REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE MEDEA

FACULTE DES SCIENCES



Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de **Master**

En Sciences de la nature et de la vie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Par **: Rahmani Imane**

Rabei Kanza

Mehloul Ilhem

Thème :

Optimisation d'une biomasse algale par la méthode de plan d'expérience et caractérisation physiologique et biochimique

Soutenue publiquement le : 24/06/2024., Devant le jury composé de :

Tir Mohamed	**MCA**	U. Médéa	Président
Chami Bouaaza	**MAA**	U. Médéa	Examinateur
Ainas Mahfoud	**MCB**	U. Médéa	Encadreur
Touzout Nabil	**MCA**	U. Médéa	Co-Encadreur

Année universitaire 2023/2024


بسم الله الرحمن الرحيم
١٤٢٠

REMERCIEMENTS :

On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné volonté et le courage d'entamer et de terminer ce mémoire de fin d'étude .

Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à l'encadrant ***MR.AINAS MAHFOUD*** *pour son soutient ,son aide et son encouragements .*

Nos remerciements à co-encadrant ***MR.TOUZOUT NABIL*** *pour son aide pratique et ses précieux conseils .*

Nos remerciements s'adresse également à tout nos professeurs université ***DR.YAHIA FARES.***

Nous présentons également notre plus sincère gratitude ***aux membres du jury*** *qui ont bien voulu examiner et évaluer notre travail. Merci pour l'honneur que vous nous faites en participant à la soutenance.*

Nous remercions du fond du coeur nos chers parents de tout ce qu'ils ont faisaient pour nous.

Nous remercions l'ensemble, collègues de notre promos de Microbiologie appliqué 2019 et tous nos amis .

Finalement, nous remercions toutes celles et tous ceux qui nous ont aidé d'une manière ou d'une autre à la réalisation de ce travail .

Merci à tous



Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A mes chers parents

Qui m'ont entouré d' amour et d'attention partiulière.

A qui je dois ma bonne santé et toute mon existence.

A mes chères sœurs, Amel et Hanane qui étaient toujours avec moi me motivant à terminer.

Je les remercie beaucoup d'etre à mes cotés et leur souhaite de réussir dans leurs études et d'atteindre les hauts rangs.

A mes chers frères Imad et Karim, pour tout ce qu'ils ont fait pour moi, je leur souhaite de nouveaux progrès ainsi qu' une santé et un bien-etre continus.

Et à toute la famille Rahmani

A mes belles amies, Kenza et Ilham, Amina, Amira, Zahra, Fatma

A tous mes amis avec qui j'ai étudié de l'école primaire à l'université.

Imane



Dédicace :

Avec tous mes sentiments de respect, avec l'expérience de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à : Derrière chaque grande fille, il y a un père vraiment merveilleux.

A l'homme de ma vie , *mon exemple éternel ,tu es mon héros, Papa merci beaucoup pour tous les sacrifices que vous avez faits,c'est grâce à vous que je n'ai jamais rien manqué dans la vie .*

A ma raison de vivre*, tu es mon héroïne , je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude pour tous les sacrifices .*

Ma mère qui m'a entouré d'amour , d'affection et qui fait tout pour ma réussite , que dieu la garde .

A mes deux chers frères *Islem et Anes que dieu les protèges ,*

à mon cher oncle Kamel mon bras droit qui m'a soutenu tout le temps.

A mes grands-mères, à tous les cousins, à tous les membres de ma grande famille, et à mes chères copines Hanane ,Meriem,Zahra,Feriel,

Merci pour leurs amours, aides et leurs encouragements .

Sans oublier mon trinôme Imane et Kenza pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet .

ILHEM



Dédicace :

Je dédie ce mémoire à mes chers parents qui ont été toujours à mes côtés et m'ont toujours soutenu tout au long de ces longues années d'études.

Nulles dédicaces ne peuvent exprimer ce que je leur dois, par leur priére, leurs patience en moi, ils ont tous fait pour mon bonheur et ma réussite.

- *A mes frères, Bilal et Antar.*

- *A ma chère soeur Hafsa et son mari ,*

Pour son soutien moral et leurs conseils précieux tout au long de mes études .

- *A mon adorable petite soeur Bouchra .*

- *A ma chère grande_ mère ,*

je lui souhaite une bonne santé.

- *À toute ma famille.*

- *A tous les professeurs qui m'ont enseigné tout au long de mon parcours.*

- *Et A toutes mes amies,*

Sans oublier mon binôme Imane et Ilham, pour son soutien moral sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

Kenza

الملخص

تركز دراستنا على تحسين نمو السبيرولينا في بيئة الزروق بهدف تقييم تاثير تركيز الأولي للسبيرولينا وشدة الإضاءة وكذالك مساحة سطح المفاعل الحيوي على انتاج الكتلة الحيوية. تم التعرف على البكتريا الزرقاء ارثروسبيرا بلاتنسيس المستخدمة وتم تقييمها فيما يتعلق بمحتواها من البروتين ثم زراعتها في ثلاثة مفاعلات ضوئية ذات نسبة (مساحة/الحجم) تم زرع هذه المفاعلات الحيوية الضوئية بتراكيز أولية مختلفة بين 0.35 و1.05 غرام/ لتر للمفاعلات الحيوية الضوئية الاسطوانية تحت شدة الضوء الساقط المختلفة 7500 و 22500 لوكس ونسبة المساحة /الحجم 20 م-1 الى 57 م-1 تم الحصول على افضل إنتاجية للكتلة الحيوية 0,15 غ /ل في المفاعل الحيوي الضوئي ذو المساحة الكبيرة (57 م-1) وشدة ضوء عالية (22500 لوكس) وتركيز أولى ضعيف(0,35غ/ل) تم الحصول على أفضل إنتاجية من الأكسدة الضوئية (كلوروفيل) عندما كانت زراعة تحت قوة منخفضة المتقدمة في لوكس 15000

الكلمات المفتاحية :أرثروسبيرا بلاتنسيس،المفاعل الحيوي الضوئي،الإنتاجي، شدة الضوء،مساحة السطح، الكتلة الحيوية

Abstract:

Our study focuses on the growth optimization of spirulina in the Zarrouk environment for the purpose of evaluating The influence of the initial inoculum concentration, light intensity and specific photo-bioreactor surface on biomass production. The cyanobacterium Arthrospira platensis used was identified, evaluated in relation to its protein content and then grown in three photo-bioreactors of Surface/Volume ratio These PBRs have been sown with starting inoculum concentrations ranging from 0.35 g/L to 1.05 g/ L for cylindrical PBR at different incidente light intensities of 7500-22500 lux and Surface/Volume ratio from 20m-1 to 57m-1 . the best biomass productivity 0.15g/l/J-1 was achieved in the large surface (57 m-1) and fairly high luminous intensity (22500lux) PBR with a low inoculum concentration (0.35 g/L). The best productivity of photosynthetic pigment (chlorophyll) was achieved when spirulina cultivation was subjected to low intensities estimated at15000 lux

Keywords: Arthrospira platensis, PBR, productivity, light intensity, specific surface, biomass.

Résumé :

Notre étude porte sur l'optimisation de croissance de la spiruline dans le milieu Zarrouk à pour but évaluer L'influence de la concentration de l'inoculum de départ, l'intensité lumineuse ainsi que la surface spécifique de photo-bioréacteur sur la production en biomasse. La cyanobactérie Arthrospira platensis utilisé a été identifiée , évaluée par rapport à sa teneur en protéines puis cultivée dans trois photo-bioréacteurs de rapport Surface/Volume ces PBR

ont été ensemencés avec des concentration de inoculum de départ variant entre 0.35 g/L et 1.05 g/L pour les PBR cylindriques sous différentes intensités lumineuses incidentes 7500 - 22500 lux et de rapport Surface/Volume de 20m-1 à 57 m-1 la meilleure productivité en biomasse 0.15g/l/J a été obtenue dans le PBR de grande surface (57 m-1) et de intensité lumineuse assez élevée (22500 lux) et avec une concentration d' inoculum faible (0.35 g/L) . La meilleure productivité en pigment photosynthétique (chlorophylle) à été atteint lorsque la culture de spiruline a été soumise à faible intensités estimées à 15000 lux.

Mots clés : Arthrospira platensis, PBR, productivité, l'intensité lumineuse, surface spécifique, biomasse.

Table des matières

1 Introduction : 1

CHAPITRE Ⅰ : GENERALITE SUR LA SPIRULINE 5

Ⅰ.1/Les cyanobactéries : 5

Ⅰ.2.1/Historique : 7

Ⅰ.2.2/Répartition géographique : 9

Ⅰ.2.3/Morphologie de la spiruline : 10

Ⅰ.2.4/ Composition chimique de spiruline : 11

Ⅰ.2.5/Taxonomie : 13

Ⅰ.2.6/Toxicité : 14

Ⅰ.2.7/Reproduction : 15

Ⅰ.3/Culture de la spiruline : 15

Ⅰ.3.1/Milieu naturel de la spiruline : 16

Ⅰ.4/Domaine d'application : 18

Aquaculture : 18

Nutritionel : 18

Thérapeutique : 18

CHAPITRE II :Optimisation de la production de biomasse 20

Ⅱ.1./ Les principaux facteurs influençant la croissance et la productivité 20

Ⅱ.1.1 La lumière : 20

Ⅱ.1.2 Agitation : 20

Ⅱ.1.4/ le pH du milieu : 22

Ⅱ.3/La photosynthèse : 23

Ⅱ.4./Le mode batch : 24

CHAPITRE Ⅲ : Procédés de production de biomasse algale 26

Ⅲ. 1./ La production de biomasse algale : 26

Ⅲ.1.1/Système ouverts : 26

Ⅲ.1.2/Systèmes clos (photobioréacteurs) : 28

Ⅲ.1.2.2/Les photo- bioréacteurs à plaques plates : 32

Ⅲ.1.2.4/Photobioréacteur à cuve agités : 33

CHAPITRE Ⅳ: MATERIELS ET METHODES 34

Ⅳ.1/MATERIELS : 34

Ⅳ.1.1/Matériel biologique : 34

Ⅳ.1.3/Milieu de culture : 35

Ⅳ.2/ METHODES : 36

Ⅳ.2.1/Préparation de milieu culture de la spiruline : 36

Ⅳ.2.2/Préparation de l'inoculum : 37

Ⅳ.2.3/Procédés expérimentaux d'optimisation de la culture : 37

Ⅳ.2.5/Surveillance de la culture : 41

Ⅳ.3/Mesures de la croissance : 41

Ⅳ.3.1/Estimation du poids sec : 41

Ⅳ.3.2/Mesure de cinétique de croissance : 41

Ⅳ.3.3/ Estimation du taux de croissance spécifique (μ) : 42

Ⅳ.4/Les Analyses biochimiques de la spiruline : 43

Ⅳ.4.1/Détermination des teneurs en chlorophylles : 43

Ⅳ.4.2/Détermination des teneurs en glucides : 44

Ⅳ.4.3/Détermination des teneurs en lipides : 44

Ⅳ.4.4/Détermination des teneurs en protéines : 45

Ⅳ.4.5/Détermination des teneurs en phycocyanine: 46

CHAPITRE Ⅴ : Résultats et discussions 48

Ⅴ.1./ Spiruline vue au microscope : 48

Ⅴ.2./ Mesure de croissance : 49

Ⅴ.3./ Cinétique de développement de la spiruline : 49

Ⅴ.4./Optimisation de la production de biomasse : 52

Ⅴ.4.1./ Méthode d'optimisation en plan d´expérience : 53

Ⅴ.4 .2/Composition biochimique de la biomasse de spiruline produite 66

4 Conclusion générale : 70

Liste des tableaux

TABLEAU 1: LA TENEUR EN PROTEINE DES DIFFERENTES ALIMENTS **(DELİEGE, 2019**). 7

TABLEAU 2:COMPOSITION CHIMIQUE DE LA SPIRULINE. 12

TABLEAU 3: COMPOSITION DE MILIEU DE CULTURE ZARROUK **(ALBICANCE, 2015) .**..... 35

TABLEAU 4: COMPOSITION DE LA SOLUTION A5 **(TRINH & NGUYEN, 2020).**..... 36

TABLEAU 5 : COMPOSITION DE LA SOLUTION B6 **(TRINH & NGUYEN, 2020).** 36

TABLEAU 6: : GAMME ET NIVEAUX DE VARIABLES EXPERIMENTALES TESTES DANS LA CONCEPTION CCD..... 38

TABLEAU 7: PLAN D'EXPERIENCES 40

TABLEAU 8: AVANTAGES ET INCONVENIENTS DE LA METHODE DE BRADFORD **(LABIDI & BEJAOUI, 2023).**..... 46

TABLEAU 9: ANALYSE DE VARIANCE (ANOVA) POUR LE MODELE DE PRODUCTIVITE. ... **ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.**

TABLEAU 10 : ANALYSE DE VARIANCE (ANOVA) POUR LE MODELE DE TAUX DE PHYCOCYANINE..... 56

TABLEAU 11: COMPARAISON DES PRODUCTIONS DE BIOMASSE. 65

Liste des figures

FIGURE 1:AIRE DE REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE SPIRULINE 9

FIGURE 2: FORME DE LA SPIRULINE (ARTHROSPIRA PLATENSIS **(JOURDAN, 2006)** 10

FIGURE 3: DIFFERENTES FORMES PRISES PAR LA SPIRULINE**(CHARPY ET AL., 2008).** 11

FIGURE 4: : CYCLE DE VIE DE LA SPIRULINE **(ALI & SALEH, 2012).** 15

FIGURE 5: A : BASSIN EN ARMATURE EN BOIS AVEC LIT DE CENDRE, B :BASSIN EN BETON, C :BASSIN EN PARPAING REVE¬¬TUS EN PLASTIQUE, D :BASSIN EN BACHE PLASTIQUE **(CHARPY ET AL., 2008).** 17

FIGURE 6: UNE EXPLICATION DIAGRAMATIQUE DE LA VALEUR THERAPEUTIQUE CONFEREE PAR L'ALGUES SPIRULINE. 19

FIGURE 7: : LES PHASES DE CROISSANCE DES MICROORGANISMES **(LUCCHETTI, 2015).** 25

FIGURE 8: PHOTOGRAPHIES DES SYSTEMES OUVERTS DANS LE MONDE : (A) BASSIN POUR CHLORELLA A TAIWAN. (B) RACEWAYS A SPIRULINE EN CALIFORNIA, USA. (C) BASSINS NATURELS DE 200 HA DE DUNALIELLA SALINA EN AUSTRALIE 29. (D) & (E) SYSTEME DE CASCADE EN COUCHE MINCE DE 60L **(LAIFA, 2023).**.....27

FIGURE 9: CULTURE EN BASSIN**(CHENTIR, 2018**). 28

FIGURE 10: PHOTOBIOREACTEUR A SERPENTIN TUBULAIRE VERTICAL DEVELOPPE PAR LE DEPARTEMENT DE GENIE CHIMIQUE DE L'UNIVERSITE D'ALMERIA (ESPAGNE) **(PROKOP ET AL., 2015).**.....30

FIGURE 11: PHOTOBIOREACTEURS A COLLECTEUR TUBULAIRE INSTALLES CHEZ ROQUETTE KLÖTZE& CO. KG (ALLEMAGNE) **(PROKOP ET AL., 2015).**.....31

FIGURE 12: : CONFIGURATIONS DES PBR FERMES CLASSIQUES UTILISES POUR LA CULTURE DE MICROALGUES : I) PLAQUE PLATE ; II) TUBULAIRE (HORIZONTAL) ; ET COLONNE (VERTICALE) : III) CUVE AGITEE ; ET COLONNES AEREES – IV) TYPES A BULLES ET V) A TRANSPORT AERIEN **(ASSUNÇ, 2020)**.....32

FIGURE 13: PRINCIPE DE MESURE DE LA DENSITE OPTIQUE **(FLORENT, 2017)**.....42

FIGURE 14: : CONTENU DU TUBE LORS DE L'EXTRACTION DES PROTEINES DE LA SPIRULINE. **(LABIDI & BEJAOUI, 2023)** 45

FIGURE 15: (A.B.C.) OBSERVATION OPTIQUE DE LA SPIRULINE A L'ETAT FRAIS A,B,C (GROSSISSEMENT ×40).....48

FIGURE 16: : COURBE D'ETALONNAGE METTENT EN VALEUR LA DO EN FONCTION DU POIDS SEC. 49

FIGURE 17: CINETIQUE DE CROISSANCE DE LA SPIRULINE AU SEIN D'UN PBR DE RAPPORT (S/V = 57 M-1) 51

FIGURE 18: CINETIQUE DE CROISSANCE DE LA SPIRULINE AU SEIN D'UN PBR DE RAPPORT(S/V = 34 M-1) 51

FIGURE 19: CINETIQUE DE CROISSANCE DE LA SPIRULINE AU SEIN D'UN PBR DE RAPPORT(S/V=20M-1) 52

FIGURE 20: COURBES DE REGRESSION LINEAIRES RELATIVES AUX MODELES. (A) PRODUCTIVITE, (B) TAUX DE PHYCOCYANINE 58

FIGURE 21: COURBES D'ISO-REPONSES DE PRODUCTIVITE. (A) X3 = CONSTANTE, (B) X1= 0 ET (C) X2=0.....61

FIGURE 22: COURBES D'ISO-REPONSES DU TAUX DE PHYCOCYANINE . (A) X3 = CONSTANTE, (B) X1=0, (C) X2=063

FIGURE 23: EFFET DE LINTENSITE LUMINEUSE SUR L' ACCUMULATION DES LIPIDE , ET DE PROTEINES CHEZ LA SPIRULINE 66

FIGURE 24: L'EFFET DE LINTENSITE LUMINEUSE SUR LE TAUX DE PHYCOCYANINE ET CHLOROPHYLE A 67

FIGURE 25 :TENEUR DE L'HYDRATE DE CARBONE CELLULAIRE ET EPS 69

Liste des acronymes

Abréviation	**Signification**
ACG	Acid gras
AGPI	Acid gras polyinsaturé
AGS	Acid gras saturé
A	Absorbance
DO	Densité optique
X0	La concentration initiale de l'inoculum
S	La surface éclairée
V	Volume de culture
PBR	Photobioréacteur
RSM	La méthodologie de la surface de réponse
Chlo a	Chlorophylle a
PC	Phycocyanine
PS	Poids sec
PV	Productivité

Introduction

1 Introduction :

La population mondiale devrait atteindre 9,8 milliards de personnes en D'ici 2050, la demande alimentaire devrait augmenter de plus de 50 % En réponse à cette demande, les régimes alimentaires à base de plantes sont apparus comme une alternative durable aux régimes alimentaires traditionnels à base de viande en raison de leur impact positif sur la santé publique, la sécurité alimentaire et la conservation de l'environnement , Parmi ces alternatives alimentaires, les microalgues sont considérées comme une source prometteuse de protéines durables . Les microalgues ont un large éventail d'applications comme aliments pour animaux, aliments pour animaux et nutraceutiques**(Bumandalai et al., 2024).**

Récemment, les microalgues et les cyanobactéries sont considérées comme des ressources biologiques précieuses capables de produire des produits alimentaires, des compléments et des aliments pour animaux en utilisant des nutriments extraits de la biomasse indésirable**(Tanaka et al., 2020).**

Les microalgues, un groupe unique de micro-organismes unicellulaire chlorophylliens qui se distinguent des autres par leur faculté à fixer le CO2 de l'atmosphère par le processus photosynthétique. Ils sont classés en deux catégories distinctes, y compris les microalgues eucaryotes et les procaryotes. (cyanobactérie) **(Bouyahya et al., 2024).** Se développant dans l'eau ou dans des milieux très humides. Bien que surtout abondantes dans les eaux des mers, des lacs, on en trouve également sur les rochers humides et sur la terre. la lumière et des sels dissous sont, en plus de l'eau, nécessaires A leur développement**(Marechal & De, 2021).**

Les approches industrielles utilisant ces micro-organismes créent de nouveaux emplois et de nouveaux services. Ceci est conforme à la stratégie mondiale pour la bioéconomie qui vise à soutenir le développement durable des secteurs biologiques.(J. Liu et al., 2023)**.**

Les cyanobactéries, souvent appelées microalgues, ont été considérées comme une source d'alimentation naturelle et durable , car elles constituent le premier niveau trophique de la chaîne alimentaire aquatique. En particulier,*Arthrospira platensis* et *Spirulina platensis* (les deux espèces sont résumées sous le terme spiruline)**(Rosenau et al., 2023).**

Aujourd'hui, la production mondiale de microalgues est encore modeste (environ 10 000 tonnes par an−1) **(Depraetere et al., 2015).**

La spiruline, une " Algue " de l'Avenir pour Santé de tous et pour lutter contre le déséquilibre et la malnutrition**(International & La, 2008).**

La majorité de la biomasse de microalgues et de cyanobactéries est actuellement produite dans des fermenteurs, des étangs ouverts ou des PBR(J. Liu et al., 2023)**.**

Les cultures de masse de microalgues ont traditionnellement été cultivées dans des étangs ouverts qui sont beaucoup moins chers et plus faciles à utiliser que les photobioréacteurs (PBR). Plusieurs conceptions de PBR ont été proposées ces dernières années, pour cultiver des microalgues comme source d'énergie durable**(Prokop et al., 2015).**

Certaines des sociétés productrices de spiruline les plus connues dans le monde sont : EarthriseFarms (États-Unis), Cyanotech (États-Unis), Hainan DIC Microalgae Co., Ltd (Chine), MarugappaChettirResearch Center (Inde), Genix (Cuba) et Solarium Biotechnology (Chili) **(Ali & Saleh, 2012).**

En Algérie, l'intérêt pour la spiruline augmente et de nombreux chercheurs développent de nouvelles méthodes pour produire ces algues, ce qui existe déjà **(Bencheikh et al., 2022).** plus précisément dans la province de Tamanrasset (Adrianne) des exploitations comprenant des bassins ont été installées pour la culture de la spiruline, et de petites unités de production ont été créées dans différentes régions: Ouargla et Oran **(Bachir NABTI et al., 2023).**

Les microalgues cultivées par photosynthèse sont actuellement utilisées commercialement dans l'alimentation humaine et animale, ainsi que dans la production de substances .Dans les systèmes extérieurs ,par exemple dans les étangs ouverts ou les photobioréacteurs à plaques plates (PBR) fermés, de vastes superficies de terrain sont nécessaires à la culture d'algues à grande échelle**(Fu et al., 2012)** .

Durant la production industriel (à grande échelle), trouve de limite physico-chimique , telle que la disponibilité de substrat (apparition des facteurs limitant de culture) .Limitant en substrat , PH , température , humidité , atténuation de la lumière dans les profondeurs des cultures, pour avoir une croissance maximal il faut assure une bonne exposition à la lumière et écrite la zone d'ombre surtout dans les systèmes en batch .Lorsque la densité des cultures dépassent 1g/l ,la vitesse de croissance c'est jamais maximal .

C’est dans ce contexte en essayés d’optimiser les conditions de production , telle que

1. Les bioréacteurs optimaux doivent présenter une surface spécifique élevée avec un rapport surface/volume (S/V) élevé pour un transfert efficace de l’énergie lumineuse **(Ainas et al., 2022).**
2. La concentration de culture .
3. L’intensité lumineuse optimisant sans effet de photolyse .

On a développé et optimisé les modèles de régression de la productivité et du taux de croissance des biomasses en fonction des variables indépendantes (concentration initiale de biomasse, intensité de lumière et ratio S/V de PBR) et de leur interaction afin d'obtenir les meilleurs résultats .Dans ce cas, quelles sont : les surfaces spécifiques , les épaisseurs de PBR et les intensités lumineuses de PBR qui permettent de minimiser cette contrainte pratique ?

Notre étude, a pour but d’optimiser par plan d’expériences ou la production réelle de *l’Arthrospira platensis* dans le milieu de culture Zarrouk en utilisant des différentes photobioréacteurs

Le manuscrit est réparti en deux parties :

*Partie théorique contenant trois chapitres :

Le premier chapitre est présenté sous forme de fiche signalétique de la spiruline : morphologie,historique, composition biochimique, répartition géographique, toxicité ainsi que leur position taxonomique.

Le deuxième chapitre est consacré aux procédés de production de biomasse algale et les différents paramètres influençant les cultures, et le troisième chapitre représente les différentes photobioréacteurs utilisé pour la production.

*partie pratique contenant deux chapitres :

Le premier chapitre présente l’ensemble du matériel et méthode utilisées pour la réalisation de ce travail.

Le deuxième chapitre illustre et interprète les différents résultats obtenus au cours de la présente étude. Et il sera alloué à une discussion générale des résultats obtenus

CHAPITRE 1 :
GENERALITE SUR LA SPIRULINE

CHAPITRE Ⅰ : GENERALITE SUR LA SPIRULINE

Ⅰ.1/Les cyanobactéries :

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. Cyanobacteria, un groupe de procaryotes photoautotrophiques, ont attiré l'attention en raison de leur potentielle utilisation pour produire de la biomasse et éliminer les polluants de l'eau. Parmi les diverses espèces de cyanobactéries, *Arthrospira platensis*.**(Jiang et al., 2023)**

Deux des principaux types de cyanobactéries sont appelés *Arthrospira platensis* et *Arthrospira maxima***(Al-otaibi et al., 2021) .** Les algues bleu-vert (Cyanobacteria) sont parmi les formes de vie les plus primitives sur Terre. Leur structure cellulaire est un procaryote simple. Ils partagent des caractéristiques avec les plantes, car ils ont la capacité d'effectuer la photosynthèse. Ils partagent des caractéristiques avec des bactéries primitives parce qu'ils n'ont pas de vrais noyau comme les cellule végétale.

Fait intéressant, ils partagent également des caractéristiques du royaume animal car ils contiennent sur leur membrane cellulaire des sucres complexes similaires au glycogène. Parmi les algues bleu-vert, les deux espèces comestibles et toxiques s'adaptent à presque tous les habitats les plus extrêmes sur terre. Les algues bleu-vert comestibles, dont les espèces de Nostoc, Spirulina et Aphanizomenon, ont été utilisées comme nourriture depuis des milliers d'années. **(Usharani et al., 2012)**

Les cyanobactéries sont un groupe phylogénétiquement très ancien de micro-organismes phototrophes procaryotiques. Leur existence dans la biosphère depuis le début de la période précambrienne et leur grande diversité jusqu'à nos jours, temps indiquent leurs stratégies de vie biologiquement et écologiquement efficaces extraordinaires et continues avec des adaptations répétées rapides à diverses conditions environnementales dans différents écosystèmes. Cependant, cette situation, associée à la reproduction asexuée, rend leur classification et leur évaluation taxonomique extrêmement difficiles. Pendant longtemps, la

classification taxonomique des cyanobactéries a été fondée (comme d'autres groupes de micro-organismes phototrophes) uniquement sur des critères morphologiques (et rarement écologiques), mais la morphologie seule semble être un outil insuffisant dans leur taxonomie moderne**. (Komárek, 2016)**

Ⅰ.2/La spiruline :

La spiruline (nom commercial *d'Arthrospira platensis*) se distingue comme une microalgue exemplaire bleu-vert, caractérisée par son profil nutritionnel exceptionnel. **(Bumandalai et al., 2024).** La spiruline est une cyanobactérie appartenant au genre Arthrospira. Ce genre ne comprend que deux espèces très similaires, *Arthrospira maxima*, originaire du Mexique et *Arthrospira platensis,* originaire du Tchad **(Vicat et al., 2014).** La spiruline est l'une des sources de biomasse de microalgues les plus riches, avec une teneur en protéines allant de 60 à 70 % en fonction du stade de vie, des conditions de culture et des méthodes mises en œuvre pour l'extraction, l'isolement et le séchage (**Fortuin et al., 2024)**

Les vertus nutritionnelles de la spiruline résultant d'une combinaison de protéines, de vitamines notamment le Bêta-carotène, la vitamine B12, mais également plusieurs autres vitamines B, du fer et divers autres oligo-éléments. Sa teneur en protéines est élevée (double de la viande) voire le tableau.01, car les cellules n'ont pas de paroi cellulosique. Les protéines de la spiruline tombé contiennent touts les acides essentiels. D'autres ingrédients tels que la phycocyanine et la vitamine E sont considérés comme des antioxydants. Si la spiruline peut être consommée fraîche, elle est généralement consommée sous forme lyophilisée. Peut être mélangé avec de la poudre alimentaire**(DelİègE, 2019).**

Tableau 1: la teneur en protéine des différentes aliments **(DelIège, 2019)**.

Aliment	Teneur en protéines
Viande	30%
Poisson	25%
Soja	35%
Poudre de lait	35%
Céréales	14%
Spiruline	50 – 70%

I.2.1/Historique :

Elle est présente sur terre depuis plus de trois milliards d'années, dans les lacs alcalins d'eaux chaudes. Elle se développe naturellement dans des eaux dont le pH varie entre 8 et 11, avec un optimal d'entre 9 et 10.5. La spiruline est traditionnellement consommée des siècles par différentes populations du globe**(DelIège, 2019)**. Le terme cyanobactérie (cyano = bleu) montre l'existence de la phycocyanine dans cet organisme. C'est un pigment photosynthétique accessoire bleu**(La & Ciencias, 2003).**

La spiruline était à l'origine considérée comme un type d'algue. Cependant, en 1960, une distinction claire entre procaryotes et eucaryotes a été établie, basée sur des différences d'organisation Cellulaire **(International & La, 2008).** Les procaryotes incluent les organismes dépourvus de compartiments cellulaires, les eucaryotes incluent ceux qui ont des organites. Les cellules procaryotes sont généralement plus petites que les cellules eucaryotes**(Whitman, 2009).**

En 1962, Stanier et ses collègues ont noté que cette algue bleu-verte ne possède pas de compartiment cellulaire et fait donc partie d'un procaryote; ils ont proposé de nommer ce micro-organisme « Cyanobactéries **(International & La, 2008).**Cette nouvelle désignation est acceptée et publié pour la première fois en 1974 dans le Bergey's Manual of Déterminatives Bacteriologyin Durand-Chastel **(Ali & Saleh, 2012).**

La culture de cette algue a commencé en 1970 sur le lac Texcoco au Mexique et est maintenant produite dans des pays du monde entier**(Koure et al., 2022).**

Au début des années 1970, la première usine de production à grande échelle de Sosa Texcoco a été créée. Avec le début des analyses chimiques, la course à la commercialisation a commencé**(Ali & Saleh, 2012).**

La spiruline longtemps considérée comme une algue verte est en fait un type de cyanobactérie décrite pour la première fois par Wittrock et Nordsted en 1844 sous le nom de Spirulina platensis Nordsted **(International & La, 2008).**

Ses propriétés nutritionnelles sont connues depuis des siècles dans Mexique et/ou autour du lac Tchad. Plus récemment, ses avantages ont été reconnus comme complément alimentaire pour lutter contre la malnutrition et dans le domaine de la santé et du sport. Dans les années 1970, la FAO l'a identifié comme la source de protéines du futur. Cette situation unique a conduit à une meilleure exploration des moyens d'améliorer sa production **(Thual & Economie, 2015).**

L'Afrique reste l'un des continents avec les rendements les plus faibles malgré les conditions de croissance favorables **(Koure et al., 2022).** La spiruline nommée Tecuitlatl par les Aztèques, signifie les excréments de pierre au 16ème siècle. Plus tard, en raison de l'apparition de maladies contagieuses, de nouvelles coutumes ont été adoptées par les gens, telles que de nouveaux aliments, des changements religieux, politiques et sociaux, et le sujet de Tecuitlatl a pris fin. On ne savait pas jusqu'au moment où l'homme a commencé à utiliser des microalgues, mais à l'heure actuelle, ces ressources peuvent être appelées « tendance verte ». Spiruline - « Petits gâteaux faits d'une algue semblable à de la boue, qui a une saveur de fromage, et que les indigènes ont sortis du lac pour faire du pain, … ». Ils sont séchés en gâteaux appelés « Dihe » ou « Die ». Au 9ème siècle, sous l'Empire Kanem, seule la spiruline avait une longue histoire au Tchad.En 1961, dans une nouvelle, The Voice of the Dolphins, Leo Szilard postule le développement d'un complément alimentaire à base d'algues et nomme les algues « Amruss ». Au début des années 1970, la première usine de production à grande échelle de Sosa Texcoco a été crée.

Avec le début des analyses chimiques, la course à la commercialisation a commencé **(Ali & Saleh, 2012).**

Ⅰ.2.2/Répartition géographique :

La spiruline se trouvent généralement dans les régions tropicales et subtropicales et se développe préférentiellement dans des eaux chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, elle s'observe dans les eaux saumâtres **(Ali & Saleh, 2012).** Ses propriétés thermophiles et photophiles remarquables nécessitent sa distribution dans une zone tropicale comprise entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude sud.

Sa forte plasticité écologique lui permet d'être trouvé naturellement également dans les lacs alcalins d'Amérique latine(Mexique, Pérou), Sud d'Asie (Inde, Thaïlande) d'Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie). Cet organisme est dit ubiquiste. elle est cependant beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe (figure 1)**(Charpy et al., 2008).**



Figure 1:aire de répartition géographique de spiruline

Site web 1(*Https2F2Fuploads2Fimage2Fimage_mapemonde_-_resized-1596366377*, n.d.)

I.2.3/Morphologie de la spiruline :

Arthrospira platensis est une microalgue photosynthétique (cyanobactérie) aquatique (0,3 mm de long), filamenteuse, de forme hélicoïdale, multicellulaire et bleu-vert constitués de cellules juxtaposées. Le nom commun de sa biomasse commercialisée est « Spiruline » dont la production fait de ce micro-organisme le plus cultivé au monde **(Delrue et al., 2017).**

Les deux espèces les plus importantes sont *Spirulina maxima* et *Spirulina píatensis*. contient de la chlorophylle a, comme les plantes supérieures, les botanistes le classent comme une microalgue appartenant à la classe des Cyanophyceae ; mais selon les bactériologistes, il s'agit d'une bactérie en raison de sa structure procaryote**(La & Ciencias, 2003).**

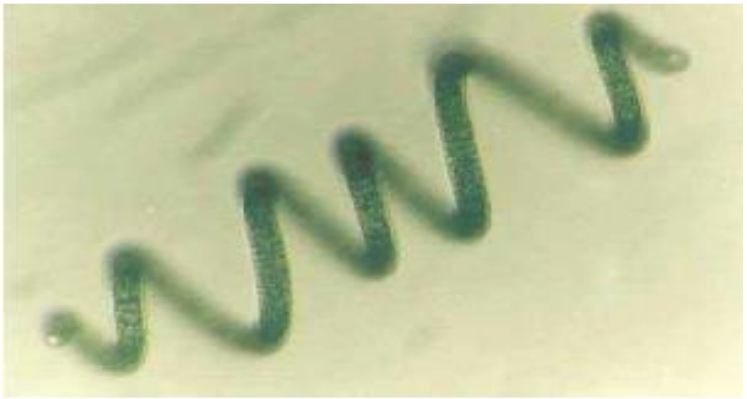


Figure 2: forme de la spiruline *(Arthrospira platensis* ***(Jourdan, 2006)***

Cependant les Spirulines présentent différentes formes (Figure 3). On trouve des formes spiralées classiques, ondulées et parfois droites. Cette particularité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat.

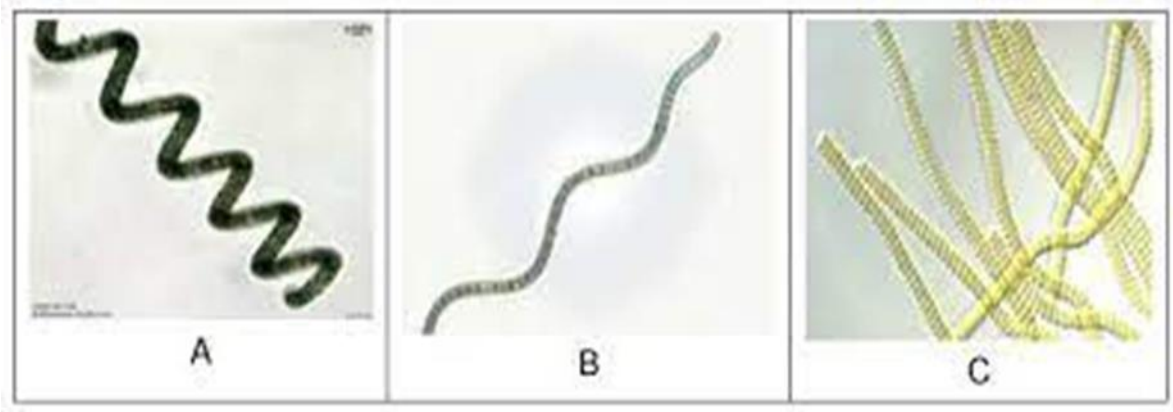


Figure 3: Différentes formes prises par la Spiruline***(Charpy et al., 2008).***

A = Forme spiralée (*Arthrospira fusiformis*) ,B= Forme ondulée (*Spirulina maxima*), C = *Arthrospira platensis*

Ⅰ.2.4/ Composition chimique de spiruline :

La spiruline contient des protéines de haute qualité et une grande quantité d' acides aminés essentiels (leucine, tryptophane , valine , isoleucine , méthionine , phénylalanine , lysine et thréonine)), ainsi qu'une grande quantité d' acides gras essentiels . en particulier l'acide linolénique et l'acide linoléique . En outre, il contient également plusieurs glucides tels que le glucose, le rhamnose , le galactose , le xylose et le mannose . Les vitamines et les pigments (β-carotène, chlorophylle-a, xanthophylles et phycocyanine**)(Abdel-latif et al., 2022).**

De plus, d'autres composés bénéfiques pour la santé tels que des minéraux (par exemple Fe, Mg), le tableau ci-dessous présente la composition biochimique de la spiruline.

.

Tableau 2:composition chimique de la spiruline.

Composition	Valeure/teneur	Références
Protéine :	-La Spirulina platensis est le meilleur aliment protéiné , dont la teneur en protéines atteint 70 %	**(Zhou et al., 2018)**
Glucide :	-Les teneurs en sucres et en polysaccharides d' A. platensis sont généralement faibles, ne représentant respectivement que 15 à 20 % du poids sec de la biomasse et 6 à 12 % du poids sec.	**(Chen et al., 2022a)**
Lipide :	-Les lipides représentent environ 5% du poids de la spiruline.Les acides gras(AG) sont répartis également entre polyinsaturés(AGPI) et saturés,(AGS), monoinsaturés(AGMI) environ 6 % du total.	**(Bard, 2018)**
Vitamine :	-La spiruline est une bonne source de vitamines, notamment du groupe B. Parmi celles-ci, la vitamine B12 est présente en grande quantité (0,16 mg/100 g), ce qui fait que certains la considèrent comme une excellente solution pour lutter contre les carences en vitamines chez les végétariens.	**(Bard, 2018)**
Minéraux :	-Les minéraux et oligo-éléments les plus importants et les plus connus de la spiruline sont le fer, et le potassium, le zinc, le phosphore, le calcium et le magnésium.	**(Urbain & Niangoran, 2019)**
Les pigments :	-la spiruline est riche du pigment responsable de la couleur des algues : la phycocyanine, qui est un pigment d'un grand intérêt biomédical. Le seul aliment naturel dont la couleur bleue représente plus de 15 % du poids de la spiruline. -Cependant, cette ressource précieuse est également une riche source d'autres composés à haute valeur ajoutée tels que les chlorophylles, les caroténoïdes et les phycobiliprotéines .	**(Mg et al., 1999)** **(Lardeaux et al., 2017)** **(Lafarga et al., 2020)**

Le β-carotène	Le β-carotène est présent avec une teneur exceptionnellement élevée ; environ 30 fois plus élevée que celle trouvée dans une carotte. Les principales vitamines antioxydantes contenues dans la spiruline sont le β-carotène, les caroténoïdes et la vitamine E.	**(Laifa, 2023)**

Ⅰ.2.5/Taxonomie :

La spiruline (*Arthrospira*) appartient aux bactéries photosynthétiques oxygénées qui couvrent les groupes Cyanobactéries et Prochlorales. Il s'agit de cyanobactéries filamenteuses non hétérocystes qui se trouvent généralement dans les régions tropicales et subtropicales dans des plans d'eau chauds avec une teneur élevée en carbonate/bicarbonate, un pH élevé et de salinité. Leurs gros filaments (3 à 12 μm de diamètre) sont facilement collectés par filtration et autres moyens physiques de séparation. La spiruline a été isolée à partir d'un échantillon d'eau douce en 1827 par Turpin**(Ali & Saleh, 2012).**

Arthrospira platensis, appartenant à la famille des Oscillatoriaceae, comportant des filaments multicellulaires et héliciformes, est l'une des nombreuses espèces de cyanobactéries commercialisées dans le monde (Chen et al., 2022a)**.**

En effet, les espèces d'Arthrospira sont connues pour être présentes depuis l'existence de la Terre, notamment *A. platensis*, a été identifié par Jerez-Martel et al. (2017)**(Sahin, 2018)**

En 1989, ces micro-organismes ont été classés en deux genres, selon une suggestion de Gomont en 1892. Ce classement est actuellement accepté . Stanier et Van Neil (1940) ont incorporé des algues bleu-vert dans le royaume procaryote et ont nommé ces micro-organismes cyanobactéries, ce qui a été accepté et publié pour la première fois en 1974 dans le Bergey' s Manual of Determinative Bacteriology**. (Ali & Saleh, 2012)**

Une identification taxonomique précise des souches pour des applications alimentaires est essentielle. Conventionnellement, la disposition des spirales, ainsi que la taille des cellules et des apex des trichomes ont été considérées comme les principaux attributs taxonomiques des espèces de la classification *Arthrospira*.**(López-Rodríguez et al., 2021)**

Profil taxonomique :*Arthrospira SP.*

Règne : *Monera*

Sous règne: *Prokaryota*

Phylum : *Cyanophyta*

Classe : *Cyanophyceae*

Ordre : *Nostocales*

Famille : *Oscillatoriaceae*

Genre : *Arthrospira*

Espèce : *Arthrospira platensis*

Ⅰ.2.6/Toxicité :

Elle est non toxique et sans danger pour la consommation humaine, et sa croissance dans des fonctions à forte alcalinité empêche la croissance de la plupart des organismes nocifs pour l'environnement, et ce sont les raisons pour lesquelles sa culture est souhaitée dans le but de la culture, c'est-à-dire récoltez de nombreux bienfaits nutritionnels et médicinaux. Même si les avantages nutritionnels, environnementaux et sociaux de la spiruline ont été rassemblés dans diverses publications, il est raisonnable de conclure que la production de spiruline est limitée à un petit nombre de zones naturelles. En conséquence, un nombre croissant de scientifiques et d'experts du monde entier demandent une production plus répandue de spiruline**(AlFadhly et al., 2022)** .

La spiruline est considérée comme un excellent aliment, sans toxicité et ayant des propriétés anticancéreuses, antivirales, immunologiques et elle agit également comme un puissant antioxydant. Il y a eu un changement significatif dans les fonctions de la spiruline dans des conditions de stress**(Ali & Saleh, 2012).**

Ⅰ.2.7/Reproduction :

La spiruline se développe de 25% chaque jour, sa quantité doublant en 4 jours. Il se reproduit végétativement (asexuée) par simple scission, fission binaire ou multiple , bourgeonnement ou fragmentation aléatoire **(Manet, 2016).**

Il y a trois étapes fondamentales: la fragmentation des trichomes, les processus d'élargissement et de maturation des cellules d'hormogonie, et l'allongement du trichome. Ensuite, ce trichome mûr se divise en filaments ou en hormogonie, les cellules dans les hormogonies sont augmentées par fission binaire, se développent en longueur et prennent leur forme hélice (figure. 04) **(Ali & Saleh, 2012).**

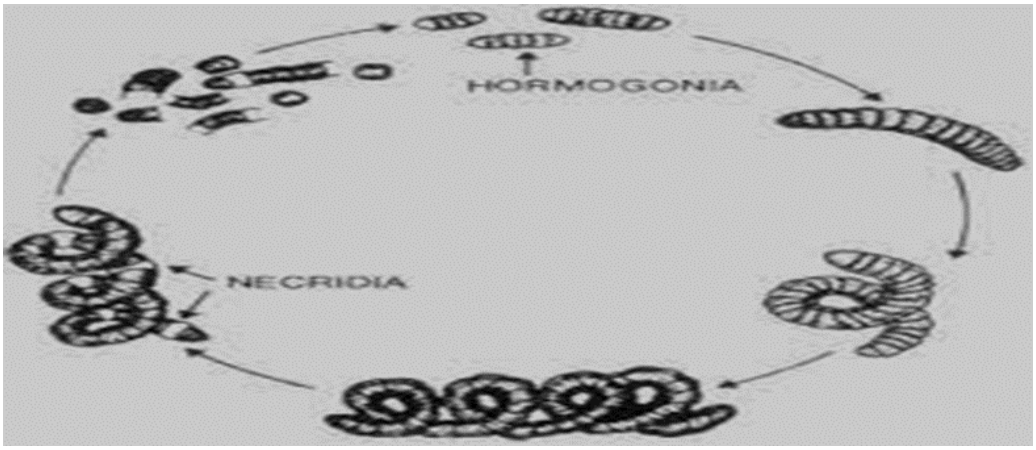


Figure 4: : Cycle de vie de la spiruline ***(Ali & Saleh, 2012)***.

Ⅰ.3/Culture de la spiruline :

La production de spiruline est réalisée à plusieurs échelles artisanales (manuelles), semi-industrielles et industrielles. Facteurs qui différencient ces modes de production superficie totale des bassins cultivés et leurs surfaces unitaires, les degrés de technologie, les moyens et matériaux utilisés, étendue de l'objectif. Cependant, le processus de production de spiruline passe également par les mêmes étapes requises, qui seront décrites ci-dessous, sur la base de méthodes manuelles (artisanales)**(Charpy et al., 2008).**

La spiruline vit dans une eau à la fois salée et alcaline. L'eau utilisée pour le milieu de culture doit être de préférence potable (mais ne sentant pas fortement le chlore) ou au moins filtrée, le plus important étant l'élimination des algues étrangères. L'eau de pluie provenant des ruisseaux ou des puits est généralement de qualité convenable. Les limites admissibles de salinité et d'alcalinité sont suffisantes mais nous visons généralement un minimum, pour des raisons économiques**(Jourdan, 2006).**

En termes de culture de la spiruline, elles se reproduisent naturellement dans des lacs avec certaines conditions : pH alcalin(9-11), température relativement élevée(34 °C), intensité lumineuse assez élevée**(Hacène et al., 2001) .** Zarrouk est le milieu de culture standard utilisé pour la cyanobactérie *Arthrospira platensis*. **(de Castro et al., 2015).**

Ⅰ.3.1/Milieu naturel de la spiruline :

Le milieu utilisé était l'eau de mer (diluée au 1/5ième avec de l'eau distillée). Les cultures réalisées sur ces milieux sont libres et enrichies en nitrate de sodium, bicarbonate de sodium. Le deuxième type est celui des engrais organiques utilisés en agriculture et en aquaculture.

Les cultures ont été réalisées en flacons Erlenmeyer et en flacons Roux de 1 litre (37 °C, 3000 lux et pH de 10 et une faible agitation). D'autres supports peuvent atteindre une croissance rapide mais par rapport aux supports synthétiques. (Hacène et al., 2001) Le milieu de culture doit être enrichi en nutriments, le pH doit également être ajusté comme la salinité**(Delİège, 2019).**

Ⅰ.3.2/Culture artisanal :

Les fermes artisanales de Spiruline sont des systèmes d'exploitation à faible apport en énergie. La superficie des bassins est très variable, n'excédant pas la centaine de m2 pour une superficie totale inférieure au 3000 m2. Les moyens pris peuvent être rustiques, s'appuyant sur le bon sens et l'ingénierie**(Charpy et al., 2008).**



Figure 5: A : bassin en armature en bois avec lit de cendre, B :bassin en béton, C :bassin en parpaing reve¬¬tus en plastique, D :bassin en bache plastique **(Charpy et al., 2008).**

Ⅰ.3.3/Culture industrielle :

Le système industriel de culture de la Spiruline est identique au système manuel, mais il existe des différences dans l'ordre des investissements, la modernisation des équipements la superficie des bassins de culture, les produits obtenus. La plupart utilisent des systèmes de contrôle informatique automatique.

La culture s'effectue dans de grands bassins, généralement rectangulaires, à espacement moyen, couverts pendant la saison froide pour conserver la chaleur pendant la saison ou bénéficiant d'un ciel ouvert pendant la saison chaude avec une ombre partielle pour contrôler la saison. Brassée par une roue à aubes de 6 m de long pour une superficie de 2 000 mètres carrés **(Ralijaona & Guy, n.d.).** Elle se cultive dans des bassins artificiels, en exploitation industrielle notamment aux USA, en Inde, en exploit artisanal notamment dans les pays en développement (Sénégal, Burkina Faso)ou même familiale**(Delİège, 2019).**

Ⅰ.4/Domaine d'application :

Aquaculture :

La valeur nutritionnelle de la spiruline a fait l'objet d'une évaluation approfondie pour son potentiel en tant que complément à l'alimentation animale et humaine .la spiruline est une source de protéines bonne et peu coûteuse. Il possède également des capacités de stimulation immunitaire, ce qui peut réduire le coût et le risque liés à l'utilisation de médicaments en aquaculture grâce aux caractéristiques de ses nutriments, la spiruline peut permettre aux organismes aquacoles d'être résilients aux facteurs de stress environnementaux et aux maladies. En tant que complément alimentaire, il a été démontré qu'il exerce des effets positifs sur la croissance, la reproduction, la composition des carcasses, les réponses immunitaires et la résistance aux maladies de diverses espèces de poissons**(Mamun et al., 2023).**

Nutritionel :

La Spiruline *Arthrospita platensis* est l'une des microalgues les plus remarquables, qui constitue une excellente source de minéraux, de vitamines et d'acides aminés . Jusqu'à présent, la spiruline était incorporée dans les produits pour augmenter les propriétés nutritionnelles et physiques des aliments. Par exemple, Spiruline peut améliorer l'activité biologique nutritionnelle du yaourt en favorisant la prolifération des bactéries lactiques.**Wang et al., 2023) .**

Comparé à d'autres aliments, la spiruline présente une valeur nutritionnelle extraordinaire, cependant, la composition biochimique de la spiruline dépend fortement des conditions de croissance et des méthodes utilisées pour la récolte et le séchage. Par conséquent, la spiruline a reçu le label de «super-aliments» par l'Organisation mondiale de la santé (WHO)**(Shao et al., 2019).**

Thérapeutique :

La spiruline est la microalgue la plus consommée, qui a été largement utilisée comme aliment sain humain il y a des siècles; et elle est actuellement produite commercialement comme nourriture saine et des additifs valorisés dans une entreprise extrêmement rentable.

En plus de sa valeur nutritionnelle élevée, la spiruline présente de nombreuses activités biologiques telles que antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, antimicrobiennes, antidiabétiques & obésité et anti-toxicité **(Shao et al., 2019).**

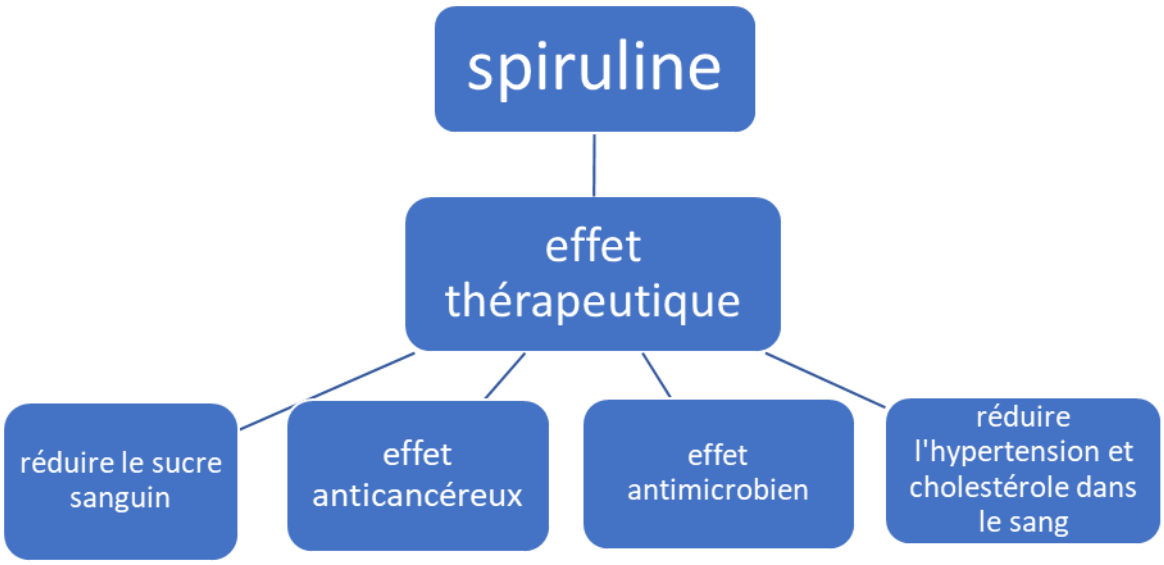


Figure 6: Une explication diagramatique de la valeur thérapeutique conférée par l'algues spiruline.

Diagrame

CHAPITRE 2 :
Optimisation de la production de biomasse

CHAPITRE II :Optimisation de la production de biomasse

Ⅱ.1./ Les principaux facteurs influençant la croissance et la productivité

La croissance de spiruline comme le reste des microorganisme, elle dépond de facteur environnementale tel que l'éclairage, le pH du milieu, la température d'incubation et l'agitation qui assure une bonne homogénéisation du milieu et assure une bonne l'exposition du microalgue à la lumière .

Ⅱ.1.1 La lumière :

L'intensité lumineuse idéale pour cultiver la spiruline est de 200 μmol $m^{-2} \cdot s^{-1}$, l'intensité élevée de la lumière favorise une croissance accéléré permettre d'y'arrivé à des taux de développement spécifique maximal (Umax), mais la faible intensité de la luminosité produit une biomasse riche en pigments et en protéines. Les cultures d'algues extérieures sont soumises à deux cycles lumineux et sombres différents. Le régime physiologique imposé par les cycles lumineux régit l'ajustement ou l'acclimations des cellules d'algues dans les environnements extérieurs. L'augmentation de la densité cellulaire dans le milieu de culture entraîne une augmentation de l'auto-ombre et une baisse du taux de croissance de la spiruline . Une étude a démontré qu'en augmentant l'intensité de la lumière, la production de biomasse augmente également, ce qui prouve que l'Intensité lumineuse et la fabrication de biomasses sont directement proportionnelles**(Devi et al., 2024**).

Ttandis que l'intensité lumineuse élevée convient à la production de caroténoïdes. Certaine étude a révélé que l'intensité lumineuse utilisée pour cultiver la culture de S. platensis dépend du type de pigments qui veulent produire en grande quantité dans la biomasse pour la demande industrielle**(Kusumaningtyas et al., 2023).**

Ⅱ.1.2 Agitation :

L'aération et l'agitation sont deux paramètres cruciaux dans la croissance de la spiruline ; la culture doit être agitée pour homogénéiser et évité une distribution hétérogène de l'éclairage dans toute la culture de la spiruline **(Devi et al., 2024).**

L'agitation des cultures d'algues présente les avantages de la répartition uniforme du CO2 et de la prévention de la stratification thermique. De nombreux dispositifs d'agitation ont été rapportés, allant des pédales à moteur, des pompes, du débit de gravité, des systèmes de lumière d'air et de l' agitation manuelle . Dubey a constaté que, l'aération, qui pourrait être obtenue par des rotateurs, et qui fournit l'agitation des cellules en croissance pour maintenir les cellules dans la suspension, a été décrit comme très nécessaire dans l'obtention d'une bonne qualité et de meilleurs rendements**(Usharani et al., 2012).**

Ⅱ.1.3/Température :

La plupart des microalgues peuvent s'adapter à une large gamme de températures envies et de fluctuations lumineuses, mais la réponse du processus photosynthétique peut varier dans une gamme d'échelles de temps de quelques secondes à quelques minutes, voire des heures et des jours . Malgré leur capacité à s'adapter aux changements de leur environnement grâce à un certain nombre de mécanismes de régulation de la photosynthèse et de l'acclimation, les microalgues possèdent un intervalle de température optimale ce qui devrait être recherché à priori. Ceci est essentiel pour promouvoir l'utilisation efficace de la lumière et la bio-fixation du CO2, et par conséquent atteindre des productivités élevées de la biomasse**(Assunç, 2020).**

La spiruline pousse à des températures comprises entre 20 et 37 C, bien que la température idéale pour la culture de la spiruline se situe entre 29 C 35 ◦C **(Devi et al**., **2024**). Au-dessus, c'est trop chaud (43°C peut être mortel). En dessous, la vitesse de multiplication baisse avec la température. A 20°C la croissance est pratiquement stoppée. La température du milieu de culture doit donc se situer entre ces deux températures**(Jourdan, 2006).**

Les changements dans les conditions atmosphériques tels que les changements de température, d'humidité et de pression sont les facteurs fondamentaux qui déterminent la productivité et la qualité de la biomasse. Le milieu de culture de spiruline peut résister à des températures allant jusqu'à 35 °C et le processus de blanchiment du milieu de culture produit, visible à l'œil nu, mais ne peut pas résister à des températures inférieures à 20 °C. Pour éviter la contamination**(Devi et al., 2024).**

Ⅱ.1.4/ le pH du milieu :

La spiruline est un organisme ubiquiste, Cette algue classée parmi les halotolérant et halcalin , pousse favorablement dans un milieu de salinité comprise entre 22 et 60 g/L. Elle est aussi un alcalinophile qui apprécie un pH basique assez élevé, entre 8,5 et 10,5. Le pH optimal est autour de 9,5**(Christian et al., 2023).**

Le niveau de pH du milieu de spiruline doit être supérieur à 9, des sels de carbonate sont ajoutés à la culture pour augmenter le niveau de dioxyde de carbone dans l'atmosphère. Une culture saine doit avoir un pH compris entre 9 et 11 (pH alcalin), le pH a un impact direct sur la croissance des algues et la production de pigments. Lorsque la croissance est affectée, cela affectera directement la composition nutritive de la culture, ce qui peut diminuer la concentration de protéines dans la culture. Une diminution des protéines affecte la fonction anti-oxydante de la culture **(Athiyappan et al., 2024).**

Ⅱ.2/Contrôle de la contamination de la souche :

Les polluants biologiques deviennent un obstacle important dans la culture de masse, principalement dans les systèmes ouverts comme les étangs de course, mais même les PBR fermés peuvent souffrir de la contamination.

Les bactéries, le zooplancton, les algues (dangereuses) et les virus sont les principaux polluants biologiques susceptibles de restreindre la croissance des algues et d'empêcher le processus industriel (**Novoveská et al., 2023).**

La qualité du produit a été assurée grâce à des contrôles du milieu de culture et au respect des règles d'hygiène durant les différentes manipulations (récolte, post-récolte et conditionnement).Des analyses physiques, chimiques et microbiologiques sont aussi effectuées régulièrement à chaque saison.

* contrôle du milieu de culture : Les paramètres à contrôler sont la couleur, l'odeur et la concentration du milieu ainsi que les valeurs de la T°C, de la Salinité et du pH**(International & La, 2008).**

*Le contrôle de la température : est un paramètre opérationnel important dans les performances du PBR; il influence grandement le taux de croissance des microalgues .

L'efficacité de la photosynthèse dépend d'un équilibre entre la lumière et la température **(Assunç, 2020) .**

*Control de pH :Un système efficace de contrôle du pH est également important dans la perforation du PBR car le pH en dehors de la plage optimale peut avoir un impact grave sur plusieurs composants des cellules de microalgues impliqués dans l'absorption du dioxyde de carbone et/ou d'autres nutriments importants (par exemple le fer), compromettant ainsi la santé de la culture dans son ensemble**(Assunç, 2020).**

Ⅱ.3/La photosynthèse :

Près de la moitié de la photosynthèse sur Terre est réalisée par des organismes aquatiques, mais elle ne représente pourtant que 1 % de la biomasse totale. Ces micro-organismes, les microalgues, forment le phytoplancton et sont à l'origine de 90 % de la production primaire aquatique**(Clement-larosière et al., 2014).**

S. platensis est riche en pigments photosynthétiques, y compris les chlorophylles, les caroténoïdes et la phycocyanine. La chlorophylle et les caroténoïdes sont des pigments naturels présents dans tous les organismes photosynthétiques, tandis que la C- phycocyanine ne se trouve que dans les algues bleu-vert**(Kusumaningtyas et al., 2023).**

La photosynthèse est le processus par lequel les microalgues transforment l'énergie lumineuse en énergie chimique et fixent le carbone inorganique dissous (CID). Il en résulte la synthèse de matière organique et la production d'oxygène. Ainsi l'activité photosynthétique est la fixation du CO2 et la production d'O2 via les mécanismes de la photosynthèse.

Il est composé de deux phases chimiquement indépendantes et liées par des intermédiaires et une régulation enzymatique commune**(Clement-larosière et al., 2014).**

La chlorophylle absorbe l'énergie du soleil pour la photosynthèse. S. platensis a deux formes de chlorophylle, à savoir : la chlorophylle a (Chl a) et la chlorophylle b (Chl b). Chl a est le principal pigment photosynthétique présent dans tous les organismes photosynthétiques qui jouent un rôle fondamental dans la collecte de la lumière, tandis que

Chl b participe en tant que pigment accessoire dans photosynthèse qui joue un rôle de transfert de lumière vers le centre de réaction photosynthétique (photosystème I). En plus de la chlorophylle b, il existe plusieurs autres pigments accessoires chez *S. platensis,* à savoir les caroténoïdes et la phycocyanine. Les caroténoïdes sont responsables de l'extinction de la lumière et protègent les cellules contre les dommages photo-oxydatifs (adaptation au stress lumineux)**(Kusumaningtyas et al., 2023).**

Le processus photosynthétique dans son ensemble peut être décrit par l'équation suivante :

$$nco_2 + 2nH_2O + \text{lumière} \longrightarrow (CH_2O)_n + H_20 + O_2$$

Ⅱ.4./Le mode batch :

Ce mode de culture est simple à mettre en oeuvre et permet d'étudier la vitesse de croissance des microalgues. En mode de culture batch, tous les éléments nécessaires pour la culture (lumière, nutriments,…) sont apportés une seule fois et en début de culture. Au fil du temps, la population de microalgues va s'accroitre jusqu'àl'épuisement d'un ou de plusieurs facteurs de culture (en général les nutriments). La croissance des microalgues enmode batch est décrite par une courbe bien définie .

Cette courbe comprend quatre phases :

a. La phase de latence (1) : c'est la phase d'adaptation des microorganismes à leur milieu de culture. Cette phase qui varie en fonction de la nature du microorganisme et de la nature du milieu est généralementcourte.

b. La phase de croissance exponentielle (2) : dans cette phase, la vitesse de croissance est maximale et constante.

c. La phase stationnaire (3) : la population de microorganismes devient constante (la quantité de cellules qui se reproduisent est égale à la quantité de cellules qui meurent).

d. La phase de décroissance (4) : c'est la phase de mortalité, les cellules meurent à un rythme exponentiel (perte irréversible de lacapacité à se reproduire). Dans ces conditions de

culture défavorable, certaines espèces rentrent en dormance cellulaire et reprennent leur croissance avec un nouvelenvironnement adéquat**(Florent, 2017).**

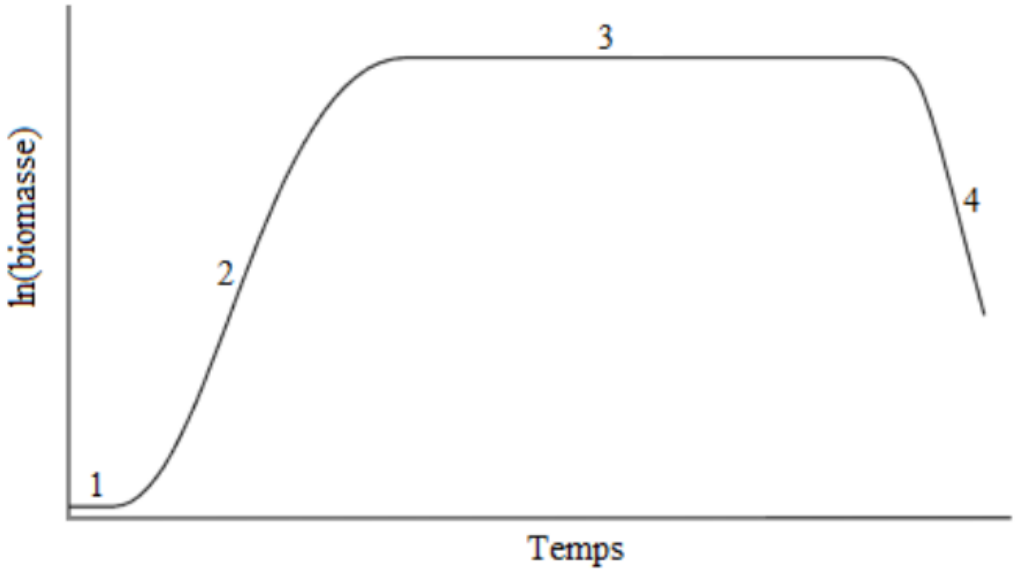


Figure 7: : Les phases de croissance des microorganismes ***(Lucchetti, 2015).***

CHAPITRE 3 :

Procédés de production de biomasse algale

CHAPITRE Ⅲ : Procédés de production de biomasse algale

Ⅲ. 1./ La production de biomasse algale :

La sélection d'une souche robuste et la mise en place d'un photobioréacteur sont essentielles pour la production de microalgues. Il est important de choisir une souche capable de se développer dans différentes conditions environnementales. De plus, le photobioréacteur doit être conçu de manière à fournir des conditions optimales de croissance et de production pour la souche sélectionnée. Il est également crucial de pouvoir ajuster le système de production en fonction des changements environnementaux. Les paramètres qui influencent la production de microalgues, tels que le pH, la température et la disponibilité de la lumière, doivent être contrôlés de manière adéquate. Bien que cela puisse être facile en laboratoire, cela devient un défi complexe à grande échelle et en extérieur. Par conséquent, garantir des conditions optimales de production de microalgues à grande échelle nécessite une attention particulière à ces aspects clés**(Lafarga et al., 2020).**

Les systèmes de culture de microalgues et cyanobactéries en photo-autotrophie peuvent être globalement classés en deux grandes catégories selon leur contact ou non avec l'environnement extérieur :

Ⅲ.1.1/Système ouverts :

Ils sont simples, bien connus et ont été principalement utilisés pour la production industrielle de microalgues au cours des dernières décennies. Les systèmes ouverts sont plus faciles à construire et à exploiter et sont moins chers que les réacteurs fermés. Ces systèmes consomment le moins d'énergie et sont faciles à nettoyer. Souvent utilisés par les marshals, ils sont réputés pour leur maturité technologique et pour leur capacité à évoluer facilement et avec succès. On les retrouve en quatre types :

• Lacs et lagunes naturels ;

•Les grands étangs peu profonds ne se mélangent pas et sont souvent utilisés pour cultiver Dunaliella salina ou la culture de la Spiruline.

• Pot cylindrique rond avec centre de mélange, utilisé pour la chlorelle en Asie.

• Réservoirs mixtes avec roues à aubes, principalement utilisés pour la culture de la spiruline**(Laifa, 2023).**

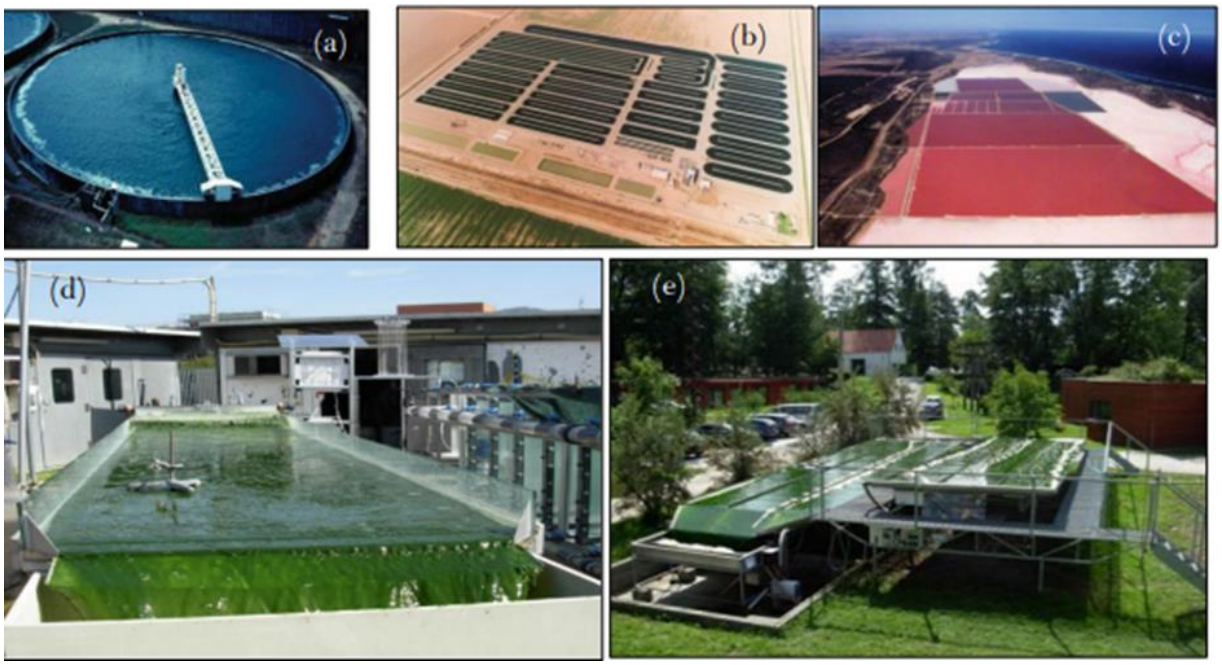


Figure 8: Photographies des systèmes ouverts dans le monde : (a) bassin pour Chlorella à Taiwan. (b) Raceways à Spiruline en California, USA. (c) bassins naturels de 200 ha de Dunaliella Salina en Australie 29. (d) & (e) Système de cascade en couche mince de 60L **(Laifa, 2023).**

Les bassins de cultures font en général 15 à 50 cm de profondeur, la suspension des cellules est assurée par le mixage et la circulation de l'eau, qui sont assurés par divers moyens selon le type de bassin, à savoir des pales en rotation pour les raceways, un bras rotatif pour les bassins circulaires et un système de pompe pour les bassins inclinés**(Mata et al., 2010).**

La culture en systèmes ouverts est souvent réalisée dans des environnements très sélectifs tels que les environnements hypersalins et hyperalcalins pour limiter naturellement la contamination. Ces systèmes donnent un rendement moyen allant de 0,4 à 0,8 g/L de biomasse**(Chentir, 2018).**



Figure 9: Culture en bassin**(Chentir, 2018**).

Ⅲ.1.2/Systèmes clos (photobioréacteurs) :

Un bioréacteur, également appelé fermenteur ou surgénérateur, est un dispositif dans lequel des micro-organismes (bactéries, microalgues….) sont cultivés pour produire de la biomasse. Dans cet espace, le substrat pour la culture est contrôlé **(Urbain & Niangoran, 2019)**.et un système fermé au sein du quel s'effectue à la présence de lumière. On peut distinguer deux types principaux selon la source lumineuse : le le photobioréacteur (PBR) avec éclairage solaire et le PBR avec lumière artificielle. Le PBR solaire est utilisé pour la fabrication bénéficiant ainsi des ressources solaires pour établir une production industrielle à grande échelle. Le PBR avec éclairage artificiel est utilisé pour des applications à petite échelle**(Samhat, 2023).**

Les photoréacteurs diffèrent fondamentalement des bioréacteurs classiques par un autre facteur : la lumière. Il existe de nombreuses géométries différentes de photobioréacteurs, dont la plupart sont à géométrie plane et à géométrie tubulaire**.Urbain & Niangoran, 2019).**

L'avantage majeur des PBR fermés soit leur capacité à empêcher le contact de la culture de microalgues avec l'atmosphère, le risque de pollution ne peut être exclu**(Prokop et al., 2015).**

Le milieu de culture circule par une pompe ou par un mécanisme de barbotage. Il existe trois principaux types de photobioréacteurs : les plaques tubulaires ou les colonnes verticales**(Chentir, 2018).**

Ⅲ.1.2.1/Les photobioréacteurs tubulaires :

Le PBR tubulaire, où la biomasse algale est pompée à travers des tubes transparents. Ces tubes peuvent être étroits et serrés, ce qui réduit la longueur du trajet de la lumière et augmente l'apport volumétrique de photons. Lorsque le substrat n'est pas limitatif, l'augmentation de l'apport volumétrique de photons permet des cultures plus denses, ce qui fait des PBR tubulaires un bon choix pour les cultures à haute densité et les applications où la déshydratation est un coût important(J. Liu et al., 2023)**.**

La fonction de base d'un PBR tubulaire correctement conçu est de fournir un environnement contrôlé afin d'obtenir une croissance et/ou une formation de produit optimale avec la souche de microalgue particulière utilisée. Un photobioréacteur peut être considéré comme un système à quatre phases composé d'un solide (cellules), d'un milieu de croissance liquide, d'une phase gazeuse et d'un rayonnement lumineux superposé **(Prokop et al., 2015).**

Pour cultiver la spiruline, la géométrie tubulaire est préférable. En effet, cela facilite le déplacement des microalgues à la frontière, évitant ainsi leur destruction**(Urbain & Niangoran, 2019).**

Types de photobioréacteurs tubulaires :

1/Photobioréacteurs Serpentine :

Les PBR serpentins sont le plus ancien système fermé testé . Ils se composent de tubes droits reliés par des coudes en U pour former une boucle plate (le photostage) qui peut être

disposée verticalement ou horizontalement L'échange gazeux et l'ajout de nutriments ont normalement lieu dans un récipient séparé et la circulation de la culture (à des débits compris entre 20 et 30 cm s−1) est réalisée par une pompe ou un pont aérien. **(Prokop et al., 2015).**

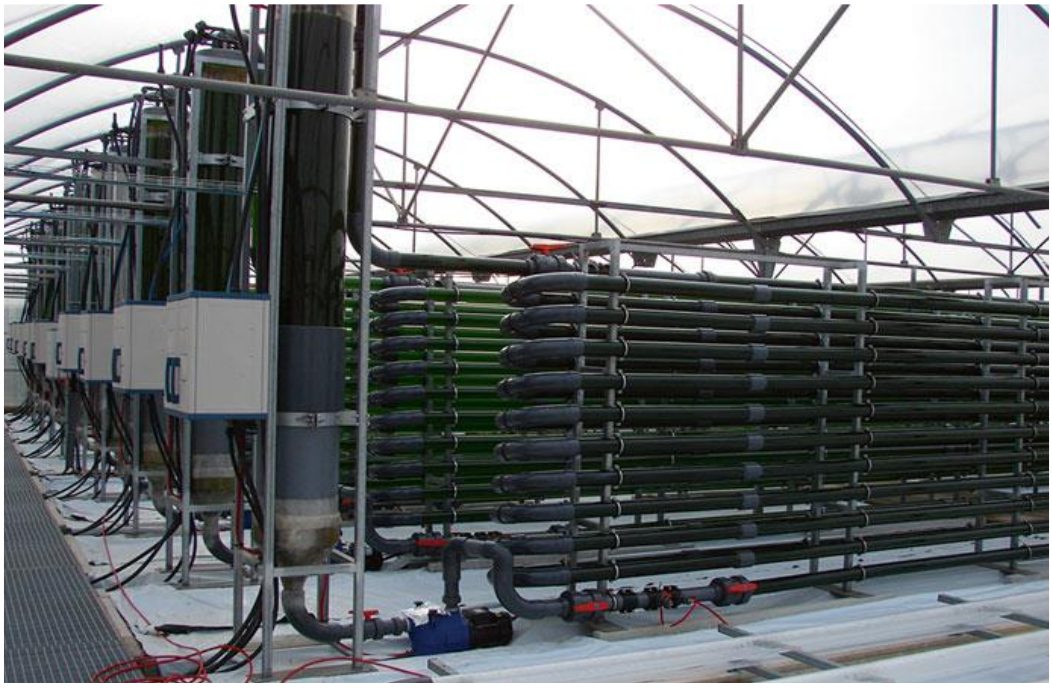


Figure 10: Photobioréacteur à serpentin tubulaire vertical développé par le Département de génie chimique de l'Université d'Almeria (Espagne) ***(Prokop et al., 2015).***

2/Photobioréacteurs à collecteur :

Dans les collecteurs PBR, une série de tubes parallèles est reliée aux extrémités par deux mani-plis, l'un pour la distribution et l'autre pour la collecte de la suspension de culture. Les principaux avantages de ces systèmes par rapport aux PBR en boucle serpentine sont la réduction des pertes de charge et des concentrations d'oxygène plus faibles (en raison de la distance d'écoulement de la suspension entre l'entrée du tube et le dégazeur), deux facteurs qui facilitent la mise à l'échelle à la taille industrielle**(Prokop et al., 2015).**



Figure 11: Photobioréacteurs à collecteur tubulaire installés chez Roquette Klötze& Co. KG (Allemagne) **(Prokop et al., 2015).**

3/ Photobioréacteurs hélicoïdaux :

Les PBR hélicoïdaux sont constitués de tubes flexibles de petit diamètre enroulés autour d'une structure de support verticale (Figure 11). Ce modèle a été utilisé dans les années 1950 pour cultiver la Chlorella et a ensuite été adopté par Šetlík et ses collaborateurs (1967) et Jüttner(1982)**(Prokop et al., 2015).**

Ⅲ.1.2.2/Les photo- bioréacteurs à plaques plates :

La configuration conventionnelle du PBR à plaque plate (FP-PBR) est utilisée depuis le début des années 1950 et convient parfaitement aux opérations intérieures et extérieures. FP-PBR se présente comme une conception compacte et robuste, caractérisée par une forme cubique – avec deux larges surfaces planes ou feuilles, superposées et allant de quelques mm à 70 mm, et éclairées des deux côtés. Cette conception de FP vise à tirer le meilleur parti de la récolte de la lumière via des collecteurs solaires et à réduire la dégradation de la lumière le long du trajet de la lumière, en particulier dans les cultures à haute densité; notez que le trajet lumineux ne peut pas être augmenté indéfiniment en raison de l'ombrage des cellules, qui contribue à diminuer l'activité photosynthétique**(Assunç, 2020)**.

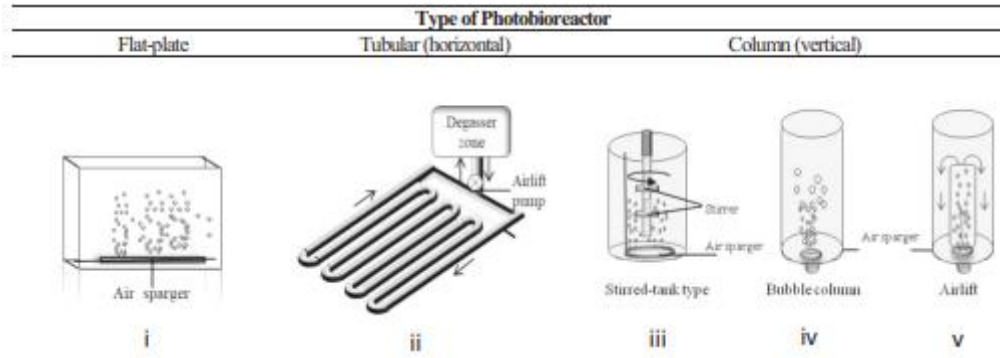


Figure 12: : Configurations des PBR fermés classiques utilisés pour la culture de microalgues : i) plaque plate ; ii) tubulaire (horizontal) ; et colonne (verticale) : iii) cuve agitée ; et colonnes aérées – iv) types à bulles et v) à transport aérien ***(Assunç, 2020)***.

III.1.2. 3/ les photo- bioréacteurs à colonnes annulaires :

Les PBR de colonne sont des tubes verticaux de diamètres et de hauteurs variables. Les PBR de colonne sont relativement simples à fabriquer, faciles à utiliser et sont considérés comme rentables. Cependant, le volume par colonne est limité. Ils sont généralement faits de matériaux en plastique transparent rigide, bien que le verre soit parfois appliqué. Les sacs en plastique verticaux peuvent être considérés comme un type de PBR de colonne. Le diamètre est restreint par la longueur du chemin de la lumière et peut varier de quelques cm jusqu'à 30 cm ou plus, où 20 cm a été recommandé comme diamètre maximum. La hauteur des colonnes est principalement limitée par l'accumulation de pression dans la colonne, et la hauteur maximale est de 3 à 4 m. Colonne PBR a un rapport d'espace volume-sol favorable. La

colonne PBR peut être difficile à nettoyer mais est considérée comme facile à stériliser **(Novoveská et al., 2023) .**

Le critère de conception le plus important pour les PBR est de maximiser le rapport surface-volume de l'éclairage; par conséquent, l'épaisseur de la culture doit être très mince. Au fil de sans, les scientifiques ont introduit un concept de conception cylindrique pour un PBR induit et diffusé capable de récolter le rayonnement solaire et de distribuer la lumière symétriquement à l'intérieur du bioréacteur**(Touloupakis et al., 2022).**

Ⅲ.1.2.4/Photobioréacteur à cuve agités :

Le type PBR à cuve agitée est un bioréacteur commercial à cuve agitée, généralement fabriqué en acier, en verre ou en verre organique ; il est souvent utilisé dans l'industrie, pour produire des produits chimiques fins ou des produits pharmaceutiques .Ce système est particulièrement adapté à la croissance hétérotrophe de microalgues, en utilisant des sources de carbone organique appropriées. La précision et l'exactitude du contrôle de chaque paramètre de fonctionnement, ainsi que la minimisation de la contamination par stérilisation thermique sont en effet les principaux avantages offerts par de tels appareils. En utilisant des arrangements transparents aux parois, ils peuvent être utilisés pour la culture phototrophe ; mais aussi pour les modes photomixotrophes et photohétérotrophes, à condition de prévoir une source de lumière externe (par exemple une lampe fluorescente, une LED ou même la lumière du soleil) **(Assunção&Malcata, 2020).**

Chapitre 4 :

Matériels et méthodes

CHAPITRE Ⅳ: MATERIELS ET METHODES

Ⅳ.1/MATERIELS :

Ⅳ.1.1/Matériel biologique :

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est le microalgue de genre *Arthrospira platensis*. Communément appelée (la spiruline) en provenant du sud de l'Algérie connue sous le nom spiruline BEHATAM (Boileau Etienne,Hiri Abdelkader, Tamanrasset). La souche a été entretenue au niveau du laboratoire de biotechnologies en environnementales et de Génie procédés (BIOGEP) de l'Ecole Nationale polytechnique d'Alger.

Ⅳ.1.2/ Matériels non biologique :

Ⅳ.1.2.1/ Appareillages :

* Luxmètre

* Agitateur

* Spectrophotomètre

* Bain- marie

* pompe air

* PH mètre

* Balance

* Réfrigérateur

* Autoclave

Ⅳ.1.2.2/Verrerie et petits matériels :

* Béchers (50 ml,1000 ml)

* Spatule, pissette

* Pipettes graduées

* Erlenmeyer (1000 ml)

* Tubes a essais

* Flacons

* Micropipette

Ⅳ.1.3/Milieu de culture :

Le milieu de Zarrouk, mis au point en 1966 a été utilisé comme milieu standard pour la production de spiruline pendant de nombreuses années. Ce milieu nécessite l'utilisation de produits chimiques coûteux et de quantités élevées de bicarbonate de sodium, ce qui n'est pas avantageux pour une production à grande échelle. C'est pourquoi, au cours des dernières décennies, plusieurs groupes de recherche ont développé des milieux de croissance pour la spiruline en utilisant des sources de nutriments facilement disponibles et moins chères, y compris des engrais commerciaux**(Lafarga et al., 2021) .**

Nous avons utilisé le milieu Zarrouk , milieu de référence pour la culture de genre *Arthrospira dente* les composants de milieu Zarrouk sont présentes dans le tableau suivante :

Tableau 3: Composition de milieu de culture Zarrouk **(Albicance, 2015) .**

Composante	Quantité (en g/l de solution aqueuse)
$NaHCO_3$	16,8
K_2HPO_4	0,5
$NaNO_3$	2,5
K_2SO_4	1
NaCl	1
$MgSO_4 , 7\ H_2O$ 1	0,2
$CaCl_2$	0,04
$FeSO_4 , 7\ H_2O$	0,01
EDTA	0,08

Tableau 4: Composition de la solution A5 **(Trinh & Nguyen, 2020).**

	Quantité en mg/L
NH_4VO_3	22.9
$K_2Cr_2(SO_4)4$, $24H_2O$	96.0
NiSO4, 7H2O	47.8
Na2wo4, 2 H2O	17.9
Ti2(SO4)3	40.0
CO(NO3)2, 6H2O	44.0

Tableau 5 : Composition de la solution B6 **(Trinh & Nguyen, 2020).**

	Quantité en mg/L
H_3BO_3	2.86
MnCl2, 4 H2O	1.81
ZnSO4 , 7 H2O	0.22
CuSO4 , 5 H2O	0.08
MoO3	0.015

Ⅳ.2/ METHODES :

L'étude expérimentale, qui a duré 3 mois, a été réalisée dans un laboratoire scientifique où plusieurs cultures d'*A. platensis* ont été cultivées dans différentes conditions, dans le but d'étudier les effets des produits chimiques et des facteurs physiques qui affectent le processus de croissance globale des cultures ainsi que la qualité de la biomasse obtenue.

Ⅳ.2.1/Préparation de milieu culture de la spiruline :

La préparation du milieu de culture a requis une solution de sels minéraux et d'eau. Ce liquide fournit à la spiruline toutes les substances chimiques nutritives dont elle a besoin. Ce sont des environnements très minéralisés contenant du carbonate de sodium (Na2CO3) ou du

bicarbonate de sodium (NaHCO3), une source d'azote fixée et d'autres minéraux. Afin de répondre aux besoins de la spiruline et de garantir sa croissance en milieu contrôlé, la formule de base utilisée est celle utilisée dans SPIRUSUD, basée sur celle-ci et modifiée**(RAMILAVONJY RAMIANDRISOA et al., 2023).**

Ⅳ.2.2/Préparation de l'inoculum :

Avant le démarrage du ce travail, on doit préparer une préculture de 3 jours .Cette préculture est essentielle pour deux raisons : permettre à la spiruline de s'adapter progressivement au nouveau milieu de culture et garantir une bonne adaptation.

Unification de l'âge de toutes les souches présentes dans l'inoculum, puis remodelage de la spiruline afin d'obtenir des cultures en la phase exponentielle prêtes à être cultivées.

- La filtration est la première étape, qui implique de filtrer le flacon contenant la souche de *l'Arthrospira* ne laissent pas passer les cyanobactéries.

- Le flacon est conservé dans des conditions idéales pour la croissance et l'opération se fait le soir pour permettre à la spiruline de s'habituer délicatement à son nouvel environnement tout au long de la nuit.

- On complète le volume de la culture par milieu Zarrouk. Après, nous avons suivi l'évolution de la biomasse pendant 7 jours en mesurant la densité optique chaque jour.

-Ce flacon servira d'inoculum à travers lequel les différents photo-bioréacteurs seront ensemencés.

Ⅳ.2.3/Procédés expérimentaux d'optimisation de la culture :

Dans cette étude, la méthode de surface de réponse RSM a été sélectionnée, ce qui en fait une méthode efficace pour améliorer un système multi-variable. La technique de modélisation statistique empirique appelée RSM est employée pour analyser la régression multiple en se basant sur des données quantitatives provenant d'expériences bien élaborées **(Rao et al., 2000) .**

L'expérience statistique a été conçue en utilisant la conception composite centrale (CCD) et la RSM afin d'analyser les effets des trois variables indépendantes sur les fonctions

de réponse et de déterminer les conditions optimales pour maximiser la productivité et le taux de croissance des cultures en batch. Pour optimiser, Il est nécessaire d'analyser la réponse des combinaisons statistiques élaborées en estimant les coefficients et en fixant les données expérimentales lors de la procédure d'optimisation.

La concentration initiale de biomasse(X1), l'intensité lumineuse(X2) et l'épaisseur de PBR(X3) sont les trois variables indépendantes sélectionnées dans cette étude. La productivité et le taux de croissance sont des variables dépendantes (ou fonctions objectifs).Le tableau 6 présente les plages et les niveaux des variables indépendantes.

Tableau 6: : Gamme et niveaux de variables expérimentales testés dans la conception CCD

Variables	Symbole		Niveau de variables		
	Actual	coded	(-1)	(0)	(+1)
Concentration initiale de biomasse (g/l)	X1	x_1	0.35	0.7	1.05
Intensité lumineuse ($\mu mols^{-1}m^{-2}$)	X2	x_2	7500	15000	22500
Rapport S/V (m^{-1})	X3	x_3	20	34.782	57.142

En développant l'équation de régression, la relation entre les valeurs codées et les valeurs réelles est décrite selon l'équation (IV.1):

$$xi = \frac{Xi - Xi^{\circ}}{\Delta Xi} \quad \text{.....IV.1}$$ **(Molina et al., 2001)**

où :

x_i :valeur codée de la $i^{ème}$ variable indépendante .

X_i: valeur non codée de la $i^{ème}$ variable indépendante .

X_i° : valeur non codée de la $i^{ème}$ variable indépendante au point central

Et ΔX_i valeur de changement de pas entre le niveau bas (-1) et le niveau élevé (+1) .

Les niveaux des variables et la conception expérimentale sont présentés dans le tableau …..Alors que l'équation polynomiale quadratique établie pour corréler la relation entre les variables indépendantes et les réponses est estimée selon :

$$Y=\beta^0 + \sum_{i=1}^{K} \beta i X i + \sum_{i=1}^{k} \beta ii X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \square \sum_{j=2}^{k} \square \beta ij X_i X_j + \varepsilon \quad \text{……IV.2}$$

(Sforza, Gris, et al., 2014) .

Avec :

Y, réponse prédite,

Xi et Xj, variables d'entrée,

β0, terme d'interception,

βi, coefficient d'effet linéaire,

βii coefficient d'effet carré,

βij est le coefficient d'effet d'interaction

Et ε est une erreur aléatoire.

On a employé l'analyse de variance (ANOVA) pour étudier les données et obtenir l'interaction entre les variables indépendantes et la variable dépendante (réponse). L'ANOVA est une méthode statistique qui compare les moyens des groupes de traitement entre eux, en prenant en compte l'importance des contributions à la variation globale des données(**Rao et al., 2000)**.

Le traitement statistique des données expérimentales obtenues est réalisé par un logiciel de type Modde 6

Ⅳ.2.4/Démarrage de la culture :

D'après l'inoculum initial, on a effectué quinze cultures *d'A.platensis* en mode batch pour étudier l'impact de trois paramètres : l'épaisseur de réacteur (cm), l'intensité lumineuse (lux) et la concentration (g/l).

En réalisant les 15 expériences selon la matrice de plan d'expérience présenté dans le tableau suivant :

Tableau 7: Plan d'expériences

Std	Run	Facteur 1 A :Epaisseur (cm)	Facteur2 B :Intensité lumineuse(lux)	Facteur3 C:Concentration (g/l)
2	1	13	7500	0.7
15	2	10	15000	0.7
4	3	13	22500	0.7
8	4	13	15000	1.05
6	5	13	15000	0.35
14	6	10	15000	0.7
7	7	7	15000	1.05
1	8	7	7500	0.7
3	9	7	22500	0.7
13	10	10	15000	0.7
5	11	7	15000	0.35
11	12	10	7500	1.05
9	13	10	7500	0.35
10	14	10	22500	0.35
12	15	10	22500	0.35

Ⅳ.2.5/Surveillance de la culture :

Pour mener à bien la culture de la spiruline, le suivi organoleptique n'est pas à négliger. Ce suivi permet de suivre la couleur et l'odeur du milieu de culture. L'observation microscopique permet d'identifier la forme de la spiruline comme : anormalement longue, petite taille, cassée et enroulée et de détecter la présence d'un microorganisme. Un milieu de culture en bonne santé est de couleur vert**(RAMILAVONJY RAMIANDRISOA et al., 2023).**

Ⅳ.3/Mesures de la croissance :

Ⅳ.3.1/Estimation du poids sec :

Cette technique repose sur une dessiccation à 80 °C pendant 24h d'un papier filtre de type Whatman GF/C, 47 mm de diamètre comprenant 25mL d'une culture de spiruline. Le poids sec de la microalgue est déterminé par soustraction **(Doumandji et al., 2011).**

Pour la détermination du poids sec, un échantillon de 100 ml du bassin a été filtré à travers un filtre à nitrate de cellulose (8,0 Tam) et lavé avec un volume égal d'eau acidifié (pH 4,0) pour Libère les fondations d'algues de minéraux insolubles. Avant filtration, le filtre a été séché dans un quatre pendant 24 heures à 80°C, puis placé dans un dessiccateur. Le poids du filtre a été déterminé après qu'il ait atteint la température ambiante. Les résidus d'algues sur le filtre ont été déshydratés dans une étuve pendant 24 heures à 80°C et, après avoir été refroidis dans un dessiccateur, pesé**(Vonshak et al., 1982a).**

Ⅳ.3.2/Mesure de cinétique de croissance :

Chaque jour, on a prélevé un échantillon de 4 ml d'une culture *d'Arthrospira platensis* pour chaque culture étudiée. Des mesures de densité optique sont effectuées pour suivre la croissance de la souche.

La spectrophotométrie est une technique d'analyse qualitative et quantitative de substances absorbant un rayonnement électromagnétique. Elle consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique (DO) d'une substance chimique donnée, généralement en solution. La relation entre l'atténuation de la lumière, les propriétés optiques du milieu qu'elle traverse et l'épaisseur traversée est donnée par la loi de Beer-Lambert **(Florent, 2017).**

La Concentration de la biomasse Consiste en une lecture d'absorbance à 618 nm par spectrophotométrie (UV -1600 PC spectrophotomètre) d'une culture de spiruline.

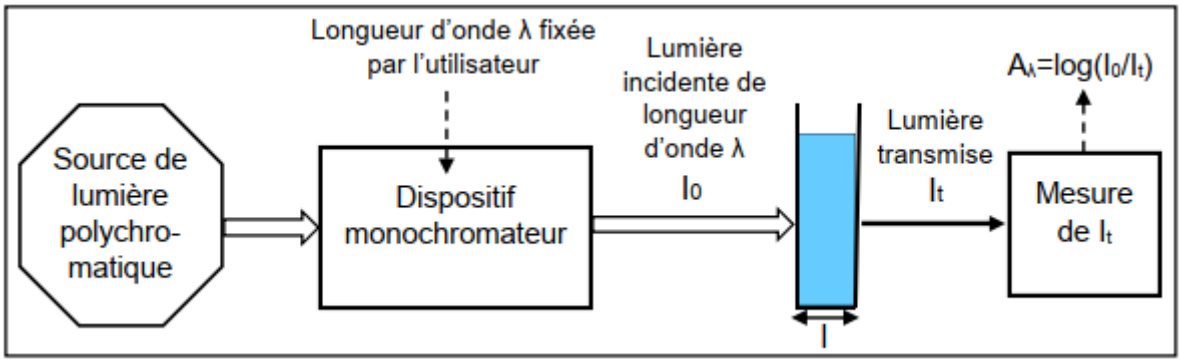


Figure 13: Principe de mesure de la densité optique **(Florent, 2017)**

Ⅳ.3.3/ Estimation du taux de croissance spécifique (μ) :

Les inducteurs de croissance de *S. platensis*, ont été évalués en utilisant l'équation qui Exprime le taux de croissance globale, souvent utilisé dans les modèles de croissance est le taux de croissance spécifique de la croissance des algues .

Il est calculé par l'équation :

$$\mu max = \frac{(ln\,Xf - ln\,X0)}{(tf - t0)} \quad \text{.....IV.3}$$

Avec : **Xf** = la concentration en biomasse à la fin de croissance (g.L-1).

$\mathbf{X_0}$ = la concentration initiale de biomasse au début de la phase de croissance (g.L-1) .

(t_2- t_1) = le temps de croissance **(Lucchetti, 2015).**

Ⅳ.3.4/ la Productivité cellulaire (Pv) :

La productivité volumique un paramètre cinétique qui permet d'estimé la vitesse de production de biomasse de notre conception expérimentale le calcule de productivité (Pv) est

un outil de qui permet de comparer les dispositifs expérimentales de production de culture a selon Ogbonna et al. est calculée comme suivent :

$$Pv = \frac{Xm - Xi}{tm} \quad \text{.....IV.4}$$

où: **Xi** = concentration initiale (mg/L).

Xm = maximale de la concentration des cellules maternelles (mg / L).

tm = temps de cultivation lié à la plus grande concentration de cellules (jour)**(Fadel & Kamil, 2012).**

Ⅳ.4/Les Analyses biochimiques de la spiruline :

En analysant la composition en pigments photosynthétiques et en protéines, il est possible d'évaluer la qualité de la biomasse collectée lors de chaque essai effectué pendant cette étude.

Ⅳ.4.1/Détermination des teneurs en chlorophylles :

Pour déterminer la chlorophylle a et b et les caroténoïdes totaux, nous avons utilisé une méthode modifiée de wellburn. En bref, 1ml de culture d'algues a été centrifugé à 12000×g pendant 5min.les surnageants ont été éliminés et 1ml de méthanol a été ajouté aux pastilles et incubé à 60°C pendant 50min dans un bain-marie. Les lysats ont été clarifiés par centrifugation à 10000× g pendant 3min. Pour la chlorophylle a, la chlorophylle b et les caroténoïdes, l'absorbance de la solution pigmentaire extraite a été obtenue à 665 nm, 649 nm et 470 nm, respectivement. les concentrations de pigments photosynthétiques ont été calculées par l'équation mathématique précédemment décrite par Wang Q, et al 2020.

$$Chl_a(mg/L) = \frac{(13.95\,A_{665} - 6.88\,A_{649}) \times V_2}{V_1} \quad \text{.....IV.5}$$

$$Chl_b\left(\frac{mg}{L}\right) = \frac{(24.96\,A_{649} - 7.32\,A_{665}) \times V_2}{V_1} \quad \text{.....IV.6}$$

$$C_{carotenoid}\,(mg/L) = \frac{(1000\,A_{470} - 2.05\,C_a - 114.8\,C_b) \times V_2}{245 \times V_1} \quad \text{.....IV.7}$$

V1 et V2 : volumes de suspension et de dernier surnageant d'A. platensis échantillonnés, respectivement.

A665, A649 et A470 sont les absorbances du surnageant à 665, 649 et 470 nm, respectivement.

Chla, Chlb et caroténoïde indiquent respectivement la concentration de chlorophylle a, de chlorophylle b et de caroténoïde (Q. Wang et al., 2020)**.**

Ⅳ.4.2/Détermination des teneurs en glucides :

Les teneurs en glucides solubles des microalgues ont été estimées à la fin de la période de culture par la méthode UV-acide sulfurique. Les cellules d'algues centrifugées ont été mises en suspension dans 2ml d'eau distillée et maintenues dans un bain-marie bouillant pendant 2h pour extraire les sucres solubles. Le surnageant clair (0.5ml) après centrifugation (4800g,15min) a été mélangé avec de l'acide sulfurique concentrique (1.5ml)**(Vonshak, 1997)**. L'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 540 nm par rapport à un blanc approprié et le glucose a été utilisé comme étalon**(Cakmak & Marschner, 1992)**.

Ⅳ.4.3/Détermination des teneurs en lipides :

La teneur en lipide des algues a été mesurée par la méthode sulfo-phospho-vanilline. Les cellules d'algues ont été collectées par centrifugation (4800g,15min) et remises en suspension dans un volume connu d'eau distillée. Une aliquote de chaque échantillon d'algues

(100μL) a été mélangée avec l'acide sulfurique concentrique (2ml), puis placé dans un bain-marie bouillant pendant 10min . Après refroidissement, 5ml de réactif phosphovanilline ont été ajoutés (0.6g de vanilline dissous dans 10 ml d'éthanol absolu et complétés à 100 ml avec l'eau distillée , puis 400 ml d'acide phosphorique concentrique), et le mélange a été conservé dans une bain d'eau à 37°C pendant 15min .L'absorbance a été mesurée par spectrophotométrie à 530nm par rapport à un blanc approprié. L'huile de tournesol a été utilisée comme standard**(Chong & Ahmad, 2023).**

Ⅳ.4.4/Détermination des teneurs en protéines :

La quantification des protéines de contenu cellulaires a été déterminer par la méthode de Bradford [24], les concentrations en protéines mesuré à 595 nm en utilisant une courbe standard d'albumine sérique bovine tracée. Pour l'extraction des lipides cellulaires de Cultures *d'A. platensis* **(Bradford, 1976)**.La fraction protéique de microalgue a été obtenue à par 5ml d'une suspension de culture centrifugeuse réfrigérante (5000 r/min pendant 30 min, 4C◦), et le surnageant recueilli a été utilisé pour les processus ultérieurs de détermination des protéines. L'extrait collecté a été traité avec 5 ml de réactif de Bradford. L'absorbance a été mesurée à 595 nm après avoir mélangé l'échantillon**(Mohammed et al., 2023**).

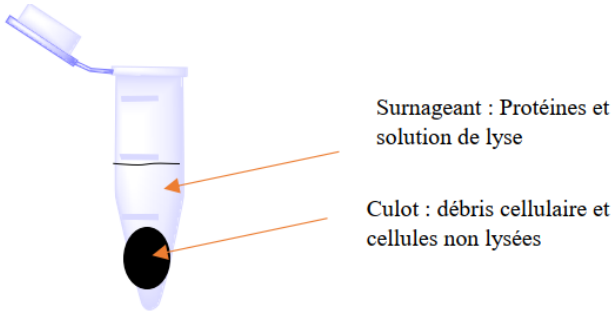


Figure 14: : Contenu du Tube lors de l'extraction des protéines de la spiruline. **(Labidi & Bejaoui, 2023)**

Tableau 8: Avantages et inconvénients de la méthode de Bradford **(Labidi & Bejaoui, 2023).**

Avantages	Inconvénients
-Rapide et fiable. - Sensible (entre 0,2 et 20 µg) protéines. - Résiste à la plupart des interférences. - Compatible avec la plupart des sels, solvants, tampons, thiols, substances réductrices et agents de chélation desmétaux.	- La courbe étalon a une linéarité assez courte, il faut donc diluer les solutions de trop grande concentration. - Le pH et les détergents peuvent interférer sur les résultats. - Linéaire sur un intervalle étroit, typiquement de 2 µg/ml à 120 µg/ml, ce qui rend nécessaire des dilutions préliminaires de l'échantillon tissulaire avant analyse. - Les acides aminés, les peptideset les protéines de bas poids moléculaire (<3000 Da) ne sont pas détectés par cette méthode.

Ⅳ.4.5/Détermination des teneurs en phycocyanine:

Le culot, laissé de côté après l'extraction complète de la chlorophylle et des caroténoïdes, a été suspendu dans la même quantité d'eau distillée ou dans un tampon phosphate, a été suspendu dans la même quantité d'eau distillée ou dans un tampon phosphate (pH 7.0) et broyé à l'aide d'un sonicateur pour briser les cellules (courant de 200 mA pendant 5 à 10 minutes) à l'état réfrigéré. L'échantillon a été stocké pendant une nuit à 40°C afin d'éliminer les pigments membranaires et le surnageant coloré a été utilisé pour l'analyse phytochimique.

Le surnageant coloré a été utilisé pour les phycobiliprotéines et centrifugé à 10000g pendant 10 minutes à 4°C afin d'éliminer les pigments membranaires et les phycobiliprotéines. Le

surnageant coloré a été utilisé pour l'estimation des phycobiliprotéines. La quantité de PE (phycoérythrine), de PC (phycocyanine) et d'AP (allophycocyanine) dans la fraction surnageant est calculée à partir de la mesure des densités optiques à 620 à 566, 620 et 650 nm en utilisant l'équation ci-dessous. Ces équations ont été établies en utilisant les équations simultanées de Bennett et Bogorad et les coefficients d'extinction **(Chakdar & Pabbi, 2016).**

Détermination des teneurs en EPS et hydrate de carbone cellulaire :

Un aliquot du milieu de culture a été centrifugé (6000 xg, 20 min) et le supernatant résultant a été filtré à travers un papier filtre Whatman No. 2. L'EPS dans le supernatant filtré a été précipité avec 3 volumes de 95 % (v/v) d'éthanol glacé pendant 12 heures à 4 ◦C. L' EPS précipité a été récupéré par centrifugation (10 000 xg, 15 min) et le supernatant a été rejeté.

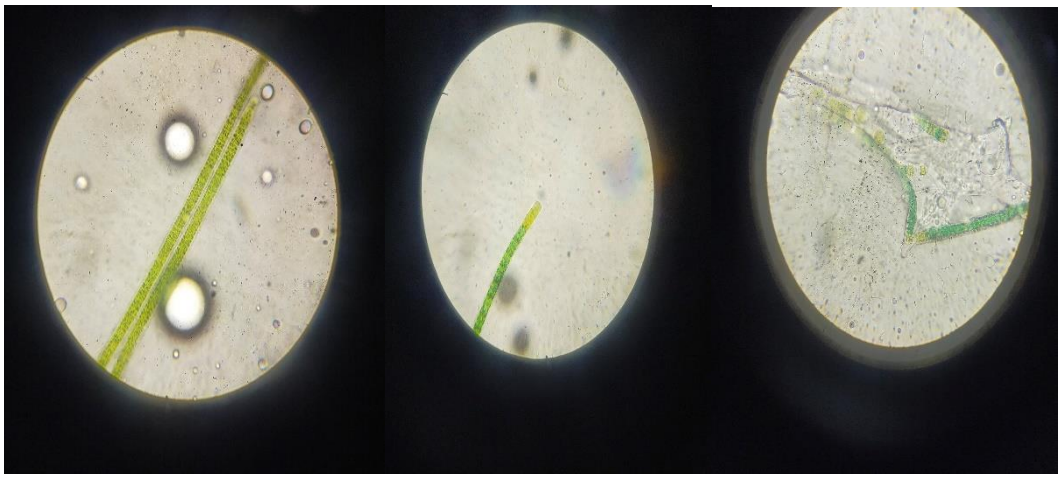
Le total des glucides des EPS a été déterminé en sucres réduits analysés par la méthode de l'acide phénol_sulfurique à 360 nm **(Purification, 2022).**

CHAPITRE 6
RESULTATS ET DISCUSSION

CHAPITRE Ⅴ : Résultats et discussions

Ⅴ.1./ Spiruline vue au microscope :

L'Observation microscopique de Spiruline a été réalisé au niveau de laboratoire de microbiologie à l'examen direct à l' état frais au microscope optique sur un échantillon provenant d'une culture de spiruline en phase exponentielle. La spiruline apparaitre sous forme filament droit relaché de couleur bleu-vert et, cette forme droite est obtenues au condition in vitro est dù au condition d'éclairage de lumière blanche sans rayonnement UV .



a b c

Figure 15: (a.b.c.) Observation microscopique de la Spiruline à l'état frais a,b,c (Grossissement ×400)

La figure (15 .a) il apparait que la spiruline se présente sous forme de filaments bleu vert .

Dans les figures (15.b.c) très rarement, que des spirulines présentent des déformations, ou une boursouflure, ou alors des excrétions jaunes à une extrémité ou sur un côté des filaments, faisant penser à un éclatement de la paroi avec épanchement du contenu des cellules (spirulines dites "étripées"). Dans la pratique, ces anomalies disparaissent d'elles-mêmes au bout de quelques jours de marche dans des conditions normales.

V.2./ Mesure de croissance :

Pour étudier la croissance de la spiruline est suivien on utilise une simple lecture de la densité optique (DO) avec = 618nm, etla détermination de pois sec de biomasse est calculé par la courbe étalon qui fait la relation directe entre la densité des culture (DO) et le poids secde biomasse sous forme d'une fonction linéaire (DO = f (PS)) (figure **V.2).** le calcule de poids sec est obtenu par calcule l'equation suivante :

$$DO = 1.148\ PS + 0.085 \quad , \quad R^2 = 0.967$$

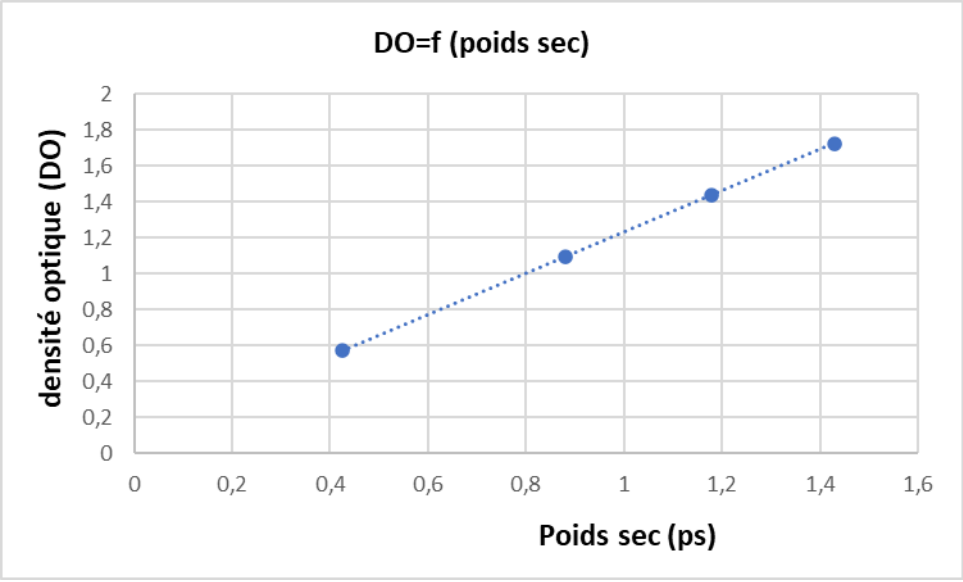


Figure 16: : Courbe d'étalonnage mettent en valeur la Do en fonction du poids sec.

V.3./ Cinétique de développement de la spiruline :

Dans les conditions mentionnées précédemment, la souche de spiruline étudiée a été cultivée dans un milieu non renouvelé en photobioréacteur cylindrique. Au cours de notre étude, nous avons surveillé la croissance de la souche du 26 février au 25 mai 2024.

On a étudié les cinétiques de croissance sur trois PBR de différentes épaisseurs. On les représente en poids sec en fonction du temps **(voir figure 16**), à partir de laquelle on évalue les paramètres cinétiques de croissance tels que la productivité volumique et le taux de croissance maximale spécifique (μ).

Globalement, les courbes relatives au poids sec et à la concentration de la biomasse présentent une tendance similaire. Effectivement, la croissance de la biomasse suit la loi classique de la croissance des microorganismes en culture discontinue ≪batch≫, une étape essentielle dans cette étude, définie par les différentes phases .

Les cinétiques de croissance obtenues pour les trois PBR sont similaires, comprenant une phase de latence, une phase de croissance exponentielle et une phase stationnaire. Toutefois, la période de chaque étape varie d'une expérience à une autre en fonction des conditions culturelles.

Il est évident qu'il existe une courte période de latence soit 2 à 3 jours maximum qui correspond au temps nécessaire pour s'adapter aux conditions du milieu. Elle est due au fait que les microalgues passent lors de leur inoculation d'un milieu concentré (préculture) à un milieu dilué (photobioréacteur).

La phase de latence est suivie de la phase d'accélération, où l'on observe des divisions successives pendant lesquelles le taux de croissance spécifique augmente pour atteindre son maximum pendant la phase exponentielle de croissance, qui dure entre 6 et 9 jours en fonction des conditions opératoires utilisées à la fin de chaque expérience.

A partir du 9ème jour survient une stabilité du poids de la biomasse ce qui correspond à la phase stationnaire d'une durée de 2 - 3 jours pendant laquelle la population de spiruline atteint sa valeur maximale. Elle représente un équilibre entre le gain des cellules qui se diviser et celles qui commencent à se lysées à cause des conditions difficiles du milieu **Venshak Avigar 2004.**

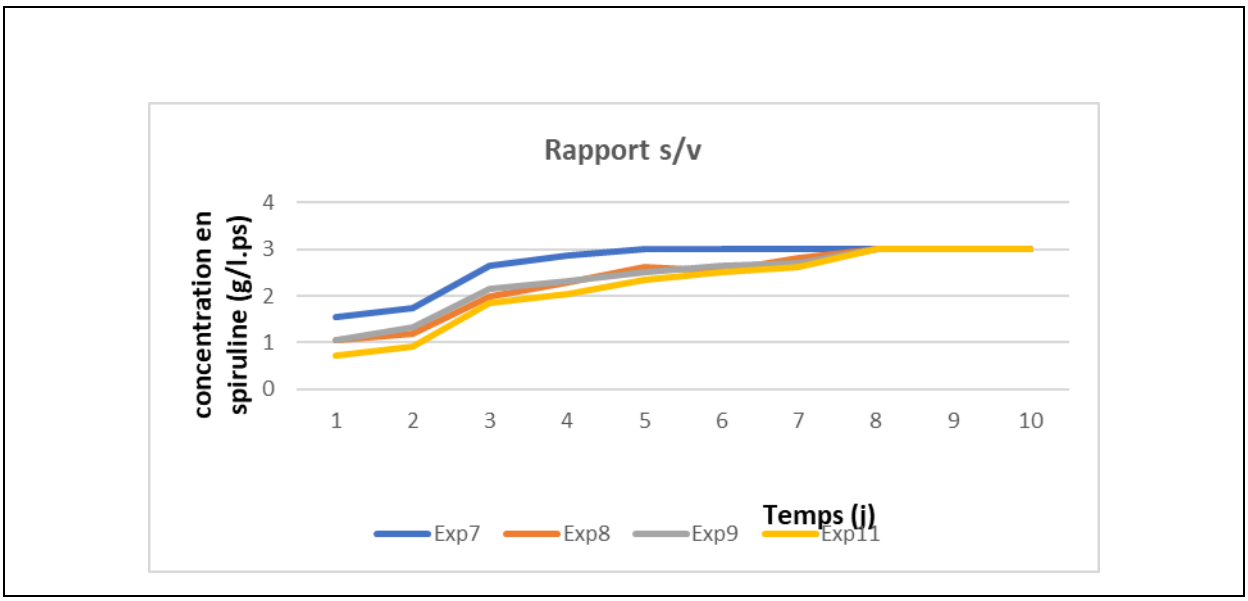


Figure 17: Cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de Rapport (S/V = 57 m-1)

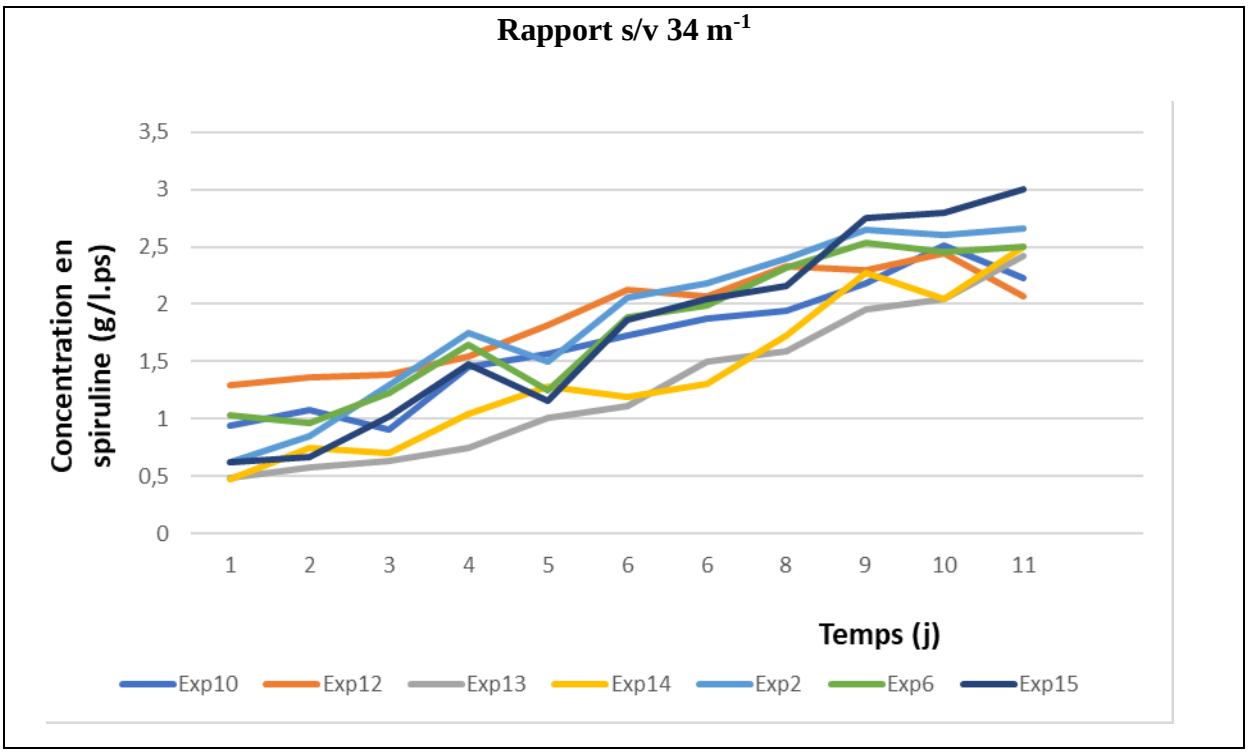


Figure 18: Cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de rapport(S/V = 34 m-1)

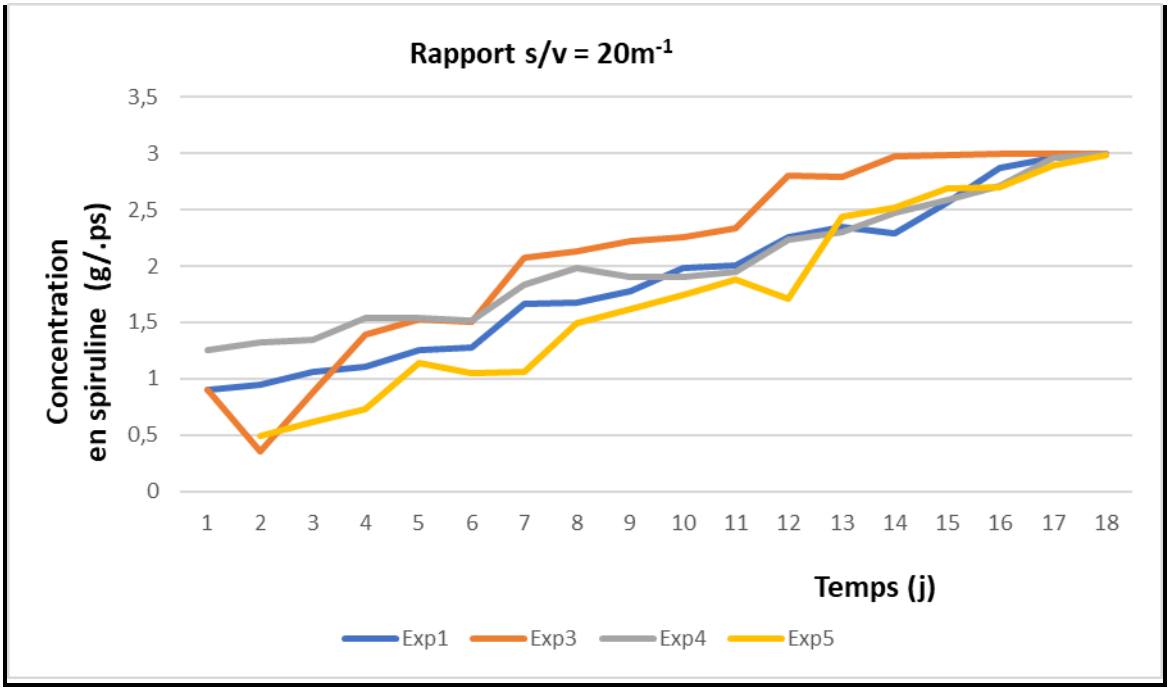


Figure 19: Cinétique de croissance de la spiruline au sein d'un PBR de rapport(S/V=20m-1)

D'après ces expériences menées, il est possible de conclure que les conditions imposées aux cultures ont un impact direct sur la croissance des microalgues et que les conditions optimales sont celles qui sont le résultat d'une biomasse élevée en un temps relativement court.

V.4./Optimisation de la production de biomasse :

Dans cette étude expérimentale, 15 expériences ont été effectuées en utilisant des paramètres fixes pour toutes ces expériences. La conception et le développement de photo-bioréacteur pour une production maximale d'algues sont donc très importants**(Singh & Sharma, 2012).**

La croissance de la biomasse dans un PBR est un processus complexe, qui résulte d'effets multiples tels que la capture photosynthétique de la lumière, l'atténuation de la lumière de la suspension et l'hydrodynamique du réacteur. En cas de conditions nutritionnelles non limitantes, la lumière est le facteur le plus important pour la croissance autotrophe. L'atténuation de la lumière pourrait fortement influencer la productivité de la

biomasse photosynthétique, généralement est du à plusieurs paramètres du milieu tel que la surface spécifique de PBR, la densité des culture et l'éclairage **(Sforza, Enzo, et al., 2014).**

Dans notre étude, nous avons utilisées le photo-bioréacteur cylindrique .Nous rappelons que le diamètre de PBR cylindrique a une relation directe avec sa surface spécifique :

$$S/V=2\pi\left(\frac{D}{2}\right)H/\pi\left(\frac{D}{2}\right)R^2H\text{.....V.8}$$

$$S/V=2/D\text{.....V.9}$$

Où

H : Hauteur de culture dans PBR

D : diamètre du PBR

R :rayon de PBR **(Environnement & Hydrogene, 2018)**

V.4.1./ Méthode d'optimisation en plan d´expérience :

Les résultats expérimentaux complets pour la génération de biomasse par trois facteurs et la conception à trois niveaux de l'expérience factorielle sont présente dans le tableau(9) Trois répétition le tour, le point central (0, 0, 0) a été reproduit trois fois et obtention de mêmes résultats, démontrant la reproductibilité des données.

L'utilisation de la méthode de réponse en surface (RSM) fournit une relation empirique entre les variables indépendantes et la fonction de réponse. Les termes du modèle ont été évalués à l'aide de la valeur de probabilité P, avec un niveau de confiance de 95 %. Les segments de contour ont été obtenus sur la base des effets de trois facteurs (intensité lumineuse, concentration initiale de l'inoculum et rapports surface/volume) à trois niveaux

différents. Le coefficient de détermination (R^2) a été utilisé pour exprimer la qualité de l'ajustement du modèle polynomial après l'analyse des données par ANOVA.

V.4.1.1 Ajustement de l'équation polynomiale d'ordre 2. Analyse de variance (ANOVA)

Une relation empirique entre les résultats expérimentaux a été établie et exprimée par une équation polynomiale du second ordre avec des termes interactifs. Sur la base des résultats de la conception expérimentale (tableau 9), les équations de régression suivantes présentent et décriront la productivité et le taux de croissance à l'aide des variables codées obtenues :

Equation de $\mathbf{PC=9.95 - 2.75\ A + 1.69\ B + 1.03\ C - 0.52\ AB - 0.97\ AC - 0.32\ BC + 3.33\ A^2 - 1.42\ B^2 + 0.95\ C^2}$

Les tableaux 10et 11 présentent l'analyse de la variance (ANOVA) des paramètres de régression du modèle quadratique de la surface de réponse prédite pour la productivité et le taux de croissance.

Une analyse de variance (ANOVA) a été réalisée pour examiner la signification de la composition des équations polynomiales du second ordre par rapport aux données expérimentales. Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) pour le modèle de régression sont présentés dans le tableau 10. La valeur F_{Test} obtenue par l'analyse de 4.13 montre que le modèle est peu significatif, avec une valeur $p=0.06 > 0.05$. La signification statistique de chaque variable est mesurée par sa valeur $p < 0.5$ %. Les faibles valeurs de p indiquent une signification statistique élevée des variables composant le modèle (J.-Z. Liu et al., 2003).

Les valeurs de p inférieures à 0,05 sont considérées comme significatives dans cette prospection. Selon le résultat de l'ANOVA du modèle de taux de phycocyanine (tableau 10) , la valeur de F_{Test}, qui est de 1.51 , a un impact non significatif sur la réponse avec une valeur de probabilité p 0.339 .

La grande fiabilité est démontrée dans l'estimation de la productivité volumique et du taux de phycocyanine , selon les résultats statistiques du modèle quadratique (R^2= 0,88 et R^2= 0,73 respectivement). Un coefficient R^2 élevé indique que le modèle en quadrature s'adapte bien aux données expérimentales.

Tableau 9: : Résultat de conception expérimentale pour l'optimisation de la production de biomasse et phycocyanine

Std	Run	S/V m^{-1}	Intensité lumineuse (Lux)	Concentration(g/l)	PC%
2	1	20	7500	0.7	4,62598425
15	2	34.782	15000	0.7	6,45097261
4	3	20	22500	0.7	8,65422787
8	4	20	15000	1.05	13,2275132
6	5	20	15000	0.35	16,7913732
14	6	34.782	15000	0.7	12,5393701
7	7	57.142	15000	1.05	9,72440945
1	8	57.142	7500	0.7	10,9591923
3	9	57.142	22500	0.7	13,6817983
13	10	34.782	15000	0.7	10,322
5	11	57.142	15000	0.35	17,1662125
11	12	34.782	7500	1.05	9,621
9	13	34.782	7500	0.35	14,321
10	14	34.782	22500	0.35	15,86
12	15	34.782	22500	0.35	17,1850394

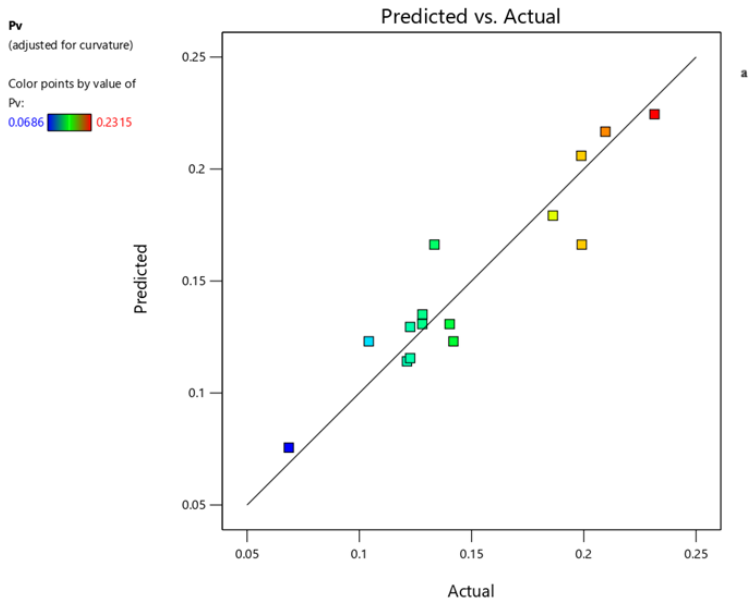
Tableau 10 : Analyse de variance (ANOVA) pour le modèle de taux de phycocyanine.

Source de variation	Degré de Liberté	Somme des Carrée	Carrés moyens	F_{Test}	Probabilité (P)
Modèle (Régression)	9	155.28	17.25	1.51	0.3390
Résidus	5	57.18	11.44	—	—
Total	14	212.46		—	—

R^2 = 0.7609, R^2 Adj = 0.2464

L'aptitude du modèle à fournir une approximation appropriée du système réel est en outre étayée par des paramètres de diagnostic tels que la corrélation de la valeur prédite avec les valeurs réelles et les courbes de probabilité normales des résidus étudiés. Ces courbes sont utilisées pour évaluer l'adéquation d'un modèle.

Les figures 20 a et b montrent que les valeurs prédites des réponses des modèles correspondaient bien aux valeurs observées. Les points de données sont répartis relativement près de la ligne droite (y = x). Ces courbes indiquent un accord adéquat entre les données réelles et les données obtenues à partir des modèles.



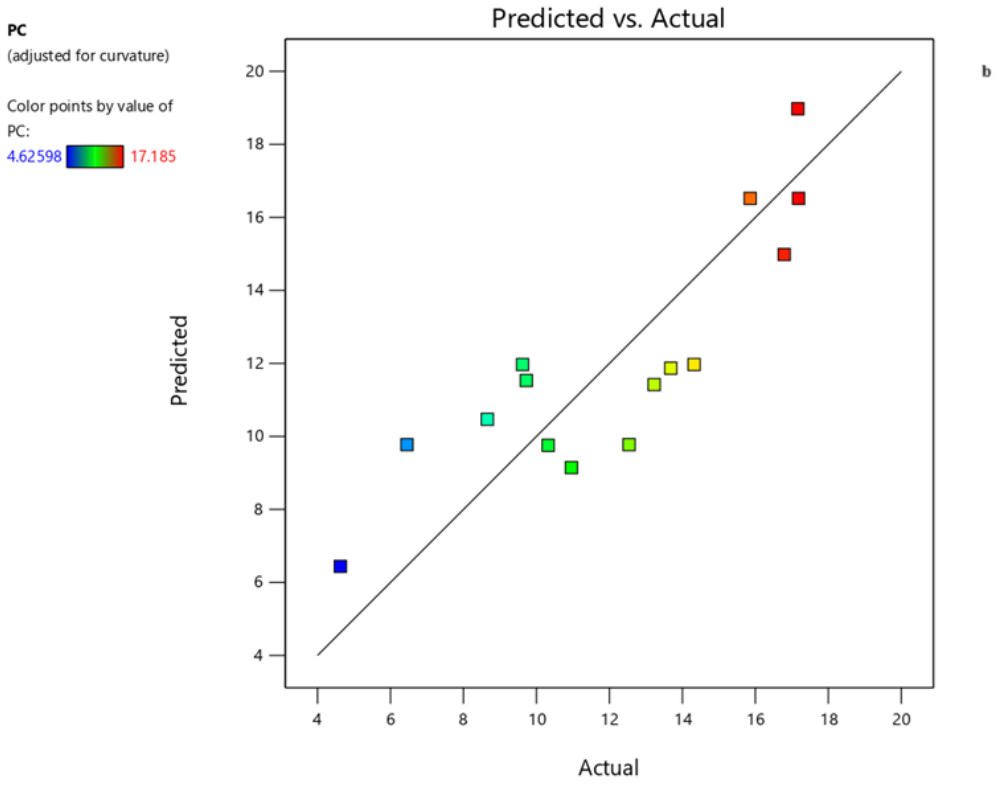


Figure 20: Courbes de régression linéaires relatives aux modèles. (a) productivité, (b) taux de phycocyanine .

V.4.1.2. Modélisation RSM. Effet des variables indépendantes sur la réponse :

De nombreux graphiques sont disponibles pour exprimer l'équation du modèle empirique de manière compréhensible. Cette restauration s'effectue principalement de deux manières différentes dans le cadre de plan d'expérience destinés à étudier les surfaces de réponse.

- Les courbes de réponse de surface représentent la surface de régression dérivée d'un graphique dans un espace tridimensionnel,
- Les courbes d'iso-réponse représentent une projection horizontale de la réponse de surface. Leur apparence est celle de courbes de niveau prévues sur une carte topographique. Une courbe d'iso-réponse est le résultat de la découpe de la surface de réponse le long d'un plan horizontal.

C'est difficile à exploré avec les méthodes traditionnelles pour d'observer l'effet combiné de trois variables, peut être par étudié par la méthode surface de réponse RSM, l'effet combiné de trois paramètres (variables) peut être prédit.

L'efficacité des variables de test peut être prédite à l'aide de la surface des courbes de réponse, et le type d'interaction entre les variables peut être déterminé à l'aide des courbes d'iso-réponse **(Mu et al., 2009).**

Les courbes iso-sensibles peuvent afficher des variations de réponse basées sur seulement deux facteurs à la fois, les facteurs restants étant maintenus à une valeur constante.

Les courbes d'iso-réponses associées aux modèles de productivité volumétrique et de taux de phycocyanine sont représentées par les figures (21,22), qui dépendent de la concentration initiale de l'inoculum, de l'intensité de la luminescence et du S/V (trait de luminescence PBR).

A/ Productivité volumétrique

La figure (21) montre la courbe iso réponse de la productivité volumétrique Pv en fonction de la concentration de l'inoculum, de l'intensité lumineuse et des rapports S/V déterminés par l'équation (9). En général, une courbe d'iso-réponse peut être utilisée pour déterminer le type d'interactions entre les variables, cependant une elliptique indique que les interactions entre les variables correspondantes sont significatives, mais un contour circulaire de la surface de réponse indique que l'interaction entre les variables n'est pas négligeable **(Chaumont, 1988) , (Muralidhar et al., 2001)** .

A partir du graphique iso-réponse (figure 21.b) , on peut observer que la variation de productivité (Pv) en fonction l'intensité lumineuse et le rapport S/V est proportionnelle.

À une intensité lumineuse (22500lux), Pv augmente légèrement avec l'intensité lumineuse croissante, la plupart des valeurs de P_V restant au-dessous de 0.211 g / L / j. A noter que les valeurs de Pv les plus élevées ont été observées pour une intensité lumineuse de 22500lux et de rapport S/V de 57.142 m^{-1}.

La figure (21) révèle également que la productivité volumique P_V était plus sensible au changement d'intensité lumineuse et rapport S/V car elle présentait une pente plus forte sur l'axe d'intensité lumineuse et sur l'axe S/V de ration. Dans la Figure (21 (b)) les tracés de contour sont de nature circulaire, ce qui implique que les effets interactifs ne sont pas négligeables. Ceci a été confirmé par les résultats d'ANOVA dans Table V.2 dans lesquels la valeur p <0.05 pour X2X3 était de 0,0374, donc son effet était significatif au modèle.

En utilisant Modde.6, la valeur predicte de Pv maximal est de 0,255 g/L a été donnée pour I= 22500 lux et papport S./V de 57.142 m^{-1}. Pour tester la validité du maximum prédit, les expériences ont été réalisées en double dans des conditions optimales déterminées, 22500 lux et 57.142 m^{-1}, ce qui a donné une productivité de valeur 0.2513 g/ L/J très proche de P_V prédictive (théorique) de 0,255 g/L/j, ce la confirmant ainsi les estimations fournies par le logiciel Modde.6.

Les taux de croissance et la productivité de la biomasse se sont révélés dépendants des variations de S/V (trajet lumineux) et de l'intensité lumineuse.

Lorsqu'on fixe la concentration de l'inoculum à une valeur constante, on suit la réponse de productivité en fonction de l'intensité lumineuse et le rapport S/V (figure21 (a1,a2)) la productivité de la biomasse se sont révélés dépendants des variations des deux facteurs appliqués. En effet, l'augmentation du rapport S/V et de l'intensité lumineuse permet une nette amélioration de la productivité volumétrique.

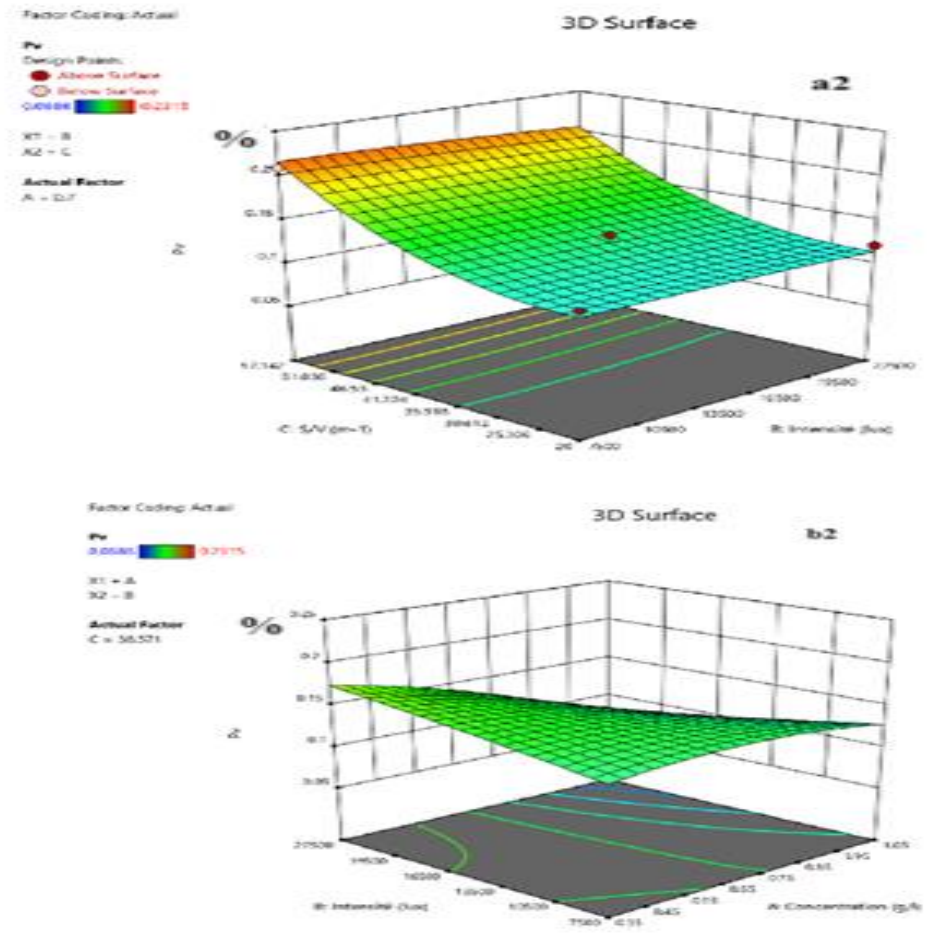


Figure 21: Courbes d'iso-réponses de productivité. (a) X3 = Constante, (b) X1= 0 et (c) X2=0

L'existence d'une telle réponse linéaire peut être interprétée par la probabilité élevée d'exposition des cellules à une intensité de lumière optimale de croissance . Ont indiqué que lorsqu'on utilise une densité de population optimale, il est possible d'approcher des valeurs théoriques substantielles de productivité photosynthétique et ce, par combinaison d'un trajet lumineux S/V court et un taux d'agitation vigoureux**(Qiang et al., 1998).**

Lorsqu'on fixe la valeur de S/V et on fait varier l'intensité lumineuse et la concentration de l'inoculum (figure 21 b1,b2), on observe une interaction négative entre l'intensité et la concentration de l'inoculum. La chute de productivité peut s'expliquer par l'effet très important d'auto-ombrage dans les cultures de densité plus élevée dans ces conditions on peut

interprète cet effet par le métabolisme cellulaire qui est oriente de photosynthèse vers l'hétérotrophie et la respiration cellulaire, lorsque la lumière devient limitant ,on note une interaction négative entre X_0 et S/V. La meilleure valeur de Pv est d'environ 0,15 g/L/j obtenue sur le PBR de rapport S/V égal à 57.142 m^{-1} et une culture moins dense (0.35g/L). Ces effets négatifs peuvent être expliqués par une mauvaise pénétration de la lumière dans les profondeurs du PBR ou le phénomène de photo-limitation **(Richmond, 2004).**

B/ Taux de phycocyanine :

La variation de la réponse taux de phycocyanine (PC) sous l'effet de trois facteurs est donnée dans la figure(22). Pour des valeurs de S/V allant de 20 à 57.142 m^{-1} et d'intensité lumineuse variant de 7500 à 22500 lux, on observe une augmentation nette du taux de phycocyanine (Figure 22.a1,a2) avec une valeur maximale de 0,12% j^{-1} obtenue à 22500 lux et 57.142 m^{-1}.

Le taux de phycocyanine est, en règle générale, plus sensible aux variations de l'intensité lumineuse et au rapport S/V.

A une intensité lumineuse fixe (figure 22 b1, b2), on constate que la production de biomasse et le taux de phycocyanine augmentent crescendo avec le rapport S/V, atteignant un maximum de 0.25 J-1J^{-1}. Ceci concorde avec les résultats **de (Qiang et al., 1998)** .Qui trouvent un optimum sur un PBR de rapport S/V élevé (chemin optique étroit) et une intensité lumineuse de 10000-15000 lux. Au-delà de cette limite, l'augmentation de l'intensité lumineuse n'entraîne aucune modification du taux de croissance, suggérant que le point de saturation de la photosynthèse est atteint.

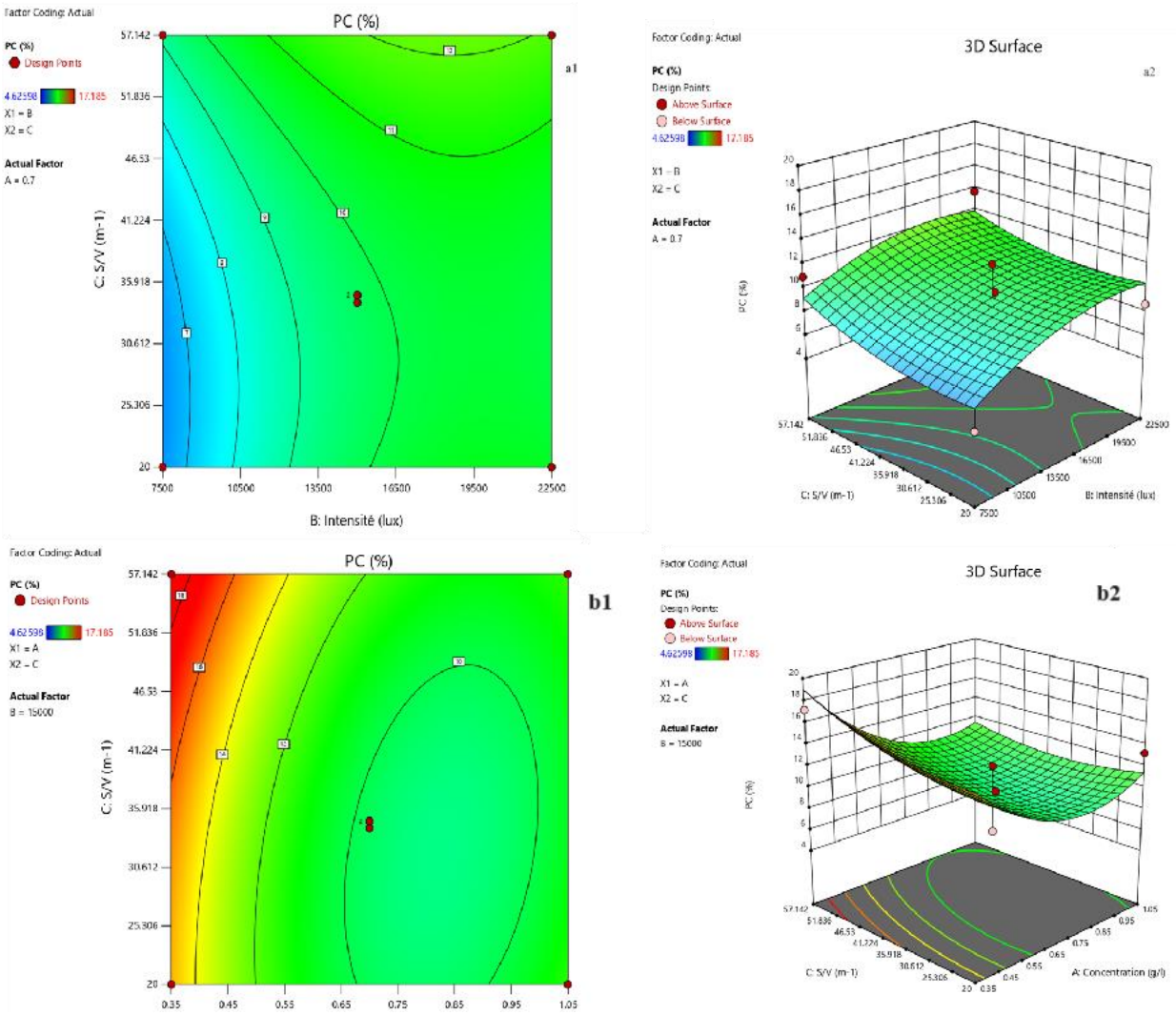


Figure 22: Courbes d'iso-réponses du taux de phycocyanine . (a) X3 = Constante, (b) X1=0, (c) X2=0

La croissance photo-auto-trophique de biomasse des algues dépend principalement de l'efficacité de conversion de l'énergie lumineuse. Ce comportement suggère donc que, à une intensité lumineuse relativement élevée (22500 lux), la croissance cellulaire est accélérée par la production rapide d'ATP et de NADPH photosynthétique. En revanche, lorsque la concentration de biomasse atteint 2.7500 mg/L, la croissance cesse probablement en raison de la photo-saturation de la culture **(Vonshak et al., 2000)**(**Chojnacka & Noworyta, 2004).**

Vonshak et al. (1982) ont montré dans leur étude sur la même souche que le potentiel photosynthétique des cellules diminue pour des concentrations de biomasse comprises entre 0,.4 et 1 g/L et que la plupart des cellules étaient ombrées de la lumière par les cellules voisines(Vonshak et al., 1982b). De même Reicnehr et costa (2006) ont constatés que de faibles concentrations de biomasse (0,350 g / L) et de taux de renouvellement élevés (50% v / v) entraînaient un taux de phycocyanine PC =18%) et une productivité élevée (Pv =0. 253 mg / L / jour). Ces valeurs sont deux à 50% fois plus élevées que celles obtenues en simple culture dense **(Reichert et al., 2006).**

Le tableau (11) fournit une comparaison de productivités obtenus sur différentes cultures de *Spiruline* ainsi que d'autre espèces où plusieurs paramétrée ont été utilisés pour optimiser les conditions du milieu : il s'agit de la température, du pH, de l'osmolarité, de la composition du milieu en substrat carbone, azote et celles des conditions de culture : telles que l'intensité lumineuse, la concentration initiale. Une comparaison sur la concentration maximale obtenue des différente systèmes de PBR, on remarque que notre système est positionné parmi les autres (voire le tableau (12).

Tableau 12: Comparaison des productions de biomasse.

Microorganisme	Méthode	Paramètres	Optimisation Conditions	Référence
A. platensis	Box-Behnken	Source of nitrogen Sources(KNO3,urea Temperature, Light intensity	Pv:95mg/L/ J avec l'*urée* µm: 0.82 I: 5000 lx Temperature: 30°C :	Eliane Dalva Godoy Danesi 2011; [18]
Oocystis sp.	RSM	NaNO3(mg/l) , K2HPO4(mg/l), Temperature (°C),	NaNO3 (750 m g/l, K2HPO4: 0 mg/l, Temperature 30°C Lipide Pv: 7.0 mg/L/d), biomasse Pv 47.8 mg/L/d) , [lipid] : (109.5 mg/L),	Bala Kiran, 2016 [19]
Haematococcus luvial	RSM	Sodium nitrate g/l, inoculums volume, light intensity(I)	$Y_{biomass}$: 0.51g/l [NaNO3] : 1.06 g/l, CO2/ 1.54%, inoculums volume :24.94%, I : 2.420 lx	R. Sarada2002 [20]
A platensis	RSM	Temperature, nitrogen regimes carbon dioxide,	Pv:34mg /l/ day µmax : 0.0735/ day temperature : 30°C	**Luciane Maria Colla**,[21]
A platensis	RMS	Zarrouk medium % Blend concentration, Renewel rate	**2** Pv : 0,046 g l- 1 jour1 **3** *µmax*: 0,138 jour- 1 Zarrouk medium %Of 20% (v/v) , Concentration de mélange de 0,40 g / L Taux de renouvellement compris entre 40 et 60%	E.M. Radmann (2007) [22]

Arthrospira platensis	RMS Box-Behnken	Inoculums (X_0) Intensite lemuneuse (I0) et leppaisseur de PBR(S/V)	I : 22500 lux S/V : 57.142 Biomasse Pv : de 0,251 g / L / j PC : 18.5%	Present travail

V.4 .2/Composition biochimique de la biomasse de spiruline produite

Objectif de cette étape est de vérifier la qualité de la composition biochimique de la biomasse produite durant l'optimisation, six composant sont choisie pour études l'effet de l(intensité lumineuse sur les teneur en biomolécules primaires (protéines, glucides et lipides) et en pigments photosynthétiques (chlorophylles phycocyanine), dont les caractéristiques biochimiques sont des indicateurs importants de la qualité de biomasse de spiruline et d' évaluer la réponse d'A. platensis exposé à la lumière.

Dans cette étape en 'a fixé les condition de croissance optimale obtenus de plan d'expérience tel que la surface spécifique 57,142 m-1 , la densité de l'inoculum de départ de 0.35 g/Let en fait varie l'intensité lumineuse dans la gamme de 7500-22500 lux.

Les résultats obtenus sont présente dans les figures suivantes :

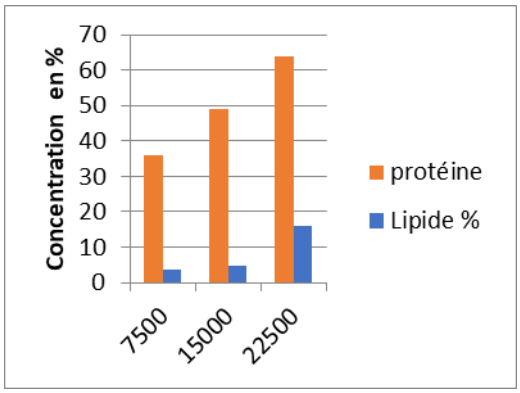
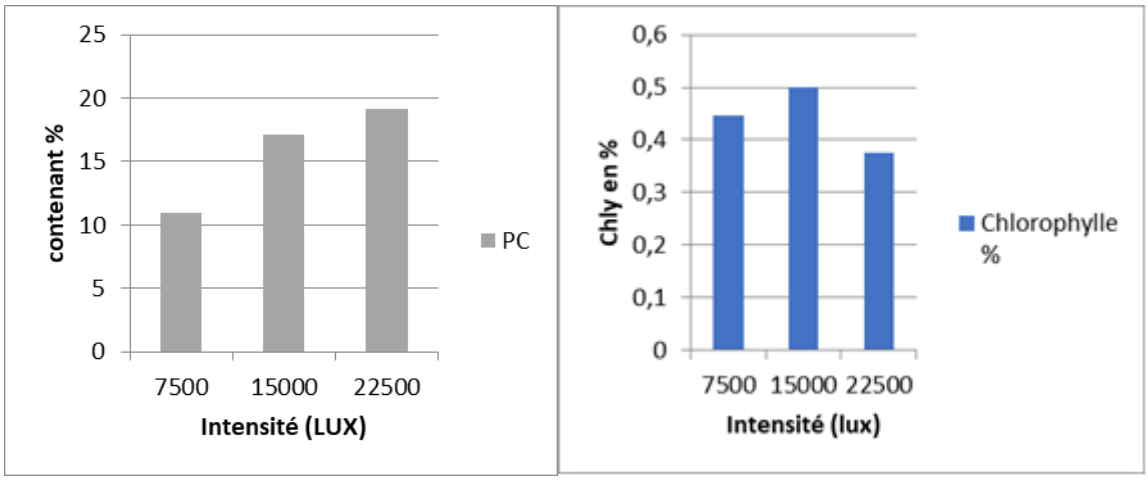


Figure 23: Effet de lintensité lumineuse sur l' accumulation des lipide , et de protéines chez la spiruline .

Les résultats montrent que le taux de lipide et de protéines ont la même tendance que la productivité de la biomasse, il sont proportionnel avec l'élévation de l'intensité de la lumière, cela reflet que les lipides et les protéines sont accumulés avec la biomasse concéderés comme des métabolites primaires. Il y a eu une réduction remarquée des glucides et accompagnées d'une augmentation de l'accumulation de lipides et des protéines . Ces changements dans les niveaux des macromoléculaires signifient les réponses adaptatives de la spiruline au condition d'éclairage intense 22500 lux dans le photobioréacteur plus mince de (PBR). La diminution de glucides et les algues impliquent une réorientation de l'énergie et des ressources pour évite les effets nocifs de photolyse.



A B

Figure 24: l'effet de lintensité lumineuse sur le taux de phycocyanine et chlorophyle a

Dans la méthodologie qu'on a procédé, pour voir l'effet de la lumière sur la bioaccumulation des pigments photosynthétiques de photosystème-II comme un pigment de base qui intervient dans la photosynthèse (Chll-a, Chll-b et phycocyanine) durant les conditions normales de croissance, dans les conditions d'éclairage intence (22500lux), ces pigments sont grandement affecte, dont l'objectif est de noter des fluctuations dans ces pigments de base.

Les résultats montre une augmentation des taux de chlorophylle à 15000lux puis diminue à forte intensité 22500 lux. A l'inverse de la phycocyanine qui montre une élévation avec l'intensité de la lumière.

On peut interpréter la réduction de la teneur en chlorophylle de Spiruline , comme une réponse adaptative contre l'élévation de l'intensité lumineuse dans la culture, on renduisant le taux de chlorophylle pour éviter l'excès d'énergie lumineux véhiculé vers le centre de réaction de photosystème II , cela permettrait une diminution du transfert d'énergie entre les antennes collectrices telles que les phycobilisomes 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, 2004) .

Les phycocyanine remplissent deux rôles clés dans les plantes et les algues : ils absorbent l'énergie lumineuse pour l'utiliser dans la photosynthèse et protègent la chlorophylle des dommages causés par la lumière. En plus les teneurs en phycocyanine *d'A. platensis* représentent une sources potentielles d'antioxydants durant le stress au diminuait fréquemment avec la diminution des protéines (Chen et al., 2022b). (Yabuta et al., 2010).

Les cyanobactéries produisent davantage de protéine phycocyanine qui récolte la lumière dans la zone de rouge et davantage de protéine phycoérythrine dans la lumière verte. Le facteur le plus important influençant la capacité de complexe (phycobilisomes) des cyanobactéries à capter une lumière est l'intensité lumineuse. L'impact de l'intensité lumineuse sur la concentration en PBP a été détecté dans plusieurs organisations. D'après Lorimier et al. (1992) a constaté chez *Agmenellum quadruplicatum* PR-6 une variation de 1.8-fois du rapport plus élevé de phycocyanine /phycoérythrine (PC: APC) au cours de la croissance sous différente intensité lumineuse de 20 μE par rapport à 1260 μE (Chakdar & Pabbi, 2016) (de Lorimier et al., 1992) .

La biosynthèse des phycobiliprotéines et leur expression sont aussi influence par les composés du milieu comme l'azote, le soufre et le fer peuvent également affecter les gènes qui codent pour ces protéines. Les cellules épuisées en azote, soufre, et fer ne contiennent que la moitié du complément normal des membranes thylakoïdes(Sherman & Sherman, 1983).

Cependent pour les glucides cellulaires et exo polysaccharide montre une accumulation différentielle, contrairement avec les protéine et les lipides, les teneurs en glucide dans la biomasse montre une diminution il sont inversement proportionnel avec l'intensité lumineuse. La diminution de glucides et les algues impliquent une réorientation de l'énergie et des ressources pour évité les effets nocifs de photolyse.

Pour les SPSS , montre le même comportant que les chlorophylles , avec une teneur maximale de 25% à 15000 lux.

Dans les conditions optimisés (S /Vde 57.142 m^{-1} , inoculum de X0 de 0.35g/ de poids sec , éclairage de 22500 lux obtenu des teneurs des biomolécules (protéine >60% ; les lipide au près de 15%, les chlorophyle a 0.37% et phycocyanine 18% et les hydrate de carbone intracellulaire et EPS de 23% et 10% respectivement ces résultats montrent que la qualité biochimique de biomasse produite de spiruline est acceptable.

([Composition de la spiruline : les nutriments phares - Performe](#))

.

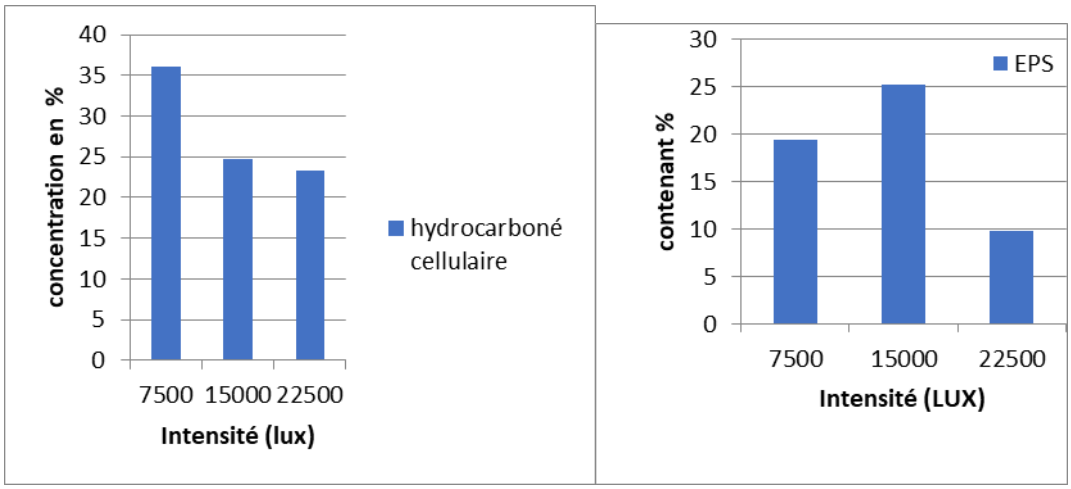


Figure 25 :Teneur de l'hydrate de carbone cellulaire et EPS

CONCLUSION

4 Conclusion générale :

Spirulina platensis est l'une des plus importantes Cyanobactéries multicellulaires bleu-vert en raison de ses pigments chlorophylle (vert) et phycocyanine (bleu). Il possède la capacité d'effectuer la photosynthèse et peut se développer aussi bien dans l'eau de mer qu'en eau douce.En raison de ses riches pigments, il a été décrit comme une plante ; d'autre part, il est également classé comme un membre du royaume des bactéries en raison de certaines de ses propriétés biochimiques**(Yucetepe et al., 2018).**

Au cours de ce travail on a utilisé une micro-algue obtenue à partir de cyanobactéries du genre *Arthrospira,* qu'on a cultivé dans un photobioréacteur de forme cylindrique afin d'optimiser la production par plan d'expérience ,en jouant sur trois facteurs du milieu tel que l'intensité lumineuse, le diamètre de photo-bioréacteur et la densité de la culture.

En effet, d'après les résultats obtenues :

L'intensité lumineuse a un impact positif sur la productivité de la biomasse microalgale. Plus la lumière augmente, plus la croissance est élevée, jusqu'à atteindre un seuil limite de 22500 lux où la saturation est atteinte.

Selon les résultats, l'augmentation de la surface spécifique entraînera inévitablement une diminution des épaisseurs des cultures. Le rapport S/V optimal est celui qui favorise une diffusion optimale de la lumière (une surface éclairée élevée). Le rapport S/V du photo-bioréacteur est de 57 $m^{-}1$.

L'intensité et la concentration de l'inoculum interagissent de manière négative. Dans les cultures à densité plus élevée, on peut expliquer la baisse de productivité par l'effet très significatif de l'auto-ombrage .Lorsque la lumière devient limitante, on observe une interaction négative entre X0 et S/V. Environ 0,15 g/L/j est la valeur optimale de Pv obtenue sur le PBR avec un rapport S/V de 57,142 m-1 et une culture moins dense (0,35 g/L).

On a montré par la suite que les conditions optimales (S/V de 57,142 m-1, inoculum de X0 de 0,35g/poids sec, éclairage de 22500 lux) ont permis d'obtenir des concentrations de biomolécules telles que des protéines>60% , des lipides >09 , des chlorophylles 0.37% des phycocyanines 18% , ainsi que des hydrates de carbone intracellulaires et EPS 23% et 10 %

respectivement. Ces résultats témoignent de la bonne qualité biochimique de la biomasse produite de la spiruline.

Perspective :

- Optimisation des systèmes d'éclairage et faire l'application à grande échelle à la lumière du soleil.
- Utilisation de photobioréacteurs pour cultiver des micro-algues dans des environnements clos artificiels ou industriels, permettant une transformation biologique de la matière.
- Limitation des coûts de production à grande échelle en utilisant de l'eau de mer et les engrais chimiques à la place de milieu zarrouk, des systèmes de culture efficaces et des approches de bioraffinerie
- Ces différentes perspectives permettent d'envisager une production optimisée et durable de biomasse de spiruline à grande échelle, en tirant parti des dernières avancées scientifiques et techniques.

REFÉRENCE BIBLIOGRAPHIQUE

1. **Abdel-latif, H. M. R., El-ashram, S., Yilmaz, S., Naiel, M. A. E., Abdul, Z., Khalidah, N., Hamid, A., Dawood, M. A. O., Nowosad, J., & Kucharczyk, D. (2022).** The effectiveness of Arthrospira platensis and microalgae in relieving stressful conditions affecting finfish and shellfish species : An overview. *Aquaculture Reports*, *24*(April), 101135. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2022.101135
2. **Ainas, M., Tir, M., Mameri, N., & Bouarab, R. (2022)**. Enhancing Biomass Production By the Optimization of Process Parameters of Micro Algae (Arthrospira Platensis) in Conical Annular Photobioreactor Using Response Surface Methodology. *Plant Archives*, *22*(2), 491–502. https://doi.org/10.51470/plantarchives.2022.v22.no2.089
3. **Al-otaibi, B. O., Degheidy, N. S., & Al-malki, J. S. (2021)**. Saudi Journal of Biological Sciences Prevalence , incidence and molecular characterization of tape worms in Al Taif governorate , KSA and the effectiveness of Spirulina platensis as a biological control in vitro. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *28*(11), 6272–6278. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.086
4. **AlFadhly, N. K. Z., Alhelfi, N., Altemimi, A. B., Verma, D. K., Cacciola, F., & Narayanankutty, A. (2022)**. Trends and Technological Advancements in the Possible Food Applications of Spirulina and Their Health Benefits: A Review. *Molecules*, *27*(17), 1–40. https://doi.org/10.3390/molecules27175584
5. **Ali, S. K., & Saleh, A. M. (2012).** *A c a d e m i c S c i e n c e s*. *4*(3).
6. **Assunç, J. (2020)**. *Enclosed " non-conventional " photobioreactors for microalga production : A review*. *52*(November). https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102107
7. **Bachir NABTI, Nour BAMMOUNE, Hadjer MELIANI, & Djamel BOUKHALFA. (2023)**. Overview of artisanal production and consumption of spirulina in southern Algeria: example of Tamanrasset. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, *22*(2), 280–289. https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.2.0087
8. **Bard, J.-M. (2018).** La spiruline, source de nutriments et aliment fonctionnel. *Pratiques En Nutrition*, *14*(53), 38–40. https://doi.org/10.1016/j.pranut.2017.12.009
9. **Bencheikh, A., Mamache, W., Gharzouli, A., Kouachi, A., Khadidja, H., Daichi, M. B., & Rouag, N. (2022).** Evaluation of The Spirulina (Arthrospira platensis Gomont) Antimicrobial Activity. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, *10*(10), 2051–2055. https://doi.org/10.24925/turjaf.v10i10.2051-

2055.5307

10. **Bouyahya, A., Bakrim, S., Chamkhi, I., Taha, D., El Omari, N., El Mneyiy, N., El Hachlafi, N., El-Shazly, M., Khalid, A., Abdalla, A. N., Goh, K. W., Ming, L. C., Goh, B. H., & Aanniz, T. (2024**). Bioactive substances of cyanobacteria and microalgae: Sources, metabolism, and anticancer mechanism insights. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, *170*(September 2023), 115989. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115989
11. **Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, *72*(1–2), 248–254.
12. **Bumandalai, O., Bayliss, K. L., & Moheimani, N. R. (2024**). Innovative processes for combating contaminants in fresh Spirulina. *Algal Research*, *78*(November 2023), 103397. https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103397
13. **Cakmak, I., & Marschner, H. (1992)**. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology*, *98*(4), 1222–1227.
14. **Chakdar, H., & Pabbi, S. (2016).** Cyanobacterial phycobilins: production, purification, and regulation. *Frontier Discoveries and Innovations in Interdisciplinary Microbiology*, 45–69.
15. **Charpy, L., Langlade, M. J., & Alliod, R. (2008)**. *« La Spiruline peut-elle être un atout pour la santé et le développement en Afrique ? »*. *167*, 1–4.
16. **Chaumont, D. (1988**). Scaling up a tubular photoreactor for continuous culture of Porphyridium cruentum from laboratory to pilot plant (1981-1987). *Algal Biotechnology*, 199–208.
17. **Chen, Z., Tan, L., Yang, B., Wu, J., Li, T., Wu, H., Wu, H., & Xiang, W. (2022a)**. A mutant of seawater Arthrospira platensis with high polysaccharides production induced by space environment and its application potential. *Algal Research*, *61*(April 2021), 102562. https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102562
18. **Chen, Z., Tan, L., Yang, B., Wu, J., Li, T., Wu, H., Wu, H., & Xiang, W. (2022b)**. A mutant of seawater Arthrospira platensis with high polysaccharides production induced by space environment and its application potential. *Algal Research*, *61*, 102562.
19. **Chentir, I. (2018)**. *Optimisation de la culture de Spiruline et son impact sur ses performances nutritionnelles*.
20. **Chojnacka, K., & Noworyta, A. (2004)**. Evaluation of Spirulina sp. growth in

photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. *Enzyme and Microbial Technology - ENZYME MICROB TECHNOL*, *34*, 461–465. https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2003.12.002

21. **Chong, K. L., & Ahmad, M. R. (2023).** Microalgae Lipids Detection and Quantification Method Towards Online Real-Time Monitoring: A Review. *ELEKTRIKA-Journal of Electrical Engineering*, *22*(3), 1–8.
22. **Christian, B., Ramiandrisoa, R., Nantenaina, V., Rasoanarivo, R., Lisy, H., & Ranarijaona, T. (2023).** *Adaptation de culture de spiruline Arthrospira Platensis pour une meilleure économie de l ' ouest : cas du centre du développement d ' aquaculture de Mahajanga à Madagascar The adaptation of growing spirulina (Arthrospira Platensis) for a better western*. *March*. https://doi.org/10.21494/ISTE.OP.2023.0937
23. **Clement-larosière, B., Clément-larosière, B., & Minier, M. (2014).** *Etude de la croissance de Chlorella vulgaris en photobioréacteur batch et continu , en présence de concentrations élevées de CO2 , To cite this version : HAL Id : tel-00697006 présentée par Filipa Lopes*.
24. **de Castro, G. F. P. da S., Rizzo, R. F., Passos, T. S., dos Santos, B. N. C., Dias, D. da S., Domingues, J. R., & Araújo, K. G. de L. (2015**). Biomass production by Arthrospira platensis under different culture conditions. *Food Science and Technology (Brazil)*, *35*(1), 18–24. https://doi.org/10.1590/1678-457X.6421
25. **de Lorimier, R. M., Smith, R. L., & Stevens Jr, S. E. (1992)**. Regulation of phycobilisome structure and gene expression by light intensity. *Plant Physiology*, *98*(3), 1003–1010.
26. **Delİège, J. (2019)**. *Numéro spécial Formation du monde entrepreneurial et associatif à la culture de Spiruline en Haïti*. 453–460.
27. **Delrue, F., Alaux, E., Moudjaoui, L., Gaignard, C., Fleury, G., Perilhou, A., Richaud, P., Petitjean, M., & Sassi, J. F. (2017)**. Optimization of Arthrospira platensis (Spirulina) growth: From laboratory scale to pilot scale. *Fermentation*, *3*(4). https://doi.org/10.3390/fermentation3040059
28. **Depraetere, O., Pierre, G., Noppe, W., Vandamme, D., Foubert, I., Michaud, P., & Muylaert, K. (2015**). *In fl uence of culture medium recycling on the performance of Arthrospira platensis cultures*. *10*, 48–54.
29. **Devi, K., Routray, W., & Paramasivan, B. (2024)**. Phycocyanin from Spirulina : A comprehensive review on cultivation , extraction , purification , and its application in food and allied industries. *Food and Humanity*, *2*(October 2023), 100235.

https://doi.org/10.1016/j.foohum.2024.100235

30. **Doumandji, A., Boutekrabt, L., Saidi, N., & Doumandji, S. (2011)**. Etude de l ' impact de l ' incorporation de la spiruline sur les propriétés nutritionnelles , technologiques et organoleptiques du couscous artisanal. *Revue « Nature & Technologie ». N° 06*, 40–50.
31. **Environnement, G. D. L., & Hydrogene, D. (2018)**. *Thèse de Doctorat*.
32. **Fadel, F., & Kamil, A. E. (2012)**. Production and nutritive value of Spirulina platensis in reduced cost media. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*, *38*(1), 51–57. https://doi.org/10.1016/j.ejar.2012.09.003
33. **Florent, N. N. U. (2017)**. *Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé éclairage et estimation de la biomasse.Thèse Doctorat de l'université de TOULOUSE.*
34. **Fu, W., Gudmundsson, O., Feist, A. M., Herjolfsson, G., Brynjolfsson, S., & Palsson, B. Ø. (2012)**. Maximizing biomass productivity and cell density of Chlorella vulgaris by using light-emitting diode-based photobioreactor. *Journal of Biotechnology*, *161*(3), 242–249.
35. **Hacène, H., Brahimi, R., Benaicha, S., Ouahrani, E. K., Chebhouni, N., & Siga, A. (2001)**. Essais de Production de Protéines d'organismes Unicellulaires (P.O.U.) par des Souches de Spirulina. *Rev. Energ. Ren. : Production et Valorisation-Biomasse*, 65–68.
36. ***https2F2Fuploads2Fimage2Fimage_mapemonde_-_resized-1596366377*. (n.d.).**
37. **International, C., & La, S. U. R. (2008**). *International Symposium on Spirulina*.
38. **Jiang, X., Wang, D., Wu, W., & Li, F. (2023)**. The different toxicological effects and removal efficiencies of norfloxacin and sulfadiazine in culturing Arthrospira (Spirulina) platensis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *250*(December 2022), 114468. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114468
39. **Jourdan, J. (2006)**. Cultivez votre spiruline. *Antenna Technologies*, 146.
40. **Komárek, J. (2016**). A polyphasic approach for the taxonomy of cyanobacteria: principles and applications. *European Journal of Phycology*, *51*(3), 346–353. https://doi.org/10.1080/09670262.2016.1163738
41. **Koure, M. K. N., Diadie, H. O., Lawali, M. N., Abdourahamane, B., & Wright, A. N. (2022)**. *Essai de production de la spiruline au niger*. *34*(1), 155–165.
42. **Kusumaningtyas, P., Gultom, S. D., & Usman, U. (2023)**. Production of Photosynthetic Pigments from Spirulina platensis Under Different Light Intensities. *Berkala Sainstek*, *11*(3), 161. https://doi.org/10.19184/bst.v11i3.38474
43. **La, R. D. E., & Ciencias, F. D. E. (2003)**. *Universitas scientiarum*.

44. **Labidi, A., & Bejaoui, T. (2023)**. *Extraction and Analysis of Proteins and Nucleic Acids from Escherichia coli Extraction et Analyse des Protéines et des Acides Nucléiques à partir de Cellules d ' Escherichia coli*. *January*, 4–20.
45. **Lafarga, T., Fernández-sevilla, J. M., González-lópez, C., & Acién-fernández, F. G. (2020).** Spirulina for the food and functional food industries. *Food Research International*, *137*(April), 109356. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109356
46. **Lafarga, T., Sánchez-Zurano, A., Villaró, S., Morillas-España, A., & Acién, G. (2021).** Industrial production of spirulina as a protein source for bioactive peptide generation. *Trends in Food Science and Technology*, *116*(June), 176–185. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.07.018
47. **Laifa, R. (2023**). *Performances techniques et environnementales d'un photobioréacteur solaire pour la production de la Spiruline*.
48. **Liu, J.-Z., Weng, L.-P., Zhang, Q.-L., Xu, H., & Ji, L.-N. (2003**). Optimization of glucose oxidase production by Aspergillus niger in a benchtop bioreactor using response surface methodology. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *19*, 317–323.
49. **Liu, J., Lio, E., Barone, G. D., Cernava, T., Germann, A. T., Nakielski, A., Russo, D. A., Chavkin, T., Knufmann, K., Tripodi, F., Coccetti, P., Secundo, F., Fu, P., Pfleger, B., Axmann, I. M., & Lindblad, P. (2023).** *Heliyon Recent developments in the production and utilization of photosynthetic microorganisms for food applications*. *9*. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14708
50. **Lucchetti, A. (2015)**. *Mod ´ elisation et conception d ' un syst ` eme de culture de microalgues*. *April 2014*.
51. **Mamun, M. Al, Hossain, M. A., Saha, J., Khan, S., Akter, T., & Banu, M. R. (2023)**. Effects of spirulina Spirulina platensis meal as a feed additive on growth performance and immunological response of Gangetic mystus Mystus cavasius. *Aquaculture Reports*, *30*(March), 101553. https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2023.101553
52. **Manet, A. (2016**). *La spiruline : indications thérapeutiques, risques sanitaires et conseils à l'officine*. 104.
53. **Marechal, E., & De, T. (2021)**. *To cite this version : Carburants à base d ' algues oléagineuses*.
54. **Mata, T. M., Martins, A. A., & Caetano, N. S. (2010)**. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *14*(1), 217–232. https://doi.org/10.1016/j.rser.2009.07.020
55. **Mg, S., Dankoko, B., & Badiane, M. (1999**). *LA SPIRULINE : UNE SOURCE*

ALIMENTAIRE A PROMOUVOIR. *46*(3), 1–2.

56. **Mohammed, J., Majrashi, N., Hassan, F. M., Al-sabri, A., Jabar, E. A., & Ameen, F. (2023**). Chemosphere Cultivation of blue green algae (Arthrospira platensis Gomont , 1892) in wastewater for biodiesel production. *Chemosphere*, *335*(March), 139107. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.139107
57. **Molina, E., Fernández, J., Acién, F. G., & Chisti, Y. (2001**). Tubular photobioreactor design for algal cultures. *Journal of Biotechnology*, *92*(2), 113–131.
58. **Mu, Y., Zheng, X.-J., & Yu, H.-Q. (2009**). Determining optimum conditions for hydrogen production from glucose by an anaerobic culture using response surface methodology (RSM). *International Journal of Hydrogen Energy*, *34*(19), 7959–7963.
59. **Muralidhar, R. V., Chirumamila, R. R., Marchant, R., & Nigam, P. (2001)**. A response surface approach for the comparison of lipase production by Candida cylindracea using two different carbon sources. *Biochemical Engineering Journal*, *9*(1), 17–23.
60. **Novoveská, L., Nielsen, S. L., Eroldoğan, O. T., Haznedaroglu, B. Z., Rinkevich, B., Fazi, S., Robbens, J., Vasquez, M., & Einarsson, H. (2023)**. Overview and Challenges of Large-Scale Cultivation of Photosynthetic Microalgae and Cyanobacteria. *Marine Drugs*, *21*(8), 1–23. https://doi.org/10.3390/md21080445
61. **Prokop, A., Bajpai, R. K., & Zappi, M. E. (2015)**. Algal biorefineries: Volume 2: Products and refinery design. *Algal Biorefineries: Volume 2: Products and Refinery Design*, 1–557. https://doi.org/10.1007/978-3-319-20200-6
62. **Purification, B. (2022)**. *Exopolysaccharides from the Energy Microalga Strain*.
63. **Qiang, H., Zarmi, Y., & Richmond, A. (1998)**. Combined effects of light intensity, light-path and culture density on output rate of Spirulina platensis (Cyanobacteria). *European Journal of Phycology*, *33*(2), 165–171.
64. **Ralijaona, D., & Guy, C. (n.d.)**. *de Doctorat Es Sciences en Océanologie Appliquée M A D A G A S C A R A L A C U L T U R E E N E A U D E M E R . M I S E A U P O I N T D E S T R U C T U R E S D E P R O D U C T I O N A L ' E C H E L L E V I L L A G E O I S E Présentée par*.
65. **RAMILAVONJY RAMIANDRISOA, B. C., ANDRIANATOANDRO, V. N.**, RASOANARIVO, R., & RANARIJAONA, H. L. T. (2023). Adaptation de culture de spiruline Arthrospira Platensis pour une meilleure économie de l'ouest : cas du centre du développement d'aquaculture de Mahajanga à Madagascar. *Science, Technologie, Développement*, *3*(1). https://doi.org/10.21494/iste.op.2023.0937
66. **Rao, K. J., Kim, C.-H., & Rhee, S.-K. (2000)**. Statistical optimization of medium for

the production of recombinant hirudin from Saccharomyces cerevisiae using response surface methodology. *Process Biochemistry*, *35*(7), 639–647.

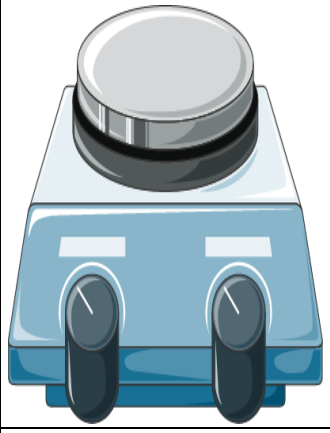
67. **Reichert, C. da C., Reinehr, C. O., & Costa, J. A. V. (2006)**. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium Spirulina platensis in a closed photobioreactor. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, *23*, 23–28.
68. **Richmond, A. (2004)**. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology* (Vol. 577). Wiley Online Library.
69. **Rosenau, S., Wolgast, T., Altmann, B., & Risius, A. (2023)**. Consumer preference for altered color of rainbow trout (Oncorhynchus mykiss) fillet induced by Spirulina (Arthrospira platensis). *Aquaculture*, *572*(February), 739522. https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2023.739522
70. **Samhat, K. (2023)**. *Contribution à l ' optimisation de la production d ' astaxanthine en photobioréacteur à partir de la microalgue Haematococcus pluvialis To cite this version : HAL Id : tel-04097353 Khadija SAMHAT Contribution à l ' optimisation de la production d ' astaxa*.
71. **Sforza, E., Enzo, M., & Bertucco, A. (2014).** Design of microalgal biomass production in a continuous photobioreactor: an integrated experimental and modeling approach. *Chemical Engineering Research and Design*, *92*(6), 1153–1162.
72. **Sforza, E., Gris, B., de Farias Silva, C., Morosinotto, T., & Bertucco, A. (2014).** Effects of light on cultivation of Scenedesmus obliquus in batch and continuous flat plate photobioreactor. *Chem Eng*, *38*, 211.
73. **Shao, W., Ebaid, R., El-sheekh, M., Abomohra, A., & Eladel, H. (2019).** *Pharmaceutical applications and consequent environmental impacts of Spirulina (Arthrospira): An overview*. *70*(March), 1–12.
74. **Sherman, D. M., & Sherman, L. (1983)**. Effect of iron deficiency and iron restoration on ultrastructure of Anacystis nidulans. *Journal of Bacteriology*, *156*(1), 393–401.
75. **Singh, R. N., & Sharma, S. (2012).** Development of suitable photobioreactor for algae production–A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, *16*(4), 2347–2353.
76. **Tanaka, K., Kishi, M., Assaye, H., & Toda, T. (2020)**. Low temperatures in dark period affect biomass productivity of a cyanobacterium Arthrospira platensis. *Algal Research*, *52*(November), 102132. https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.102132
77. **Thual, J., & Economie, D. (2015).** *ANALYSE DE LA FAISABILITE D ' UN COUPLAGE DE PRODUCTION Direction Economie Circulaire et Déchets*.

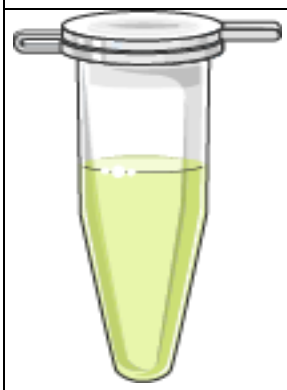
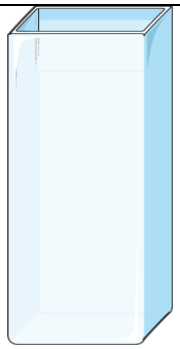
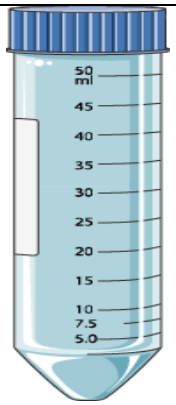
78. **Touloupakis, E., Faraloni, C., & Carlozzi, P. (2022)**. An outline of photosynthetic microorganism growth inside closed photobioreactor designs. *Bioresource Technology Reports*, *18*(March), 101066. https://doi.org/10.1016/j.biteb.2022.101066
79. **Urbain, N., & Niangoran, F. (2019)**. *Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : éclairage et estimation de la biomasse*.
80. **Usharani, G., Saranraj, P., & Kanchana, D. (2012)**. *Spirulina Cultivation : A Review*. *3*(6), 1327–1341.
81. **Vicat, J., Mbaigane, J. D., & Bellion, Y. (2014).** Comptes Rendus Biologies ´ ments majeurs et traces de spirulines Teneurs en e (Arthrospira platensis) originaires de France , du Tchad , du ´ publique Togo , du Niger , du Mali , du Burkina-Faso et de Re centrafricaine Contents of macromineral and trace. *Comptes Rendus - Biologies*, *337*(1), 44–52. https://doi.org/10.1016/j.crvi.2013.11.004
82. **Vonshak, A. (1997)**. *Spirulina platensis arthrospira: physiology, cell-biology and biotechnology*. CRC press.
83. **Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., Arad, S., & Richmond, A. (1982a).** *FACTORS AND POPULATION DENSITY*. *2*, 175–185.
84. **Vonshak, A., Abeliovich, A., Boussiba, S., Arad, S., & Richmond, A. (1982b).** Production of Spirulina biomass: effects of environmental factors and population density. *Biomass*, *2*(3), 175–185.
85. **Vonshak, A., Cheung, S. M., & Chen, F. (2000).** Mixotrophic growth modifies the response of Spirulina (Arthrospira) platensis (Cyanobacteria) cells to light. *Journal of Phycology*, *36*(4), 675–679.
86. **Wang, M., Yin, Z., Sun, W., Zhong, Q., Zhang, Y., & Zeng, M. (2023**). Microalgae play a structuring role in food: Effect of spirulina platensis on the rheological, gelling characteristics, and mechanical properties of soy protein isolate hydrogel. *Food Hydrocolloids*, *136*(PA), 108244. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.108244
87. **Wang, Q., Liu, W., Li, X., Wang, R., & Zhai, J. (2020).** Carbamazepine toxicity and its co-metabolic removal by the cyanobacteria Spirulina platensis. *Science of the Total Environment*, *706*, 135686.
88. **Whitman, W. B. (2009).** The modern concept of the procaryote. *Journal of Bacteriology*, *191*(7), 2000–2005. https://doi.org/10.1128/JB.00962-08
89. **Yucetepe, A., Saroglu, O., Daskaya-Dikmen, C., Bildik, F., & Ozcelik, B. (2018).** Optimisation of ultrasound-assisted extraction of protein from Spirulina platensis using RSM. *Czech Journal of Food Sciences*, *36*(1), 98–108. https://doi.org/10.17221/64/2017-CJFS

90. **Zhang, X., Zhang, Y., Chen, Z., Chen, L., Li, X., & Wang, G. (2025**). Inhibition mechanisms of perchlorate on the photosynthesis of cyanobacterium Synechocystis sp. PCC6803: Insights from physiology and transcriptome analysis. Journal of Environmental Sciences (China), 150, 515–531. https://doi.org/10.1016/j.jes.2024.01.025
91. **Zhou, T., Wang, J., Zheng, H., Wu, X., Wang, Y., & Liu, M. (2018**). Bioresource Technology Characterization of additional zinc ions on the growth , biochemical composition and photosynthetic performance from Spirulina platensis. *Bioresource Technology*, *269*(August), 285–291. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.08.131

ANNEXE

Tableau I.1 :Appareillage d'analyses physico-chimiques :

Pompe air aquarium	Programmateur journalier a curseurs	Luxmètre	Spectrophotomètre
			
Centrifugeuse	Balance	PH mètre	Agitateur magnétique
			
Lampe	Perfuseur	Béchers	Micropipette
			

Eppendorfs	Les cuves	Les tubes	Erlenmeyer
			
Spatule	Entonnoir	Papier filtre	Bain marie
			



Figure(I.1) : Préparation de la préculture



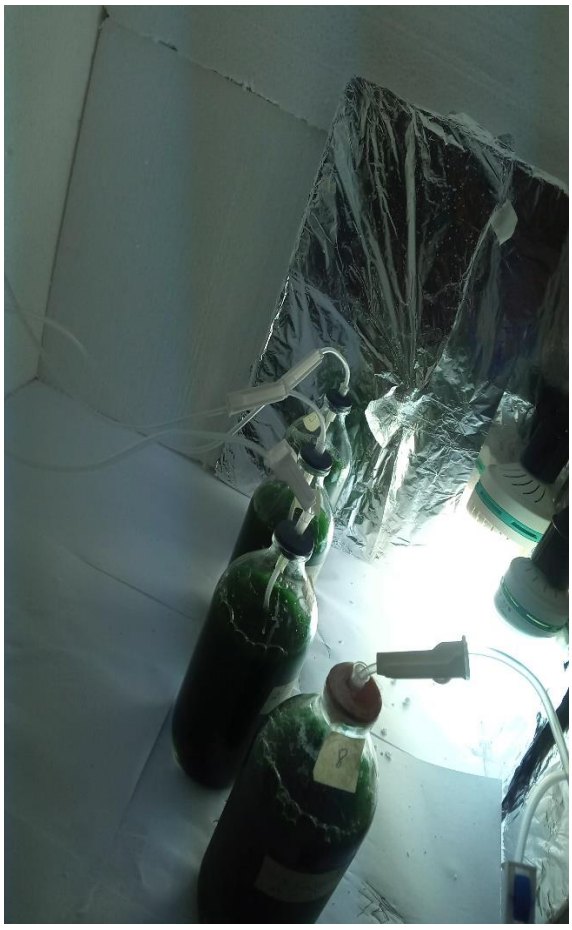
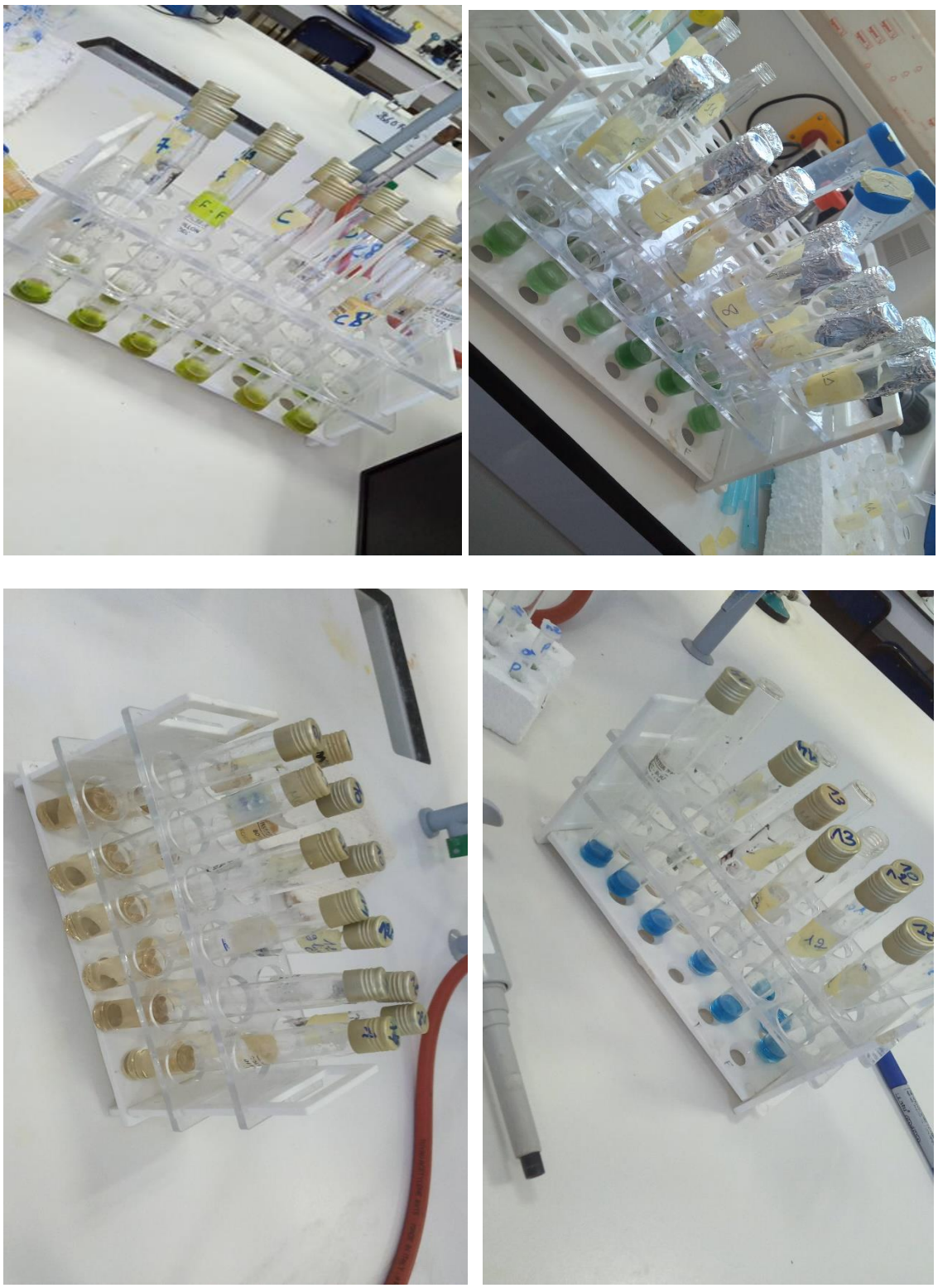








Figure (I.2.3.4.5.6) : Les photobioréacteurs annulaire de forme cylindrique à différentes épaisseurs .



Figures (I.7.8.9.10) : Les résultats de l'extraction des chlorophylles ,protéines, glucides,lipides et les phycocyanines .