (Fox R D.,1999).

I.2.8.4.Salinité:

La spiruline peut être considérée comme une espèce à la fois halophile et très euryhaline, en milieu naturel les salinités tolérées vont de 8 PSU à 270 PSU (Beadle.,1943). Les limites de la salinité et d'alcalinité permises sont assez larges, 13 g/litre pour la salinité et une alcalinité de 0,1 molécule-gramme/litre (b = 0,1). (Jourdan., 2006).

I.2.8. Bienfaits de la spiruline:

I.2.8.1. Pour l'être humain:

I.2.8.1.1.Bienfaits thérapeutiques:

Les Spirulines sont des cyanobactéries aux multiples propriétés thérapeutiques:

-anti-oxydante : elle diminue le stress oxydant (Sguera.,2008).

-anti-inflammatoire : l'activité anti-inflammatoire est constatée lors d'une administration per os avant l'induction de la réaction inflammatoire (Sguera.,2008).

-Anticancéreuse : le calcium-spirulan agit par prévention de l'adhésion et de la migration des cellules tumorales vers la lame basale (Sguera.,2008).

-Antivirale : la spiruline bloque l'adsorption et la pénétration virale dans la membrane cellulaire (Sguera.,2008).

-Effets contre l'hyperlipidémie : la consommation régulière de spiruline diminue le taux de cholestérol. Le premier rapport sur la réduction du cholestérol sanguin par la Spiruline a été réalisé sur des rats par Devi et Venkataraman en (1983).

-Effets contre le diabète : la fraction soluble dans l'eau de la Spiruline a la propriété de diminuer le taux de glucose dans le sérum (Takai et al.,1991) .

-Effets contre l'hypertension : Iwata et al. En (1990) ont remarqué une suppression de l'hypertension chez les rats, suite à un apport de Spiruline.

-Effets contre l'obésité : Becker et al. Ont montré en (1986) qu'une supplémentation en Spiruline de 2,8 g 3 fois par jour pendant 4 semaines entrainait une réduction du poids corporel chez les obeses

-Immunomodulateur : différentes études ont démontré que la spiruline était incontestablement un puissant tonifiant du système immunitaire (Qureshi.,1994, 1995, 1996).

-Effets protecteurs contre les radiations : d'après Schwartz et al. En (1987), les molécules protectrices présentes dans l'extrait de Spiruline agissent comme facteurs stabilisants de l'ADN. On observe alors une diminution des micronucleus induits par les rayons γ (Belay., 2002).

-Hépatoprotection : Les actions de la spiruline ou de ses composants sont donc plus préventives que curatives (Sguera.,2008).

I.2.8.1.2. Bienfaits cosmétiques:

La spiruline renferme toutes les vitamines et minéraux nécessaires pour avoir une peau, des cheveux et des ongles sains. La vitamine A permet un bronzage plus rapide et plus uniforme, la vitamine B5 permet à la peau de conserver son hydratation et sa souplesse et la vitamine B8, en diminuant l'excrétion de sébum, réduit la principale cause de chute des cheveux (Algosophette.,2017). La phycocyanine est utilisée dans cosmétologie pour la variété de

couleurs qu'elle peut donner mélangé avec d'autres composés.

I.2.8.2.Pour les animaux:

-Complément alimentaire : La spiruline est utilisée comme complément alimentaire chez les animaux de compagnie (chiens, chats, les chevaux, les vaches, les poules, les poissons et les oiseaux) (Henrikson.,1994).

-Favoriser la croissance et la fertilité : Des études sur les poissons d'aquarium et la crevette ont montré les effets bénéfiques d'*Arthrospira platensis* en ce domaine (Kim et al.,2006).

-Renforcer les défenses immunitaires : La Spiruline est ajoutée aux granulés dans la nourriture des poissons d'élevage, plus souvent soumis à des infections virales ou bactériennes que les poissons sauvages, à cause de l'effet immunostimulant d'Arthrospira *platensis* (Watanuki et al.,2006) .

-Augmenter la pigmentation

- En aquariophilie pour accentuer la coloration des poissons d'ornement.
- En aquaculture pour améliorer la pigmentation des crevettes et des poissons
- En agroalimentaire pour rendre les oeufs et la chair de poulet plus attrayants au consommateur par les caroténoïdes qu'elle contient (Henrikson.,1994) .

-Améliorer les performances des animaux : Elle est utilisée comme additif alimentaire pour les taureaux reproducteurs et les chevaux de course.

- Elevage larvaire : Elle est utilisée à hauteur de 1 à 10% de l'alimentation pour augmenter la résistance immunologique des larves (Henrikson.,1994) et utilisée aussi dans la production des proies vivantes comme l'Artémia.

II.1.Photosynthèse :

L'énergie lumineuse est cette très petite part visible du grand spectre des rayonnements électromagnétiques issus des étoiles ce spectre est produit par la résonance de fond de particules du plasma chaud dans les étoiles et nous arrive sous forme de radiations de différents caractères.

La photosynthèse est édification de matériaux organiques par les plantes utilisant l'énergie lumineuse comme outil, pour séparer, combiner et réarranger les molécules, les atomes et des molécules subatomiques. L'énergie est captée par les pigments des plantes particulièrement les chlorophylles vertes et, dans les algues bleues, aussi par les caroténoïdes oranges, la phycoérythrine, la phycocyanine bleue.

Elle se compose de deux phases indépendantes chimiquement et physiquement, mais liées par des intermédiaires communs et des régulations enzymatiques .Le processus photosynthétique dans son ensemble peut être décrit par l'équation globale :

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow{Hv} O_2 + CH_2O$$

Cette dernière se déroule en deux phases séparées :

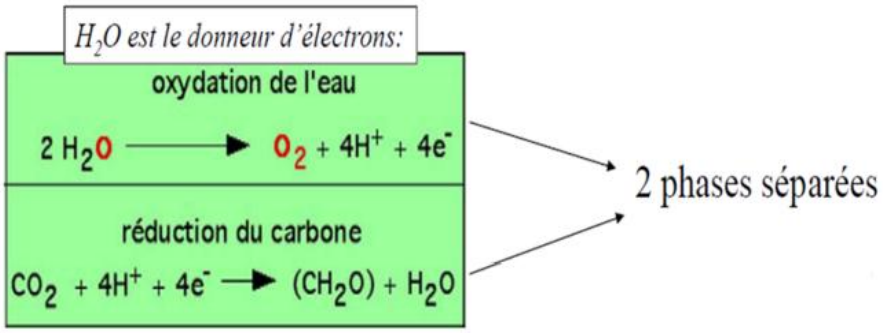


Figure 3: deux phases de photosynthèse.

II.1.1.Organismes photosynthétiques:

En plus des organismes eucaryotes photosynthétiques (plantes supérieures et algues), il existe cinq lignées de bactéries photosynthétiques : les bactéries pourpres, les bactéries sulfureuses

vertes, les bactéries non sulfureuses vertes, les héliobactéries et les cyanobactéries .Les organismes capables de réaliser la photosynthèse oxygénique sont les plantes supérieures, les algues et les cyanobactéries.

II.1.2.Pigments photosynthétiques :

L'énergie des réactions mises en jeu lors de la photosynthèse est fournie par la lumière qui est absorbée par des pigments. Trois types de pigments interviennent : la chlorophylle (de type a ou b) et les caroténoïdes qui sont toujours présents, et également les phycobilines qui sont des pigments additionnels chez certaines algues ou cyanobactéries.

II.1.2.1.La chlorophylle : Les deux types de chlorophylle absorbent la lumière à différentes longueurs d'ondes : la forme a absorbe à 680 nm, alors que la forme b absorbe à 700 nm. L'absorption est due à l'existence de doubles liaisons conjuguées.

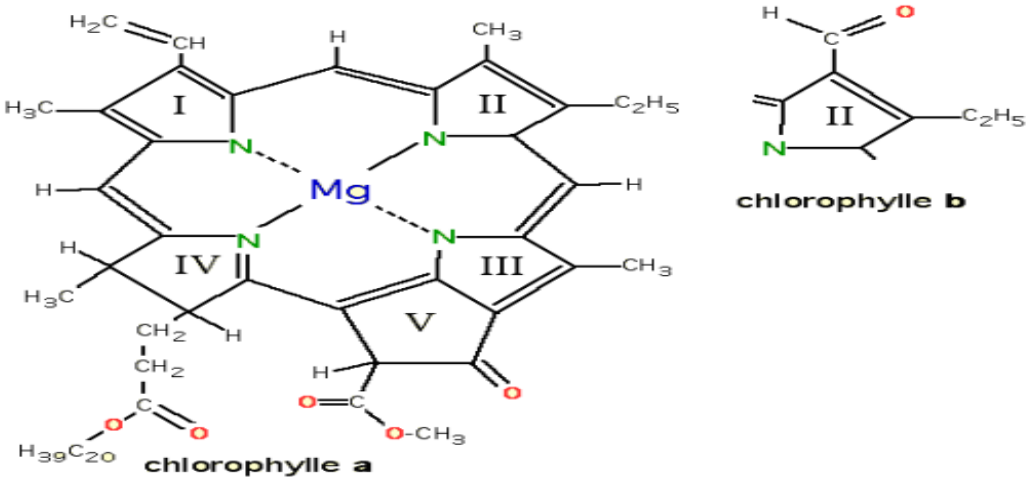


Figure 4: Formules des chlorophylles a et b. Les chlorophylles a et b diffèrent par les substituants des groupements pyrroles. I, II, III, IV : groupements pyrroles. V : cycle supplémentaire.

II.1.2.2.Les caroténoïdes:

Les caroténoïdes sont des molécules constituées basiquement de 8 unités isoprène. Le β carotène qui est un exemple de caroténoïde a ses deux extrémités cyclisées.

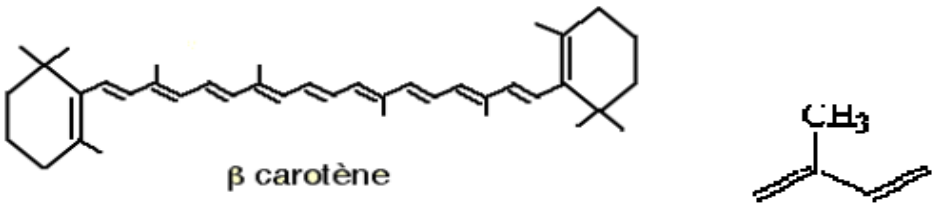


Figure 5 : Formule d'un caroténoïde. Le β carotène est un exemple de carotène. A droite est représentée une unité isoprène.

II.1.2.3.Les phycobilines :

Les phycobilines sont des composées d'un noyau tétrapyrrolique linéaire, associé à une protéine (Figure 6). On les trouve à la surface des membranes des thylakoides de certaines algues, et de bactéries photosynthétiques telles que les cyanobactéries. Il existe deux types majeurs de phycobilines : les phycoérythrobilines que l'on retrouve chez les algues rouges et qui absorbent les radiations vert-jaune, et les phycocyanobilines, possédés par les algues bleues et qui absorbent les radiations vertorange. Les phycobilines sont regroupées dans des structures appelées phycobilisomes qui sont des complexes protéines-pigments, au nombre de un pour 2 PSII .Les phycobilines peuvent être liées à quatre types d'apoprotéines : phycocyanine, allophycocyanine, phycoérythrine et phycoérythrocyanine.

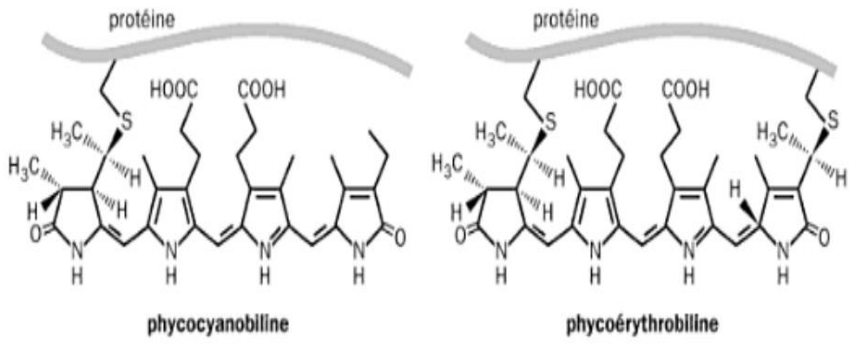


Figure 6 : Formule de deux phycobilines : phycocyanobiline et phycoérythrobiline.

L'ensemble des pigments absorbe une zone d'énergie qui couvre tout le spectre visible

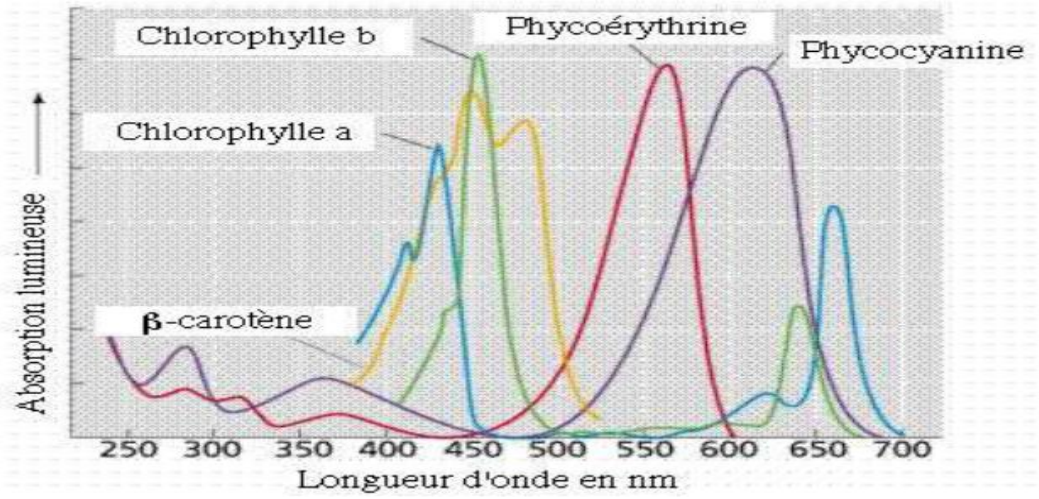


Figure 7: Spectres d'absorption des pigments de la photosynthèse (d'après http://www.whfreeman.com/life/update/, modifié)

La spiruline contient de nombreux pigments photosynthétiques : chlorophylle a, β carotène, phycoérythrine, et environ 11 caroténoïdes (Busson, 1971). Ces pigments sont activés par la lumière de longueurs d'ondes différentes et servent ainsi d'antennes pour recueillir l'énergie lumineuse totale et la transmettre au centre de réaction de la molécule de chlorophylle.

II.1.3. Eléments de la photosynthèse:

Le siège de la photosynthèse est dans les thylakoïdes. L'énergie lumineuse incidente est captée par les pigments et transférée aux photosystèmes. Il existe deux types de photosystèmes, travaillant en série mais à des niveaux d'énergie différents : le photosystème II (PSII) fonctionnant à 680nm et le photosystème I (PSI) fonctionnant à 700nm. Ils sont exprimés ici en équivalent de longueurs d'ondes, selon le pic d'absorption des pigments les composant : la chlorophylle a au PSI. Les photosystèmes se trouvent dans la membrane des thylakoïdes, à l'interface du lumen et du stroma. L'énergie collectée est ensuite transformée en énergie chimique, puis utilisée pour transformer du carbone inorganique (dioxyde de carbone, CO_2) en molécules carbonées du type glucide. La photosynthèse peut être séparée en deux types de réactions:

-Les réactions claires, où l'énergie lumineuse sera transformée en énergie chimique donnant un réducteur biochimique, la Nicotinamide Adénine Di nucléotide Phosphate (NADPH;H+) et un composé à la base de l'énergétique cellulaire, l'Adénosine Triphosphate (ATP).

-Les réactions sombres (Cycle de Calvin), où le carbone inorganique sera fixé par l'utilisation de l'énergie chimique des composés précédents et donnant la forme oxydée du NADPH;H+, le NADP+ et de l'Adénosine Di-Phosphate (ADP).

La photosynthèse s'effectue en deux phases complémentaires :

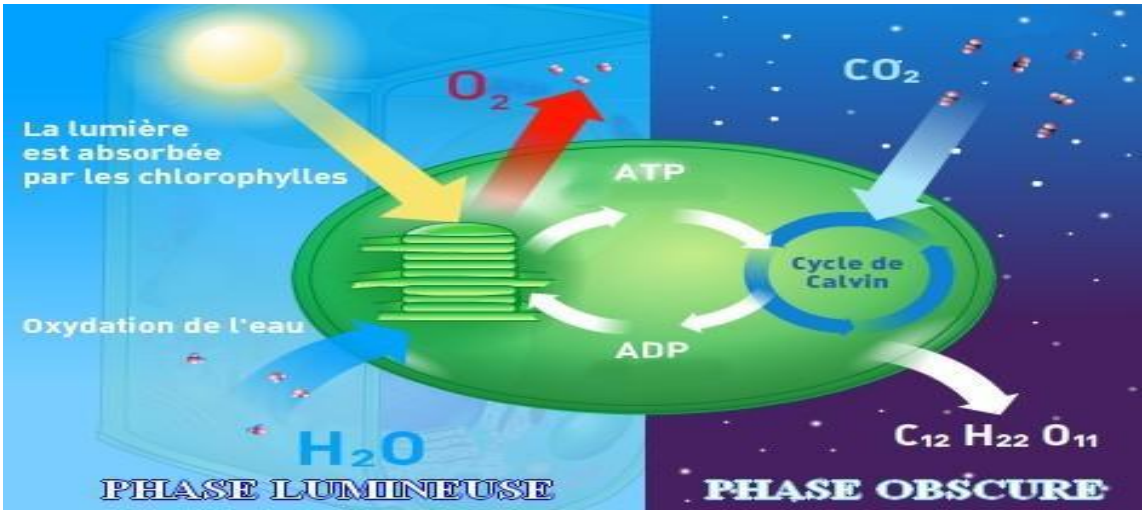


Figure 8 : les deux types réactions de photosynthèse

II.1.4.La chaine photosynthétique :

La photosynthèse oxygénique met en jeu deux centres réactionnels : le photosystème II et le photosystème I qui travaillent en série et sont liés par le cytochrome b6f. Les trois complexes protéiques sont insérés dans la membrane des thylakoides et transfèrent les électrons extraits de l'eau jusqu'à l'accepteur NADP+ (nicotinamide-adénine dinucléotide phosphate). Chez les plantes et les algues supérieures, les membranes des thylakoides sont localisées à l'intérieur des chloroplastes alors que chez les bactéries oxygéniques, les thylakoides sont à l'intérieur de la membrane plasmique. La chaine photosynthétique est schématisée dans la Figure 9.

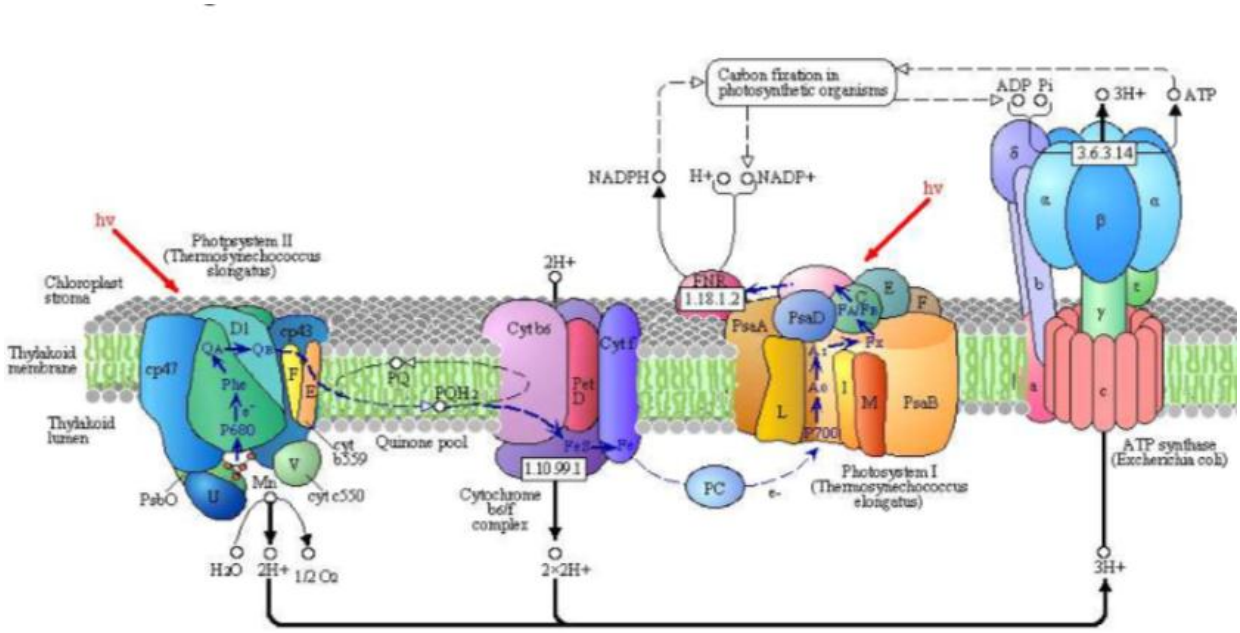


Figure 9 : Schéma des processus photosynthétiques dans une cyanobactérie

(http://www.genome.jp/dbget-bin/show_pathway?map00195)

Le transfert d'électrons du photosystème II au photosystème I crée un gradient de protons à travers la membrane du thylakoide. L'énergie de ce gradient est ensuite utilisée par l'ATP-synthase qui produit l'ATP (adénosine triphosphate). En résumé, les réactions de transport d'électrons fournissent à la fois NADPH et ATP pour la fixation du CO_2 et la production de composés carbonés, le produit final de la photosynthèse oxygénique.
En photosynthèse anoxygénique, une autre source d'électrons que l'eau est utilisée, par exemple le sulfure d'hydrogène H2S.

II.2.Généralités sur les photobioréacteurs :

Les photobioréacteurs sont de natures très variées, depuis les bassins à ciel ouvert, jusqu'aux systèmes clos. Ils diffèrent par de nombreux aspects portant notamment sur leur géométrie et les conditions de culture, le mode de confinement, la lumière, le mélange, le contrôle thermique, les transferts de gaz, et les conditions d'exploitation (Ogawa T et al.,1980).

II.2.1.Qu'est-ce que c'est un photobioréacteur ?

Un photobioréacteur est défini comme un système clos à l'intérieur duquel se déroulent, en présence d'énergie lumineuse, des interactions biologiques que l'on cherche à contrôler en maîtrisant les conditions de culture. En son sein, une réaction biochimique de photosynthèse a lieu dans le but de produire de la biomasse végétale à partir de micro algues, de CO_2 et de lumière. (Pulz, O,2001).

II.2.2.Caractéristiques des principaux types de photobioréacteurs :

- Eclairage : La particularité d'un photobioréacteur tient, en plus des besoins habituels communs à tous les bioréacteurs, à la nécessité de fournir une énergie photonique aux microorganismes à cultiver , cet apport étant incontournable pour la réalisation de la photosynthèse. La croissance des microorganismes (microalgues), et donc la production de biomasse, dépend de la quantité de lumière reçue par chaque microalgue. Deux facteurs sont à distinguer :

- d'une part, la quantité et la qualité de la lumière émise par le dispositif d'éclairage (intensité, spectre d'émission des sources lumineuses et nombre de ces sources).

-d'autre part, la quantité et la qualité de la lumière réellement disponible pour les microalgues au sein du photobioréacteur : celle-ci étant différente du flux lumineux incident du fait des pertes par absorption et diffusion qui ont lieu en traversant la culture et les parois du réacteur. La distribution hétérogène de l'irradiance selon l'épaisseur de la culture conduit à des cinétiques locales de croissance en surface, du fait d'une intensité lumineuse trop forte, une zone de photoinhibition peut apparaître et entraîner la dégradation des photosystèmes I et II (PSI et PSII) des antennes collectrices de la chlorophylle a et l'apparition de pigments accessoires, en profondeur, des effets d'auto-ombrage peuvent conduire à une photoalimentation avec un manque d'énergie ou même à un basculement vers un mécanisme respiratoire.(J. M et al., 1997).

L'éclairage des photobioréacteurs, en extérieur, peut simplement être naturel en utilisant la lumière solaire : les panneaux sont alors généralement installés horizontalement ou de façon inclinée pour améliorer l'utilisation de l'irradiance solaire. (Molina Grima et al ., 1997)

Une variante consiste, pour certains photobioréacteurs cylindriques, à placer les photobioréacteurs sur des surfaces réfléchissantes afin d'accroître, par réflexion, l'incidence du rayonnement (Grobbelaar, J. U et al.,2003)

D'autres moyens ont aussi été expérimentés, utilisant la lumière naturelle .(Sanchez Miron, et all., 1999) , aussi bien que celle artificielle au sein des photobioréacteurs plat ou cylindrique (Borowitzka 1996) : ils utilisent un harnais de fibres optiques (ou réseau de gaines transparentes) disposé au centre de la chambre du réacteur. Ce système de conduction lumineuse accentue la diffusion de la lumière au cœur du milieu de culture (Borowitzka, M. A. 1996)

A l'intérieur, les photobioréacteurs peuvent être placés sous serre, mais souvent des sources lumineuses artificielles sont utilisées, telles que des tubes fluorescents (de type : « cool white » ou lumière du jour).

II.2.3.Géométrie des systèmes de culture:

La géométrie du système de culture va avoir un impact important sur le transfert de lumière au sein de la culture. Il existe deux grands types de géométries, en fonction la surface de captation du flux lumineux : les géométries planes et les géométries cylindriques.

la géométrie plane permet d'atteindre une atténuation de la lumière monodirectionnelle. Les géométries cylindriques, lorsqu'elles sont éclairées d'un seul côté (cas du solaire), amènent à une répartition plus complexe du fait de l'absence de symétrie cylindrique. Une atténuation monodirectionnelle sera obtenue si un éclairage radial symétrique est appliqué (Pruvost, J et al., 1999).

II.2.3.1 .Les photobioréacteurs plats :

Les photobioréacteurs plats ont été introduits par Milner en 1953. (Takache, H 2010) .Ils assurent une bonne pénétration de la lumière et une production importante de la biomasse et un fort rendement photosynthétique (Milner H.W 1953), sont faciles à nettoyer et à tempérer pour les cultures et peuvent être installés à l'extérieur. L'accumulation de dioxygène dissous est relativement faible dans les photobioréacteurs plats par rapport aux photobioréacteurs

tubulaires horizontaux. Mais ils créent des différences de température difficile à gérer et peuvent induire des stress hydrodynamiques chez certaines espèces d'algues. (Richmond, A, 2000).

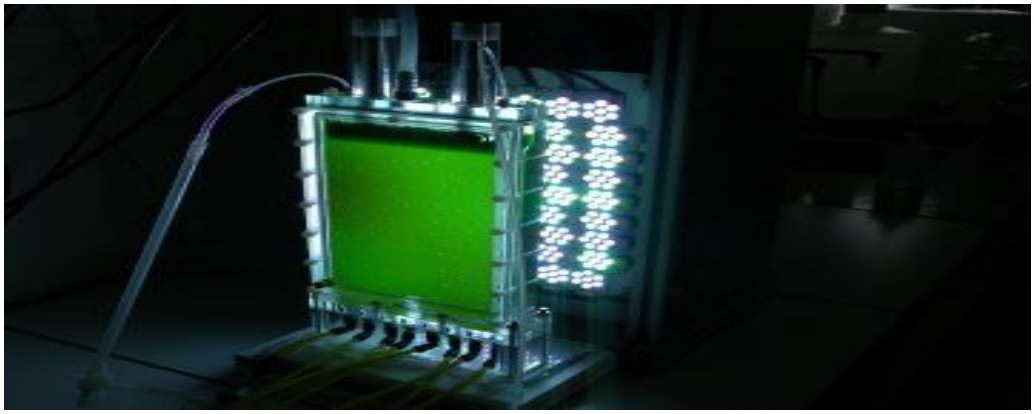


Figure 10 : Géométrie du photobioréacteur plat

II.2.3.2.Les photobioréacteurs cylindriques :

Les photobioréacteurs à colonne verticale sont faciles à stériliser, ils permettent une biomasse importante. (Bosma, R et al., 2003), Mais leur réalisation nécessite un matériel sophistiqué et la répartition de la lumière est plutôt hétérogène à l'intérieur de la colonne.



Figure 11: Exemples de PBR cylindrique.

II.2.3.3Les photobioréacteurs tubulaires :

faciles à réaliser, utilisables à l'extérieur, ils forment un réseau de tubes horizontaux, verticaux, obliques, coniques ou encore serpentins. (Miron. A et al., 2002). . Ils assurent une

bonne production de biomasse à moindre coût. Cependant, des gradients de pH, de CO_2 et d'O2 dissous peuvent apparaître dans les tubes. (Camacho Rubio Fet al.,1999), ainsi que des phénomènes de fouling, affectant la productivité du système.



Figure 12: photobioréacteurs tubulaires.

II.2.4.Avantages et inconvénients :

L'utilisation de système PBR pour la production de biomasse comme d'autre système de production présente des avantages et des inconvénients qui sont résumés comme suivant :

II.2.4.1.Avantages :

• les PBR permettent l'exploitation du potentiel des plus de 50000 espèces de microalgues connues, dont beaucoup peuvent être des sources intéressantes de composés de haute valeur

• Le PBR offre un environnement de culture fermé, protégé contre les retombées directes relativement à l'abri de l'invasion par des microorganismes concurrents, et où, assurant la dominance des espèces désirées.

• Un système performant de contrôle et de gestion de la température et du pH pour éviter de sortir de la gamme de tolérance de l'algue.

• un meilleur contrôle de la qualité.

• une évaporation limitée et un usage de l'eau réduit.

• une surveillance accrue et précise.

• une production augmentée par unité de surface.

• une installation possible sur de petites surface (toits de bâtiments) et non planes.

• une filtration de l'air qui élimine les contaminants aéroportés.

• les conditions sont mieux contrôlées

• une capacité d'insuffler du CO_2 issu d'émissions industrielles.

•Composition de la biomasse flexible

• Peu de compétition avec la production alimentaire

• Peu de compétition avec les ressources en eau

•Recyclage de déchets urbains (N, P, S,..) ou industriels (CO_2)

•des Performances Techniques Limitées .

•La lumière est absorbée et diffusée .

•Il faut raisonner à l'échelle d'une population de cellule .

II.2.4.2.Inconvénients :

-Recours aux conditions de carence pour induire l'accumulation de produits riches en énergie

-Pas d'amélioration génétique (adaptation aux systèmes de cultures)

-Systèmes de cultures et de récolte coûteux.

-possibilités d'échauffement, d'encrassement, d'accumulation d'oxygène

-coûts plus élevés de construction et d'opération .(Mario R.Tredici, 2004)

II.3.Les modes trophiques :

Comme nous l'avons abordé antérieurement, la phototrophie nécessite de la lumière et du

dioxyde de carbone pour la photosynthèse alors que l'hétérotrophie exige un apport en carbone organique. En ce qui concerne la mixotrophie, elle nécessite un apport de carbone organique, un apport de C02 et la présence de lumière. Selon certains auteurs, on distingue

deux types d'hétérotrophie, l'hétérotrophie stricte en absence totale de lumière et l'hétérotrophie en présence de lumière . (R. Burrel, et al., 1984)

Une certaine confusion autour de ce second type d'hétérotrophie et de la mixotrophie est retrouvée dans la littérature. Pour divers auteurs, la photohétérotrophie ou hétérotrophie en présence de lumière consiste en de la mixotrophie, ils utilisent donc ces termes comme synonymes. (A. Bhatnagar, et al ., 2010).

D'autres auteurs différencient la mixotrophie de la Photohétérotrophie. (Z. Li, et al .,2011). En fait, La mixotrophie se distinguerait de la photohétérotrophie par son besoin en dioxyde de carbone.(T. M. Mata, et al.,2010).

Yang et son équipe prétendent que la lumière est la source principale d'énergie de la mixotrophie tout en nécessitant un apport en carbone organique et en $C0_2$. Ces auteurs définissent la photohétérotrophie comme un mode trophique où la lumière est nécessaire pour assimiler le carbone organique et pas comme source d'énergie. Dans le cas de la photohétérotrophie, la source d'énergie serait donc chimique et il n'y aurait aucune fixation de C02 car la source de carbone employée serait uniquement organique. Selon Chojnacka et son équipe la lumière pourrait, en photohétérotrophie, servir d'activateur d'enzyme dans l'assimilation du carbone organique. (M.-R. F.-J. Chojnacka Katarzyna., 2004).

Finalement, Zhang et ses collègues émettent l'hypothèse que la lumière est la source d'énergie de la photohétéotrophie et que la source de carbone est strictement organique. Il est évident qu'il y a un véritable imbroglio dans la définition de ces termes.

Les microalgues de métabolisme hétérotrophe et mixotrophe doivent être en présence d'un substrat organique pour assurer leur croissance. Il serait possible de croire que celles-ci peuvent utiliser n'importe quelle source d'hydrates de carbone pour remplacer le rayonnement solaire en tant que source d'énergie pour leur métabolisme, alors que tel n'est pas le cas. En effet, certains substrats sont en mesure de supporter la croissance de certaines espèces alors que ces mêmes substrats sont inefficaces pour d'autres espèces. De plus, certains composés chimiquement similaires ne favorisent pas nécessairement la croissance d'une espèce microalgale donnée (Lewin, 1962).

De façon générale, les hydrates de carbone pouvant être assimilés par la plupart des microalgues sont principalement des monosaccharides tel le glucose (Lewin, 1962). Certaines espèces sont aussi en mesure d'assurer leur croissance à partir de disaccharides, d'acétate, de

glycérol et de certains acides intermédiaires du cycle de Krebs (Wageningen University, 2009). Dans la littérature consultée, certaines espèces utiliseraient aussi pour leur croissance des polysaccharides comme l'amidon (Wen et al., 2003).

II.3.1.La mixotrophie :

La mixotrophie est une stratégie par laquelle des micro-organismes photosynthétiques peuvent suppléer à leur régime par l'assimilation phagotrophique de bactéries et/ou l'absorption de carbone organique dissout et, à l'inverse, des organismes phagotrophes peuvent photosynthétiser. Une telle adaptabilité nutritionnelle présente des avantages physiologiques et écologiques intrinsèques, en particulier dans des environnements limités en lumière, nutriments et particules nutritives, tels que ceux que l'on trouve dans la plupart des écosystèmes aquatiques. L'existence d'organismes mixotrophes a des implications profondes dans la dynamique des populations de proies (par exemple par le broutage), la dynamique d'autres espèces brouteuses dans la communauté en conséquence de la concurrence accrue pour les proies (par exemple en surpassant des organismes hétérotrophes dépendants de leur hôte) (Bird et al., 1986)

La mixotrophie peut être une voie de recyclage importante pour les macro- et les micronutriments (Berninger et al.,1992) (Bird et al., 1987) (Stibor et al., 2003). Par exemple environ 35 à 60 % de l'utilisation totale autotrophe en fer (Fe) dans les régions équatoriales du Pacifique résulteraient de l'utilisation par des espèces d'algues mixotrophes (Maranger et al.,1998). Le fer a une concentration en particule plus élevée que sa concentration sous forme dissoute dans les eaux de surface océaniques (Johnson et al.,1997). Tandis que les algues mixotrophes excrètent une partie du fer ingéré, les phytoflagellés phagotrophes peuvent de façon générale jouer un rôle important dans le cycle du fer en régénérant cet élément, et influençant ainsi également la dynamique du carbone dans les régions où la production de phytoplancton est limitée par le fer.

La compréhension approfondie des processus clés qui contrôlent la capitation et le rejet du CO_2 par les groupes d'algues marines contribuent à notre compréhension du rôle des organismes marins dans leur influence sur la concentration en CO_2 des eaux de surface, sur des échelles de temps allant du jour à la saison.

Il est maintenant connu que de nombreux flagellés phototrophes, que l'on croyait initialement être exclusivement autotrophes, sont en fait mixotrophes (Jacobson et al., 1996) (Stoecker 1999) (Jeong et al., 2004).

On parle de mixotrophie lorsqu'un organisme vivant combine l'autotrophie et l'hétérotrophie pour assurer sa nutrition. Certains micro-organismes, comme les dinoflagellés, peuvent capturer des proies et les digérer tout en possédant des chloroplastes fonctionnels, mais rares sont ceux capable de survivre en utilisant séparément l'une ou l'autre des deux voies (Li et al., 1999). En revanche, de nombreuses micro-algues sont capables de prélever dans le milieu des sources de matière organique, préférentiellement sous forme de molécules de petite taille, et de les utiliser en complément de leurs fonctions photosynthétiques, voire de les suppléer sur des périodes plus ou moins longues. C'est même le seul moyen de survie des micro-algues vivant en milieu antarctique (Rikvin et al., 1987). Ces sources d'azote ou de carbone organique peuvent provenir de l'activité d'organismes hétérotrophes (bactéries, crustacés, mollusques, poissons, etc.), ou bien de l'activité des micro-algues elles-mêmes (Smith et al.,2000). Dans certaines conditions particulières (milieu très riche en substances organiques dissoutes), les micro-algues peuvent même éliminer leur équipement photosynthétique, ne comptant alors que sur l'hétérotrophie pour subsister (Wood et al., 1999)

II.3.1.1.Les bases de la mixotrophie:

Pour être qualifié de mixotrophie, un organisme photosynthétique doit pouvoir capturer dans le milieu des molécules organiques, et être capable de les métaboliser pour assurer sa maintenance cellulaire, ou sa reproduction (Vincent et al., 1980). La capture des molécules organiques peut se faire de deux façons (Kornberg, 1973) : par un mécanisme passif (diffusion osmotique entretenue par la consommation rapide du composé), ou par un mécanisme actif (enzymes extracellulaires ou pompes métaboliques). Ce dernier mode fait souvent appel à des enzymes à faible affinité et Vmax en général élevé, mais aussi parfois à des enzymes à forte affinité et Vmax faible, capables de fonctionner même lorsque les concentrations en substrat dissous sont très faibles. Parfois, pour certaines molécules, les deux systèmes cohabitent. La présence de ces équipements enzymatiques n'est que faiblement corrélée avec la position taxonomique des algues (Hellebust et al., 1977). L'utilisation de ces substrats dépend ensuite de la présence d'enzymes capables de les insérer dans des voies métaboliques spécifiques.

II.3.1.2.Effets de la mixotrophie :

La mixotrophie concerne surtout la nutrition carbonée et azotée. Ses effets s'expriment fréquemment en conditions de lumière limitante. En revanche, en conditions de lumière

saturante, la mixotrophie peut ne pas avoir d'effet significatif (Fingerhut et al., 1990), l'assimilation photosynthétique du CO_2 inhibant la capture du carbone organique dissous (Pelroy et al., 1972).

Toutefois, chez Scenedesmus obliquus cultivée en présence de carbone organique, la photosynthèse ne semble pas inhiber l'assimilation de glucose, tandis que la présence de ce composé diminue de 60% l'assimilation photosynthétique du CO_2 (Abeliovich et al., 1978).

II.3.1.3.Facteurs influençant la mixotrophie:

- La lumière :

  La lumière est l'inducteur et le régulateur pour la production de certains produits algals tels que les pigments (Chen et all., 1997) (Lee et al., 1999) et les acides gras (Cohen, 1999)(Sukenik, 1999). La croissance de la culture est influencée par l'effet de la lumière dans l'enceinte de PBR, il est important de connaître et de contrôler l'intensité lumineuse incidente sur le réacteur, car elle est à la base de la vitesse de production de la biomasse ou de l'oxygène.
- Agitation :

  L'agitation du milieu de culture constitue un bon moyen d'éviter la photolyse sans modifier l'intensité lumineuse, en mettant alternativement les filaments à la lumière et à l'ombre , L'agitation permet également de s'assurer que les filaments ne restent pas dans des micro-zones où les éléments nutritifs essentiels sont épuisés. (Baillinger, 1994) (Jourdan, 2006).
- Les sources de carbone organique :

  Les hexoses sont stériquement incapables de diffuser passivement à travers la membrane plasmique (Fiechter et al., 1981). Les cellules de Chlorella possèdent un système de transport actif inductible du glucose, qui peut être surveillé par la synthèse préférentielle de la protéine liée à la membrane cytoplasmique et une augmentation significative de l'activité d'assimilation du glucose (Tanner, 1969).
- La concentration de biomasse
- PBR

II.4.Métabolisme et mécanisme respiratoire et fermentaire:

II.4.1.Métabolisme:

Arthrospira platensis appartient à la famille des bactéries aérobies-anaérobies facultative .Ces microorganismes sont capables de produire leur énergie par voie :

- Respiratoire aérobie
- Respiratoire anaérobie
- Fermentative.

Pour leur respiratoire en absence d'oxygène, ils ont la capacité de respirer en utilisant des accepteurs d'électrons exogènes alternatifs qui sont en général des molécules de petit poids moléculaire contenant de l'oxygène.

Afin d'assurer sa croissance, cyanobactérie est ainsi capable de respirer à partir de différents substrats en fonction du milieu dans lequel elle se trouve. En absence d'oxygène, cyanobactérie peut de ce fait, par le biais de plusieurs chaines respiratoire, produire de l'énergie grace à la réduction des composés oxygénés alternatifs comme le nitrite, le fumarate, le diméthylsulfoxyde (DMSO) ou le triméthylamine N-oxyde (TMAO). C'est chez cette bactérie que les systèmes respiratoires ont été les mieux caractérisés. Elle représente ainsi une bactérie modèle pour l'étude de ces systèmes respiratoires et en particulier pour l'étude du système respiratoire utilisant le TMAO comme accepteur final d'électrons (100).Cette multiplicité des chaines respiratoires permet ainsi aux bactéries de s'adapter à leur biotope et aux différentes conditions de croissance.

II.4.2.La membrane cytoplasmique:

A l'instar des bactéries à gram négatif, cyanobactérie possède une double membrane. La membrane externe, en contact direct avec le milieu extérieur, est composée d'une double couche de phospholipides et contient de nombreuses protéines dont des porines chargées d'assurer le passage de molécules hydrophiles en formant des canaux.

La membrane interne est également composée d'une double couche phospholipidique hydrophobe dont la perméabilité est rendue possible par la présence de protéines dénommées perméases. De nombreuses enzymes et notamment celles qui interviennent dans le métabolisme énergétique sont insérées dans cette membrane. Entre ces deux membranes se trouve le périplasme. Il contient une mince couche de peptidoglycane et un espace dans lequel s'accumulent des enzymes capables de dégrader des substances prélevées dans le milieu

extérieur et nécessaire au métabolisme de la bactérie, des enzymes de détoxification (vis-à-vis des antibiotiques par exemple), des protéines affines pour des sucres, des acides aminés, des vitamines ou des minéraux dont elles aident l'absorption (100).

II.4.3.La fermentation:

La fermentation est un procédé utilisé par les cellules pour produire de l'énergie où un

substrat approprié est métabolisé à fabriquer de l'ATP par phosphorylation au niveau du substrat (SLP). Les voies de fermentation fonctionnent dans conditions de croissance anaérobies lorsque les accepteurs d'électrons ne sont pas disponibles pour soutenir la respiration cellulaire (par exemple sans O_2, nitrate, TMAO, ou DMSO présent). Les rendements énergétiques de fermentation sont faibles et, par conséquent, les cellules se développent plus lentement que quand elles respirent.

Chapitre III

Matériel et méthodes

III Matériel et méthodes

III .1.Matériel :

III.1.1.Matériel Biologiques:

La souche utiliser dans ce travail est la spiruline apporté à l'espèce Arthrospira platensis, originaire de Tamanrasset (variété propres à la région), La souche a été cultivée dans le milieu de culture Zarrouk, favorable à sa croissance.

III.1.2.Matériel non biologiques

III.1.2.1.Milieu de culture :

Le milieu de culture doit contenir tous les éléments nécessaires à la croissance de la spiruline et au bon développement de celle-ci. Il est conservé à l'abri de la lumière à pH égal à 9.5.Sa composition est donnée dans le tableau.

Le milieu Zarrouk préparé est stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes.

Tableau 3: Composition chimique du milieu Zarrouk.(Zarrouk, C, 1966).

Composés	Concentration (g.L-1)
$NaHCO_3$	16.80
K_2HPO_4	0.50
$NaNO_3$	2.50
K_2SO_4	1.00
NaCl	1.00
$MgSO_4.\ (7H2O)$	0.20
CaCl2	0.04
$FeSO_4.\ (7\ H2O)$	0.01
EDTA	0.08

A 1 L de la composition ci-dessus, on a ajouté 1 ml de chacune des solutions d'oligo-éléments A5 et B6.

Tableau 4: Composition chimique de la solution A5(Zarrouk, C, 1966).

Oligo-éléments	Concentration (g.L-1)
H_3BO_4	2.86
$MnCl_2.4\ H2O$	1.80
$ZnSO_4.7\ H2O$	0.22
$CuSO_4.7\ H2O$	0.08
MoO_3	0.01

Tableau 5: Composition chimique de la solution B6(Zarrouk, C, 1966).

Oligo-éléments Concentration (g.L-1)	Concentration (g.L-1)
$K_2Cr(SO_4).24H2O$	960×10-4
$NiSO_4.7H2O$	477×10-4
$Ti(SO_4)_3$	400×10-4
NH_4VO_3	229×10-4
Na_2WO_4	179×10-4
$Co(NO_3)_2.6H2O$	44×10-4

III.1.2.2.Appareillage :

Nous avons utilisés des appareils pour réaliser notre travail tel que :

- Microscope optique (OPTIKA microscope)
- Spectrophotomètre (UV-2005J.Pselecta.sa)
- Agitateur (XH-B)
- pH mètre (KY-PH-002)
- Balance (KEREN ALS 220-4N)
- Luxmètre (1308SI)
- Programmateur journalier à curseurs, Programmateur électronique hebdomadaire, Pompe air aquarium, Accessoires de pompe à air, une lampe torche (18W).

III.1.2.3.Verreries et petits:

- Pipettes graduées (1ml, 5ml, 10ml)
- Béchers : 50ml, 1000ml
- Erlenmeyer de 250ml
- Lames, lamelles, filtre en papier, spatule, pissette, entonnoir…..).

*Dispositif expérimental :

Le travail de ce thème est réalisé au laboratoire de biologie à faculté de science de l'université de Médéa.

***Les photobioréacteurs:**

Les photobioréacteurs utilisés durant notre expérience sont des photobioréacteurs cylindriques de volume 500 ml et 250ml, ses dimensions sont 6,5cm de diamètre extérieur et 13 cm de hauteur pour sa partie centrale et pour les photobioréacteurs de 250 ml son diamètre extérieur 5cm et sa hauteur 11,5cm. Ils possèdent des surfaces éclairées sont des 19,62 et 33,17 cm2 respectivement.

III.2.Les méthodes :

III.2.1.Conditions de culture :

III.2.1.1. Agitation:

Une agitation était nécessaire pour permettre aux cellules l'accès aux nutriments et à la lumière, elle a été assurée par une pompe que nous avons actionnée une heure le matin pendant toute la période de l'expérimentation(Zarrouk, 1966).



Figure 13: agitation des flacons

III .2.1.2. Eclairement :

Le photobioréacteur est éclairé sur un côté, à l'aide de lampe fluorescente de couleur blanche (18W), émette dans les longueurs d'ondes similaires à la lumière blanche. Les intensités lumineuses incidentes du réacteur sont mesurées à l'aide d'un luxmètre. Une cycle périodique 12 de /12 d'obscurité.

- Le pH initial était 9.5±0.5 .Le pH optimum d'une culture fluorissante varie de 9.5 à

11.3 (Sarada et al., 1999).

- La température comprise entre 28-32°C.

III .2. 2. Ensemencement:

Ensemencement dans un site dépourvu de la spiruline, nous avons démarré l'expérimentation avec un volume de 400ml de spiruline souche (inoculum), auquel nous avons ajouté un volume 350ml de milieu de culture Zarrouk afin d'obtenir au moment de la récolte de 750 ml de qui par la suite répartie en 2 flacons de même volume 500 ml .Le milieu synthétique (milieu Zarrouk) est ajusté à pH = 9 ± 0,5 par addition de NaOH.

III.2.3.Examen à l'état frais:

La forme et la couleur de la Spiruline varient en fonction du caractère physique et chimique du milieu environnant dans lequel vit la Spiruline. L'observation de la morphologie est réalisée par un microscope optique à l'état frais et à l'étude de frottis.

III.2.4. Mesure la concentration de cultures :

La concentration des cultures est suivie par la mesure de la densité optique à 618 nm ,une courbe étalon est établi entre les valeurs des densités optiques et la concentration en poids sec des cultures. Le poids sec des cultures est déterminé selon la méthode de Vanshak (1997) le calcul des poids sec pour chaque culture est obtenu de l'équation de Beer Lambert.

$$DO = \text{Log } I0/I = \varepsilon * L * C \qquad [1]$$

- La loi de Beer - Lambert

Principe: Un spectrophotomètre (colorimètre) est un appareil qui permet de faire passer delalumière blanche (toutes les longueurs d'onde) à travers une solution et demesurerl'intensité de lumière transmise en fonction de la longueur d'onde.

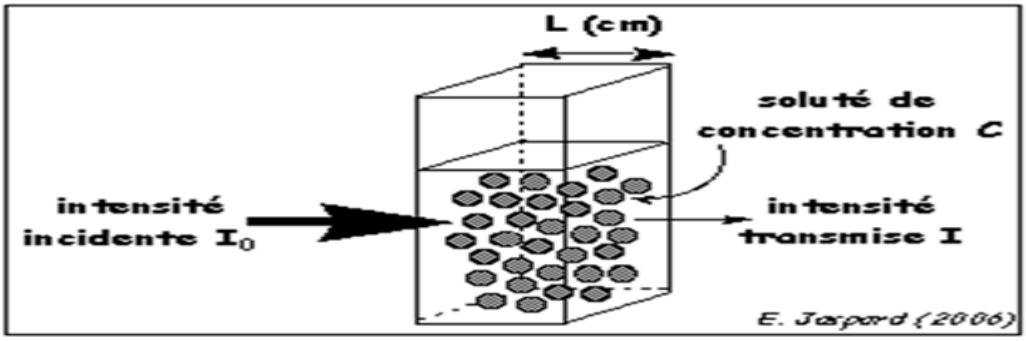


Figure 14 : la cuve (largeur 1cm).

Pour une longueur d'onde donnée et une épaisseur de la cuve donnée : Soit (Giraldine-Andréani C,2005)

- I : l'intensité de longueur d'onde transmise à travers une solution de concentration c (en mol/l) dans le spectrophotomètre,

- Io : l'intensité de lumière transmise à travers le solvant pur On définit alors l'absorbance A par :

- ε : Coefficient d'extinction moléculaire ;

- C : Concentration du corps absorbant dans la solution.

- l : longueur de la cuve (1 cm en général, avec une précision de 1 %)

Dans notre étude la concentration des cultures est déterminée à partir de courbeétalonnage établi entre la DO et la concentration poids sec de culture

$$DO = a*C + b \quad [2]$$

Avec: $$a= \varepsilon*l \quad [3]$$

III 2.4.1. La courbe d'étalonnage :

Le lien entre la densité optique et le poids sec de la spiruline, représente la concentration cellulaire exprimée en g. L-1 est mesurée comme suit:

1. Des suspensions de 50 ml de culture à différentes concentrations sont préparées puis filtrées à travers des filtres (Wattman) préalablement séchées dans l'étuve pendant 24 h pendant une nuit à 70°C (ou bien 2 h à105°C). Elles sont ensuite l'aisées pour refroidissement et déshumidification dans le dessiccateur.

2. Chaque filtre est pesé (P0) et numéroté de 1 à 5.

3. Après filtration de la suspension algale, on lave avec 20 ml d'eau acidifiée (pH = 4) pour enlever tous les sels insolubles de l'algue.

4. Les filtres sont mis dans des boites de pétri en verre puis dans l'étuve dans les mêmes conditions que précédemment.

5. Après refroidissement dans le dessiccateur, elles sont pesées une deuxième fois (P1). (Vonshak .A.,1997).

Le pois sec est calculé selon l'équation suivante:

$$Ps= (P1 - P0)*20 \quad [4]$$

III.2.5. Cinétique de croissance de spiruline :

L'étude de la croissance d'une culture constitue le premier chemin vers des connaissances de base sur la souche .il est important de suivre l'évolution de la cinétique de croissance de la spiruline, afin de déterminer le taux maximale de croissance.

Ayant déjà optimisé les paramètres de croissance, nous avons suivie au cours du temps le développement de la spiruline dans les conditions les plus favorable à sa croissance.

Cette étude a donc était faite sur une culture de spiruline avec une concentration de 0.8g/l sous une intensité 1000 lux, PH 9.5 une agitation chaque heure et T° = 30°C± 2 °C.

III.2.6.Mesure des paramètres cinétique de croissance :

III.2.6.1. La vitesse de croissance :

La vitesse de croissance ou taux de croissance μmax, le temps de génération G ainsi que la productivité P sont calculés à partir des formules suivantes :

Taux de croissance ou vitesse de croissance correspond au nombre de division cellulaire pour temps de croissance. Calculer selon l'équation(Falquet.J,et al., .2006) :

$$\mu max = (\ln X2 - \ln X1) / (t2 - t1) \ln 2 \quad [5]$$

Tel que ln X2 et ln X1 sont de fonction népérienne des concentrations de biomasse

III.2.6.2.La productivité volumique :

La productivité volumique d'un système de culture est une grandeur largement utilisée pour caractériser ses performances et comparer différents systèmes entre eux.

La productivité volumique (Pv) définit la quantité de biomasse produite par volume de culture et par unité de temps(J.Falquet et al., .2006).

$$Pv = (Cf - C0)/ (t2 - t1) \quad [6]$$

Tel que :

Cf : lion a concentration finale

C0 : la concentration initiale

t2 et t1 sont les temps de croissance.

III.2.6.3.Rendement :

Appelons YX/S le rendement instantané de croissance (Y pour yield = rendement en anglais):

$$R = YX/S = Xf\text{-}X0/S0\text{-}Sf \quad [7]$$

Tel que :

Xf : la concentration finale de culture.

X0 : la concentration initiale de culture.

S0 : la concentration initiale du substrat.

Sf : la concentration finale du substrat.

YX/S s'exprime en « quantité de X formé par quantité de S consommé » (par exemple en g de biomasse par g de S).

YX/S dépend a priori des conditions physiologiques à un instant t de la culture. Ainsi, si S est la source de carbone et d'énergie d'un milieu (du glucose par exemple), YX/S plus élevé en phase exponentielle (S est utilisé comme source de carbone et d'énergie pour la croissance et la maintenance) qu'en phase de ralentissement proche de la phase stationnaire (S est utilisé comme source de carbone et d'énergie pour une maintenance "rallongée" accompagnée de peu d'utilisation vers la croissance)

III.2.7.Effet de source de carbone sur la croissance de spiruline :

III.2.7.1.Effet de la concentration des glucides:

Les cultures de Spiruline sont maintenues dans des conditions d'éclairement, de température et de débit d'air identiques. La culture de la souche de spiruline est menée dans des flacons de 125 ml pour un volume de milieu de culture de 50 ml, la température à 34 °C. A l'aide d'une lampe fluorescente La souche est exposée à une intensité lumineuse de 1000 Lux. Un programme assure 12 h de lumière et 12 h d'obscurité .La couleur de la culture de spiruline est un indicateur sur l'état des cultures.

Les microalgues sont cultivées dans des flacons de 0.125L pour un volume de milieu de culture de 50 ml. Les cultures sont maintenues à la température ambiante.

Effet du glucose :

Dans cette étape on a préparé 5 flacons contenant 50 ml de suspension algale à différentes concentrations de glucose : (1.5g/, 2g/l, 2.5g/l ,3.5g/l, 4g/l)



Figure 15: culture de spiruline sur milieu Zarrouk à différentes concentration de glucose

Effet de la mélasse :

L'effet de mélasse sur la croissance de spiruline, on prépare le milieu Zarrouk a différentes concentration de mélasse: (0.5g/l ,0.75g/l, 1g/l ,1.5g/l 2g/l)

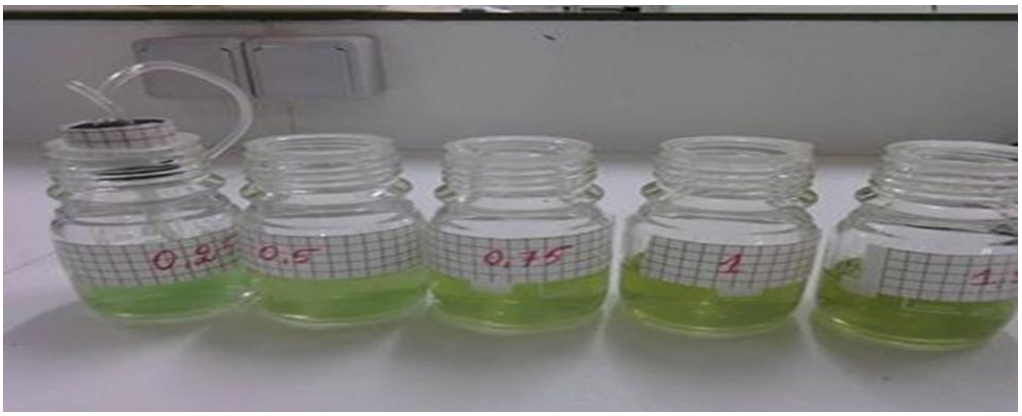


Figure 16:culture de spiruline sur milieu Zarrouk + différentes concentration de mélasse

Effet de l'amidon :

Pour voir l'effet de l'amidon sur la croissance de la spiruline en procède comme le glucose (0.5g/l ,0.75g/l, 1g/l ,1.5g/l 2g/l)

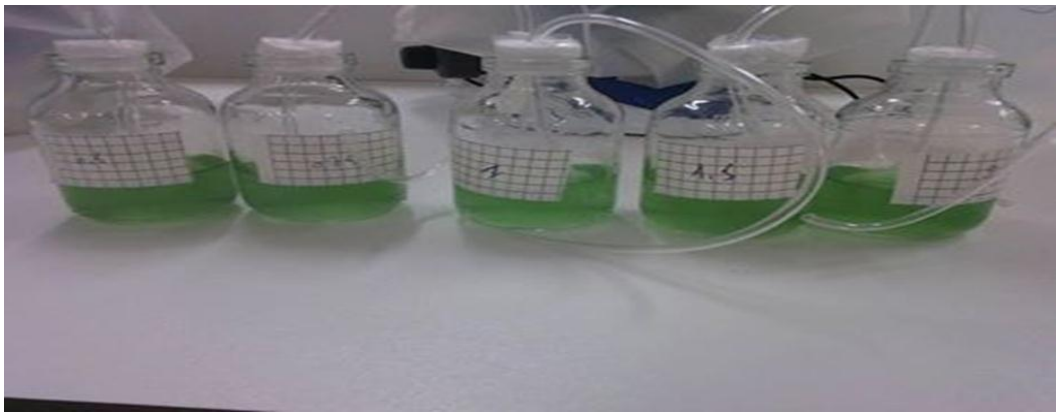


Figure 17: culture de spiruline sur milieu Zarrouk à différentes concentration de l'amidon

Tableau 6 : les différentes concentrations des trois sucres

substrat	**Concentrations utilisés g/l**				
Glucose	1.5	2	2.5	3.5	4
Mélasse	0.25	0.5	0.75	1	1.5
Amidon	0.5	0.75	1	1.5	2

La mesure de la concentration en spiruline :

- permet de préciser la source de carbone optimum et convenable pour la croissance en mixotrophie de la spiruline.

La mesure de la concentration de spiruline à différente source de carbone permet de tracé la cinétique de croissance de spiruline

- Elle permet aussi de suivre la cinétique de croissance de la spiruline dans un bioréacteur

III.2.8.Etude de la composition chimique de filtrat de culture :

III.2.8.1.Dosage des bicarbonates :

- Placer dans un bécher V2 = 64ml de filtrat mesurée avec une fiole jaugée.
- Verser dans la burette de 50 ml une solution d'acide chlorhydrique de concentration ca C2= 0,150 mol.L-1 après l'avoir lavée à l'eau et prélavée avec la solution.
- Ajouter quelques gouttes de l'indicateur coloré (rouge de méthyl)
- Titre goute a goute jusqu'à virage de couleur de jaune vers rouge

$$C1.V1=C2.V2 \qquad [8]$$

Tel que :

C1: concentration résiduel de bicarbonate

V1: volume de filtrat

C2: concentration de l'Hcl

V2: volume de l'Hcl.

III .2.8.2. Dosage des sucres totaux:

Les sucres totaux sont déterminés selon la méthode de (Dubois et al.,1956) dont le principe repose sur la réaction suivante : l'acide sulfurique concentré provoque, à chaud, le départ de plusieurs molécules d'eau à partir des oses. Cette déshydratation s'accompagne par la

formation d'un dans le cas d'hexose et d'un furfural dans le cas d'un pentose. Ces composés se condensent avec le phénol pour donner des complexes colorés (jaune-orangé). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des oses. La densité optique est mesurée à 492nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Réactifs :

- Phénol 5 % dans l'eau distillée.

- Acide sulfurique concentré à 95% de pureté et de densité d = 1,84.

Protocole :

- Ajouter à 1 ml d'échantillon, 1 ml de phénol et 5 ml d'acide sulfurique concentré. Agiter et

Laisser reposer 10min à température ambiante. - Incuber au bain marie à 30°C pendant 20 min.

- Mesurer la coloration jaune orangé à 492 nm, les valeurs obtenues sont traduites en

concentrations de glucose par référence à une courbe d'étalonnage préalablement établies

III.2.8.3.Détermination du taux de cendres:

La teneur en cendres (minéraux) a été estimée par incinération au four à 550°C de façon à obtenir la totalité des cations sous forme de carbonate et autres sels minéraux anhydres (AOCS, 1990).

Le taux de cendres a été déterminé après incinération d'une prise d'essai dans un four à moufle réglé à 550°C pendant 3h. Les résultats, exprimés en pourcentage du poids de cendres par rapport au poids initial, ont été obtenus à partir de l'expression suivante :

$C= (m2-m0) / (m1-m0)*100$ [9]

C : Taux de cendres, exprimé en pourcentage (%) en masse ;

m0 : Masse, en gramme, du creuset vide ;

m1 : Masse, en gramme, du creuset et de la prise d'essai ;

m2 : Masse, en gramme, du creuset et son contenu (cendres) après incinération

III.2.9.Effet de la lumière et de X_0 :

La source de carbone qui présente une meilleur croissance est représentée par les étapes ultérieures.

*L'étude de l'effet de l'intensité et de la concentration de biomasse sur la croissance de la spiruline sont des paramètres qui montre des interactions entre eux .afin d'optimiser la croissance on utilise une série de concentration X_0 sur une gamme de l'intensité I pour déterminer les meilleur conditions pour la croissance.

Le milieu utilisé est le milieu Zarrouk additionné du substrat carbonique (meilleur substrat la mélasse) avec une concentration de 0.75 g/l. L'étude a été faite sur 20 flacons de 250 mL avec différents concentrations égale à 0.15, 0.3, 0.6 et 1g/l. Ces flacons sont exposés à différentes intensité lumineuses : 1000 LUX ,1500 LUX ,2500 LUX, 5000 LUX et 10000LUX.

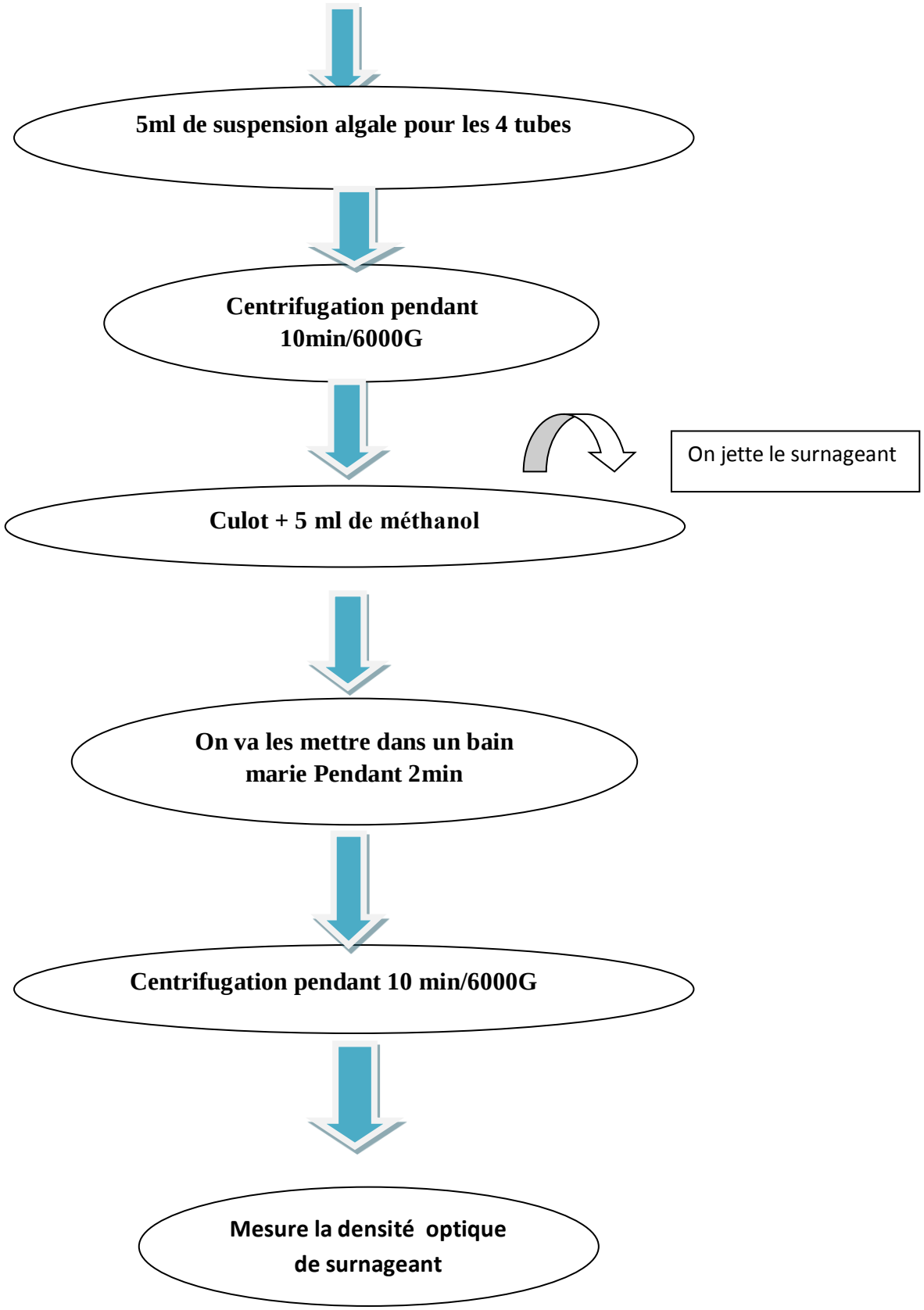


Figure 18: culture de spiruline sur milieu Zarrouk + 0.75g/l de mélasse.

III.2.10. Détermination de chlorophylle:

Les teneurs en chlorophylle-a sont déterminées à la fin de croissance de culture par la méthode spectrophotométrie (Falquet J. et all.2008). Les étapes d'extraction et purification sont résumes dans l'organigramme suivant :

- Les étapes d'extraction de chlorophylle



La densité optique de surnageant est lue au spectrophotomètre (UV - Visible) à 652 nm

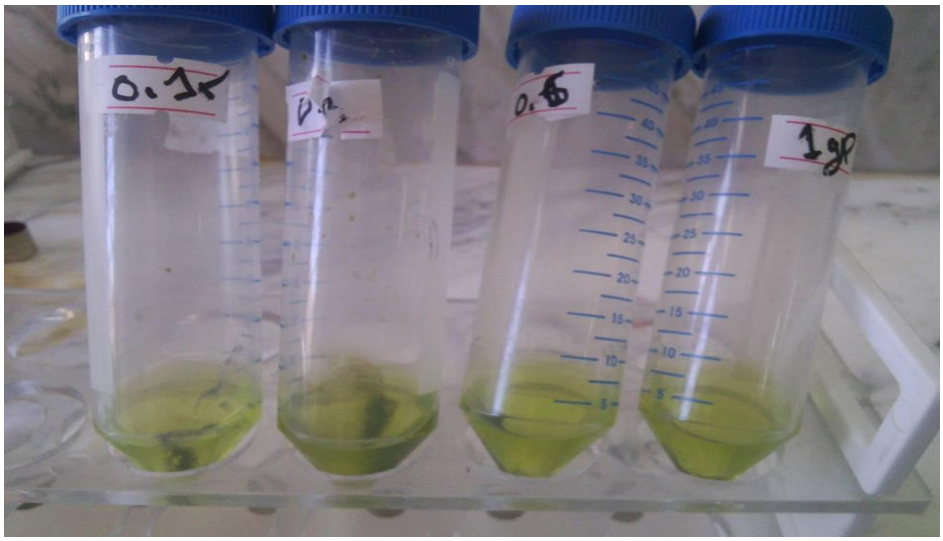


Figure 19: l'extraction et purification de chlorophylle

La quantité des chlorophylles a été calculée selon les équations suivantes (Hansmann, 1973) :

$$T=C*1000/X*f \quad [10]$$

T: teneur en chlorophylle

C: concentration de chlorophylle mg/mL

X: concentration de spiruline

F:13.9

Avec :

$$C=DO652*13.9 \quad [11]$$

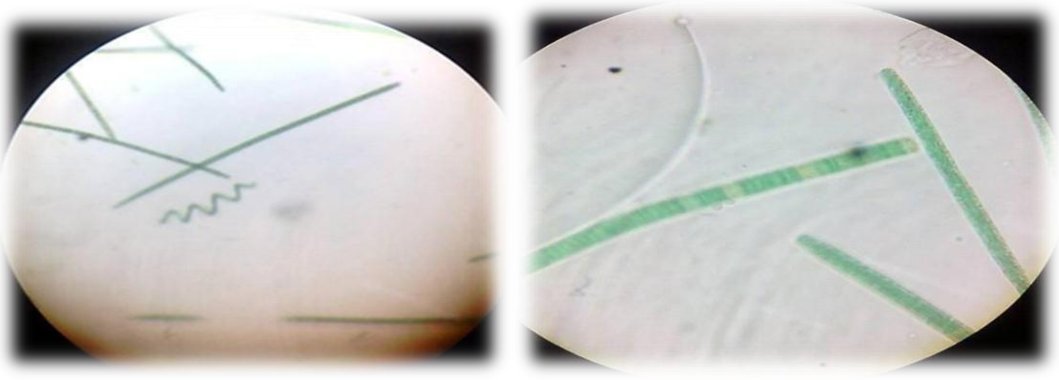
Chapitre IV

Resultats et discussions

IV.1.Observation microscopique:

L'observation au microscope optique, nous a permis d'identifier la morphologie et les caractérisations de la spiruline (changement des couleur, la taille et la forme) .

Les filaments sont de couleur bleue verte fluorescente, avec une abondance de la forme droite par rapport à la forme spiralée.



-a- GX4**00** **-b-** GX1000

Figure 20: observation microscopique de la spiruline

IV.2.Etude de la croissance de la spiruline:

Le courbe étalon:

Pour déterminer la concentration de la culture de spiruline; on a réalisé une courbe étalon densité optique (DO) en fonction de poids sec, la figure 21 présente les différentes densités optiques en fonction du poids sec (Ps) de la souche .la courbe étalon montre une droite qui passe à travers les points expérimentales avec R^2 proche de 1 (0.967) avec une équation

DO = 1,1482 Ps + 0,0853

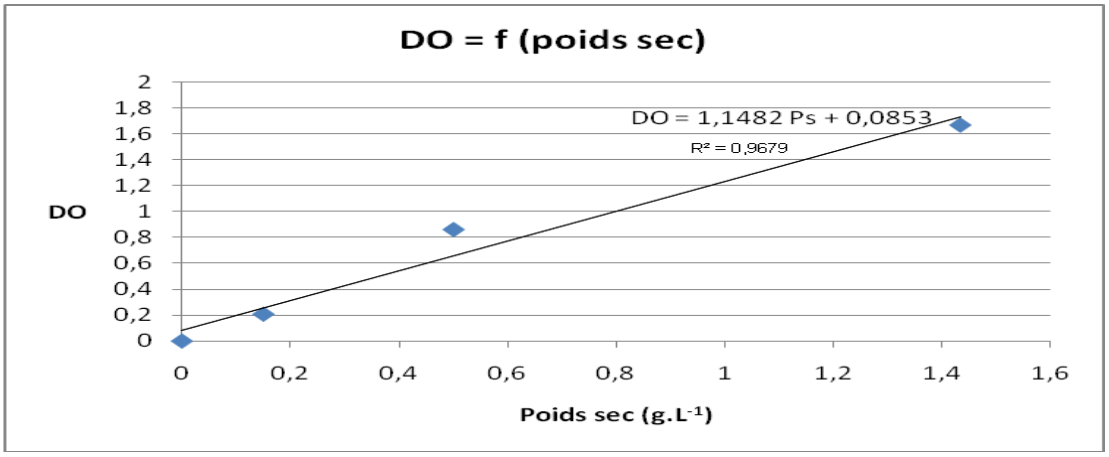


Figure 21: Courbe étalonnage mettant en relief la relation entre la densité optique et le poids sec de la souche

IV .3. Cinétique de croissance de spiruline:

Au cours de la cinétique de croissance de la spiruline nous avons suivie l'évolution de la Concentration cellulaire de la culture en fonction du temps. Ces résultats obtenus sont résumés dans la figure 22:

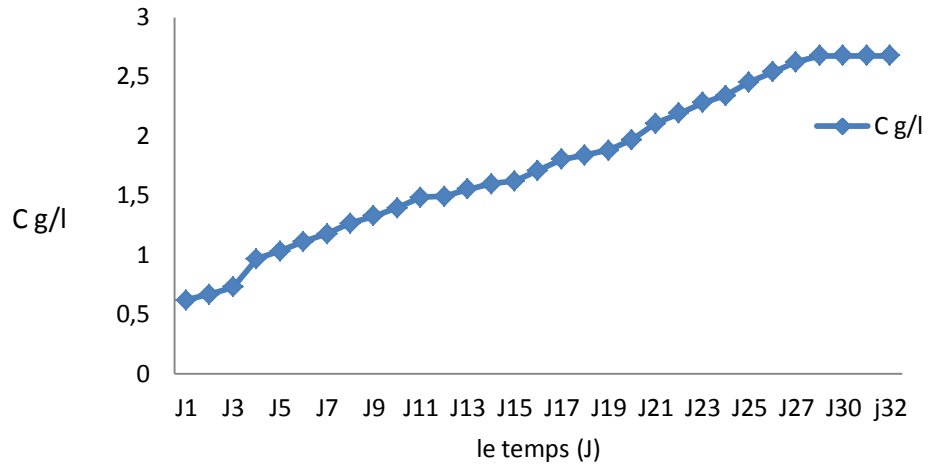


Figure 22: courbe de croissance de la souche spiruline

Nous remarquons que l'allure de croissance correspond parfaitement à une cinétique classique en sigmoïde, nous observons quatre phases :

- Une première phase dans l'intervalle de temps (0j, 4j), la légère remontée de la courbe correspond à la phase d'accélération, la présence de cet est due au changement du pH du milieu.
- une deuxième phase dans l'intervalle de temps (4j, 24j) .l'accroissement de la courbe correspond à la phase exponentielle .cet accroissement de la concentration cellulaire s'explique par une utilisation du substrat qui est abondant dans le milieu et qui permet à la spiruline de se multiplier de façons exponentielle.
- Une troisième phase dans l'intervalle de temps (24j, 27j) .on remarque un léger ralentissement de la croissance du au commencement de l'épuisement du substrat, et a l'accumulation des déchets.
- Une quatrième phase dans le domaine de temps (27j, 32j). un palier est atteint, et il correspond à la phase stationnaire, avec un taux de croissance quasi nul .durant cette phase on est face à un épuisement du substrat, dans ce cas il est donc nécessaire se renouveler le milieu de culture.
- Le calcul du temps de génération est régit par la loi suivante :

  $G= 1/\mu \Longrightarrow G= t-t0/\ln X-\ln X0$

G= 32 /ln2.676-ln 0.8

G=0.991 j

Dans notre cas le temps de génération spécifique est de l'ordre de 23 h**.** Ce temps de génération est très proche de celle décrit par vanshak ,2002 (20 h), cella est due aux conditions stables trouvées au laboratoire.

IV.4.Effet de concentration de différente source de carbone sur la croissance de spiruline :

Dans cette partie on a suivre la cinétique de croissance de spiruline à différentes concentration de sources de carbone : sucre simple (glucose), polysaccharide (mélasse et amidon).

IV.4.1. Effet du glucose:

Effet de concentrations du glucose sur la croissance de la spiruline est présenté dans la figure 23 :

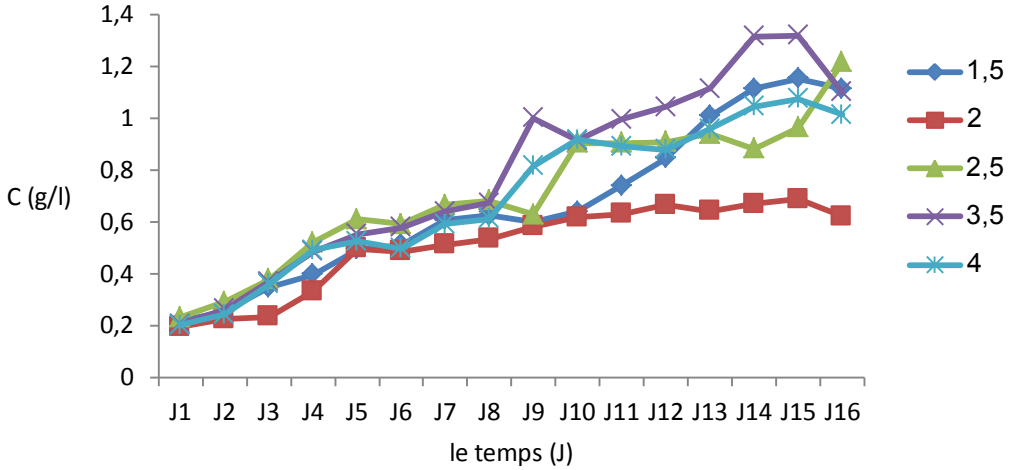


Figure 23: effet de concentrations du glucose sur la croissance avec 1000 lux

De ce graphe on observe que pour différentes concentrations de source de carbone, à l'intensité lumineuse 1000 lux croissance maximale est obtenu pour la concentration de 2.5g/l. au-delà de cette valeur la croissance régresse avec la concentration de source de carbone

IV.4.2 .Effet de la mélasse :

Croissance de la spiruline sur différentes concentration de mélasse sont présentés dans la figure 24 :

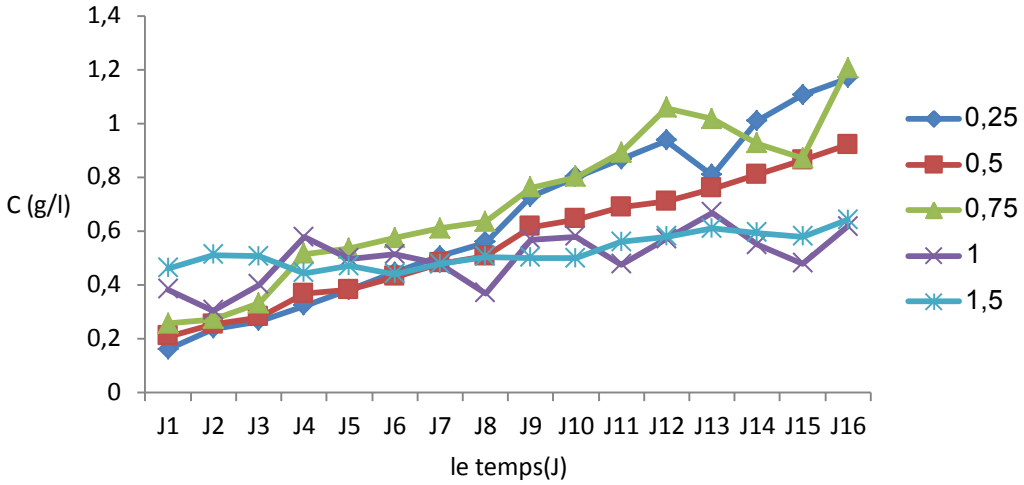


Figure 24 : effet de la concentration de la mélasse sur la croissance à 1000 lux

A partir de la courbe, on observe que pour différentes concentration de mélasse, la croissance à l'intensité lumineuse 1000 lux est plus élevé obtenue à la concentration de 0.75g/l

IV.4.3.Effet de l'amidon :

L'allure de croissance de spiruline aves différentes concentration d'amidon est illustrée dans la figure 25:

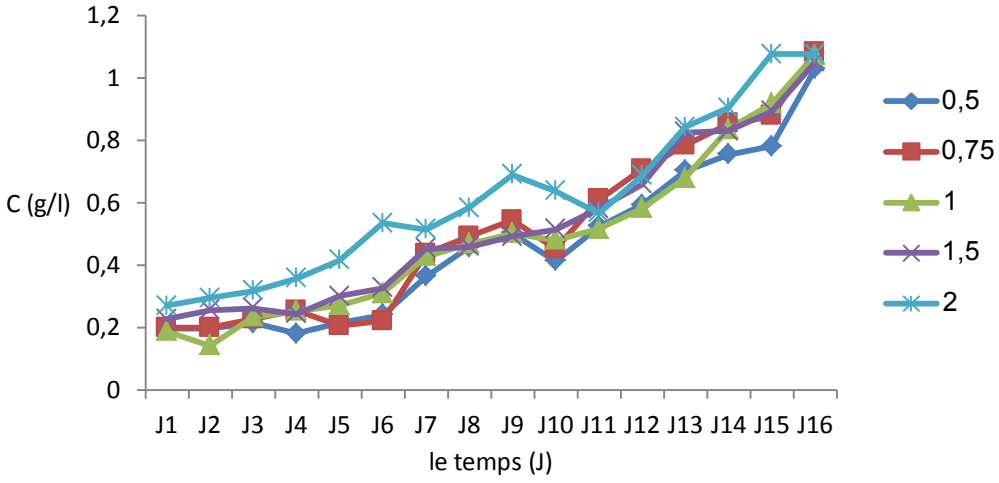


Figure 25 : effet de concentrations de l'amidon sur la croissance à 1000 lux

De ce graphe on observe que pour différentes concentration de culture, la croissance est proportionnelle avec la concentration d'amidon dans le milieu jusqu'à valeur de 0.75g/l

Puis diminue pour les concentrations de 1, 1.5 et 2 g/l.

IV.4.4. Comparaison de la cinétique de croissance sur les trois sources de carbone :

La cinétique de croissance de spiruline sur les trois sources de carbones est présentée dans la figure 26 :

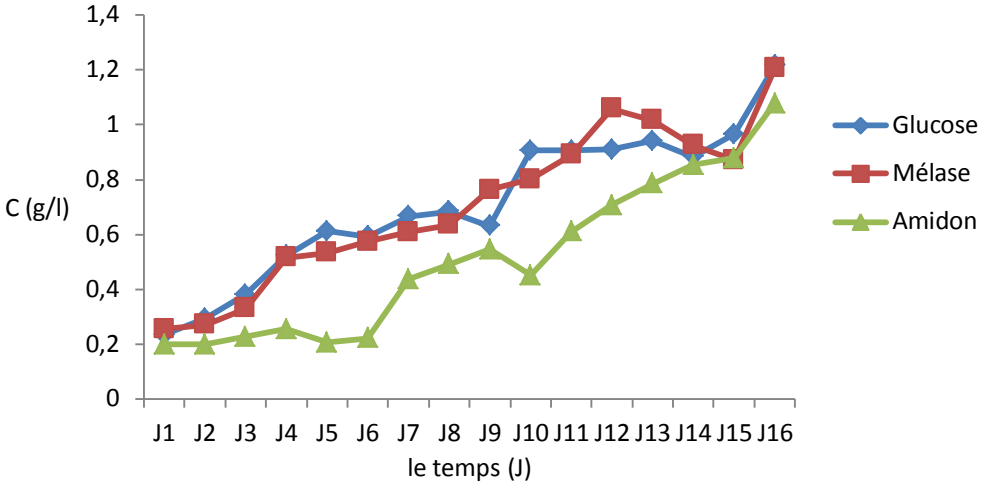


Figure 26: cinétique de croissance maximale de spiruline obtenue pour (Glucose [2.5g/l], amidon [0.75g/l], mélasse [0.75g/l]).

La croissance de spiruline en mixotrophie utilise les glucides comme source de carbone et d'énergie.

Au-delà de ces valeurs optimales de concentration, la croissance régresse cela est peut être expliqué par l'effet de glucide en excès qui inhibe la réaction de la photosynthèse.

À 16 ème jour d'expérience on a obtenu une concentration plus élevée de 1.216 g/l pour le glucose, 1.206g/l pour le mélasse, et 1.073/l pour l'amidon. On peut conclure que le glucose est le mieux adapté pour la croissance de spiruline qui donne une production de biomasse plus élevée .ces résultats sont en accord avec ceux remporté par (M.R. Andrade, J.A.V. Costa,2007) , (Ogawa et all, 1981),(Marquez et al., 1995)et (Chen et al., 2009).

Cette croissance optimale peut être expliqué par l'effet de glucose parce qu'il est un sucre simple rapidement assimiler et facilement biodégradable par la spiruline, la mélasse est un composé complexe qui contient du raffinose (tri saccharide), des pigments et des minéraux ; donc il prend un peu plus du temps pour être dégradé par la spiruline. Pour l'amidon est un glucide difficilement soluble ayant une structure complexe, (polysaccharide ramifié). (Zeeman S.C., et all 2010)

.D'après ces résultats on peut conclure que la croissance de spiruline dépond de la nature de glucide.

IV.5.Effet de la nature de source de carbone sur la productivité et µmax :

Les valeurs de productivité des trois sources sont présentées dans les figures (27, 28,29) suivantes :

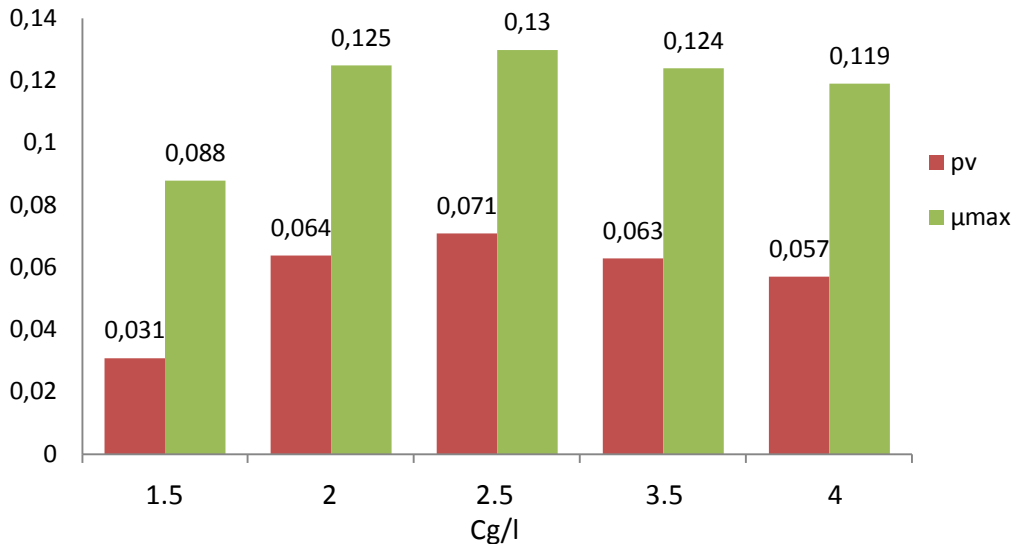


Figure 27 : effet de la concentration du glucose sur la productivité et µmax.

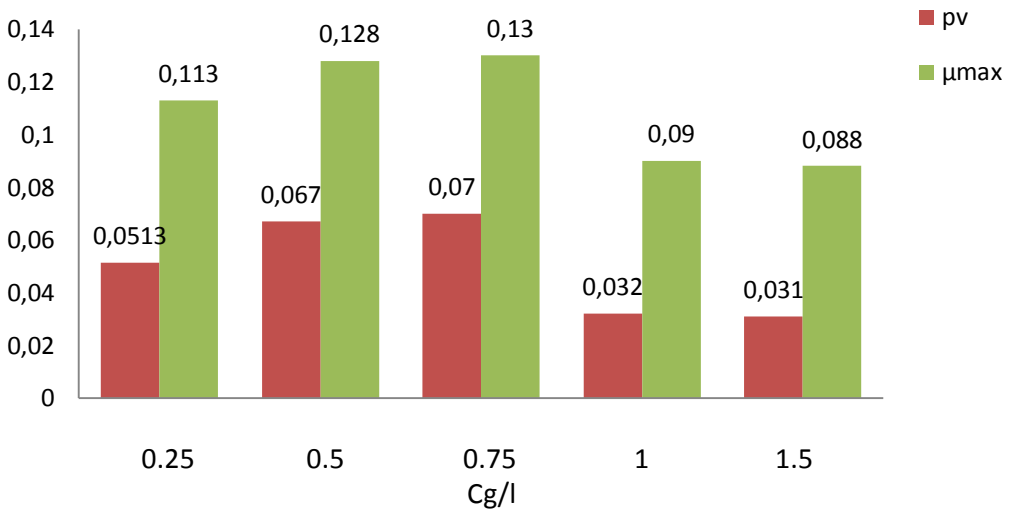


Figure 28: effet de la concentration de mélasse sur la productivité et µmax.

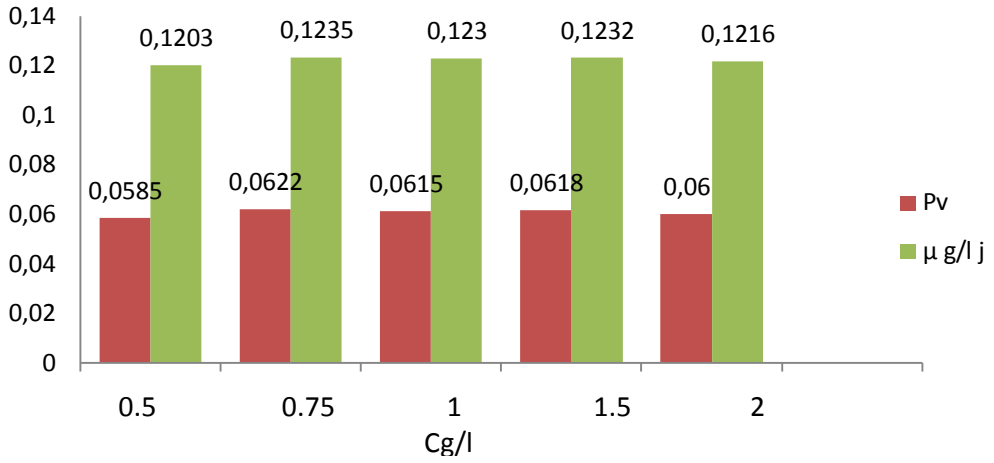


Figure 29: effet de la concentration d'amidon sur la productivité et µ max.

Les valeurs de productivité et µmax sont présentés dans les figures ci-dessus, montrent que la productivité et la vitesse de croissance est proportionnelle avec la concentration de la source de carbone dans chaque expérience.

Les valeur obtenus pour le glucose sont : 0.071, 0.064, 0.063,0.057, 0.031 g /l/j, pour concentration 2.5g /l,2g/l,3.5g/l, 4g/l , et 1.5g/l respectivement et pour la mélasse on a : 0.07 ,0.067, 0.0513, 0.032 ,et 0.31 g /l/j ,pour concentration de 0.75 , 0.5 ,0.25,1, et1.5 g/l respectivement ,et pour la 3ème source de carbone amidon on a des valeurs très proches qui sont les suivants : 0.0622, 0.0618, 0.0615, 0.06 ,0.0585 g /l/j pour des concentration de 0.75,1.5,1,2, 0.5 g/l respectivement .

D'après ces résultats on peut conclure que la meilleure production de biomasse est obtenue par le glucose à 2.5g/l de concentration (0.071 g /l/J) à intensité de 1000lux.

IV.5.1.Comparaison entre la productivité pour les trois sources de carbone :

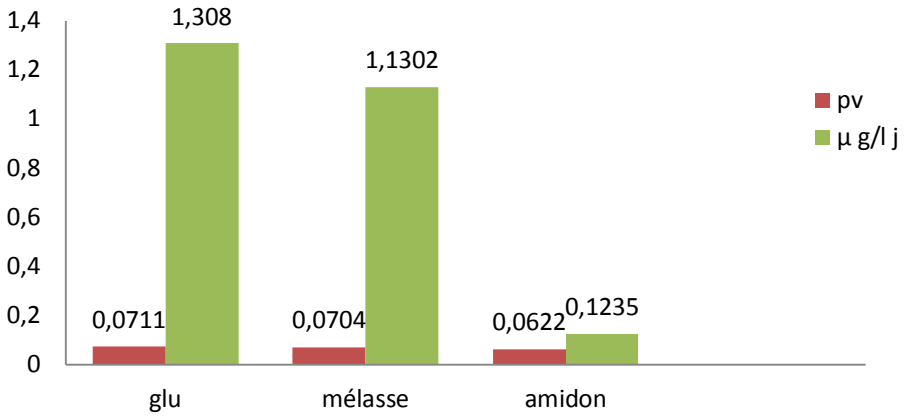


Figure 30:comparaison entre la productivité et le taux de croissance obtenue pour les trois sources de carbone.

A partir de la (Figure 30), on trouve que les valeurs maximales de la productivité sont de : 0.0711 pour le glucose, 0.0704 pour la mélasse et 0.0622 pour l'amidon .on observe que la valeur pour la mélasse est vraiment proche du celle du glucose. De cet effet la mélasse est pris pour le reste de travail comme source de carbone pour la croissance de la spiruline en mixotrophie, d'un autre coté la mélasse est mixture résultant du raffinage (un déchet) produit disponible au bon marché contrairement au glucose, produit pure et couteux.

IV.6.Etude de la composition chimique de filtrat de culture:

IV.6.1.Dosage des bicarbonates résiduel :

le dosage des bicarbonates dans la culture permet d'évaluer l'équilibre acidobasique et évaluer la cinétique de croissance.



Figure 31: Dosage des bicarbonates dans le filtrat de la culture par virage de la couleur.

Calcul de la concentration résiduel du bicarbonate :

C1.V1=C2. V2

C1=C2.V2/V1 → C2= 0.15g/l; V2= 64 ml; V1=50 ml

C1=0.15x64/50

C1=0.195 g/l

Dans ce cas on observe qu'à la fin de l'expérience la concentration du bicarbonate devient 0.195g/l, après qu'elle était 16.8g/l au début de l'expérience, cela indique que spiruline l'utilise comme source d'énergie et de carbone en absence des glucides . La consommation de bicarbonates sur une période de 30 jours est plus de 98%. Ces résultats serviront pour le calcul du rendement de culture.

IV.6.2 Dosage des sucres totaux :

Courbe standard des sucres :

Le courbe étalonnage a été réalisé pour avoir la concentration résiduelle des sucres présents dans le filtrat par simple lecture de la densité optique (DO).

Les résultats de cette étude sont donnés dans (fig.), qui présente les densités optiques en fonction des concentrations sucres à la longueur d'onde de 492 nm.

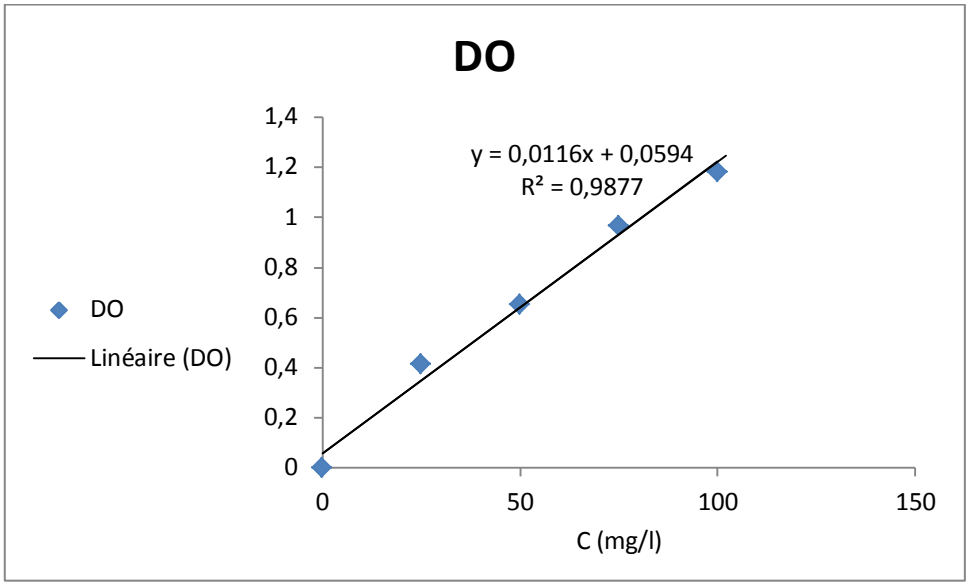


Figure 32: Courbe d'étalonnage de sucres, λ=492 nm.

Après calcul de la concentration à la fin de l'expérience les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 8: concentration initiale et finale des trois source de carbone

	Glucose					Mélasse				
C_0 g/l	1.5	2	2.5	3.5	4	0.25	0.5	0.75	1	1.5
C_f g/l	0.0285	0.0316	0.0122	0.045	0.0687	0.0107	0.0153	0.0103	0.0250	0.0369
	Amidon									
	0.5	0.75	1	1.5	2					
	0.0015	0.00125	0.0097	0.0021	0.0048					

D'après les résultats du tableau, on observe une diminution dans la concentration des substrats utilisés, au cours de l'étude due à l'assimilation des glucides totaux présents dans la

culture, on note une variation brusque de concentration par la spiruline pour ses activités métaboliques.

La teneur du milieu en sucres diminue pendant les phases de croissance. La consommation des glucides devient importante dans la phase exponentielle.

IV.6.3.Calcul du Taux de cendre :

m0 = 38 ,94

m1= 39,54

m2=38,99

C= (m2-m0)/ (m1-m0) x100

C= (38.99-38,94)/ (39,54-38,94) x100

C=8 ,33%

A partir les résultats on trouve que le taux de cendre égale 8.33%

Grâce aux résultats, il a été conclu que le taux de cendre était conforme aux normes (7-10 %).Ce résultat est d'accord avec (CLEMENT, 1975)

IV.7 .Effet de substrat sur le rendement :

Les valeurs de rendement des différents substrats sont présentées dans (la figure 33):

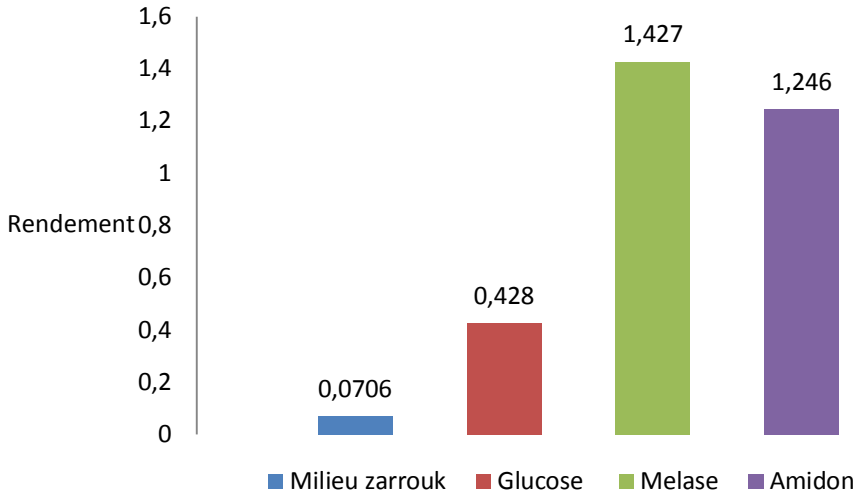


Figure 33 : comparaison entre le rendement obtenue pour les différents substrats

A partir de l'histogramme on observe que les valeurs de rendement sont: 0.0706 ,0.428, 1.427,1.246 pour les substrats milieu Zarrouk, glucose, mélasse et amidon respectivement. On constate que le meilleur rendement obtenu par la mélasse, ce résultat sont en accord avec celle de C.U. Ugwu 2005.

IV.8.effet de la concentration ce l'inoculum X_0 et intensité lumineuse I sur la croissance de spiruline :

Afin de mieux comprendre les interactions des facteurs du milieu, on a réalisé une série de culture à différentes concentration X_0 exposés sur une gamme d'éclairage (1000, 10000 lux),

IV.8.1.Effet de lumière sur la croissance des cultures de faible densité (0.15g/l et 0.3g/l):

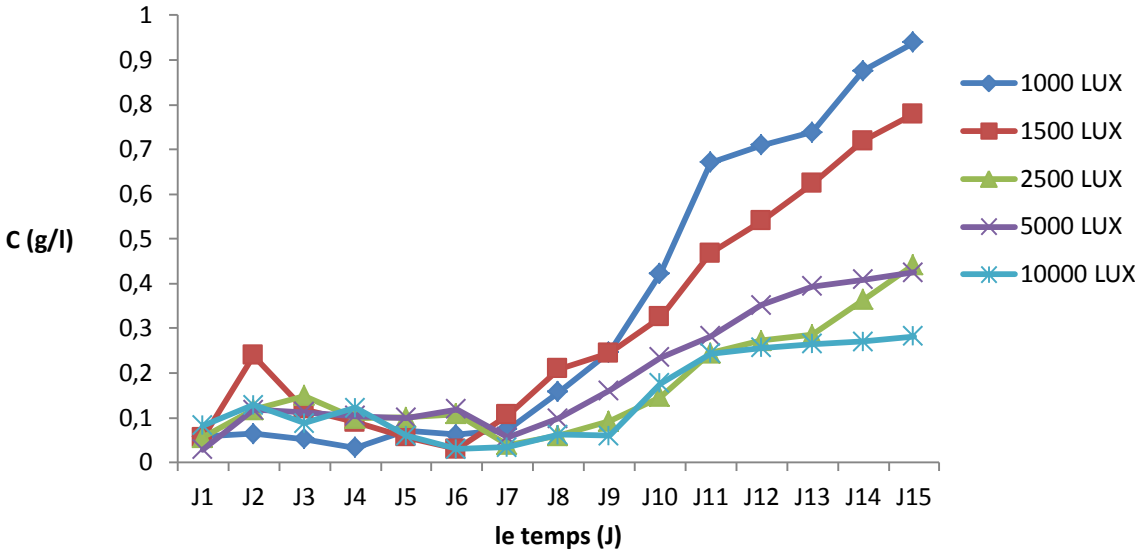


Figure 34: Effet de lumière sur la croissance de la spiruline avec concentration 0.15 g/l.

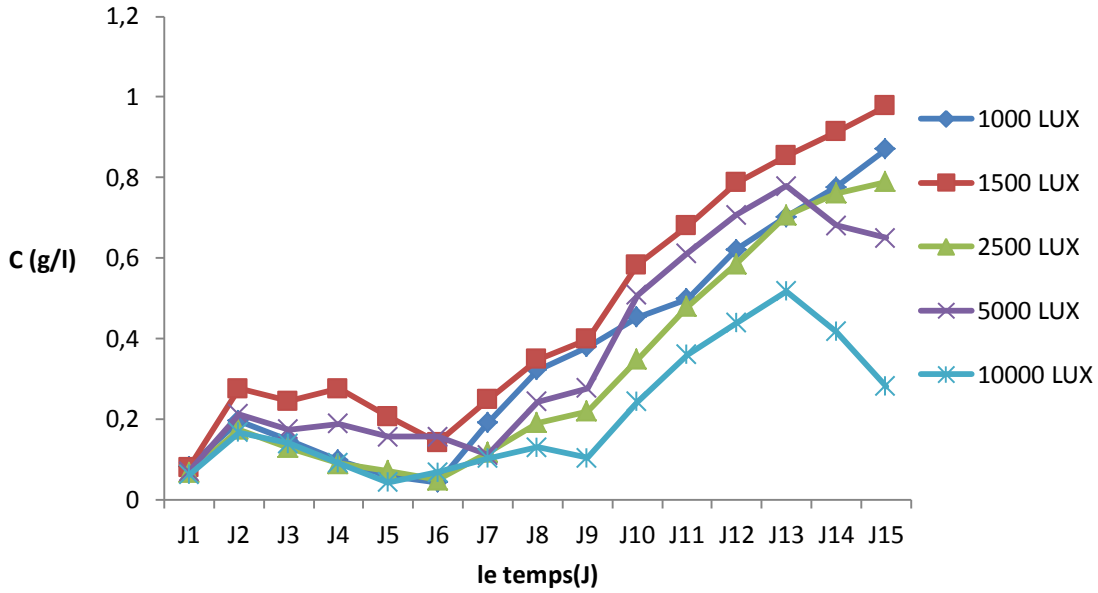


Figure 35: Effet de lumière sur la croissance de la spiruline avec concentration 0.3 g/l.

-Dans ce cas on fixe la concentration à 0.15g/l des intensités lumineuses 1000 lux, 1500lux, 2500lux, 5000lux et 10000 lux pour étudier l'effet de lumière sur la vitesse de croissances de la culture de spiruline, on trouve que à l'intensité 1000 lux une vitesse de croissance plus élevé a 0.084 j-1que celle 1500 lux est 0.054 j-1, 2500lux est 0.044 j-1,5000 lux est 0.019 j-1et 10000 lux est 0.007 j-1. Et un cas aussi on fixe la concentration 0.3 g/l et appliqué différentes intensités, une faible intensité de 1000 lux et de taux de croissance 0.066j-1,1500 lux est 0.076 j-1,2500 lux est 0.047 j-1,500lux est 0.03 j-1 et une forte intensité de 10000 lux de taux de croissance 0.022 j-1, les résultats montre que la vitesse de croissance optimale est obtenue pour des intensités moyennes et de concentration moyennes, cela montre l'avantage de l'application de PBR.

-Ce résultat ouvre de prospection d'application ce type de PBR pour les conditions externe (lumière de soleil).

IV.8.2.Effet de lumière sur la croissance des cultures denses (0.6g/l et 1g/l):

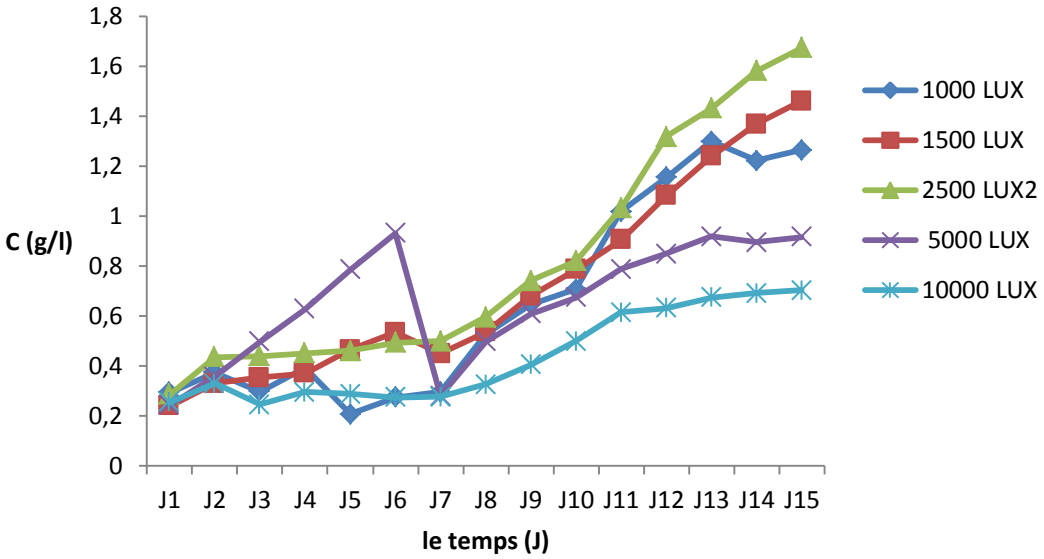


Figure 36 : Effet de lumière sur la croissance de la spiruline avec concentration 0.6 g/l

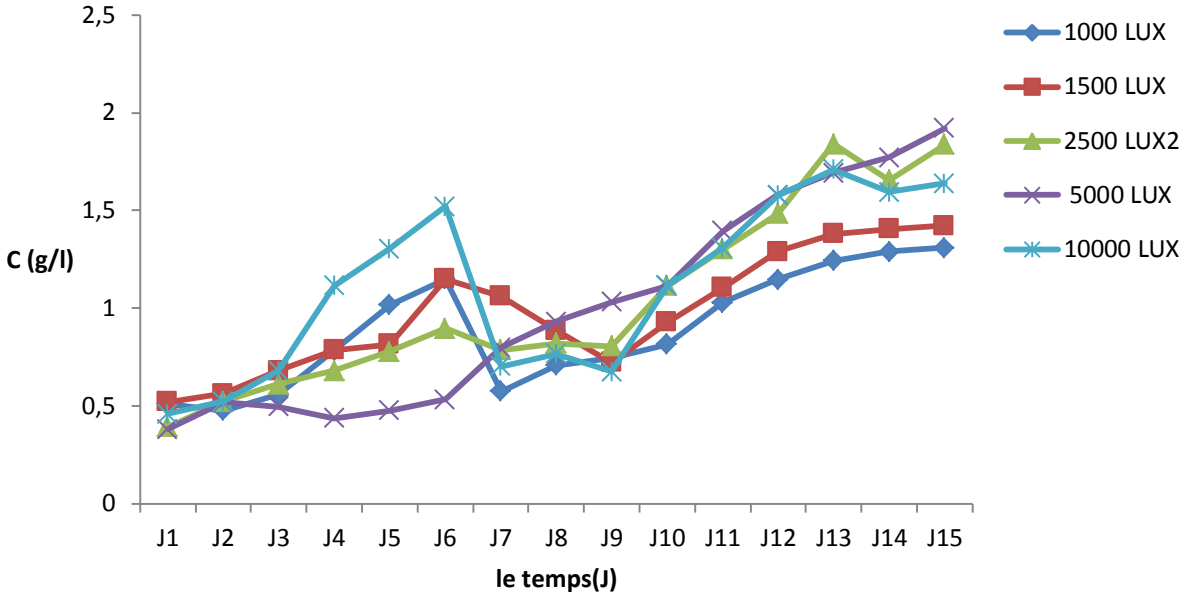


Figure 37: Effet de lumière sur la croissance de la spiruline avec concentration 1 g/l.

Donc lorsque on fixe la concentration à1g/l de biomasse, on trouve que la culture plus dense, l'augmentation de croissance sera meilleur par rapport à la culture de faible densité 0.6 g/l. Dans cette dernière, la biomasse est stressée à des valeurs élevées des intensités lumineuses de 5000 lux et 10000 lux, cela peut être expliqué par la photolyse qui dépasse le seuil de saturation des photosystèmes par un grand nombre de flux photoniques et une photo-inhibition dans le cas de faible densité. A travers les résultats on peut conclure la culture à concentration 1g/l est bien adéquate à la croissance de spiruline pour une intensité de 5000 lux, cela peut être expliqué par la bonne pénétration et homogénéisation de la lumière.

D'après les figures (34, 35,36 et 37) on trouve que:

-le cas de faible concentration de biomasse la vitesse de croissance est optimale est obtenue pour des faibles Intensités lumineuse.

-le cas de forte concentration la vitesse de croissance est optimale est obtenue pour des fortes l'intensité lumineuse.

On peut conclure que la concentration et l'intensité lumineuse varient Proportionnellement, ces résultats sont en accord avec ceux remporté par (Cornet J-F. 1998).

IV.9.L'effet de lumière et la concentration sur la productivité :

Dans cette partie on a calculé les valeurs de productivité à partir de cinétique présentées ci-

dessus sous l'effet de différentes X_0 intensités lumineuse .la figure 38 présenté les valeurs de productivité calculées.

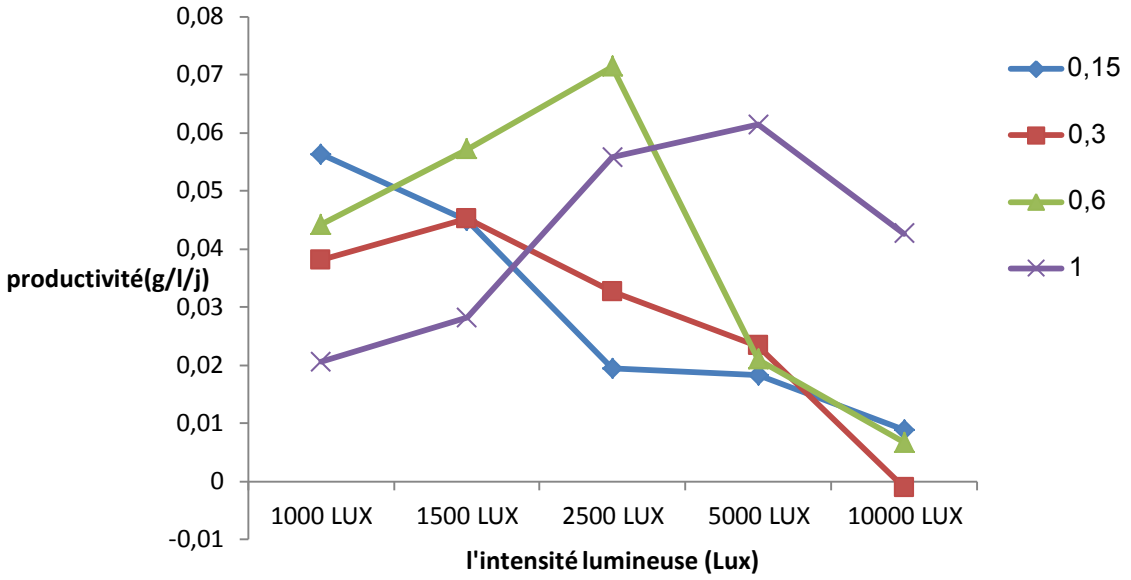


Figure 38: effet de l'intensité lumineuse et de la concentration sur productivité

D'après le graph, on observe que les valeurs maximales du productivité sont de: 0.0563 pour la concentration 0.15g/l et avec une intensité de 1000 lux, 0.0452 avec une intensité de 1500 lux et concentration de 0.3 g/l de biomasse, 0.0714 pour une intensité de 2500 lux et concentration 0.6g/l et enfin 0.0614 pour une concentration de 1 g/l et avec une intensité 5000 lux. D'après ces résultats on peut conclure que la meilleure production de biomasse est obtenue pour une concentration de 0.6 g/l et avec une intensité lumineuse de 2500 lux. Ce résultat est d'accord avec Richmond et Cheng-Wu2000

IV.10.Détermination de chlorophylle :

Les teneurs en chlorophylle obtenue sont présentent dans la figure 39

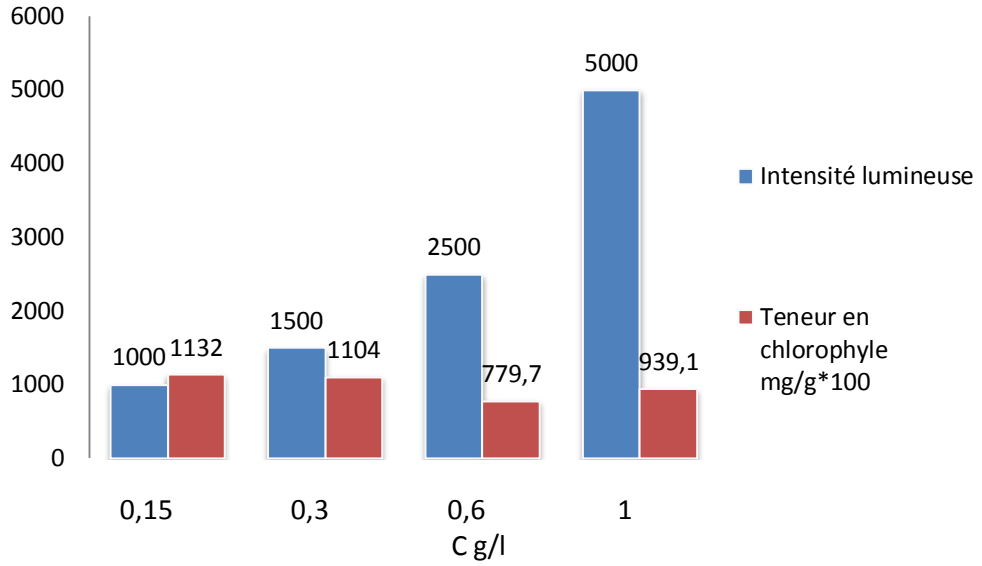


Figure 39: Effet de l'intensité sur la teneur en chlorophylle

D'après l'histogramme on observe que quand l'intensité augmente la teneur on chlorophylle et on constate que la faible valeur est 7.797 mg/g pour l'intensité 2500lux.

On peut expliquer la réduction de la teneur en chlorophylle de Spiruline , comme une réponse adaptative contre l'augmentation de l'intensité lumineuse dans la culture, on renduisant le taux de chlorophylle pour éviter l'excès d'énergie lumineux transporté vers le centre de réaction de photosystème II, qui permet une diminution du transfert d'énergie entre les antennes collectrices vers le PSII, et réduirait la portée de l'énergie d'excitation, cette dernière est la cause principale de destruction du photosystème II même si la radiation ne dépasse pas les seuils de saturation (Richmond, A 2000).

Comparaison de production de la spiruline à différentes conditions trophiques (mixotrophie et hétérotrophie):

Tableau 9: comparaison de production de la spiruline à différentes conditions trophiques (mixotrophie et hétérotrophie)

	Conditions optimales décrit par AINAS (2018)	**Condition optimisés**	**Conditions optimisées décrit par Kemka H (2000)**

	0.8g/l d'inoculum 1000 lux	**0.6g/l (inoculum) 2500 lux**	**0.50g/l 45.5 (µmol m−2 s−1**
productivité	**0.064**	**0.071**	**0.042**
µmax g/l.j^{-1}	**0.053**	**0.047**	**0.055**
Teneur en chlorophylle	**7.33**	**7.797**	**/**

La présence de carbone organique peut altérer à la fois le métabolisme photosynthétique et hétérotropique de spiruline (Villarejo et al. 1995) et diminue la production de pigments photosynthétiques par rapport aux cultures réalisés en 'absence de source de carbone (Ogbonna et Tanaka, 1998). De plus les conditions de culture peuvent favoriser l'autotrophie ou l'hétérotrophie et quand cela se produit le facteur limitant pour le processus métabolique défavorable qui est lumière dans le cas de photosynthèse, ou le carbone organique pour l'hétérotrophie (Zhang et al, 1999).

Les résultats suggèrent une mixotrophie, à prédominance hétérotrophe, la croissance dépend de la concentration du substrat et la croissance principalement à autotrophie dépend de l'intensité lumineuse. Ces résultats sont en accord avec ceux de (Martinez et al1997) la croissance hétérotropique et la photosynthèse a été signalé à se produire simultanément et indépendamment dans les cultures de spiruline en mixotrophie (Marquez et al. 1993).
On prend la concentration de substrat et l'intensité lumineuse sont les facteurs le plus influençant les modes trophiques.

Pour une concentration de 0.6g/l et une intensité lumineuse de 2500 lux on obtient une productivité optimale (0.071) par rapport aux deux autres conditions décrits dans le tableau donc on a une hétérotrophie dominante sans freiner ou altérer la phototrophie avec une intensité lumineuse de 2500lux.il'ya un état d'équilibre de ces deux voies métaboliques.

Conclusion

Conclusion:

La spiruline est de plus en plus à un grand intérêt dans divers domaines comme domaine nutritionnel.

La spiruline peut utiliser la mixotrophie quand la source de carbone est présente pour optimiser leur croissance.

Dans notre travail nous avons comparé entre trois sources de carbone glucose, mélasse et amidon avec une concentration fixe 0.15g/l de l'inoculum et avec une intensité 1000 lux, la suite on a choisi le meilleur substrat à différentes intensité lumineuse et différentes concentrations de l'inoculum de départ. On a obtenu des cinétiques de croissance de la spiruline, à partir de quelles on a évalué les paramètres de croissance tel que le taux de croissance, la productivité, ainsi que la teneur de chlorophylle.

D'après les résultats obtenus, on peut sortir par des conclusions suivantes:

- Le glucose est le mieux adaptés pour la croissance de spiruline qui donne une production de biomasse plus optimale.
- La mélasse donne une productivité proche à celle de glucose.
- Le rendement optimal est 1.426 obtenue à partir le mélasse.
- La concentration varie proportionnellement:
  - Pour un cas de faible concentration X_0, la vitesse de croissance optimale et obtenue pour des faibles intensités lumineuses.
  - Pour cas de forte concentration X_0, la vitesse de croissance optimale est obtenue pour des fortes intensités lumineuses.
- La productivité maximale (0.071g/l) est obtenue pour une intensité lumineuse de 2500 lux et avec une concentration d'inoculum de 0.6 g/l .
- La teneur le plus élevée de chlorophylle est de 11.32 mg/g, obtenue à faible concentration de l'inoculum 0.15 g/l

On conclue que la mixotrophie est mieux adapte pour la croissance de spiruline et une production de biomasse plus optimale de spiruline.

Perspective:

Une application sous la radiation de soleil (22000 lux) pour des cultures plus dense et pour des dimensions de grande échelle.

References bibliographiques

Abeliovitch A., Weisman D.(1978).Role of heterotrophic nutrition in growth of the alguaScenedesmusobliquus in High-Rate oxydation ponds. Appl. Env. Microbiol. 35 (1), 32-37.

Alexandrov, G. A. and Yamagata, Y. (2007).A peaked function for modeling temperature dependence of plant productivity.EcologicalModelling, 200(1_2) :189-192.

Algosophette, (**2017).** LA PEAU, LES CHEVEUX, LES ONGLES avec Spiruline. http://www.algosophette.com/association/spiruline-redactionnel-30.html

Antoine, SOULIES.(2014). Contribution à l'étude hydrodynamique et à la modélisation des photobioréacteurs à haute productivité volumique. Thèse de Doctorat. École Doctorale SPIGA. Sciences Pour l'Ingénieur, Géosciences, Architecture. Nante, , p 210.

AOCS (1990). Method Ca 5a-40.Estimation of free fatty acid value.Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemist's Society, Champaign, IL, USA.

Balloni W, Tomaselli L, Giovannetti L, Margheri MC (1980). Biologiafondamentaledelgenere Spirulina. In: Materassi R (ed) ProspettivedellaColturaMassiva di Spirulina in Italia. CNR Rome, pp 49–85.

Beadle L. C. (1943). An ecological survey of some inland saline waters of Algeria.p. 44.

Becker, et al. (1986). Clinical and biochemical evaluations of spirulina with regard to its application in the treatment of obesity. Inst. Chem. Pfanz in Nutrition Reports Int'l, Vol. 33, No. 4, pg 565. Germany.

Belay A. (2002). The potentiel application of Spirulina (Arthrospira) as a nutritional and therapeutic supplement in health management. The Journal of the American Nutraceutical.; 5 (2): p. 26-49.

Belay.A(.2007). Spirulina (Arthrospira): production and quality assuranceinSpirulinaInGershuin ME et Belay A. Human Nutrition and Health. Tayloretfrancis

Bhatia, R, Srivastava, P, (1995). Optimisation of culture conditions for Spirulina labyrinthiformis. 11. Light and temperature. J Phytol. Res. 8 (2), 185–189.

Bhatnagar .A, M. Bhatnagar, S. Chinnasamy, and K. C. Das.(2010)"Chlorella minutissima-A Promising Fuel Alga for Cultivation in Municipal Wastewaters," Appl. Biochem.Biotechnol. , vol. 161, no. 1-8, pp. 523-536.

Borowitzka, M. A. (1996)."Closed algal photobioreactors: Design considerations for large-scale systems."Journal of Marine Biotechnology 4.185-191.

Bosma, R. and Wijffels, R. H. (2003)."Marine biotechnology in education: a competitive approach." Biomolecular Engineering 20 ((4-6) SI).125-131.

Burrell .R, W. Inniss, and C. Mayfield.(1984)."Development of an Optimal Heterotrophic Growth-Medium for Chlorella-Vulgaris," Appl. Microbiol.Biotechnol., vol. 20, no. 4, pp.281-283.

Castenholz R.W., Rippka R., Herdman M. and Wilmotte A. (2001).Form-genus I. Arthrospira Stizenberger 1852. D. R. Boone & R.W. Castenholz, eds.Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. NewYork, USA: Springer; 1. p. 542-543.

Chorus I. and Bartram J.(2006).Toxic cyanobacteria in Water : A guide to their public health consequences, monitoringand management. http://www.who.int/water_sanitation_health/ resources quality/toxcyanobacteria.pdf, page consultée le 11 décembre

Chen, H. and Jiang, J.G. (2009). Osmotic Responses of Dunaliella to the Changes of Salinity. J CellPhysiol 219: 251-258**.**

Clément G (1975).spirulina, a protein-richfoodalga, conférence du Caire avril.1975Institut français du Pétrole, division Applications: 1-18.

Clément, G., Giddey, C. et Menzi, R. (1967). Amino acid composition and nutritive value of the alga spirulina maxima.J. Sci. Fd. Agric. Vol. 18: 497-501.

Cornet J.F. (1992) "Etude cinétique et énergétique d'un photobioréacteur" Thèse de doctorat,Université de Paris-Sud Centre d'Orsay, 27/02/1992.

Cruchot H, (2008). La Spiruline, Bilan et Perspective. Thèse docteur en pharmacie. Faculté de médecine et de pharmacie de Besançon. Université de France-Comite.

Delpeuch F., Joseph A. et Cavelier C. (1975). Consommation alimentaire et apport nutritionnel des algues bleues (Oscillatoris platensis) chez quelques populations du Kanem (Tchad). Annales de la Nutrition et de l'Alimentation; 29: p. 497-515.

Devi M. A., Venkataraman L.V. (1983). Hypocholesterolemic effect of blue-green algae spirulina in albino rats in Nutrition Reports Int'l, 28:519-530.India.

Doumenge F, Durand-Chastel H, Toulemont A. (1993). Spiruline, algue de vie/ Spirulina, algae of life.bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco ; numéro spécial 12.Monaco : Musée océanograhique.

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Pebers P.A and Smith F. (1956).
Colorimetric

method for determination of sugars and related substances. Anal. Chem., 28, p: 350-356.

Falkowski, P. G., Raven, J. A., (2007). Aquatic photosynthesis.Second Edition. Princeton University Press

Falquet. J et J.P.Hurni.(2006). Spiruline Aspects Nutritionnels Antenna Technologies.41p.

Falquet. J et J.P Hurni.(2008). spiruline aspects nutritionnelle, Antenna technologie,

Fingerhut U., Groeneweg J., Soeder C.J.(1990). Acetate utilization in Scenedesmusfalcatus, an alga from high rate ponds.Algol. Stud. 60, 57-64.

Fox RD (1999) La Spiruline: Technique, Pratique et Promesse. EDISUD, Aix en Provence (246)

FOX 1986 TECHNIQUE PRATIQUE ET PROMESSE RIPLEY D. P 159.

G

Giraldine-Andréani C (2005). Spiruline, système sanguine, système immunitaire et cancer. Phytothérapie: 158-161.

Geitler, L. (1932). Cyanophyceae. In: Rabenhorst'sKryptogamenfloravonDeutschland, Österreichund der Schweiz, Leipzig, Akad. Verslagsges. 1932. Reprinted 1971, New York, Johnson. p. 1-1196.

Grobbelaar, J. U. and Kurano, N. (2003)."Use of photoacclimation in the design of a novel photobioreactor to achieve high yields in algal mass cultivation." Journal of Applied Phycology 15 (2-3). 121-126.

Henrikson, (1994). Earth food Spirulina, How this remarkable blue-green algae can transform your health and our planet.Ronore Enterprises Inc., U.S.A.

Heredia-Arroyo .T,W. Wei, and B. Hu, "Oil Accumulation via HeterotrophiclMixotrophic Chlorella protothecoides," Appl. Biochem. Biotechnol. , vol. 162, no. 7, pp. 1978-1995, (Jov.2010)

Hellebust J.A., Lewin J.(1977). Heterotrophic Nutrition.In : The Biology of Diatoms, Werner, (Ed), Blackwell Scientific Publications, Oxford, 169-197.

Hudson B.J.F. etKaris I.G. (1974)The lipids of the alga spirulina. Journal of the Science of food and agriculture.; 25: p. 759-763.

Iwata, et al. (1990). Effects of spirulina on plasma lipoprotein lipase activity in rats in Journal Nutr. Sci. Vitaminol, 36:165-171. Japan.

Jarisoa, T. (2005). Adaptation de la spiruline du sud de madagascar a la culture en eau de mer. Mise au point de structures de production à l'echelle villageoise. p. 188.

Johnson, Z. I., E.R. Zinser, A. Coe, N.P. McNulty, E.M.S. Woodward and S.W. Chisholm. (2006): "Niche partitioning among Prochlorococcus ecotypes along ocean-scale environmental gradients". Science, 311(5768), 1 737-1740.

Jourdan, (2006). Manuel de culture artisanale de spiruline. Edition 2006, Révision mars 2013 Genève. Page 03.

Kim. C.J, et al. (2006). Effet of Spirulina platensis and probiotics as feed additives on growth of shrimp Fenneropenaeuschinensis. Journal of microbiology and biotechnology.

Kornberg H.L.(1973). Carbohydrate transport by micro-organisms. Proc. R. Soc. Lond. Ser. B 183, 105-123.

Lalucat.J, J. Imperial, and R. Pares. (1984)."Utilization of Light for the Assimilation of Organic-Matter in Chlorella," Biotechnol.Bioeng., vol. 26, no. 7, pp. 677-681,.

Lee J-B., Srisomporn P., Hayashi K., Tnaka T., Sankawa U. (2001). Effects of Structural Modification of Calcium Spirulina, a Sulfated Polysaccharide from Spirulina Platensis, onAntiviral Activity. Chemical & Pharmaceutical Bulletin; 49 (1): p. 108-110.

Lechevalier, Hubert A. (1977). Volume ll Fungi, Algae, Protozoa, and Viruses. 2ème edition,Floride, Laskin, Allen I., 874 p., CRC handbook of microbiology.

Levi, Y., Harvey, M. et Cervantès, P. (2006). L'évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives. Afseet agence française de sécurité sanitaire et de l'environnement. p. 1-231..

Li A., Stoecker D.K., Adolf J.E.(1999). Feeding, pigmentation, photosynthesis and growth of the mixotrophicdinoflagellateGyrodiniumgalatheanum.Aquat.Microb. Ecol. 19, 163-176

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

Milner H.W. (1953). Rocking tray.In: Burlew, J.S. (Ed.), Algal Culture from Laboratory to Pilot Plant.Carnegie Institution, Washington, DC, p. 108, No. 600.

Molina Grima, E., García Camacho, F., Sanchez Perez, J. A., AciénFernández, F. G. and Fernandez Sevilla, J. M. (1997b)."Growth yield determination in a chemostat culture of the marine microalga Isochrysisgalbana." Journal of Applied Ecology 8.529-534.

M.-R. F.-J. Chojnacka Katarzyna.(2004)**,** "Kinetic and Stoichiometric Relationships of the Energy and Carbon Metabolism in the Culture of Microalgae," Biotechnology, vol. 3.

Muhling, M., Somerfield, Harris, N., Belay, A. etWhitton, B. (2006). Phenotypic analysis of Arthrospira (Spirulina) strains (cyanobacteria). Phycologia. Vol. 45 (1): 95-104. (2006)

Nelissen B., Wilmotte A., Neefs J.M. and De Wachter R. (1994). Phylogenetic relationships among filamentous helical cyanobacteria investigated on the basis of 16S ribosomal RNA gene sequence analysis. Systematic and Applied Microbiology; 17: p. 206-210.

Ogawa T, Fujii T, Aiba S (1981) Effect of oxygen on the growth (yield) of

Chlorella vulgaris. Arch Microbiol 127: 25 – 31.

Ogbonna, J. C., Soejima, T. and Tanaka, H. (1999)."An integrated solar and artificial light system for internal illumination of photobioreactors."Journal of Biotechnology 70 (1-3). 289-297.

Paniagua-michel J., Dujardin E. et Sironval C. (1993). Le Tecuitlal, c.oncentré de spirulines source de protéines comestibles chez les Aztèques. Cahiers de l'Agriculture; 2: p. 283-287.

Pelroy R.A., Rippka R., Stanier R.Y., 1972. Metabolism of glucose by unicellular blue-green algae.Arch. Mikrobiol. 87, 303-322.

Pierlovisi C (2007). L'Homme et la Spiruline: Un avenir commun Composition chimique, intérêts alimentaires et activités biologiques. Paris V- René Descartes, Faculté des Sciences

Pruvost, J., Legrand, J., and Legentilhomme, P. (1999). Transfert photonique dans un photoréacteur à écoulement tourbillonnaire. The Canadian Journal of Chemical Engineering, 77(5) :869_876.

Pulz, O. (2001). Photobioreactors : production systems for phototrophic microorganisms. AppliedMicrobiology and Biotechnology, 57(3) :287_293. Pharmaceutiques et Biologiques, Paris (162).

Qureshi M. (1994). Immune enhancement potential of spirulina in chickens. Journal of Poultry Science; 73: p. 46.

Qureshi M.A., Ali R.A., Hunter R.L. (1995). Immunomodulatory effects of Spirulina platensis Supplementation in chickens. PoultryDiseaseConference; 44: p. 171-121.

Qureshi M.A. (1996). Spirulina platensis exposures enhances macrophage phagocytic function in cats. Immunopharmacology and Immunotoxicology. 1996; 18: p. 457-463.

Rafiqul, I.M., Jalal, K.C.A., Alam, M.Z.(2005). Environmental factors for optimization of Spirulina biomass in laboratory culture. Biotechnology 4, 19–22.

Richmond, A. (2000). Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: a personal view. J. Appl. Phycol. 12, 441–451.

Rikvin R.B., Putt M.(1987). Heterotrophy and photoheterotrophy by Antarctic microalgae ligth dependent incorportion of amino acids and glucose.J. Phycol. 23, 442-452.

Roger P.A. (2006). Les cyanobactéries : définition. Disponible sur : http://pagesperso-orange.fr/cyanobacteries/pages/Introduction/definition.htm 2006

Sanchez Miron, A., Gomez, A. C., Camacho, F. G., Molina Grima, E. and Chisti, Y. (1999)."Comparative evaluation of compact photobioreactors for large-scale monoculture of microalgae." Journal of Biotechnology 70 (1-3). 249-270.

Sanchez Miron A., Ceron Garcıa M.C., Garcıa Camacho F., Molina Grima, E., Chisti Y. (2002). Growth and characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. Enzyme Microb. Technol. 31, 1015–1023

Santillan C (1974). Cultivation of the Spirulina for Human Consumption and for Animal Feed.International Congress of Food Science and Technology.

Sarada, R., Pillai, M. G., Ravishankar , G. A.(1999). Phycocyanin from Spirulina sp:

influence of processing of biomass on phycocyaninyeld, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. Process Biochemistry, 34, 795-801).

Sautier C. and Tremolieres J. (1976). Food value of spirulina in humans.Annales de la Nutritionet de l'Alimentation; 30: p. 517-534.

Scheldeman, P., Baurain, D., Bouhy, R., Scott, M., Muhling, M., Whitton, B.A., Belay, A. et Sguera, S (2008). Spirulina platensis et ses constituants intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Thèse docteur en pharmacie. Faculté de pharmacie. Université de France-Comite.

Smith D.J., Underwood G.J.C.(2000). The production of extracellular carbohydrates by estuarine benthic diatoms: the effects of growth phase and ligth and dark treatment. J. Phycol. 36, 321-333

Takache, H. (2010). Caractérisation, modélisation de la croissance de Chlamydomonas reinhardtii en photobioréacteur et mise en évidence du couplage à l'hydrodynamique. Thèse de doctorat, Université de Nantes, GEPEA - 37 bd de l'université - 44600 Saint Nazaire.

Takai et al. (1991). Effect of water soluble and water insoluble fractions of spirulina over serum lipids and glucose resistance of rats in J. Japan Soc. Nutr. Food Science, 44:273-277.

Turpin D.H.(1991). Effects of inorganic N availability on algal photosynthesis and carbon metabolism.J. Phycol. 27, 14-20

[a, b, c et dUgwu C.U., Aoyagi H., Uchiyama H. (2008). Photobioreactors for mass cultivation of algae.Bioresource Technology 99, 4021-4028.

Vincent W.F., Goldman C.R.(1980). Evidence for algual heterotrophy in Lake Tahoe, Califoria-Nevada.Limnol.Oceanogr. 25, 89-99.

Vonshak, A., Abeliovick, A., Boussiba, S., Arad, S., Richmond, A.(1982). Production of Spirulina biomass: effects of environmental factors and population density. Biomass 2, 175–185.

Vonshak, A. (**1997**) **.**Spirulina: Growth, Physiology and Biochemistry. In: A. Vonshak (Ed.), Spirulina platensis(Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology.Taylor and Francis, London

Watanuki. H, Ota. K, et al. (2006). Immunostimulant effects of dietary Spirulina platensis on carp, Cyprinuscarpio. Aquaculture 258.p 157-163

Whitmarsh. J and Govindjee. (2002). Photosystem II, Encyclopedia of life sciences, McMillan Publishers Ltd.

Wilmotte, A. (1999). Arthrospira (Spirulina) strains from four continents are resolved into only two clusters, based on amplified ribosomal DNA restriction analysis of the internally transcribed spacer. Fems Microbiology Letters. Vol. 172: 213-222.

Wood B.J.B., Grimson P.H.K., German J.B., Turner M.(1999). Photoheterotrophy in the production of phytoplankton organisms. J. Biotechnol. 70 (1-3), 175-183.

Xue CH, Hu YQ, Saito H, Zhang ZH, Li ZJ, Cai YP, Ou CR, Lin H, Imbs AB.(2002). Molecularspecies composition of glycolipids from Spirulina platensis. FoodChemistry 77: 9-13.

Yang. J, M. Xu, X. Zhang, Q. Hu, M. Sommerfeld, and Y. Chen,(2011)."Life-cycle analysis on biodiesel production from microalgae: Water footprint and nutrients balance," Bioresour. Technol., vol. 102, no. 1, pp. 159-165, Jan.

Zarrouk, C.(1966). Contribution à l'étude d'une cyanophycée : influence de divers facleurs

physiques et chimiques sur ta croissance et la photosynthèse de Spirulina maxima (Setch el

Gardner} Geitler, Thèse présentée à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris).

Z.Y. Wen and F. Chen .(2003). "Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae," Biotechnol. Adv., vol. 21, no. 4, pp. 273-294, Jul. 2003. [,

"Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae," Biotechnol. Adv., vol. 21, no. 4, pp. 273-294, Jul [

Annexes

Annexe I:

Appareillage d'analyse physico-chimique

				
PH mètre	Programmateur électrique hebdomadaire	Pompe air aquarium	Luxmètre Programmateur	journalier curseurs
				
Centrifugeuse	Etuve	Spectrophotomètre	Balance	Bain mari

Annexe II:

Source de carbone :

Différent source de carbone	Concentration g/l
Glucose	1.5
	2
	2.5
	3.5
	4g
Amidon	0.25
	0.5
	0.75
	1
	1.5
Mélasse	0.5
	0.75
	1
	1.5
	2

Annexe III:

La cinétique de croissance de spiruline avec les trois sources de carbone

	Glucose	**Mélasse**	**Amidon**
[C]g/l / **Jours**	**2.5 g/l**	**0.75g/l**	**0.75g/l**
J1	0,23427974	0,25518202	0,19944261
J2	0,29350287	0,27172966	0,19944261
J3	0,38059572	0,3309528	0,22731231
J4	0,52255705	0,51558962	0,25518202
J5	0,61226267	0,53387912	0,2055391
J6	0,59223132	0,57307089	0,22121582
J7	0,66626023	0,60877896	0,43720606
J8	0,6836788	0,63490681	0,49207455
J9	0,63055217	0,76206236	0,54520118
J10	0,90576555	0,80038321	0,45201184
J11	0,90576555	0,89095976	0,61052082
J12	0,90924926	1,05817802	0,70719387
J13	0,94060268	1,01724438	0,7847065
J14	0,88312141	0,92492597	0,85438077
J15	0,96585961	0,87092841	0,87876677
J16	1,21668699	1,20623585	1,07733844

Pour déterminée le poids sec de mélasse

Percentage %	**Poids sec g**
12,50	1.88
25	2,145
50	3.55
75	6,187

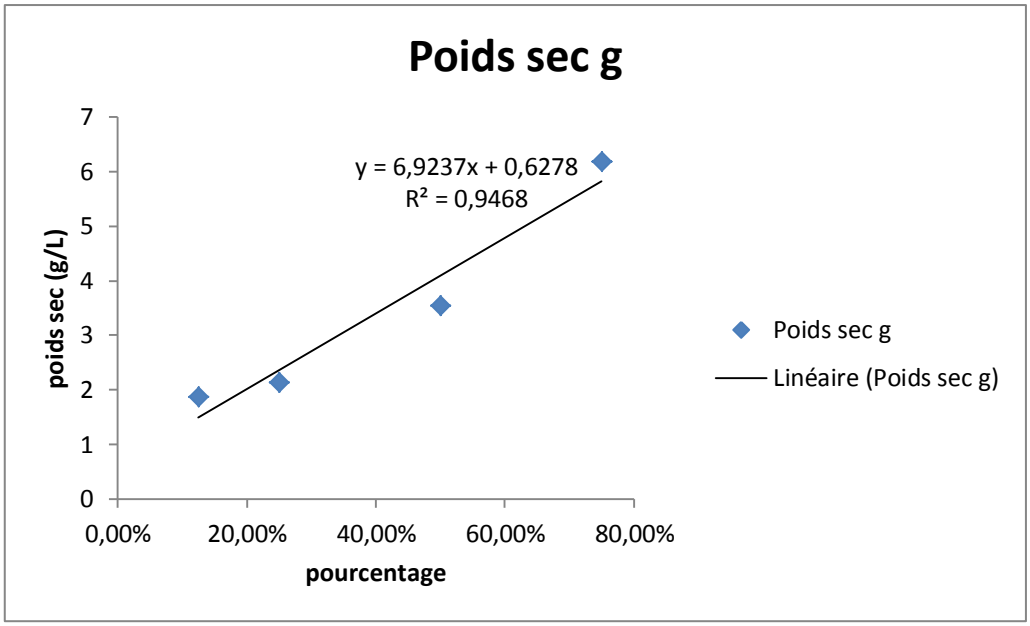
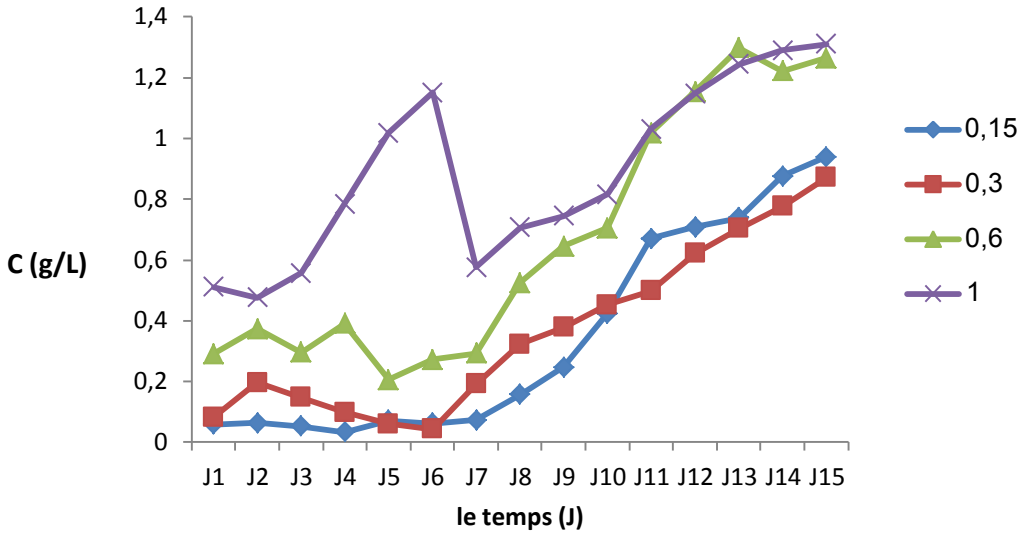
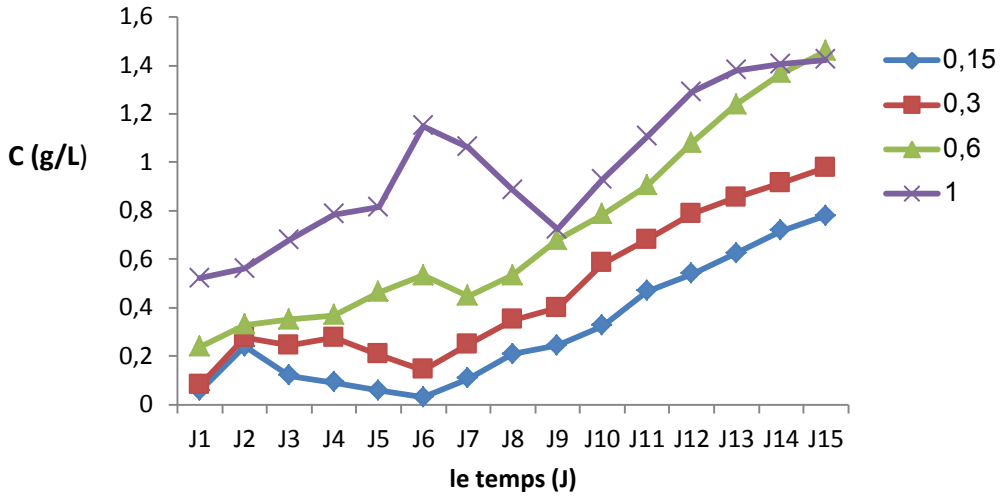


Figure: Poids sec de la mélasse en fonction de pourcentage.

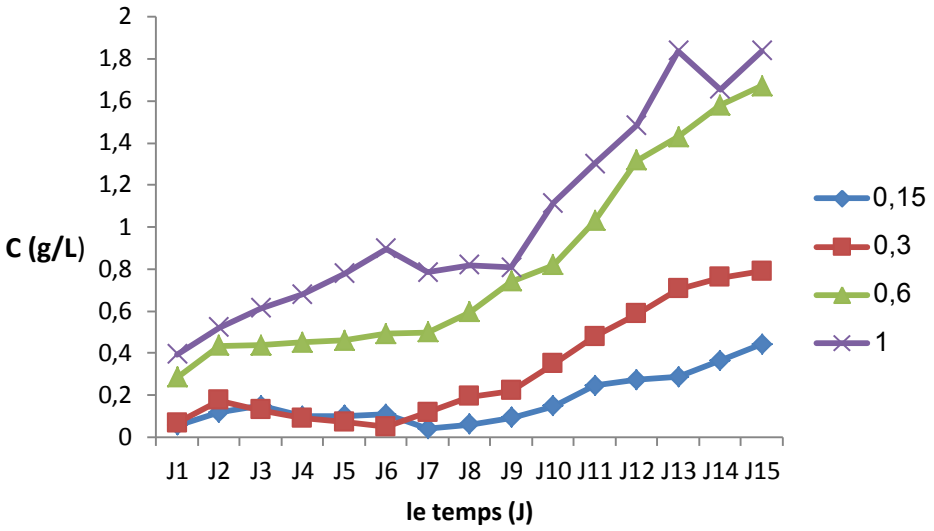
Annexe IV:



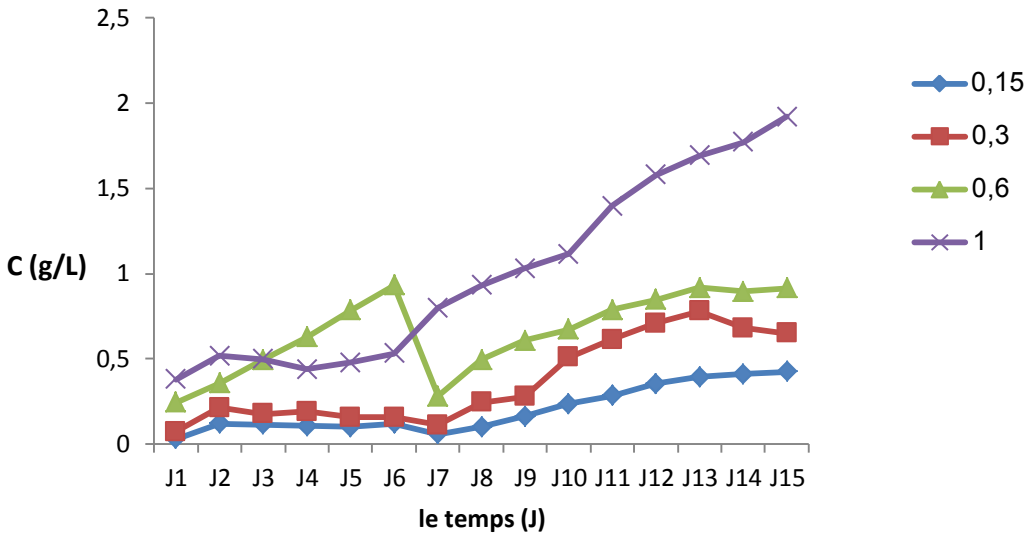
A : l'effet de concentration sur la croissance à 1000 lux.



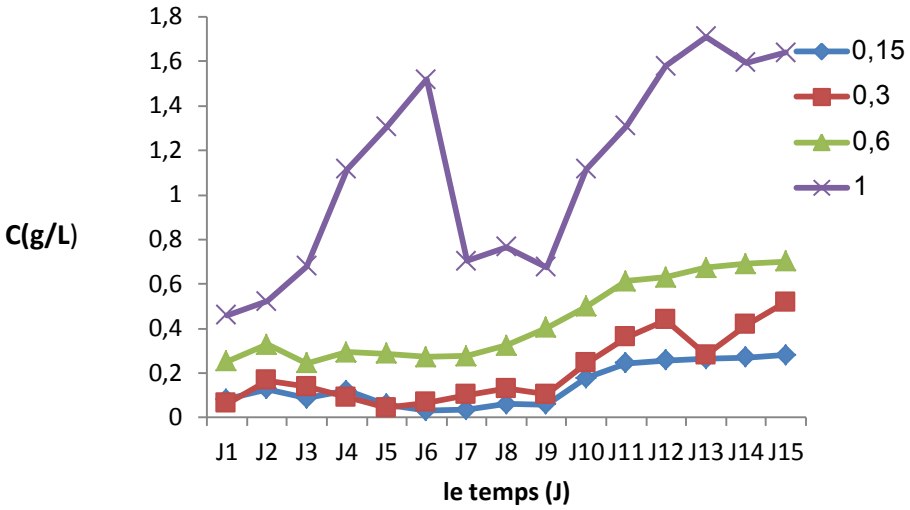
B : l'effet de concentration sur la croissance à 1500 lux.



C : l'effet de concentration sur la croissance à 1500 lux.



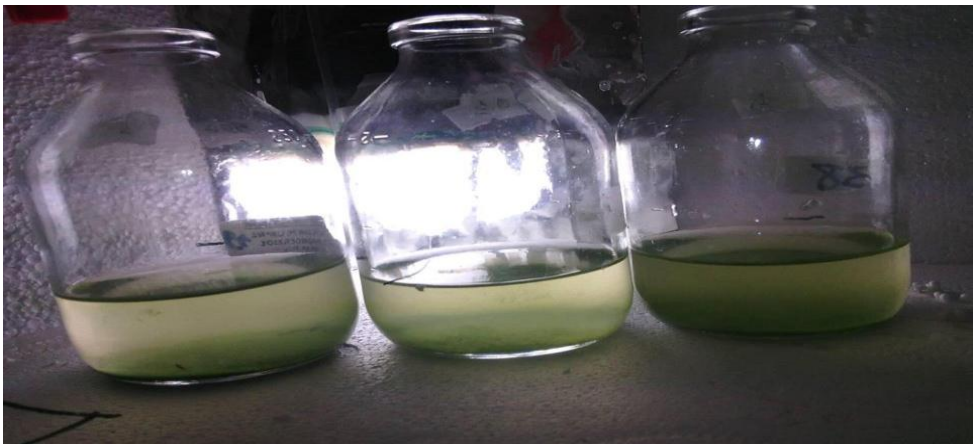
D : l'effet de concentration sur la croissance à 1500 lux.



E : l'effet de concentration sur la croissance à 1500 lux.

Annexe V:

Cas de photolyse



Annexe VI:

Productivité :

Sucres	Glucose	Mélasse	Amidon
Pv	0,0711	0,0704	0,0622

Rendement:

Source de carbone	Milieu zarrouk	Glucose	Mélasse	Amidon
Rendement	0,0706	0,428	1,427	1,246

Annexe VII:

Le Chlorophylle

C g/l	Intensité lumineuse	Teneur en chlorophylle mg/g*100
0,15	1000	1132
0,3	1500	1104
0,6	2500	779,7
1	5000	939,1